

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS
DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

UNIDAD ZACATENCO

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA

**Síntesis de homotriptaminas y su evaluación como inhibidores de
la recaptura de 5-HT. Un enfoque para el desarrollo de fármacos
antidepresivos**

TESIS

Que presenta

M. en C. JUAN BENJAMÍN GARCÍA VÁZQUEZ

Para obtener el grado de

DOCTOR EN CIENCIAS

EN LA ESPECIALIDAD DE FARMACOLOGÍA

Directora de Tesis: Dra. Martha Sonia Morales Ríos

México, D.F.

Julio, 2015

ÍNDICE

	Página
1. ABSTRACT	1
1.1 RESUMEN	4
2. INTRODUCCIÓN	7
2.1 Depresión	7
2.1.1 Clasificación	8
2.1.2 Epidemiología	8
2.1.2.1 Depresión en México	9
2.1.3 Costo de la depresión	9
2.1.4 Etiología de la depresión	10
2.2 Serotonina (5-HT)	10
2.2.1 Síntesis, almacenaje y liberación de la 5-HT	11
2.2.2 Metabolismo de la 5-HT por la monoamino oxidasa A	13
2.2.2.1 Inhibidores de la monoamino oxidasa A	14
2.2.3 Recaptura de 5-HT vía el transportador de 5-HT (SERT)	14
2.2.3.1 Inhibidores selectivos de la recaptura de 5-HT (SSRIs)	15
2.2.4 Proyecciones serotoninérgicas en el SNC	16
2.2.4.1 La inervación serotoninérgica de la corteza cerebral	17
2.2.5 Receptores serotoninérgicos	18
2.2.6 Síndrome serotoninérgico	19
2.3 Bioisosterismo	19
2.3.1 Ley del desplazamiento de los hidruros de Grimm	20
2.3.2 Clasificación del bioisosterismo	21
2.3.3 Consecuencias del reemplazamiento bioisostérico	21
2.3.4 El Bioisosterismo en la química medicinal	22
2.4 El Flúor en la Química Medicinal	22
3. JUSTIFICACIÓN	24
3.1 HIPÓTESIS	24
4. OBJETIVO	24

4.1	Objetivos específicos	24
		Página
5.	RESULTADOS QUÍMICOS Y DISCUSIÓN	26
5.1	Síntesis de homotriptaminas 1 y sus derivados 2-4 , análogos de la 5-HT	26
5.1.1	Síntesis de 2-oxohomotriptaminas 2 y espiroacetamidas 3	26
5.1.1.1	Síntesis de los 3-acetonitrilindoles- <i>N</i> -alquilados 8a-8d	26
5.1.1.2	Preparación de los espirociclopropiloxindoles diastereoméricos (<i>R</i> [*] , <i>R</i> [*] / <i>R</i> [*] , <i>S</i> [*])- 10a-10d	28
5.1.1.2.1	Asignación de la estereoquímica relativa <i>R</i> [*] , <i>R</i> [*] o <i>R</i> [*] , <i>S</i> [*]	29
5.1.1.3	Síntesis de 2-oxohomotriptaminas 2a-d y de espiroacetamidas <i>anti</i> - 3a-d	30
5.1.1.3.1	Mecanismo de hidrogenación catalítica via radicales libres	31
5.1.1.3.2	Formación de 2-oxohomotriptaminas 2 vía un intermediario radical	35
5.1.1.3.3	Análisis de los orbitales moleculares SOMO	36
5.1.1.3.4	Correlación entre las energías SOMO y las constantes σ_m de Hammett.	37
5.1.2	Síntesis de homotriptaminas 1 e imidazolinilindoles 4	39
5.1.2.1	Síntesis de los 3-propionitrilindoles 13	39
5.1.2.2	Preparación de homotriptaminas 1a-1c e imidazolinilindoles 4a, 4b	40
6.	RESULTADOS BIOLÓGICOS Y DISCUSIÓN	41
6.1	Homotriptaminas 1 e imidazolinilindoles 4 posibles SSRIs	41
6.1.1	Estudios de competencia por el transportador de serotonina (SERT)	41
6.1.1.1	Preparación de sinaptosomas	42
6.1.1.2	Determinación del tiempo óptimo de captura de 5-HT	42
6.1.1.3	Evaluación de la funcionalidad del SERT	44
6.1.1.4	Determinación de la inhibición de la captura específica de 5-HT por fluoxetina	46

6.1.1.5	Determinación de la inhibición de la captura de 5-HT por homotriptaminas 1 e imidazolinilindoles 4	Página 49
7.	CONCLUSIONES	53
8.	PARTE EXPERIMENTAL QUÍMICA	55
8.1	Procedimientos Generales	55
8.2	Síntesis de los precursores de los espirociclopropioxindoles 10a-10d	57
8.2.1	Procedimiento general para la obtención de las indolaminas 6a-6b	57
8.2.2	Procedimiento general para la obtención de los acetonitrilindoles 7a-7b	58
8.2.3	Procedimiento general para la obtención de los acetonitrilindoles <i>N</i> -alquilados 8a-8d	59
8.2.3.1	Síntesis de los acetonitrilindoles <i>N</i> -alquilados 8b-8d	59
8.2.4	Procedimiento general para la obtención de los oxindoles <i>N</i> -alquilados 9a-9d	61
8.3	Síntesis de los espirociclopropiloxindoles (<i>R</i> [*] , <i>R</i> [*] / <i>R</i> [*] , <i>S</i> [*])- 10a-10d	62
8.4	Síntesis de las 2-oxohomotriptaminas 2a-2e , 2g y espiroacetamidas <i>anti</i> - 3a-3e , <i>anti</i> - 3g	66
8.5	Síntesis de los precursores de los propionitrilindoles 13a , 13b	69
8.5.1	Síntesis de los indolalcoholes 12a-12b	69
8.6	Síntesis de los propanenitrilindoles 13a-13b	70
8.7	Síntesis de las homotriptaminas 1a-1c	71
8.7.1	Procedimiento general para la síntesis de las homotriptaminas 1a-1c	72
8.8	Síntesis de los imidazolinilindoles 4a , 4b	74
9.	PARTE EXPERIMENTAL BIOLÓGICA	75
9.1	Materiales y métodos	75
9.1.1	Materiales	75
9.1.2	Animales	75

9.1.3	Preparación de sinaptosomas	75
		Página
9.1.4	Determinación del tiempo óptimo de captura de 5-HT	76
9.1.5	Determinación de la inhibición de la captura de 5-HT	76
9.1.6	Análisis estadístico	78
10.	BIBLIOGRAFÍA	79
11.	ANEXO	86
11.1	Espectros y Tablas de RMN ^1H y ^{13}C	86

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Principales causas de morbilidad a nivel mundial en 2004 y 2030	7
Figura 2. Serotonina (5-HT)	11
Figura 3. Conversión de triptófano a serotonina	12
Figura 4. Descripción de la sinápsis serotoninérgica y manejo de la 5-HT desde síntesis, almacenaje, liberación, recaptura vía SERT y metabolismo	13
Figura 5. Metabolismo de la 5-HT por MAO	13
Figura 6. Proteína SERT con sus 12 segmentos transmembranales, lazos extracelulares y extremos amino- y carboxilo-terminales intracelulares.	14
Figura 7. Esquema del transporte y la inhibición en el transportador de Leucina (LeuT), homólogo del SERT.	15
Figura 8. Interacción de la fluoxetina y los residuos de aminoácidos en el sitio de unión del LeuT.	16
Figura 9. Inervación serotoninérgica en el cerebro	17
Figura 10. Receptores serotoninérgicos	19
Figura 11. Ley del desplazamiento de hidruros de Grimm	20
Figura 12. Estrategia bioisostérica en el desarrollo de fármacos	22
Figura 13. Fármacos lanzados al mercado conteniendo flúor de 1957-2006	23
Figura 14. Estructura molecular del 5-fluoro-3-acetonitrilindol 8d obtenida por difracción de rayos-X	28
Figura 15. Estructura molecular de la espiroacetamida <i>anti-3e</i> obtenida por difracción de rayos-X	33
Figura 16. Correlación entre las energías SOMO y las constantes σ_m de Hammett.	38
Figura 17. Estructuras de los compuestos blanco 1a , 1b , 4a y 4c .	41
Figura 18. Captura de [³ H]5-HT en sinaptosomas de cerebro de rata a diferentes tiempos.	43
Figura 19. Evaluación de la funcionalidad del SERT en sinaptosomas.	45
Figura 20. Determinación de la CI ₅₀ de la fluoxetina.	48
Figura 21. Influencia de la concentración sobre la Inhibición de la captura	

de 5-HT por homotriptaminas 1a , 1b e imidazolilindoles 4a , 4b en sinaptosomas	51
Figura 22. Inhibición de la captura de 5-HT por homotriptaminas 1a , 1b e imidazolilindoles 4a , 4b .	52

ÍNDICE DE ESQUEMAS

	Página
Esquema 1. Síntesis de los 3-acetonitrilindoles <i>N</i> -alquilados 8a-8d	27
Esquema 2. Síntesis de espirooxindoles diastereoméricos 10a-10d	29
Esquema 3. Formación 2-oxohomotriptaminas 2 y espiroacetamidas 3	31
Esquema 4. Espirolactamas 10 examinadas teórica y/o experimentalmente	32
Esquema 5. Mecanismo de formación del producto de hidrogenólisis 2	35
Esquema 6. Síntesis de los 3-propionitrilindoles 13a,13b	39
Esquema 7. Síntesis de las homotriptaminas 1a-1c e imidazolinilindoles 4a , 4b	40

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Síntesis de espirociclopropiloxindoles 10a-10d	30
Tabla 2. Productos y rendimientos ^a de la reducción catalítica de 10	34
Tabla 3. Energías de SOMO para radicales I_1 , y constantes de Hammett σ_m	37
Tabla 4. Tiempo de captura de la [³ H]5-HT	43
Tabla 5. Inhibición de la captura de 5-HT por la fluoxetina (flx)	47
Tabla 6. Inhibición de la captura de 5-HT por 1a , 1b , 4a , 4b y la fluoxetina (flx)	49

ABREVIATURAS

5-HT: Serotonina

SERT: Transportador de serotonina

SSRIs: Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina

CI₅₀: Concentración inhibitoria 50

TCA: Antidepresivos tricíclicos

MAOI: Inhibidores de la monoamino oxidasa

SNC: Sistema nervioso central

5-HTP: 5-hidroxitriptófano

MAO: monoamino oxidasa

MAO-A: monoamino oxidasa A

MAO-B: monoamino oxidasa B

5-HIAA: 5-hidroxiindolacetaldehído

SNF: Familia de proteínas symporter sodio/neurotransmisoras

TMH: Alfa-hélice transmembrana

GABA: Ácido γ -aminobutírico

5-HT_{1A}: Receptor de serotonina 1A

5-HT_{2A}: Receptor de serotonina 2A

AC: Adenilato ciclasa

PKA: Proteína cinasa A

PLC: Fosfolipasa C

PKC: Proteína cinasa C

G_s: Proteínas G estimuladoras

G_{i/o}: Proteínas G inhibitorias

CF: Cromatografía flash

CG/EM: Cromatografía de gases/espectrometría de masa

HOMO: Orbital ocupado de más alta energía

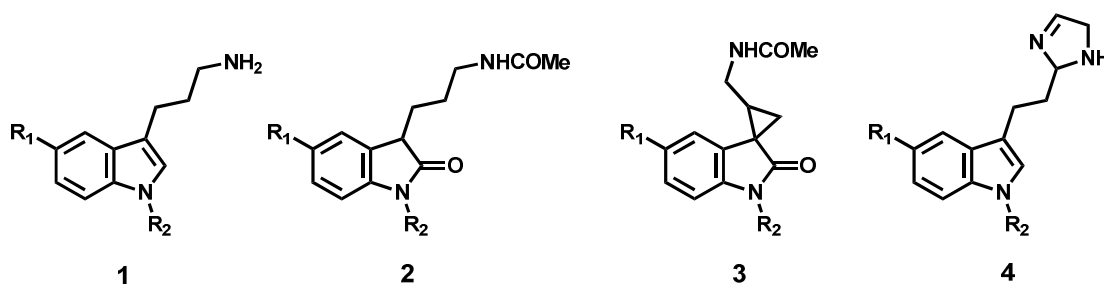
LUMO: Orbital vacío de más baja energía

SOMO: Orbital molecular ocupado por un solo electrón

1. ABSTRACT

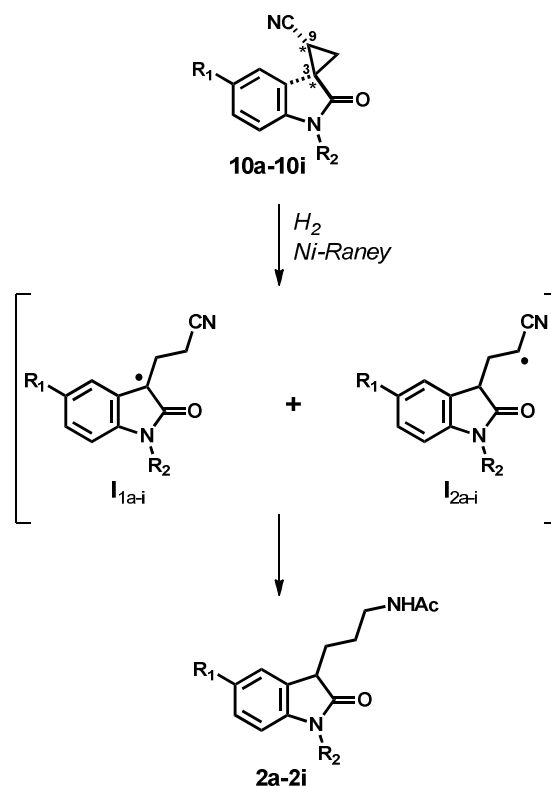
The serotonin transporter (SERT) is the target for many antidepressant drugs used today; such is the case of fluoxetine, one of the first selective inhibitors of serotonin reuptake (SSRIs). Inhibition of SERT prevents the reuptake of serotonin (5-HT) into presynaptic terminals, regulating the 5-HT levels and potentiating the synaptic function of 5-HT. It forms the full or partial basis for the mechanism of action of many antidepressants (SSRIs). Although many clinically useful SSRIs have been discovered, the development of compounds with higher affinity and target selectivity is still an area of interest.

Therefore, the present work describes the synthesis of a series of homotryptamines **1-4**, analogues to 5-HT, modulated by (1) the nature of the electron-donating or electron-withdrawing group on the aromatic ring, (2) substitution on the indolic nitrogen atom, (3) insertion of an additional methylene group into the side chain, and (4) replacing the basic amino group of the side chain by an imidazoline ring, in order to be tested as SSRIs.

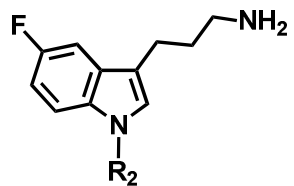


The synthetic approach to homotryptamine derivatives **1-4** was based on the suitably substituted 3-acetonitrylindole, as substrates. This versatile template was usefully exploited in a variety of spiroannlation, reduction, oxidation, alkylation and reductive-amination-acetylation reactions.

Through the synthetic studies on 2-oxohomotryptamines **2** and their spiro analogues **3** it was postulated that hydrogenolysis of the cyclopropane ring of the spirooxindoles **10** involves an intermediate carbon-centered free radical **I**. Experimental and theoretical studies indicated that the relative stability of intermediate **I** influences the distribution of the formed products **2** and **3**.

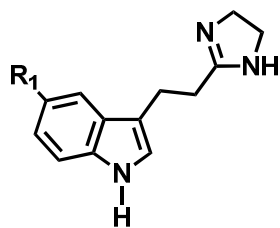


Compounds **1a**, **1b**, **4a** and **4b** were evaluated for their ability to inhibit the uptake of 5-HT by SERT in frontal cortex synaptosome of male rats. The results of the serotonin reuptake inhibition assays, determined and expressed here as SERT IC₅₀ values, show that all the synthesized compounds were able to inhibit 5-HT uptake by SERT in a concentration dependent manner.



1a: R₂ = H, Cl₅₀ = 44.8 nM

1b: R₂ = Pre, Cl₅₀ = 1.87 μM



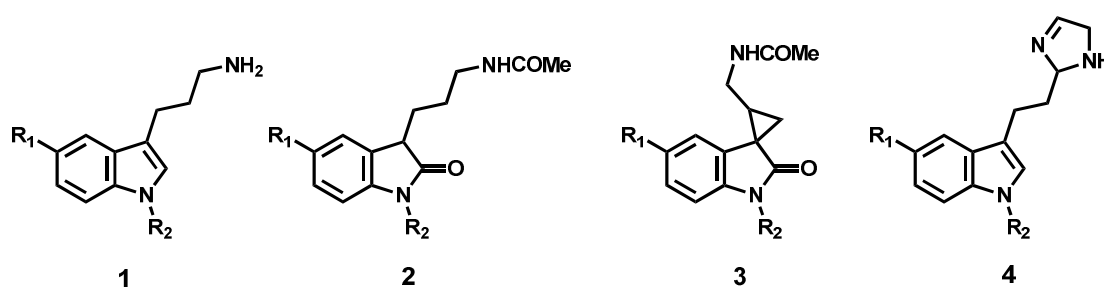
4a: R₁ = F, Cl₅₀ = 936 nM

4b: R₁ = H, Cl₅₀ = 4.85 μM

1.1 RESUMEN

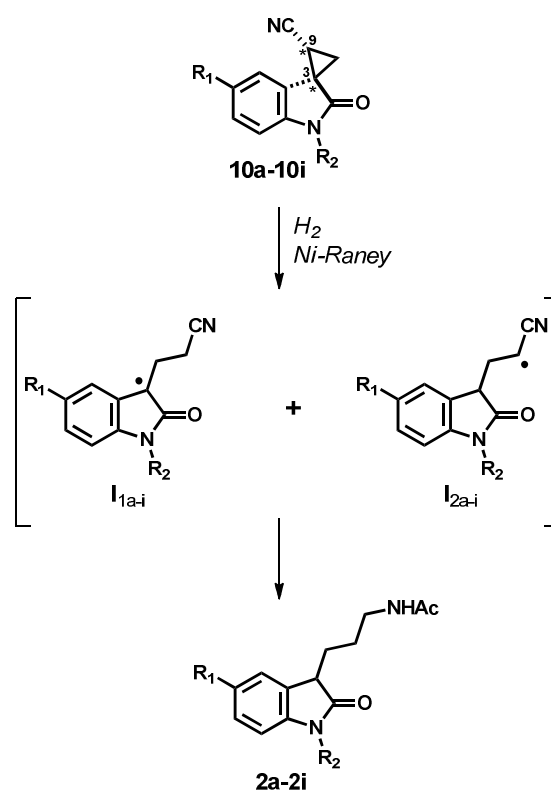
El transportador de serotonina (SERT) es la diana para muchos de los fármacos antidepresivos utilizados en la actualidad. Tal es el caso de la fluoxetina, uno de los primeros inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (SSRIs). La inhibición del SERT impide la recaptura de serotonina (5-HT) en la terminal presináptica, regulando los niveles de 5-HT y potenciando su función sináptica. Esto constituye la base total o parcial para el mecanismo de acción de muchos fármacos antidepresivos (SSRIs). Aunque se han descubierto muchos SSRIs útiles clínicamente, el desarrollo de compuestos con mayor afinidad y selectividad por el SERT sigue siendo un área de gran interés.

Por lo anterior, en el presente trabajo se describe la síntesis de una serie de homotriptaminas **1-4**, análogas de la 5-HT, moduladas por (1) la naturaleza del grupo electroattractor o electrodonador en el anillo aromático, (2) la sustitución en el átomo de nitrógeno indólico, (3) la inserción de un grupo metileno en la cadena lateral, y (4) la sustitución del grupo amino en la cadena lateral por un anillo de imidazolina; con el fin de ser evaluadas como SSRIs.

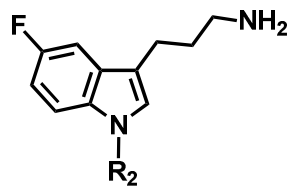


El enfoque sintético a los derivados homotriptamina **1-4**, se basó en el uso del sustrato 3-acetonitrilindol sustituido adecuadamente. Esta plantilla versátil fue explotada de forma útil en una variedad de reacciones de alquilación, oxidación, espirociclización y de aminación reductiva-acetilación.

A través de estudios sintéticos sobre las 2-oxohomotriptaminas **2** y sus análogos espiránicos **3** se postuló que la hidrogenólisis del anillo de ciclopropano de los espirooxindoles **10** involucra un radical libre intermediario centrado en un átomo de carbono **I**. Los estudios teóricos y experimentales indican que la estabilidad relativa de los intermediarios **I** influyen en la distribución de los productos formados **2** y **3**.

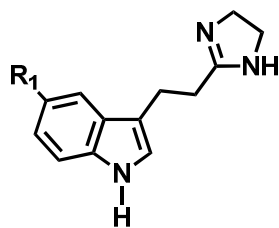


Se evaluó la capacidad de los compuestos **1a**, **1b**, **4a** y **4b** para inhibir la recaptura de 5-HT por SERT en sinaptosomas de la corteza frontal de ratas macho. Los resultados de los ensayos de inhibición de la recaptura de serotonina, determinados y expresados como CI₅₀, muestran que todos los compuestos sintetizados fueron capaces de inhibir la absorción de 5-HT por SERT de una manera dependiente de la concentración.



1a: R₂ = H, Cl₅₀ = 44.8 nM

1b: R₂ = Pre, Cl₅₀ = 1.87 μM



4a: R₁ = F, Cl₅₀ = 936 nM

4b: R₁ = H, Cl₅₀ = 4.85 μM

2. INTRODUCCIÓN

2.1 Depresión

La depresión, una de las enfermedades psiquiátricas más prevalentes, es un trastorno común que ocurre en todos los géneros, edades y estratos sociales [1]. Su origen es multifactorial, aunque hay que destacar factores desencadenantes tales como el estrés, el abuso de alcohol o de otras sustancias tóxicas y factores de predisposición genéticos [2]. La Organización Mundial de la Salud (OMS) prevé que si continúan las tendencias demográficas actuales, la depresión será la mayor fuente de discapacidad en el mundo para el año 2030 (Figura 1) [3].

Este trastorno mental se ha implicado en la instalación y/o progresión de enfermedades como el cáncer [4], enfermedades cardiovasculares [5] y endócrinas [6]. Además, la depresión se considera un factor de riesgo importante para el desarrollo de la enfermedad arterial coronaria [7] y el derrame cerebral [8].

2004 Enfermedad o lesión	% total del DALY ^a	Intervalo	Intervalo	% total del DALY ^a	2030 Enfermedad o lesión
Infecciones respiratorias bajas	6.2	1	→	6.2	Trastornos depresivos unipolares
Enfermedades diarreicas	4.8	2	→	5.5	Cardiopatía isquémica
Trastornos depresivos unipolares	4.3	3	→	4.9	Accidentes de tráfico
Cardiopatía isquémica	4.1	4	→	4.3	Enfermedad cerebrovascular
VIH/SIDA	3.8	5	→	3.8	EPOC ^b
Enfermedad cerebrovascular	3.1	6	→	3.2	Infecciones respiratorias bajas
Prematuridad y bajo peso al nacer	2.9	7	→	2.9	Pérdida de audición en el adulto
Asfixia y trauma en el nacimiento	2.7	8	→	2.7	Errores de refracción oculares
Accidentes de tráfico	2.7	9	→	2.5	VIH/SIDA
Infecciones neonatales y otros	2.7	10	→	2.3	Diabetes mellitus
EPOC ^b	2.0	13	→	1.9	Infecciones neonatales y otros
Errores de refracción oculares	1.8	14	→	1.9	Prematuridad y bajo peso al nacer
Pérdida de audición en el adulto	1.8	15	→	1.9	Asfixia y trauma en el nacimiento
Diabetes mellitus	1.3	19	→	1.6	Enfermedades diarreicas

^a DALY: de sus siglas en inglés <disability-adjusted life year>
^b EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica

Figura 1. Principales causas de morbilidad a nivel mundial en 2004 y 2030.

2.1.1 Clasificación

El trastorno depresivo se caracteriza por un estado de abatimiento o pérdida de interés o satisfacción en todas las actividades cercanas tales como falta de reacciones emocionales, trastornos del sueño, pérdida del apetito, retraso motor, pérdida de la libido y disminución de la energía durante al menos dos semanas consecutivas [9]. En el trastorno depresivo mayor la persona experimenta síntomas adicionales en los procesos vegetativos y psicológicos como por ejemplo dificultad en concentrarse o tomar decisiones, sentimientos de inutilidad y culpa, además de pensamientos suicidas, que conducen a un deterioro social y ocupacional [10].

Existe una gran variedad de medicamentos antidepresivos y psicoterapias que se utilizan para tratar los trastornos depresivos. La psicoterapia sola es efectiva en algunas personas con formas leves o moderadas de depresión. Sin embargo, las personas con depresión severa obtienen, en la mayoría de los casos, un resultado óptimo con un tratamiento combinado de farmacoterapia y psicoterapia.

2.1.2 Epidemiología

Dentro de los diversos estudios epidemiológicos realizados para determinar la prevalencia del trastorno depresivo en la población general, destaca una encuesta llevada a cabo a gran escala en los Estados Unidos de América en 2001. En dicha encuesta se determinó que el trastorno depresivo en la población fue de 6.6% para una prevalencia de 12 meses y de 16.2% para una prevalencia de toda la vida [9]. A nivel mundial la OMS demostró que los trastornos depresivos son una de las principales causas de enfermedad en todo el mundo.

Actualmente la prevalencia de episodios depresivos a nivel mundial es de 16/100.000 varones y 25/100.000 mujeres al año [11]. La edad pico de aparición de los trastornos depresivos se encuentran entre los 15 y 29 años. Aunado a lo

anterior, los estudios epidemiológicos han puesto en relieve que existe una tendencia en la que los episodios depresivos se inician a más temprana edad y están combinados con una mayor prevalencia [9].

2.1.2.1 Depresión en México

En México ocupa el primer lugar de discapacidad para las mujeres y el noveno para los hombres. Los resultados de la Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica (ENEP) señalan que 9.2% de los mexicanos sufrieron un trastorno afectivo en algún momento de su vida y 4.8% en los doce meses previos al estudio. La depresión ocurre con mayor frecuencia entre las mujeres (10.4%) que entre los hombres (5.4%) [12].

Los trastornos depresivos producen importantes niveles de discapacidad, afectan las funciones físicas, mentales y sociales y se asocian con mayor riesgo de muerte prematura. Los análisis recientes realizados en México muestran que la depresión produce mayor discapacidad que otras condiciones crónicas como la diabetes, los trastornos respiratorios, las enfermedades cardíacas o la artritis. Por ejemplo, las personas con depresión pierden hasta 2.7 días más de trabajo que aquellas con otro tipo de enfermedades crónicas [13].

2.1.3 Costo de la depresión

Los datos arrojados por las encuestas de prevalencia claramente identifican a la depresión como un problema de salud pública [14]. La depresión tiene un costo enorme en el individuo y sus circunstancias personales, lo cual contribuye a una enorme pérdida para la sociedad. La carga económica aumenta debido a los costos indirectos de la depresión y la morbilidad asociada, como son: pérdidas en la calidad de vida, ausentismo, disminución de la productividad y deterioro funcional en muchas otras áreas personales e interpersonales de la vida [15].

2.1.4 Etiología de la depresión

Debido a la complejidad del desorden depresivo (o depresión), existen varias teorías para explicar la etiología de esta enfermedad. La teoría monoaminérgica de la depresión sugiere que los trastornos en los sistemas serotoninérgico y noradrenérgico producen síntomas depresivos [16]. Un apoyo adicional a la hipótesis química de la depresión proviene de datos clínicos, en donde los efectos colaterales de la reserpina como agente antihipertensivo, sugirieron que la disminución de monaminas biogénicas (serotonina, noradrenalina, adrenalina, dopamina, histamina) en el cerebro ocasionaron efectos negativos en el estado de ánimo de los pacientes [17]. Sumado a lo anterior, se descubrió que un tipo específico de compuestos con esqueleto químico de imidazolinilindol, son útiles como antidepresivos por su acción antagónica de la depresión inducida por reserpina en ratones [18].

Es por ello que una gran cantidad de fármacos antidepresivos en uso centran su acción en aumentar los niveles de neurotransmisores monoaminérgicos [19], incluyendo los antidepresivos tricíclicos (TCAs) (imipramina, clomipramina, amitriptilina), inhibidores de la recaptura de serotonina (SSRIs) (fluoxetina, fluvoxamina, sertralina), e inhibidores de la monoaminoxidasa (MAOIs) (tranilcipromina, fenelzina, moclobemida) [8, 20].

2.2 Serotonina (5-HT)

La serotonina (Figura 2), también conocida como 5-hidroxitriptamina (5-HT), es una molécula con diversos efectos tanto en el Sistema Nervioso Central (SNC) como en la periferia. Actúa como una hormona o un neurotransmisor, se sintetiza en las neuronas serotoninérgicas del SNC y en las células enterocromafines del tracto gastrointestinal. El aislamiento de la 5-HT ocurrió después de décadas de investigación enfocada a la caracterización de una sustancia vasoconstrictora que se sospechaba estaba contenida en las plaquetas. Esta sustancia fue llamada

serotonina por su presencia en el suero (latín *serum*) y sus propiedades vasoactivas (griego *tonic*) [21].

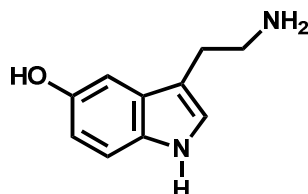


Figura 2. Serotonina (5-HT)

La 5-HT está presente en muchos tejidos, incluyendo cerebro, pulmones, riñón, plaquetas y el tracto gastrointestinal. El sistema serotoninérgico está involucrado en muchas funciones fisiológicas importantes como el control de la presión arterial, temperatura corporal, apetito, liberación de prolactina y otras hormonas, la percepción del dolor y comportamiento emocional. Por consiguiente, el sistema serotoninérgico también desempeña un papel en la patogénesis de enfermedades en el que estas funciones son perturbadas, por ejemplo, hipertensión, disfunción hormonal, depresión y ansiedad [22].

2.2.1 Síntesis, almacenamiento y liberación de la 5-HT

La serotonina (5-HT) se produce en 2 pasos: el aminoácido esencial triptófano es hidroxilado a 5-hidroxitriptófano (5-HTP) por la triptófano hidroxilasa y en un segundo paso, el 5-HTP es descarboxilado para formar la 5-hidroxitriptamina (5-HT) (Figura 3). La triptófano hidroxilasa se considera la enzima del paso limitante [23].

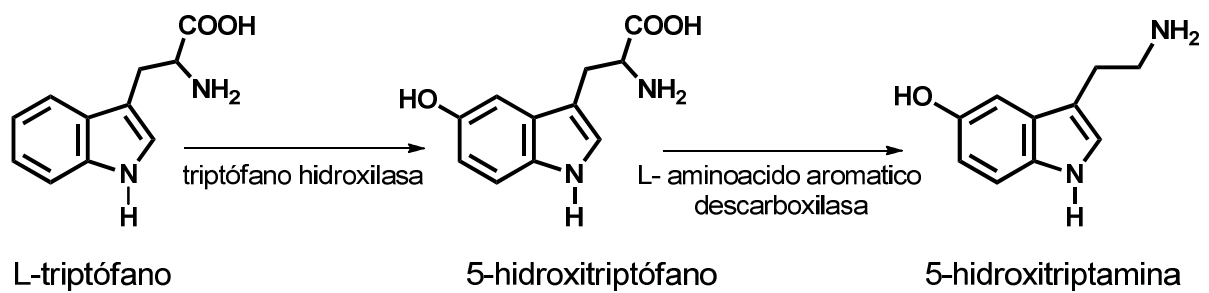


Figura 3. Conversión de triptófano a serotonina.

La síntesis de 5-HT fuera del SNC está limitada a células enterocromafines que se encuentran en el tracto gastrointestinal y en menor grado a las plaquetas. La 5-HT liberada dentro de la circulación por las células enterocromafines, es capturada rápidamente por las plaquetas y almacenada en gránulos densos de plaquetas, lo que constituye casi el total de la 5-HT circulando por la sangre.

Dentro del SNC, la 5-HT se sintetiza y almacena en vesículas en las neuronas serotoninérgicas presinápticas del núcleo de rafe dorsal y medial. La despolarización de las terminales serotoninérgicas provoca un flujo de iones de calcio y por consiguiente la fusión de las vesículas, que contienen 5-HT, con la membrana de la neurona. La serotonina se libera y se difunde a través del espacio sináptico, donde interactúa con receptores situados en la membrana postsináptica o autoreceptores presinápticos que pueden regular la síntesis y liberación dentro de la terminal presináptica (Figura 4) [24-27].

El transportador de 5-HT altamente selectivo (SERT) localizado en la membrana presináptica es responsable de remover la 5-HT del espacio sináptico. Una vez transportada dentro de la neurona presináptica, la 5-HT puede ser almacenada de nuevo en vesículas presinápticas donde es protegida del metabolismo o puede ser metabolizada por la monoamino oxidasa (MAO) en la mitocondria de la neurona (Figura 4) [25].

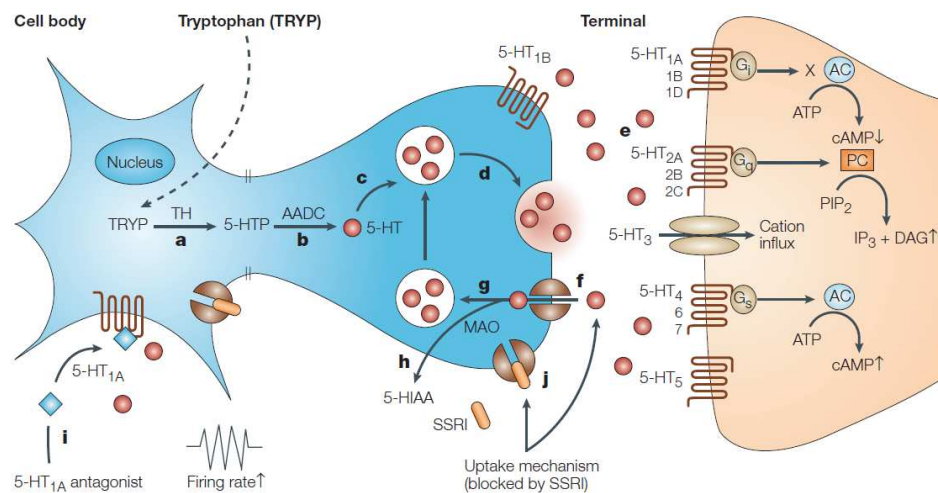


Figura 4. Descripción de la sinápsis serotoninérgica y manejo de la 5-HT desde síntesis, almacenaje, liberación, recaptura vía SERT y metabolismo.

2.2.2 Metabolismo de la 5-HT por la monoamino oxidasa A

La vía metabólica primaria para la serotonina (5-HT) es la MAO, enzima que existe en 2 formas: MAO-A y MAO-B. La 5-HT es principalmente inactivada por la MAO-A y en las plaquetas la forma predominante de MAO es MAO-B. El principal metabolito de la 5-HT por la MAO es el ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) (Figura 5), que se excreta principalmente en la orina [28,29].

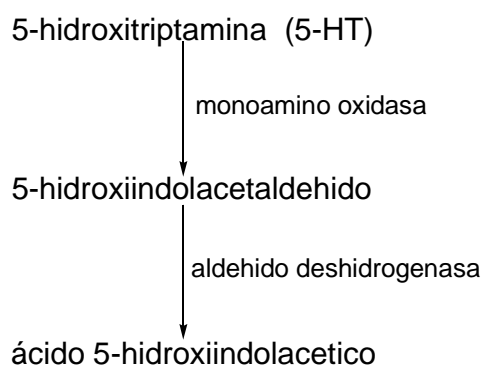


Figura 5. Metabolismo de la 5-HT por MAO.

2.2.2.1 Inhibidores de la monoamino oxidasa A

Los inhibidores de la MAO-A (MAOIs) son fármacos antidepresivos que centran su acción en bloquear el metabolismo de la 5-HT catalizado por la MAO-A, con lo que aumentan los niveles de 5-HT en el espacio sináptico. Los MAOIs se clasifican en base a si son selectivos o no selectivos a cada subtipo de MAO (MAO-A o MAO-B) y si su efecto es reversible [28].

Inhibidores no selectivos de la MAO: Fenelzina y Trancipromina

Inhibidores selectivos de la MAO: Clorgilina para MAO-A y Selegilina para MAO-B

Inhibidores reversibles de la MAO: Moclobemida

2.2.3 Recaptura de 5-HT vía el transportador de 5-HT (SERT)

El SERT pertenece a la familia de proteínas symporter sodio/neurotransmisoras (SNF), que actúan como co-transportadores de iones sodio, iones cloro, iones potasio y moléculas transmisoras [28]. Las proteínas SNF pertenecen a un grupo grande de transportadores secundarios, que estructuralmente se compone de 12 alfa hélices transmembrana (TMHs), en las que las terminales amino y carboxilo se localizan intracelularmente (Figura 6) [30-32].

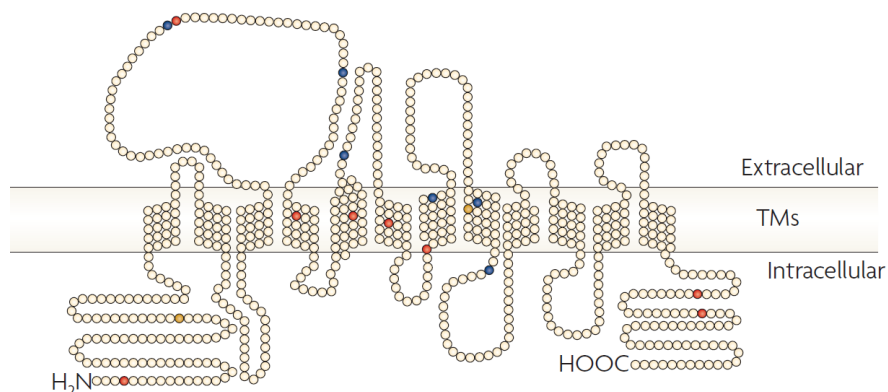


Figura 6. Proteína SERT con sus 12 segmentos transmembranales, lazos extracelulares y extremos amino- y carboxilo-terminales intracelulares.

El SERT es responsable de la captura de 5-HT desde el espacio extrasináptico hacia el interior de las terminales presinápticas para su posterior almacenamiento o metabolismo. En el mecanismo regulatorio de los neurotransmisores, el SERT usa un ion gradiente como fuente de energía para la translocación de una molécula de 5-HT contra un gradiente de concentración [33]. El SERT sirve como un symporter, co-transporta en la misma dirección los iones Na^+ , K^+ y Cl^- , que sirven como fuerza motriz para el transporte de la 5-HT (Figura 7). El SERT es el blanco para muchos de los fármacos antidepresivos utilizados en la actualidad, incluyendo los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (SSRIs) [34].

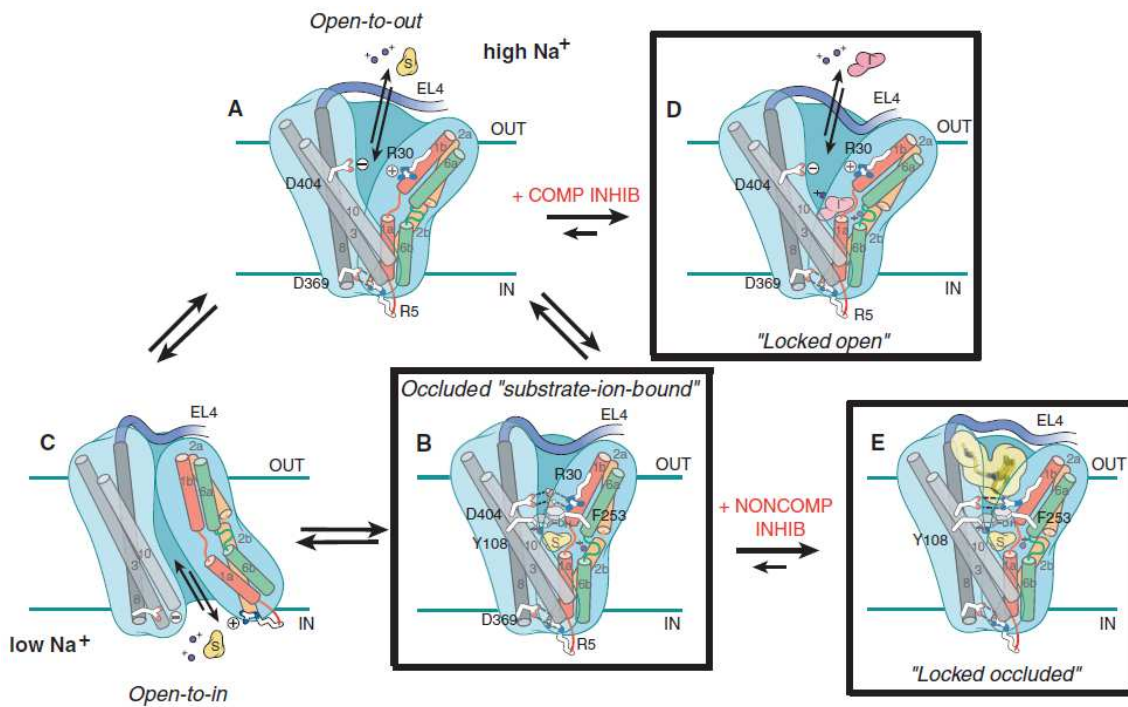


Figura 7. Esquema del transporte y la inhibición en el transportador de Leucina (LeuT), homólogo del SERT.

2.2.3.1 Inhibidores selectivos de la recaptura de 5-HT (SSRIs)

El SERT es la diana para muchos de los fármacos antidepresivos utilizados en la actualidad. Tal es el caso de la fluoxetina, uno de los primeros inhibidores selectivos, no competitivos de la recaptura de serotonina (SSRIs) [35,36]

aprobados para el tratamiento de la depresión, que ofrece una alternativa más segura que los inhibidores de la MAO (MAOIs) y que los antidepresivos tricíclicos (TCAs). A diferencia de los TCAs, la fluoxetina es altamente selectiva por el SERT. Actualmente los SSRIs se encuentran entre los medicamentos antidepresivos más ampliamente prescritos [37,38].

Los SSRIs se unen al sitio de alta afinidad (Figura 8) del SERT para inhibir su función de captura, conduciendo de este modo a un incremento en los niveles de 5-HT. Los antidepresivos tradicionales, incluyendo a los SSRIs (fluoxetina, fluvoxamina), requieren de al menos 2 o más semanas para demostrar sus efectos terapéuticos. El retraso en el inicio del efecto terapéutico antidepresivo sugiere que son necesarios cambios adaptativos neuronales en el cerebro, que incluyen desensibilización del transportador y receptores, cambios a nivel de transducción de señal, activación de neurotrofinas y neurogénesis, aunado al incremento de los niveles de 5-HT extracelulares, para tratar la depresión [39-41].

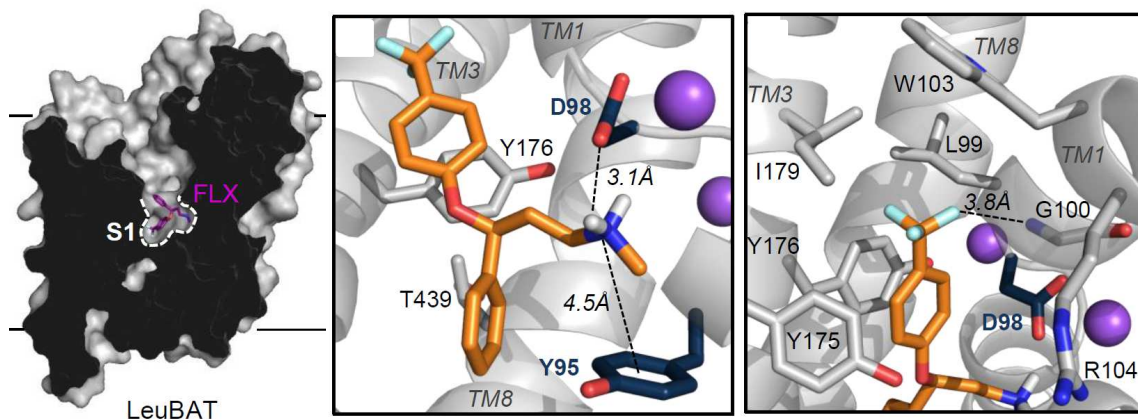


Figura 8. Interacción de la fluoxetina con los residuos de aminoácidos en el sitio de unión del transportador de leucina (LeuT).

2.2.4 Proyecciones serotoninérgicas en el SNC

Las proyecciones de las neuronas serotoninérgicas están ampliamente distribuidas en el SNC, conforman la más extensa y compleja red neuroquímica

después del glutamato, e inervan el tálamo, hipotálamo, todas las áreas corticales y la formación hipocampal, el cerebelo y la médula espinal (Figura 9) [42]. Las proyecciones serotoninérgicas del núcleo dorsal del rafe inervan muchas regiones incluyendo la corteza frontal, amígdala, hipocampo ventral y estriado [43]. A través de estas múltiples proyecciones, la neurotransmisión serotoninérgica participa en una gran variedad de procesos fisiológicos [44]. Esta notable versatilidad fisiológica de la transmisión serotoninérgica está mediada a través de una gran familia de receptores específicos.

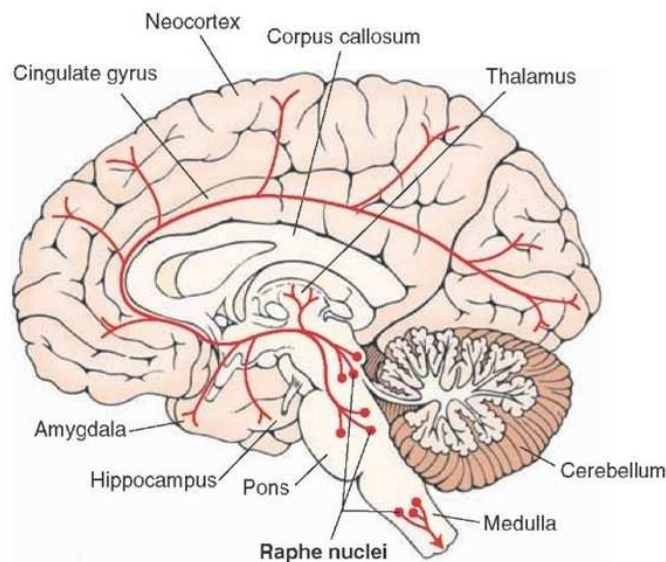


Figura 9. Inervación serotoninérgica en el cerebro

2.2.4.1 La inervación serotoninérgica de la corteza cerebral

La corteza cerebral, incluyendo la corteza prefrontal, recibe una robusta inervación serotoninérgica que se cree que contribuye a la regulación subcortical de las funciones corticales. Las neuronas de la corteza cerebral se pueden dividir en dos tipos principales: células "excitatorias" que secretan glutamato, principalmente pero no exclusivamente del tipo de células piramidales, e interneuronas "inhibitorias" que secretan ácido γ -aminobutírico (GABA). Las células piramidales

son el tipo de células más abundantes en la corteza y se organizan en bandas de densidad celular variable que definen las capas celulares corticales [45].

La corteza prefrontal está altamente enriquecida con receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A}. Los receptores 5-HT_{1A} generalmente son considerados inhibitorios, mientras los receptores 5-HT_{2A} son excitatorios. En la rata, el 60% de las neuronas piramidales en la corteza prefrontal expresan receptores 5-HT_{1A} o 5-HT_{2A}. Resulta interesante que el 80% de estas neuronas coexpresan ambos receptores [46].

2.2.5 Receptores serotoninérgicos

En los vertebrados se han identificado dieciocho genes del receptor 5-HT [47], que se han clasificado en 7 familias (5-HT₁ a 5-HT₇), con base en su mecanismo de señalización (Figura 10) [25,48]. Los receptores 5-HT₁ (A,B,D,E y F) se acoplan a las proteínas G inhibitorias (G_{i/o}) que inhiben la cascada de señalización adenilato ciclasa (AC)/ proteína cinasa A (PKA). Los receptores 5-HT₂ (A, B, C) se acoplan a las proteínas G_q que estimulan la cascada de señalización fosfolipasa C (PLC)/ proteína cinasa C (PKC) y aumenta la señalización del calcio intracelular. Los receptores 5-HT₃ (A, B, C,) son únicos entre los receptores 5-HT, ya que son canales iónicos activados por ligando. Los receptores 5-HT₄, 5-HT₆ y 5-HT₇ se acoplan a las proteínas G estimuladoras (G_s) y activan la cascada de señalización adenilato ciclasa (AC)/ proteína cinasa A (PKA). La señalización de los receptores 5-HT₅ es menos clara, pero la evidencia sugiere que podrían estar acoplados a proteínas G_{i/o} e inhibirían la vía adenilato ciclasa (AC)/ proteína cinasa A (PKA). La activación de estos receptores 5-HT permite modular una variedad de actividades neuronales [24].

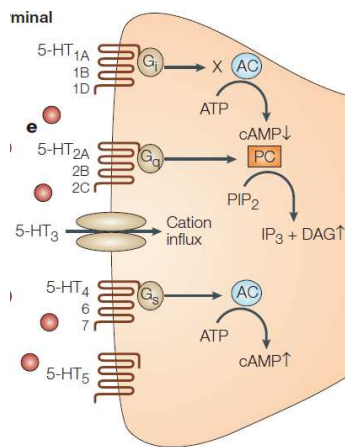


Figura 10. Receptores serotoninérgicos

2.2.6 Síndrome serotoninérgico

El uso de fármacos en la clínica como son los SSRIs, MAOIs, o antidepresivos tricíclicos son benéficos en el tratamiento de enfermedades como la depresión. Estos fármacos aumentan los niveles de 5-HT, sin embargo un exceso de 5-HT puede conducir a una condición potencial que amenace la vida, descrita como el síndrome serotoninérgico o toxicidad serotoninérgica. Este síndrome puede presentar algunos síntomas como son: hiperreflexia, tremor, euforia, etc. La parte más importante de la terapia para la toxicidad serotoninérgica es dejar de administrar los medicamentos ofensivos [34].

2.3 Bioisosterismo

El concepto de isostería química (Langmuir-1919) define a dos moléculas como isósteras cuando presentan el mismo número de átomos y la misma distribución electrónica; observándose para ellos propiedades fisicoquímicas semejantes (densidad, constante dieléctrica, solubilidad, etc.). Este concepto es mucho más importante desde el punto de vista biológico que desde el punto de vista físico o fisicoquímico.

2.3.1 Ley del desplazamiento de los hidruros de Grimm

Una extensión del concepto de isósteros se dio en 1925 con la *ley del desplazamiento de hidruros de Grimm* [49]. Esta ley establece “los átomos colocados cuatro lugares por delante de un gas noble, en el sistema periódico, cambian sus propiedades por su unión a uno, dos, tres o cuatro átomos de hidrógeno, comportándose como pseudoátomos, los cuales son similares a los elementos que se localizan uno, dos, tres o cuatro lugares a su derecha respectivamente” (Figura 11).

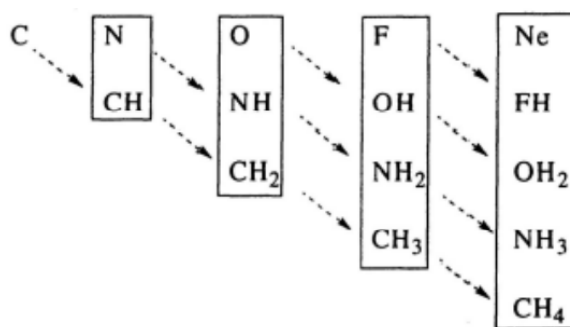


Figura 11. Ley del desplazamiento de hidruros de Grimm.

Erlenmeyer [50] amplió la clasificación de Grimm y redefinió los isósteros como átomos, iones y moléculas en las cuales la capa periférica de electrones puede ser considerada idéntica. La extensa aplicación del concepto de isosterismo para modificar la actividad biológica ha dado el surgimiento al término bioisosterismo.

Burger definió [50] a los bioisósteros como “compuestos o grupos que poseen volumen y forma molecular cercana o igual, aproximadamente la misma distribución de electrones y exhiben propiedades físicas similares”.

2.3.2 Clasificación del bioisósteros

Los bioisósteros se clasifican en clásicos y no clásicos: La ley del desplazamiento de hidruros de Grimm [49] y la definición de Erlenmeyer de isósteros trazan una serie de reemplazamientos que han sido referidos como bioisósteros clásicos.

Los bioisósteros clásicos se dividen en distintas categorías: (a) átomos o grupos monovalentes; (b) átomos o grupos divalentes; (c) átomos o grupos trivalentes; (d) átomos tetrasustituidos y (e) anillos equivalentes. Este puede ser dividido en los siguientes grupos: (a) reemplazamiento de hidrógeno por flúor; (b) intercambio amino-hidroxilo; (c) intercambio tiol-hidroxilo; (d) intercambio de grupos hidroxilo, amino, metilo y flúor (ley del desplazamiento de hidruros de Grimm); (e) intercambio de grupos hidroxilo, tiol, cloro y bromo [50].

Los isósteros no clásicos no obedecen la definición electrónica y estérica de los isósteros clásicos y pueden ser divididos en (a) estructuras no cíclicas vs anillos y (b) grupos intercambiables [49,50].

2.3.3 Consecuencias del reemplazamiento bioisostérico

El reemplazamiento bioisostérico puede afectar diversos parámetros como el tamaño, la conformación, efectos mesoméricos e inductivos, capacidad de formar puentes de hidrógeno, pKa, solubilidad, hidrofobicidad, estabilidad y reactividad. Además puede conducir a disminuir los efectos secundarios, mayor selectividad, disminución de la toxicidad y mejoramiento de la farmacocinética (Figura 12).

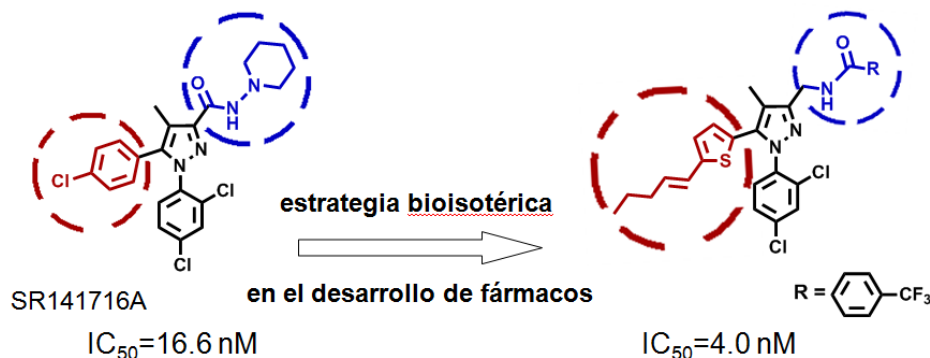


Figura 12. Estrategia bioisotérica en el desarrollo de fármacos.

2.3.4 El Bioisosterismo en la química medicinal

Un compuesto con una actividad farmacológica deseada puede estar asociado con efectos colaterales no deseados, característica que limita su biodisponibilidad o características estructurales que influyen de manera adversa su metabolismo y excreción del cuerpo. El bioisosterismo representa una herramienta usada en la química medicinal para la modificación racional de compuestos a fin de obtener agentes clínicamente más efectivos y seguros [50].

2.4 El Flúor en la Química Medicinal

El flúor es el elemento más electronegativo, tiene aplicaciones en diversas áreas como la química medicinal, la farmacología, el descubrimiento de medicamentos, así como aplicaciones diagnósticas y terapéuticas que contienen flúor. Entre las características especiales que hacen tan atractivo al flúor se encuentran: radio atómico pequeño, alta electronegatividad, spin nuclear de 1/2 y la baja polarizabilidad del enlace C–F. Algunas propiedades asociadas a la sustitución del enlace C–H o C–O por un enlace C–F en compuestos biológicamente activos son: mayor estabilidad metabólica, incremento en la unión a moléculas blanco, aumento en la lipofilidad y permeabilidad de la membrana [51].

El flúor es frecuentemente usado en la industria farmacéutica; actualmente entre 20 y 25% de todos los fármacos contienen al menos un átomo de flúor. Estos incluyen algunos “éxitos de taquilla”, por ejemplo, Prozac (fluoxetine, depresión), Celebrex (celecoxib, artritis), Arcoxia (etoricoxib, artritis), Sustiva (efavirenz, anti-VIH), Januvia (sitagliptina, diabetes) y Lipitor (atorvastatina, dislipidemia) [52].

Los fármacos fluorados constituyen aproximadamente el 5-15% del número total de fármacos lanzados al mercado a nivel mundial durante los últimos 50 años, con un notable incremento los últimos 5 años (Figura 13) [53].

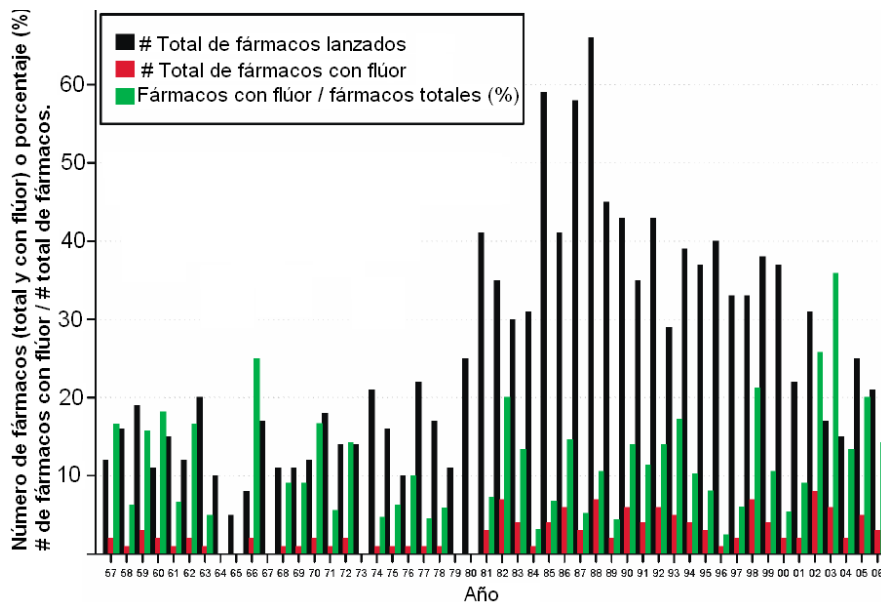


Figura 13. Fármacos lanzados al mercado conteniendo flúor de 1957-2006.

3. JUSTIFICACIÓN

A pesar de los avances en el tratamiento de la depresión aún existen muchos inconvenientes clínicos respecto a la eficacia y los efectos secundarios de los fármacos antidepresivos. La eficacia de la farmacoterapia antidepresiva, independientemente del tipo usado, se estima porque más de una tercera parte de los casos no responde al tratamiento y sólo en aproximadamente la mitad de los casos tratados se observa una mejora del 50% en los síntomas depresivos. Aunado a lo anterior, se estima que existe una respuesta tardía en la aparición de la respuesta farmacológica de entre 4 a 6 semanas. Es por ello, que existe una necesidad continua para el desarrollo de fármacos antidepresivos.

3.1 HIPÓTESIS

Las modificaciones sistemáticas realizadas al modelo 5-HT, que incluyen la elongación de la cadena en C-3 en un metileno, la funcionalización y restricción conformacional de la cadena 3-aminopropil, la 5-deshidroxilación, la sustitución en C-5 por flúor (bioisómero), metoxilo o metilo y en el nitrógeno indólico por grupos metilo, bencilo o prenilo conducirá a nuevos inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (SSRIs).

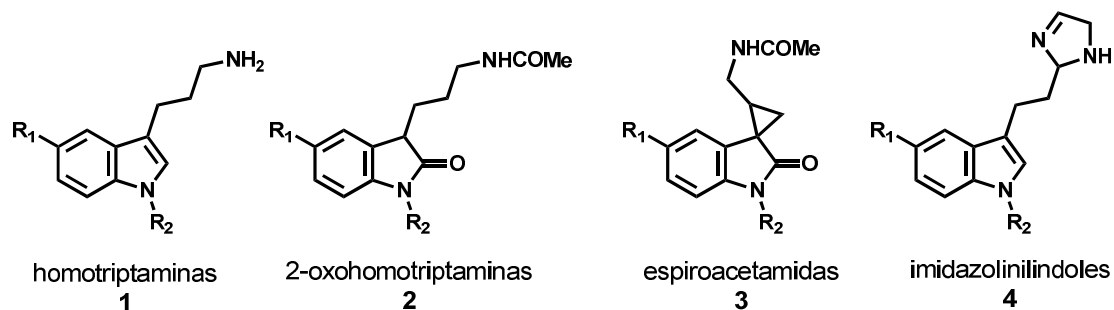
4. OBJETIVO

Sintetizar una serie de análogos de la serotonina y evaluar su efecto inhibitorio sobre el transportador de serotonina (SERT)

4.1 Objetivos específicos

1) Sintetizar series de homotriptaminas **1**, 2-oxohomotriptaminas **2**, espiroacetamidas **3** e imidazolinilindoles **4** análogas de la 5-HT y caracterizar sus

intermediarios de síntesis y productos finales por RMN de ^1H , ^{13}C y difracción de rayos-X.



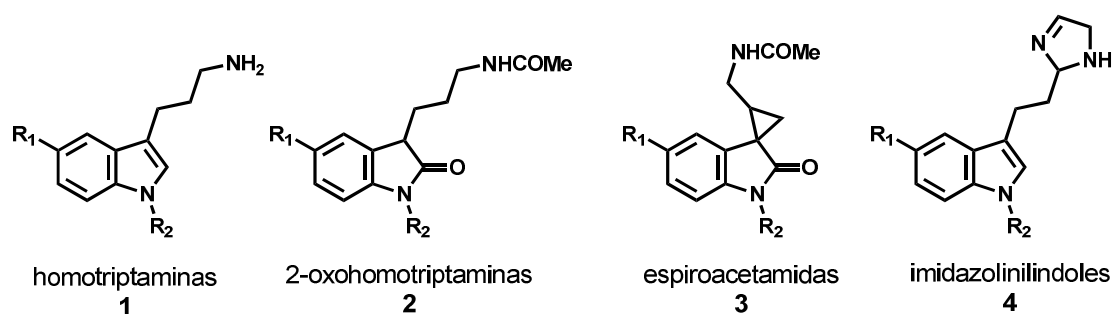
2) Estudiar el mecanismo de hidrogenación catalítica heterogénea de los espirociclopropiloxindoles **10**, precursores de las 2-oxohomotriptaminas **2** y de las espiroacetamidas **3**.

3) Realizar estudios de competencia por el trasportador SERT de las homotriptaminas **1** e imidazolinilindoles **4**.

5. RESULTADOS QUÍMICOS Y DISCUSIÓN

5.1 Síntesis de homotriptaminas **1** y sus derivados **2-4**, análogos de la 5-HT

Con la finalidad de descubrir nuevos compuestos para el tratamiento farmacológico de la depresión, a continuación se describe la síntesis de un grupo de homotriptaminas **1** y homotriptaminas funcionalizadas con grupos acetamida **2**, espiroacetamida **3** e imidazolina **4**, a partir del 5-metilindol (**5a**) o 5-fluoroindol (**5b**).



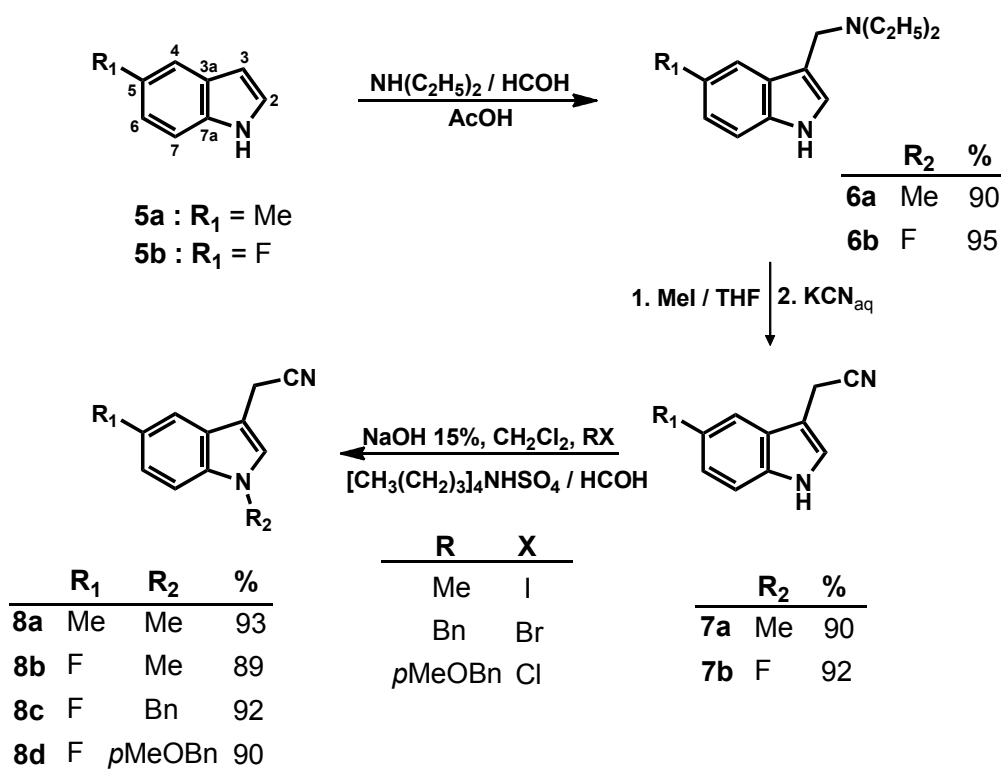
5.1.1 Síntesis de 2-oxohomotriptaminas **2** y espiroacetamidas **3**

La síntesis de las 2-oxohomotriptaminas **2** y espiroacetamidas **3** se llevó a cabo usando una metodología general desarrollada en nuestro grupo de trabajo [54].

5.1.1.1 Síntesis de los 3-acetonitrilindoles-*N*-alquilados **8a-8d**

Los substratos iniciales para la preparación de los 3-acetonitrilindoles-*N*-alquilados **8a-8d** fueron el 5-metilindol **5a** y el 5-fluoroindol **5b**, a través de una secuencia de 2 reacciones, formilación-aminación para dar **6a** y **6b**, seguida de una sustitución generó **7a** y **7b**. La alquilación del átomo de nitrógeno indólico de **7a** y **7b** se llevó al cabo empleando el halogenuro de alquilo correspondiente, ya sea MeI, BnBr o

*p*MeOBnCl para obtener los 3-acetonitrilindoles *N*-alquilados **8a-8d** correspondientes, en rendimientos globales de 75-80% (Esquema 1). La difracción de rayos-X de un monocristal permitió asignar inequívocamente la estructura **8d** (Figura 14)



Esquema 1. Síntesis de los 3-acetonitrilindoles *N*-alquilados **8a-8d**.

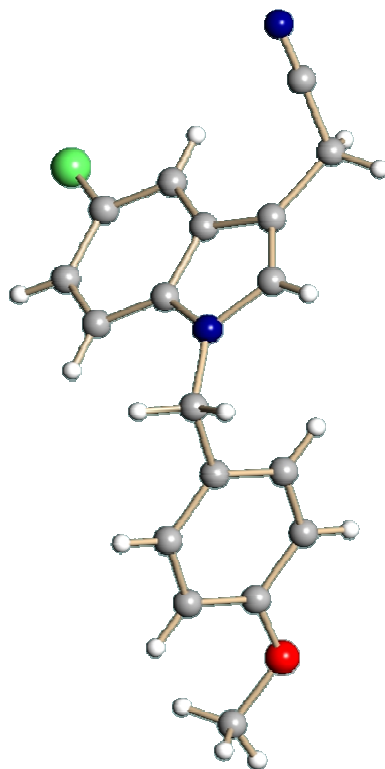
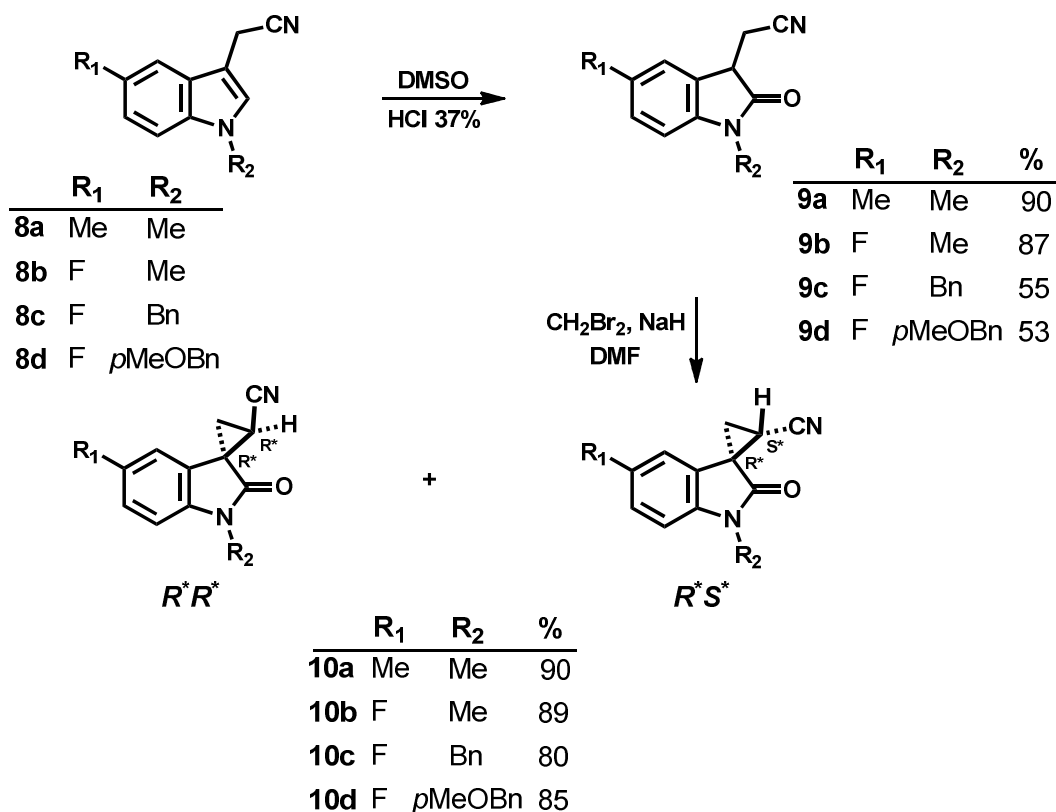


Figura 14. Estructura molecular del 5-fluoro-3-acetonitrilindol **8d** obtenida por difracción de rayos-X.

5.1.1.2 Preparación de los espirociclopropiloxindoles diastereoméricos ($R^*,R^*/R^*,S^*$)-10a-10d

La oxidación en la posición C2 de los 3-acetonitrilindoles *N*-alquilados **8a-8d** se llevó a cabo por reacción con dimetilsulfóxido (DMSO) y HCl al 37% para formar los oxindoles **9a-9d** correspondientes (Esquema 2). A continuación, la espirociclización de **9a-9d** se efectuó por doble alquilación [55]. Así, los oxindoles **9a-9d** disueltos en dimetilformamida (DMF) anhidra se trataron con 1.3 eq de dibromometano y 2.5 eq de NaH a temperatura ambiente durante 4 h para dar los espirociclopropiloxindoles **10a-10d** como mezclas diastereoméricas $R^*,R^*/R^*,S^*$ (Esquema 2), en rendimientos de 80-90%. Estas mezclas distereoméricas,

resultantes de la formación de dos estereocentros contiguos en C3 y C9, fueron separadas por cromatografía flash (CF).



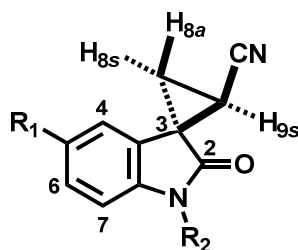
Esquema 2. Síntesis de espirooxindoles diasteroméricos **10a-10d**.

5.1.1.2.1 Asignación de la estereoquímica relativa R^*,R^* o R^*,S^*

La asignación de la estereoquímica relativa de los diasterómeros *anti* y *syn* **10a-10d** se basó en los efectos anisotrópicos de los grupos carbonilo y nitrilo sobre los despazamientos químicos en RMN ¹H de H4 y H9, junto con la determinación de la proximidad espacial de H4, H8s, H8a y H9 por medio de estudios NOE (<<nuclear Overhauser effect>>); permitiendo asignar la estereoquímica relativa $3R^*$, $9R^*$, a los diasterómeros donde el grupo ciano se encuentra *anti* respecto al carboxilo en C2, que resultaron ser los menos polares (*R_f* mayor) y más abundantes. Por consiguiente la estereoquímica relativa $3R^*$, $9S^*$ (*syn*) se atribuyó

a los diastéromeros más polares (minoritarios). La relación diastéromérica (rd) $3R^*,9R^*/3R^*,9S^*$ varió entre 2:1 y 5:1 (Tabla 1).

Tabla 1. Síntesis de espirociclopropiloxindoles **10a-10d**



	Oxindol 9	R ₁	R ₂	rd ^a <i>anti/syn</i> 10	Rendimiento 10 ^b (%)
1	a	Me	Me	2:1	90
2	b	F	Me	4:1	89
3	c	F	Bn	3:1	80
4	d	F	<i>p</i> MeOBn	5:1	85

^aDeterminado por CG/EM y/o RMN ¹H del crudo de reacción.

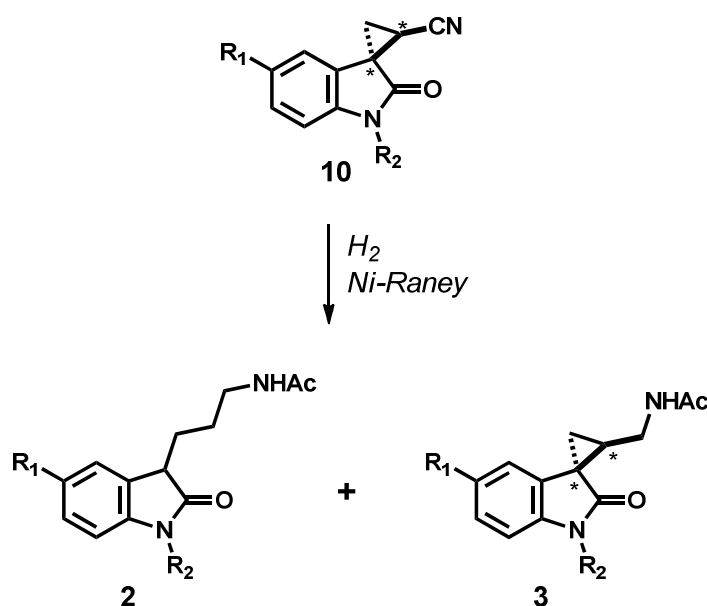
^bRendimiento total de la mezcla de *anti/syn-10*.

5.1.1.3 Síntesis de 2-oxohomotriptaminas **2a-d** y de espiroacetamidas *anti-3a-d*

La estrategia de síntesis de las 2-oxohomotriptaminas **2**, involucró la hidrogenación de **10** en presencia de Ni-Raney usando Ac₂O como disolvente (Esquema 3). Esta transformación ocurre en tres pasos que consisten en la apertura regioselectiva del anillo de ciclopropano, concomitante con la aminación-reductiva-acetilación del grupo nitrilo. Junto con **2** puede formarse la espiroacetamida **3**, resultante de la reducción-acetilación del grupo nitrilo.

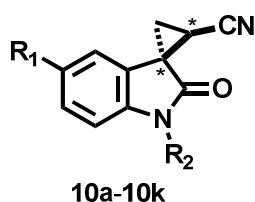
5.1.1.3.1 Mecanismo de hidrogenación catalítica via radicales libres

Desde un punto de vista mecanístico, es concebible que la formación de las 2-oxohomotriptaminas **2**, por hidrogenólisis del enlace relativamente débil C3-C9, involucre un intermediario radical libre centrado en un átomo de carbono, que posteriormente es reducido por el átomo de H en la superficie del catalizador para dar **2** (Esquema 3). Los estudios teóricos y experimentales indican que los efectos electrónicos del grupo ciano, junto con los efectos geométricos son decisivos para explicar la quimio y regioselectividad de la reacción.



Esquema 3. Formación 2-oxohomotriptaminas **2** y espiroacetamidas **3**

Para entender mejor la influencia de la estabilidad relativa del posible intermediario radical libre derivado de la espirolactama **10** en la distribución de los productos formados, se sintetizaron las espirolactamas **10a-10i** (Esquema 4) que fueron tratadas con hidrógeno bajo condiciones de catálisis heterogénea.



- | | |
|---|---|
| a: R ₁ = R ₂ = Me | g: R ₁ = OMe, R ₂ = Me |
| b: R ₁ = F, R ₂ = Me | h: R ₁ = OMe, R ₂ = Bn |
| c: R ₁ = F, R ₂ = Bn | i: R ₁ = OMe, R ₂ = <i>p</i> OMeBn |
| d: R ₁ = F, R ₂ = <i>p</i> OMeBn | j: R ₁ = NMe ₂ , R ₂ = Me |
| e: R ₁ = H, R ₂ = Me | k: R ₁ = NO ₂ , R ₂ = Me |
| f: R ₁ = H, R ₂ = Bn | |

Esquema 4. Espirolactamas **10** examinadas teórica y/o experimentalmente

Los resultados mostraron que la hidrogenación de las espirolactamas **10a-10i** dió mezclas de 2-oxohomotriptaminas **2a-2i** y espiroacetamidas **3a, 3e-3i** en la composición mostrada en la Tabla 2, que fueron determinadas por análisis de GC/MS y RMN de ¹H del crudo de reacción. De las mezclas **2/3** se obtuvieron muestras puras por CF, excepto en el caso de la mezcla **2a/3a** que no fue posible separar. La difracción de rayos X de un monocristal permitió asignar la estructura (3*R*^{*},9*R*^{*})-*anti* **3e** (Figura 15).

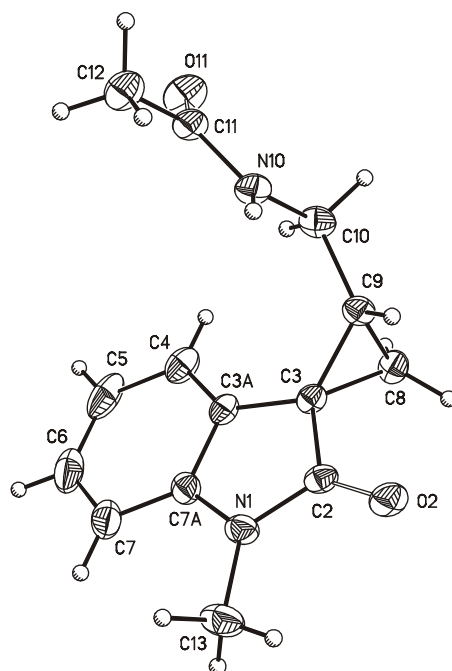


Figura 15. Estructura molecular de la espiroacetamida *anti*-**3e** obtenida por difracción de rayos-X.

En la Tabla 2 se muestra el efecto del sustituyente en la posición C5 en el núcleo de oxindol de **10a-10i** en la distribución de los componentes individuales en la mezcla. Se observa que el sustituyente electroattractor flúor en **10b-10d** ejerció un quimiocontrol sobre la reacción de hidrogenación catalítica, produciendo **2b-2d** como productos únicos (entradas 2-4). Cuando el grupo electroattractor es reemplazado por un grupo electrodonador, como en **10a** ($R_1 = \text{Me}$), se obtuvo la 2-oxohomotriptamina **2a** y la ciclopropilacetamida **3a** en relación 6:1 (entrada 1). Se puede asumir que la presencia del grupo 5-Me desacelera la ruptura del enlace C3-C9. La sustitución por el grupo OMe en C5 disminuyó ligeramente la relación del rendimiento de las espiroacetamidas **3g-3i** con respecto a las 2-oxohomotriptaminas **2g-2i** (entradas 7-9). Por lo tanto, la relación resultante de **2:3** es indicativa de la reactividad relativa de la apertura reductiva del enlace C3-C9 con respecto a la reducción del grupo nitrilo de los espirooxindoles **10a-10i**.

Como se esperaba, a partir de consideraciones de estabilidad de radicales libres [56], los grupos electrodonadores fueron menos eficientes que los grupos electroattractores en promover la ruptura del enlace C3-C9 de las espirolactamas **10**. También es evidente en la Tabla 2 que el curso de la reacción es independiente del sustituyente presente en el átomo de nitrógeno del núcleo oxindólico, ya que no se detectó ninguna influencia en la quimioselectividad de **2/3**.

Tabla 2. Productos y rendimientos^a de la reducción catalítica de **10**.

Entrada	10	R ₁	R ₂	Relación ^b 2/3	Rendimiento global (%) ^c
1	a	Me	Me	6:1	90
2	b	F	Me	2 (>96) ^d	93
3	c	F	Bn	2 (>96) ^d	97
4	d	F	<i>p</i> -OMeBn	2 (>96) ^d	92
5	e ^e	H	Me	6:1	85
6	f ^e	H	Bn	7:1	87
7	g ^e	OMe	Me	8:1	87
8	h ^e	OMe	Bn	7:1	90
9	i ^e	OMe	<i>p</i> -OMeBn	8:1	82

^a H₂, Ni-Raney W2 (sustrato 30 mg/mL, 200% en peso del catalizador), Ac₂O, 45 psi, t. a., 6 h.

^b Determinado por CG/EM y RMN de ¹H de la mezcla en el crudo de reacción.

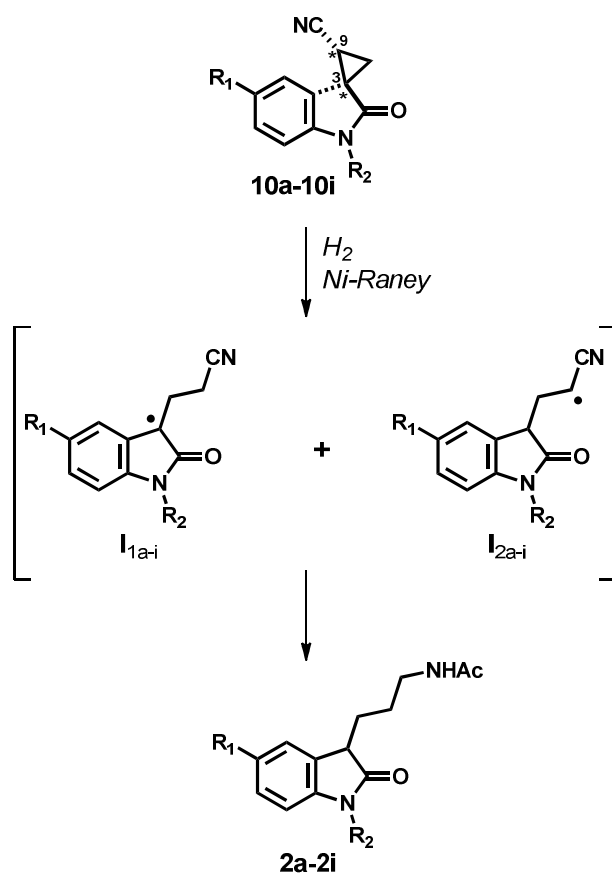
^c El rendimiento se refiere a la mezcla pura de **2/3** después de la cromatografía flash.

^d La espiroacetamida **3** no fue detectada.

^e Compuestos descritos en la Ref. 67.

5.1.1.3.2 Formación de 2-oxohomotriptaminas **2** vía un intermediario radical libre

Los productos de hidrogenólisis **2a-2i** se pueden interpretar como derivados de radicales libres de las benzolactamas **I_{1a-I_{1i}}**, que son estabilizados por una deslocalización eficiente del electrón a través del núcleo oxindólico. Sin embargo, dependiendo del sitio de adición del átomo de hidrógeno, también es posible la generación de radicales del tipo *sec* **I_{2a-I_{2i}}** que presentan cierto carácter de doble enlace en el enlace C-C(N), debido a la deslocalización por resonancia del electrón no apareado en el átomo de nitrógeno del grupo ciano [57]. La hidrogenación intermolecular de los intermediarios **I** parece ser de gran importancia, ya que no se detectaron compuestos diméricos (Esquema 5).



Esquema 5. Mecanismo de formación del producto de hidrogenólisis **2**.

De acuerdo a cálculos realizados por la teoría de funcionales de la densidad, los radicales benzolactámicos **I**₁ son más estables que los radicales sec **I**₂ en un orden de 12-13 kcal/mol, lo que indica que los radicales sec **I**₂ no son importantes como intermediarios en la hidrogenólisis de **10**.

Como en el caso de las benzolactonas, el anillo de cinco miembros del oxindol proporciona planaridad forzada a los radicales libres derivados de benzolactamas **I**₁, se favorece la deslocalización del electrón en la estructura del oxindol. En contraste, se espera que el grupo carbonilo de lactama en **I**₁ sea un estabilizador pobre de radicales libres debido a la deslocalización por resonancia del par de electrones del nitrógeno en el grupo carbonilo.

5.1.1.3.3 Análisis de los orbitales moleculares SOMO

Las propiedades químicas más importantes de las moléculas están determinadas por sus orbitales frontera, particularmente por el HOMO, el LUMO y el SOMO. Estas siglas corresponden en inglés, a “orbital ocupado de más alta energía”, “orbital vacío de más baja energía” y “orbital molecular ocupado por un solo electrón”, respectivamente. El SOMO está presente entre otras especies moleculares en los radicales libres y es importante para explicar su estabilidad.

En un intento por predecir la influencia de sustituyentes en la posición C5 del anillo de ciclopropiloxindoles **10** sobre los rendimientos de las 2-oxohomotriptaminas **2** y las correspondientes consecuencias en las propiedades electrónicas y termoquímicas de los radicales **I**₁, la estabilidad relativa de los radicales **I**₁ se analizó mediante el uso de los niveles de energía del orbital molecular SOMO. En aras de la simplicidad, se usaron como modelos los ciclopropiloxindoles *N*-metil sustituidos **10a**, **10b**, **10e** y **10g** (R₂ = Me). Los cálculos también incluyeron los compuestos modelo **10j** (R₁ = NMe₂, R₂ = Me) y **1k** (R₁ = NO₂, R₂ = Me) (Tabla 3).

Una comparación teórica del radical I_{1a} ($R_1 = H$) con el radical I_{1b} ($R_1 = F$) muestra que la sustitución en meta por un átomo de flúor está acompañada por un incremento en la estabilidad relativa del orbital molecular SOMO (entradas 1 y 2). Además, la funcionalización $m\text{-NO}_2$ mostró un efecto estabilizador más grande sobre el radical benzolactama I_{1k} (entrada 6). Mientras que la sustitución $m\text{-NMe}_2$ resulta en un efecto desestabilizador más grande en el radical bencilo I_{1j} (entrada 5). Estos resultados sugieren que los radicales benzolactama I_1 sustituidos en meta con grupos electroattractores son más estables que los sustituidos con grupos electrodonadores.

Tabla 3. Energías de SOMO para radicales I_1 , y constantes de Hammett σ_m

Entrada	10	R_1	$E_{\text{SOMO}}^{a,b}$ I_1	σ_m Hammett ^c
1	a	Me	-812.99	-0.07
2	b	F	-843.16	0.34
3	e	H	-821.86	0.00
4	g	OMe	-807.74	0.12
5	j	NMe ₂	-781.11	-0.16
6	k	NO ₂	-883.80	0.71

^a Dado en kJ/mol

^b Método CBS-4m

^c Referencia 16

5.1.1.3.4 Correlación entre las energías SOMO y las constantes σ_m de Hammett.

El desarrollo de las relaciones lineales de energía libre en forma de constantes del sustituyente tipo Hammett es uno de los principales logros de la química orgánica

física [58]. En contraste con el comportamiento no-Hammett de los sistemas de radicales bencílicos, los efectos electrónicos de sustituyentes donadores y aceptores en los radicales benzolactama **1**, estimados a través del orbital molecular SOMO, son lo suficientemente dominantes como para producir una correlación razonable con las constantes de Hammett σ_m [59]. Por lo tanto, se analizó la relación lineal de energía libre. La correlación entre la energía de orbital molecular calculada para SOMO con las constantes de Hammett σ_m se muestra en la Figura 16. Los valores de energía del electrón desapareado, indicado por los resultados SOMO, correlacionan razonablemente bien (coeficiente de correlación lineal de 0.9 y error estándar de 12.35, Figura 16) con σ_m . Estos cálculos predicen que la regioquímica en la hidrogenólisis de **10** aumenta a favor de **2** conforme lo hace la σ_m de Hammett.

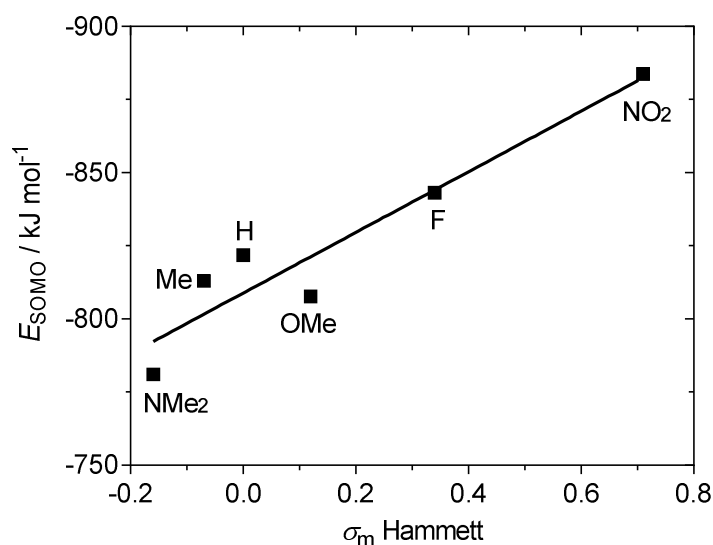


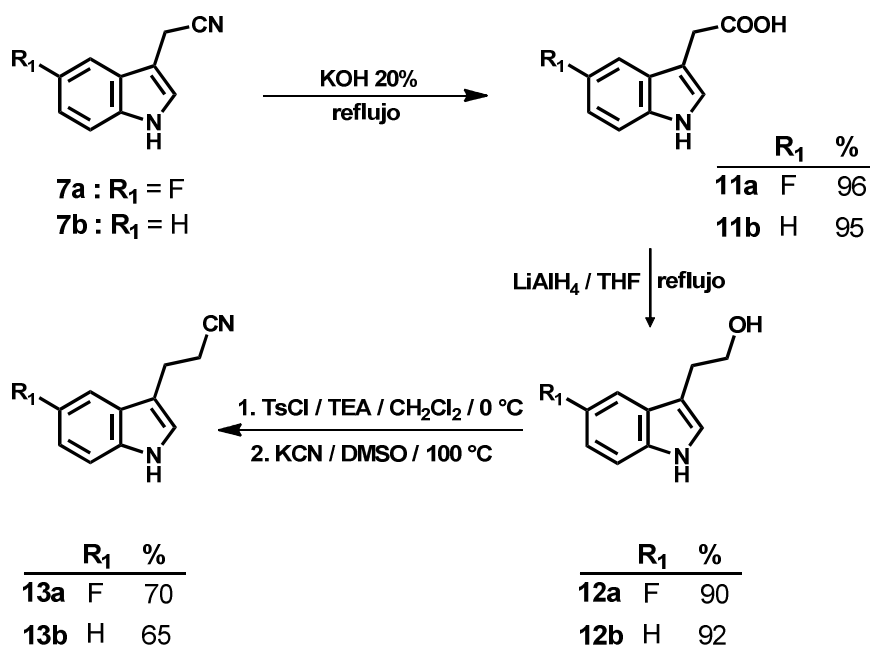
Figura 16. Correlación entre las energías SOMO y las constantes σ_m de Hammett.

5.1.2 Síntesis de homotriptaminas **1** e imidazolinilindoles **4**

La síntesis de homotriptaminas **1** y de homotriptaminas en donde el grupo amino puede estar integrado al sistema de imidazolina tal como en **4** se llevó a cabo a partir de 3-propionitrilindoles **13a** y **13b**.

5.1.2.1 Síntesis de los 3-propionitrilindoles (**13**)

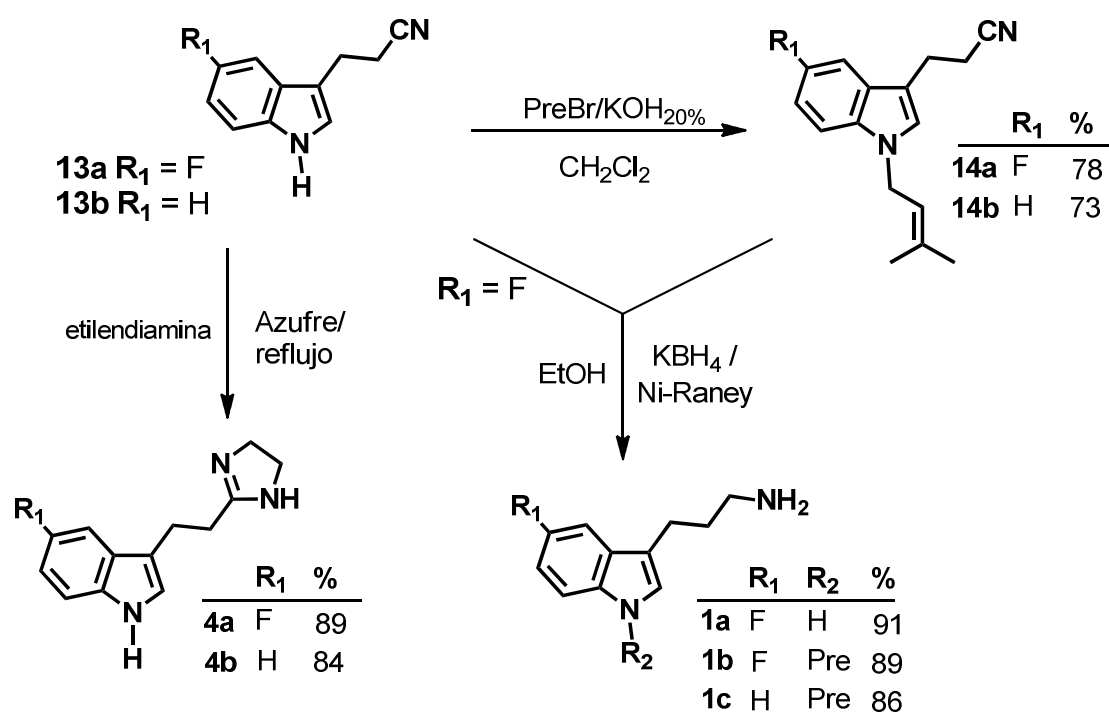
La síntesis del 5-fluoro-3-propionitrilindol **13a** y del 3-propionitrilindol **13b** se realizó usando como sustrato el 5-fluoro-3-acetonitrilindol **7a** o el 3-acetonitrilindol **7b**. La hidrólisis del grupo ciano de los acetonitrilindoles **7a** y **7b** se llevó a cabo en medio básico usando KOH 20% acuoso bajo condiciones de reflujo, para formar los ácidos carboxílicos correspondientes **11a** y **11b**. La reducción de los ácidos carboxílicos **11a** y **11b** con LiAlH_4 dio los alcoholes **12a** y **12b**. La tosiliación de los alcoholes **12a** y **12b** con TsCl/NEt_3 , seguida de la sustitución del grupo tosilo por un grupo nitrilo en presencia de KCN/DMSO generó los 3-propionitrilindoles **13a** y **13b**, en rendimientos globales de 57-60% (Esquema 6).



Esquema 6. Síntesis de los 3-propionitrilindoles **13a**, **13b**.

5.1.2.2 Preparación de homotriptaminas 1a-1c e imidazolinilindoles 4a, 4b

La *N*-prenilación de los 3-propionitrilindoles **13a** y **13b** se realizó con bromuro de prenilo (PreBr) para dar **14a** y **14b**. La reducción del 3-propionitrilindol **13a** y de los derivados *N*-prenilados **14a**, **14b** con KBH_4 , Ni-Raney/EtOH condujo a las homotriptaminas **1a-1c**. Los imidazolinilindoles **4a**, **4b** se obtuvieron a partir de **7a** y **7b** por reacción con etilendiamina y azufre (Esquema 7).



Esquema 7. Síntesis de las homotriptaminas **1a-1c** e imidazolinilindoles **4a, 4b**

6. RESULTADOS BIOLÓGICOS Y DISCUSIÓN

6.1 Homotriptaminas **1** e imidazolinilindoles **4** posibles SSRIs

Dado el papel del transportador 5-HT (SERT) en la regulación de la concentración extracelular de 5-HT, se evaluó la posible competencia de las homotriptaminas **1a** y **1b** y de los imidazolinilindoles **4a** y **4b** por el SERT (Figura 17). En tal caso, dichos compuestos actuarían como inhibidores selectivos de la recaptura de 5-HT (SSRIs) y consecuentemente elevarían la concentración de 5-HT en la hendidura sináptica.

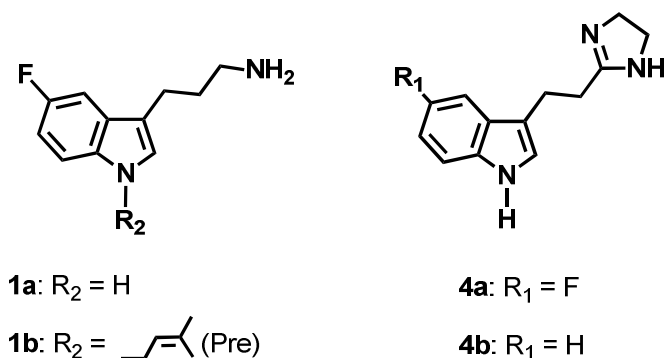


Figura 17 Estructuras de los compuestos blanco **1a**, **1b**, **4a** y **4c**.

6.1.1 Estudios de competencia por el transportador de serotonina (SERT)

Los efectos potenciales de los compuestos **1** y **4** en la captura de 5-HT se evaluaron usando un modelo basado en preparaciones sinaptosomales. La metodología incluye (1) preparación de sinaptosomas, (2) determinación del tiempo óptimo de captura de 5-HT, (3) evaluación de la funcionalidad del SERT, (4) determinación de la inhibición de la captura de 5-HT por fluoxetina (SSRI), y (5) determinación de la inhibición de la captura de 5-HT por homotriptaminas **1** e imidazolilindoles **4**.

6.1.1.1 Preparación de sinaptosomas

El uso de los sinaptosomas de cerebro de rata, desde su descubrimiento [60], ha ido en aumento como un modelo vesicular para el estudio de fenómenos biológicos en la región sináptica. Particularmente, este modelo ha resultado exitoso en el estudio de procesos de transporte implicados en la captura sinaptosomal de aminas biogénicas [61]. En este estudio, los sinaptosomas se obtuvieron de la corteza prefrontal de cerebro de rata a través de una centrifugación diferencial usando gradientes de sacarosa, como se describe en la sección de Materiales y Métodos.

6.1.1.2 Determinación del tiempo óptimo de captura de 5-HT

Para evaluar los posibles efectos de las homotriptaminas **1** e imidazolilindoles **4** y sobre la inhibición de la captura de la 5-HT se determinó previamente el tiempo óptimo de captura, es decir, el momento en el que la 5-HT se encuentra en niveles altos dentro del sinaptosoma. Las mediciones se llevaron a cabo a diferentes tiempos (1, 2, 4, 5, 10 y 15 min) por triplicado ($n = 4$), como se describe en la sección de Materiales y Métodos. Se utilizó como marcador a la serotonina tritiada ($[^3\text{H}]5\text{-HT}$), que a través de un contador de centelleo permitió evaluar la captura del neurotransmisor en los sinaptosomas. La gráfica obtenida se muestra en la Figura 18. De ella se determinó que el tiempo óptimo de captura de $[^3\text{H}]5\text{-HT}$ en los sinaptosomas es de 7 minutos (~90% de respuesta).

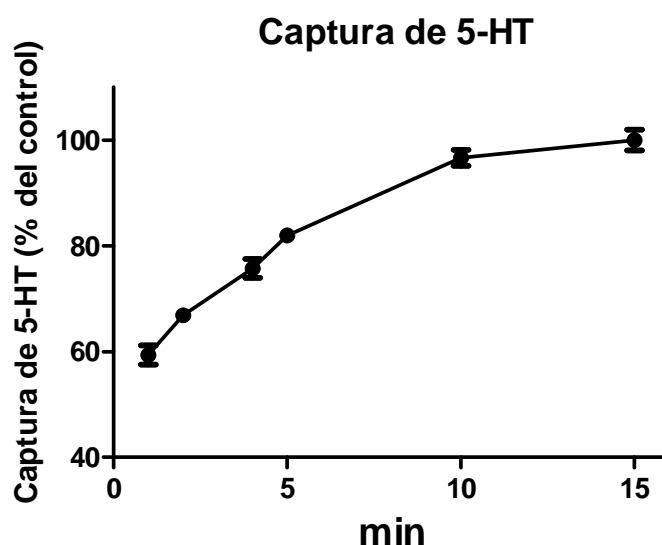


Figura 18. Captura de [³H]5-HT en sinaptosomas de cerebro de rata a diferentes tiempos. Los puntos representan el promedio de 3 experimentos independientes ± EE ($n = 3$), repetidos a intervalos de 1, 2, 4, 5, 10 y 15 min. La curva tiempo-respuesta se obtuvo utilizando GraphPad Prism, versión 5.00 para Windows (GraphPad Software, San Diego, California USA, www.graphpad.com).

Tabla 4. Tiempo de captura de la [³H]5-HT

% Captura de 5-HT ^a					
1 min	2 min	4 min	5 min	10 min	15 min
59.3 ± 1.8	66.9 ± 1.2	75.8 ± 1.8	81.9 ± 1.3	96.6 ± 1.5	100.0 ± 1.9

^a Los datos son el promedio de tres experimentos independientes ± EE ($n = 3$).

6.1.1.3 Evaluación de la funcionalidad del SERT

Un requisito esencial en la investigación de procesos de transporte celulares es la certeza de la viabilidad funcional de los sinaptosomas. Los experimentos control para evaluar si el proceso de transporte de 5-HT se encuentra funcional en las preparaciones sinaptosomales se llevaron a cabo en ensayos paralelos, como se describe en la sección de Materiales y Métodos y fueron: (a) incubación de las preparaciones sinaptosomales con fluoxetina 100 nM, un antidepresivo SSRI, (b) incubación de las preparaciones sinaptosomales a temperatura baja, a la cual se considera que los transportadores de monoaminas son inactivos ($4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$) y (c) incubación de las preparaciones sinaptosomales en un medio libre de Na^+ , o sea en ausencia de requerimientos iónicos. Los experimentos se controlaron por los efectos del vehículo (DMSO).

En la Figura 19 se presenta la gráfica resultante de la evaluación de la funcionalidad del SERT. Los resultados fueron consistentes y se caracterizaron por la disminución de la captura de $[\text{}^3\text{H}]\text{5-HT}$ inducida por la inhibición de la actividad del SERT en las condiciones analizadas. Estas fueron incubación de sinaptosomas en soluciones buffer Krebs-HEPES a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ó con fluoxetina 100 nM a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ e incubación en soluciones buffer Krebs-HEPES-CholCl a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ en medio libre de Na^+ , por lo cual se concluye que el SERT se encuentra funcional en los sinaptosomas para realizar estudios de captura.

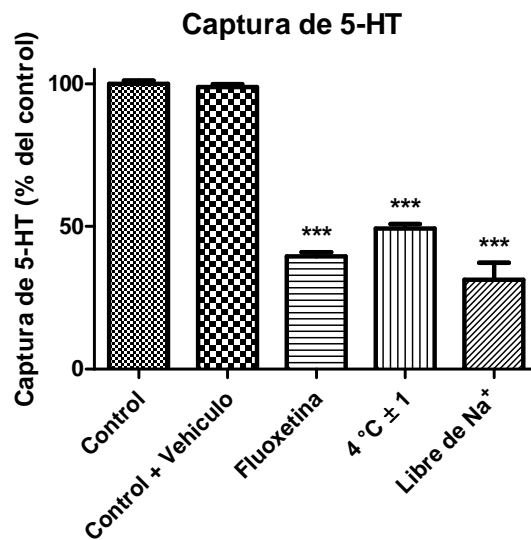
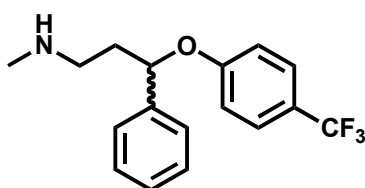


Figura 19. Evaluación de la funcionalidad del SERT en sinaptosomas. La funcionalidad del SERT se determinó por incubación de las preparaciones sinaptosomales en soluciones buffer Krebs-HEPES a 4 ± 1 °C, ó con fluoxetina 100 nM a 37 °C por 7 min, y por incubación de dichas preparaciones en soluciones buffer Krebs-HEPES-CholCl a 37 °C en medio libre de iones Na^+ por 7 min. Los experimentos fueron controlados por ensayos paralelos incubando los sinaptosomas en soluciones buffer Krebs-HEPES a 37 °C por 7 min en ausencia (Control, captura máxima) ó presencia del vehículo (DMSO). La captura de [^3H]5-HT se determinó como se describe en la sección de Materiales y Métodos. Los datos representan la media \pm EE de determinaciones de 3 experimentos independientes ($n = 4$). Los asteriscos indican cambios significativos en la captura de [^3H]5-HT comparada con el vehículo control. Coeficiente de kurtosis >0.05 . Análisis de datos ANOVA. Prueba *post hoc* (de Bonferroni) *** $p < 0.001$ con respecto al control.

6.1.1.4 Determinación de la inhibición de la captura específica de 5-HT por fluoxetina

La capacidad de un compuesto, en este caso la fluoxetina, para inhibir la recaptura de serotonina por el SERT, cuando se adiciona a la mezcla de incubación de sinaptosomas, se determinó valorando la concentración final de serotonina marcada con tritio ($[^3\text{H}]5\text{-HT}$) capturada por los sinaptosomas. Para ello se incuban homogenados de sinaptosomas con 15 nM $[^3\text{H}]5\text{-HT}$. La serotonina marcada presente en los sinaptosomas del homogenado, actúa como sustrato específico del SERT. El compuesto disminuye la cantidad de marca radioactiva cuando inhibe la recaptura de $[^3\text{H}]5\text{-HT}$. La cantidad de $[^3\text{H}]5\text{-HT}$ capturada por los sinaptosomas se cuantifica por centelleo líquido. Los resultados se determinan en términos de CI_{50} , i.e., la concentración requerida del compuesto para reducir en un 50% la recaptura de $[^3\text{H}]5\text{-HT}$ por el SERT.

La fluoxetina, (*RS*)-*N*-metil-3-fenil-3-(4-trifluorometilfenoxi)propilamina, es un miembro de la clase de inhibidores selectivos de la recaptura de 5-HT (SSRI). Es un potente antidepresivo SSRI usado comúnmente en clínica, que se ha empleado como estándar (control positivo) en estudios bioquímicos [62].



Fluoxetina

En este estudio se usó la fluoxetina como control positivo para validar el método. La concentración inhibitoria 50 (CI₅₀) de la fluoxetina (actividad SSRI) se determinó de la curva dosis-respuesta a cinco concentraciones (1nM, 10nM, 100 nM, 1μM y 10 μM) por triplicado, como se describe en la sección de Materiales y Métodos, Tabla 5.

Tabla 5. Inhibición de la captura de 5-HT por la fluoxetina (**flx**)

	% Captura 5-HT ^a					IC ₅₀ ^b
	1 nM	10 nM	100 nM	1 μM	10 μM	
flx	86.9 ± 2.3	72.7 ± 1.3	41.4 ± 1.5	22.0 ± 0.6	20.8 ± 0.6	41.7 nM ± 0.1

^a Los datos son el promedio de tres experimentos independientes ± EE ($n = 3$).

^b Los valores IC₅₀ (valores de mejor ajuste ± EE) se determinaron por análisis de regresión no lineal de los datos concentración-respuesta mostrados en la Fig. 20.

Como se observa en la Tabla 5, la fluoxetina inhibe la captura de 5-HT de manera dosis-dependiente con diferencias estadísticamente significativas aun a la concentración más baja evaluada (1 nM) (** $p > 0.001$). De la gráfica dosis-respuesta de la fluoxetina, en la Figura 20, se obtiene el valor CI₅₀ de 41.7 nM. En este sentido, es interesante notar que los resultados obtenidos en este estudio para el compuesto de referencia, la fluoxetina, están acorde con aquellos previamente descritos usando condiciones experimentales similares [62].

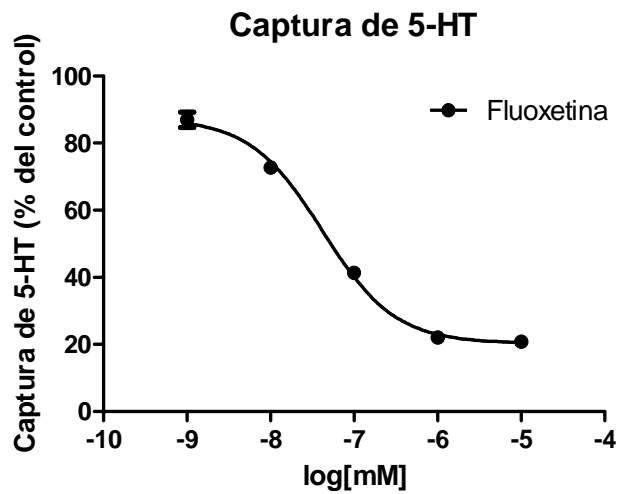


Figura 20. Determinación de la CI_{50} de la fluoxetina. Los sinaptosomas fueron preincubados a diferentes concentraciones de fluoxetina (1 nM, 10 nM, 100 nM, 1 μ M, 10 μ M) durante 15 min. La captura fue iniciada por la adición de [3 H]5-HT y posterior incubación a 37 °C durante 7 min. Los datos son el promedio de tres experimentos independientes \pm EE ($n = 3$). Los puntos representan la captura de 5-HT como porcentaje del control no tratado. La curva de inhibición se ajustó a la ecuación logística de cuatro parámetros utilizando GraphPad Prism, versión 5.00 para Windows (GraphPad Software, San Diego, California USA, www.graphpad.com). $Y = \text{Min} + (\text{Max} - \text{Min}) / (1 + 10^{((X - \log CI_{50}))})$, donde X es el logaritmo de la concentración, Y es la respuesta (% de captura de 5-HT).

6.1.1.5 Determinación de la inhibición de la captura de 5-HT por homotriptaminas **1** e imidazolinilindoles **4**

La concentración inhibitoria 50 (CI₅₀) de las homotriptaminas **1** e imidazolinilindoles **4** sobre la captura de 5-HT en sinaptosomas de la corteza prefrontal de rata se determinó de la curva dosis-respuesta a cuatro concentraciones (10nM, 100 nM, 1μM y 10 μM) por triplicado, como se describe en la sección de Materiales y Métodos,

Tabla 6. Inhibición de la captura de 5-HT por **1a**, **1b**, **4a**, **4b** y la fluoxetina (**flx**)

Comp	% Captura 5-HT ^a					IC ₅₀ ^b
	1 nM	10 nM	100 nM	1 μM	10 μM	
1a	---	90.9 ± 3.4	47.8 ± 2.2	24.3 ± 0.6	23.0 ± 0.8	44.8 nM ± 1.6
1b	---	99.4 ± 0.7	93.5 ± 3.2	77.9 ± 1.3	48.0 ± 3.0	1.87 μM ± 0.1
4a	---	100 ± 1.4	91.8 ± 1.9	59.9 ± 3.1	28.2 ± 2.2	936 nM ± 0.1
4b	---	99.9 ± 1.4	97.5 ± 1.5	85.5 ± 1.2	43.4 ± 1.0	4.85 μM ± 0.1
flx	86.9 ± 2.3	72.7 ± 1.3	41.4 ± 1.5	22.0 ± 0.6	20.8 ± 0.6	41.7 nM ± 0.1

^a Los datos son el promedio de tres experimentos independientes ± EE (*n* = 3).

^b Los valores IC₅₀ (valores de mejor ajuste ± EE) se determinaron por análisis de regresión no lineal de los datos concentración-respuesta mostrados en la Fig. 21.

Como se observa en la Tabla 6 los cuatro compuestos analizados **1a**, **1b**, **4a** y **4b** inhiben la captura de 5-HT de manera dosis-dependiente, aunque son menos potentes que el fármaco de referencia, excepto el compuesto **1a**. La homotriptamina **1a** inhibió la [³H]5-HT entre un 12% y 77% en el intervalo de las concentraciones analizadas, con una CI₅₀ de 44.8 nM comparable a la obtenida para la fluoxetina CI₅₀ 41.0 nM.

Las gráficas de los datos experimentales, en la Figura 21, muestran la media y el error estándar (EE). En todos los casos se observó una distribución normal con un coeficiente de kurtosis >0.05. Las CI₅₀ se calcularon usando la regresión logarítmica de las curvas dosis-respuesta (Figura 22).

Estos resultados indican que la homotriptamina **1a** podría ser un modelo químico original para el diseño y subsecuente desarrollo de nuevos medicamentos, potencialmente útiles para mejorar el tratamiento farmacológico de la depresión.

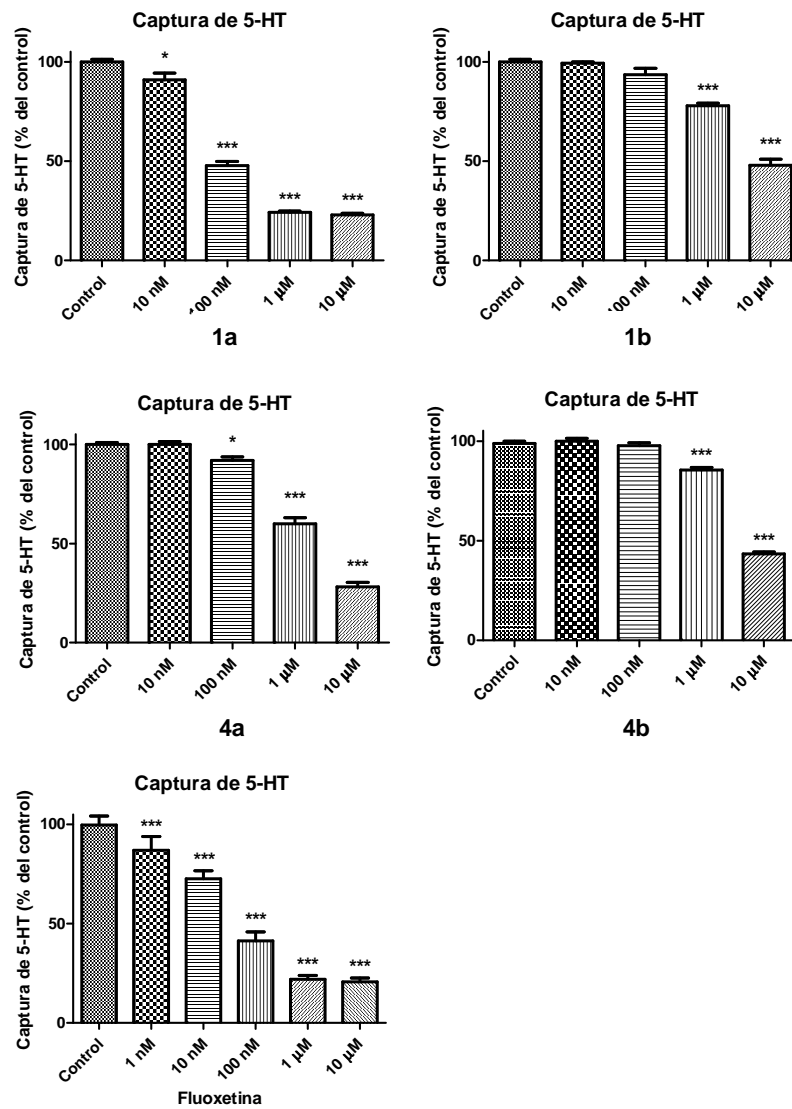


Figura 21. Influencia de la concentración sobre la Inhibición de la captura de 5-HT por homotriptaminas **1a**, **1b** e imidazolilindoles **4a**, **4b** en sinaptosomas. La captura de [³H]5-HT se determinó como se describe en la sección de Materiales y Métodos. Los datos representan la media \pm E.E de determinaciones de 3 experimentos independientes ($n = 3$). Los asteriscos indican cambios significativos en la captura de [³H]5-HT comparada con el vehículo control. Coeficiente de kurtosis >0.05 . Análisis de datos ANOVA. Prueba *post hoc* (de Bonferroni) *** $p < 0.001$ con respecto al control.

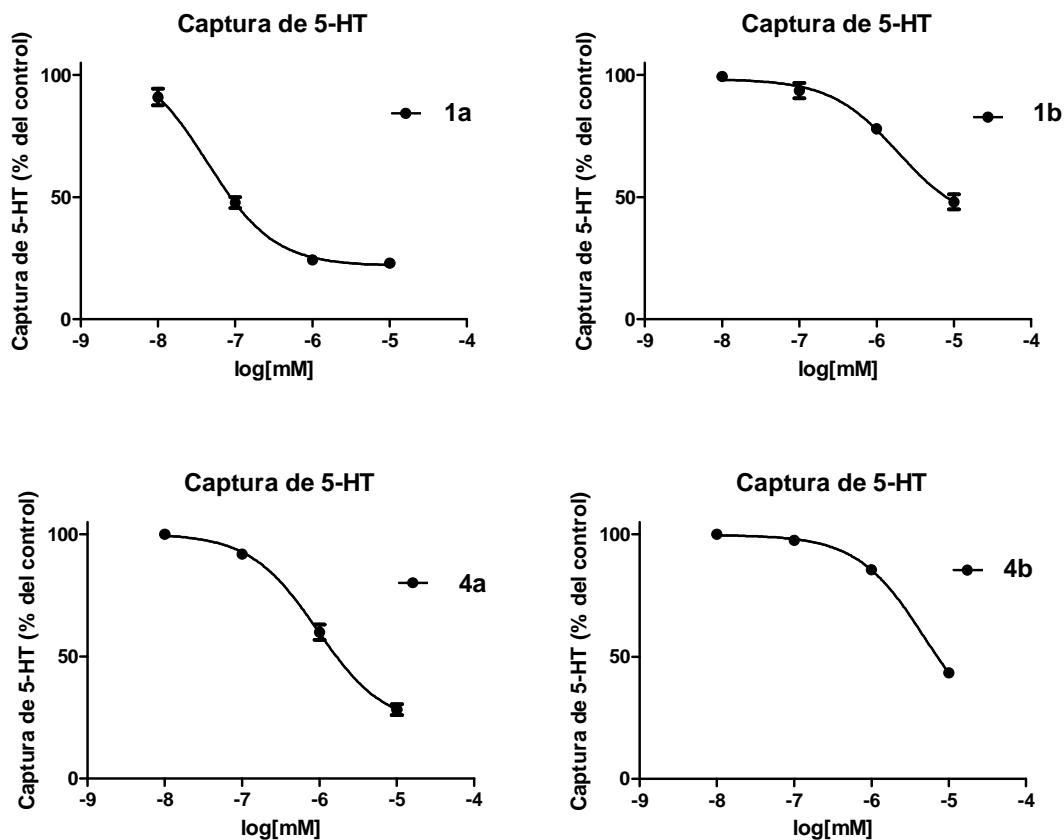
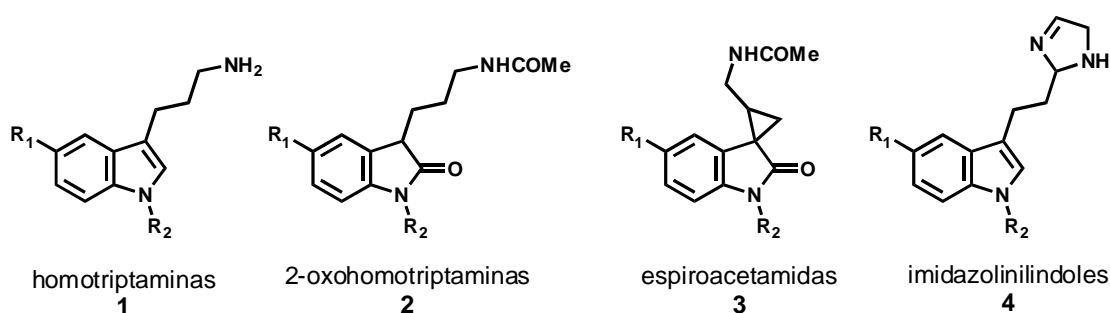


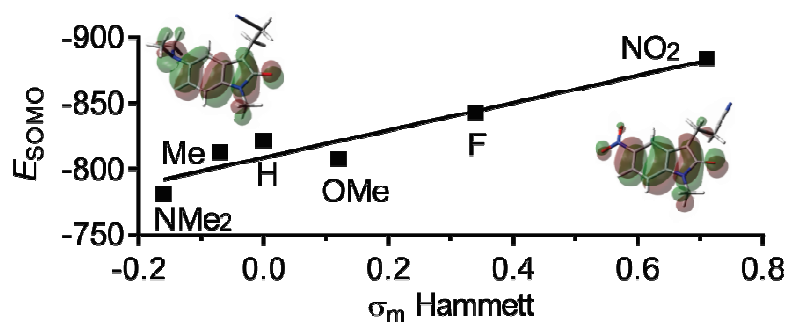
Figura 22. Inhibición de la captura de 5-HT por homotriptaminas **1a**, **1b** e imidazolilindoles **4a**, **4b**. Los sinaptosomas fueron preincubados a diferentes concentraciones de **1a**, **1b**, **4a** ó **4b** (1, 10, 100 nM y 1, 10 μ M) durante 15 min. La captura fue iniciada por la adición de [3 H]5-HT y posterior incubación a 37 $^{\circ}$ C durante 7 min. Los datos son el promedio de tres experimentos independientes \pm EE ($n = 3$). Los puntos representan la captura de 5-HT como porcentaje del control no tratado. La curva de inhibición se ajustó a la ecuación logística de cuatro parámetros utilizando GraphPad Prism, versión 5.00 para Windows (GraphPad Software, San Diego, California USA, www.graphpad.com). $Y = \text{Min} + (\text{Max} - \text{Min}) / (1 + 10^{((X - \log \text{CI}_{50}))})$, donde X es el logaritmo de la concentración, Y es la respuesta (% de captura de 5-HT).

7. CONCLUSIONES

En la búsqueda de nuevos fármacos como inhibidores de la recaptura de serotonina (5-HT), se realizó la síntesis de una serie de homotriptaminas sustituidas en el anillo aromático por un átomo de flúor, metoxilo o metilo y funcionalizadas en la cadena 3-propilamino por grupos acetamido (2), espiroacetamido (3) e imidazolina (4).

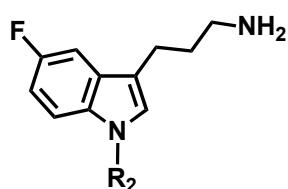


Se estudió el mecanismo de hidrogenación catalítica heterogénea de los espirociclopropiloxindoles **10**, precursores de las 2-oxohomotriptaminas **2** y espiroacetamidas **3**. Los cálculos teóricos y resultados experimentales demostraron que la estabilidad de los intermedios radicales libres es sensible a los efectos inductivos del sustituyente en el anillo aromático. Se encontró que existe una correlación entre la energía libre de Hammett (σ_m) y la energía de los orbitales moleculares ocupados por un electrón (SOMO de sus siglas en inglés).



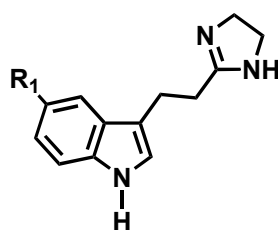
Se realizaron estudios de competencia por el transportador SERT de cuatro homotriptaminas en un modelo de preparaciones sinaptosomales y se determinó la concentración inhibitoria 50 (Cl_{50}).

El análisis de los resultados demostró que las cuatro homotriptaminas estudiadas inhiben la captura de 5-HT de manera dosis-dependiente. El compuesto **1a** es el que muestra la mayor actividad inhibitoria $Cl_{50} = 44.8$ nM comparable a la fluoxetina $Cl_{50} = 41.7$ nM.



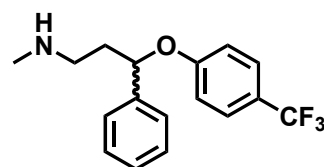
1a: $R_2 = H$, $Cl_{50} = 44.8$ nM

1b: $R_2 = Pre$, $Cl_{50} = 1.87$ μ M



4a: $R_1 = F$, $Cl_{50} = 936$ nM

4b: $R_1 = H$, $Cl_{50} = 4.85$ μ M



Fluoxetina $Cl_{50} = 41.7$ nM

8. PARTE EXPERIMENTAL QUÍMICA

8.1 Procedimientos Generales

Todas las materias primas fueron adquiridas de Sigma-Aldrich Chemical Co. y utilizadas sin purificación adicional. Los disolventes usados fueron grado reactivo y en el caso de la DMF y DMSO, estos fueron secados de acuerdo a procedimientos ya establecidos. 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 productos se visualizaron con luz ultravioleta a 254 nm. Los productos se purificaron en columna cromatográfica 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 GC/EM. Las mediciones por cromatografía de gases/espectrometría de masa CG/EM se efectuaron en un cromatógrafo de gases Varian CP 3800 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 mm. Para todos los experimentos se eligió el siguiente programa de CG: se usó un controlador diferencial de caudal en la cámara de inyección, la cual se calentó a 200 °C para garantizar la volatilización rápida. Se inyectó 1 mL de solución con un flujo de He de 1 mL/min y la temperatura de la columna al momento de la inyección fue de 70 °C. Se usó un programa que permitió aumentar linealmente la temperatura de la columna a 30 °C/min, considerando que la temperatura de la columna deberá ser suficientemente alta para que el análisis se efectúe en un plazo razonable y suficientemente baja para lograr la separación deseada de los componentes de la mezcla, el tiempo total del análisis fue de 20 min.

La temperatura de la línea de transferencia del CG al EM se ajustó a 230 °C y la temperatura de la fuente del EM se mantuvo a 170 °C. La ionización del eluente del CG se llevó a cabo por impacto electrónico (IE) a 70 eV.

Determinación de los espectros de RMN. Los espectros de RMN ^1H y ^{13}C fueron obtenidos en espectrómetros Varian Mercury operados a 300 y 74.5 MHz respectivamente, utilizando SiMe_4 como referencia interna. La multiplicidad de señales se indica por medio de una o más de las siguientes abreviaciones: s (simple), d (doble), t (triple), m (múltiple).

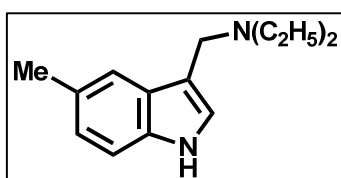
Determinación de las energías HOMO y SOMO. Las geometrías iniciales de las moléculas y las especies radicales se generaron utilizando el programa SPARTAN 03 para Windows comercializado por Wavefunction, Inc. Para obtener las conformaciones más estables de cada estructura, se realizó una minimización mediante una búsqueda conformacional Monte Carlo al azar, con un campo de fuerza MMFF94. Los conformeros de mínima energía fueron sometidos a una segunda optimización mediante el método de HF/6-31G(d) usando el programa Gaussian 03. Los conformeros más estables para las moléculas precursoras **10a-10k** y los radicales **I_{1,2}** se utilizaron para el análisis de entalpía en fase gaseosa, y se calcularon las energías HOMO y SOMO utilizando el método compuesto ab initio CBS-4M usando el programa Gaussian 03.

8.2 Síntesis de los precursores de los espirociclopropioxindoles 10a-10d

8.2.1 Procedimiento general para la obtención de las indolaminas 6a-6b

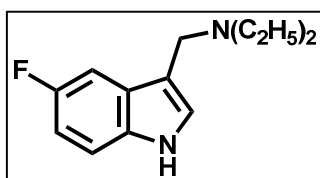
A una solución acuosa al 37% de CH_2O enfriada en baño de hielo y bajo agitación mecánica se le adicionó lenta y consecutivamente AcOH , $\text{NH}(\text{Et}_2)_2$ y 5-metilindol (**5a**) o 5-fluoroindol (**5b**), la agitación se continuó durante 15 minutos hasta obtener una mezcla homogénea. La mezcla de reacción se continuó agitando a temperatura ambiente por 17 h. Transcurrido ese tiempo, a la mezcla de reacción, enfriada en baño de hielo, se le adicionó una solución acuosa al 20% de NaOH (20 mL) formándose un precipitado que se eliminó por filtración. El filtrado se extrajo con AcOEt (3 x 25 mL), las fases orgánicas se reunieron y lavaron con una solución saturada de NaCl (3 x 25 mL), se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro y se evaporaron a vacío en un rotavapor.

N-Etil-*N*-([5-metil-1*H*-indol-3-il]metil)etanamina, 6a



Preparado de **5a** (1 g, 7.6 mmol) por reacción con CH_2O (0.79 mL), AcOH (2.1 mL), y $\text{NH}(\text{Et}_2)_2$ (1.7 mL, 15 mmol) para dar 1.48 g, 90% como un sólido de color beige [63].

N-Etil-*N*-([5-fluoro-1*H*-indol-3-il]metil)etanamina, 6b

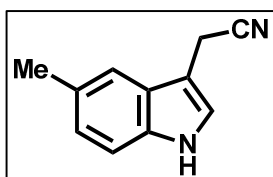


Preparado a partir de **5b** (1 g, 7.4 mmol) por reacción con CH_2O (0.77 mL), AcOH (2 mL), y $\text{NH}(\text{Et}_2)_2$ (1.6 mL, 15 mmol) para dar 1.55 g, 95% como un sólido de color blanco [64].

8.2.2 Procedimiento general para la obtención de los acetonitrilindoles 7a-7b

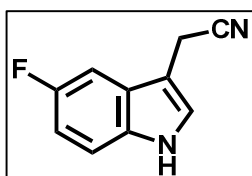
A una solución de 3-aminoetil-5-metilindol (**6a**) o 3-aminoetil-5-fluoroindol (**6b**) en MeOH enfriada en baño de hielo bajo atmósfera de argón y agitación mecánica se le adicionó MeI. La mezcla de reacción se mantuvo con agitación 2 h a temperatura ambiente, se adicionó una solución acuosa al 20% de KCN y la mezcla de reacción se calentó a reflujo por 2 h. La suspensión resultante se enfrió a temperatura ambiente y se filtró, el filtrado se concentró y el residuo se particionó entre AcOEt /H₂O (15 mL/10 mL). La fase acuosa se extrajo con AcOEt (3 x 20 mL), las fases orgánicas se reunieron y se lavaron con H₂O (3 x 50 mL), se secaron con Na₂SO₄ anhidro y se evaporaron a vacío en un rotavapor.

2-(5-Metil-1*H*-indol-3-il)acetonitrilo, 7a



Preparado de **6a** (1 g, 4.6 mmol) por reacción con CH₃I (0.7 mL, 11.7 mmol) en 5 mL de MeOH. El crudo de reacción se purificó por CF (hexano/AcOEt 7:3) para dar 0.71 g, 90% como líquido de color café claro [65].

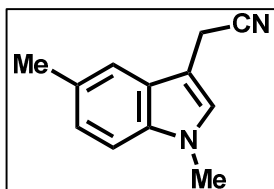
2-(5-Fluoro-1*H*-indol-3-il)acetonitrilo, 7b



Preparado de **6a** (1 g, 4.6 mmol) por reacción con CH₃I (0.7 mL, 11.2 mmol) en 5 mL de MeOH. El crudo de reacción se purificó por CF (hexano/AcOEt 7:3) para dar 0.73 g, 92% como líquido de color café claro [64].

8.2.3 Procedimiento general para la obtención de los acetonitrilindoles *N*-alquilados 8a-8d

2-(1,5-Dimetil-1*H*-indol-3-il)acetonitrilo, 8a

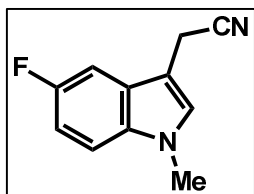


En un matraz de 3 bocas provisto de refrigerante, agitador y corriente continua de argón, se vertió, en condiciones anhidras, una solución de **7a** (1 g, 5.9 mmol) en DMF anhidra. A esta solución y bajo agitación mecánica se adicionó NaH (0.35 g, 2.5 eq) dejando que la mezcla reaccione durante 5 min, luego se agregó el MeI (1.1 g, 1.3 eq) y la mezcla se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 2 h. Transcurrido el tiempo de reacción se adicionaron 10 mL de agua y HCl al 5% hasta pH 6-7. La mezcla se extrajo con AcOEt (3 x 25 mL), las fases orgánicas se combinaron y lavaron con solución saturada de NaCl (3 x 25 mL), secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, filtraron y evaporaron bajo presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía flash (CF), las fracciones eluidas con hexano/AcOEt 7:3 se combinaron y se evaporaron a vacío en un rotavapor, obteniéndose 1 g, 93 % como sólido de color café claro [66].

8.2.3.1 Síntesis de los acetonitrilindoles *N*-alquilados 8b-8d

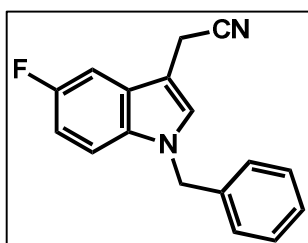
En un matraz redondo provisto de agitación mecánica, baño de hielo y refrigerante, se vertió una solución de **7b** en CH₂Cl₂, se adicionó (t-Bu)₄NHSO₄, NaOH 15% y los equivalentes del halogenuro de alquilo pertinente (CH₃I 3 eq, BnBr 1.3 eq y *p*MeOBnCl 1.3 eq), dejando transcurrir el tiempo necesario para cada reacción. Concluido dicho tiempo, la mezcla de reacción se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 25 mL), se lavó con solución saturada de NaCl (3 x 20 mL), secó sobre Na₂SO₄ anhidro y evaporó a vacío en un rotavapor, los compuestos obtenidos se purificaron por CF empleando como fase móvil hexano/AcOEt (4:1).

2-(5-Fluoro-1-metil-1*H*-indol-3-il)acetonitrilo, 8b



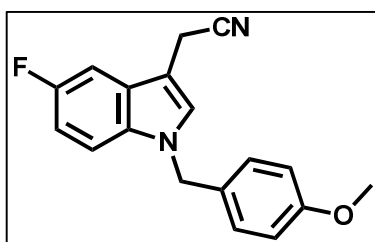
Preparado de **7b** (1 g, 5.74 mmol) por reacción con CH₃I (1.2 mL, 3.3 eq) durante 96 h, en 30 mL de CH₂Cl₂, 12 mL de NaOH 15% y 0.32 g de (t-BU)₄NHSO₄. El crudo de reacción se purificó por CF (hexano/AcOEt 4:1) para dar 0.96 g, 89% como sólido cristalino; p.f. 95-96 °C [64].

2-(1-Bencil-5-fluoro-1*H*-indol-3-il)acetonitrilo, 8c



Preparado de **7b** (1 g, 5.74 mmol) por reacción con BnBr (0.9 mL, 1.3 eq) durante 4.5 h, en presencia de 18 mL de CH₂Cl₂, 9 mL de NaOH 15% y 0.06 g de (t-BU)₄NHSO₄. El crudo de reacción se purificó por CF (hexano/AcOEt 4:1) para dar 1.4 g, 92% como sólido cristalino; p.f. 134-135 °C [64].

2-(5-Fluoro-1-[4-metoxibencil]-1*H*-indol-3-il)acetonitrilo, 8d

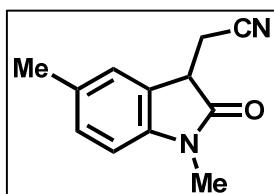


Preparado de **7b** (1 g, 5.74 mmol) por reacción con *p*MeOBnCl (1 mL, 1.3 eq) durante 4 h, en presencia de 18 mL de CH₂Cl₂, 9 mL de NaOH 15% y 0.06 g de (t-BU)₄NHSO₄. El crudo de reacción se purificó por CF (hexano/AcOEt 4:1) para dar 1.5 g, 90% como sólido cristalino; p.f. 134-136 °C; *R*_f = 0.6 (hexano, AcOEt 7:3); IR (CHCl₃), ν_{\max} 2254 (CN), 1716 (CO) cm⁻¹; CG-EM (IE, 70 eV): *m/z* (%) 294 [M]⁺ (17), 121 (100).

8.2.4 Procedimiento general para la obtención de los oxindoles *N*-alquilados 9a-9d

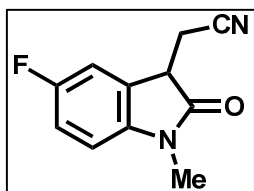
A una solución de **8a-8d** en DMSO enfriada con baño de hielo se le adicionó gota a gota y bajo agitación HCl al 37% en agua y AcOH. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente hasta que el análisis por CCF reveló la desaparición del sustrato. La mezcla resultante se enfrió a 5 °C, se diluyó con agua (5 mL) y se adicionó K₂CO₃ sólido hasta pH 7-8. La mezcla se llevó a temperatura ambiente y se extrajo con AcOEt (3 x 20 mL). Las fases orgánicas se combinaron y lavaron con solución saturada de NaCl (3 x 20 mL), secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, filtraron y evaporaron bajo presión reducida.

2-(1,5-Dimetil-2-oxindolin-3-il)acetonitrilo, 9a



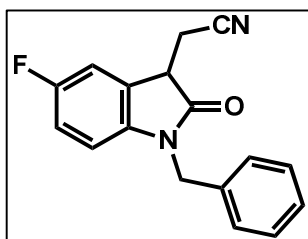
Preparado de **8a** (1 g, 5.45 mmol) por reacción con DMSO (20 mL) y HCl al 37% en agua (35 mL) durante 3h. El residuo se purificó por CF (hexano/AcOEt 7:3) para dar 1 g, 90% como sólido de color marrón; p.f. 136-137 °C; $R_f = 0.4$ (hexano, AcOEt 7:3); IR (CHCl₃), ν_{max} 2254 (CN), 1716 (CO) cm⁻¹; CG-EM (IE, 70 eV): m/z (%) 200 [M]⁺ (48), 183 (29), 160 (100). RMN ¹H y ¹³C ver Tablas 8 y 14 respectivamente (Anexo); el espectro de RMN ¹H se muestra en la Figura 23, ver Anexo

2-(5-Fluoro-1-metil-2-oxindolin-3-il)acetonitrilo, 9b



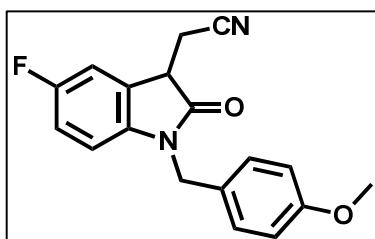
Preparado de **8b** (1 g, 5.3 mmol) por reacción con DMSO (8.5 mL) y HCl al 37% en agua (26 mL) durante 3 h. El residuo se purificó por CF (hexano/AcOEt 7:3) para dar 0.95 g, 87% como sólido de color naranja; p.f. 136-137 °C [64].

2-(1-Bencil-5-fluoro-2-oxoindolin-3-il)acetonitrilo, 9c



Preparado de **8c** (1 g, 3.8 mmol) por reacción con DMSO (6 mL) y HCl al 37% en agua (27 mL) durante 5 días. El residuo obtenido se purificó por CF (hexano/AcOEt 7:3) para dar 0.6 g, 55% como sólido de color naranja; p.f. 94-95 °C [64].

2-(5-Fluoro-1-[4-metoxibencil]-2-oxoindolin-3-il)acetonitrilo, 9d



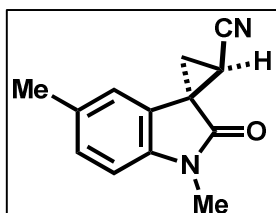
Preparado de **8d** (1 g, 3.4 mmol) por reacción con DMSO (10 mL), HCl al 37% en agua (15 mL) y AcOH (15 mL) durante 3 días. El residuo se purificó por CF (hexano/AcOEt 7:3) para dar 0.55 g, 53% como sólido de color naranja; p.f. 147-150 °C; $R_f = 0.3$ (hexano, AcOEt 7:3); IR (CHCl₃), ν_{max} 2254 (CN), 1716 (CO) cm⁻¹; CG-EM (IE, 70 eV): m/z (%) 310 [M⁺] (5), 283 (8), 121 (100). RMN ¹H y ¹³C ver Tablas 8 y 14 respectivamente (Anexo); el espectro de RMN ¹H se muestra en la Figura 24, ver Anexo.

8.3 Síntesis de los espirociclopropiloxindoles (*R*^{*},*R*^{*}/*R*^{*},*S*^{*})-10a-10d

En un matraz de 3 bocas provisto de refrigerante, agitador y corriente continua de argón, se vertió, en condiciones anhidras, una solución del oxindol **9a-9d** en DMF anhidra. A esta solución y bajo agitación mecánica se adicionó NaH (2.5 equivalentes) dejando que la mezcla reaccione durante 5 min. A continuación se agregó dibrometano (1.3 equivalentes) y la mezcla resultante se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 3 h. Transcurrido el tiempo de reacción, se adicionaron 10 mL de agua y HCl al 5% hasta pH 6-7. La mezcla se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 25 mL), las fases orgánicas se combinaron y se lavaron con solución

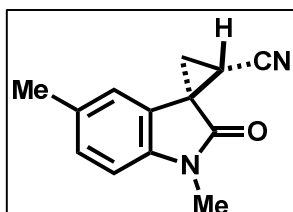
saturada de NaCl (3 x 25 mL), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y evaporaron bajo presión reducida. El residuo obtenido se purificó por CF.

**(3*R*,9*R*)-1',5'-Dimetil-2'-oxospiro[ciclopropano-1,3'-indolina]-2-carbonitrilo,
(3*R*,9*R*)-10a**



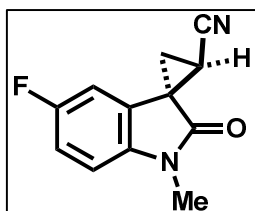
Preparado del fluorooxindol **9a** (0.5 g, 2.5 mmol) por reacción con NaH (0.15 g, 2.5 eq) y dibromometano (0.46 g, 1.3 eq) durante 3 h. El crudo de reacción se purificó por CF (hexano/AcOEt 9:1) para dar 0.31 g, 60 % como sólido blanco; p.f. 183-185 °C; *R*_f = 0.52 (hexano/AcOEt 1:1); IR (CHCl₃) *v*_{max} 2248 (CN), 1716 (CO) cm⁻¹; CG-EM (IE, 70 eV): *m/z* (%) 212 [M⁺] (100), 198 (22), 186 (23). RMN ¹H y ¹³C ver Tablas 9 y 15 respectivamente (Anexo); el espectro de RMN ¹H se muestra en la Figura 25, ver Anexo.

**(3*R*,9*S*)-1',5'-Dimetil-2'-oxospiro[ciclopropano-1,3'-indolina]-2-carbonitrilo,
(3*R*,9*S*)-10a**



Preparado del fluorooxindol **9a** (0.5 g, 2.5 mmol) por reacción con NaH (0.15 g, 2.5 eq) y dibromometano (0.46 g, 1.3 eq) durante 3 h. El crudo de reacción se purificó por CF (hexano/AcOEt 9:1) para dar 0.15 g, 30 % como sólido blanco; p.f. 222 °C; *R*_f = 0.5 (hexano/AcOEt 1:1); IR (CHCl₃) *v*_{max} 2248 (CN), 1716 (CO) cm⁻¹; CG-EM (IE, 70 eV): *m/z* (%) 212 [M⁺] (100), 198 (23), 186 (23). RMN ¹H y ¹³C ver Tablas 9 y 15 respectivamente (Anexo); el espectro de RMN ¹H se muestra en la Figura 26 ver Anexo.

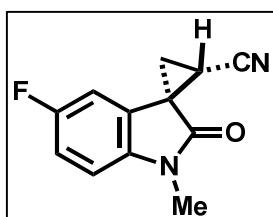
(3*R*,9*R*)-5'-Fluoro-1'-metil-2'-oxospiro[ciclopropano-1,3'-indolina]-2-carbonitrilo, (3*R*,9*R*)-10b



Preparado del fluorooxindol **9b** (0.5 g, 2.45 mmol) por reacción con NaH (0.15 g, 2.5 eq) y dibromometano (0.56 g, 1.3 eq) durante 3 h. El crudo de reacción se purificó por CF (hexano/AcOEt 9:1) para dar 0.37 g, 71% como sólido blanco; p.f. 220-222 °C; el espectro de RMN ¹H se muestra en la

Figura 27 ver Anexo [64].

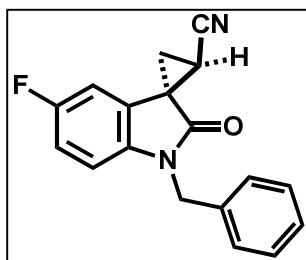
(3*R*,9*S*)-5'-Fluoro-1'-metil-2'-oxospiro[ciclopropano-1,3'-indolina]-2-carbonitrilo, (3*R*,9*S*)-10b



Preparado del fluorooxindol **9b** (0.5 g, 2.45 mmol) por reacción con NaH (0.15 g, 2.5 eq) y dibromometano (0.56 g, 1.3 eq) durante 3 h. El crudo de reacción se purificó por CF (hexano/AcOEt 9:1) para dar 0.1 g, 18% como sólido blanco;

p.f. 239-240 °C; *R*_f = 0.54 (hexano/AcOEt 1:1); IR (CHCl₃) *v*_{max} 2248 (CN), 1716 (CO) cm⁻¹; CG-EM (IE, 70 eV): *m/z* (%) 216 [M⁺] (100), 189 (63). RMN ¹H y ¹³C ver Tablas 9 y 15 respectivamente (Anexo); el espectro de RMN ¹H se muestra en la Figura 28, ver Anexo.

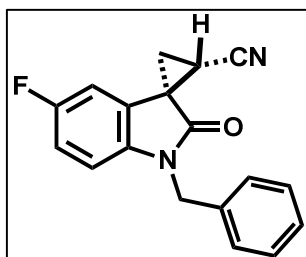
(3*R*,9*R*)-1'-Bencil-5'-Fluoro-2'-oxospiro[ciclopropano-1,3'-indolina]-2-carbonitrilo, (3*R*,9*R*)-10c



Preparado del fluorooxindol **9c** (0.5 g, 1.79 mmol) por reacción con NaH (0.11 g, 2.5 eq) y dibromometano (0.33 g, 1.3 eq) durante 3 h. El crudo de reacción se purificó por CF (hexano/AcOEt 9:1) para dar 0.3 g, 56.5% como sólido amarillo; p.f. 147-148 °C, el espectro de RMN ¹H se

muestra en la Figura 29 ver Anexo [64].

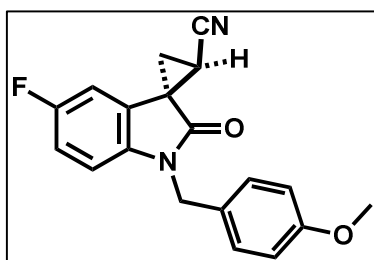
(3*R*,9*S*)-1'-Bencil-5'-Fluoro-2'-oxospiro[ciclopropano-1,3'-indolina]-2-carbonitrilo, (3*R*,9*S*)-10c



Preparado del fluorooxindol **9c** (0.5 g, 1.79 mmol) por reacción con NaH (0.11 g, 2.5 eq) y dibromometano (0.33 g, 1.3 eq) durante 3 h. El crudo de reacción se purificó por CF (hexano/AcOEt 9:1) para dar 0.11 g, 23.5% como una miel de color naranja; el espectro de RMN ¹H se muestra

en la Figura 30 ver Anexo [64].

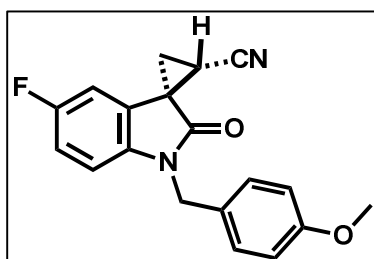
(3*R*,9*R*)-5'-Fluoro-1'-(4-metoxibencil)-2'-oxospiro[ciclopropano-1,3'-indolina]-2-carbonitrilo, (3*R*,9*R*)-10d



Preparado del fluorooxindol **9d** (0.5 g, 1.6 mmol) por reacción con NaH (0.1 g, 2.5 eq) y dibromometano (0.3 g, 1.3 eq) durante 3 h. El crudo de reacción se purificó por CF (hexano/AcOEt 9:1) para dar 0.38 g, 71 % como sólido de color blanco; p.f. 133-135 °C; R_f

= 0.48 (hexano/AcOEt 7:3); IR (CHCl₃) ν_{max} 2248 (CN), 1716 (CO) cm⁻¹; CG-EM (IE, 70 eV): *m/z* (%) 322 [M⁺] (9), 121 (100). RMN ¹H y ¹³C ver Tablas 9 y 15 respectivamente (Anexo); el espectro de RMN ¹H se muestra en la Figura 31, ver Anexo.

(3*R*,9*S*)-5'-Fluoro-1'-(4-metoxibencil)-2'-oxospiro[ciclopropano-1,3'-indolina]-2-carbonitrilo, (3*R*,9*RS*)-10d



Preparado del fluorooxindol **9d** (0.5 g, 1.6 mmol) por reacción con NaH (0.1 g, 2.5 eq) y dibromometano (0.3 g, 1.3 eq) durante 3 h. El crudo de reacción se purificó por CF (hexano/AcOEt 9:1) para dar 0.08 g, 14 % como una miel de color amarillo; R_f = 0.43

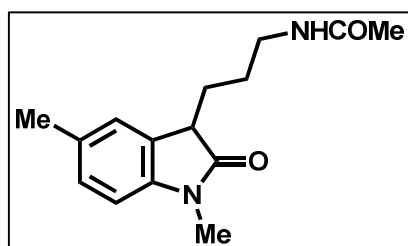
(hexano/AcOEt 7:3); IR (CHCl₃) ν_{\max} 2250 (CN), 1720 (CO) cm⁻¹; CG-EM (IE, 70 eV): m/z (%) 322 [M⁺] (10), 121 (100). RMN ¹H y ¹³C ver Tablas 9 y 15 respectivamente (Anexo); el espectro de RMN ¹H se muestra en la Figura 32, ver Anexo.

8.4 Síntesis de las 2-oxohomotriptaminas 2a-2e, 2g y espiroacetamidas anti-3a-3e, anti-3g

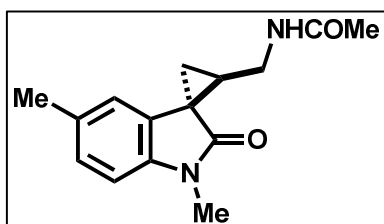
A una solución de *anti-10a-10e*, *anti-10g* en Ac₂O se le adicionó Ni-Raney. La mezcla resultante fue hidrogenada en una bomba Parr a 3 atm de H₂ (44 psi) durante 6 h a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo de reacción, la mezcla fue filtrada a través de Celita y concentrada a presión reducida. El residuo fue disuelto con AcOEt (50 mL), lavado con agua, solución saturada de NaCl, secado sobre Na₂SO₄, concentrado a presión reducida y purificado por CF para dar las 2-oxohomotriptaminas **2a-2e**, **2g** y espiroacetamidas *anti-3a-3e*, *anti-3g* correspondientes.

N-(3-[1,5-Dimetil-2-oxoindolin-3-il]propil)acetamida, **2a** y *N*-([1',5'-Dimetil-2'-oxospiro(ciclopropano-1,3'-indolin)-2-il]metil)acetamida, *anti-3a*

A una solución de *anti-10a* (0.2 g, 0.94 mmol) en 8 mL de Ac₂O se le adicionaron 550 mg de Ni-Raney y se sometió a hidrogenación en una bomba Parr a 45 libras por pulgada (psi) durante 6 h. El residuo obtenido se purificó por CF (CH₂Cl₂/MeOH 99:1) recuperándose la mezcla 6:1 de **2a** con *anti-3a* (0.22 g, 90%) como una miel de color amarillo.

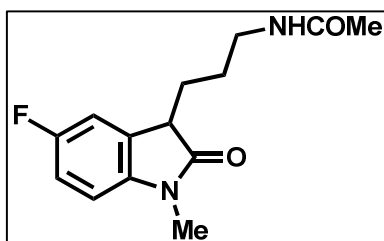


Para **2a**: R_f = 0.25 (CH₂Cl₂/MeOH 9:1); CG-EM (IE, 70 eV): m/z (%) 260 [M⁺] (77), 201 (100), 174 (88); RMN ¹H y ¹³C ver Tablas 10 y 16 respectivamente (Anexo); el espectro de RMN ¹H se muestra en la Figura 33, ver Anexo.



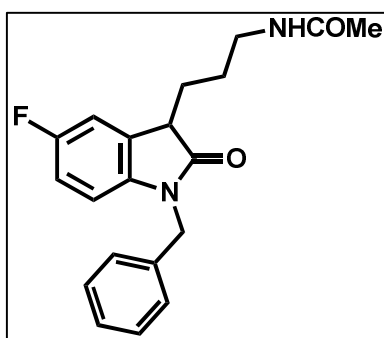
Para *anti*-**3a**: $R_f = 0.25$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1); CG-EM (IE, 70 eV): m/z (%) 258 [M⁺] (59), 199 (44), 187 (55), 174 (100); RMN ^1H y ^{13}C ver Tablas 16 y 22 respectivamente (Anexo); el espectro de RMN ^1H se muestra en la Figura 33, ver Anexo.

***N*-(3-[5-Fluoro-1-metil-2-oxoindolin-3-il]propil)acetamida, 2b**



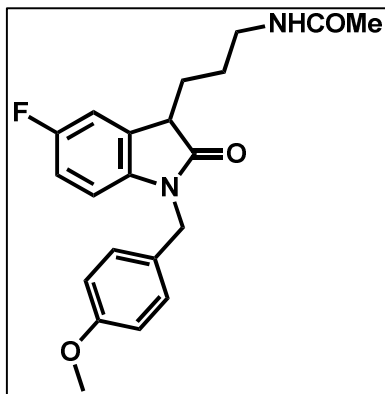
A una solución de *anti*-**10b** (0.2 g, 0.93 mmol) en 8 mL de Ac_2O se le adicionaron 550 mg de Ni-Raney y se sometió a hidrogenación en una bomba Parr a 45 psi durante 6 h. El residuo se purificó por CF ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 99:1) para dar 0.23 g, 93% como una miel de color amarillo; el espectro de RMN ^1H se muestra en la Figura 34, ver Anexo [64]

***N*-(3-[1-Bencil-5-fluoro-2-oxoindolin-3-il]propil)acetamida, 2c**



A una solución de *anti*-**10c** (0.2 g, 0.68 mmol) en 8 mL de Ac_2O se le adicionaron 500 mg de Ni-Raney y se sometió a hidrogenación en una bomba Parr a 45 psi durante 6 h. El residuo se purificó por CF ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 99:1) para dar 0.23 g, 97% como una miel de color amarillo. $R_f = 0.53$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1); IR (CHCl_3) ν_{max} 2248 (CN), 1716 (CO) cm^{-1} ; CG-EM (IE, 70 eV): m/z (%) 340 [M⁺] (100), 281 (74), 254 (25). RMN ^1H y ^{13}C ver Tablas 10 y 16 respectivamente (Anexo); el espectro de RMN ^1H se muestra en la Figura 35, ver Anexo.

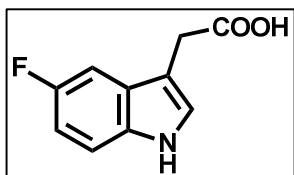
***N*-(3-[5-Fluoro-(4-metoxibencil)-2-oxoindolin-3-il]propil)acetamida, 2d**



A una solución de *anti*-**10d** (0.62 mmol) en 8 mL de Ac₂O se le adicionaron 500 mg de Ni-Raney y se sometió a hidrogenación en una bomba Parr a 45 psi durante 6 h. El residuo se purificó por CF (CH₂Cl₂/EtOH 98:2) para dar 0.21 g, 92% como una miel de color amarillo. *R*_f = 0.54 (CH₂Cl₂/MeOH 9:1); IR (CHCl₃) ν_{\max} 2248 (CN), 1716 (CO) cm⁻¹; CG-EM (IE, 70 eV): *m/z* (%) 370 [M⁺] (9), 121 (100). RMN ¹H y ¹³C ver Tablas 10 y 16 respectivamente (Anexo); el espectro de RMN ¹H se muestra en la Figura 36, ver Anexo.

8.5 Síntesis de los precursores de los propionitrilindoles 13a, 13b

2-(5-Fluoro-1*H*-indol-3-il)acético ácido, 11a



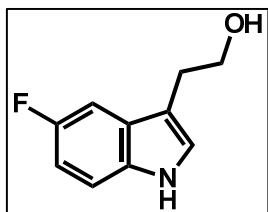
En un matraz redondo provisto de agitación mecánica y refrigerante, se colocó el 5-fluoro-3-acetonitrilindol **7a** (1 g, 5.75 mmol), se adicionaron 50 mL de KOH 20%. La mezcla de reacción se calentó bajo reflujo durante 5 h.

Transcurrido el tiempo de reacción se dejó enfriar y se adicionó HCl 1 M hasta pH 4-5. La mezcla se extrajo con AcOEt (3 x 25 mL), las fases orgánicas se combinaron y lavaron con solución saturada de NaCl (3 x 25 mL), secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, filtraron y evaporaron bajo presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía flash (CF), para dar 1.16 g, 95 % como sólido de color café claro [68].

8.5.1 Síntesis de indolalcoholes 12a-12b

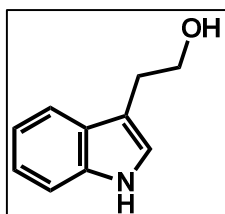
En un matraz de 3 bocas provisto de refrigerante, agitador y corriente continua de argón, enfriado en baño de hielo, se colocó, en condiciones anhidras, LiAlH₄ y THF anhidro. A esta solución y bajo agitación mecánica se adicionó el indolácidoacético **11a-11b** en THF anhidro. La mezcla de reacción se calentó a reflujo por 3 h. Transcurrido el tiempo de reacción se enfrió a 0 °C y se agregó lentamente AcOEt y agua. La suspensión resultante se filtró y se extrajo con AcOEt (3 x 25 mL), las fases orgánicas se combinaron y lavaron con solución saturada de NaCl (3 x 25 mL), secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, filtraron y evaporaron bajo presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía flash (CF).

2-(5-Fluoro-1*H*-indol-3-il)etanol, 12a



Preparado de **11a** (0.5 g, 2.59 mmol) por reacción con 0.9 g de LiAlH₄ en 70 mL de THF anhidro, a reflujo durante 3 h. El crudo de reacción se purificó por CF (hexano/AcOEt 7:3) para dar 0.42 g, 90% como sólido cristalino [69].

2-(1*H*-Indol-3-il)etanol, 12b



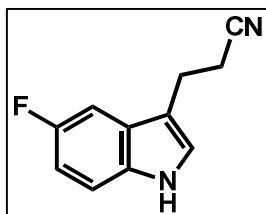
Preparado del indol-3-acidoacético **11b** (0.5 g, 2.85 mmol) por reacción con 0.8 g de LiAlH₄ en 70 mL de THF anhidro, a reflujo durante 3 h. El crudo de reacción se purificó por CF (hexano/AcOEt 7:3) para dar 0.42 g, 92% como sólido cristalino

[70].

8.6 Síntesis de los propanenitrilindoles 13a-13b

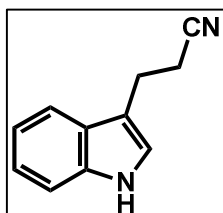
En un matraz de 3 bocas provisto de refrigerante, agitador y corriente continua de argón, enfriado en baño de hielo, se colocó, en condiciones anhidras, el alcohol **12a-12b**, trietilamina (2 equiv) y CH₂Cl₂ anhidro. A la solución resultante se le adicionó cloruro de tosilo (TsCl, 2 equiv) y la mezcla de reacción se dejó bajo agitación 30 min. Transcurrido el tiempo de reacción se adicionó NaOH 2 M y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 25 mL), las fases orgánicas se combinaron y se lavaron con agua (3 x 25 mL), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y evaporaron bajo presión reducida. El residuo obtenido se disolvió en DMSO anhidro, se colocó en un matraz redondo provisto de agitación mecánica y refrigerante, se adicionó KCN y se calentó a 100 °C durante 1 h. Transcurrido el tiempo de reacción la mezcla fue diluida con agua-hielo y se extrajo con CHCl₃ (3 x 25 mL), las fases orgánicas se combinaron y lavaron con agua (3 x 25 mL), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, filtraron y evaporaron bajo presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía flash (CF).

3-(5-Fluoro-1*H*-indol-3-il)propanenitrilo, **13a**



Preparado de **12a** (0.5 g, 2.79 mmol) por reacción con trietilamina (0.9 mL, 6.6 mmol), TsCl (1.2 mL, 6.5 mmol) en 20 mL de CH₂Cl₂ anhidro, durante 30 min. Posteriormente se hizo reaccionar con KCN (0.27 g, 4.2 mmol) en 20 mL de DMSO anhidro a 100 °C durante 1 h. El crudo de reacción se purificó por CF (hexano/AcOEt 7:3) para dar 0.37 g, 70% como sólido naranja [71].

3-(1*H*-Indol-3-il)propanenitrilo, **13b**

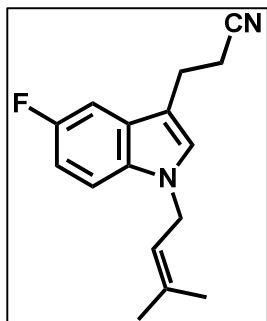


Preparado de **12b** (0.5 g, 3.1 mmol) por reacción con trietilamina (1 mL, 7.1 mmol), TsCl (1.3 mL, 7.1 mmol) en 20 mL de CH₂Cl₂ anhidro, durante 30 min. Posteriormente se hizo reaccionar con KCN (0.31 g, 4.7 mmol) en 20 mL de DMSO anhidro a 100 °C durante 1 h. El crudo de reacción se purificó por CF (hexano/AcOEt 7:3) para dar 0.34 g, 65% como sólido naranja [71].

8.7 Síntesis de las homotriptaminas **1a-1c**

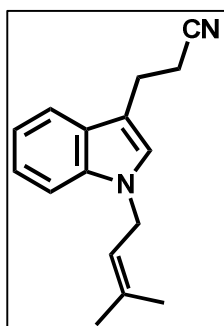
En un matraz redondo provisto de agitación mecánica, baño de hielo y refrigerante, se vertió una solución de **13a-13b** en 7 mL de CH₂Cl₂, posteriormente se adicionó 13 mg de (t-Bu)₄NHSO₄, 4 mL de KOH 20% y 1.3 equivalentes de PreBr. La mezcla de reacción se dejó agitando a temperatura ambiente durante 5 h. Después de concluido dicho tiempo, la mezcla de reacción se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 25 mL), lavó con solución saturada de NaCl (3 x 20 mL), secó sobre Na₂SO₄ anhidro y evaporó a vacío en un rotavapor.

3-(5-Fluoro-1-[3-metilbut-2-en-1-il]-1H-indol-3-il)propanenitrilo, 14a



Preparado de **13a** (0.2 g, 1.06 mmol) por reacción con PreBr (0.17 mL, 1.39 mmol) en 7 mL de CH₂Cl₂, 13 mg de (t-Bu)₄NHSO₄ y 4 mL de KOH 20% durante 5 h. el residuo obtenido se purificó por CF obteniéndose 0.21 g, 78 % como una miel naranja. $R_f = 0.6$ (MeOH/Et₃N 95:5); IR (CHCl₃) ν_{max} 2248 (CN) cm⁻¹; CG-EM (IE, 70 eV): m/z (%) 256 [M⁺] (28), 216 (27), 148 (100). RMN ¹H y ¹³C ver Tablas 11 y 17 respectivamente (Anexo); el espectro de RMN ¹H se muestra en la Figura 37, ver Anexo.

3-(1-[3-metilbut-2-en-1-il]-1H-indol-3-il)propanenitrilo, 14b

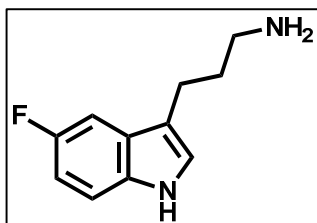


Preparado de **13b** (0.2 g, 1.17 mmol) por reacción con PreBr (0.19 mL, 1.52 mmol) en 7 mL de CH₂Cl₂, 13 mg de (t-Bu)₄NHSO₄ y 4 mL de KOH 20% durante 5 h. el residuo obtenido se purificó por CF obteniéndose 0.2 g, 73 % como una miel naranja. $R_f = 0.65$ (MeOH/Et₃N 95:5); IR (CHCl₃) ν_{max} 2248 (CN) cm⁻¹; CG-EM (IE, 70 eV): m/z (%) 238 [M⁺] (30), 198 (19), 130 (100).

8.7.1 Procedimiento general para la síntesis de las homotriptaminas 1a-1c

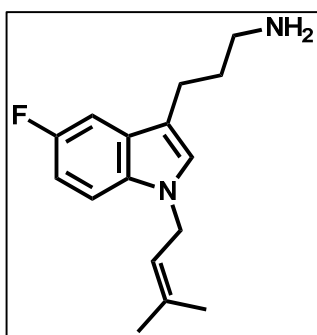
En un matraz redondo provisto de agitación mecánica se colocó KBH₄, Ni-Raney y etanol seco. Posteriormente se adicionó el propanenitrilindol **13a**, **14a** o **14b**. La mezcla de reacción se dejó agitando a temperatura ambiente durante 1 h. Una vez transcurrido el tiempo de reacción, la mezcla fue filtrada a través de Celita y concentrada a presión reducida. El residuo fue disuelto con AcOEt (50 mL), lavado con agua, solución saturada de NaCl, secado sobre Na₂SO₄ y concentrado a presión reducida. El residuo fue purificado por CF.

3-(5-Fluoro-1*H*-indol-3-il)propan-1-amina, 1a



Preparado de **13a** (0.2 g, 1.06 mmol) por reacción con KBH_4 (0.23 g, 4.24 mmol) y Ni-Raney (0.07 g, 1.06 mmol) en 6 mL de etanol seco. El residuo obtenido se purificó por CF (MeOH/AcOEt 4:1) para dar una miel amarilla (0.19 g, 91 %) [71].

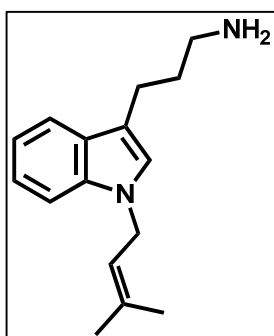
3-(5-Fluoro-1-[3-metilbut-2-en-1-il]-1*H*-indol-3-il)propan-1-amina, 1b



Preparado de **14a** (0.2 g, 0.78 mmol) por reacción con KBH_4 (0.17 g, 3.12 mmol) y Ni-Raney (0.05 g, 0.78 mmol) en 4 mL de etanol seco. El residuo obtenido se purificó por CF (MeOH/AcOEt 4:1) para dar una miel amarilla (0.18 g, 89 %). $R_f = 0.22$ (MeOH/ Et_3N 95:5); IR (CHCl_3) ν_{max} 2248 (NH) cm^{-1} ; CG-EM (IE, 70 eV): m/z (%) 260 [M⁺] (53), 243 (58), 217 (76), 148 (100). RMN ^1H y ^{13}C

ver Tablas 12 y 18 respectivamente (Anexo); el espectro de RMN ^1H se muestra en la Figura 38, ver Anexo.

3-(1-[3-metilbut-2-en-1-il]-1*H*-indol-3-il)propan-1-amina, 1c

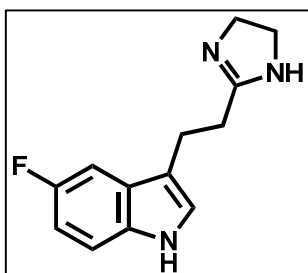


Preparado de **14b** (0.2 g, 0.84 mmol) por reacción con KBH_4 (0.18 g, 3.36 mmol) y Ni-Raney (0.05 g, 0.84 mmol) en 4 mL de etanol seco. El residuo obtenido se purificó por CF (MeOH/AcOEt 4:1) para dar una miel amarilla (0.17 g, 86 %). $R_f = 0.2$ (MeOH/ Et_3N 95:5); IR (CHCl_3) ν_{max} 2248 (NH) cm^{-1} .

8.8 Síntesis de los imidazolinilindoles 4a, 4b

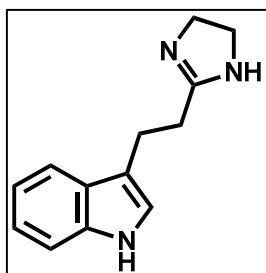
En un matraz redondo provisto de agitación mecánica y refrigerante, se colocó el propanenitrilindol **13** y azufre, posteriormente se adicionó etilendiamina. La mezcla resultante se calentó a reflujo por 4 h. Transcurrido el tiempo de reacción se dejó enfriar, el exceso de etilendiamina se removió a presión reducida. y el residuo se disolvió en CHCl_3 (10 mL). La mezcla se lavó con agua y la fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y evaporó bajo presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía flash (CF).

3-(2-[4,5-Dihidro-1H-imidazol-2-il]etil)-5-fluoro-1H-indol, 4a



Preparado de **13a** (0.2 g, 1.06 mmol) por reacción con etilendiamina (1.6 mL, 23.9 mmol) y azufre (0.008 g, 0.27 mmol) a reflujo durante 4 h. El residuo obtenido se purificó por CF (MeOH/AcOEt 4:1) para dar 0.22 g, 89 % como una miel amarilla; pf 126-128 °C. $R_f = 0.22$ (MeOH/ Et_3N 95:5; CG-EM (IE, 70 eV): m/z (%) 232 [M⁺] (100), 148 (17). RMN ^1H y ^{13}C ver Tablas 13 y 19 respectivamente (Anexo); el espectro de RMN ^1H se muestra en la Figura 39, ver Anexo.

3-(2-[4,5-Dihidro-1H-imidazol-2-il]etil)-1H-indol 4b



Preparado de **13b** (0.2 g, 1.18 mmol) por reacción con etilendiamina (1.6 mL, 23.9 mmol) y azufre (0.008 g, 0.27 mmol) a reflujo durante 4 h. El residuo obtenido se purificó por CF (MeOH/AcOEt 4:1) para dar 0.21 g, 85 % como una miel amarilla; el espectro de RMN ^1H se muestra en la Figura 40, ver Anexo [72].

9. PARTE EXPERIMENTAL BIOLÓGICA

9.1 Materiales y métodos

9.1.1 Materiales

Las soluciones se hicieron con agua destilada. El KCl, MgSO₄, NaCl, KH₂PO₄, NaHCO₃, CaCl₂, dextrosa y sacarosa, se adquirieron de JT Baker Chemical (México). HEPES y fluoxetina fueron adquiridos de Sigma (México). La [3H]5-HT (100 Ci/mmol) fue comprada a Perkin Elmer. Los compuestos imidazolilindoles **1**, homotriptaminas **2** y la fluoxetina se diluyeron en buffer de Krebs-HEPES. Todos los experimentos se controlaron por los efectos del vehículo (DMSO). El buffer de Krebs-HEPES contiene 127 mM NaCl, 3.73 mM KCl, 1.18 mM MgSO₄, 1.18 mM KH₂PO₄, 1.80 mM CaCl₂, 20 mM HEPES (pH 7.4), 11 mM dextrosa, 0.1% ácido ascórbico (saturada con 95% O₂, 5% CO₂ por al menos 10 min antes de su uso). El buffer de sacarosa contiene 300 mM sacarosa y 10 mM HEPES (pH 7.4)

9.1.2 Animales

Todos los procedimientos que requirieron el uso de animales cumplen con las normas institucionales, en estricto apego con la regulación oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) referente a las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio.

9.1.3 Preparación de sinaptosomas

Los sinaptosomas se obtuvieron a través de una centrifugación diferencial usando gradientes de sacarosa de acuerdo a un procedimiento modificado de Autilio et al. [63]. Las ratas macho de la cepa Wistar (180-220 g) se sacrificaron por decapitación. Se extrajo el cerebro, se obtuvieron rebanadas del cerebro por

medio de un vibratomo y se seccionó la parte correspondiente a la corteza cerebral. El tejido obtenido, que se mantuvo a 4 °C durante todo el proceso, se homogenizó en sacarosa 0.32 M, utilizando un homogenizador de émbolo de Teflón (WiseStir, México). El homogenado obtenido se centrifugó a 3000 rpm durante 15 min. El sobrenadante se centrifugó a 15000 rpm durante 35 min, una vez concluido el tiempo se eliminó el sobrenadante y el precipitado se resuspendió en sacarosa 0.32 M, se vertió a un tubo conteniendo sacarosa 0.8 M y se centrifugó a 15000 rpm durante 35 min. Tras centrifugar, se eliminó el sobrenadante y se recuperó el precipitado correspondiente a la fracción sinaptosomal (Yura et al., 1996). Una vez obtenidos los sinaptosomas, estos fueron activados resuspendiéndolos en una solución de Krebs-HEPES e incubándolos a 37 °C durante 10 min para su posterior uso en los experimentos realizados en este estudio.

9.1.4 Determinación del tiempo óptimo de captura de 5-HT

Una vez activados los sinaptosomas, se adicionaron 252 μL a cada tubo de ensayo (24 tubos, 4 por cada tiempo) y posteriormente se agregaron 50 μL de [^3H]5-HT, para una concentración final de 15 nM. Los tubos se incubaron a 37 °C a diferentes tiempos (1, 2, 4, 5, 10 y 15 min) por cuadruplicado y se continuó con el procedimiento descrito en 2.2.5.

9.1.5 Determinación de la inhibición de la captura de 5-HT

La inhibición de [^3H]5-HT se evaluó de acuerdo al método general descrito por Bolden-Watson and Richelson (Bolden-Watson and Richelson 1993) con varias modificaciones. Las soluciones de prueba de 0.252 mL conteniendo las homotriptaminas **1**, imidazolininas **4**, en cuatro concentraciones (10 nM-10 μM) ó como referencia la fluoxetina en 5 concentraciones (1 nM-10 μM) y la suspensión

de sinaptosomas (concentración final: 0.6 mg proteína/mL) en una solución de Krebs-HEPES fueron preincubadas por 15 min a 37 °C en tubos de polipropileno (Wheaton Science Products, México) colocados en un baño de agua con agitación (Precision, Dubnoff Metabolic Shaking Incubator). Después del período de incubación la captura de la monoamina (5-HT) se inició por adición de 15 nM [³H]5-HT (actividad específica: 12 Ci/mmol), y se continuó a 37 °C por 7 min. La captura de 5-HT se detuvo inmediatamente colocando los tubos de ensayo en un baño de hielo. El contenido de los tubos de prueba fue vaciado rápidamente sobre filtros Whatman GF/B (Whatman, México) preabsorbidos en polietilenimida [0.1% (v/v) para reducir la unión no-específica y fueron filtrados en una harvester M-24 (Biomedical Research, México). Los filtros fueron lavados en una solución enfriada en hielo Krebs-HEPES (7mL) para eliminar el exceso de la marca radiactiva, y colocados en viales de centelleo de 20 mL. Después, se adicionó un cocktail de 7 mL de líquido de centelleo (tritón X-100, tolueno, PPO, POPOP) y la reactividad de la muestra (retenida en el filtro) se midió en un contador de centelleo líquido Beckman LS6500 (Beckman Instruments), siguiendo los procedimientos de control estándar.

Se llevaron a cabo experimentos control en paralelo al reemplazar los compuestos **1a**, **1b**, **4a** y **4b** con solución buffer Krebs-HEPES ó con solución buffer Krebs-HEPES y vehículo (DMSO). La evaluación de la funcionalidad del SERT en condiciones de medio libre de Na⁺ consistió en incubar por 10 min a 37 °C la suspensión de sinaptosomas en una solución de Krebs-HEPES en la que se reemplazó el NaCl (127 mM) por CholCl (127 mM CholCl). La sensibilidad del método se evaluó por medición de la influencia de la fluoxetina (SSRI) bajo las condiciones descritas anteriormente

La captura no-específica (esto es, el transporte no-específico y la unión no específica de [³H]5-HT) se determinó por ensayos ejecutados en paralelo a 0 °C, una temperatura a la cual los SERT se considera son inactivos. La captura

específica de [³H]5-HT se estimó indirectamente por substracción de la captura no-específica de la captura total determinada a 37 °C.

En estos experimentos, la actividad inhibitoria de los compuestos probados (**1a**, **1b**, **4a**, **4b** y fluoxetina) se expresa como CI₅₀, i.e., la concentración de estos compuestos requerida para reducir en 50% la captura de [³H]5-HT, estimada por regresión lineal de mínimos cuadrados con X = concentración log molar de los compuestos probados y Y = respuesta farmacológica (% disminución en el control o en la captura de [³H]5-HT) obtenido por cada concentración.

9.1.6 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de resultados se utilizó el programa GraphPad Prism, versión 5.00 para Windows (GraphPad Software, San Diego, California USA, www.graphpad.com). Los datos son expresados como media \pm desviación estándar. El análisis de los datos se realizó mediante la prueba unidireccional de la varianza (ANOVA) seguido de una prueba de comparación *post hoc* de Bonferroni con el objetivo de determinar qué medias difieren significativamente con respecto al control. Se consideró valor de significancia estadística diferencias con $p < 0.05$.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Lang, U. E.; Borgwardt, S. Molecular mechanisms of depression: perspectives on new treatment strategies. *Cellular Physiology and Biochemistry*. **31**, 761-777 (2008).
2. Richardson-Jones, J. W.; Craige, C. P.; Guiard, B. P.; Stephen, A.; Metzger, K. L.; Kung, H. F.; Gardier, A. M.; Dranovsky, A.; David, D. J.; Beck, S. G.; Hen, R.; Leonardo, E. D. 5-HT_{1A} autoreceptor levels determine vulnerability to stress and response to antidepressants. *Neuron*. **65**, 40-52 (2010).
3. Sharp, T.; Cowen, P. J. 5-HT and depression: is the glass half-full?. *Current Opinion in Pharmacology*. **11**, 45-51 (2011).
4. Lazure, K. E.; Lydiatt, W. M.; Denman, D.; Burke, W. J. Association between depression and survival or disease recurrence in patients with head and neck cancer enrolled in a depression prevention trial. *Head Neck-Journal for Sciences Specialties Head Neck*. **31**, 888-892 (2009).
5. Musselman, D. L.; Evans, D. L.; Nemeroff, C. B. The relationship of depression to cardiovascular disease-epidemiology, biology, and treatment. *Archives of General Psychiatry*. **55**, 580-592 (1998).
6. Peyrot, M. Depression: a quiet killer by any name. *Diabetes Care*. **26**, 2952-2953 (2003).
7. Kendler, K. S.; Gardner, C. O.; Fiske, A.; Gatz, M. Major depression and coronary artery disease in the Swedish Twin registry. *Archives of General Psychiatry*. **66**, 857-863 (2009).
8. Gay, B. M.; Prigol, M.; Stein, A. L.; Nogueira, C. W. Antidepressant-like pharmacological profile of 3-(4-fluorophenylselenyl)-2,5-diphenylselenophene: Involvement of serotonergic system. *Neuropharmacology*. **59**, 172-179 (2010).
9. Richards, D. Prevalence and clinical course of depression: a review. *Clinical Psychology Review*. **31**, 1117-1125 (2011).
10. Andrews, G.; Slade, T.; Peters, L. Classification in psychiatry: ICD-10 versus DSM-IV. *British Journal of Psychiatry*. **174**, 3-5 (1999).

-
-
11. Üstün, T. B.; Ayuso-Mateos, J. L.; Chatterji, S.; Mathers, C.; Murray, C. J. L. Global burden of depressive disorders in the year 2000. *British Journal of Psychiatry*. **184**, 386–392 (2004).
 12. Berenzon, S.; Lara, M. A.; Robles, R.; Medina-Mora, M. E. Depression: state of the art and the need for public policy and action plans in Mexico. *Salud Publica Mex*. **55**, 74-80 (2013).
 13. Lara, M. C.; Medina-Mora, M. E.; Borges, G.; Zambrabo, J. Social cost of mental disorders: disability and work days lost. Results from the Mexican Survey of Psychiatric Epidemiology. *Salud Mental*. **30**, 4-11 (2007).
 14. Scott, J.; Dickey, B. Global burden of depression: The intersection of culture and medicine. *British Journal of Psychiatry*. **183**, 92–94 (2003).
 15. Donohue, J. M.; Pincus, H. A. Reducing the societal burden of depression: A review of economic costs, quality of care and effects of treatment. *Pharmacoeconomics*. **25**, 7–24 (2007).
 16. Mulinari, S. Monoamine theories of depression: historical impact on biomedical research. *Journal of the History of the Neurosciences*. **21**, 366-392 (2012).
 17. Goodwin, F. K.; Bunney, W. E. Jr. Depressions following reserpine: a reevaluation. *Seminars in Psychiatry*. **3**, 435-448, (1971).
 18. Wysong, D. V.; White, H. C. U.S. Patent No. 3,586,695, (1971).
 19. Gay, B. M.; Prigol, M.; Stein, A. L.; Nogueira, C. W. Antidepressant-like pharmacological profile of 3-(4-fluorophenylselenyl)-2,5-diphenylselenophene: Involvement of serotonergic system. *Neuropharmacology*. **59**, 172-179 (2010).
 20. Greenberg, P. E.; Kessler, R. C.; Birnbaum, H.G.; Leong, S. A.; Lowe, S. W.; Berglund, P. A. The economic burden of depression in the United States: How did it change between 1990 and 2000?. *Journal of Clinical Psychiatry*. **64**, 1465–1475 (2003).
 21. Sobocki, P.; Jönsson, B.; Angst, J.; Rehnberg, C. Cost of depression in Europe. *Journal of Mental Health Policy and Economics*. **9** (2), 87–98 (2006).

-
-
22. Páez-Pereda, M. New drug targets in the signalling pathways activated by antidepressants. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. **29**, 1010-1016 (2005).
 23. Jonnakuty, C.; Gragnoli, C. What do we know about serotonin?. *Journal of Cellular Physiology*. **217**, 301-306 (2008).
 24. Fink, K. B.; Gothert, M. 5-HT receptor regulation of neurotransmitter release. *Pharmacological Reviews*. **59**, 360-417 (2007).
 25. Fidalgo, S.; Ivanov, D. K.; Wood, S. H. Serotonin: from top to bottom. *Biogerontology*. **14**, 21-45 (2013).
 26. Millan, M. J.; Marin, P.; Bockaert, J.; Mannoury la Cour, C. Signaling at G-protein-coupled serotonin receptors: recent advances and future research directions. *Trends in Pharmacological Sciences*. **29**, 454-464 (2008).
 27. Nichols, D. E.; Nichols, C. D. Serotonin receptors. *Chemical Reviews*. **108**, 1614-1641 (2008).
 28. Nichols, D. E.; Nichols, C. D. Serotonin receptors. *Chemical Reviews*. **108**, 1614-1641 (2008).
 29. Wimbiscus, M.; Kostenko, O.; Malone, D. MAO inhibitors: risks, benefits, and lore. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*. **77**, 859-882 (2010).
 30. Manepalli, S.; Surrat, C. K.; Madura, J. D.; Nolan, T. L. Monoamine transporter structure, function, dynamics, and drug discovery: a computational perspective. *American Association of Pharmaceutical Scientists Journal*. **14**, 820-831 (2012).
 31. Pramod, A. B.; Foster, J.; Carvelli, L.; Henry, L. K. SLC6 transporters: structure, function, regulation, disease association and therapeutics. *Molecular Aspects of Medicine*. **34**, 197-219 (2013).
 32. Kristensen, A. S.; Andersen, J.; Jorgensen, T. N.; Sorensen, L.; Eriksen, J.; Loland, C. J.; Stromgaard, K.; Gether, U. SLC6 neurotransmitter transporters: structure, function and regulation. *Pharmacological Reviews*. **63**, 585-640 (2011).

-
-
33. Adnot, S.; Houssaini, A.; Abid, S.; Marcos, E.; Amsellem, V. Serotonin transporter and serotonin receptors. *Handbook of Experimental Pharmacology*. **218**, 365-380 (2013).
 34. Mohammad-Zadeh, L. F.; Moses, L.; Gwaltney-Brant, S. M. Serotonin: a review. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **31**, 187-199 (2008).
 35. Magni, L. R.; Purgato, M.; Gastaldon, C.; Papola, D.; Furukawa, T. A.; Cipriani, A.; Barbui, C. Fluoxetine versus other types of pharmacotherapy for depression. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 7:CD004185 (2013).
 36. Martinotti, G.; Sepede, G.; Signorelli, M.; Aguglia, E.; Di Giannantonio, M. Efficacy and safety of fluoxetine monotherapy in bipolar depression: a systematic review. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. **14**, 1065-1075 (2013).
 37. Gordon, M.; Melvin, G. Selective serotonin re-uptake inhibitors--a review of the side effects in adolescents. *Australian Family Physician*. **42**, 620-623 (2013).
 38. Qin, B.; Zhang, Y.; Zhou, X.; Cheng, P.; Liu, Y.; Chen, J.; Fu, Y.; Luo, Q.; Xie, P. Selective serotonin reuptake inhibitors versus tricyclic antidepressants in young patients: a meta-analysis of efficacy and acceptability. *Clinical Therapeutics*. **36**, 1087-1095 (2014).
 39. Zhong, H.; Sanchez, C.; Caron, M. G. Consideration of allosterism and interacting proteins in the physiological functions of the serotonin transporter. *Biochemical Pharmacology*. **83**, 435-442 (2012).
 40. Gourion, D.; Perrin, E.; Quintin, P. Fluoxetine: an update of its use in major depressive disorder in adults. *Encephale*. **30**, 392-399 (2004).
 41. Taksande, B. G.; Kotagale, N. R.; Tripathi, S. J.; Ugale, R. R.; Chopde, C. T. Antidepressant like effect of selective serotonin reuptake inhibitors involve modulation of imidazoline receptors by agmatine. *Neuropharmacology*. **57**, 415-424 (2009).

-
-
42. Vertes, R. P.; Fortin, W. J.; Crane, A. M. Projections of the median raphe nucleus in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*. **407**, 555-582 (1999).
 43. Vertes, R. P. A PHA-L analysis of ascending projections of the dorsal raphe nucleus in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*. **313**, 643–668 (1991).
 44. Rodriguez, J. J.; Noristani, H. N.; Verkhatsky, A. The serotonergic system in ageing and Alzheimer's disease. *Progress in Neurobiology*. **99**, 15-41 (2012).
 45. Andrade, R. Serotonergic regulation of neuronal excitability in the prefrontal cortex. *Neuropharmacology*. **61**, 382-386 (2011).
 46. Puig, M. V.; Gullledge, A. T. Serotonin and prefrontal cortex function: neurons, networks, and circuits. *Molecular Neurobiology*. **44**, 449-464 (2011).
 47. Marston, O. J.; Garfield, A. S.; Heisler, L. K. (2011) Role of central serotonin and melanocortin systems in the control of energy balance. *European Journal of Pharmacology*. **660**, 70-79 (2011).
 48. Filip, M.; Bader, M. Overview on 5-HT receptors and their role in physiology and pathology of the central nervous system. *Pharmacological Reports*. **61**, 761–777 (2009).
 49. Patani, G. A.; LaVoie, A. E. Bioisosterism: a rational approach in drug design. *Chemical Reviews*. **96**, 3147-3176 (1996).
 50. Burger, A. Isosterism and bioisosterism in drug design. *Progress in Drug Research*. **37**, 287-371 (1991).
 51. Ojima, I. Exploration of fluorine chemistry at the multidisciplinary interface of chemistry and biology. *The Journal of Organic Chemistry*. **78**, 6358-6383 (2013).
 52. Vulpetti, A.; Dalvit, C. Fluorine local environment: from screening to drug design. *Drug Discovery Today*. **17**, 890-897 (2012).
 53. Hagmann, W. K. The many roles for fluorine in medicinal chemistry. *Journal of Medicinal Chemistry*. **51**, 4359-4369 (2008).
 54. González-Juárez, D. E.; García-Vázquez, J. B.; Zúñiga-García, V.; Trujillo-Serrato, J. J.; Suárez-Castillo, O. R.; Joseph-Nathan, P.; Morales-Ríos, M. S.

-
- Stereochemistry modulates the catalytic hydrogenolysis of nitrile-substituted cyclopropanes, *Tetrahedron*, **68**, 7187-7195, (2012).
55. Morales-Ríos, M. S.; González-Juárez, D. E.; Rivera-Becerril, E.; Suárez-Castillo, O. R.; Joseph-Nathan, P. One-pot synthesis of conformationally restricted spirooxindoles. *Tetrahedron*, **63**, 7702-7707, (2007).
56. Wright, J. S.; Shadnia, H.; Chepelev, L. L. Stability of carbon-centered radicals: effect of functional groups on the energetics of addition of molecular oxygen. *Journal of Computational Chemistry*. **30**, 1016-1026 (2009).
57. Font-Sanchis, E.; Aliaga, C.; Focsaneanu, K.-S.; Scaiano, J. C. Greatly attenuated reactivity of nitrile-derived carbon-centered radicals toward oxygen. *Chemical Communications*. 1576, (2002).
58. Singh, N. K.; Popelier, P. L. A.; O'Malley, P. Substituent effects on the stability of para-substituted benzyl radicals. *Journal of Physical Chemistry Letters*. **426**, 219, (2006).
59. Todos los cálculos se realizaron en el programa Gaussian 03 (Frisch, M. J.; et al. Gaussian 03, revision C.02; Gaussian, Inc.: Wallingford, CT, 2004).
60. Gray, E. G.; Whittaker, V. P. The isolation of nerve endings from brain an electron-microscopic study of cell fragments derived by homogenization and centrifugation. *Journal of Anatomy*, **96**, 79-88, (1962).
61. Bolden-Watson, C.; Richelson, E. Blockade by newly-developed antidepressants of biogenic amine uptake into rat brain synaptosomes. *Life Science*, **52**, 1023-1029, (2005).
62. Yáñez, M.; Fraiz, N.; Cano, E.; Orallo, F. Inhibitory effects of cis- and trans-veratrol on noradrenaline and 5-hydroxytryptamine uptake and on monoamine oxidase activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **344**, 688-695, (2006).
63. Ho, B-T.; Mclsaac, W. M.; An, R.; Harris, R. T.; Walker, K. E.; Kralik, P. M.; Airaksinen, M. M. Biological activities of some 5-substituted N, N-dimethyltryptamines, α -methyltryptamines, and gramines. *Psychopharmacologia*. **16**, 385-94, (1970).

-
-
64. García-Vázquez, J. B. Síntesis y estudios docking ligando-proteína MAO-A de análogos fluorados de la serotonina. Tesis de Maestría. CINVESTAV-IPN, Farmacología, 2009.
 65. Ilic, N.; Klaić, B.; Magnus, V.; Vikić-Topić, D.; Gacs-Baitz, E. Synthesis of 5-alkylindole-3-acetic acids for use as plant hormone analogs. *Croatica Chemica Acta*. **64**, 79-88, (1991).
 66. Bellemin, R.; Decerprit, J.; Festal, D. New indole derivatives as ACAT inhibitors: synthesis and structure-activity relationships. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **31**, 123-32, (1996).
 67. González-Juárez, D. E. Síntesis y evaluación antioxidante de oxindoles espirocíclicos, análogos conformacionalmente restringidos de la melatonina. Tesis de Maestría. CINVESTAV-IPN, Farmacología, 2013.
 68. Bullock, M. W.; Fox, S. W. A Convenient synthesis of indole-3-acetic acids. *Journal of the American Chemical Society*. **73**, 5155-7, (1951).
 69. RajanBabu, T. V.; Chenard, Bertrand L.; Petti, Michael A. α -Nitroarylation of ketones and esters: an exceptionally facile synthesis of indoles, 2-indolinones and arylacetic acids. *Journal of Organic Chemistry*. **51**, 1704-12, (1986).
 70. Campos, K. R.; Woo, J. C. S.; Lee, S.; Tillyer, R. D. A general synthesis of substituted indoles from cyclic enol ethers and enol lactones. *Organic Letters*. **6**, 79–82, (2004).
 71. Soubhye, J.; Aldib, I.; Elfving, B.; Gelbcke, M.; Furtmuller, P. G.; Podrecca, M.; Conotte, R.; Colet, J.-M.; Rousseau, A.; Reye, F.; Sarakbi, A.; Vanhaeverbeek, M.; Kauffmann, J.-M.; Obinger, C.; Nève, J.; Prévost, M.; Boudjeltia, K. Z.; Dufrasne, F.; Antwerpen, P. V. Design, Synthesis, and Structure–Activity Relationship Studies of Novel 3-Alkylindole Derivatives as Selective and Highly Potent Myeloperoxidase Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*. **56**, 3943-3958, (2013).
 72. Verma, M.; Tripathi, M.; Saxena, A. K.; Shanker, K.. Antiinflammatory activity of novel indole derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **29**, 941-6, (1994).

11. ANEXO

11.1 Espectros y Tablas de RMN ^1H y ^{13}C

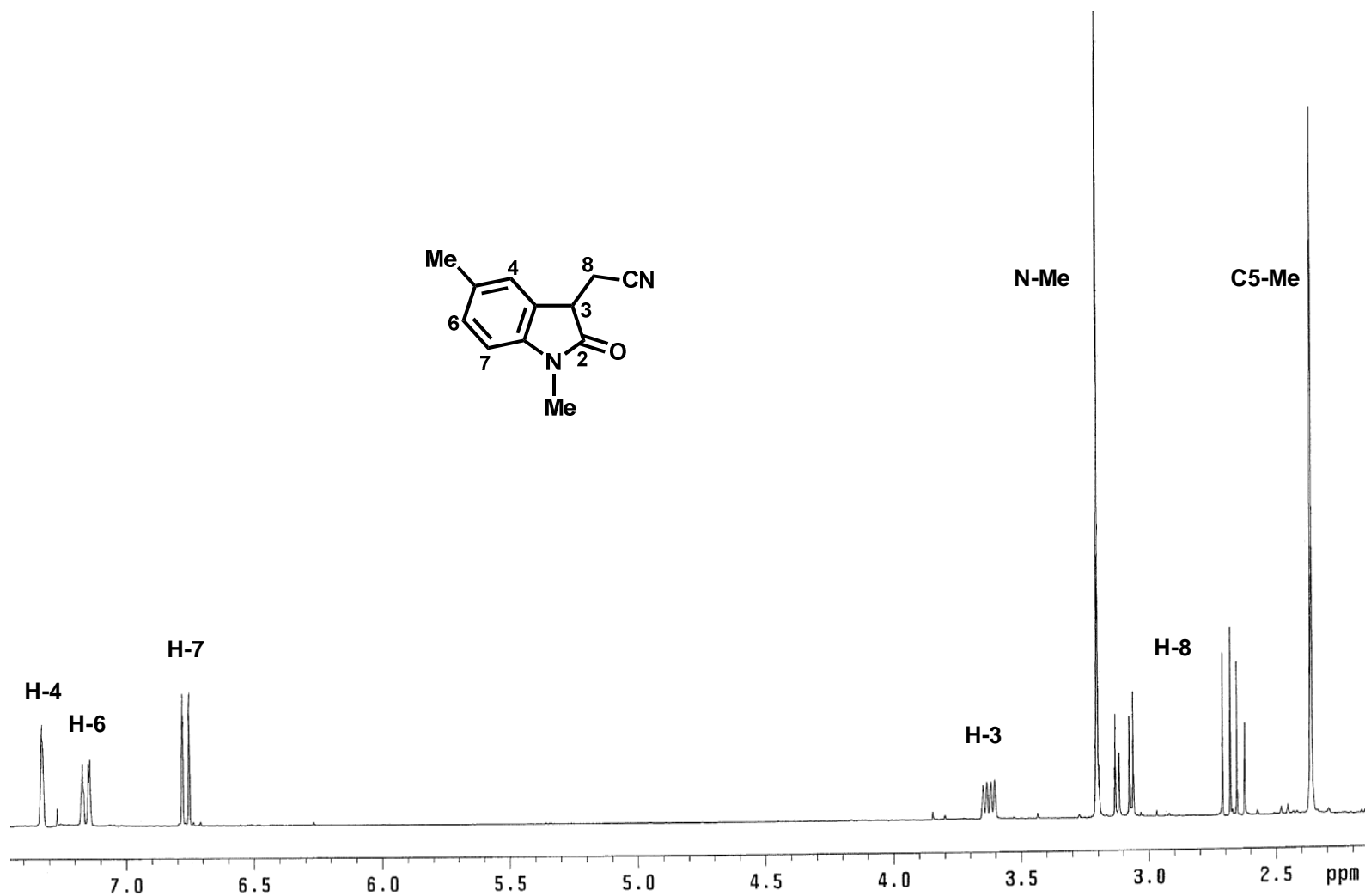


Figura 23. Espectro de RMN de ^1H de **9a** en CDCl_3 .

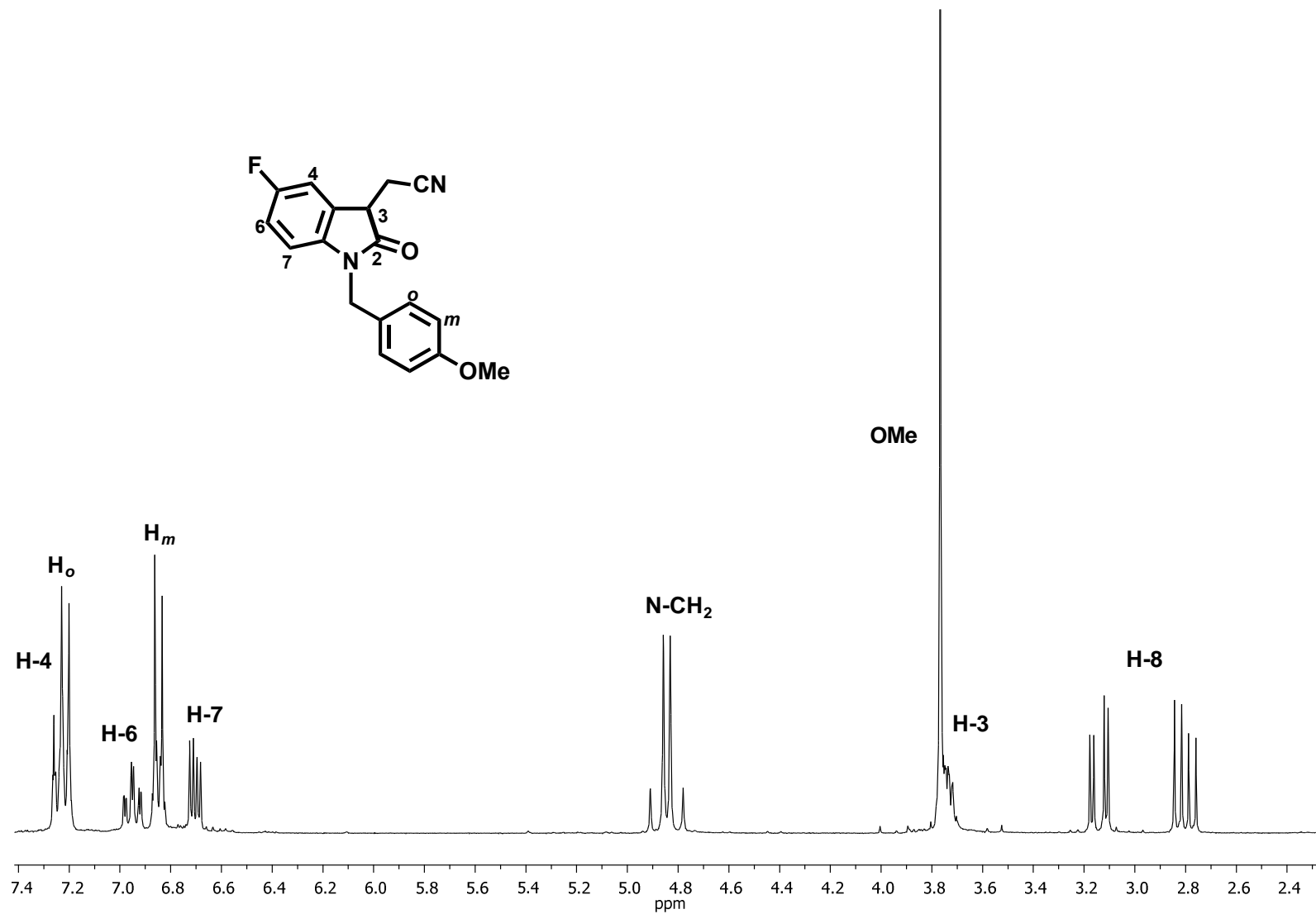


Figura 24. Espectro de RMN de ¹H de **9d** en CDCl₃.

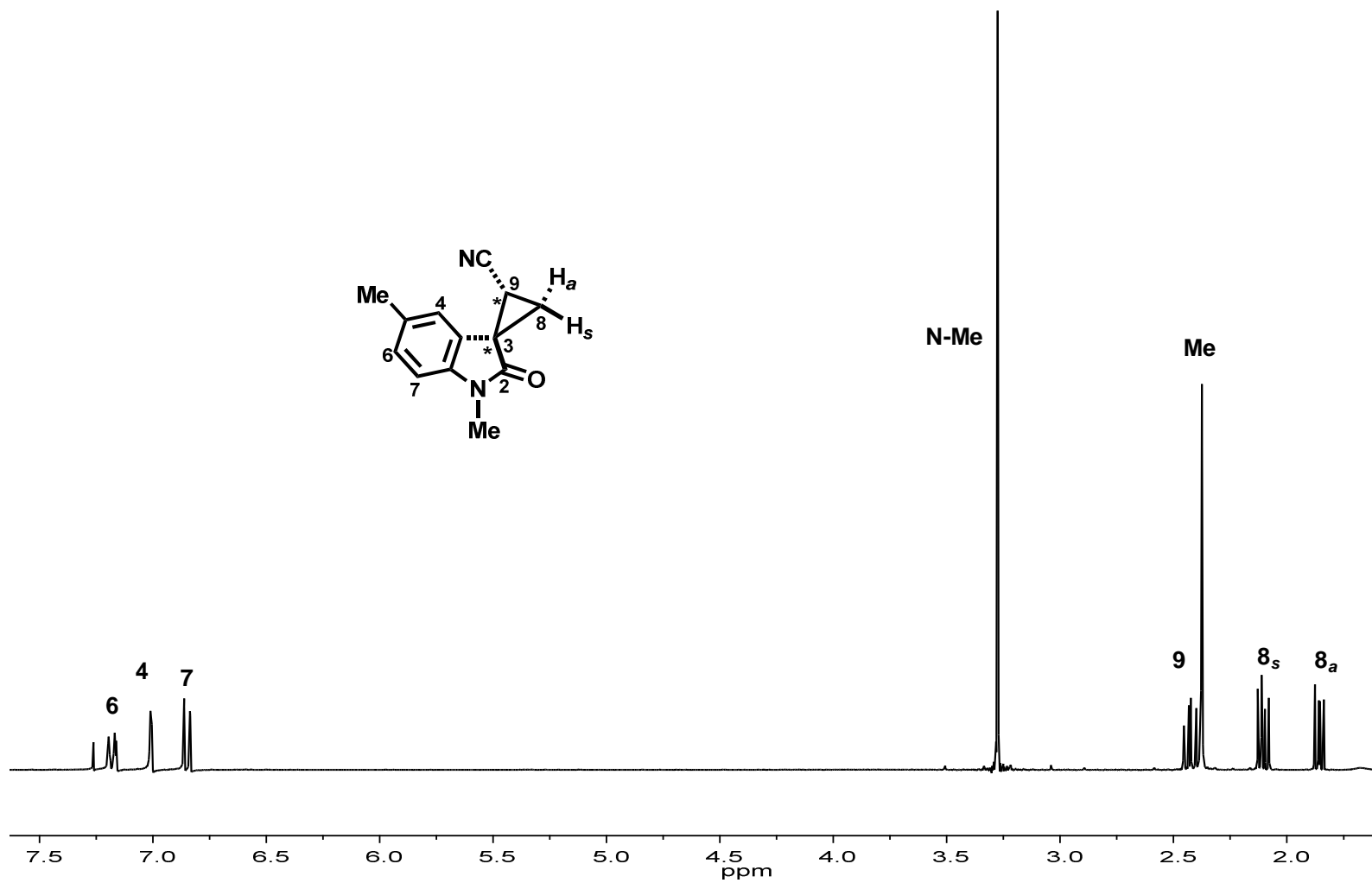


Figura 25. Espectro de RMN de ^1H de (R^*,R^*) -10a en CDCl_3 .

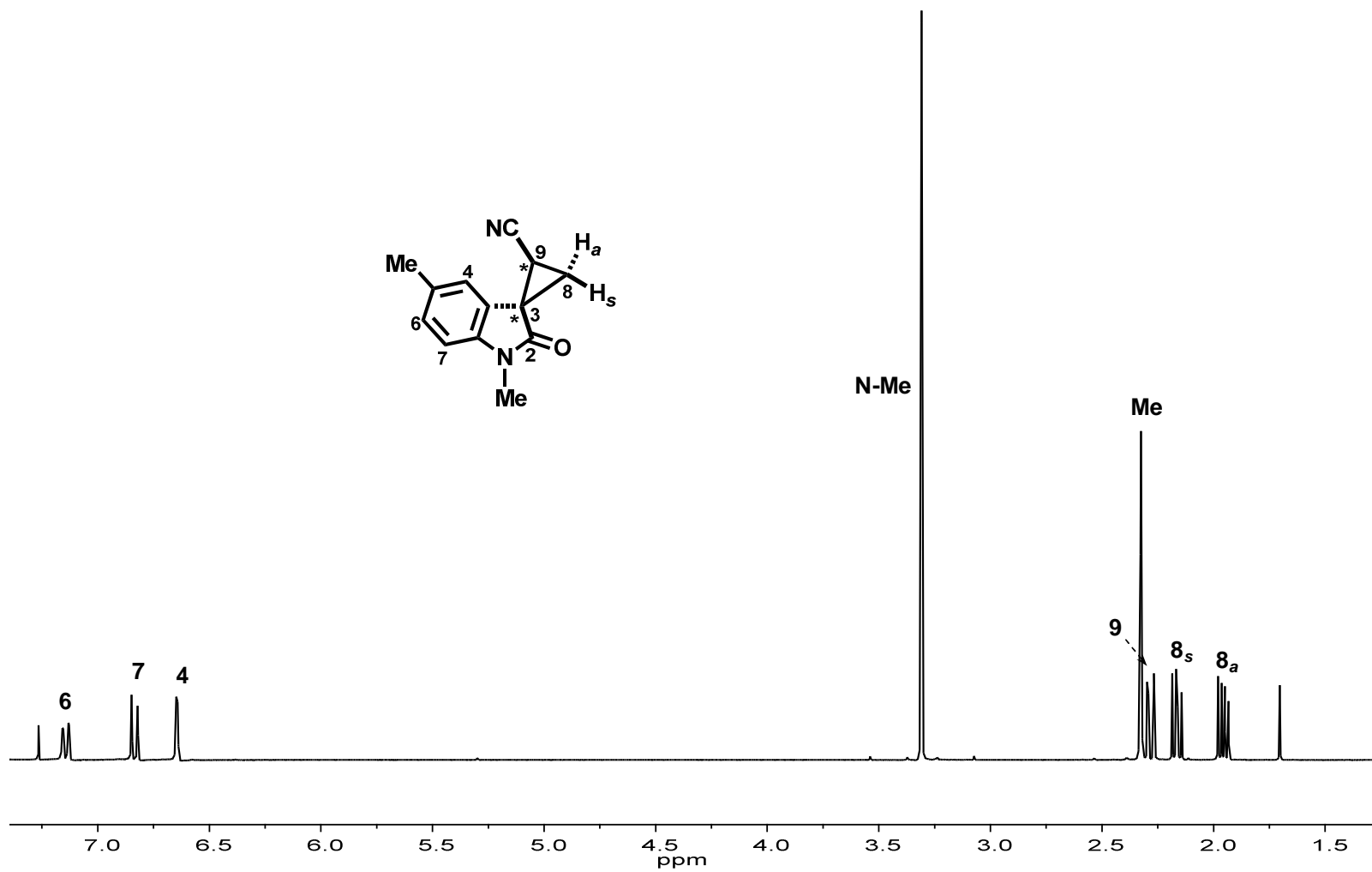


Figura 26. Espectro de RMN de ¹H de (R*,S*)-10a en CDCl₃.

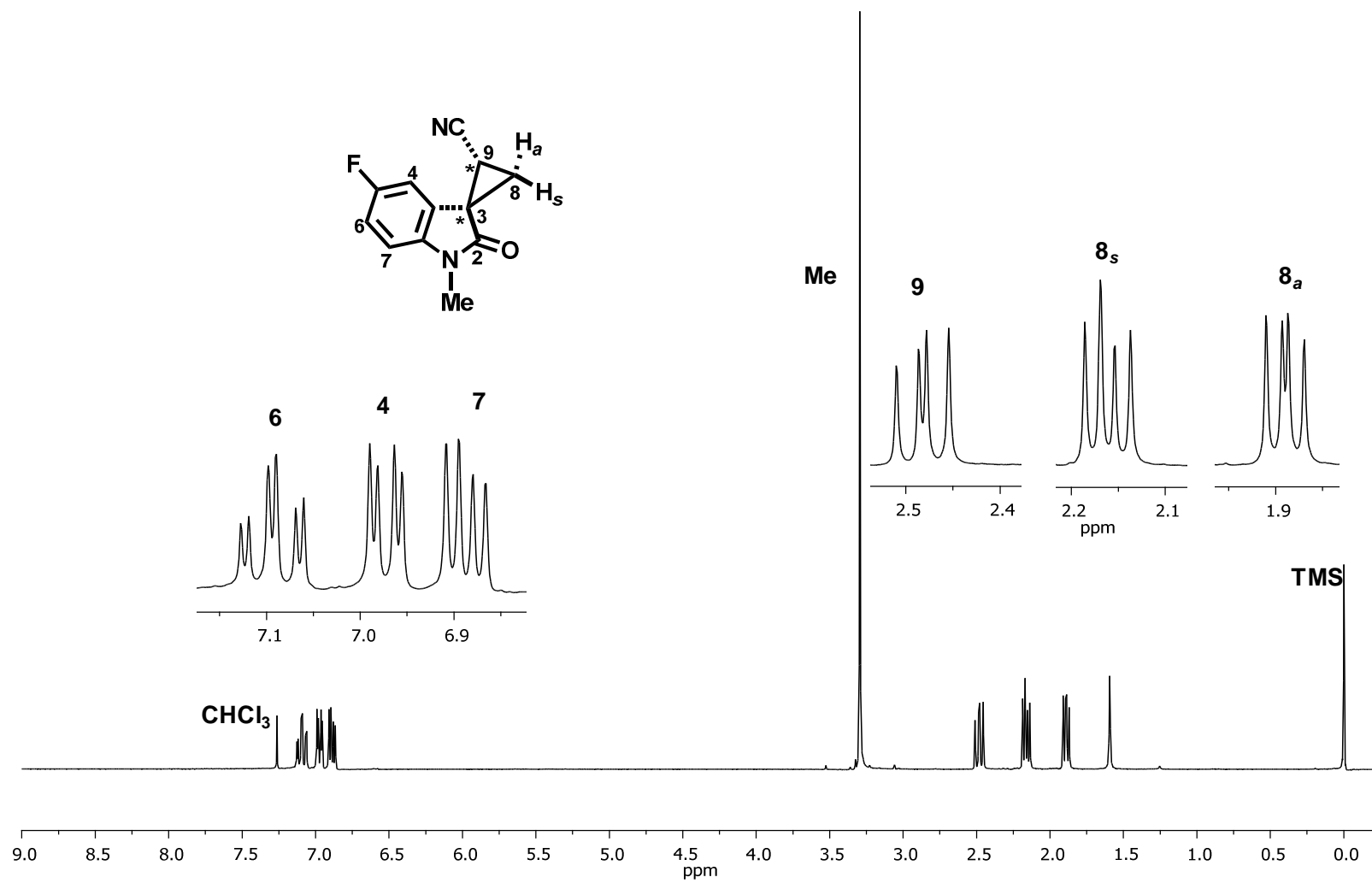


Figura 27. Espectro de RMN de ^1H de (R^*,R^*) -10b en CDCl_3 .

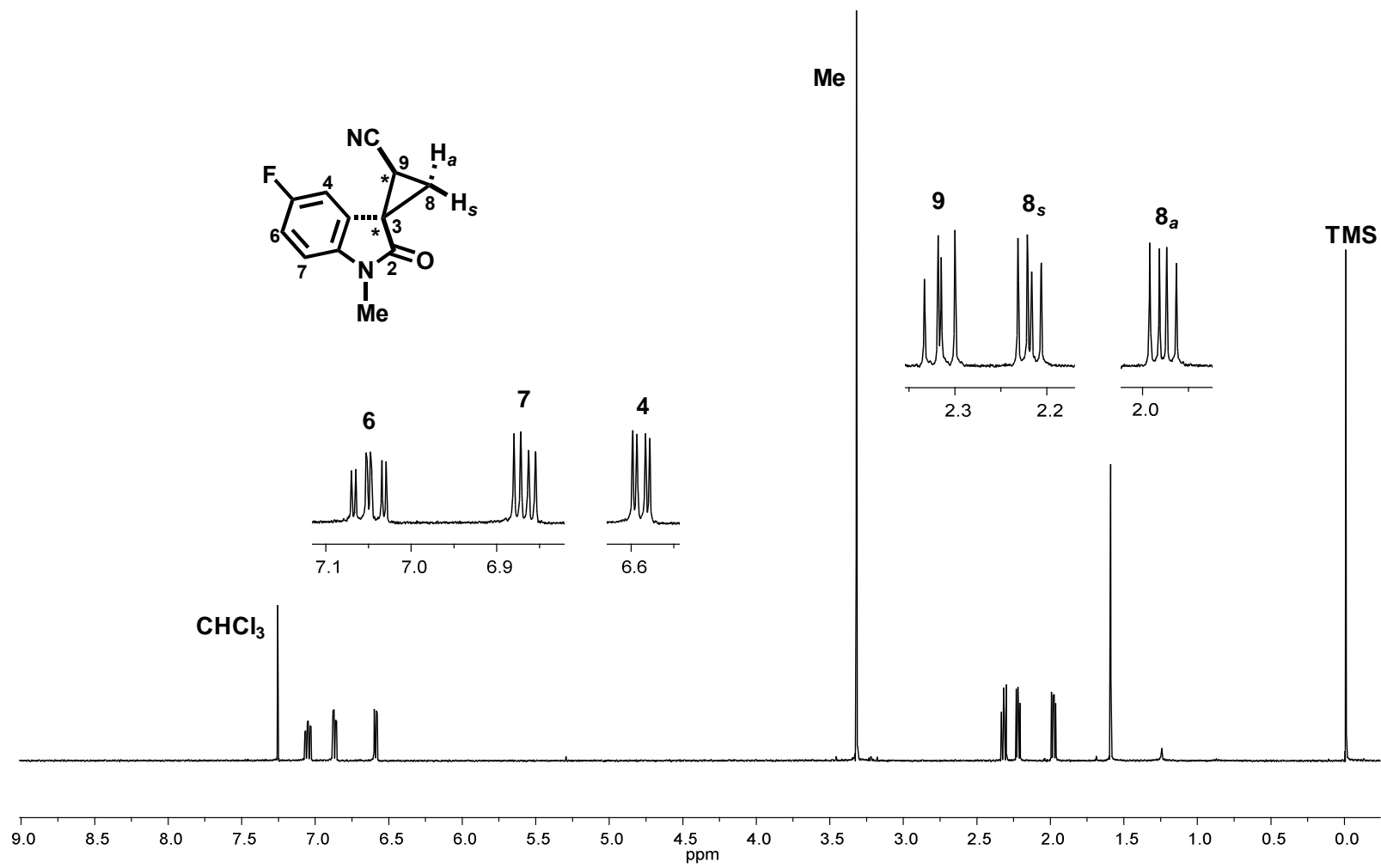


Figura 28. Espectro de RMN de ¹H de (R*,S*)-10b en CDCl₃.

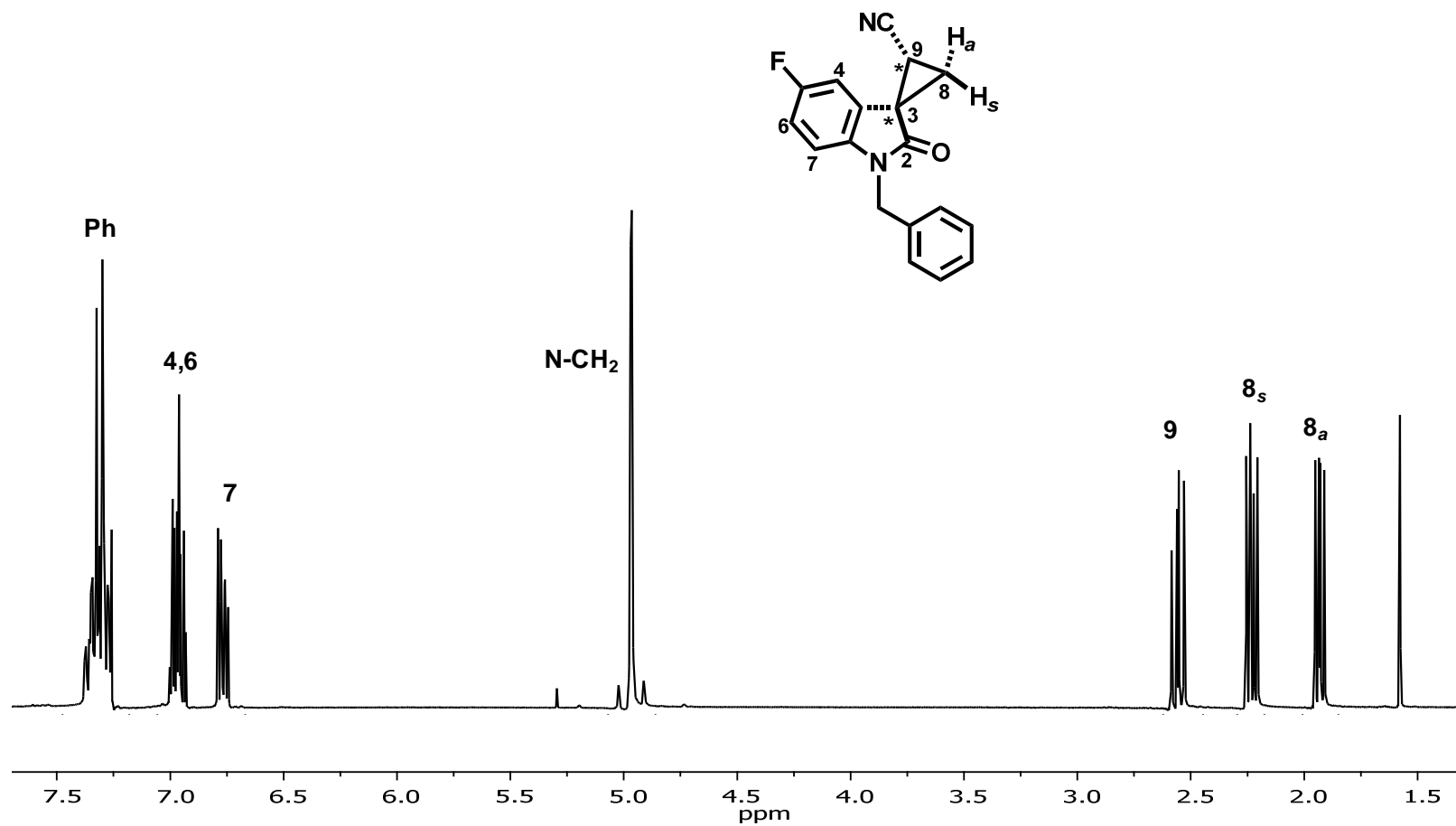


Figura 29. Espectro de RMN de ^1H de (R^*,R^*) -10c en CDCl_3 .

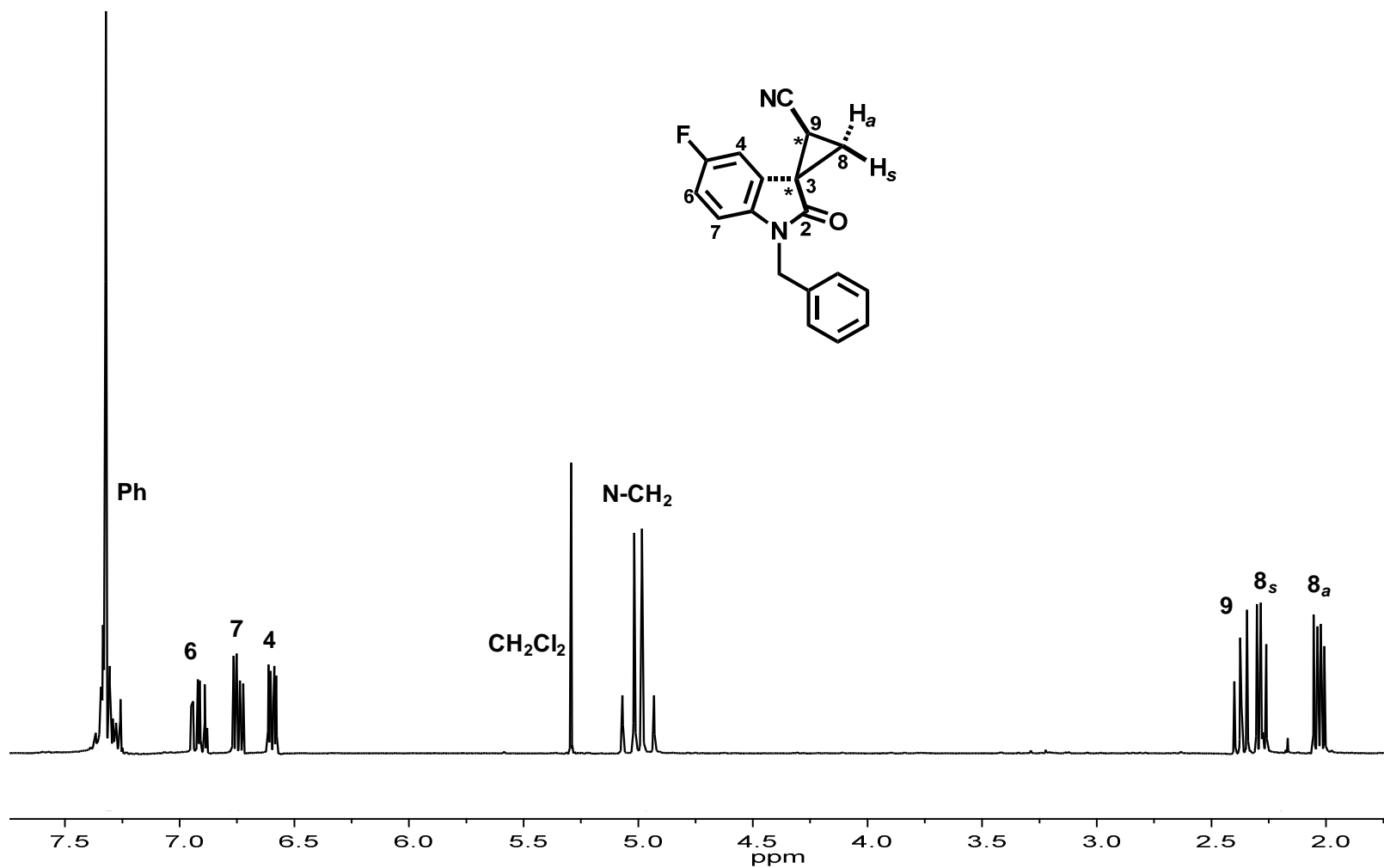


Figura 30. Espectro de RMN de ^1H de (R^*,S^*) -10c en CDCl_3 .

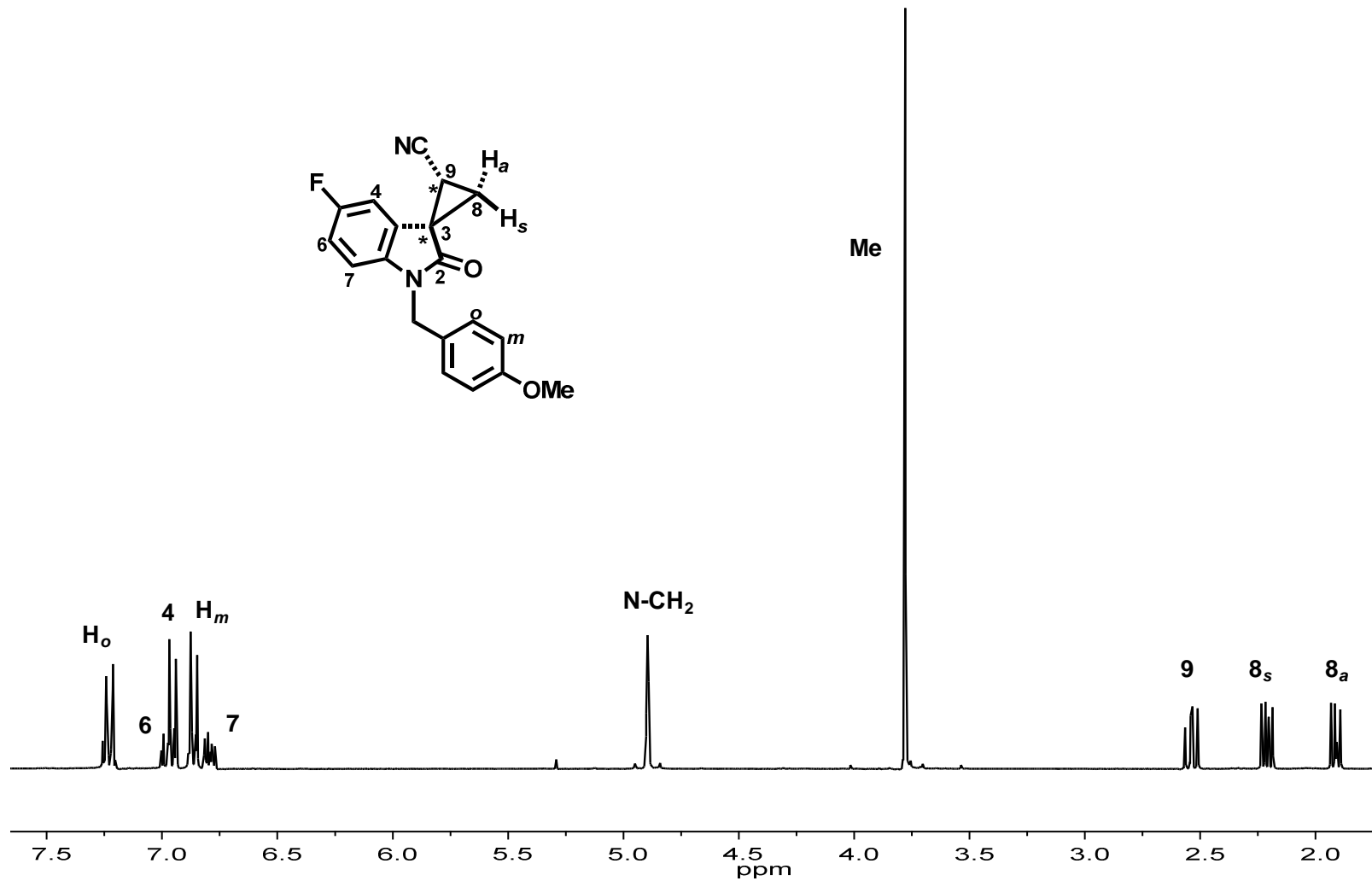


Figura 31. Espectro de RMN de ¹H de (R*,R*)-10d en CDCl₃.

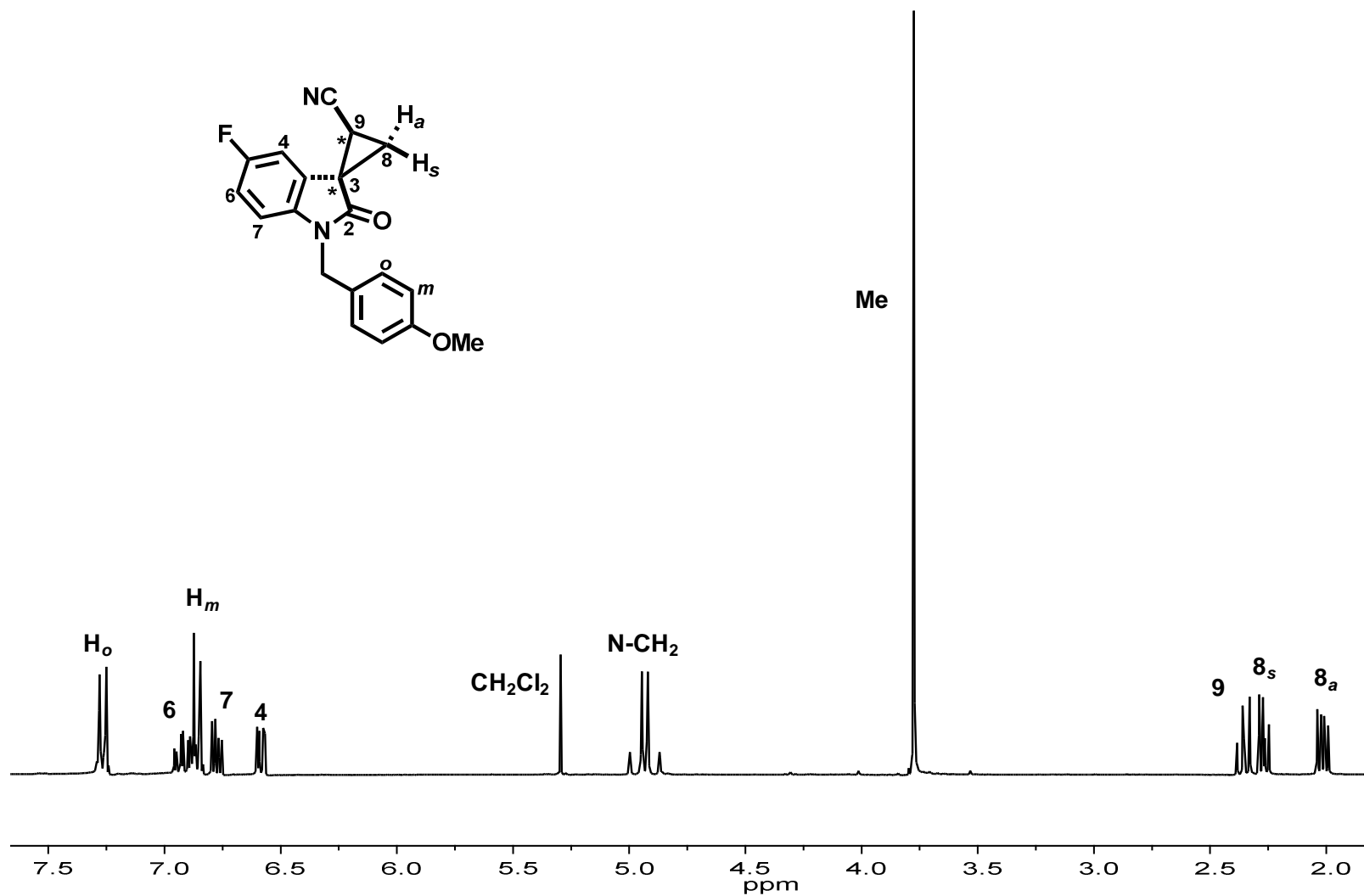


Figura 32. Espectro de RMN de ^1H de (R^*,S^*) -10d en CDCl_3 .

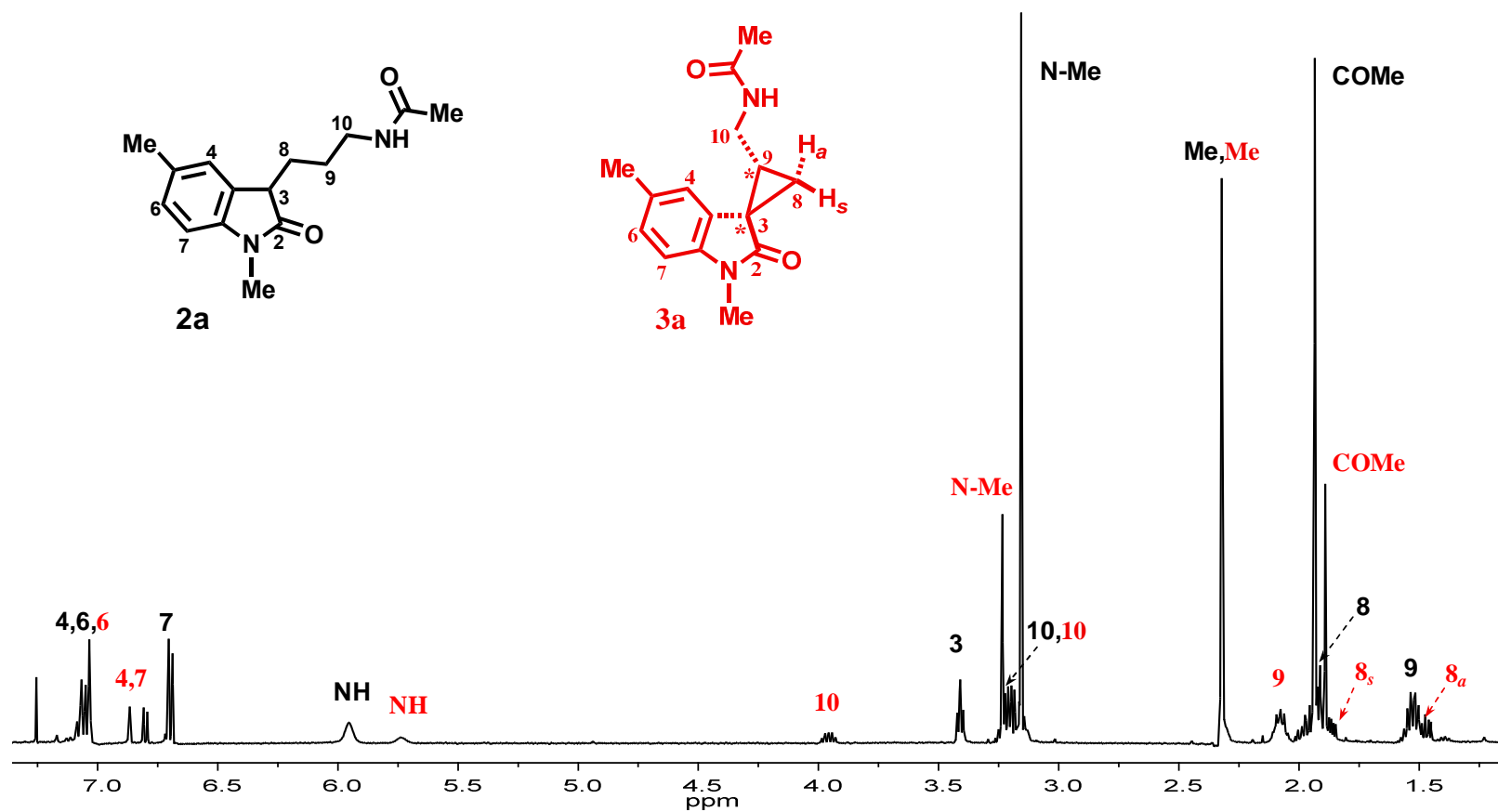


Figura 33. Espectro de RMN de ^1H de 2a y 3a en CDCl_3 .

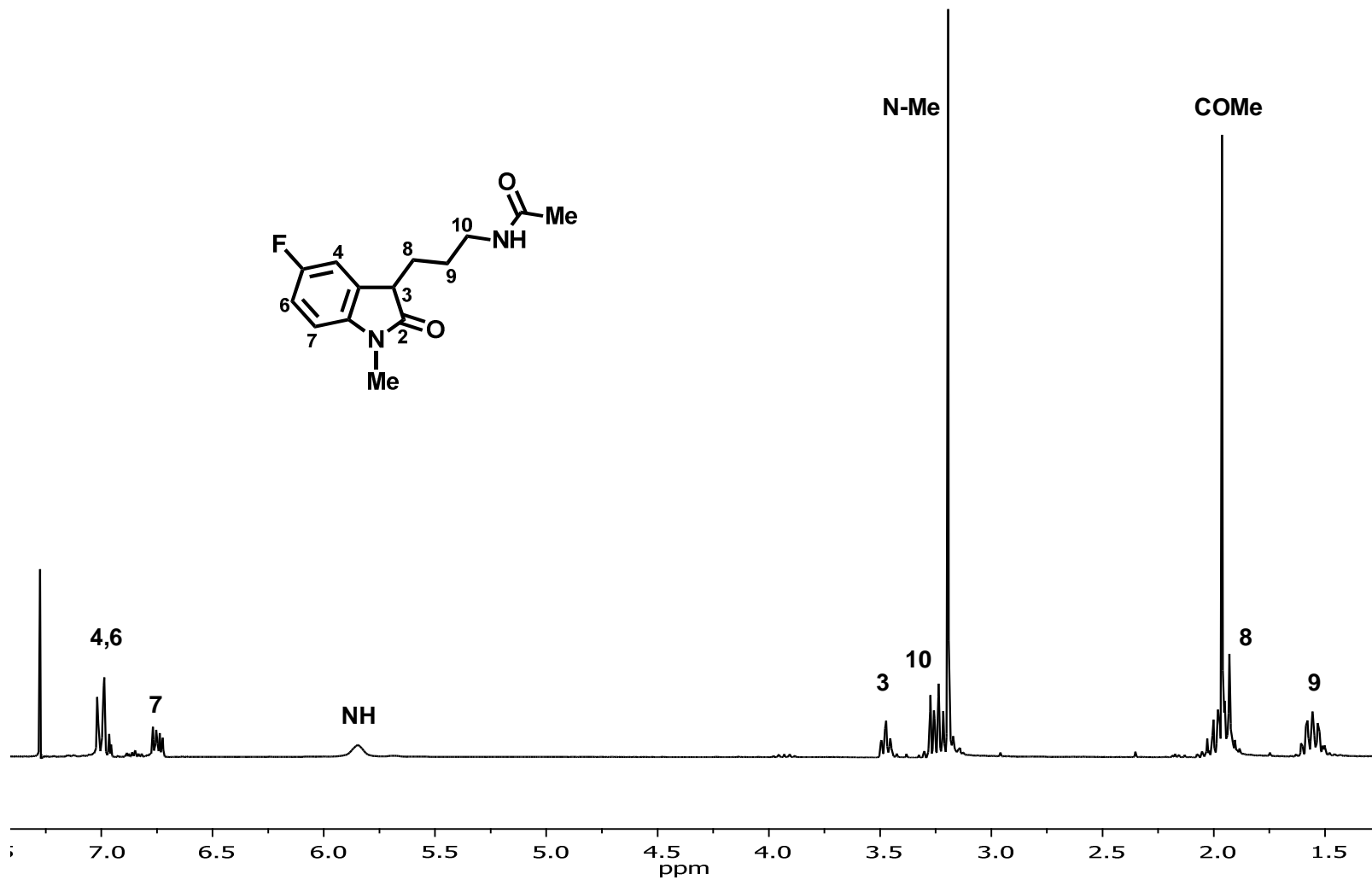


Figura 34. Espectro de RMN de ^1H de **2b** en CDCl_3 .

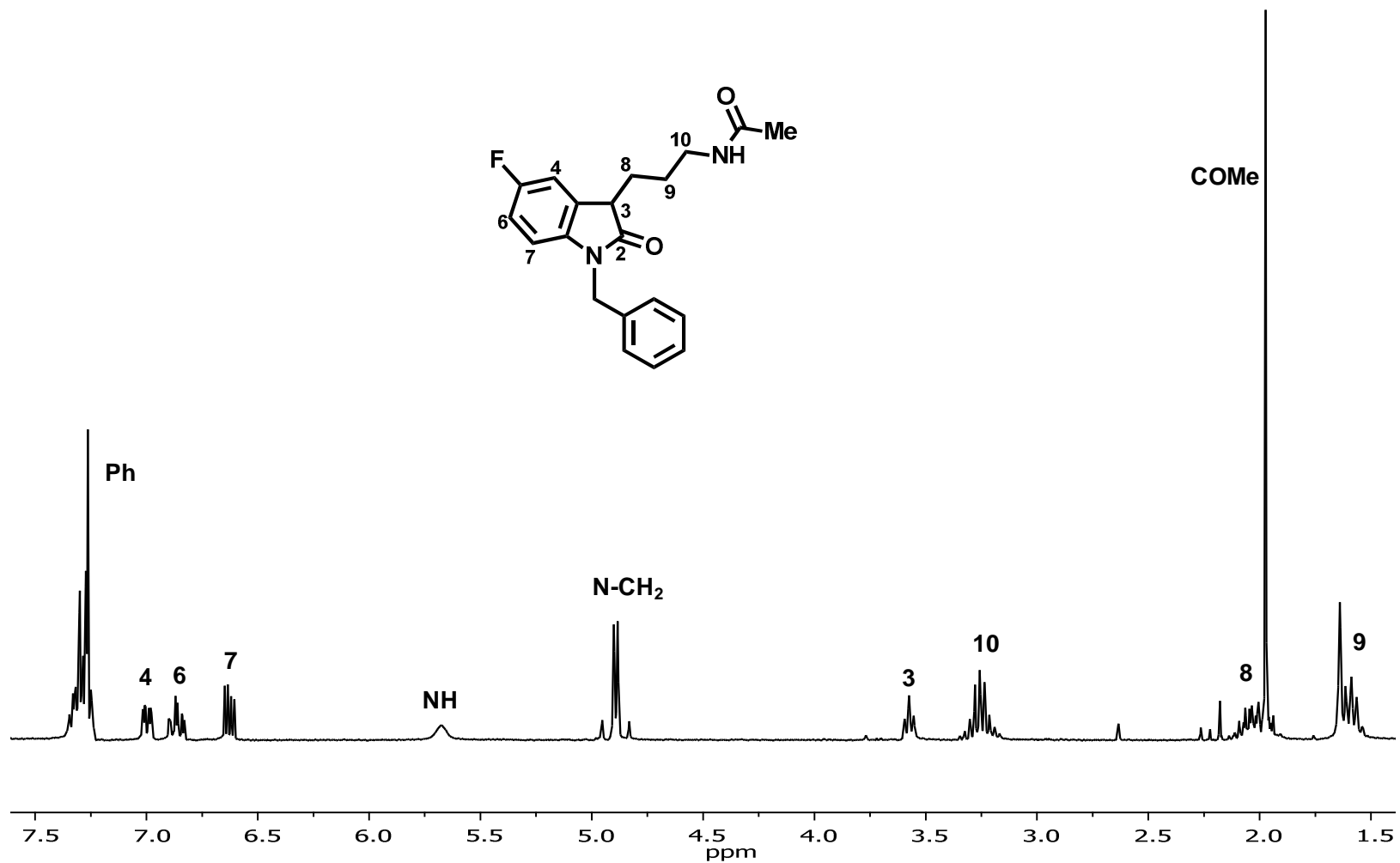


Figura 35. Espectro de RMN de ^1H de **2c** en CDCl_3 .

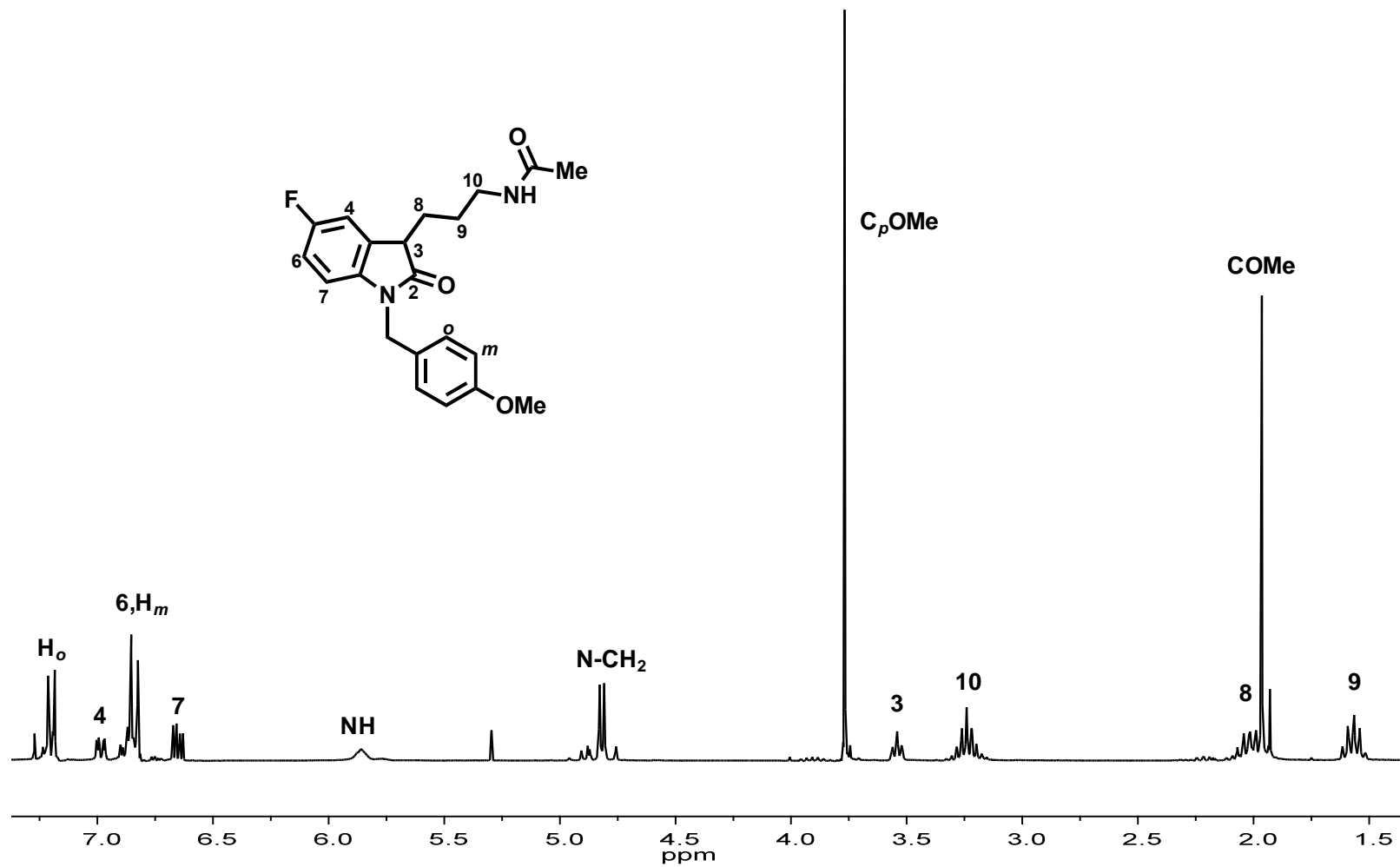


Figura 36. Espectro de RMN de ^1H de **2d** en CDCl_3 .

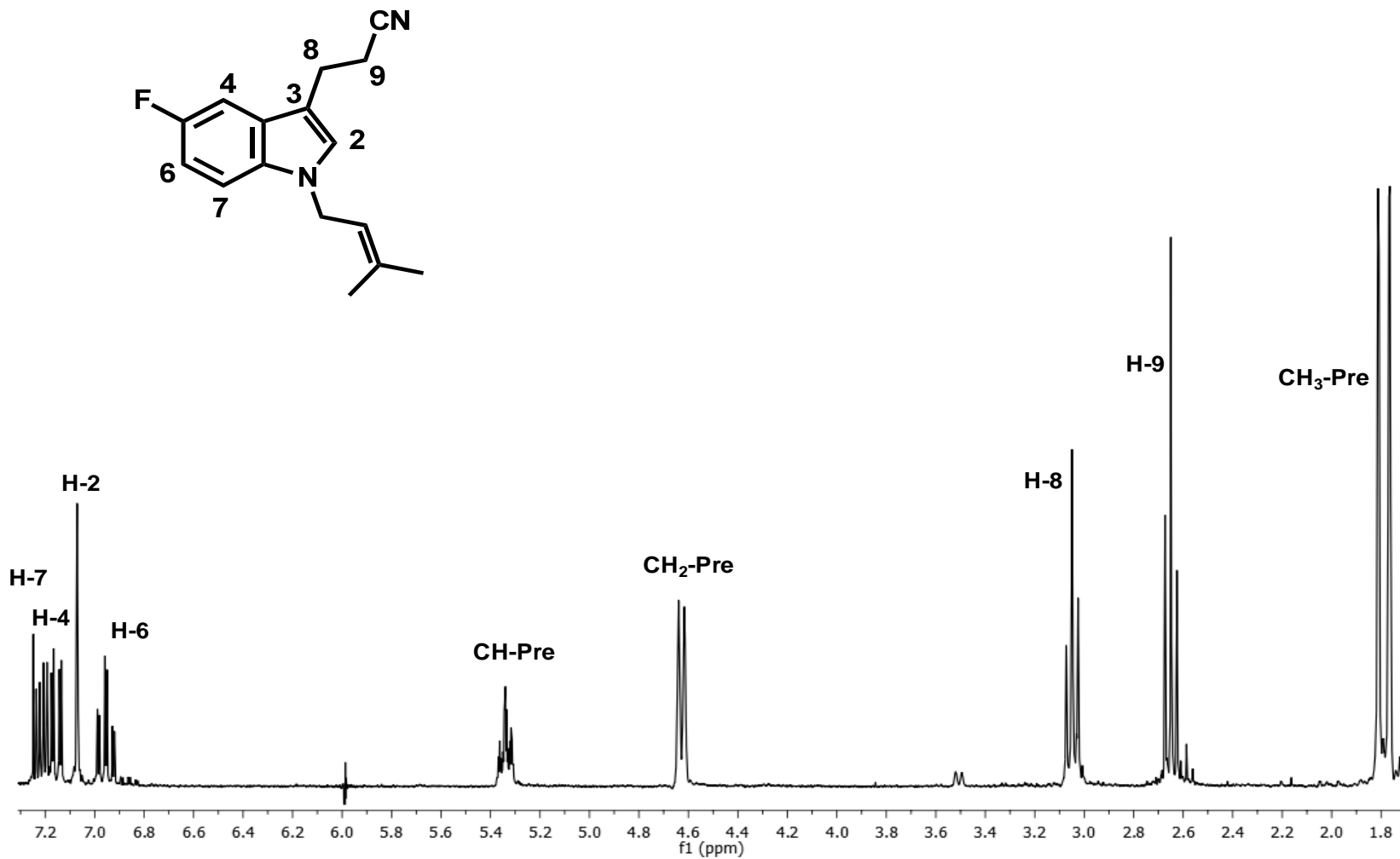


Figura 37. Espectro de RMN de ^1H de **14a** en CDCl_3 .

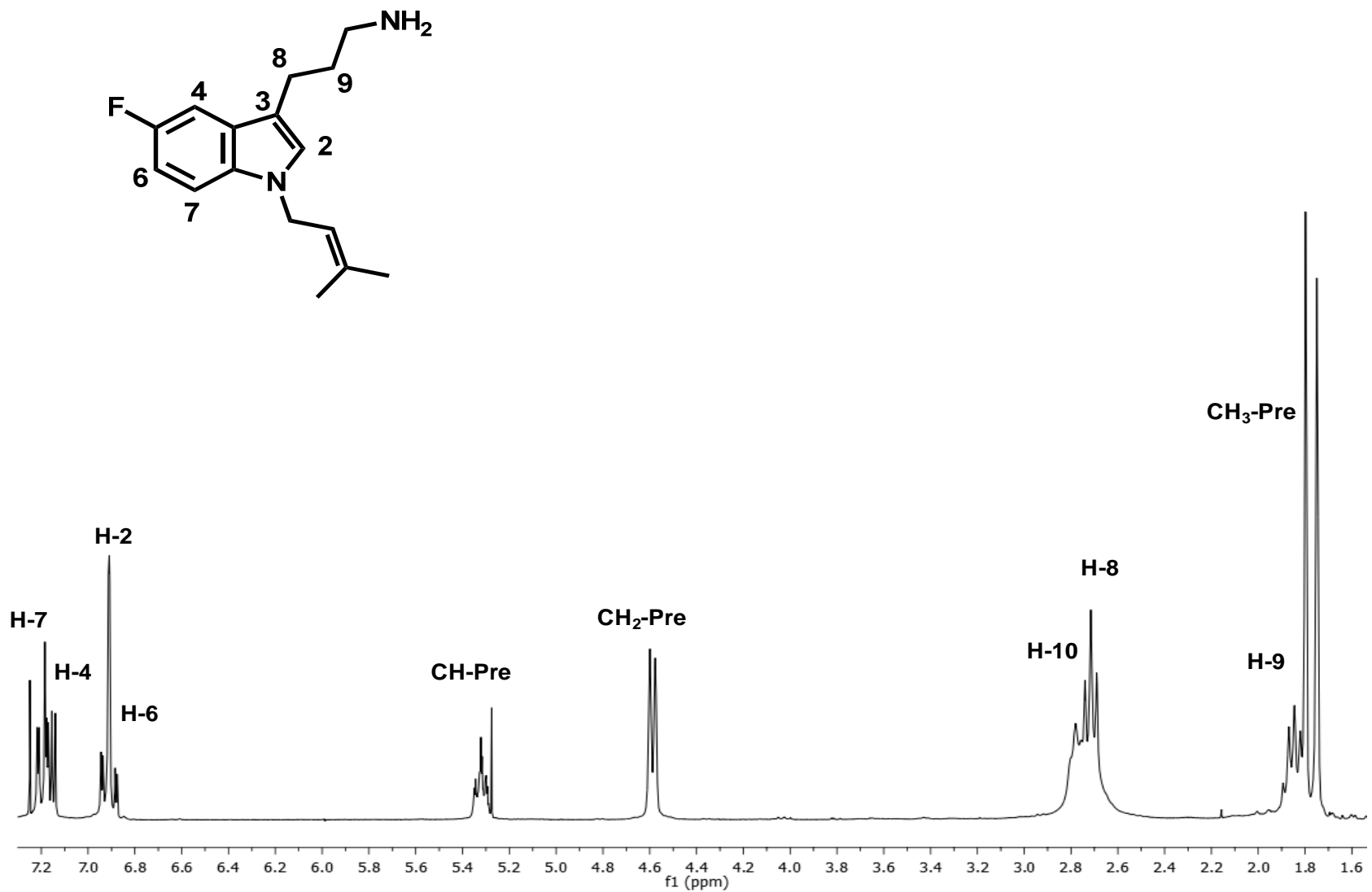


Figura 38. Espectro de RMN de ^1H de **1b** en CDCl_3 .

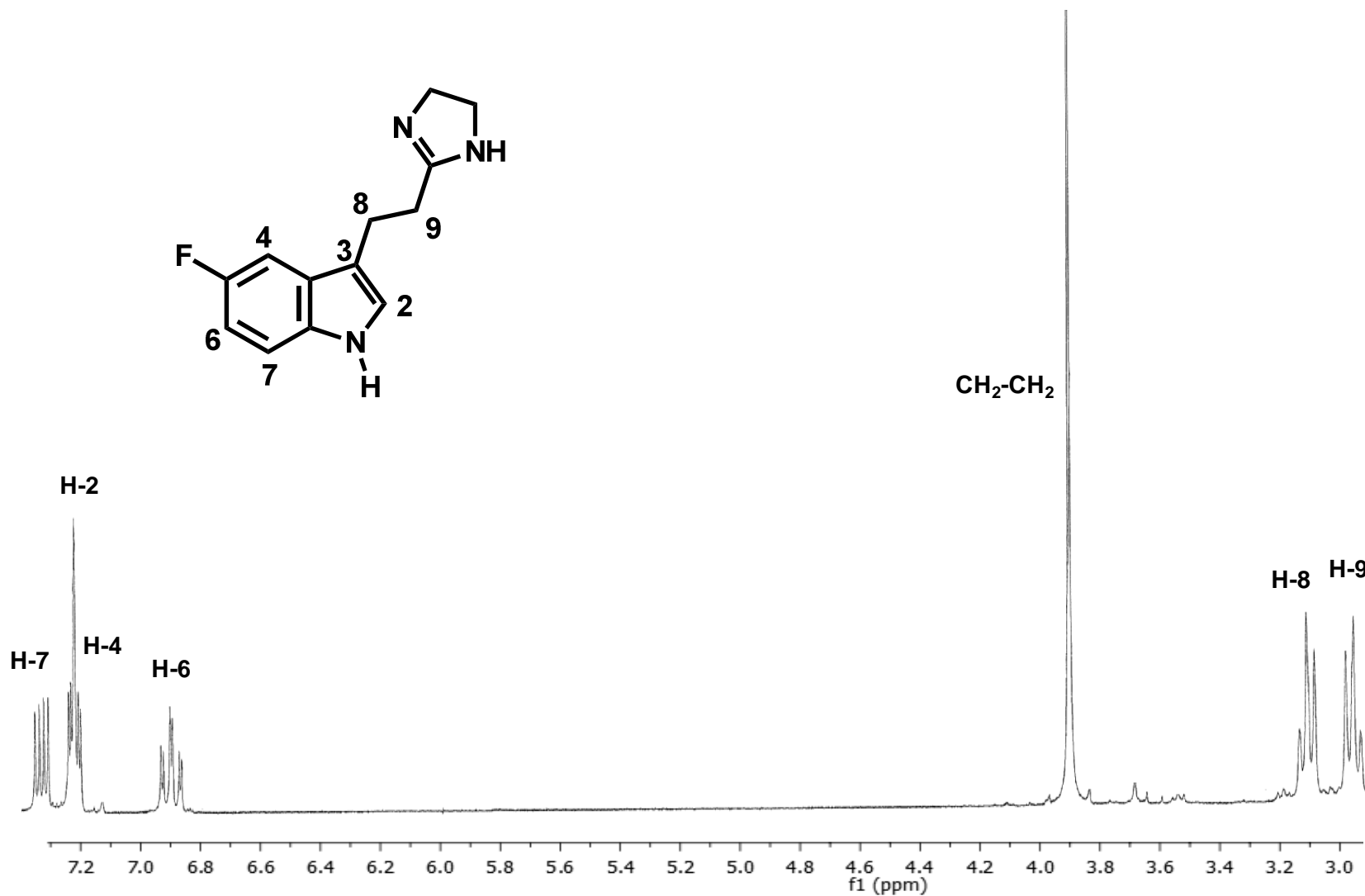


Figura 39. Espectro de RMN de ^1H de **4a** en CDCl_3 .

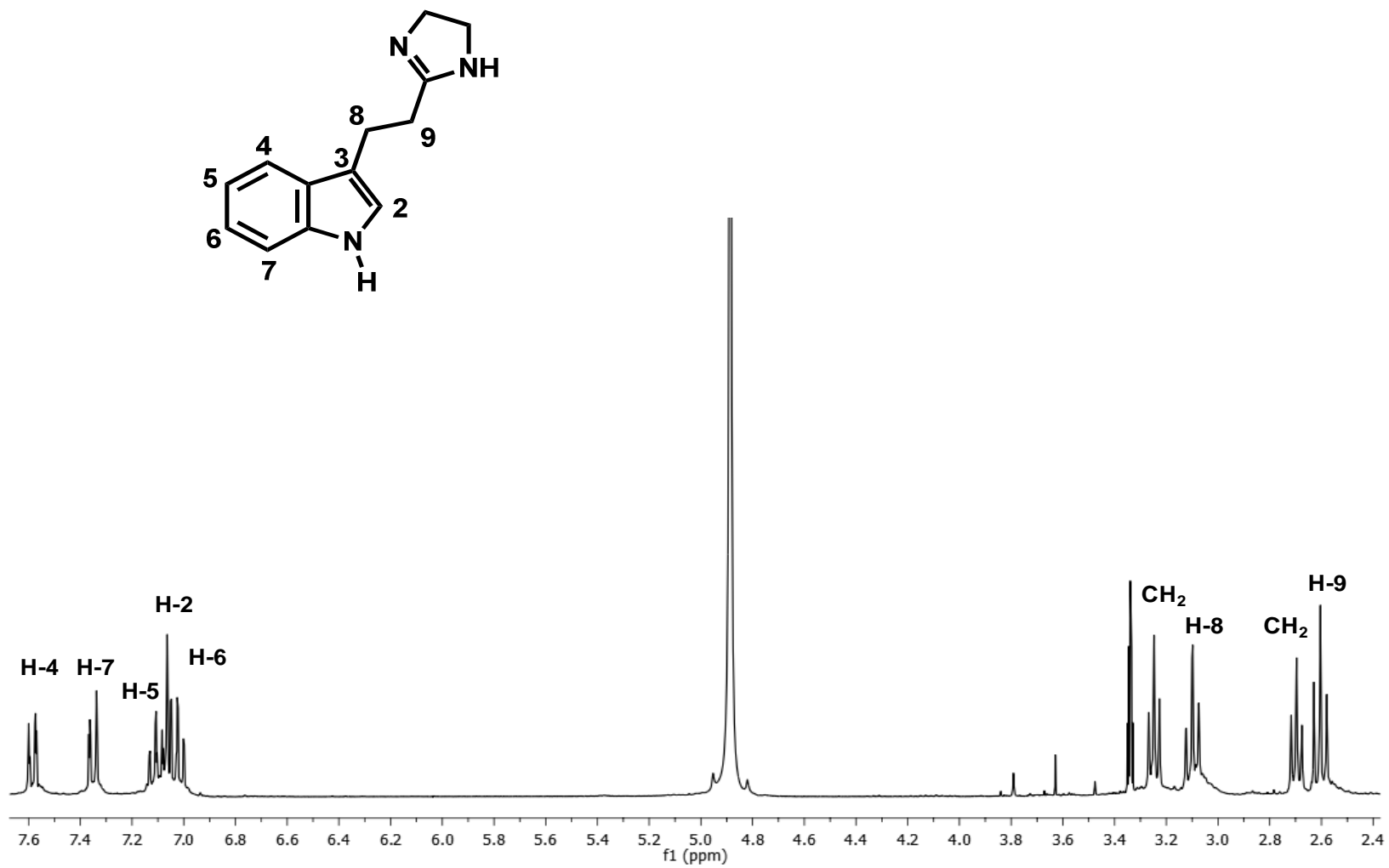
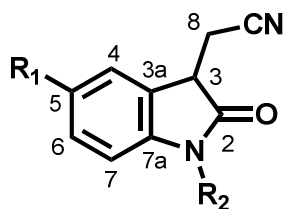


Figura 40. Espectro de RMN de ^1H de **4b** en CDCl_3 .

Tabla 8. Datos de RMN de ^1H de los 3-acetonitriloxindoles *N*-alquilados **9a** y **9d** en CDCl_3 con TMS como referencia interna. Desplazamientos químicos (δ) en partes por millón (ppm) y constantes de acoplamiento (J) en Hertz (Hz).



9a : $R_1 = \text{Me}$, $R_2 = \text{Me}$

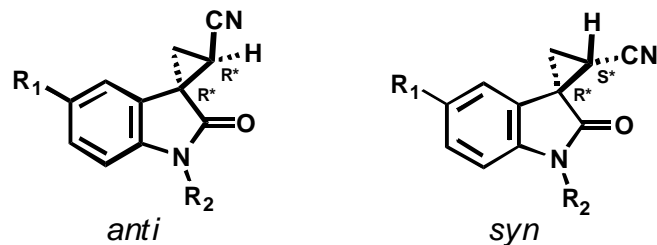
9d : $R_1 = \text{F}$, $R_2 = p\text{-MeOBn}$

		H-3	H-4	H-6	H-7	H-8
9a	δ	3.63 <u>ABX</u>	7.33 s	7.16 dd	6.77 d	3.10, 2.67 <u>ABX</u>
	J	9.4, 4.7	-	7.9, 1.8	8.6	17.0, 9.4, 4.7
9d	δ	3.74 m	7.22 m	6.95 td	6.70 dd	3.14, 2.80 <u>ABX</u>
	J	-	-	8.8, 2.5	8.5, 4.1	17.0, 8.5, 4.7

9a: δ 3.21 (3H, s, NCH_3), 2.37 (3H, s, CH_3)

9d: δ 7.21 (2H, m, H_o), 6.85 (2H, m, H_m), 4.88 y 4.81 (2H, AB, $J = 15.7$ Hz, NCH_2), 3.76 (3H, s, OCH_3)

Tabla 9. Datos de RMN de ^1H de los espirociclopropiloxindoles *anti/syn-10a*, *syn-10b*, y *anti/syn-10d* en CDCl_3 con TMS como referencia interna. Desplazamientos químicos (δ) en partes por millón (ppm) y constantes de acoplamiento (J) en Hertz (Hz).



	10a	10b	10d
R_1	Me	F	F
R_2	Me	Me	<i>p</i> MeOBn

		H-4	H-6	H-7	H-8 _{anti}	H-8 _{syn}	H-9 _{anti}	H-9 _{syn}
<i>anti-10a</i>	δ	7.01 da	7.18 dd	6.85 d	1.86 dd	2.11 dd	-	2.43 dd
	J	1.8	7.9, 1.8	8.2	7.0, 4.7	9.4, 5.3	-	9.4, 7.0
<i>syn-10a</i>	δ	6.64 sm	7.14 dm	6.83 d	1.96 dd	2.16 dd	2.29 dd	-
	J	-	7.9	7.9	9.1, 5.0	7.3, 5.0	9.2, 7.5	-
<i>syn-10b</i>	δ	6.60 dd	7.06 td	6.88 dd	1.99 dd	2.23 dd	2.33 dd	-
	J	7.6, 2.6	8.5, 2.6	8.6, 4.0	9.2, 5.3	7.6, 5.3	9.2, 7.5	-
<i>anti-10d</i>	δ	6.96 m	6.97 m	6.80 m	1.92 dd	2.21 dd	-	2.54 dd
	J	-	-	-	7.1, 5.2	9.6, 5.2	-	9.6, 7.1

Tabla 9. (Continúa)

		H-4	H-6	H-7	H-8 _{anti}	H-8 _{syn}	H-9 _{anti}	H-9 _{syn}
<i>syn-10d</i>	δ	6.58 dd	6.93 td	6.78 dd	2.02 dd	2.28 dd	2.36 dd	-
	<i>J</i>	7.6, 2.5	8.7, 2.6	8.7, 4.1	8.9, 4.8	7.5, 4.8	8.9, 7.5	-

anti-10a: δ 3.27 (3H, s, NCH₃), 2.37 (3H, s, CH₃)

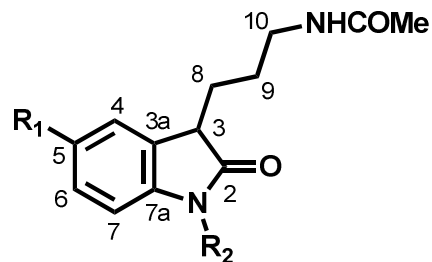
syn-10a: δ 3.31 (3H, s, NCH₃), 2.33 (3H, s, CH₃)

syn-10b: δ 3.33 (3H, s, NCH₃)

anti-10d: δ 7.23 (2H, m, H_o), 6.87 (2H, m, H_m), 4.93 y 4.87 (2H, AB, *J* = 16.2 Hz, NCH₂), 3.78 (3H, s, OCH₃)

syn-10d: δ 7.27 (2H, m, H_o), 6.86 (2H, m, H_m), 4.98 y 4.90 (2H, AB, *J* = 15.4 Hz, NCH₂), 3.78 (3H, s, OCH₃)

Tabla 10. Datos de RMN de ^1H de las 3-propilacetamidas **2b-2d** en CDCl_3 con TMS como referencia interna. Desplazamientos químicos (δ) en partes por millón (ppm) y constantes de acoplamiento (J) en Hertz (Hz).



	2b	2c	2d
R ₁	F	F	F
R ₂	Me	Bn	<i>p</i> MeOBn

		H-3	H-4	H-6	H-7	H-8	H-9	H-10	NH	COMe
2b	δ	3.47 t	7.00 m	6.99 m	6.75 m	1.98 m	1.56 m	3.23 m	6.15 sa	1.96 s
	J	6.0	-	-	-	-	-	-	-	-
2c	δ	3.56 t	7.00 dd	6.85 td	6.62 dd	2.03 m	1.58 m	3.24 m	5.98 sa	1.96 s
	J	5.9	7.6, 3.4	9.4, 2.4	8.2, 4.1	-	-	-	-	-
2d	δ	3.54 t	6.98 ddd	6.86 m	6.65 dd	2.01 m	1.58 m	3.24 m	5.85 sa	1.96 s
	J	5.9	8.2, 2.3, 1.2	-	8.5, 4.1	-	-	-	-	-

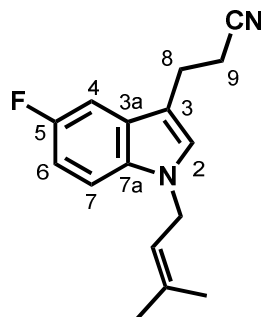
2b: δ 3.19 (3H, s, NCH₃)

Tabla 10. (Continúa)

2c: δ 7.31 (2H, m, H_m), 7.27 (1H, m, H_p), 7.26 (2H, m, H_o), 4.92 y 4.85 (2H, AB, $J = 15.82$ Hz, NCH_2)

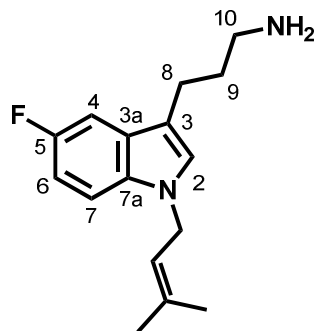
2d: δ 7.21 (2H, m, H_o), 6.85 (2H, m, H_m), 4.85 y 4.78 (2H, AB, $J = 15.24$ Hz, NCH_2), 3.77 (3H, s, C_pOMe)

Tabla 11. Datos de RMN de ^1H del 3-propionitrilindol **13a** en CDCl_3 con TMS como referencia interna. Desplazamientos químicos (δ) en partes por millón (ppm) y constantes de acoplamiento (J) en Hertz (Hz).



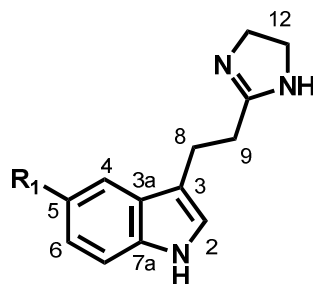
	H-2	H-4	H-6	H-7	H-8	H-9	NCH ₂	CH=	CH ₃	CH ₃
13a δ	7.07 s	7.16 dd	6.95 td	7.21 dd	3.05 t	2.65 t	4.65 d	5.34 m	1.77 s	1.81 s
J	-	9.5, 2.5	8.9, 2.5	8.9, 4.4	7.0	7.0	6.9	-	-	-

Tabla 12. Datos de RMN de ^1H de la homotriptamina **1b** en CDCl_3 con TMS como referencia interna. Desplazamientos químicos (δ) en partes por millón (ppm) y constantes de acoplamiento (J) en Hertz (Hz).



	H-2	H-4	H-6	H-7	H-8	H-9	H-10	NCH ₂	CH=	CH ₃	CH ₃
1b	δ 6.91 s	7.16 dd	6.90 td	7.16 dd	2.72	1.85 m	2.78	4.59 d	5.32 m	1.75 s	1.79 s
					m		m				
	J -	9.9, 2.4	9.2, 2.3	9.9, 4.5	-	-	-	6.9	-	-	-

Tabla 13. Datos de RMN de ^1H del imidazolinilindol **4a** en CH_3COOD y del imidazolinilindol **4b** en CD_3OD con TMS como referencia interna. Desplazamientos químicos (δ) en partes por millón (ppm) y constantes de acoplamiento (J) en Hertz (Hz).

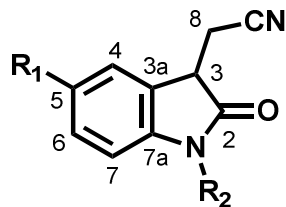


4a : $\text{R}_1 = \text{F}$

4b : $\text{R}_1 = \text{Me}$

		H-2	H-4	H-5	H-6	H-7	H-8	H-9	H-12	H-12
4a	δ	7.22 s	7.23 dd	-	6.90 td	7.33 dd	3.12 t	2.96 t	3.9 s	3.9 s
	J	-	9.8, 2.5	-	9.2, 2.5	8.8, 4.2	7.8	7.8	-	-
4b	δ	7.06 s	7.59 ddd	7.03 td	7.11 td	7.35 ddd	3.10 t	2.60 t	3.25 t	2.70 t
	J	-	7.8, 1.2, 0.9	7.0, 1.2	7.0, 1.3	8.1, 1.2, 0.9	7.2	7.2	6.0	6.2

Tabla 14. Datos de RMN de ^{13}C de los 3-acetonitriloxindoles *N*-alquilados **9a** y **9d** en CDCl_3 con TMS como referencia interna. Desplazamientos químicos (δ) en partes por millón (ppm) y constantes de acoplamiento (J) en Hertz (Hz).



9a : $\text{R}_1 = \text{Me}$, $\text{R}_2 = \text{Me}$

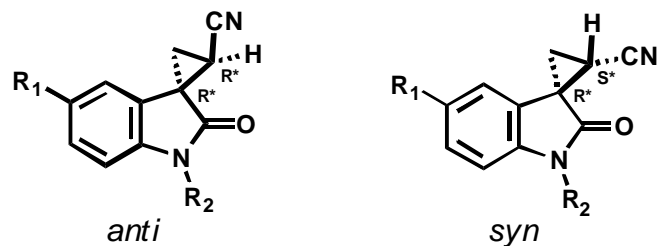
9d : $\text{R}_1 = \text{F}$, $\text{R}_2 = p\text{-MeOBn}$

	C-2	C-3	C-3a	C-4	C-5	C-6	C-7	C-7a	C-8	CN
9a	174.0	41.3	125.6	124.8	132.7	129.4	108.2	141.6	18.7	117.2
9d	173.9	41.6	127.0	112.6	160.8	115.8	110.3	139.2	18.9	116.7

9a: R_1 : δ 26.3 N- CH_3 , 20.9 CH_3

9d: R_1 : δ 159.2 (C_p), 128.6 (2C_o), 126.8 (C_i), 114.2 (2C_m), 55.2 (OMe), 43.6 (NCH_2)

Tabla 15. Datos de RMN de ^{13}C de los espirociclopropiloxindoles *anti/syn-10a*, *syn-10b*, y *anti/syn-10d* en CDCl_3 con TMS como referencia interna. Desplazamientos químicos (δ) en partes por millón (ppm) y constantes de acoplamiento (J) en Hertz (Hz).



	10a	10b	10d
R ₁	Me	F	F
R ₂	Me	Me	<i>p</i> MeOBn

	C-2	C-3	C-3a	C-4	C-5	C-6	C-7	C-7a	C-8	C-9	CN
<i>anti-10a</i>	172.8	31.6	124.0	121.6	132.5	129.0	108.3	141.7	21.2	14.6	116.9
<i>syn-10a</i>	171.4	31.8	126.0	119.6	132.2	129.0	108.4	141.7	21.0	14.9	116.0
<i>syn-10b</i>	171.1	32.1	127.6	107.4	160.0	115.2	109.4	140.0	21.3	15.3	115.5
<i>anti-10d</i>	172.7	31.8	125.8	109.5	160.6	115.2	110.3	139.1	21.8	15.1	116.4
<i>syn-10d</i>	171.2	32.1	127.7	107.5	160.6	115.1	110.4	139.1	21.5	15.6	115.5

anti-10a: δ 26.8 (NCH₃), 21.1 (CH₃)

syn-10a: δ 26.8 (NCH₃), 21.0 (CH₃)

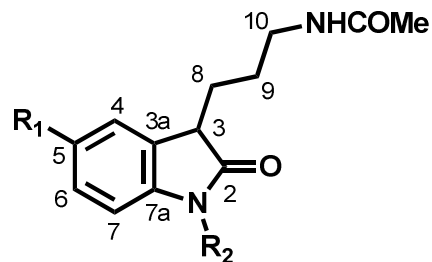
syn-10b: δ 27.0 (NCH₃)

Tabla 15. (Continúa)

anti-10d: δ 159.2 (C_p), 128.7 (2C_o), 127.0 (C_i), 114.2 (2C_m), 55.2 (OCH₃), 44.1 (NCH₂)

syn-10d: δ 159.2 (C_p), 128.9 (2C_o), 127.2 (C_i), 114.2 (2C_m), 55.2 (OCH₃), 44.1 (NCH₂),

Tabla 16. Datos de RMN de ^{13}C de las 3-propilacetamidas **2b-2d** en CDCl_3 con TMS como referencia interna. Desplazamientos químicos (δ) en partes por millón (ppm) y constantes de acoplamiento (J) en Hertz (Hz).



	2b	2c	2d
R ₁	F	F	F
R ₂	Me	Bn	<i>p</i> MeOBn

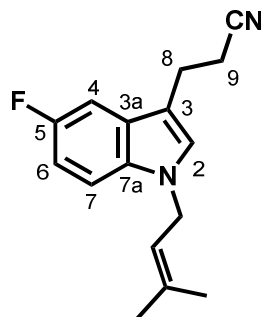
	C-2	C-3	C-3a	C-4	C-5	C-6	C-7	C-7a	C-8	C-9	C-10	C=O	COMe
2b	177.3	45.2	130.2	112.1	160.7	114.2	108.4	140.0	27.5	25.5	38.9	170.3	23.1
2c	177.4	45.2	130.2	112.1	160.7	114.2	109.5	139.0	27.6	25.6	39.0	170.2	23.1
2d	177.4	45.2	130.2	112.1	160.7	114.2	109.5	139.1	27.6	25.6	39.0	170.1	23.2

2b: δ 26.2 (NCH₃)

2c: δ 135.4 (C_i), 128.7 (C_m), 127.9 (C_p), 127.1 (C_o), 43.7 (NCH₂)

2d: δ 159.0 (C_p), 128.6 (C_o), 127.5 (C_i), 114.1 (C_m), 55.2 (C_pOMe), 43.2 (NCH₂)

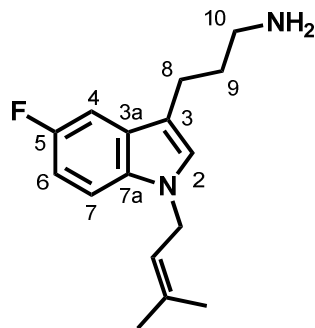
Tabla 17. Datos de RMN de ^{13}C del 3-propionitrilindol **13a** en CDCl_3 con TMS como referencia interna. Desplazamientos químicos (δ) en partes por millón (ppm) y constantes de acoplamiento (J) en Hertz (Hz).



	C-2	C-3	C-3a	C-4	C-5	C-6	C-7	C-7a	C-8	C-9	CN
13a	127.0	110.9	127.5	103.3	159.2	110.3	110.6	132.9	21.5	18.7	119.6

13ab: δ 136.8 (C=), 119.4 (CH=), 44.3 (N-CH₂), 25.6 (CH₃), 18.0 (CH₃)

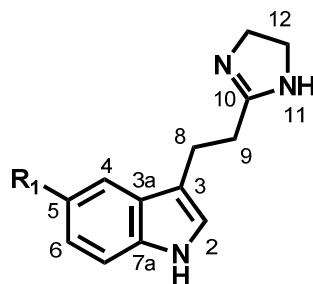
Tabla 18. Datos de RMN de ^{13}C de la homotriptamina **1b** en CDCl_3 con TMS como referencia interna. Desplazamientos químicos (δ) en partes por millón (ppm) y constantes de acoplamiento (J) en Hertz (Hz).



	C-2	C-3	C-3a	C-4	C-5	C-6	C-7	C-7a	C-8	C-9	C-10
1b	126.3	114.4	128.2	103.9	158.9	109.7	110.0	132.9	22.3	32.2	41.5

1b: δ 136.1 (C=), 119.9 (CH=), 44.1 (N-CH₂), 25.6 (CH₃), 17.9 (CH₃)

Tabla 19. Datos de RMN de ^{13}C del imidazolinilindol **4a** en CH_3COOD y del imidazolinilindol **4b** en CD_3OD con TMS como referencia interna. Desplazamientos químicos (δ) en partes por millón (ppm) y constantes de acoplamiento (J) en Hertz (Hz).



4a : $\text{R}_1 = \text{F}$

4b : $\text{R}_1 = \text{H}$

	C-2	C-3	C-3a	C-4	C-5	C-6	C-7	C-7a	C-8	C-9	C-10	C-12
4a	125.5	113.1	128.2	103.8	160.2	110.9	113.4	134.1	22.4	28.3	172.1	45.5
4b	123.9	115.8	129.3	120.2	120.4	123.2	113.1	138.9	23.4	39.2	177.4	42.4