



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS
DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

**UNIDAD ZACATENCO
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA**

**Síntesis de indolilimidazolinas y espirooxindoles
como posibles antidepresivos**

Tesis que presenta

Elix Alberto Dominguez Mendoza

Para obtener el Grado de

Maestro en Ciencias

en la Especialidad de

FARMACOLOGÍA

Directora de la Tesis: DRA. MARTHA SONIA MORALES RÍOS

Distrito Federal, México

ENERO, 2012

Fue una predestinación feliz el haber nacido en La Paz, Baja California Sur.

Le agradezco a mi país y a los contribuyentes por haberme dado la oportunidad de estudiar un posgrado.

A mi madre por todo su amor, apoyo tanto económico como emocional.

Les agradezco a mis hermanos Angel Daniel Domínguez Mendoza y Luis Guillermo Domínguez Mendoza, los quiero.

Mar Sarai Hernández García por estar conmigo.

~~~~~                      ~~~~~                      ~~~~~

*A mis profesores Agustín Palma de la Cruz (Palmin) y Javier Carballo Perea (El Sensei el original y único) por haberme motivado durante el desarrollo de mi carrera e impulsado para proseguir mis estudios. Profesores como ellos son los que hacen falta en el país, gracias maestros de maestros*

*Le agradezco a mis amigos José Manuel Bibiano Vega, Miguel Tláloc Sandoval, Jorge Cortez Balboa, Quetzalcoatl Azcalt y Xicotencatl Azcalt por su amistad durante más de 2 tercios de mi vida esperando que esa expresión matemática se incremente.*

*También a mis compañeros de departamento Jorge Sandoval, Oscar Campos Blanco y Manuel Perea sus risas y compañías y buenos momentos que me hicieron disfrutar al haber convivido con ustedes como “una familia”.*

~~~~~                      ~~~~~                      ~~~~~

A las químicas del grupo de investigación por ayudarme en la obtención de espectros: Azucena, Celina, Angelina, Natalina, Yola y Alvina.

A los auxiliares de laboratorio por ayudarme y aconsejarme en el laboratorio y ser mis amigos: Yorch el bárbaro, Vero verooooo y Joel.

Y a la banda del laboratorio y laboratorios vecinos que su compañía fue buena y me motivó en la realización de mi tesis: Juan, Daphne Edith, Yorch, Jessica, Angelón, Fierro, Gary, Gregorio y a los delfines.

~~~~~                      ~~~~~                      ~~~~~

*Mis más profundo respeto y admiración a la Dra. Martha Sonia Morales Ríos, gracias por la dirección de esta tesis, sus enseñanzas y apoyo.*

*Mi agradecimiento y respeto al Dr. Pedro Joseph-Nathan por la colaboración en este trabajo.*

Esta tesis se realizó en el Departamento de Química y en el Departamento de Farmacología del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN) bajo la dirección de la Dra. Martha Sonia Morales Ríos con una beca de inversión en el conocimiento otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (No 091230014).

|                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------|----|
| <b>INDICE</b>                                                | v  |
| <b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>                                 | 1  |
| <b>RESUMEN</b>                                               | 2  |
| <b>SUMMARY</b>                                               | 4  |
| <b>1. INTRODUCCION</b>                                       | 6  |
| 1.1. Química Medicinal                                       | 6  |
| 1.1.1. Diseño de Fármacos                                    | 6  |
| 1.2. Depresión                                               | 7  |
| 1.2.1 Farmacoterapia de la Depresión                         | 8  |
| 1.2.1.1 Antidepresivos Tricíclicos                           | 9  |
| 1.2.1.2 Inhibidores Selectivos de la Recaptura de Serotonina | 10 |
| 1.2.1.3 Inhibidores de Monoamino Oxidasa                     | 11 |
| 1.2.2 Imidazolinas como Agentes Terapéuticos                 | 11 |
| 1.2.3 Receptores de Imidazolina                              | 12 |
| 1.2.3.1 Receptor de Imidazolina 1 (I <sub>1</sub> )          | 13 |
| 1.2.3.2 Receptor de Imidazolina 2 (I <sub>2</sub> )          | 14 |
| 1.2.3.3 Receptor de Imidazolina 3 (I <sub>3</sub> )          | 16 |
| 1.2.4 Monoamino Oxidasa                                      | 17 |
| <b>2. JUSTIFICACIÓN</b>                                      | 20 |
| <b>3. HIPÓTESIS</b>                                          | 20 |
| <b>4. OBJETIVO</b>                                           | 20 |

|           |                                                                                                                     |           |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.1       | Objetivo General                                                                                                    | 20        |
| 4.2       | Objetivos Específicos                                                                                               | 21        |
| <b>5.</b> | <b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>                                                                                       | <b>22</b> |
| 5.1       | Preparación de Indoles <i>N</i> -Sustituidos                                                                        | 22        |
| 5.2       | Preparación de las Indolilimidazolinas <b>1a-c</b>                                                                  | 22        |
| 5.3       | Síntesis de Espirooxindoles                                                                                         | 24        |
| 5.3.1     | Preparación de 3-Acetonitriloxindoles <b>10</b> y <b>11</b>                                                         | 25        |
| 5.3.2     | Preparación de los Espirociclopropiloxindoles<br>Diastereoméricos <b>12a</b> , <b>12b</b> , <b>13a</b> y <b>13b</b> | 25        |
| 5.4       | Preparación de los Ésteres Metálicos de los<br>Espirociclopropiloxindoles <b>2</b> y <b>3</b>                       | 27        |
| 5.4.1     | Hidrólisis de Nitrilos                                                                                              | 28        |
| 5.4.2     | Esterificación                                                                                                      | 28        |
| 5.4.3     | Transformación de Nitrilos a Ésteres                                                                                | 29        |
| 5.4.3.1   | Determinación de la Configuración Relativa                                                                          | 30        |
| <b>6.</b> | <b>EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIDEPRESIVA</b>                                                                     | <b>34</b> |
| 6.1       | Perspectivas                                                                                                        | 34        |
| <b>7.</b> | <b>PARTE EXPERIMENTAL</b>                                                                                           | <b>36</b> |
| 7.1       | Procedimiento General para la Obtención de las Indolilimidazolinas<br><b>1a-c</b>                                   | 37        |

|                                                            |    |
|------------------------------------------------------------|----|
| 7.2 Procedimiento General para la Obtención de los Ésteres |    |
| Espirociclopropiloxindoles <b>2a, 2b, 3a y 3b</b>          | 39 |
| <b>8. CONCLUSIONES</b>                                     | 41 |
| <b>9. REFERENCIAS</b>                                      | 42 |
| <b>10. ANEXO</b>                                           | 46 |

**LISTA DE ABREVIATURAS**

|                  |                                                           |
|------------------|-----------------------------------------------------------|
| AMP <sub>c</sub> | Adenosin monofosfato cíclico                              |
| α2AR             | Receptor alfa 2 adrenérgico                               |
| ATP              | Adenosin trifosfato                                       |
| CF               | Cromatografía flash                                       |
| DA               | Dopamina                                                  |
| DAG              | Diacilglicerol                                            |
| eq               | Equivalentes                                              |
| GABA             | Ácido γ-aminobutírico                                     |
| 4-HQ             | 4-Hidroxiquinolina                                        |
| 5-HT             | Serotonina                                                |
| I <sub>1</sub>   | Receptor de imidazolina tipo 1                            |
| I <sub>2</sub>   | Receptor de imidazolina tipo 2                            |
| I <sub>3</sub>   | Receptor de imidazolina tipo 3                            |
| IMAO             | Inhibidor de la monoamino oxidasa                         |
| IRSNs            | Inhibidores de la recaptura de serotonina y noradrenalina |
| ISRS             | Inhibidor selectivo de la recaptura de serotonina         |
| MAO              | Monoamino oxidasa                                         |
| MRVL             | Medula rostral ventrolateral                              |
| NA               | Noradrenalina                                             |
| PLC              | Fosfolipasa C                                             |
| RMN              | Resonancia magnética nuclear                              |
| SERT             | Transportador de serotonina                               |
| SNC              | Sistema nervioso central                                  |



## RESUMEN

Aproximadamente 1 de cada 5 personas experimenta un episodio de depresión en algún momento de su vida. A pesar de la prevalencia de la depresión y su considerable impacto, el conocimiento de su fisiopatología es rudimentario comparado con el conocimiento de otras condiciones multifactoriales crónicas comunes y potencialmente fatales como la diabetes tipo 2. Un episodio de depresión mayor es caracterizado por un estado de ánimo disminuido o una inhabilidad para experimentar placer (anhedonia) o ambos, por más de 2 semanas, combinado con otros síntomas cognitivos y vegetativos y la aparición de malestar o deterioro.

Los antidepresivos más recientes pueden clasificarse como (a) inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRSs); (b) inhibidores de la recaptura de serotonina y noradrenalina (IRSNs); (c) inhibidores selectivos de la recaptura de norepinefrina; (d) inhibidores reversibles de la monoamino oxidasa (IMAOs); (e) antagonistas del receptor 5-hidroxitriptofano (5-HT<sub>2</sub>); (f) agonistas del receptor 5-HT<sub>1a</sub>; (g) miméticos del ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA); (h) antagonistas e inhibidores de la recaptura de dopamina.

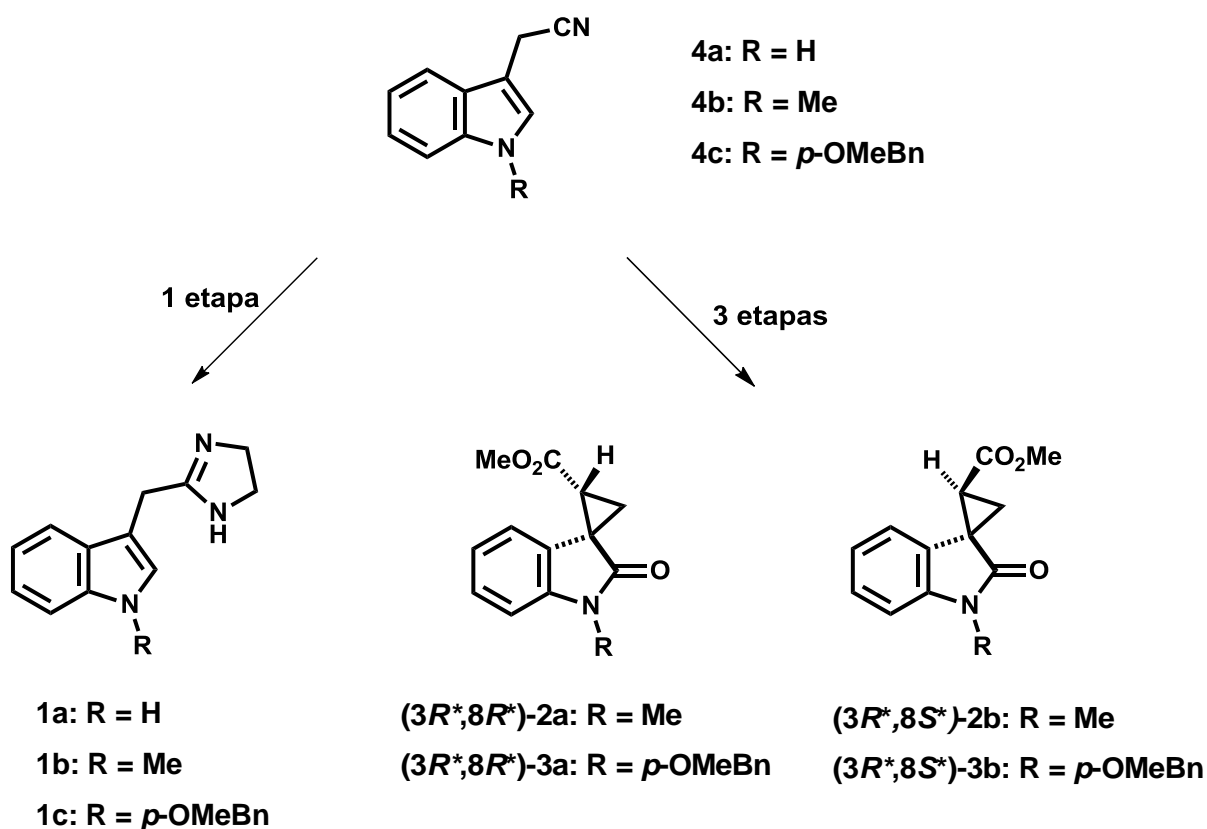
En particular, los ISRSs como la fluoxetina, paroxetina y citalopram son extensamente usados en el tratamiento de desórdenes psiquiátricos. Los ISRSs actúan inhibiendo los transportadores de serotonina (SERT) conduciendo al aumento de la transmisión serotoninérgica. Sin embargo, el mecanismo a través del cual ellos ejercen un efecto antidepresivo permanece incierto. Se arguye que la eficacia antidepresiva de los ISRSs puede involucrar sitios de unión al receptor de imidazolina y estos sitios se han propuesto como un nuevo blanco terapéutico para el tratamiento de desórdenes depresivos.

Los inhibidores de la MAO, tales como la iproniazida y derivados de la hidrazina, se encuentran entre los primeros antidepresivos en ser descubiertos. Los IMAOs clínicamente disponibles incluyen inhibidores reversibles e irreversibles, entre ellos

destaca la moclobemida como inhibidor reversible. Existe evidencia creciente de que los indoles oxidados, el oxindol y la istatina endógenos son IMAOs. Los IMAOs son particularmente efectivos en el tratamiento de la depresión atípica.

Es por lo anterior que en este trabajo se diseñaron y sintetizaron algunos derivados de indolilimidazolinas **1a-c** y espirociclopropiloxindoles **2a**, **2b**, **3a** y **3b** como candidatos interesantes para su futura evaluación como posibles ISRSs y/o IMAOs en vías de descubrir nuevos fármacos antidepresivos.

Las indolilimidazolinas **1a-c** y los espirociclopropiloxindoles **2a**, **2b**, **3a** y **3b** se prepararon a partir del 3-acetonitrilindol **4a-c** pertinente, como se muestra abajo.



## SUMMARY

Nearly 1 in 5 people will experience a major depressive episode at some point in their lives. Despite the prevalence of depression and its considerable impact, knowledge about its pathophysiology is rudimentary compared with knowledge of other common chronic and potentially fatal multi factorial conditions, such as type 2 diabetes. A major depressive episode is characterized by a low mood or an inability to experience pleasure (anhedonia), or both, for more than 2 weeks, combined with several cognitive and vegetative symptoms and the occurrence of distress or impairment.

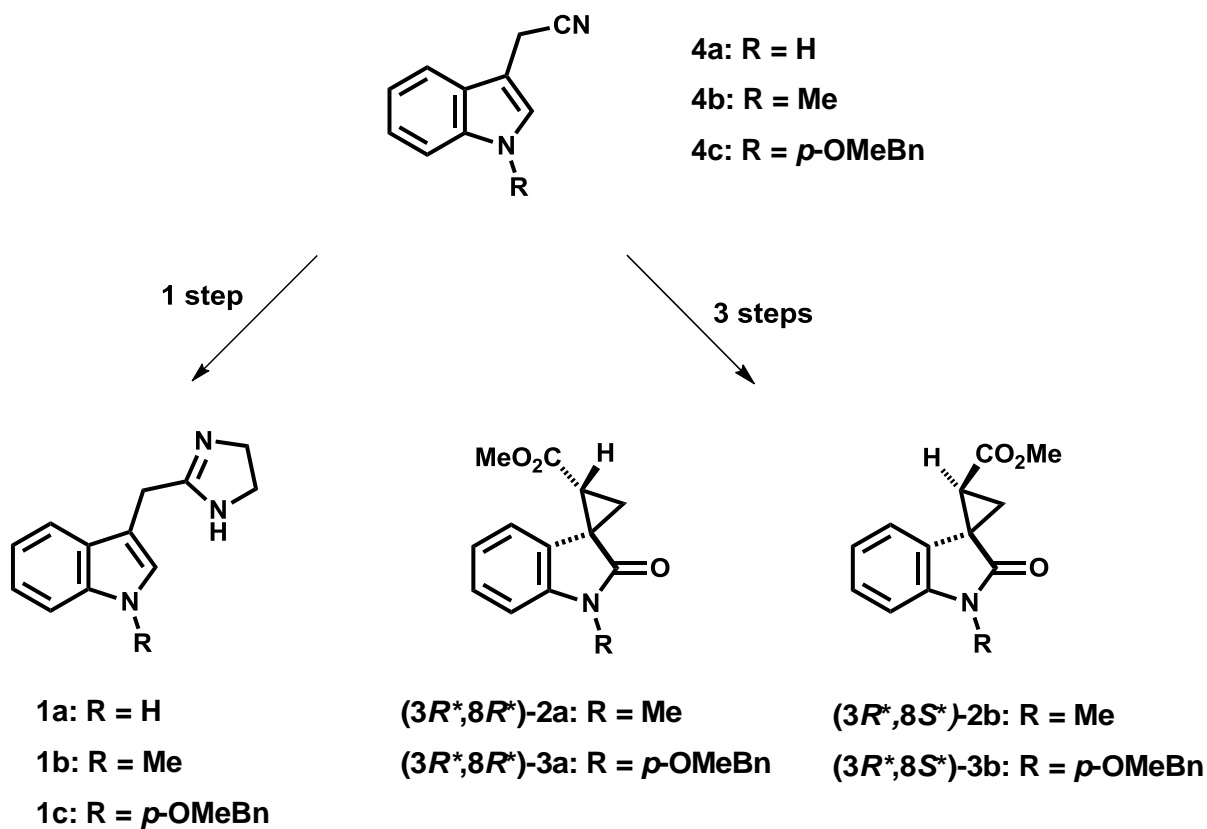
The newer antidepressants could be classified as (a) selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs); (b) serotonin and noradrenaline reuptake inhibitors (SNRIs); (c) selective norepinephrine reuptake inhibitors; (d) reversible inhibitors of monoamine oxidase (IMAOs); (e) 5-hydroxytryptophan (5-HT<sub>2</sub>) receptor antagonists; (f) 5-HT<sub>1a</sub> receptor agonists; (g)  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) mimetics; (h) dopamine reuptake inhibitors and antagonists

In particular, the SSRIs such as fluoxetine, paroxetine and citalopram are widely used in the treatment of psychiatric disorders. SSRIs act inhibiting brain serotonin transporters (SERT) leading to enhanced serotonergic transmission. However, the mechanism through which they exert antidepressant effect remains uncertain. It has been argued that antidepressive efficacy of SSRIs may involve imidazoline receptor binding sites and these sites have been proposed as novel therapeutic targets for the treatment of depressive disorders.

The monoamine oxidase inhibitors, such as iproniazid and hydrazine derivatives, are between the first antidepressants being discovery. Clinically available MAOIs inhibited monoamine oxidase irreversibly and reversibly, with moclobemide as notable reversible inhibitor. There is increasing evidence that endogenous oxidized indoles, oxindole and isatin are MAOIs. The MAOIs are particularly effective in treating atypical depression.

In the present study i designed and synthesized some indolyimidazoles and spirocylopropyloxindoles as candidates for evaluation as possible ISRSs y/o MAOIs in the aim to discover new antidepressive drugs.

The indolyimidazoles **1a-c** and the spirocylopropyloxindoles **2a**, **2b**, **3a** and **3b** were prepared from the pertinent 3-acetonitrilindol **4a-c**, as shown below.



# **1. INTRODUCCION**

## **1.1. Química Medicinal**

Desde el advenimiento de la medicina y la utilización del método científico para tratar enfermedades se descubrieron e identificaron principios activos que desencadenan actividad terapéutica. Fue debido a estos conocimientos empleados que se desarrollaron nuevas ramas dentro de la farmacología, como la química medicinal. Esta rama de la farmacología se encarga del diseño, desarrollo, síntesis y mecanismo de acción de compuestos biológicamente activos, para tratar, curar o diagnosticar enfermedades, por lo cual se ha convertido en una herramienta indispensable en la farmacología y la medicina actual.

### **1.1.1 Diseño de Fármacos**

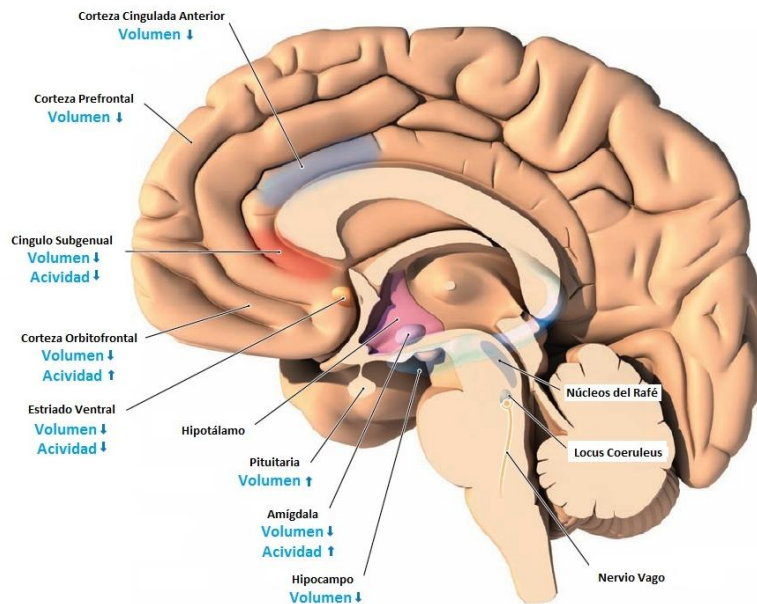
Para generar nuevos medicamentos es necesario el diseño de nuevos compuestos, con mejores efectos terapéuticos así como la disminución del riesgo de efectos adversos, comparándolos con los fármacos utilizados por excelencia. Un método por el que se desarrollan nuevos fármacos es la evaluación de la relación estructura actividad. Este método se basa en poder realizar modificaciones químicas a un compuesto, del cual se conoce su actividad biológica, y así afectar sus propiedades fisicoquímicas e inherentemente sus efectos biológicos como son la actividad, potencia, toxicidad y selectividad. Una vez obtenido el fármaco que mejores resultados arroja en las pruebas preclínicas, que son aquellas en las cuales se administra el fármaco en animales, se pasa a los ensayos clínicos, para encontrar si existen signos de toxicidad, efectos adversos, la obtención de la ventana terapéutica y si el fármaco muestra el efecto propuesto. Cuando se cumplan estos requisitos puede ser aprobado como un nuevo medicamento para tratar el padecimiento para el cual fue hecho como

pueden ser Alzheimer, cáncer, Parkinson y trastornos depresivos entre muchos otros.

## 1.2 Depresión

La depresión es una de las principales causas de discapacidad en el mundo; este trastorno provoca una disminución en el estado de ánimo de las personas que lo padecen que puede ser temporal, permanente o crónico. Algunas de sus características son la anhedonia, pérdida de interés, baja autoestima y sentimiento de culpabilidad. Este padecimiento afecta a toda la población del mundo en general, aunque es más prevalente su incidencia en el sexo femenino. Se predice que en el 2020 pasará a ser la segunda causa de discapacidad en el mundo. El origen de la patofisiología de la depresión es desconocida (**Shelton, 2007**), aunque se han propuesto algunas teorías que expliquen el origen de este trastorno como la hipótesis de las monoaminas, que afirma que una disminución en la cantidad de neurotransmisores monoamínicos como son la serotonina (5-HT), noradrenalina (NA) desencadenaría la depresión. Esta hipótesis surgió debido a que los primeros medicamentos que fueron utilizados para tratar la depresión incrementaban los niveles de neurotransmisores monoamínicos. Existen además otras hipótesis que atribuyen procesos neurodegenerativos que participan en la aparición de la depresión (**Nestler et al., 2008**).

Estudios realizados a personas deprimidas han revelado una gran diversidad de anomalías y desregulaciones en las redes y núcleos cerebrales, por lo que se ha llegado a la conclusión de que las hipótesis actuales acerca de las causas de la depresión son demasiado simplistas y no pueden explicar totalmente todas estas variaciones encontradas (Figura 1) (**Rot et al., 2009**).



**Figura 1.** Anormalidades encontradas en diferentes regiones del cerebro de pacientes con depresión. Se han observado cambios en el volumen de regiones como la corteza cingulada anterior, corteza prefrontal e hipocampo así como también se observan cambios tanto en volumen como en actividad en el cíngulo subgenual, corteza orbitofrontal, estriado ventral y amígdala.

### 1.2.1 Farmacoterapia de la Depresión

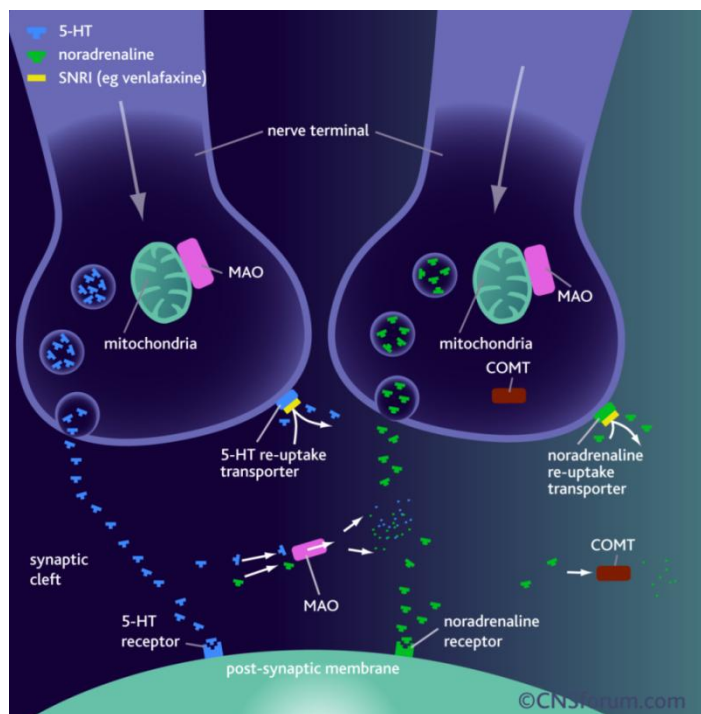
En el tratamiento de la depresión, los estudios realizados en los últimos 70 años, han vislumbrado a diferentes proteínas como blancos terapéuticos que están asociadas a este trastorno, entre las que tenemos a los transportadores de serotonina, transportadores de noradrenalina, la monoamino oxidasa y algunos receptores de serotonina.

Existen 3 grupos principales de medicamentos utilizados para tratar la depresión: los antidepresivos tricíclicos, los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina y los inhibidores de la monoamino oxidasa.

### 1.2.1.1 Antidepresivos Tricíclicos

El grupo de fármacos antidepresivos tricíclicos fue descubierto gracias a pruebas realizadas en pacientes psicóticos agitados. En dichos ensayos se encontró que la imipramina, un compuesto que se esperaba tuviera efectos sedantes o hipnóticos, no tuvo ningún efecto con dichos pacientes, pero al ser administrado a pacientes deprimidos se observó una mejoría significativa en su estado de ánimo, siendo este hecho el inicio del desarrollo de los antidepresivos tricíclicos.

El mecanismo por el cual actúan estos medicamentos es inhibiendo el transportador de serotonina y noradrenalina, aumentando así los niveles extracelulares de estos neurotransmisores y su señalización (Figura 2).

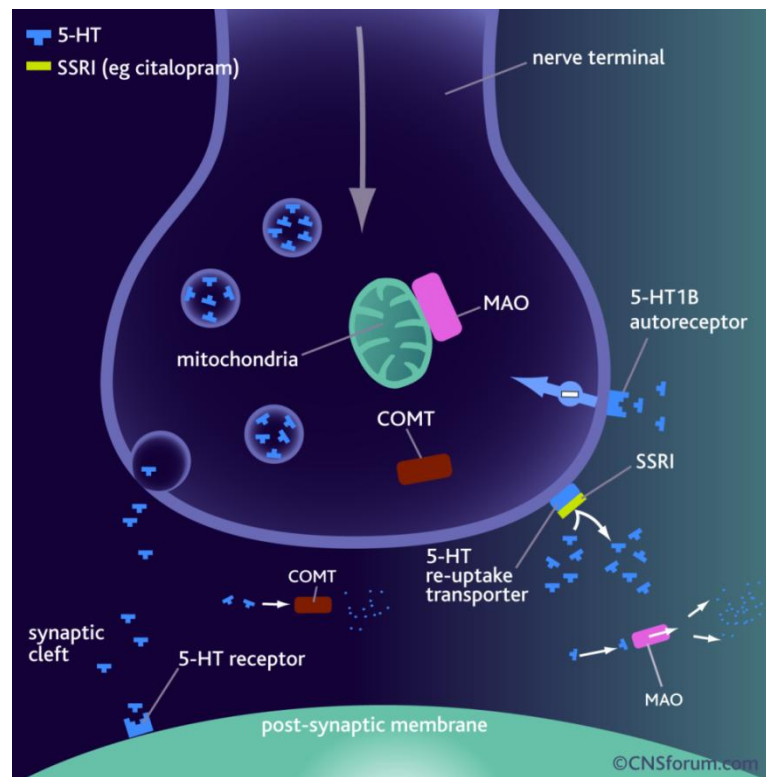


**Figura 2.** Mecanismo de acción de los antidepresivos tricíclicos.



### 1.2.1.2 Inhibidores Selectivos de la Recaptura de Serotonina

Los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS) se obtuvieron después de realizar modificaciones químicas sobre los inhibidores tricíclicos. Los ISRS actúan inhibiendo los transportadores de 5-HT, permitiendo un aumento en la transmisión serotoninérgica en varias regiones subcorticales. Se ha argumentado que la eficacia antidepressiva de los ISRS puede implicar la modulación de otros neurotransmisores y/o sistemas de receptores además de su efecto directo sobre la señalización serotoninérgica (Figura 3).

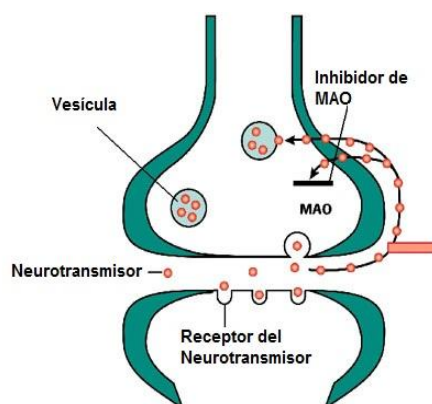


**Figura 3.** Mecanismo de acción de los ISRS.

### 1.2.1.3 Inhibidores de Monoamino Oxidasa

Los inhibidores de MAO fueron los primeros fármacos utilizados para tratar la depresión, se observó que la iproniazida mejoraba el estado de ánimo de pacientes tuberculosos, posteriormente se encontró que estos fármacos inhibían la MAO.

La MAO se encarga de metabolizar neurotransmisores monoamínicos, la disminución del metabolismo de estos neurotransmisores provoca un aumento en los niveles de estas monoaminas dentro del SNC, por lo que pueden desencadenar su actividad biológica, dando como resultado un efecto antidepresivo, situación que va de la mano con la teoría de las monoaminas (Figura 4).

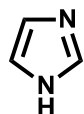


**Figura 4.** Mecanismo de acción de los inhibidores de la MAO.

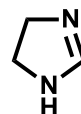
### 1.2.2 Imidazolinas como Agentes Terapéuticos

El anillo heterocíclico tipo imidazol o imidazolina, incluyendo sus tautómeros, es de gran interés biológico debido a la potencial actividad antidepresiva de sus derivados. Por ejemplo, derivados de dihidroimidazolil tioureas **5**, imidazolil tienopiranos **6**, imidazolil pirimidinas **7** y de benzoimidazolil oxadiazoles **8** están implicados en la potencial terapia de una gran diversidad de desórdenes

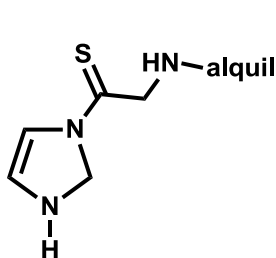
neurológicos como agentes antidepresivos, anti-Alzheimer, anti-Parkinson, antipsicóticos, neuroprotectores y en desórdenes del sueño.



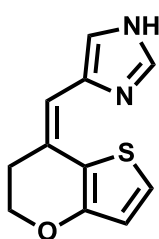
Imidazol



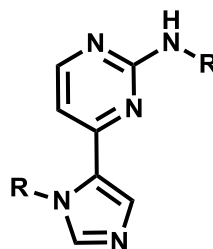
Imidazolina



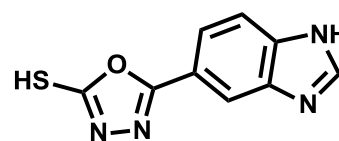
5



6



7



8

### 1.2.3 Receptores de Imidazolina

Bousquet en 1984 descubrió que la clonidina ejercía efectos antihipertensivos de una forma diferente a la activación de receptores adrenérgicos (**Ernsberger et al., 1997**). Este hallazgo denotó la existencia de otros receptores que provocaban efectos antihipertensivos y que no eran activados por catecolaminas. Trabajos posteriores les acuñaron el nombre de receptores o sitios de unión de imidazolina, que son altamente afines por la estructura de imidazolina.

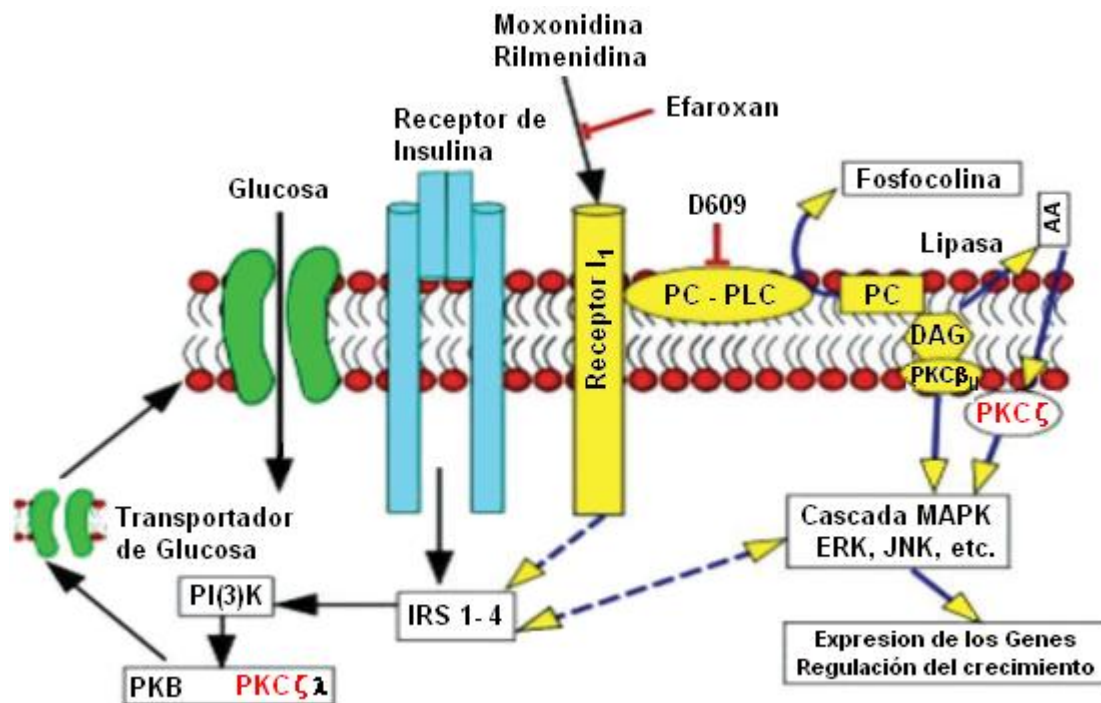
Existe mucha evidencia que favorece la implicación de sitios de unión de imidazolina en la patofisiología de la depresión y estos sitios se han propuesto como nuevos blancos terapéuticos para el tratamiento de desórdenes depresivos (**Nogueira et al., 2010**).

Los receptores de imidazolina son los únicos sitios de unión de alta afinidad no adrenérgicos que existen en 3 principales subclases ( $I_1$ ,  $I_2$  and  $I_3$ ) basados en su selectividad al ligando, distribución subcelular y función fisiológica. El sitio de unión  $I_2$  se caracterizó originalmente usando [ $^3$ H]-idazoxan.  $I_2$  un modulador alostérico que se encuentra extensamente distribuido en el cerebro y se localiza en la MAO. La enzima, como se mencionó anteriormente, provoca la desaminación oxidativa de neurotransmisores como la 5-HT, NA, dopamina (DA) y aminos exógenas. Muchos ligandos del receptor de imidazolinas  $I_2$  han mostrado inhibir la actividad de la MAO. Estudios recientes han demostrado que la depresión mayor está asociada a la desregulación de receptores de imidazolina y son normalizados por tratamiento crónico con antidepresivos, incluyendo los ISRSs. Los compuestos que se unen a los receptores  $I_2$  poseen un componente estructural de imidazolina.

#### 1.2.3.1 Receptor de Imidazolina 1 ( $I_1$ )

Los receptores  $I_1$  se encuentran distribuidos en el cerebro con alta densidad en el estriado, pálido y el giro dentado del hipocampo, amígdala y sustancia negra (**Taksande et al., 2009**). Estos receptores  $I_1$  se han visto altamente implicados en la regulación del tono vasomotor, así como en el mecanismo de acción de algunos antihipertensivos lo que ha hecho que reciban mucha atención. Los efectos hipotensivos atribuidos a estos receptores son debido a que sus ligandos incrementan la liberación de catecolaminas actuando sobre la medula rostral ventrolateral (MRVL) por medio de la activación de receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos ( $\alpha_2$ AR). La activación de los  $\alpha_2$ AR inhibe presinápticamente las neuronas de la medula rostral ventrolateral, región del cerebro que se encarga principalmente de regular la presión sanguínea por lo que también se le conoce como la médula de la presión (**Ernsberger et al., 1997**).

La cascada de señalización por la que estos receptores  $I_1$  actúan aún se encuentra en estudios; no obstante, los receptores  $I_1$  han demostrado estar acoplados a proteína G porque los ligandos de  $I_1$ , generan una disminución dosis dependiente en el adenosin monofosfato cíclico ( $AMP_c$ ) estimulado por forskolina (Nikolic et al., 2008). Sin embargo, también se ha encontrado evidencia que propone que este receptor active la vía fosfatidilcolina-fosfolipasa C (PLC), y participe en la vía de las MAP-K (Figura 5) (Fenton et al., 2006).



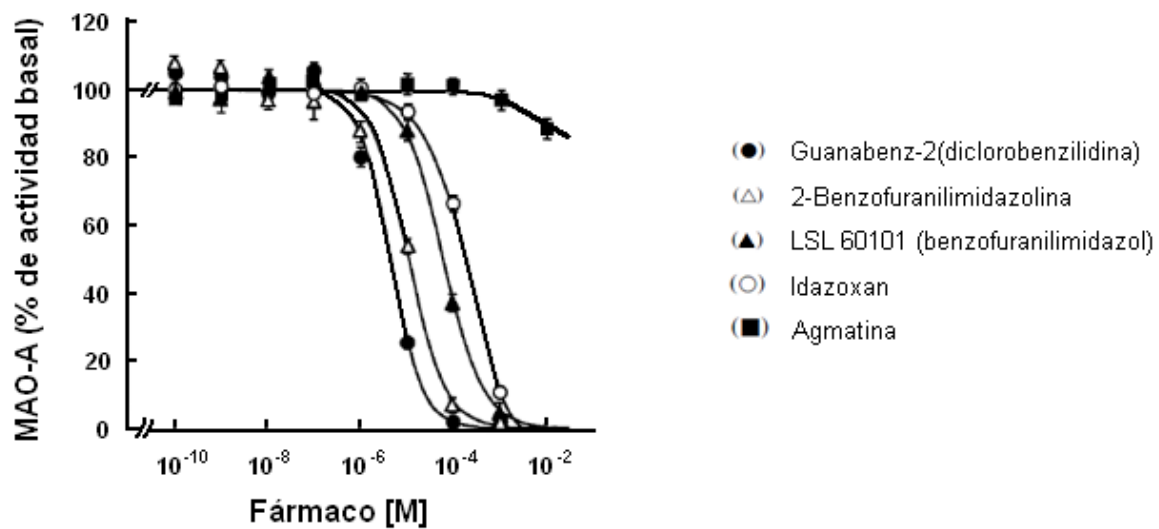
**Figura 5.** Posible mecanismo del receptor  $I_1$ , involucrado en la vía de señalización fosfatidilcolina.

### 1.2.3.2 Receptor de Imidazolina 2 ( $I_2$ )

Este tipo de receptor ha sido localizado como dominios dentro de la enzima MAO en la membrana externa de la mitocondria, funcionando como un sitio de modulación alostérica de la enzima, aunque estudios recientes radiográficos

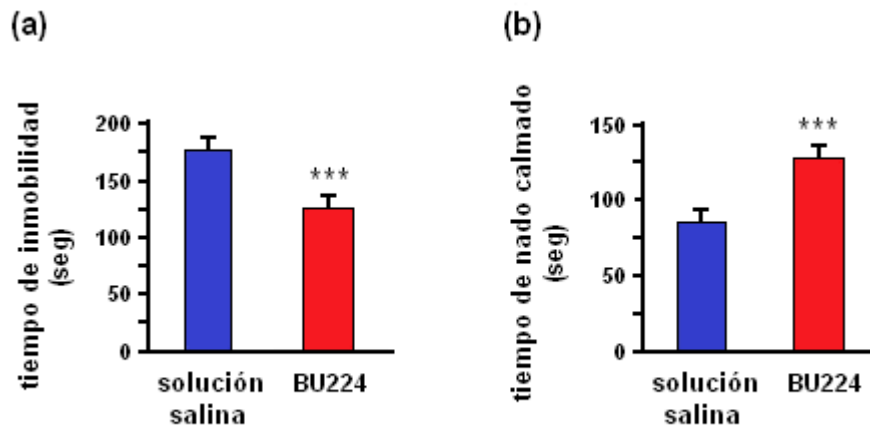
sugieren que existen como receptores no mitocondriales. Existe una gran cantidad de ligandos de  $I_2$ , pero lamentablemente muchos de ellos también se unen al receptor  $I_1$  y a receptores adrenérgicos. Una forma de distinguir entre  $I_1$  e  $I_2$  es utilizar clonidina e idaxozan dado que ambos compuestos se unen al receptor  $I_1$ , pero sólo la idaxozan se une al tipo 2. La importancia que se atribuye al receptor  $I_2$  es como antidepresivo, ya que se ha demostrado que se encuentra presente en una subpoblación de la proteína MAO, regulando su actividad de una forma alostérica. Los sitios de unión de  $I_2$  se encuentran altamente distribuidos tanto en el SNC como en tejidos periféricos.

Ensayos realizados en pruebas sobre MAO de hígado de ratón revelaron que existe una inhibición de la enzima dosis dependiente debido al efecto de compuestos de imidazolina (Gráfica 1) (Ozaita et al., 1997).



**Gráfica 1.** Inhibición de la actividad de la MAO-A por compuestos de imidazol(ina)/guanidina en hígado de rata.

En trabajos recientes se ha encontrado que la administración de BU224, un ligando selectivo del receptor  $I_2$ , presenta efectos antidepresivos en ratas expuestas al estrés del nado forzado, el cual es un modelo animal para las pruebas de nuevos fármacos con posible actividad antidepresiva. (Figura 6) (Finn et al., 2003).

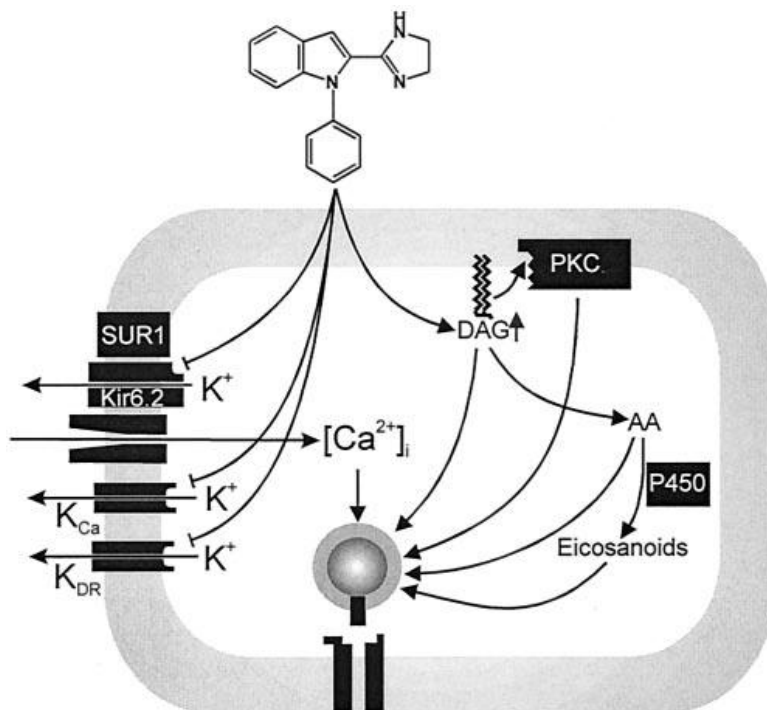


**Figura 6.** Efecto de BU224 (10 mg/kg IP) en: (a) tiempo de inmovilidad y (b) tiempo de nado calmado en ratas en la prueba de nado forzado. Valores expresados como la media (n = 8). Comparando ratas tratadas con BU224 y ratas control con solución salina.

### 1.2.3.3 Receptor de Imidazolina 3 ( $I_3$ )

Los receptores  $I_3$  solo han sido identificados en las células  $\beta$ -pancreáticas que es el menos caracterizado de los 3 tipos. Su activación conduce al incremento de la secreción de insulina, posiblemente a través de un mecanismo que involucra al canal de potasio sensible al adenosin trifosfato (ATP), haciéndolo un posible blanco para tratar la diabetes (Zaitsev et al., 2002). En la figura 7, se ilustra una célula  $\beta$ -pancreática y el posible mecanismo de acción del derivado imidazólico RX871024, que podría intervenir en la regulación de varios canales de  $K^+$  y llevar

a la membrana a un potencial de disparo. También se propone que el RX871024 podría participar en la vía de señalización de diacilglicerol (DAG). Estos 2 eventos pueden generar un incremento en los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular y activar a las proteínas que participan en la fusión de las vesículas insulínicas con la membrana celular, induciendo así la secreción de insulina.



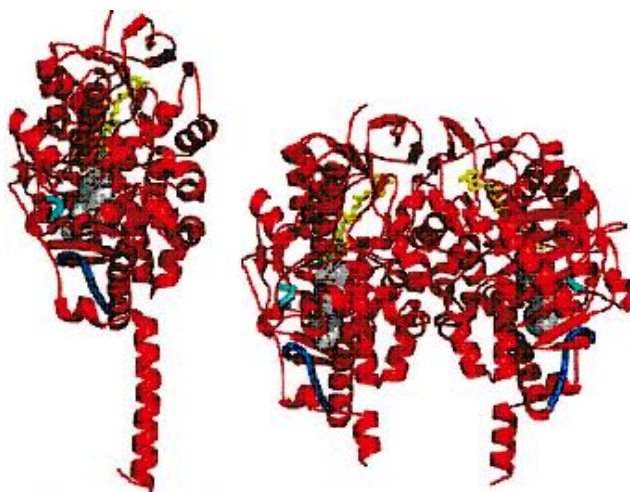
**Figura 7.** Mecanismo molecular de la actividad insulínica del compuesto imidazólico RX871024.

#### 1.2.4 Monoamino Oxidasa

La monoamino oxidasa es la enzima clave que está asociada al metabolismo de las monoaminas, regulando su concentración intracelular en el cerebro. Por lo tanto se considera que la función anormal de esta enzima está implicada en varios desórdenes psiquiátricos, tales como depresión, desorden obsesivo compulsivo,



pánico y otras condiciones (Nogueira et al., 2010). Esta enzima se encuentra ubicada en la membrana externa de la mitocondria, que existe en 2 isoformas la MAO A y B (Figura 8) (Mattevi et al., 2005), ambas isoformas tienen sus propios sustratos específicos así como sus inhibidores específicos (Tabla 1). Existen además trabajos que describen la participación de derivados imidazolínicos que pueden regular la actividad enzimática de la MAO (McDonald et al., 2010).



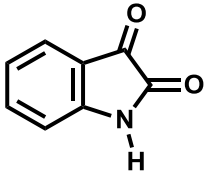
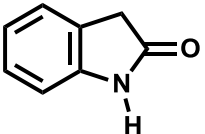
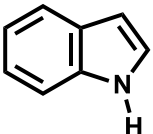
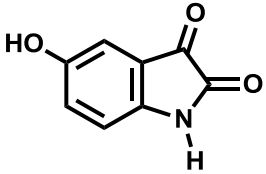
**Figura 8.** Isoformas de la MAO A (monómero) y la MAO B (dímero).

**Tabla 1.** Especificidad de las 2 isoformas de MAO.

| Isoformas | Especificidad                          | Inhibidor Selectivo     | Uso Terapéutico         |
|-----------|----------------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| MAO-A     | adrenalina, noradrenalina y serotonina | clorgilina, moclobemida | antidepresivo           |
| MAO-B     | $\beta$ -feniletilamina, benzilamina   | selegilina              | enfermedad de Parkinson |

También se ha demostrado que ciertos compuestos oxindólicos endógenos inhiben la actividad enzimática de ambas isoformas de la MAO (**Crumeyrolle-Arias et al., 2004; Medvedev et al., 1992**) (Tabla 2).

**Tabla 2.** Concentración inhibitoria 50 (CI<sub>50</sub>) de compuestos oxindólicos sobre las 2 isoformas de la MAO.

| Estructura                                                                          | Nombre           | CI <sub>50</sub> (μM) |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------|-----------------------|-----------|
|                                                                                     |                  | MAO A                 | MAO B     |
|   | isatina          | 56 ± 0.2              | 7.9 ± 0.4 |
|  | oxindol          | 100                   | 73 ± 13   |
|  | indol            | 100                   | 100       |
|  | 5-hidroxiisatina | 8.4 ± 1.4             | 100       |

## **2. JUSTIFICACIÓN**

A pesar de los avances en el tratamiento de la depresión aún existen muchos inconvenientes clínicos con respecto a la eficacia y los efectos secundarios, tales como disminución en el perfil de efectos adversos (disfunción sexual y eventos gastrointestinales), eficacia en pacientes refractarios, remisión del tratamiento (recuperación, recaída y recurrencia), aparición más rápida de la acción antidepressiva. Por lo anterior, nuevos derivados de imidazolininas pueden ser de valor terapéutico para el tratamiento de dichas enfermedades depresivas.

## **3. HIPÓTESIS**

La presencia del farmacóforo imidazolina en derivados del indol ó de un anillo de espirociclopropano en derivados del oxindol generará compuestos capaces de ejercer una acción inhibitoria selectiva de la recaptura de serotonina y/o una acción inhibitoria de la MAO en vías de descubrir nuevos fármacos antidepressivos.

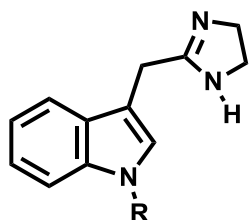
## **4. OBJETIVO**

### **4.1 Objetivo General**

Diseñar y sintetizar una serie de derivados de indolimidazolininas y espirooxindoles en vías de descubrir nuevos fármacos antidepressivos. Realizar la caracterización espectrográfica de los productos finales e intermedios.

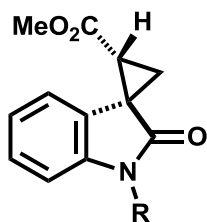
## 4.2 Objetivos Específicos

1. Sintetizar indolilimidazolininas usando dos metodologías:
  - a) Por reacción de un 3-acetonitrilindol con etilendiamina.
  - b) Por reacción de un 3-acetonitrilindol con ácido clorhídrico gas y metanol para dar intermediarios tipo iminoéteres ó imidatos, seguido de tratamiento con la etilendiamina.



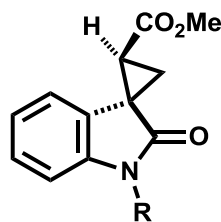
- 1a: R = H  
 1b: R = Me  
 1c: R = *p*-OMeBn

2. Sintetizar espirociclopropiloxindoles diastereoméricos a partir de un 3-acetonitrilindol en una secuencia de cuatro reacciones que incluyen oxidación, espirociclopropanación, hidrólisis y esterificación.



**(3*R*<sup>\*</sup>,8*R*<sup>\*</sup>)-2a: R = Me**

**(3*R*<sup>\*</sup>,8*R*<sup>\*</sup>)-3a: R = *p*-OMeBn**



**(3*R*<sup>\*</sup>,8*S*<sup>\*</sup>)-2b: R = Me**

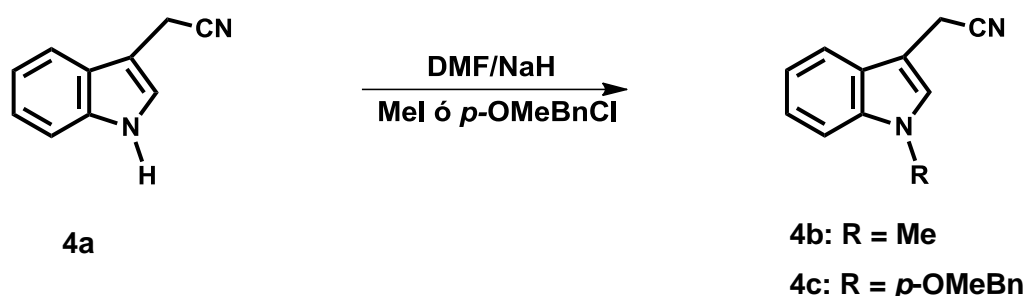
**(3*R*<sup>\*</sup>,8*S*<sup>\*</sup>)-3b: R = *p*-OMeBn**

3. Determinar la configuración relativa de los 2 centros estereogénicos de los espirociclopropiloxindoles diastereoméricos (3*R*<sup>\*</sup>,8*R*<sup>\*</sup>)-**2a**, **3a** y (3*R*<sup>\*</sup>,8*S*<sup>\*</sup>)-**2b**, **3b** por RMN de <sup>1</sup>H y difracción de rayos-X.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 Preparación de Indoles *N*-Sustituidos

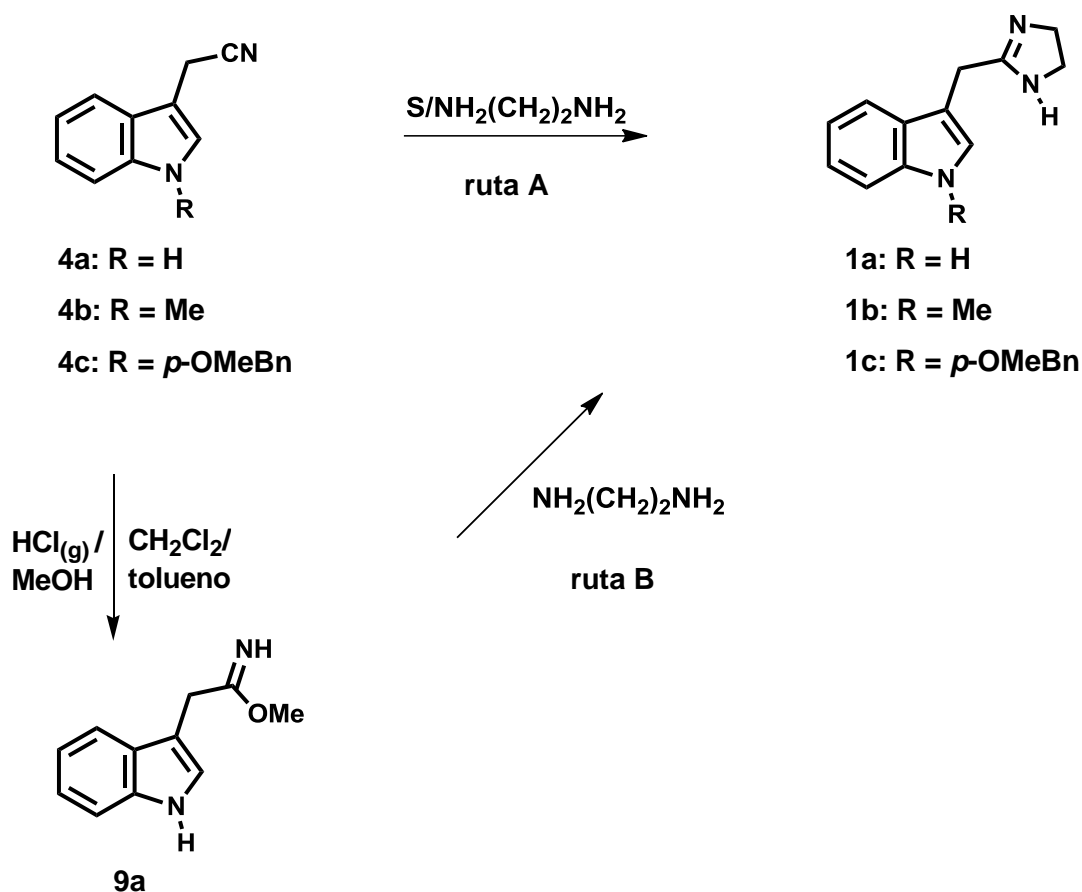
La alquilación del 3-acetonitrilindol (**4a**) se llevó a cabo por *N*-metilación o *N*-bencilación para dar los 3-acetonitrilindoles *N*-sustituidos **4b** y **4c** en rendimientos del 80% y 86%, respectivamente (Esquema 1).



**Esquema 1.** Síntesis de indoles *N*-sustituidos **4b** y **4c**.

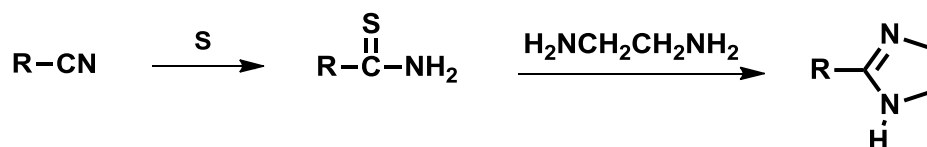
### 5.2 Preparación de las indolilimidazolininas **1a-c**

Se sabe que el anillo de imidazolina se puede obtener a partir de alquil y arilnitrilos vía la formación de imidatos intermedios, por lo que en un primer intento (ruta A) se trató al 3-acetonitrilindol (**4a**) con MeOH anhidro y burbujeo constante de HCl gas en diclorometano. En estas condiciones se obtuvo el imidato **9a**, que al ser tratado con etilendiamina bajo reflujo dió la indolilimidazolina deseada **1a** en rendimiento del 40%. Cabe señalar que en general los imidatos son inestables a temperatura ambiente, lo que podría influir en el bajo rendimiento global de la reacción. Alternativamente, el tratamiento directo de **4a** a reflujo de etilendiamina usando azufre como catalizador (Gholap et al., 2008) dió **1a** en rendimiento significativamente mejorado del 80% (ruta B). Con base en estos resultados la preparación de las indolilimidazolininas **1b** y **1c** se realizó siguiendo el segundo procedimiento, tal como se muestra en el Esquema 2.



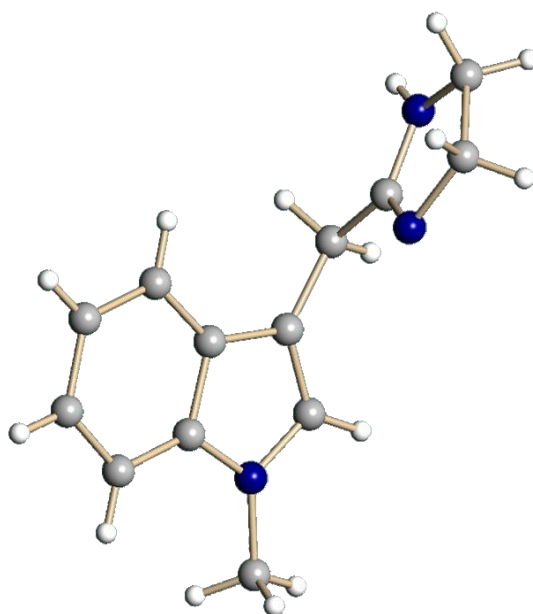
**Esquema 2.** Síntesis de 3-indolylimidazolinas **1a-1c**.

La transformación del grupo nitrilo al anillo imidazólico (ruta B) se lleva a cabo vía la formación del intermediario electrófilo tioamida que es susceptible de ser atacado *in situ* por la etilendiamina, seguido de una ciclación intramolecular para formar el anillo heterocíclico como se muestra el Esquema 3.



**Esquema 3.** Mecanismo propuesto para la obtención del anillo de imidazolina catalizada por azufre a partir de nitrilos

Los espectros de RMN  $^1\text{H}$  (en  $\text{CDCl}_3$ ) de las indolilimidazolininas **1a-c** muestran para el anillo imidazolinico la presencia de una señal simple en ca.  $\delta$  3.5 ppm que integra para cuatro hidrógenos debida a los dos grupos metileno y una señal ancha en ca.  $\delta$  4.2 ppm que se asigna al hidrógeno unido a nitrógeno, en tanto que la señal debida al metileno de la cadena en C3 aparece en ca.  $\delta$  3.7 ppm. La estructura de la indolilimidazolinina **1b** se confirmó por análisis cristalográfico de rayos-X (Figura 9, Tabla 5 en la página 33).



**Figura 9.** Difracción de rayos-X de la indolilimidazolinina **1b**.

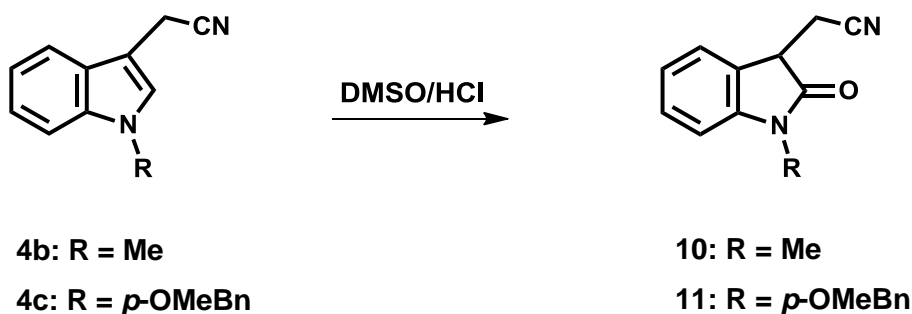
### 5.3 Síntesis de Espirooxindoles

La construcción de sistemas de anillos espirocíclicos es de gran interés debido a que existen como unidades básicas en un número importante de productos de origen natural y de sintéticos que presentan una variedad de actividades biológicas (Jiang et al., 2006; Robertson et al., 1987). Los métodos de

preparación de espirooxindoles se pueden dividir en dos categorías: los que incluyen la síntesis del sistema indólico o bien aquellos en donde el sistema espirocíclico se construye a partir de precursores que contengan el sistema indólico. Estos últimos son los más frecuentes y parten de sustratos tales como indoles, 3-metilenoxindoles, oxindoles, isatinas y diazooxindoles. En este trabajo se usaron oxindoles como sustrato, específicamente los 3-acetonitriloxindoles **10** y **11**.

### 5.3.1 Preparación de 3-Acetonitriloxindoles **10** y **11**

Los 3-acetonitriloxindoles **10** y **11** se prepararon por oxidación de los 3-acetonitrilindoles **4b** y **4c** con DMSO/HCl siguiendo un procedimiento previamente descrito (**Morales-Ríos et al., 2007**), con rendimientos de 89% y 50% respectivamente (Esquema 4).



**Esquema 4.** Preparación de los 3-acetonitriloxindoles **10** y **11**.

### 5.3.2 Preparación de los Espirociclopropiloxindoles Diastereoméricos **12a**, **12b**, **13a** y **13b**

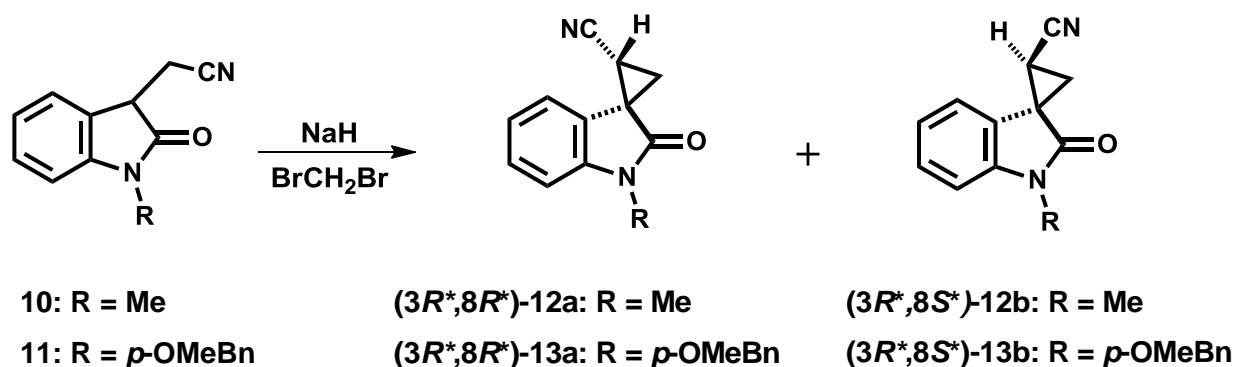
Los diastereoisómeros o diastereómeros son una clase de estereoisómeros que no son superponibles pero tampoco son imagen especular uno del otro, es decir,



no son enantiómeros. Los diastereoisómeros difieren en sus propiedades físicas y químicas. Por ello pueden separarse mediante procedimientos de destilación, cristalización o cromatografía. Si un compuesto posee dos carbonos quirales, como es el caso de **12** y **13**, se obtendrán diastereómeros cambiando la configuración absoluta de uno de los centros quirales y manteniendo la del otro.

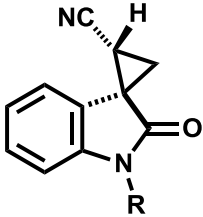
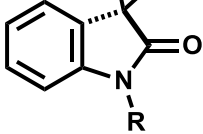
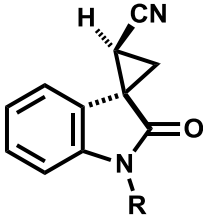
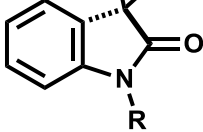
Los pares diastereoméricos  $3R^*,8R^*$ (a) y  $3R^*,8S^*$ (b) de los espirociclopropiloxindoles **12** y **13**, se prepararon por doble alquilación que resultó de tratar a los correspondientes oxindoles **10** y **11** con 1.2 equivalentes (eq) de dibromometano y 2 eq de NaH, usando como disolvente una mezcla de DMF anhidro, a temperatura ambiente durante 4 h para el oxindol **10** y 24 h para **11**, siguiendo una técnica previamente descrita (Morales-Ríos et al., 2007).

En las mezclas diastereoméricas de **12** y **13**, el estereoisómero mayoritario resultó tener la configuración relativa  $3R^*,8R^*$  (a) y corresponde al isómero menos polar ( $R_f$  mayor). La relación diastereomérica (rd)  $3R^*,8R^*/3R^*,8S^*$  es de 2:1 en **12** y de 4:1 en **13**, según se determinó por RMN de  $^1\text{H}$  y espectrometría de masa del crudo de reacción. La separación de los diastereómeros en mezcla  $3R^*,8R^*/3R^*,8S^*$  se realizó por cromatografía flash (CF) (Tabla 3). La atribución de la estereoquímica relativa se basó en la determinación de la proximidad espacial de hidrógenos característicos, específicamente H4, H8 y H9, usando la secuencia NOESY.



**Esquema 5.** Preparación de los espirociclopropiloxindoles **12** y **13**.

**Tabla 3.** Resultados de la reacción de espirociclización.

| Compuesto                                                                         | R               | Estereoquímica relativa | Rend % |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------|-------------------------|--------|
|  | Me              | $R^*, R^*$              | 64     |
|  | <i>p</i> -OMeBn | $R^*, R^*$              | 59     |
|  | Me              | $R^*, S^*$              | 28     |
|  | <i>p</i> -OMeBn | $R^*, S^*$              | 16     |

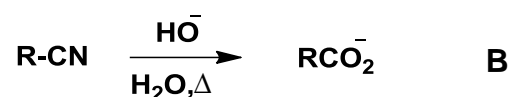
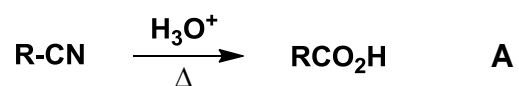
Los datos espectroscópicos de los diastereómeros *N*-metilados ( $3R^*, 8R^*$ )-**12a** y ( $3R^*, 8S^*$ )-**12b** concuerdan con los descritos en la literatura, en tanto que aquellos debidos a  $3R^*, 8R^*$ -**13a** y  $3R^*, 8S^*$ -**13b** se describen en la parte experimental.

#### 5.4 Preparación de los Ésteres Metílicos de los Espirociclopropiloxindoles 2 y 3

Usualmente la conversión de nitrilos a ésteres requiere numerosas etapas como son hidrólisis, aislamiento, esterificación, purificación, lo cual no sólo es tedioso sino tiende a disminuir el rendimiento.

### 5.4.1 Hidrólisis de Nitrilos

Una de las reacciones más utilizadas de los nitrilos es su hidrólisis a ácidos carboxílicos. Esta reacción tiene lugar en presencia de un ácido (**A**) o de una base (**B**) fuertes, y en ambos casos el producto intermedio es una amida, que no puede ser aislada a menos que su velocidad de hidrólisis sea inferior a la del nitrilo inicial.

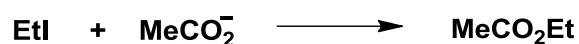


### 5.4.2 Esterificación

Los ésteres se obtienen por reacción de ácidos carboxílicos y alcoholes en presencia de ácidos minerales. La reacción se realiza en exceso de alcohol para desplazar los equilibrios. La presencia de agua es perjudicial puesto que hidroliza el éster formado.



Otro método de esterificación consiste en una sustitución nucleofílica, utilizando como nucleófilo el ion carboxilato. Esta reacción funciona bien con sustratos primarios y secundarios.

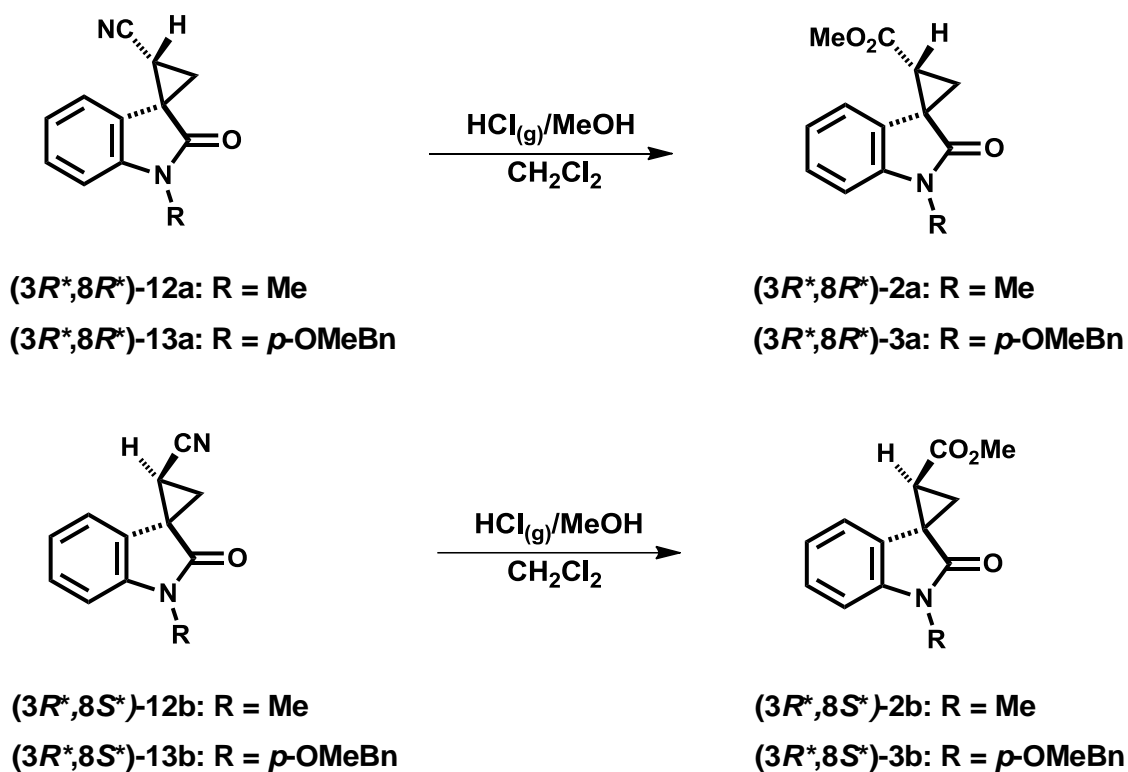


### 5.4.3 Transformación de Nitrilos a Ésteres

La transformación directa de grupos ciano a ésteres, aunque de manera escasa, se ha descrito previamente usando ácidos de Lewis como el trifloruro de boro eterato ( $\text{BF}_3 \text{OEt}_2$ ) y cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) (Srinivasan et al., 2006; Jayachitra et al; 2003). En ambas metodologías la reacción se realiza bajo reflujo del alcohol pertinente.

En este trabajo se usó un método para obtener ésteres a partir de nitrilos con cloruro de hidrógeno ( $\text{HCl g}$ ) y  $\text{MeOH}$  (Esquema 6). La reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente para dar una mezcla ca. 1:1 del éster metílico y el ácido carboxílico correspondientes.

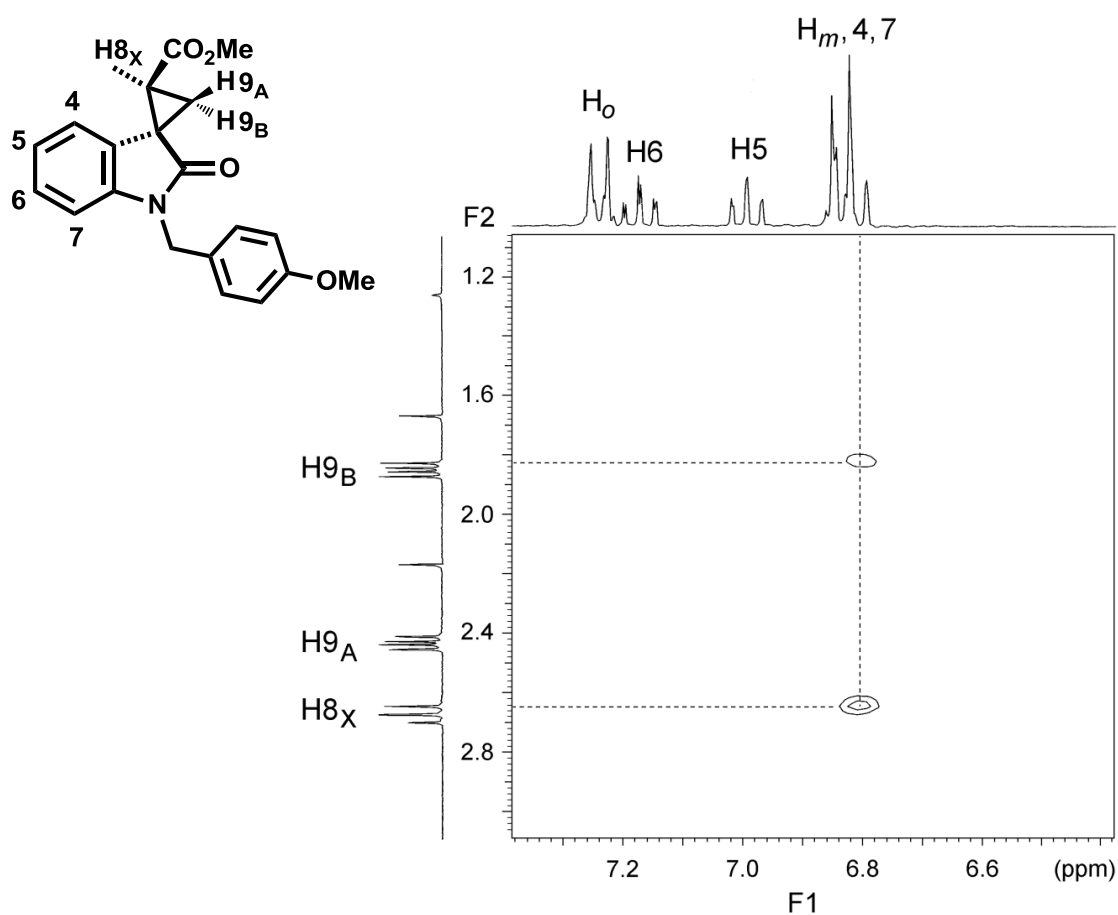
Cabe enfatizar que la reacción de transformación del nitrilo al éster procede con completo control de la estereoquímica, de tal manera que el tratamiento de los nitrilos diastereoméricos ( $3R^*,8R^*$ )-**12a**, ( $3R^*,8S^*$ )-**12b**, ( $3R^*,8R^*$ )-**13a** y ( $3R^*,8S^*$ )-**13b** con  $\text{HCl g}$  y  $\text{MeOH}$  generó los correspondientes ésteres diastereoméricos ( $3R^*,8R^*$ )-**2a**, ( $3R^*,8S^*$ )-**2b**, ( $3R^*,8R^*$ )-**3a** y ( $3R^*,8S^*$ )-**3b**, no observándose trazas de epimerización, tal como se determinó por análisis de CG/EM y RMN  $^1\text{H}$  de los crudos de reacción. Estos resultados evidencian que bajo las condiciones de reacción no ocurre equilibración del diastereómero inicial y que la estereoquímica de los pares diastereoméricos **2a/2b** y **3a/3b** es independiente de la estabilidad termodinámica relativa.



**Esquema 6.** Preparación de los ésteres metílicos de los espirociclopropiloxindoles **2** y **3**.

#### 5.4.3.1 Determinación de la Configuración Relativa

La atribución sin ambigüedad de la configuración relativa de los pares diastereoméricos  $3R^*,8R^*/3R^*,8S^*$  de **2** y **3** se basó en la determinación de la proximidad espacial de hidrógenos característicos usando la secuencia NOESY, con atención particular enfocada a los hidrógenos H4, H8<sub>x</sub>, H9<sub>A</sub> y H9<sub>B</sub>. Así, los compuestos  $3R^*,8R^*$  (**2a** y **3a**) muestran correlaciones NOESY entre H4/H9<sub>B</sub>. En concordancia, los compuestos  $3R^*,8S^*$  (**2b** y **3b**) presentan picos de correlación entre H4/H8<sub>x</sub> y H4/H9<sub>B</sub> (Figura 10).



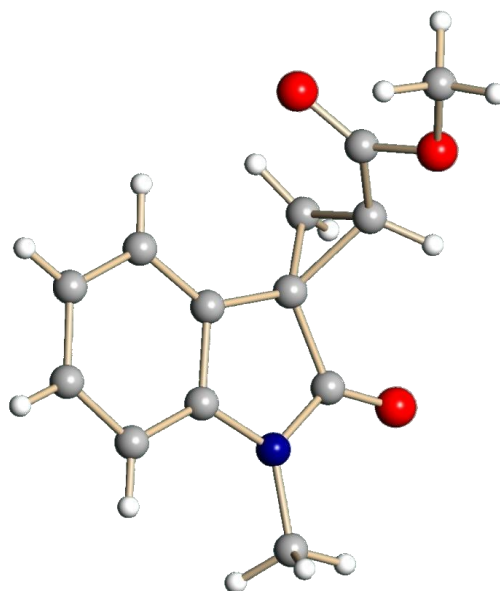
**Figura 10.** Espectro parcial NOESY de **3b**.

Los espectros de RMN  $^1\text{H}$  de **2a** y **3a** (Tabla 4) muestran, para los hidrógenos del anillo de ciclopropano, constantes de acoplamiento geminal  $^2J_{AB} = 4.5 \pm 0.2$  Hz y vicinales  $^3J_{AX} = 8.6 \pm 0.2$  Hz y  $^3J_{BX} = 7.4 \pm 0.2$  Hz, en tanto que **2b** y **3b** muestran constantes de acoplamiento geminal  $^2J_{AB} = 5.0$  Hz y vicinales  $^3J_{AX} = 8.1$  Hz y  $^3J_{BX} = 8.5 \pm 0.1$  Hz debidas a los hidrógenos del anillo de ciclopropano.

**Tabla 4.** Desplazamientos de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ ) y constantes de acoplamiento ( $J$ , Hz) selectos (anillo de ciclopropano) de **2a**, **b** y **3a**, **b**.

| Compuesto                 | $\delta_X$ | $\delta_A$ | $\delta_B$ | $J_{AX}$ | $J_{BX}$ | $J_{AB}$ |
|---------------------------|------------|------------|------------|----------|----------|----------|
| $(3R^*,8R^*)$ - <b>2a</b> | 2.71       | 2.02       | 2.15       | 8.5      | 7.3      | 4.4      |
| $(3R^*,8S^*)$ - <b>2b</b> | 2.65       | 2.38       | 1.84       | 8.1      | 8.6      | 5.0      |
| $(3R^*,8R^*)$ - <b>3a</b> | 2.78       | 2.04       | 2.18       | 8.8      | 7.6      | 4.7      |
| $(3R^*,8S^*)$ - <b>3b</b> | 2.68       | 2.44       | 1.85       | 8.1      | 8.4      | 5.0      |

La estereoquímica relativa del diastereómero  $(3R^*,8R^*)$ -**2a** se confirmó por análisis cristalográfico de rayos-X (Figura 11, Tabla 5).



**Figura 11.** Difracción de rayos-X del éster metílico del espirociclopropiloxindol  $(3R^*,8R^*)$ -**2a**.

**Tabla 5.** Datos cristalográficos de **1b** y **(3*R*\*,8*R*\*)-2a**.

| Compuesto                                   | <b>1b</b>                                      | <b>(3<i>R</i>*,8<i>R</i>*)-2a</b>               |
|---------------------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| fórmula                                     | C <sub>13</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> | C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>3</sub> |
| peso molecular                              | 213.28                                         | 231.24                                          |
| sistema cristalino                          | Monoclínico                                    | Monoclínico                                     |
| grupo espacial                              | p2 <sub>1</sub> /c                             | C2/c                                            |
| radiación                                   | CuKα<br>(λ = 1.54184 Å)                        | CuKα<br>(λ = 1.54184 Å)                         |
| tamaño del cristal (mm)                     | 0.20 x 0.10 x 0.08                             | 0.30 x 0.20 x 0.14                              |
| a (Å)                                       | 10.573(1)                                      | 9.924(2)                                        |
| b (Å)                                       | 5.192(2)                                       | 16.162(2)                                       |
| c (Å)                                       | 20.521(7)                                      | 14.847(2)                                       |
| β (°)                                       | 91.86(14)                                      | 100.61(1)                                       |
| V (Å <sup>3</sup> )                         | 1125.9(6)                                      | 2340.6(6)                                       |
| Dcal. (mg/m <sup>3</sup> )                  | 1.26                                           | 1.312                                           |
| Z                                           | 4                                              | 8                                               |
| F (000)                                     | 456                                            | 976                                             |
| μ (mm <sup>-1</sup> )                       | 0.603                                          | 0.733                                           |
| temperatura (°K)                            | 293(2)                                         | 293(2)                                          |
| intervalo de θ (°)                          | 4.18-59.93                                     | 5.30-59.92                                      |
| reflexiones colectadas                      | 2044                                           | 3844                                            |
| reflexiones únicas                          | 1651                                           | 1684                                            |
| refl.refinamiento final                     | 1651                                           | 1422                                            |
| parámetros refinados                        | 155                                            | 160                                             |
| R (F), R (W) (%)                            | 5.6, 14.8                                      | 6.4, 16.5                                       |
| F bondad de ajuste (F <sup>2</sup> )        | 1.033                                          | 1.056                                           |
| densidad elect. residual (eÅ <sup>3</sup> ) | 0.198                                          | 0.206                                           |

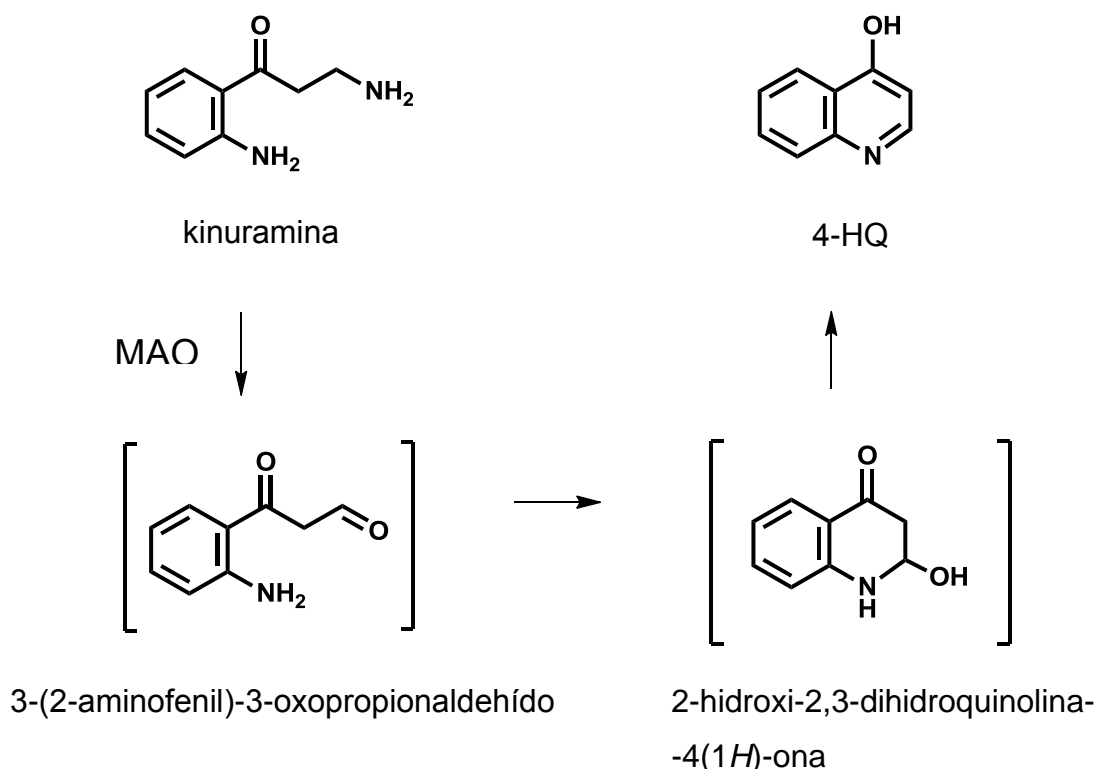


## 6. EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIDEPRESIVA

### 6.1 Perspectivas

Para evaluar la posible actividad antidepresiva de las indolimidazolinas **1a-c** y los espirociclopropiloxindoles **2a, 2b, 3a y 3b** se podrían hacer ensayos tanto *in vitro* como *in vivo*. Dentro de las pruebas *in vitro* se podría realizar el ensayo de inhibición de la MAO.

En dicho ensayo los compuestos con actividad antidepresiva inhiben la desaminación de la kinuramina catalizada por la MAO, disminuyendo así la formación de la 4-hidroxiquinolina (4-HQ) (Figura 12). De esta forma la 4-HQ se utiliza como marcador de la actividad enzimática de MAO. La cuantificación de la 4-HQ formada puede ser realizada mediante un análisis por GC/EM/EM (Yan et al., 2004).



**Figura 12.** Transformación de kinuramina a 4-HQ catalizada por la MAO.

Las pruebas *in vivo*, realizadas en modelos animales podrían incluir la suspensión de la cola, el nado forzado y el déficit social, entre otros. Estos ensayos determinan el potencial antidepresivo del compuesto a evaluar en función del cambio conductual de los animales.

Adicionalmente, se podrían realizar ensayos para determinar el tipo de inhibición enzimática, ya sea competitiva, alostérica o mixta

## 7. PARTE EXPERIMENTAL

Todas las materias primas fueron adquiridas de Sigma-Aldrich Chemical Co. y utilizadas sin purificación adicional. Los disolventes fueron grado reactivo y en el caso de la DMF, ésta fue secada de acuerdo a procedimientos establecidos en el laboratorio. La cromatografía en capa fina se llevó a cabo en placas precoladas con sílica gel 60 F254 con indicador fluorescente (Merck Chem. Co.) y los compuestos se visualizaron con luz ultravioleta a 254 nm. Los compuestos se purificaron en columna por cromatografía flash utilizando sílica gel 60 (230-400 mallas, Merck Chem. Co.). Los disolventes fueron purificados de acuerdo a procedimientos estándar. Los puntos de fusión se midieron en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos.

*Mediciones por CG/EM.* Las mediciones por CG/EM se efectuaron en un cromatógrafo de gases Varian CP3800 acoplado a un detector de masa selectivo Varian Saturn 2000. Se usó una columna cromatográfica capilar CP-SIL 5 de 30 m de largo y 0.25 mm d.i, cubierta en su capa interna con un soporte de sílica de 0.25  $\mu\text{m}$ .

*Determinación de los espectros de IR.* Los espectros de infrarrojo se obtuvieron en un espectrofotómetro Buck Scientific modelo 500 IR en solución de  $\text{CHCl}_3$ .

*Determinación de los espectros de RMN.* Los espectros de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  fueron obtenidos en espectrómetros Varian Mercury operados a 300 y 74.5 MHz respectivamente, utilizando  $\text{SiMe}_4$  como referencia interna. La multiplicidad de señales se indica por medio de una o más de las siguientes abreviaciones: *a* (ancha), *s* (simple), *d* (doble), *t* (triple), *m* (múltiple), *p* (sobrepuesta) *nd* (no detectada).

*Determinación de las estructuras cristalinas por rayos-X.* Las estructuras de rayos-X se determinaron en un difractómetro Bruker-Nonius CAD4 con radiación de Cu-K ( $\lambda = 0.7073 \text{ \AA}$ ). Los datos se procesaron mediante el paquete de programas SAINT. Las estructuras se resolvieron por métodos directos usando los programas

SHELXS97 incluidos en el paquete de programas cristalográfico WinGX v1.64.05. El refinamiento estructural se llevó a cabo por matrices totales de mínimos cuadrados en  $P^2$ . Los átomos pesados fueron tratados anisotrópicamente y los hidrógenos, incluidos en el factor estructura, se refinaron isotrópicamente.

## 7.1 Procedimiento General para la Obtención de las Indolilimidazolininas 1a-1c

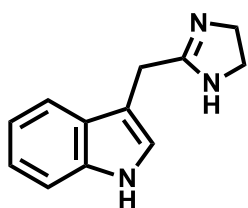
### Método A.

En un matraz provisto de refrigerante y agitador se vertió una solución del acetonitrilindol **4a** (2 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 mL). A esta solución se le adicionó MeOH anhidro (2 mL) y se sometió a burbujeo constante de HCl durante 2 h. Se agregó éter etílico (2 mL) y la mezcla resultante se mantuvo a  $-5\text{ }^\circ\text{C}$  durante 12 h. Transcurrido el tiempo se agregó etilendiamina (2 eq) y la mezcla resultante se calentó bajo reflujo durante 4 h. Una vez concluido el tiempo de reacción, se agregó agua (10 mL). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 25 mL). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con solución saturada de NaCl (3 x 10 mL), se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y evaporaron a presión reducida. El residuo de color amarillo se purificó por CF.

### Método B.

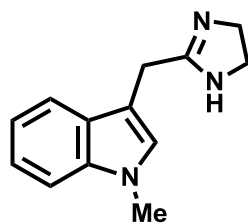
Siguiendo el procedimiento descrito (**Gholap et al., 2008**), en un matraz provisto de refrigerante y agitador se adicionó el acetonitrilindol **4a-4c** (1.6 mmol) y azufre (0.4 mmol, 0.25 eq) y a la mezcla resultante se le adicionó etilendiamina (2.5 mL). La mezcla se calentó bajo reflujo durante 2.5 -3 h. Transcurrido el tiempo de reacción, el exceso de etilendiamina se removió a presión reducida en un aparato Kugelrohr a  $40\text{ }^\circ\text{C}$  y el residuo se disolvió en  $\text{CHCl}_3$  (10 mL). La mezcla se lavó con agua (3 x 15 mL) y la fase orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y

evaporó a presión reducida en un rotavapor. El residuo se purificó por CF (MeOH/AcOEt 4:1) para dar una miel amarilla pálida, que con el tiempo solidifica parcialmente. Los datos de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  de **1a-1c** se describen en las Tablas 6 y 7, respectivamente, en el Anexo.



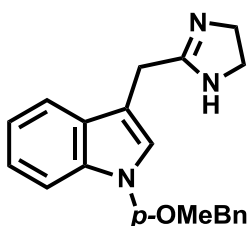
### 3-(4,5-Dihidro-1*H*-imidazol-2-ilmetil)-1*H*-indol **1a**

Se preparó a partir de **4a** (250 mg, 1.6 mmol). La miel parcialmente solidificada se cristalizó de acetona/hexano. Se obtuvieron 262 mg (1.32 mmol) (82%) de un sólido incoloro: pf 130-132 °C (Lit. 132 °C, **Dash et al., 2004**);  $R_f = 0.31$  (MeOH/NEt<sub>3</sub> 95:5); EMIE  $m/z$  199 (55), 198 (100), 130 (58). IR (CHCl<sub>3</sub>)  $\nu_{\text{max}}$  3479, 3433, 1624 cm<sup>-1</sup>. El espectro de RMN  $^1\text{H}$  se muestra en la Figura 13 del Anexo.



### 3-(4,5-Dihidro-1*H*-imidazol-2-ilmetil)-1-metil-1*H*-indol **1b**

Se preparó a partir de **4b** (275 mg, 1.6 mmol). La miel parcialmente solidificada se cristalizó de acetona/hexano. Se obtuvieron 190 mg (0.89 mmol) (56%) de cristales amarillo pálido: pf 117-120 °C;  $R_f = 0.61$  (MeOH/NEt<sub>3</sub> 95:5); EMIE  $m/z$  214 (100). IR (CHCl<sub>3</sub>)  $\nu_{\text{max}}$  3433, 1624 cm<sup>-1</sup>. El espectro de RMN  $^1\text{H}$  se muestra en la Figura 14 del Anexo.



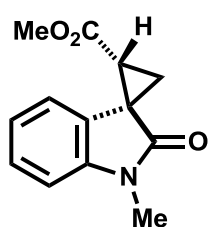
### 3-(4,5-Dihidro-1*H*-imidazol-2-ilmetil)-1-(4-metoxibencil)-1*H*-indol **1c**

Se preparó a partir de **4c** (450 mg, 1.6 mmol). Se obtuvieron 260 mg (0.82 mmol) (50%) de una miel incolora:  $R_f = 0.23$  (MeOH/NEt<sub>3</sub> 95:5); EMIE  $m/z$  319 (32), 121 (100). IR (CHCl<sub>3</sub>)

$\nu_{\max}$  3435, 1615  $\text{cm}^{-1}$ . El espectro de RMN  $^1\text{H}$  se muestra en la Figura 15 del Anexo.

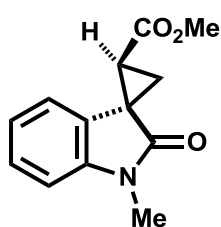
## 7.2 Procedimiento General para la Obtención de los Ésteres Espirociclopropiloxindoles 2a, 2b, 3a y 3b

En un matraz de dos bocas se adicionó una solución del correspondiente espirociclopropiloxindol sustituido por un grupo ciano **12a**, **12b**, **13a** ó **13b** (2 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , (2 mL) y MeOH (2 mL). La solución se mantuvo bajo burbujeo constante de HCl gas durante 2 h y se dejó a temperatura ambiente durante 12 h. Una vez transcurrido el tiempo de reacción el precipitado formado se filtró y el filtrado se diluyó con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y se lavó con una solución saturada de NaCl (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y evaporó a presión reducida. Los datos de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  de **2a-2c** se describen en las Tablas 8 y 9, respectivamente, en el Anexo.



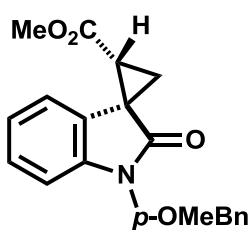
**(3*R*\*,8*R*\*)-1'-Metil-2'-oxo-1',2'-dihidroespiro[ciclopropano-1,3'-indol]-2-carboxilato de metilo 2a.**

Se preparó a partir de **12a** (100 mg, 0.5 mmol). Se purificó por CF ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). Se obtuvieron 67 mg (0.29 mmol) (58%) de un sólido amarillento: pf 85-89 °C;  $R_f$  = 0.22 (hexano/acetona 4:1); EMIE  $m/z$  231 (100), 199 (40), 171 (56). IR ( $\text{CHCl}_3$ )  $\nu_{\max}$  1730, 1710  $\text{cm}^{-1}$ . El espectro de RMN  $^1\text{H}$  se muestra en la Figura 16 del Anexo.



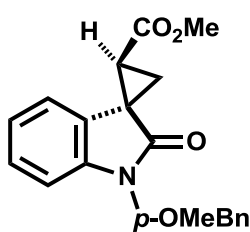
**(3R\*,8S\*)-1'-Metil-2'-oxo-1',2'-dihidroespiro[ciclopropano-1,3'-indol]-2-carboxilato de metilo 2b.**

Se preparó a partir de **12b** (100 mg, 0.5 mmol). Se purificó por CF (hexano/acetona 9:1). Se obtuvieron 85 mg (0.37 mmol) (73%) de un sólido blanco: pf 119-120 °C;  $R_f = 0.18$  (hexano/acetona 4:1); EMIE  $m/z$  231 (54), 199 (52), 171 (100), 144 (51). IR (CHCl<sub>3</sub>)  $\nu_{max}$  1745, 1713 cm<sup>-1</sup>. El espectro de RMN de <sup>1</sup>H se muestra en la Figura 17 del Anexo.



**(3R\*,8R\*)-1'-(4-Metoxibencil)-2'-oxo-1',2'-dihidroespiro[ciclopropano-1,3'-indol]-2-carboxilato de metilo 3a.**

Se preparó a partir de **13a** (150 mg, 0.5 mmol). Se purificó por CF (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Se obtuvieron 132 mg (0.39 mmol) (79%) de una miel amarilla pálida;  $R_f = 0.25$  (hexano/acetona 4:1); EMIE  $m/z$  337 (8), 251 (25), 121 (100). IR (CHCl<sub>3</sub>)  $\nu_{max}$  1733, 1709 cm<sup>-1</sup>. El espectro de RMN de <sup>1</sup>H se muestra en la Figura 18 del Anexo.



**(3R\*,8S\*)-1'-(4-Metoxibencil)-2'-oxo-1',2'-dihidroespiro[ciclopropano-1,3'-indol]-2-carboxilato de metilo 3b.**

Se preparó a partir de **13b** (150 mg, 0.5 mmol) se purificó por CF (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/acetona 9.8/0.2). Se obtuvieron 80 mg (0.24 mmol) (48%) de una miel amarilla pálida;  $R_f = 0.17$  (hexano/acetona); EMIE  $m/z$  337 (9), 251 (28), 121 (100). IR (CHCl<sub>3</sub>)  $\nu_{max}$  1744, 1713 cm<sup>-1</sup>. El espectro de RMN de <sup>1</sup>H se muestra en la Figura 19 del Anexo.

## 8. CONCLUSIONES

- Se prepararon las indolimidazolinas **1a-c** en rendimientos del 50-80%
- La elucidación estructural de las indolimidazolinas **1a**, **1b** y **1c**, se llevó a cabo mediante análisis de sus espectros de masa, RMN de  $^1\text{H}$  y de  $^{13}\text{C}$  y difracción de rayos-X.
- Se determinaron las condiciones de reacción generales para la síntesis de los ésteres metílicos espirociclopropiloxindoles.
- Se realizó la síntesis de los ésteres metílicos espirociclopropiloxindólicos diastereoméricos con *N*-parametoxibencil y *N*-metil sustituidos **2a,b** y **3a,b** a partir de los correspondientes nitrilos, por tratamiento con HCl gas y MeOH.
- Se determinó la estereoquímica relativa de los ésteres espirociclopropiloxindoles diastereoméricos **2a,b** y **3a,b** por RMN de  $^1\text{H}$ , experimentos NOESY y difracción de rayos-X.



## 9. REFERENCIAS

Crumeyrolle-Arias M.; Tournaire M.-C.; Cane A.; Launay J.-M.; Barritault D.; Medvedev A. (2004). Inhibition of brain mitochondrial monoamine oxidases by the endogenous compound 5-hydroxyoxindole. *Biochemical Pharmacology*, 67, 977-979.

Dash P.; Kudav D. P.; Parihar J. A. (2004). Thioacetamide catalyzed transformation of nitriles to 2-substituted imidazolines. *Journal of Chemical Research*, 490-491.

Ernsberger P.; Haxhiu M. A. (1997). The I<sub>1</sub>-imidazoline-binding site is a functional receptor mediating vasodepression via the ventral medulla. *American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 273, 1572-1579.

Fenton C.; Keating G. M.; Lyseng-Williamson K. A. (2006). Moxonidine: a review of its use in essential hypertension. *Drugs*, 66, 477-496.

Finn D. P.; Martí O.; Harbuz M. S.; Vallés A.; Belda X.; Márquez C.; Jessop D. S.; Lalies M. D.; Armario A.; Nutt D. J.; Hudson A. L. (2003). Behavioral, neuroendocrine and neurochemical effects of the imidazoline I<sub>2</sub> receptor selective ligand BU224 in naive rats and rats exposed to the stress of the forced swim test. *Psychopharmacology*, 167, 195-202.

Gholap A. R.; Paul V.; Srinivasan K. V. (2008). Novel process for the synthesis of class I antiarrhythmic agent (±)-cibenzoline and its analogs. *Synthetic Communications*, 38, 2967-2982.

Jayachitra G.; Yasmeen N.; Rao K. S.; Ralte S. L.; Srinivasan R.; Singh A. K. (2003). Borontrifluoride etherate promoted one-pot conversion of nitriles to esters. *Synthetic Communications*, 33, 3461-3466.

Jiang T.; Kuhen K. L.; Wolff K.; Yin H.; Bieza K.; Caldwell J.; Bursulaya B.; Wu T.; He Y. (2006) Design, synthesis, and biological evaluations of novel oxindoles as HIV-1 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. Part I. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 16, 2105-2108.

Mattevi A.; Edmondson D. E.; Lustig A.; Binda C.; Li M.; De Colibus L. (2005). Three-dimensional structure of human monoamine oxidase A (MAO A): relation to the structures of rat MAO A and human MAO B. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102, 12684-12689.

Medvedev A. E.; Goodwin B.; Clow A.; Halket J.; Glover V.; Sandler M. (1992). Inhibitory potency of some isatin analogues on human monoamine oxidase A and B. *Biochemical Pharmacology*, 44, 590-592.

McDonald G. R.; Olivieri A.; Ramsay R. R.; Holt A. (2010). On the formation and nature of the imidazoline I<sub>2</sub> binding site on human monoamine oxidase-B. *Pharmacological Research*, 62, 475-488.

Morales-Ríos M. S.; González-Juárez D. E.; Rivera-Becerril E.; Suárez-Castillo O. R.; Joseph-Nathan P. (2007). One-pot synthesis of conformationally restricted spirooxindoles. *Tetrahedron*. 63, 7702-7707.

Nestler E. J.; Krishnan V. (2008). The molecular neurobiology of depression. *Nature*, 455, 894-902.

Nikolic K.; Filipic S.; Agbaba D. (2008). QSAR study of imidazoline antihypertensive drugs. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16, 7134-7140.

Nogueira C. W.; Jesse C. R.; Wilhelm E. A.; Bortolatto C. F. (2010). Evidence for the involvement of the noradrenergic system, dopaminergic and imidazoline receptors in the antidepressant-like effect of tramadol in mice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 95, 344-350.

Ozaita A.; Olmos G.; Boronat M. A.; Lizcano J. M.; Unzeta M.; García-Sevilla J. A. (1997). Inhibition of monoamine oxidase A and B activities by imidazol(ine)/guanidine drugs, nature of the interaction and distinction from I<sub>2</sub>-imidazoline receptors in rat liver. *British Journal of Pharmacology*, 121, 901-912.

Robertson D. W.; Krushinski J. H.; Pollock G. D.; Wilson H.; Kauffman R. F.; Hayes J. S. (1987). Dihydropyridazinone cardiotonics: synthesis and inotropic activity of 5'-(1,4,5,6-tetrahydro-6-oxo-3-pyridazinyl)-spiro[cycloalkane-1,3'-[3H]indol]-2'(1'H)-ones. *Journal of Medicinal Chemistry*, 30, 824-829.

Rot M. A. H.; Mathew S. J.; Charney D. S. (2009). Neurobiological mechanisms in major depressive disorder. *Canadian Medical Association Journal*, 180, 305-313.

Shelton R. C. (2007). The molecular neurobiology of depression. *Psychiatric Clinics of North America*, 30, 1-11.

Srinivasan R.; Rao K. S.; Jayachitra G.; Ralte S. L. (2006). Iron (III) chloride-promoted direct conversion of aryl/alkyl cyanides to esters. *Synthetic Communications*, 36, 2883-2886.

Taksande B. G.; Kotagale N. R.; Tripathi S. J.; Ugale R. R.; Chopde C.T. (2009). Antidepressant like effect of selective serotonin reuptake inhibitors involve modulation of imidazoline receptors by agmatine. *Neuropharmacology*, 57, 415-424.

Yan Z.; Caldwell G. W.; Zhao B.; Reitz A. B. (2004). A high-throughput monoamine oxidase inhibition assay using liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Rapid Communications In Mass Spectrometry*, 18, 834-840.

Zaitsev S. V.; Berggren P.-O.; Efanov A. M.; Efendic S. (2002). Two generations of insulinotropic imidazoline compounds. *Diabetes*, 51, 448-454.

## **10. ANEXO**

**10.1 Tabla 6.** Datos de RMN de  $^1\text{H}$  de **1a, 1b y 1c**

**10.2 Tabla 7.** Datos de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **1a, 1b y 1c**

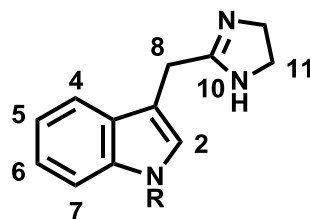
**10.3 Tabla 8.** Datos de RMN de  $^1\text{H}$  de **2a, 2b, 3a y 3b**

**10.4 Tabla 9.** Datos de RMN  $^{13}\text{C}$  de **2a, 2b, 3a y 3b**

**10.5 Figuras 13-15.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  de **1a, 1b y 1c**

**10.6 Figuras 16-19.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  de **2a, 2b, 3a y 3b**

**Tabla 6.** Datos de RMN de  $^1\text{H}$  de **1a**, **1b** y **1c** en  $\text{CDCl}_3$ . Desplazamientos químicos ( $\delta$ ) en partes por millón (ppm) y constantes de acoplamiento ( $J$ ) en Hertz.



**1a:** R = H

**1b:** R = Me

**1c:** R = *p*-OMeBn

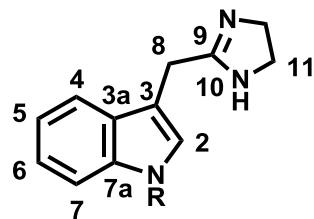
|           |          | H-2            | H-4            | H-5            | H-6            | H-7            | H-8           | H-10           | H-11          |
|-----------|----------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|----------------|---------------|
| <b>1a</b> | $\delta$ | 6.96 <i>sa</i> | 7.53 <i>dm</i> | 7.04 <i>td</i> | 7.12 <i>td</i> | 7.33 <i>dm</i> | 3.67 <i>s</i> | 4.30 <i>sa</i> | 3.45 <i>s</i> |
|           | $J$      | -              | 7.9            | 7.5, 1.2       | 7.5, 1.2       | 7.9            | -             | -              | -             |
| <b>1b</b> | $\delta$ | 7.00 <i>sa</i> | 7.63 <i>dm</i> | 7.13 <i>td</i> | 7.25 <i>td</i> | 7.31 <i>dm</i> | 3.76 <i>s</i> | 4.15 <i>sa</i> | 3.55 <i>s</i> |
|           | $J$      | -              | 8.1            | 7.4, 1.2       | 7.4, 1.2       | 8.1            | -             | -              | -             |
| <b>1c</b> | $\delta$ | 7.04 <i>sa</i> | 7.67 <i>dm</i> | 7.14 <i>td</i> | 7.20 <i>td</i> | 7.32 <i>dm</i> | 3.75 <i>s</i> | <i>nd</i>      | 3.55 <i>s</i> |
|           | $J$      | -              | 7.9            | 7.9, 1.3       | 8.0, 1.3       | 8.0            | -             | -              | -             |

**1a:** 10.13 (1H, N-H, *sa*);

**1b:** 3.76 (3H, N-Me, *s*).

**1c:** 7.08 (2H, H<sub>o</sub>, *dm*,  $J = 8.2$  Hz); 6.82 (2H, H<sub>m</sub>, *dm*,  $J = 8.8$  Hz); 5.19 (2H, CH<sub>2</sub>, *s*); 3.76 (3H, OMe, *s*).

**Tabla 7.** Datos de RMN  $^{13}\text{C}$  de **1a**, **1b** y **1c** en  $\text{CDCl}_3$ . Desplazamientos químicos ( $\delta$ ) en partes por millón (ppm).



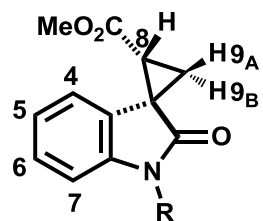
**1a:** R = H  
**1b:** R = Me  
**1c:** R = *p*-OMeBn

|           | C-2   | C-3   | C-3a  | C-4   | C-5   | C-6   | C-7   | C-7a  | C-8  | C-9   | C-11 |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|-------|------|
| <b>1a</b> | 123.5 | 108.7 | 126.9 | 118.2 | 119.2 | 121.7 | 111.5 | 136.4 | 25.5 | 167.9 | 49.2 |
| <b>1b</b> | 127.6 | 108.5 | 127.6 | 118.8 | 119.3 | 121.9 | 109.3 | 137.0 | 25.8 | 167.3 | 49.9 |
| <b>1c</b> | 126.8 | 109.2 | 127.9 | 119.0 | 119.5 | 122.1 | 109.8 | 136.6 | 26.0 | 167.2 | 50.0 |

**1b:** 32.6 (*N*-Me)

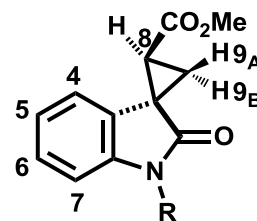
**1c:** 159.1 ( $C_p$ ); 128.4 ( $C_o$ ); 129.2 ( $C_i$ ); 114.1 ( $C_m$ ); 55.3 ( $C_{p\text{-OMe}}$ ); 49.5 ( $\text{CH}_2$ ).

**Tabla 8.** Datos de RMN de  $^1\text{H}$  de **2a**, **2b**, **3a** y **3b** en  $\text{CDCl}_3$ . Desplazamientos químicos ( $\delta$ ) en partes por millón (ppm) y constantes de acoplamiento ( $J$ ) en Hertz.



( $3R^*$ , $8R^*$ )-**2a**: R = Me

( $3R^*$ , $8R^*$ )-**3a**: R = *p*-OMeBn



( $3R^*$ , $8S^*$ )-**2b**: R = Me

( $3R^*$ , $8S^*$ )-**3b**: R = *p*-OMeBn

|           |          | H-4             | H-5            | H-6            | H-7            | H-8 <sub>x</sub> | H-9 <sub>A</sub> | H-9 <sub>B</sub> | CO <sub>2</sub> Me |
|-----------|----------|-----------------|----------------|----------------|----------------|------------------|------------------|------------------|--------------------|
| <b>2a</b> | $\delta$ | 7.34 <i>da</i>  | 7.03 <i>td</i> | 7.28 <i>td</i> | 6.87 <i>da</i> | 2.71 <i>dd</i>   | 2.02 <i>dd</i>   | 2.15 <i>dd</i>   | 3.67 <i>s</i>      |
|           | $J$      | 7.6             | 7.6, 1.2       | 7.6, 1.2       | 7.6            | 8.5, 7.3         | 8.5, 4.4         | 7.3, 4.4         | -                  |
| <b>2b</b> | $\delta$ | 6.84 <i>ddd</i> | 7.05 <i>td</i> | 7.30 <i>td</i> | 6.90 <i>da</i> | 2.65 <i>dd</i>   | 2.38 <i>dd</i>   | 1.84 <i>dd</i>   | 3.76 <i>s</i>      |
|           | $J$      | 7.5, 1.2, 0.6   | 7.5, 1.2       | 7.8, 1.2       | 7.8            | 8.6, 8.1         | 8.1, 5.0         | 8.6, 5.0         | -                  |
| <b>3a</b> | $\delta$ | 7.36 <i>da</i>  | 6.98 <i>td</i> | 7.18 <i>td</i> | 6.83 <i>p</i>  | 2.78 <i>dd</i>   | 2.04 <i>dd</i>   | 2.18 <i>dd</i>   | 3.68 <i>s</i>      |
|           | $J$      | 7.6             | 7.6, 1.2       | 7.6, 1.2       | -              | 8.8, 7.6         | 8.8, 4.7         | 7.6, 4.7         | -                  |
| <b>3b</b> | $\delta$ | 6.83 <i>p</i>   | 6.99 <i>ta</i> | 7.16 <i>td</i> | 6.80 <i>p</i>  | 2.68 <i>dd</i>   | 2.44 <i>dd</i>   | 1.85 <i>dd</i>   | 3.75 <i>s</i>      |
|           | $J$      | -               | 7.6            | 7.6, 1.2       | -              | 8.4, 8.1         | 8.1, 5.0         | 8.4, 5.0         | -                  |



**Tabla 8.** Continúa.

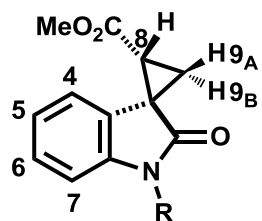
**2a:** 3.26 (3H, *N*-Me, s).

**2b:** 3.27 (3H, *N*-Me, s).

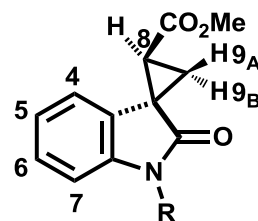
**3a:** 7.25 (2H, H<sub>o</sub>, *dm*, *J* = 8.2 Hz); 6.85 (2H, H<sub>m</sub>, *dm*, *J* = 8.8 Hz); 4.92 (2H, CH<sub>2</sub>, s); 3.76 (3H, OMe, s).

**3b:** 7.25 (2H, H<sub>o</sub>, *dm*, *J* = 8.2 Hz); 6.84 (2H, H<sub>m</sub>, *dm*, *J* = 8.8 Hz); 4.48 (2H, CH<sub>2</sub>, s); 3.75 (3H, OMe, s).

**Tabla 9.** Datos de RMN  $^{13}\text{C}$  de **2a**, **2b**, **3a** y **3b** en  $\text{CDCl}_3$ . Desplazamientos químicos ( $\delta$ ) en partes por millón (ppm).



**(3R\*,8R\*)-2a:** R = Me  
**(3R\*,8R\*)-3a:** R = *p*-OMeBn



**(3R\*,8S\*)-2b:** R = Me  
**(3R\*,8S\*)-3b:** R = *p*-OMeBn

|           | C-2   | C-3  | C-3a  | C-4   | C-5   | C-6   | C-7   | C-7a  | C-8  | C-9  | C=O   | OMe  |
|-----------|-------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|------|-------|------|
| <b>2a</b> | 174.5 | 33.5 | 125.8 | 122.5 | 122.2 | 127.6 | 108.0 | 144.1 | 32.4 | 20.6 | 169.1 | 52.1 |
| <b>2b</b> | 173.2 | 32.3 | 128.8 | 118.5 | 122.2 | 127.8 | 108.2 | 143.6 | 32.9 | 21.0 | 167.6 | 52.4 |
| <b>3a</b> | 174.7 | 33.5 | 125.8 | 122.6 | 122.2 | 127.6 | 109.0 | 143.5 | 32.6 | 21.0 | 169.2 | 52.2 |
| <b>3b</b> | 174.3 | 32.2 | 128.7 | 118.5 | 122.1 | 127.6 | 109.1 | 142.6 | 33.2 | 20.6 | 167.5 | 52.3 |

**2a:** 26.6 (*N*-Me)

**2b:** 26.6 (*N*-Me)

**3a:** 159.0 ( $C_p$ ); 128.7 ( $C_o$ ); 127.8 ( $C_i$ ); 114.1 ( $C_m$ ); 55.2 ( $C_{p\text{-OMe}}$ ); 43.7 ( $\text{CH}_2$ ).

**3b:** 159.0 ( $C_p$ ); 128.7 ( $C_o$ ); 127.9 ( $C_i$ ); 114.0 ( $C_m$ ); 55.2 ( $C_{p\text{-OMe}}$ ); 43.5 ( $\text{CH}_2$ ).

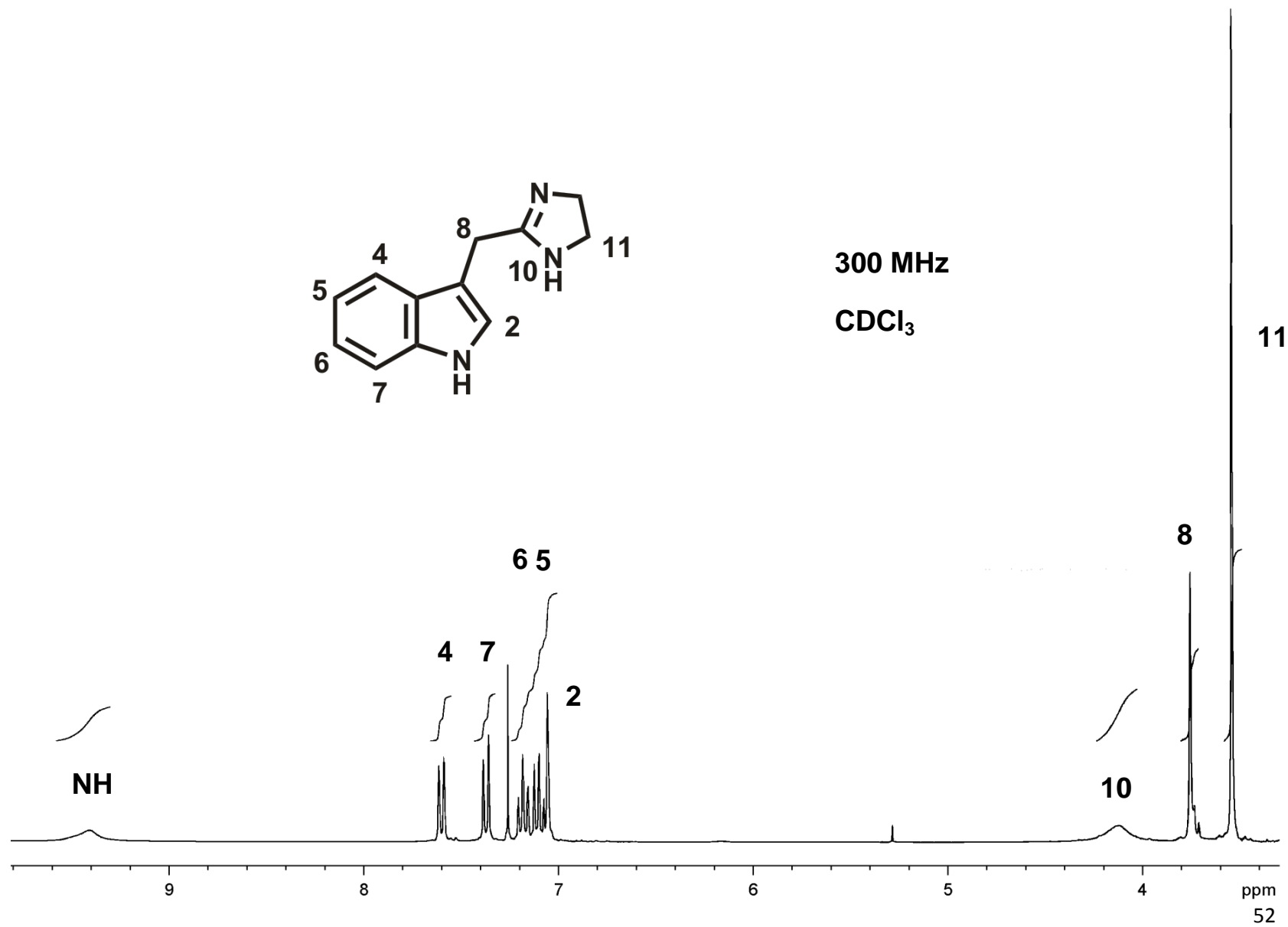


Figura 13. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de 1a.

300 MHz

CDCl<sub>3</sub>

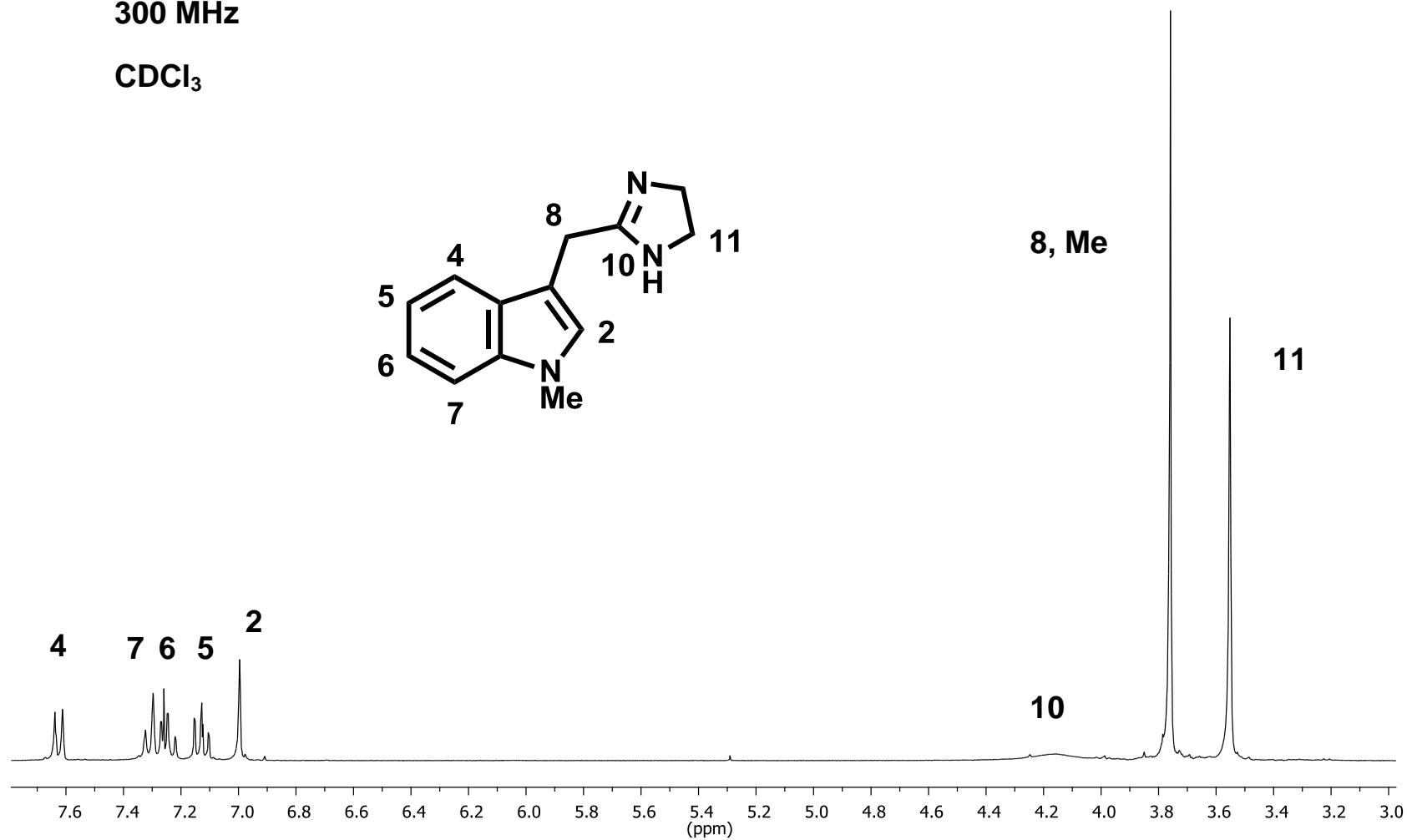


Figura 14. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **1b**.

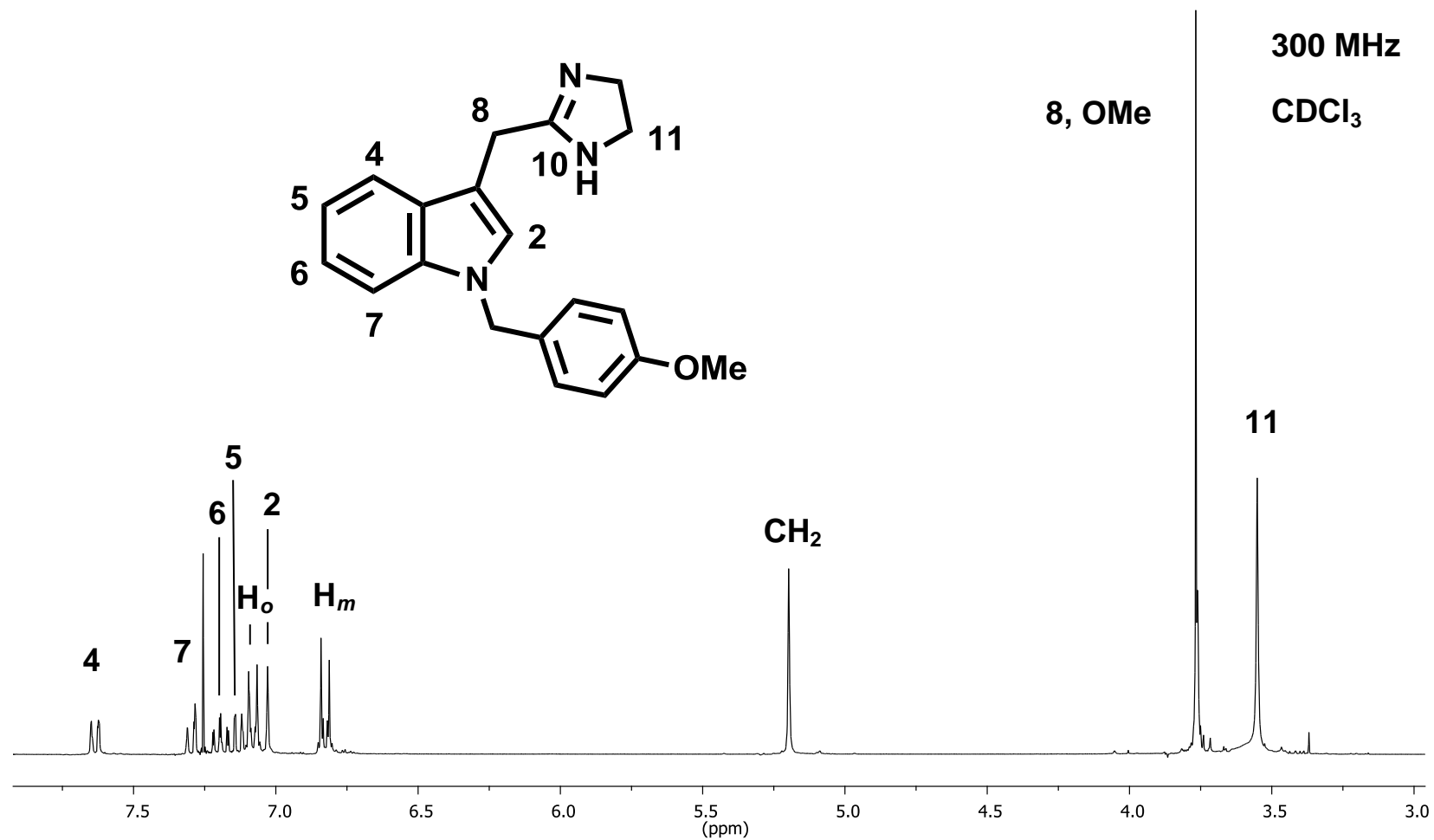


Figura 15. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de 1c.

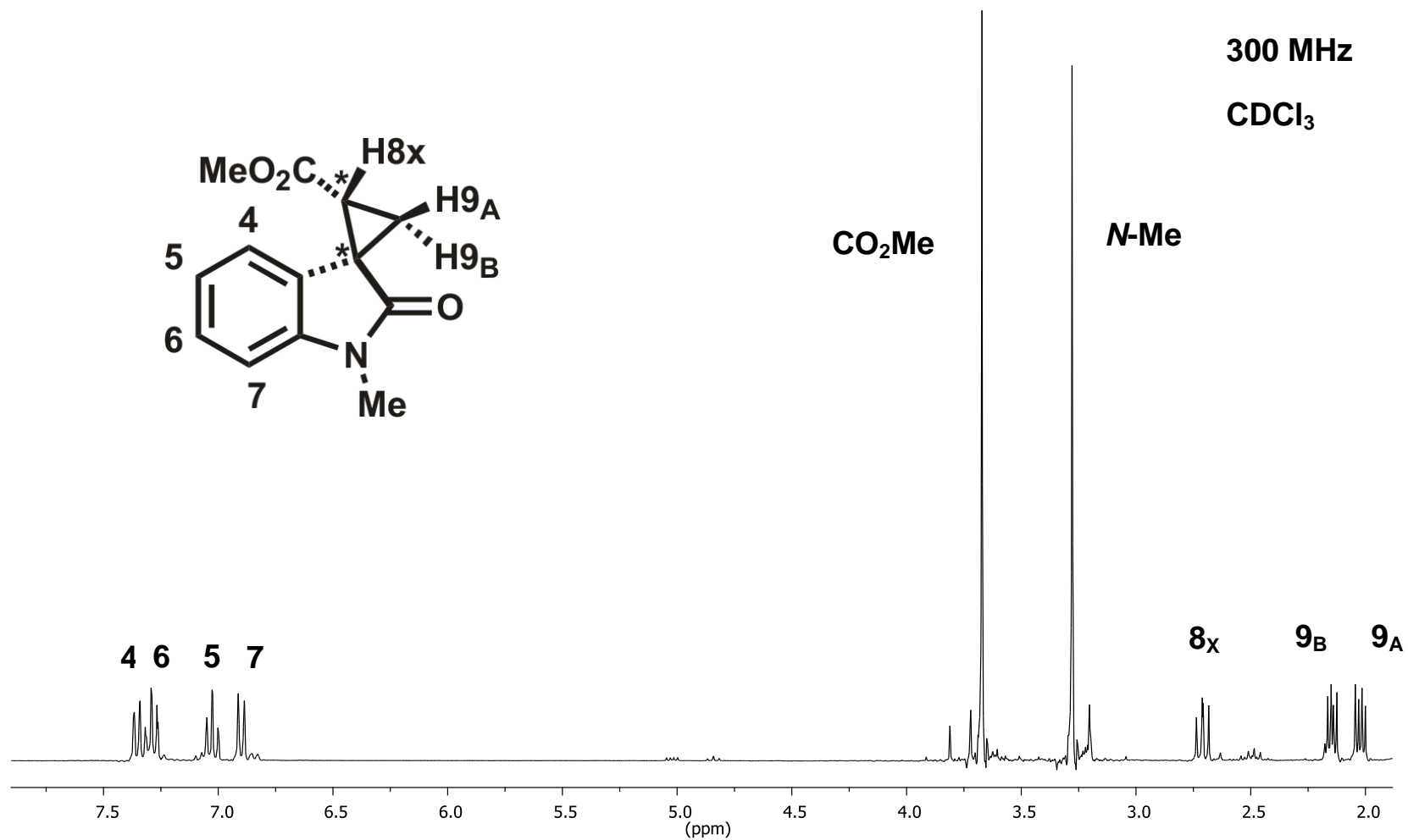


Figura 16. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de (3*R*\*,8*R*\*)-2a.

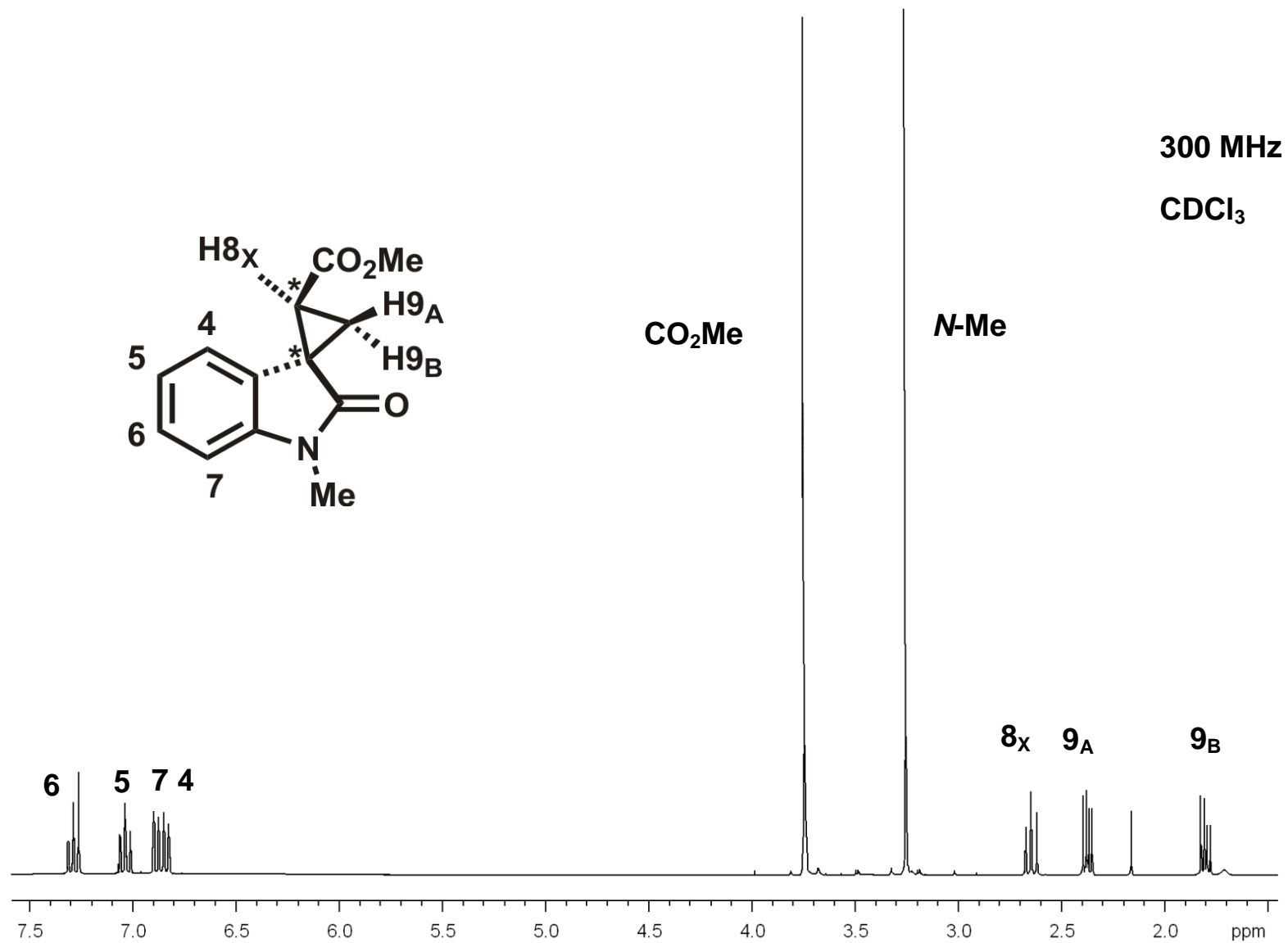


Figura 17. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de  $(3R^*,8S^*)\text{-2b}$

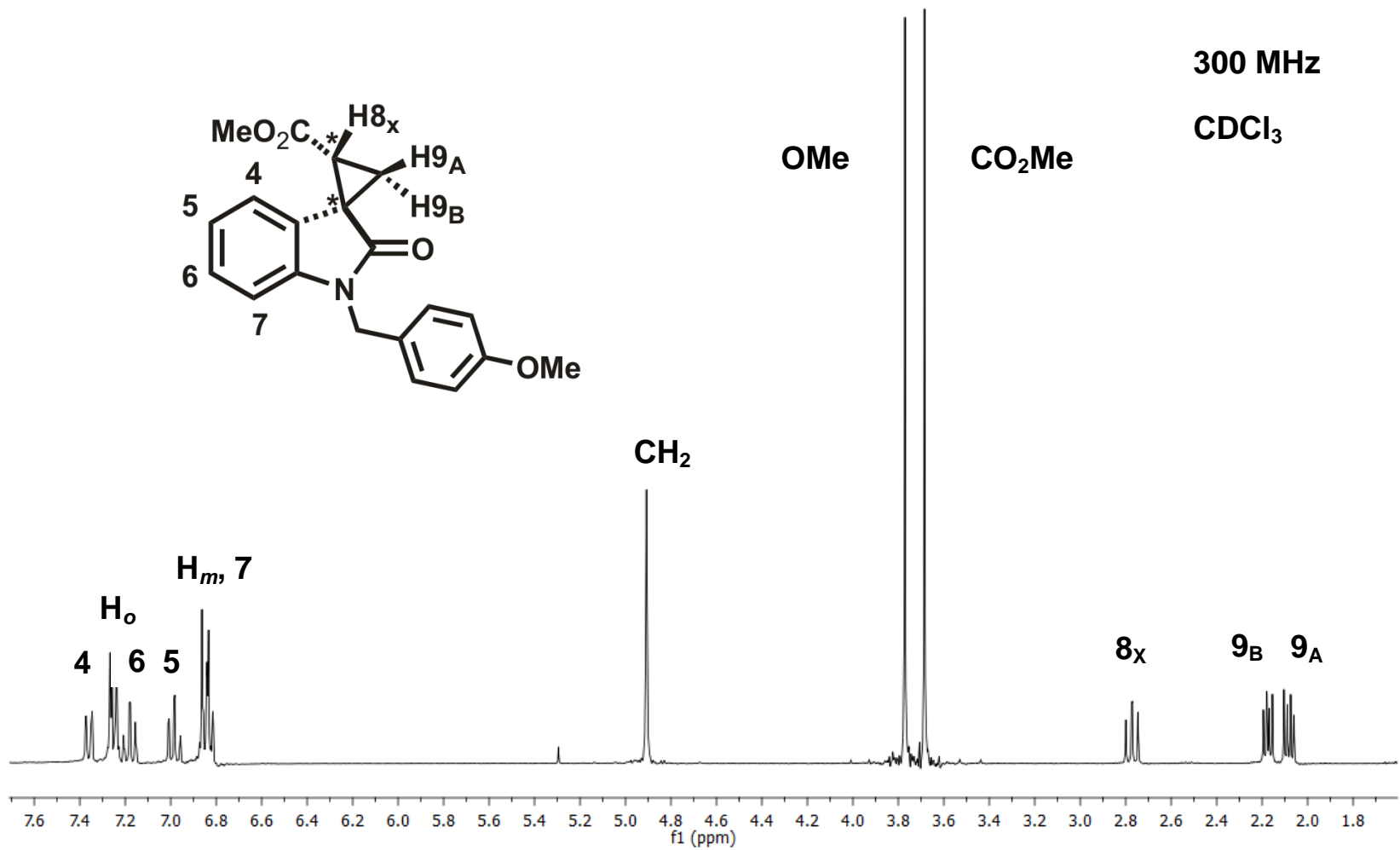
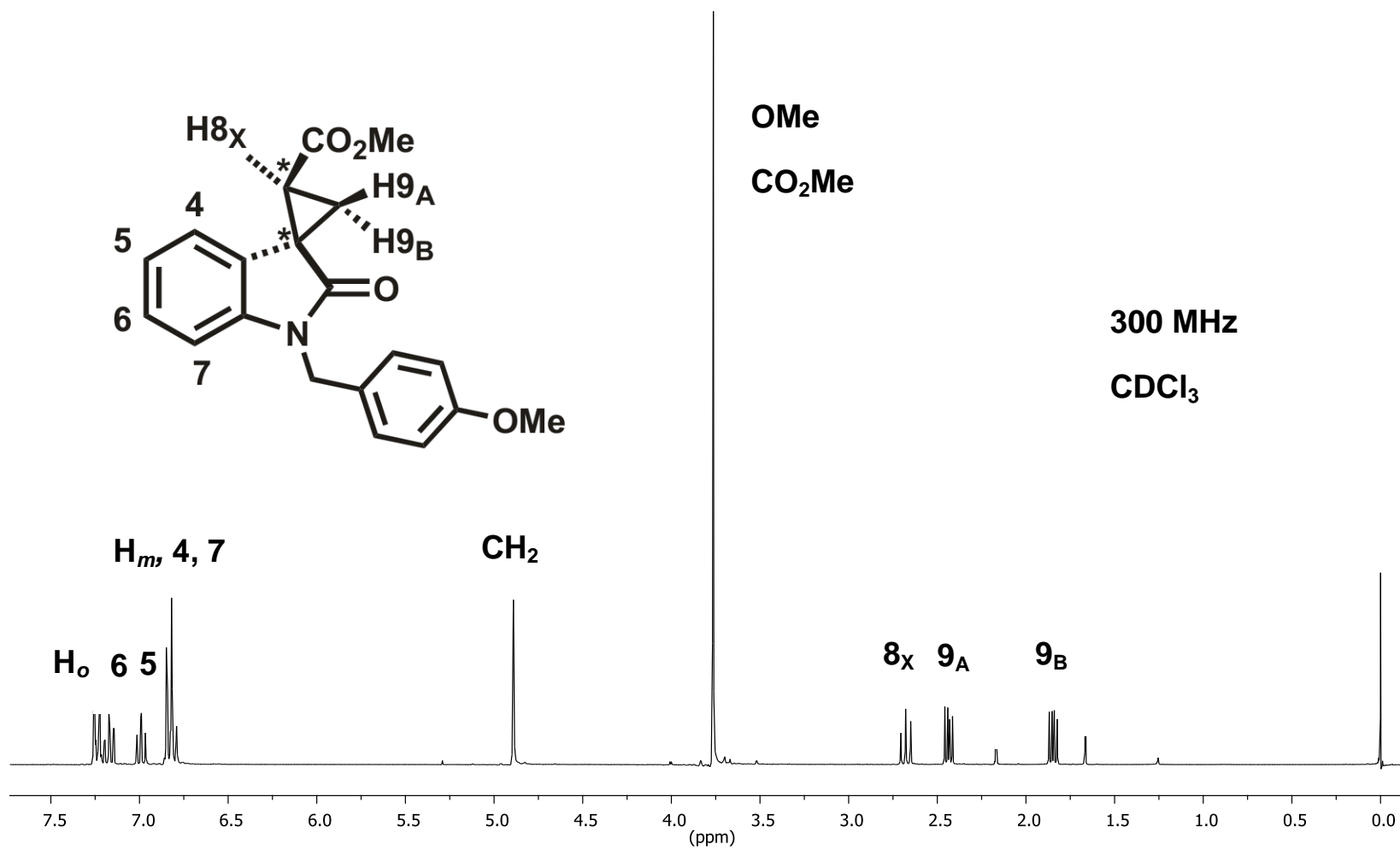


Figura 18. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de  $(3R^*,8R^*)$ -3a





**Figura 19.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de  $(3R^*,8S^*)\text{-3b}$ .