



VNIVERSITAT
ID VALÈNCIA

FACULTAT DE FARMÀCIA
DEPARTAMENT DE FARMACOLOGIA

Síntesis de Isoquinoleinas Dopaminérgicas y de Indenopiridinas Melatoninérgicas

TESIS DOCTORAL

presentada por:

Paloma Marín Vivanco

Valencia, Enero 2014



UNIVERSITAT
DE VALÈNCIA

FACULTAT DE FARMÀCIA
DEPARTAMENT DE FARMACOLOGIA

D. Diego M. Cortes Martínez, Catedrático del Departamento de Farmacología de la Universitat de València, Dña. Nuria Cabedo Escrig, Colaboradora Científica del Centro de Ecología Química Agrícola y Laura Moreno Gálvez, Investigadora del Departamento de Farmacología de la Universitat de València.

CERTIFICAN:

*Que el trabajo presentado por la Lda. **Paloma Marín Vivanco**, titulado: “**Síntesis de Isoquinoleinas Dopaminérgicas y de Indenopiridinas Melatoninérgicas**”, ha sido realizado en el Departamento de Farmacología de la Universitat de València, bajo nuestra dirección y asesoramiento.*

Concluido el trabajo experimental y bibliográfico, autorizamos la presentación de esta Tesis Doctoral para que sea juzgada por el tribunal correspondiente.

Valencia, 14 de Enero de 2014

Dr. Diego Cortes

Dra. Nuria Cabedo

Dra. Laura Moreno



VNIVERSITAT
ID VALÈNCIA

FACULTAT DE FARMÀCIA
DEPARTAMENT DE FARMACOLOGIA

La presente Tesis Doctoral ha sido financiada con los siguientes proyectos y ayudas:

a) Proyectos públicos

- Proyecto concedido por el Ministerio de Educación y Ciencia (SAF2007-63142).

“Síntesis de Isoquinoleínas Dopaminérgicas”

- Proyecto concedido por el Ministerio de Ciencia y Tecnología (SAF2011-23777).

“Estudio de los mecanismos moleculares y celulares en la disfunción endotelial asociada a enfermedades con inflamación sistémica que podrían inducir desórdenes cardiovasculares”

b) Proyectos financiados por empresas

- Proyecto concedido por Fundación Medina, 2010.
“Aislamiento de acetogeninas”
- Proyecto concedido por Laboratorios Servier, 1997-2012.
“Semisíntesis de estiril-lactonas antitumorales”
- Proyecto concedido por Valentia Biopharma 2011-2013.
“Síntesis de moléculas bioactivas”

c) Becas

- “Beca colaboración” con cargo al proyecto *Semisíntesis de Estiril-Lactonas Antitumorales*, dirigido por el profesor Diego M. Cortes Martínez, y financiado por Laboratorios Servier (2009-2010).
- “Beca investigación” con cargo al proyecto *Semisíntesis de Estiril-Lactonas Antitumorales*, dirigido por el profesor Diego M. Cortes Martínez, y financiado por Laboratorios Servier (2010-2012).

Muchas son las personas a las que he de agradecer el haber podido llegar hasta aquí, en mayor o menor medida me han apoyado hasta que por fin he podido finalizar lo que tanto esfuerzo me ha costado.

En primer lugar a mis directores de Tesis. A Diego Cortes por haberme acogido en el grupo simplemente por la ilusión con la que me vio preguntar aquel día por la espectroscopia de RMN que se hacía en el Departamento... desde el principio me he sentido parte del grupo y siempre me has ayudado a que las cosas salieran bien, siempre trabajando duro y con mucha constancia, a pesar de mi falta de organización. Por supuesto a Nuria Cabedo, porque siempre que he tenido un problema, sea del tipo que sea, has intentado ayudarme y hacerme ver que las cosas tienen más de un punto de vista. En cuanto al laboratorio, siempre tienes una solución para un problema o un montón de bibliografía para intentar otro camino, muchas gracias por todo. A Laura Moreno, directora, compañera y amiga... muchas gracias por ayudarme siempre a resolver las cosas con calma y tranquilidad.

El grupo en el que llegué nada tiene que ver con el que he dejado... Noureddine, Nadia e Inma fueron los primeros y gracias a ellos y trabajando mucho descubrí que es verdad, ¡me encanta la química!. Nadia fue la primera compañera que me acogió, te agradezco mucho el cariño y gracias a eso me sentí como en casa desde el principio. Noureddine me demostró que se pueden hacer 10 cosas a la vez sin que se te rompa nada por el camino pero que es mejor no intentarlo... Gracias por confiar en mí y ayudarme a superar mis miedos al LiAlH_4 y otros reactivos para mí peligrosísimos. Inma a punto de leer la Tesis me demostró que nada sin esfuerzo se consigue y que se pueden llegar a hacer 120 reacciones para conseguir un producto y que cuando sale... ¡se celebra!. Por aquel entonces estaba Nicla aun trabajando en el Laboratorio de "al lado", quien conoce a Nicla sabe que siempre te ayuda con una gran sonrisa de regalo e incluso deja lo que está haciendo para ayudarte, gracias a ti he podido hacer el binding sin romper nada...creo. Gracias también a Dolores Ivorra por ayudarme a realizar todos los cálculos de binding que parecía que nunca iban a salir y a Pilar D'Ocon por salvarme la vida en un incidente con un radioligando...

Después el grupo cambió, unos se fueron y otros vinieron...y ahí nació el grupo de tertulia. Porque estar todo el día con disolventes hace que a las seis de la tarde te de la risa floja y no sepas porque... Elisa, Marta, Isabel, Sonia, Laura, Rosa, María.... ¿pero cómo me he reído tantísimo con vosotras? Conforme recuerdo las cosas que nos han pasado juntas me muero literalmente

de la risa: Laura me salvo la vida en un incendio...; Elisa y yo tuvimos un problema de interpretación del castellano momentáneo y casi matamos a alguien..., estas son las que se pueden contar. Gracias a vosotras, aunque la síntesis no salga por lo menos no te deprimes sino todo lo contrario. Y finalmente vinieron a nuestro grupo Javi y Abraham, “los chicos” dos grandes promesas con muchas ganas de trabajar y también con mucha paciencia, ya que para aguantar a tantas mujeres hace falta una buena dosis.

Gracias MC. Recio, Rosa Giner, Salva Mánñez, JL. Rios, Miguel Payà, etc... todos los que con su cariño me han hecho sentir como en mi casa y me han apoyado para que escribiera esta Tesis, muchas gracias de verdad.

No podría olvidarme del grupo de Secretaria: Mamen, Carlos, Ángel, Irene y Raquel. Muchas gracias a todos porque a pesar de que somos tantos los que pedimos todos los días mil cosas aun tenéis paciencia y nos hacéis caso. Carlos y Ángel, te solucionan cualquier problema técnico bien sea informático, de fontanería, con el Nitrógeno o en un espectro, sin ellos nadie acaba la Tesis os lo aseguro. Mamen, muchas gracias por tener paciencia conmigo ya que sabes que nunca me acuerdo de nada, que soy un desastre con los plazos y mucho más con el papeleo. Y a Raquel por supuesto, porque además de ser una gran persona, todo lo soluciona y además en tiempo record. Gracias a todos, de verdad.

También tengo que agradecer a todas mis compañeras y compañeros del Hospital de la Ribera esta Tesis ya que han sido una parte muy importante. Rosa, Yolanda, Roberto, Llum, Pilu, Marisa, Nuria, Eva, Emi, Lupe, Miriam, Majo, Silvia y muchas más que me dejo seguro. Todos los cambios de turno durante la carrera y durante el doctorado que os he pedido aunque no os vinieran bien hacerlos, sé que lo habéis hecho para ayudarme, muchas gracias. En especial a los médicos Eduardo Rovira y a Fernando Gonzalvo porque ahora me tendréis que llamar Doctora a mí.

A mi familia, porque lleva aguantándome 36 años y no soy de carácter fácil. A mis padres porque me han apoyado en todas mis decisiones y me han animado a que estudie y siempre han pensado que podría acabar lo que me propusiera. A mis hermanos porque siempre han estado y estarán ahí cuando los necesite y porque los quiero. A mis tíos porque han mostrado interés en lo que estaba haciendo y me han escuchado aunque indenopiridina les sonara a una bebida. Y si papa por fin he escrito la Tesis, todo llega...

A Paco, gracias por ayudarme a acabar la Tesis, sin ti no lo habría conseguido. Todos estos años de locura de Laboratorio, Laboratorio-Hospital con lo organizado que eres... has conseguido aguantar a la persona más caótica de este mundo, pero ha sido por una buena causa como puedes ver.

Y a mí Valentina que puedo decir que me ha aguantado todo el tiempo de escritura de la Tesis, aunque sea de una posición muy cómoda por su parte, ya te quiero.

Gracias porque me llevo una muy buena experiencia y mucho cariño por parte de todos.

Abreviaturas Utilizadas

ADHDs	Déficit de atención en casos de hiperactividad
AMPc	Adenosín monofosfato cíclico
Ac₂O	Anhídrido acético
BBr₃	Tribromuro de boro
BE	Energías de biding
BuOH	Butanol
BN	Bischler-Napieralski
COMT	Catecol- <i>O</i> -metil-transferasa
COSY	Correlación homonuclear ¹ H- ¹ H
Cbz	Carbobenciloxi
CH₃CN	Acetonitrilo
CH₂Cl₂	Diclorometano
CH₃Cl	Cloruro de metilo
<i>d</i>	Doblete
<i>dd</i>	Doble doblete
<i>δ</i>	Desplazamiento químico
DAT	Transporte de membrana de dopamina
DEPT	Distorsión por polarización de transferencia
DHIQ	Dihidroisoquinoleinas
DA	Dopamina
DMF	Dimetilformamida
DMEM	Medio de cultivo Eagle modificado de Dubecco
EMIE	Espectro de masas de impacto electrónico
EDTA	Acido etilendiaminotetraacético
FAB-EM	Espectro de masas por bombardeo rápido de átomos
GnRL	Hormonas liberadoras de gonadotropina
HBr	Ácido bromídrico
HHIP	Hexahidroindenopiridina
HMBC	Correlación heteronuclear ¹ H- ¹³ C larga distancia (³ <i>J</i>)
HRMS	Espectro de masas de alta resolución
HSQC	Correlación heteronuclear ¹ H- ¹³ C (¹ <i>J</i>)

5-HT	Serotonina
IQ	Isoquinoleinas
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
K_i	Constante de inhibición
KOH	Hidroxido potásico
L/L	Extracción líquido-líquido
LiAlH₄	Hidruro de aluminio y litio
M^+	Ión molecular
<i>m</i>	multiplete
<i>m/z</i>	Relación masa-carga
MAO	Monoaminoxidasa
MeOH	Metanol
MT	Melatonina
MT₁	Receptor melatoninérgico tipo 1
MT₂	Receptor melatoninérgico tipo 2
MT₃	Receptor melatoninérgico tipo 3
NaBH₄	Sodio borohidruro
NaOH	Hidroxido sódico
POCl₃	Oxícloruro de fósforo
PCl₅	Pentacloruro de fósforo
P₂O₅	Pentaóxido de difósforo
PCl₃	Tricloruro de fósforo
REA	Relación estructura-actividad
RD	Receptores dopaminérgicos
RMN	Resonancia magnética nuclear
RL	Radioligando
<i>s</i>	Singulete
SNC	Sistema nervioso central
SN₂	Sustitución nucleofílica tipo 2
TM	Transmembrana
THF	Tetrahidrofurano
THIQ	Tetrahidroisoquinoleinas
TiCl₄	Tetracloruro de titanio
ZnCl₂	Cloruro de zinc

Índice

Introducción y Objetivos	3
CAPÍTULO I: Síntesis de 1-Bencil-THIQ halogenadas y de 1-Butil-THIQ quirales con afinidad por los RD	
I.1 Antecedentes bibliográficos	9
I.1.1 Síntesis de Isoquinoleinas	10
a) Ciclación de Bischler-Napieralki	10
b) Reacción de <i>O</i> -Demetilación	16
I.1.2 Actividad dopaminérgica	17
a) Dopamina	17
b) Receptores dopaminérgicos	19
c) Relación estructura-actividad	23
I.2 Síntesis y Actividad de nuevas THIQ	26
I.2.1 Química	26
a) Síntesis de nuevas 1-bencil THIQ halogenadas	26
b) Síntesis de 1-butil THIQ quirales	30
I.2.2 Afinidad por los receptores dopaminérgicos y REA. Ensayos de binding	31
I.2.3 Modelización Molecular de BTHIQ halogenadas, 1-alkil ,1-bencil THIQ y 1-fenil THIQ	38
I.3 Parte experimental	45
I.3.1 Aparatos utilizados	45
I.3.2 Síntesis de THIQ halogenadas	46
I.3.3 Receptores dopaminérgicos	59
a) Animales de experimentación	59
b) Radioligandos	59
c) Ensayos de competición	60
CAPÍTULO II: Síntesis de HHIP con afinidad por los receptores de la melatonina	
II.1 Antecedentes bibliográficos	65
II.1.1 Síntesis de HHIP	66
a) TIPO I: a partir de cianoalquil-indanona	66
b) TIPO II: a partir 5-oxo-fenilvaleronitrilos	67
c) TIPO III: a partir de indanonas	68
d) TIPO IV: mediante la reacción de Diels-Alder	69

II.1.2 Actividad Farmacológica de las HHIP	70
a) Actividad antidepresora	70
b) Afinidad por los receptores serotoninérgicos	70
c) Actividad antiespermatogénica	71
d) Posibles ligandos tricíclicos de los receptores NK-1 y RD	72
II.1.3 Afinidad por los receptores de la melatonina	74
a) Melatonina	74
b) Receptores melatoninérgicos	76
c) Relación estructura-actividad	77
II.2 Síntesis y actividad de Hexahidroindenopiridinas	79
II.2.1 Química	79
a) Síntesis de 7-cloro-8-metoxi-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-1 <i>H</i> -indeno[1,2- <i>b</i>] piridina	79
b) Síntesis de 7,8-metilendioxi-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-1 <i>H</i> -indeno[1,2- <i>b</i>] piridina	82
c) Mecanismos de ciclación	83
II.2.2 Afinidad por los receptores de la melatonina. REA	86
II.3 Parte experimental	89
II.3.1 Aparatos utilizados	89
II.3.2. Síntesis de 2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-1 <i>H</i> -indeno[1,2 <i>b</i>] piridinas	90
II.3.3 Receptores Melatoninérgicos	100
a) Línea y cultivo celular	100
b) Radioligandos	100
c) Ensayos de competición	100
Conclusiones	105
Bibliografía	109

Índice de Figuras y Tablas

Figura 1:	Ciclodeshidratación de Bischler-Napieralski	11
Figura 2:	Síntesis de benzoil-DHIQ	12
Figura 3:	Síntesis de IQ cloradas	12
Figura 4:	Reacción inusual de B.N	13
Figura 5:	Síntesis de papaverina	14
Figura 6:	Síntesis de protoberberinas	14
Figura 7:	Síntesis de aporfinas	15
Figura 8:	Reacción de <i>O</i> -demetilación	16
Figura 9:	Terminación dopaminérgica	18
Figura 10:	Ligandos específicos de receptores D ₁	20
Figura 11:	Antagonistas de receptores D ₂	21
Figura 12:	Técnica de fijación a receptores	22
Figura 13:	Afinidad por los RD de enantiómeros 1-bencil-THIQ	23
Figura 14:	1-Bencil y 1-metilciclohexil-THIQ 7,8-dioxigenadas dopaminérgicas	24
Figura 15:	Selectividad D ₁ y D ₂ : series 1-alkil, 1-bencil y 1-fenil-THIQ	25
Figura 16:	Síntesis de 2-(3-cloro-4-metoxifenil)etilamina (C)	26
Figura 17:	Síntesis de 1-bencil-THIQ halogenadas: series 1 y 2	27
Figura 18:	Síntesis de 1-butil-THIQ quirales	31
Figura 19:	Curvas de desplazamiento del binding específico de [³ H]-SCH 23390 y [³ H]-racloprida de los compuestos 1c y 1d	33
Figura 20:	Series 1 y 2: 1-bencil-THIQ halogenadas	35
Figura 21:	Curvas de desplazamiento del binding específico de [³ H]-racloprida de los compuestos (<i>S</i>)- 3f y (<i>S</i>)- 3g	36
Figura 22:	1-Butil-THIQ (<i>S</i>)- 3g y 1-butil-THIQ racémica (4)	36
Figura 23:	THIQ y sus respectivos ángulos de torsión	39
Figura 24:	Vista espacial del modelo de receptor D ₂ de dopamina utilizando el programa Chimera como interfase gráfica	41
Figura 25:	Compuesto 1c y 1a mostrando interacción con Asp86 por puente de hidrógeno	42
Figura 26:	Interacciones de los compuestos 6c (a) , 1c (b) , 2c(c) , 4c (d) , 5c (e) y 4 (f) con el centro activo de los RD D ₂ .	44

Figura 27:	Estructura del indeno (<i>trans</i> -2-amino-3-fenil-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -indeno-5-ol), del análogo indeno-piperidina y de rasagilina	65
Figura 28:	Clasificación de las hexahidroindenopiridinas (HHIP)	66
Figura 29:	Síntesis de HHIP a partir de cianoalquil-indanona	67
Figura 30:	Síntesis de HHIP a partir de 5-oxo-fenilvaleronitrilos	67
Figura 31:	Síntesis de HHIP a partir de indanonas	68
Figura 32:	Síntesis de HHIP mediante la reacción de Diels-Alder	69
Figura 33:	Estructura de onichina	69
Figura 34:	HHIP con afinidad por los receptores 5-HT	71
Figura 35:	HHIP con actividad antiespermatogénica	72
Figura 36:	Síntesis de melatonina	74
Figura 37:	Agonistas de los receptores MT ₁ y MT ₂	78
Figura 38:	Síntesis de HHIP a partir de 1-indanona y piperidina	80
Figura 39:	Síntesis de derivados de 7-cloro, 8-metoxi-HHIP (7b)	81
Figura 40:	Síntesis de los derivados de 7,8-metilendioxi-HHIP (8b)	82
Figura 41:	Mecanismo general de alquilación de enaminas	84
Figura 42:	Mecanismo de ciclación propuesto por Parcell <i>et. al.</i>	85
Figura 43	Melatonina y HHIP de las series 7 y 8	88
Tabla 1:	Valores de K _i , pK _i y selectividad en experimentos de binding específico a receptores dopaminérgicos tipo D ₁ y D ₂ de las series 2'-bromo (1) y 2', 4'-dicloro-1-bencil-THIQ (2)	34
Tabla 2:	Valores de K _i , pK _i en experimentos de binding específico a receptores dopaminérgicos D ₁ y D ₂ de los diferentes enantiómeros ensayados	37
Tabla 3:	Valores de K _i en experimentos de binding específico a receptores melatoninérgicos tipo MT ₁ y MT ₂ de las HHIP de las series 7 y 8 .	87

Introducción y Objetivos

“Síntesis de Isoquinoleinas Dopaminérgicas y de Indenopiridinas

Melatoninérgicas”

La naturaleza siempre ha sido una fuente de inspiración inagotable para la síntesis de nuevos medicamentos. Muchos metabolitos secundarios forman parte del arsenal terapéutico y otros sin utilidad terapéutica son utilizados como producto de partida para sintetizar nuevos fármacos.

En los últimos años nuestro grupo de investigación ha puesto a punto diferentes **cabezas de serie** de naturaleza nitrogenada con el objetivo de estudiar la afinidad por los receptores dopaminérgicos. Dentro de éstos podemos encontrar diversos esqueletos como las bencilisoquinoleínas, protoberberinas y aporfinas, entre otros. Nuestro reto ha consistido en continuar con la búsqueda de análogos estructurales capaces de mejorar la afinidad y selectividad por los receptores dopaminérgicos. En el caso de la isoquinoleínas (IQ), estos estudios se han centrado en mantener el núcleo isoquinoleínico, considerado el grupo farmacóforo, e ir variando los sustituyentes para mejorar dicha afinidad por el receptor.

Por otra parte se inició el estudio de moléculas con afinidad por los receptores de la melatonina, concretamente por los subtipos MT₁ y MT₂. Este receptor presenta afinidad por moléculas con estructuras diversas, por lo que la búsqueda del ligando ideal es una tarea compleja. Se ensayaron por tanto diferentes esqueletos entre los cuales cabe destacar el hexahidroindenopiridínico (HHIP).

En el **Capítulo I** de la presente **Tesis Doctoral** abordamos por tanto la síntesis de IQ con afinidad por los receptores dopaminérgicos (RD): D₁ y D₂. Previamente se había sintetizado en nuestro grupo de investigación IQ cloradas diferentemente sustituidas en posición 1: alquil, fenil y bencil, observándose importantes diferencias en cuanto a la afinidad y a la selectividad por los

receptores D₁ y D₂. La presencia en el núcleo isoquinoleínico de un átomo de Cl en posición 6 y un OH en 7 ha resultado esencial para mejorar la afinidad por los RD D₁ y D₂. Así pues, en nuestro caso mantuvimos estas características en el núcleo IQ y tratamos de estudiar la influencia de la halogenación sobre el anillo bencílico. Se eligieron dos cloruros de ácido, uno con un sustituyente Br y el otro con dos átomos de Cl. De esta forma se obtuvieron cuatro nuevas moléculas con gran afinidad por los RD pero con baja selectividad. Por otra parte gracias a la colaboración con el grupo del Prof. Santos Fustero del Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Farmacia de Valencia, estudiamos la afinidad por los RD de un grupo de 1-butil IQ quirales sintetizadas. El objetivo fue compararlas con las 1-butil IQ racémicas previamente sintetizadas por nuestro grupo de investigación y que habían resultado poseer gran afinidad por los receptores D₂, así como una actividad antidepresiva que fue demostrada mediante ensayos de comportamiento *in vivo*.

El estudio de Modelización Molecular sobre el receptor D₂ llevado a cabo por el equipo del Prof. Daniel Enriz, en la Universidad Nacional de San Luis, Argentina, muestra que los cálculos teóricos están en concordancia con los resultados de afinidad por los RD. Se puede observar una clara interacción entre los ligandos con OH fenólicos y los aminoácidos implicados en la unión al receptor, además de una libertad de movimiento y por tanto una mejor acomodación en el receptor de los restos butilo, bencilo y bencil-halogenados con preferencia al resto fenilo, que resulta considerablemente más rígido.

En el **Capítulo II** se aborda la síntesis de moléculas con esqueleto hexahidroindenopiridínico (HHIP), cuya preparación había sido objeto de un estudio preliminar en nuestro grupo de investigación. Se desarrollan dos series

de compuestos, uno con el núcleo HHIP sustituido por 7-cloro 8-metoxi y el segundo núcleo 7,8-metilendioxi. En ambas series se realizaron diferentes derivados *N*-sustituidos para valorar la afinidad por los receptores de la melatonina, concretamente y como ya hemos mencionado por los subtipos MT₁ y MT₂. Los resultados obtenidos muestran que algunas de las moléculas sintetizadas con esqueleto HHIP presentan afinidad y selectividad por uno de los receptores de la melatonina.

Por lo tanto los **objetivos** que planteamos en la presente **Tesis Doctoral** son los siguientes:

- 1.- Síntesis y relación estructura-actividad (REA) de 1-Bencil-IQ halogenadas con afinidad por los RD. Estudios de Modelización Molecular.
- 2.- Afinidad por los receptores de la dopamina de 1-butilisoquinoleinas quirales.
- 3.- Síntesis de HHIP *N*-sustituidas con afinidad por los receptores de la melatonina.

Capítulo I

“Síntesis de Bencil-tetrahydroisoquinoleinas halogenadas y de 1-Butil-tetrahydroisoquinoleinas quirales con afinidad por los Receptores Dopaminérgicos”

CAPÍTULO I: Síntesis de 1-Bencil-tetrahidroisoquinoleínas halogenadas y de 1-Butil-tetrahidroisoquinoleínas quirales con afinidad por los Receptores Dopaminérgicos.

I.1 Antecedentes bibliográficos

Los alcaloides representan una clase de compuestos naturales y/o sintéticos que han suscitado considerable atención debido a sus importantes y poderosas actividades biológicas, incluida la inhibición de la proliferación celular, propiedades antitumorales, antibióticas y anticonvulsivantes. De diversas especies de plantas se han obtenido un gran número de alcaloides isoquinoleínicos (IQ) que han sido evaluados por su capacidad para unirse a los receptores dopaminérgicos (RD) y de inhibir el transporte de dopamina (DAT) [1].

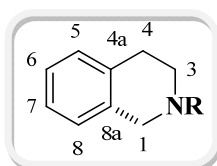
Los alcaloides IQ se encuentran abundantemente distribuidos en el reino vegetal y abarcan una amplia variedad de tipos estructurales. En particular, las 1-bencil-tetrahidroisoquinoleínas (1-bencil-THIQ) merecen dentro de este grupo, una mención especial, puesto que a partir de ellas se biosintetizan multitud de alcaloides isoquinoleínicos.

En los últimos años, nuestro grupo de investigación ha puesto a punto la síntesis de IQ que forman parte de varios **cabezas de serie**, en base a estudios de relación estructura actividad (REA) efectuados previamente con moléculas naturales con afinidad por los RD, como por ejemplo las de tipo bencilisoquinoleínico, aporfínico, protoberberínico, cularínico y bis-bencilisoquinoleínico, aisladas a partir de especies de la familia Anonáceas. Así pues, se ha llevado a cabo en nuestro grupo la síntesis de alcaloides isoquinoleínicos y otros esqueletos relacionados, con afinidad por los RD [2-8].

En la presente **Tesis Doctoral**, abordamos la síntesis de nuevas 1-bencil-THIQ halogenadas y 1-butil-THIQ quirales con afinidad por los RD D₁ y D₂.

I.1.1 Síntesis de Isoquinoleinas

La aproximación más utilizada para la síntesis de IQ consiste en el cierre del anillo entre el átomo de carbono que constituye el C-1 de la IQ y el anillo aromático. Las estrategias de síntesis más utilizadas en la formación de este tipo de enlace son las de Bischler-Napieralski (BN) y Pictet-Splenger [9, 10].



En la presente **Tesis Doctoral**, utilizamos la ciclación de BN para generar el núcleo IQ. Este método fue elegido para preparar las 1-bencil-THIQ halogenadas (series **1** y **2**, **Figura 17**), partiendo del 3-cloro-4-metoxibenzaldehído. Sin embargo las 1-butil-THIQ fueron sintetizadas a través de una ciclación de C₁-N empleando un auxiliar quiral (serie **3**, **Figura 18**).

a) Ciclación de Bischler-Napieralski

Esta reacción consiste en un proceso de ciclodeshidratación considerado como una sustitución electrofílica intramolecular del anillo aromático, inducida por un ataque inicial de un ácido de Lewis como agente deshidratante (POCl₃,

PCl₅, P₂O₅, PCl₃, ZnCl₂ entre los más utilizados), al átomo de oxígeno, en nuestro caso de la *N*-fenil-acetamida y empleando diferentes disolventes (tolueno, CH₃CN o CH₂Cl₂) a reflujo [9-11]. La ciclación y por consiguiente la generación del anillo B de la 1-bencil-dihidroisoquinoleína (1-bencil-DHIQ), va a depender de la naturaleza y número de sustituyentes presentes en el anillo aromático A de la amida de partida (**Figura 1**). Esta amida puede formarse previamente mediante una reacción de *N*-acilación siguiendo las condiciones de Schotten-Baumann [9-12] o bien haciendo reaccionar directamente la β-feniletilamina y el correspondiente ácido carboxílico [13, 14]. La ciclación de BN, tiene lugar preferentemente en posición *para* al grupo electrondonante y cuando esta posición se encuentra ocupada, en *orto* de dicho grupo. Esta estrategia de síntesis es elegida por muchos autores debido al buen rendimiento que se obtiene en la mayoría de los casos y ha sido de gran utilidad para la preparación de iminas precursoras tanto de esqueletos isoquinoleínicos 1-sustituídos, como aporfínas, protoberberinas y cularinas, entre otros.

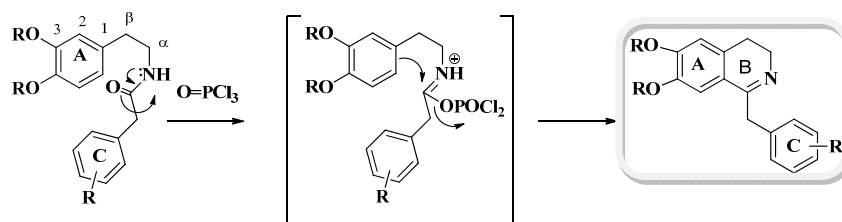


Figura 1. Ciclodeshidratación de Bischler-Napieralski

Clásicamente, esta reacción de BN se lleva a cabo utilizando POCl₃ como ácido de Lewis y tolueno, CH₂Cl₂ o CH₃CN como disolvente a reflujo. En nuestro grupo de investigación, Bermejo *et al.*, prepararon una serie de benzoil-

DHIQ e IQ 1-sustituídas capaces de inhibir la fase G₁ del ciclo celular en la línea celular tumoral leucémica L 1210, mediante esta ciclación utilizando POCl₃ en CH₂Cl₂ (**Figura 2**) [15].

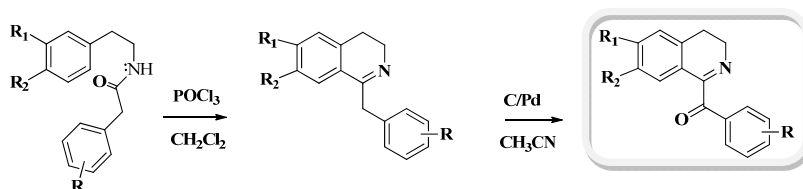


Figura 2. Síntesis de benzoil-DHIQ [15]

Las 1-bencil-THIQ sintetizadas en la presente tesis doctoral, se encuentran sustituidas en el anillo A por un Cl, con objeto de acentuar el carácter ácido del OH fenólico que se encuentra en *orto*. Debido a la dificultad de ciclación de la amida intermedia provista de un halógeno en la estructura (originalmente en la posición C-3 del anillo A), es necesaria una mezcla de POCl₃ y P₂O₅ en tolueno para obtener las correspondientes DHIQ [16-18].

Utilizando estas mismas condiciones, es decir, una mezcla de los agentes deshidratantes POCl₃ y P₂O₅ en xileno, Charifson *et al.* obtuvieron 6-cloro-7-metoxi-IQ 1-sustituídas, similares a las sintetizadas en el presente trabajo [16] (**Figura 3**). Lantos *et al.* [19] sintetizaron bajo este mismo protocolo 1-fenil-3,4-DHIQ. Posteriormente, Nicoletti *et al.* exploraron la reacción asimétrica de BN mediante el uso de POCl₃ y P₂O₅ en tolueno [20].

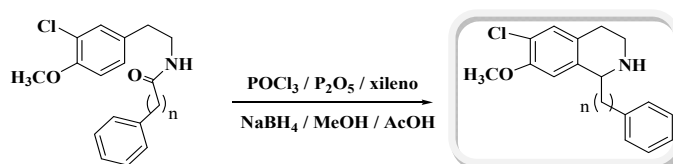


Figura 3. Síntesis de IQ cloradas [16]

Curiosamente, durante la realización de la síntesis de IQ cloradas, en nuestro grupo de investigación se produjo una reacción de ciclodeshidratación de BN inusual, probablemente a causa de la elevada concentración del reactivo P_2O_5 en el medio de reacción. Este mismo hecho fue observado por Doi *et al.* en 1997 [21], y nunca ha sido mencionado por otros autores trabajando en condiciones muy similares [17, 19]. En este caso, se llegó a sintetizar una mezcla de isómeros de 7-cloro-6-metoxi-THIQ y 6-cloro-7-metoxi-THIQ (**Figura 4**) [22].

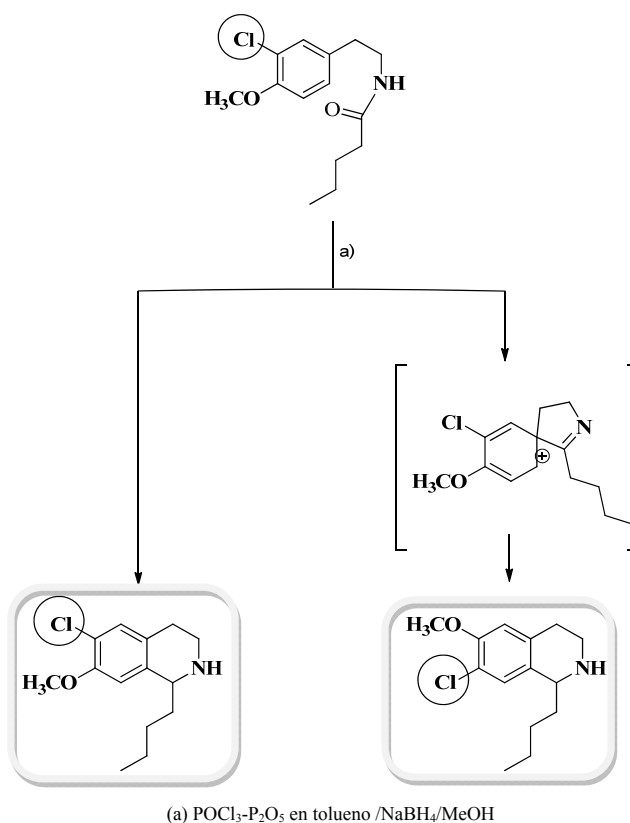
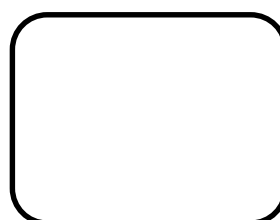
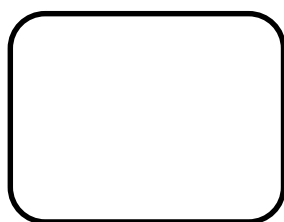


Figura 4. Reacción inusual de BN [22]



Otros autores utilizaron una modificación de esta reacción (Pictet-Gams) para abordar la síntesis directa de bencil-IQ, empleando P_2O_5 y tolueno. De este modo se preparó papaverina, molécula de gran interés terapéutico (Figura 5) [9].

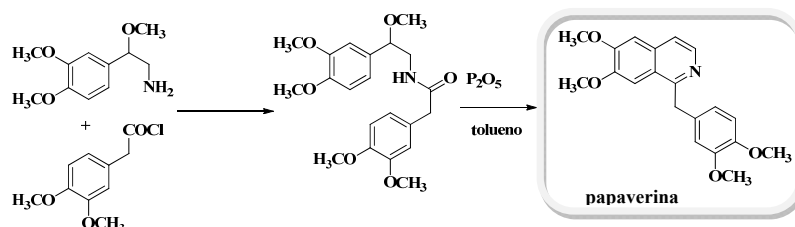


Figura 5. Síntesis de papaverina [9]

Protoberberinas y benzofenantridinas fueron sintetizadas vía ciclación de BN utilizando PCl_5 y CH_3CN , seguidas de una alquilación, obteniéndose la correspondiente dihidroprotoberberina, la cual no había podido obtenerse por oxidación directa de la correspondiente tetrahidroprotoberberina (Figura 6) [23].

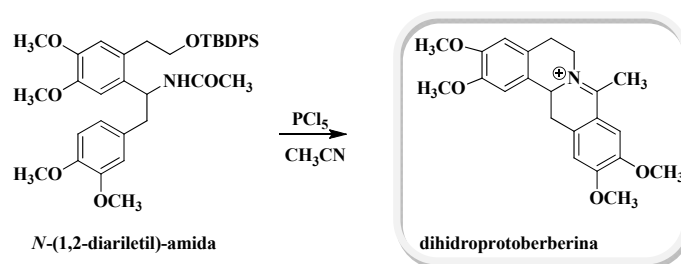


Figura 6. Síntesis de protoberberinas [23]

Shamma *et al.* emplearon en esta estrategia de ciclación, PCl_5 y CHCl_3 para la preparación de la bencil-IQ precursora en la síntesis de la aporfina talfenina, obteniéndose la imina correspondiente con buen rendimiento [24]. También se sintetizaron por el mismo procedimiento aporfinas 7,7-dimetiladas (Figura 7) [12].

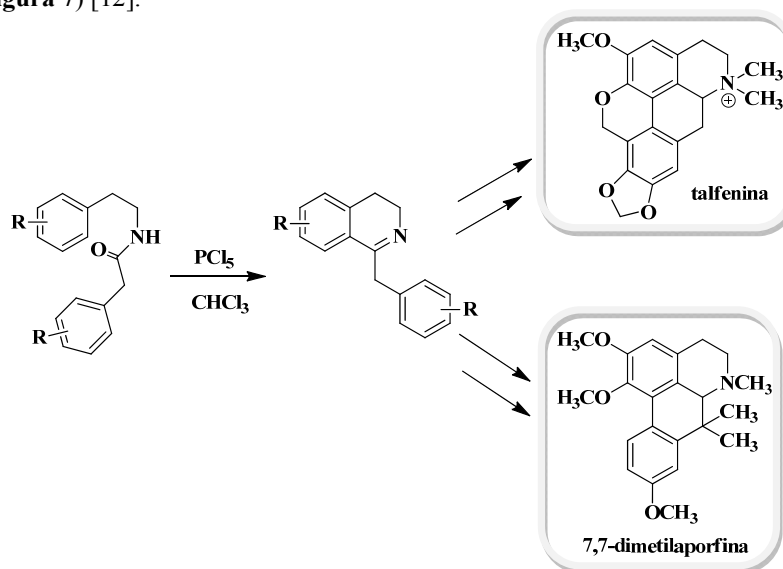


Figura 7. Síntesis de aporfinas [12, 24]

En la actualidad se está desarrollando el uso del microondas con el objetivo de mejorar rendimientos y disminuir tiempos de reacción. Awuah *et al.* emplearon el microondas para la síntesis de THIQ funcionalizadas, utilizando para su obtención la reacción de BN con POCl_3 y tolueno a 140°C durante 30 minutos, de esta manera obtuvieron las THIQ deseadas con buenos rendimientos [25].

b) Reacción de *O*-Demetilación

En el caso de los ligandos dopaminérgicos y en particular los derivados IQ ha sido demostrado según datos bibliográficos, que la presencia de OH libres es fundamental para la unión a los RD [3-8, 22, 26]. Por tanto, la etapa final de la síntesis de alcaloides IQ será la *O*-demetilación de los grupos OMe. Los procedimientos utilizados para la ***O*-demetilación** emplean como agentes más habituales en esta reacción de desprotección, el BBr₃ en diclorometano seco [27-29], como en el caso de la síntesis de la benzacepina SCH 38548, ligando que presenta gran afinidad por los receptores D₁ (**Figura 8**) [27]. También es bastante frecuente el uso de HBr [16], entre otros. Normalmente, las demetilaciones llevadas a cabo con el reactivo BBr₃ obtienen rendimientos más elevados y crudos de reacción más limpios que con el HBr. En nuestro caso, la *O*-demetilación de las IQ dopaminérgicas se efectuó con el reactivo BBr₃.

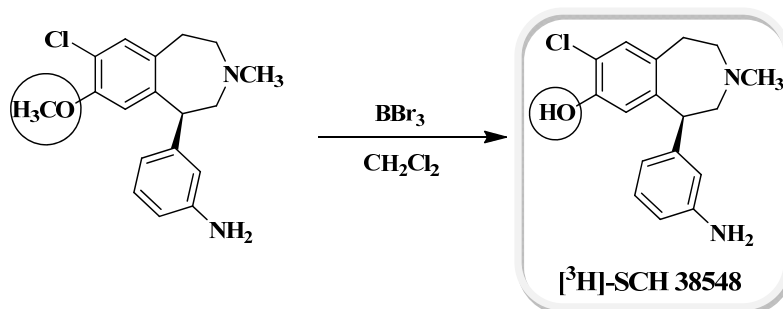


Figura 8. Reacción de *O*-demetilación [27]

I.1.2 Actividad dopaminérgica

a) Dopamina

La dopamina (DA) es una catecolamina natural biosintetizada en las terminaciones neuronales dopaminérgicas a partir del aminoácido esencial *L*-tirosina mediante una cascada de reacciones enzimáticas. Se localiza fundamentalmente en cuerpo estriado y en el sistema límbico, almacenándose en las vesículas sinápticas.

La neurotransmisión mediada por la DA juega un papel importante en diferentes trastornos neurológicos y psiquiátricos que afectan a varios millones de personas en todo el mundo.

La DA se libera a la hendidura sináptica debido a variaciones en los potenciales de acción y en este espacio sináptico, la DA ejerce su función al unirse a los RD post y/o presinápticos. La DA puede además sufrir un proceso de recaptación por la neurona presináptica mediante el DAT o bien degradarse por enzimas monoaminoxidasa (MAO) y catecol-*O*-metil-transferasa (COMT). Así pues, la actividad dopaminérgica se modula a través de los RD postsinápticos, y gran parte de la investigación destinada a tratar los trastornos neurológicos y/o psiquiátricos está orientada al descubrimiento de nuevos ligandos dopaminérgicos como posibles fármacos. Además, la biosíntesis de DA y su liberación de las neuronas pueden ser moduladas por dos mecanismos adicionales que afectan la neurotransmisión dopaminérgica:

* la estimulación de los autorreceptores presinápticos tipo D₂ por los agonistas dopaminérgicos [30-33].

** el mecanismo de recaptación desde el espacio extraneuronal a las neuronas presinápticas por DAT [34, 35].

Además la inactivación metabólica de la DA se produce también por la acción combinada de las enzimas MAO y COMT (**Figura 9**) [36].

Como ya hemos mencionado, la DA es un importante neurotransmisor del sistema nervioso central (SNC) implicada en la regulación de un gran número de actividades fisiológicas incluyendo el control de los movimientos, estados emocionales, funciones cognitivas, secreciones neuroendocrinas y desórdenes de sustancias abusivas.

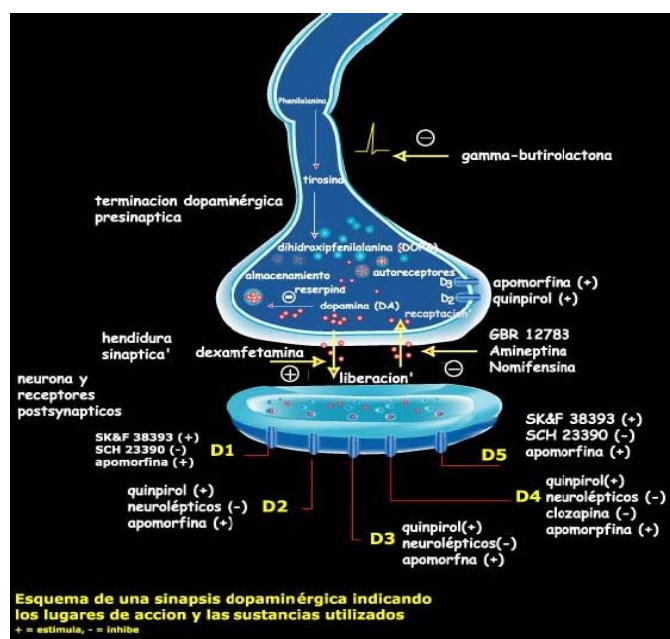


Figura 9. Terminación dopaminérgica

Estas actividades están asociadas principalmente a cuatro vías dopaminérgicas principalmente: vía mesocortical, vía mesolímbica, vía nigroestriada y vía tuberoinfundibular, de manera que una degeneración parcial

de estas vías se manifiesta en el desarrollo de diversos tipos de desórdenes psicóticos y neurológicos, tales como desórdenes del comportamiento, esquizofrenia y la enfermedad de Parkinson y el Alzheimer.

b) Receptores dopaminérgicos

En función de su localización celular y de sus características farmacológicas, se pueden considerar varios aspectos relacionados con los RD. Inicialmente, los RD son receptores de membrana, estructuralmente constituidos por siete dominios transmembrana hidrofóbicos acoplados a una proteína G. Fueron inicialmente clasificados en dos subtipos D₁ y D₂ basados en sus propiedades farmacológicas y en su diferente activación de la adenilciclase [37].

Posteriormente, la aplicación de métodos de clonación usando técnicas de biología molecular, ha permitido reagruparlos en dos subfamilias, **tipo D₁** (D₁ y D₅) y **tipo D₂** (D₂, D₃ y D₄) con secuencias de aminoácidos y propiedades farmacológicas comunes.

La activación de los receptores **tipo D₁**, estimula la adenilciclase a través de la proteína G_s y conduce a un aumento del adenosín monofosfato cíclico (AMPC) intracelular en la neurona postsináptica, mientras que la activación de los receptores **tipo D₂** inhibe la adenilciclase a través de una proteína G_i o G_o, disminuyendo en consecuencia el contenido de AMPC intracelular [37, 38].

Los receptores tipo D₁ presentan un 80% de similitud y propiedades fisiológicas similares, son receptores postsinápticos y se localizan en casi todas las áreas cerebrales con inervación dopaminérgica. Los receptores D₅ se diferencian de los D₁ en que son menos abundantes y están menos distribuidos, se localizan en el córtex frontal, cuerpo estriado, hipocampo e hipotálamo [39].

Estos receptores poseen alta afinidad por ligandos benzacepínicos, SCH 23390 y SKF 83566 (**Figura 10**) y una moderada afinidad por agonistas clásicos de DA (apomorfina) y por agonistas selectivos como SKF 38393.

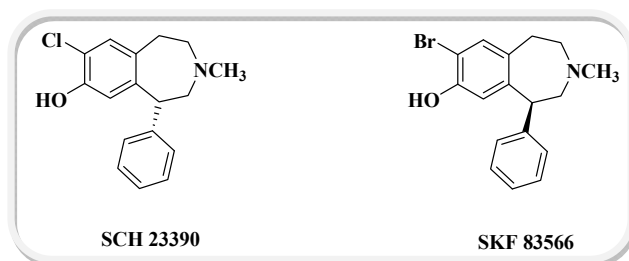


Figura 10. Ligandos específicos de receptores D₁

En cuanto a los receptores tipo D₂, se sabe que D₂ y D₃ muestran un 75% de similitud, mientras que entre los receptores D₂ y D₄ sólo hay un 53% de similitud. Se encuentran mayoritariamente distribuidos en los sistemas nigroestriado y mesolímbico y se localizan tanto a nivel presináptico (autorreceptores, regulan la liberación de DA), como postsináptico. Las butiferas, como haloperidol, y las benzamidas sustituidas, como sulpirida y racloprida (antagonistas D₂) (**Figura 11**), poseen alta afinidad por dichos receptores, al igual que las fenotiazinas y los tioxantenos. Sin embargo, existen algunas diferencias entre las afinidades de estos tres receptores (D₂, D₃ y D₄) con algunos ligandos específicos. La benzamida racloprida, por ejemplo, presenta alta afinidad por los receptores D₂ y D₃ y baja por los receptores D₄. Dado que los receptores D₃ y D₄ se expresan fundamentalmente en las regiones corticales y límbicas, implicadas en el control del conocimiento y de las emociones, son el objetivo de nuevas generaciones de fármacos para muchos de los trastornos neurológicos y psiquiátricos con baja incidencia de efectos colaterales extrapiramidales [38-40].

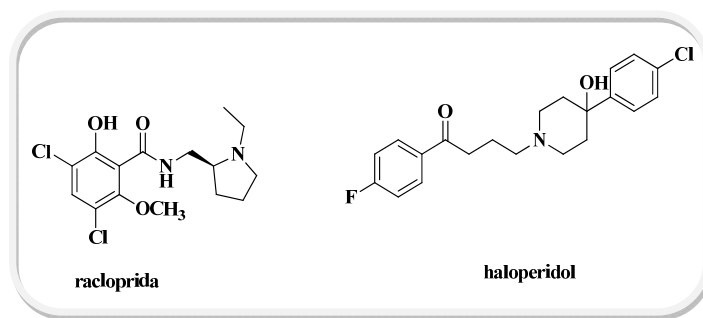


Figura 11. Antagonistas de receptores D₂

Farmacológicamente, los antagonistas dopaminérgicos son agentes importantes para el tratamiento clínico de la esquizofrenia, manía, delirios y la enfermedad de Huntington, mientras que los agonistas dopaminérgicos se utilizan en desórdenes neuroendocrinos y en la enfermedad de Parkinson [34]. Las drogas que actúan sobre los receptores dopaminérgicos D₂ son de especial potencial terapéutico ya que los antagonistas son empleados en el tratamiento de la esquizofrenia (antipsicóticos) y los agonistas son empleados en la enfermedad del Parkinson [41, 42].

Muchos de los inhibidores del transportador de DA que inactivan el proceso de recaptación, actúan como antidepresivos puesto que aumentan la concentración de DA en la hendidura sináptica y por tanto activan la neurotransmisión dopaminérgica. Actualmente, los inhibidores del transportador de DA han sido prescritos para el tratamiento del déficit de atención en los casos de hiperactividad (ADHDs) [43] y han sido propuestos como fármacos potenciales en los tratamientos de abusos de cocaína [44]. Entre ellos destacan compuestos naturales y sintéticos, con esqueletos variados como tropánicos (tipo cocaína), núcleos isoquinoleínicos (tipo nomifensina),

estructuras tricíclicas (tipo amineptina) o estructuras aril-piperacínicas (tipo GBR-12783).

Los estudios de afinidad por los receptores tipo D₁ y D₂ se llevan a cabo mediante ensayos *in vitro* utilizando técnicas de fijación con radioligandos específicos denominadas técnicas de binding (**Figura 12**), en cuerpo estriado de rata. Son experimentos de competición donde se evalúa la capacidad de los compuestos ensayados para desplazar los radioligandos, [³H]-SCH 23390 (ligando selectivo de receptores tipo D₁) y [³H]-racloprida (ligando selectivo de receptores tipo D₂) de sus lugares de unión al receptor [45].

En el caso de la recaptación de DA, los estudios *in vitro* de inhibición se realizan en los sinaptosomas de cuerpo estriado de rata y se utiliza [³H]-dopamina como sustrato de los transportadores dopaminérgicos [46].

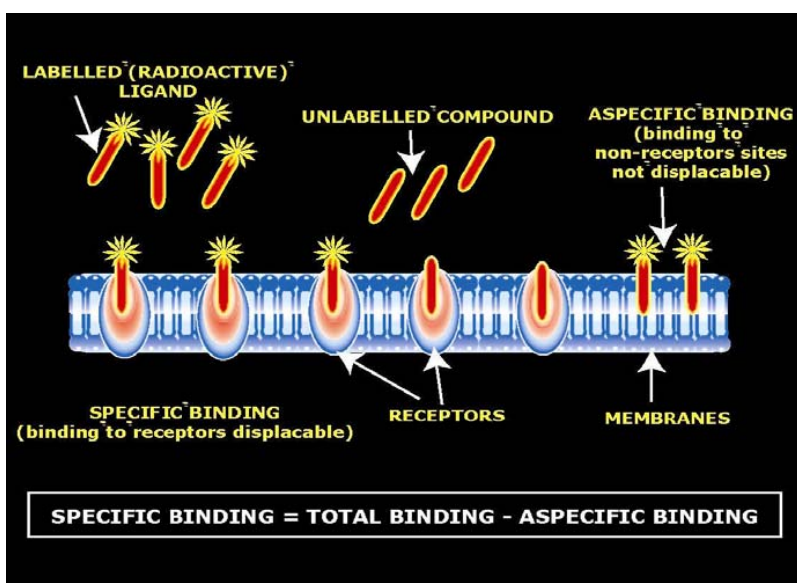
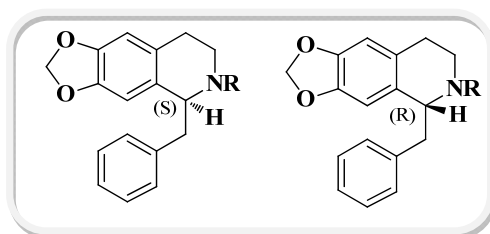


Figura 12. Técnica de fijación a receptores

c) Relación estructura-actividad

Los estudios de REA nos ayudan a encontrar o sugerir los aspectos estructurales más importantes que deben estar presentes en la molécula para mejorar su afinidad por los RD. Sin embargo, los experimentos utilizados para evidenciar el perfil farmacológico de un ligando como agonista, agonista parcial o antagonista, son estudios basados en la actividad intrínseca en los RD midiendo la activación de la DA sensible a la adenilciclase en cuerpo estriado de rata, estudios comportamentales en roedores y/o ensayos de calcio fluorescentes, entre otros.

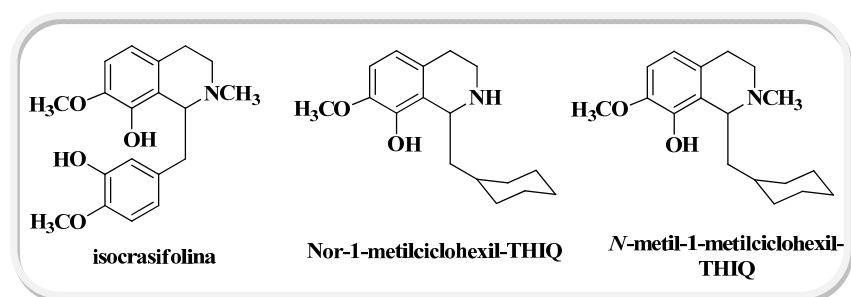
Los alcaloides isoquinoleínicos son una gran familia de productos naturales con una gran variedad de poderosas actividades biológicas [47].



Compuestos	R	D ₁ Ki(μM)	D ₂ Ki(μM)
(S)-nor-1-bencil-THIQ	H	13.8	2.86
(R)-nor-1-bencil-THIQ	H	>100	37.9
(S)-N-Pr-1-bencil-THIQ	Pr	29.9	15.6
(R)-N-Pr-1-bencil-THIQ	Pr	>100	>100

Figura 13. Afinidad por los RD de enantiómeros 1-bencil-THIQ [5]

Los alcaloides **1-bencil-THIQ**, compuestos cuya síntesis y evaluación de su actividad dopaminérgica forma parte de la presente memoria, muestran en general afinidad por ambos tipos de RD, con una selectividad variable. En contraste con los derivados aporfínicos, las NH o *N*-metil-bencil-THIQ muestran mayor afinidad por los RD que sus correspondientes derivados *N*-etil o *N*-propil-bencil-THIQ [5, 48]. También fue evaluada la afinidad por los RD de parejas de enantiómeros bencil-THIQ de síntesis, mostrando que los enantiómeros (*S*) presentan una afinidad de 5 a 10 veces superior por los RD que los enantiómeros (*R*) (Figura 13) [5].



Compuestos	D ₁ Ki(μM)	D ₂ Ki(μM)
Isocrasifolina	3.17	7.11
Nor-1-metilciclohexil-THIQ	39.01	6.57
N-metil-1-metilciclohexil-THIQ	29.9	15.6

Figura 14. 1-Bencil y 1-metilciclohexil-THIQ 7,8-dioxigenadas dopaminérgicas [6, 45]

Por otra parte, algunas 1-ciclohexil-7,8-dioxigenadas-THIQ fueron sintetizadas con el objeto de evaluar la importancia del grupo bencílico en posición 1 de la bencil-THIQ. En vista de los resultados en los ensayos de competición de estos compuestos, podemos concluir diciendo que la presencia de un grupo bencílico o ciclohexilmetil situado en posición 1 de las THIQ, no es un factor diferenciador de la actividad dopaminérgica, sino que mantienen características similares de hidrofobicidad necesarias para la fijación a estos receptores (**Figura 14**) [6, 45].

Posteriormente, series de 1-butil-, 1-fenil- y 1-bencil-THIQ, con un cloro en la posición 6 y un hidroxilo en la posición 7 del anillo A, fueron sintetizados por nuestro grupo de investigación. Los compuestos 1-butil- y 1-bencil-THIQ resultaron tener mayor afinidad por los receptores tipo D₂, mientras que los de la serie 1-fenil-THIQ fueron más eficaces frente a receptores tipo D₁. En ensayos de comportamiento *in vivo* se demostró además que el derivado 1-butil-7-cloro-6-hidroxi-THIQ ejercía una acción antagonista tipo D₂ con actividad antidepresiva (**Figura 15**) [22].

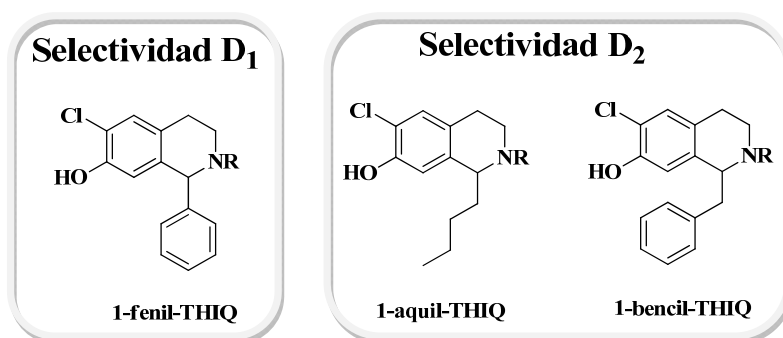


Figura 15. Selectividad D₁ y D₂: series 1-alkil, 1-bencil y 1-fenil-THIQ [22]

I.2 Síntesis y actividad de nuevas Tetrahidroisoquinoleinas

I.2.1 Química

a) Síntesis de nuevas 1-bencil-THIQ halogenadas

Para la obtención de las 1-bencil-THIQ a partir de las amidas apropiadas (**1** y **2**), utilizamos métodos clásicos previamente descritos en nuestro grupo de investigación [3-6]. La 2-(3-cloro-4-metoxifenil)etilamina **C** (**Figura 16**), previamente sintetizada, se trató con 2 cloruros de ácido derivados del ácido fenilacético, cloruro de 2-bromofenilacetilo y cloruro de 2,4-diclorofenilacetilo, bajo condiciones de Schotten-Baumann (**Figura 17**). De esta manera se obtuvieron las dos amidas con buenos rendimientos: la nueva 2-(2'-bromofenil)-*N*-(3-cloro-4-metoxifenil) acetamida **1** (**serie 1**) y la 2-(2',4'-diclorofenil)-*N*-(3-cloro-4-metoxifenil) acetamida **2** (**serie 2**), respectivamente. A continuación y mediante el empleo de la reacción de ciclodeshidratación de BN, seguida de una reducción con NaBH₄ cada acetamida fue transformada en su correspondiente 1-bencil-THIQ. La *N*-metilación de las aminas secundarias tuvo lugar con HCHO y NaBH₄, con buenos rendimientos. Finalmente se llevó a cabo la *O*-demetilación de todas ellas con BBr₃.

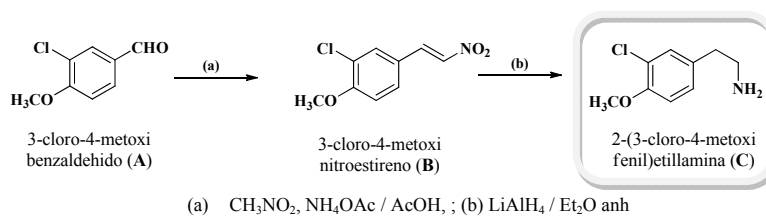
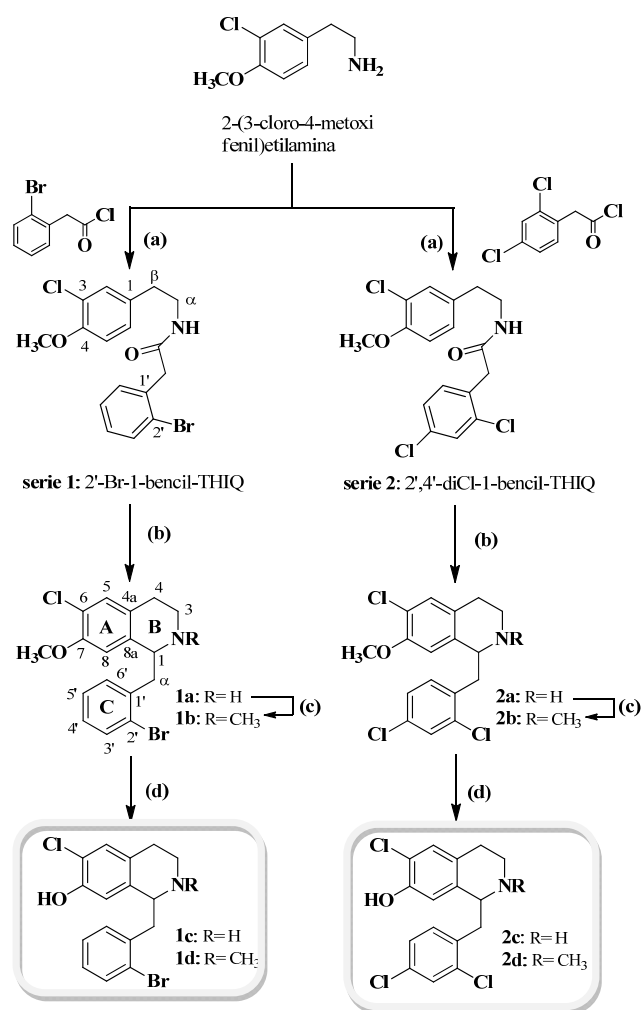


Figura 16. Síntesis de 2-(3-cloro-4-metoxifenil)etilamina (C)



(a) $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{NaOH}$ 5%; (b) $\text{POCl}_3\text{-P}_2\text{O}_5/\text{tolueno}$; $\text{NaBH}_4/\text{MeOH}$; (c) $\text{HCHO}/\text{NaBH}_4$; (d) $\text{BBr}_3/\text{CH}_2\text{Cl}_2$

Figura 17. Síntesis de 1-bencil-THIQ halogenadas: series 1 y 2

- Síntesis de β -feniletilamina: 2-(3-cloro-4-metoxifenil) etilamina

Para obtener este compuesto se realizaron una secuencia de reacciones en dos etapas y se empleó como producto de partida el 3-cloro-4-metoxibenzaldehído (**A**).

Formación del β -nitroestireno (**B**)

La primera etapa consistió en la obtención del intermedio 3-cloro-4-metoxi- β -nitroestireno (**B**). Se lleva a cabo por condensación del producto de partida (**A**) con nitrometano, en ácido acético glacial con acetato de amonio, siguiendo un procedimiento similar al descrito en la síntesis de la bencilisoquinoleína takatonina [49] (**Figura 16**).

Preparación de β -feniletilamina (**C**)

En la segunda etapa se prepara la 2-(3-cloro-4-metoxifenil)etilamina (**C**). Para ello se emplea una suspensión de LiAlH_4 en éter anhidro, sobre la cual se añade gota a gota el intermedio (**B**) disuelto en THF. De esta forma se consigue reducir el grupo nitroestireno a la feniletilamina correspondiente (**Figura 16**).

- Síntesis de β -feniletilamidas: reacción de *N*-acilación

La *N*-acilación se realizó con diferentes cloruros de ácido, los cuales se hicieron reaccionar con la β -feniletilamina antes sintetizada siguiendo el método Schotten-Baumann [7-10], la más utilizada en la actualidad para la obtención de *N*-feniletilamidas. En nuestra síntesis hacemos reaccionar (**C**) con el cloruro de ácido que se desee disuelto en CH_2Cl_2 añadiendo al medio de reacción NaOH al

5% para alcalinizarlo y neutralizar el HCl liberado. El cloruro de ácido se adiciona gota a gota y a 0 °C debido a que se trata de una reacción nucleofílica muy exotérmica. De esta forma se obtuvieron las acetamidas **1** y **2** (**Figura 17**).

- Síntesis de las THIQ: reacción de ciclación de Bischler-Napieralski

Para la ciclación de la THIQ resultante hemos empleado el método de BN para la ciclo-deshidratación de las *N*-feniletilamidas y así conseguir el cierre del anillo B.

Las 1-bencil-THIQ sintetizadas en la presente tesis doctoral presentan un halógeno (cloro) sobre el anillo A de la THIQ. Debido a la dificultad de la ciclación de la amida intermedia provista de un cloro en su estructura (originalmente en posición C-3 del anillo A de la amida), fue necesaria la mezcla de dos agentes deshidratantes POCl₃ y P₂O₅, en presencia de un disolvente anhidro e inerte (tolueno), a reflujo para obtener las correspondientes 3,4-dihidroisoquinoleínas [16-18].

La reducción del intermedio 3,4-dihidroisoquinoleína mediante NaBH₄ es el procedimiento habitual y el más frecuentemente encontrado en la literatura [50]. Para la obtención de las THIQ presentes en este trabajo, se trataron las iminas con MeOH y NaBH₄ como agente reductor. Así se obtienen las IQ **1a** y **2a** (**Figura 17**).

- Reacción de *N*- metilación

Las aminas terciarias fueron obtenidas como (*N*Me) THIQ, para ello se parte de las aminas secundarias (*N*H) (**1a** y **2a**) disueltas en MeOH, adicionamos formaldehído y unas gotas de ácido fórmico y mantuvimos la

mezcla de reacción a reflujo durante una hora, a continuación añadimos NaBH_4 y calentamos a reflujo durante otros 45 minutos. Al finalizar este tiempo, tratamos la mezcla de reacción y obtuvimos las aminas terciarias (NMe) THIQ (**1b** y **2b**) con buenos rendimientos (**Figura 17**).

- Reacción de O-demetilación

La O-demetilación de las IQ sintetizadas fue llevada a cabo con 4 equivalentes del reactivo BBr_3 . Los compuestos demetilados finales se indican en la **Figura 17: 1c, 1d, 2c y 2d**.

b) Síntesis de 1-butil-THIQ quirales

La serie **3** fue sintetizada por el grupo del Profesor Santos Fustero del Departamento de Química Orgánica de la Universidad de Valencia. Partiendo del aldehído comercialmente disponible 2-bromo-5-metoxibenzaldehído y empleando métodos clásicos se obtuvo la amina deseada que se protegió con el grupo carbobenciloxi (Cbz). La posterior reacción de Stille sobre el bromoderivado seguida de metátesis cruzada con acroleína y reacción aza-Michael intramolecular en presencia del catalizador de Jørgensen III y ácido benzoico como co-catalizador condujo al aldehído derivado de THIQ. En función de la estereoquímica del catalizador empleado (ambos comercialmente disponibles), se pudo obtener la THIQ quiral (*S*) o (*R*) con buen rendimiento y excelente enantioselectividad. Una vez obtenidos los dos enantiómeros del aldehído, se hicieron reaccionar por separado con bromuro de etiltrifenilfosfonio y, tras hidrogenación catalítica y demetoxilación con BBr_3 se obtuvieron los dos enantiómeros de 1-butil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-6-ol, **serie 3 (Figura 18)**.

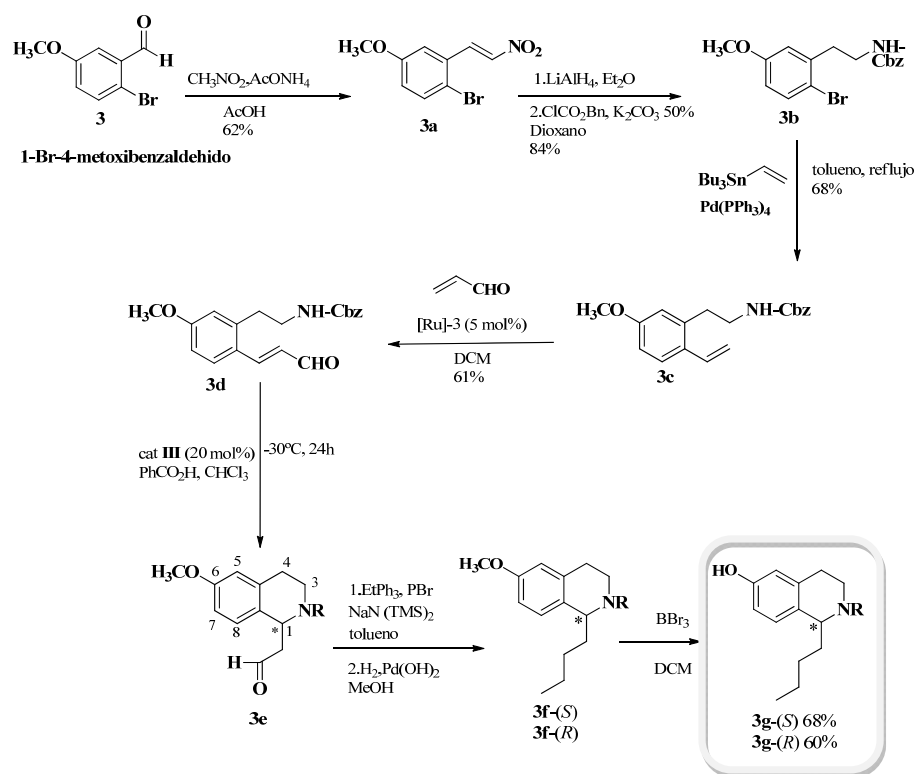


Figura 18. Síntesis de 1-butil THIQ quirales

I.2.2 Afinidad por los receptores dopaminérgicos y REA. Ensayos de binding

En trabajos previos [5, 15, 51, 52] se determinó la importancia de la configuración absoluta del centro 1, así como la existencia de ciertos requerimientos estructurales para así mejorar la afinidad por los RD de las familias tipo D₁ y D₂, postulándose que la sustitución en el anillo A por un

hidroxilo y un halógeno nos conduciría a la preparación de moléculas que se fijarían selectivamente a uno de los grupos de RD antes mencionados [51, 52]. Por este motivo la mayoría de las IQ descritas en el presente capítulo, poseen en la estructura un grupo hidroxilo y un halógeno como sustituciones en el anillo A de la molécula.

- Series **1** y **2**: 2'-bromo y 2',4'-dicloro-1-bencil-THIQ

Todos los compuestos sintetizados se ensayaron *in vitro* para ver su capacidad de desplazar a los ligandos selectivos de tipo D₁ y D₂ de sus respectivos sitios de unión en membranas de estriado de rata. Muchos de estos compuestos son capaces de desplazar tanto [³H]-SCH 23390 como [³H]-racloprida de sus sitios de unión en el cuerpo estriado de rata a concentraciones micromolares (μM) o nanomolares (nM). Las afinidades de unión a los RD D₁ y D₂ se resumen en la **Tabla 1**, y estos resultados han puesto de manifiesto algunas tendencias generales de la relación estructura-actividad.

En general, todas las 1-bencil-6-cloro-7-metoxi-THIQ probadas (**1a**, **1b** y **2a**, **2b**) mostraron una menor afinidad por D₁ y D₂ que sus correspondientes 7-hidroxi homólogos (**1c**, **1d** y **2c**, **2d**) (alrededor de 70 veces). La afinidad mayor corresponde a los compuestos con grupo fenol libre OH, descrito anteriormente en varias IQ [16, 26, 51]. Las THIQ 1-sustituídas sintetizadas con presencia de un hidroxilo en la posición del carbono C-7, y su capacidad de desplazar a los ligandos selectivos de los receptores D₁ y D₂ de la DA de sus sitios de unión en membranas de estriado de rata fue de influencia positiva, mientras que la sustitución por un metoxilo en la posición del carbono C-7 no favoreció la afinidad dopaminérgica.

Ambas series de compuestos 2'-bromobencil-THIQ (serie **1**) y 2',4'-diclorobencil-THIQ (serie **2**) mostraron alta afinidad por los RD. Sin embargo,

poseen poca selectividad frente a las familias de receptores tipo D₁ y D₂. No obstante, la ausencia de selectividad que muestran estos compuestos no les impide comportarse como moléculas de elevada afinidad por los RD y de hecho, algunas de ellas mostraron valores de K_i (D₂) en el rango nanomolar (**1d**: 18 nM).

Hemos observado que los compuestos de la serie 2'-bromobencil-THIQ mostraron una afinidad que fue 10 veces más elevada que la de sus correspondientes homólogos 2',4'-diclorobencil-THIQ. Es probable que el mayor tamaño y número atómico del átomo de bromo pueda justificar una afinidad por los receptores tipo D₁ y D₂ más importante que en el caso de los derivados clorados (**Tabla 1** y **Figura 19**).

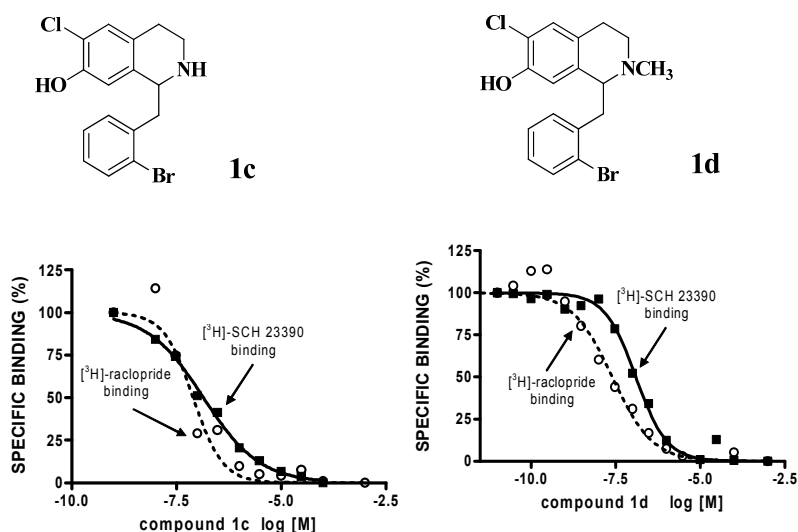


Figura 19. Curvas de desplazamiento del binding específico de [³H]-SCH 23390 y [³H]-racloprida de los compuestos **1c** y **1d**

Tabla 1. Valores de K_i , pK_i y selectividad en experimentos de binding específico a receptores dopaminérgicos tipo D_1 y D_2 de las series 2'-bromo (**1**) y 2', 4'-dicloro-1-bencil-THIQ (**2**)

Comp.	Ligando específico- D_1		Ligando específico- D_2		D_1/D_2
	$[^3H]$ -SCH 23390		$[^3H]$ -raclopride		
	K_i (μ M)	pK_i	K_i (μ M)	pK_i	
1a	1.528 \pm 0.304	5.83 \pm 0.08	0.245 \pm 0.050	6.63 \pm 0.09 ^c	6.2
1b	1.319 \pm 0.145	5.89 \pm 0.05	1.336 \pm 0.296	5.90 \pm 0.09 ^f	1.0
1c	0.110 \pm 0.042	7.06 \pm 0.18 ⁱ	0.046 \pm 0.012	7.39 \pm 0.14 ⁱ	2.4
1d	0.065 \pm 0.011	7.21 \pm 0.07 ⁱ	0.018 \pm 0.004	7.76 \pm 0.08 ^{b,d,i}	3.6
2a	11.323 \pm 4.164	5.01 \pm 0.17	3.301 \pm 0.797	5.51 \pm 0.11 ^a	3.4
2b	15.113 \pm 2.860	4.84 \pm 0.08	6.132 \pm 1.381	5.23 \pm 0.10	2.5
2c	0.183 \pm 0.014	6.74 \pm 0.03 ⁱ	0.107 \pm 0.027	7.00 \pm 0.11 ⁱ	1.7
2d	0.241 \pm 0.054	6.71 \pm 0.14 ⁱ	0.269 \pm 0.097	6.64 \pm 0.19 ⁱ	0.9

Los resultados están expresados como la media \pm SEM de 3-6 experimentos.

ANOVA, post Newmann Keuls test de comparación múltiple:

^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$ vs tipo D_1 receptor dopaminérgico.

^d $p < 0.05$, ^e $p < 0.01$, ^f $p < 0.001$ vs correspondencia con -NH derivados (comp. **b** vs **a**, y **d** vs **c**).

^g $p < 0.05$, ^h $p < 0.01$, ⁱ $p < 0.001$ vs correspondencia con -OCH₃ derivados (comp. **c** vs **a**, y **d** vs **b**).

En conclusión, ambas series de THIQ 1-sustituidas poseen afinidades por los RD de rango nanomolar aunque muestran una baja selectividad. Cabe destacar que la serie **1** posee una mayor afinidad por los RD que la serie **2** (10 veces superior), **Figura 20**.

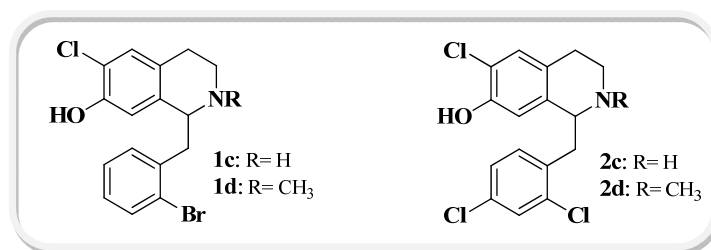


Figura 20. Series 1 y 2: 1-bencil THIQ halogenadas

- Serie 3: 1-Butil THIQ quirales

Se ensayaron los compuestos sintetizados en el Departamento de Química Orgánica *in vitro*, para ver su capacidad de desplazar a los ligandos selectivos de D₁ y D₂ de sus respectivos sitios de unión en membranas de estriado de rata. Algunos de estos compuestos son capaces de desplazar tanto [³H]-SCH 23390 como [³H]-racloprida de sus sitios de unión a concentraciones micromolares (μM) o nanomolares (nM). Las afinidades de unión al RD tipo D₁ y D₂ se resumen en la Tabla 2, y estos resultados confirman algunas tendencias generales de la relación estructura-actividad.

En los ensayos realizados no se observó unión del enantiómero *S* al RD tipo D₁, ni en la forma metoxilada, ni en la hidroxilada. Sin embargo, mostraron unión al receptor D₂ en rangos de concentración μM, presentando la IQ demetilada (*S*)-**3g** una afinidad 8 veces superior a la de la IQ metoxilada (*S*)-**3f**, como se muestra en la gráfica (Figura 21).

El enantiómero *R* presentó afinidad por los RD tanto D₁ como tipo D₂. Aunque el enantiómero (*S*)-**3g** (eutómero) presentó una afinidad por los receptores D₂, 28 veces superior a la del enantiómero (*R*)-**3g** (distómero), además de una mayor selectividad por los receptores D₂. Se ensayó el

compuesto racémico **3**, mostrando una afinidad por los receptores tipo D₂ menor que la del eutómero, pero mayor que la del distómero.

No obstante, la IQ hidroxil-clorada racémica (**4**), previamente sintetizada en nuestro grupo [22], muestra una afinidad por los receptores tipo D₂ 9 veces superior que la del enantiómero (*S*)-**3g**.

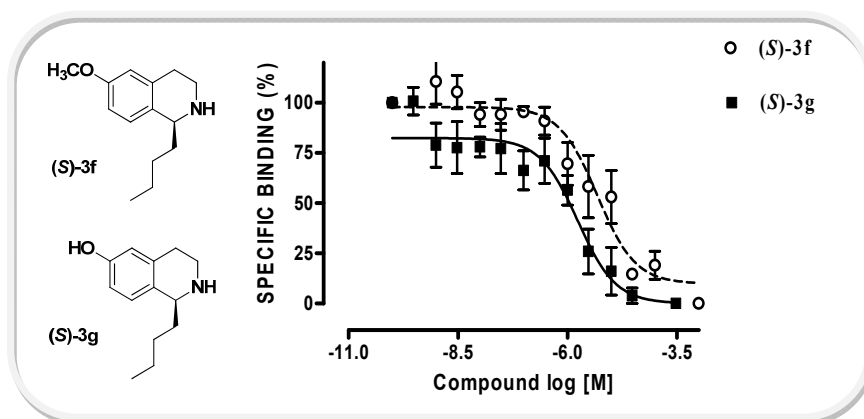


Figura 21. Curvas de desplazamiento del binding específico de [³H]-racloprida de los compuestos (*S*)-**3f** y (*S*)-**3g**.

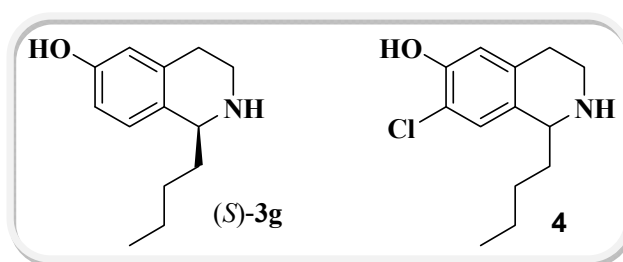


Figura 22. 1-Butil THIQ (*S*)-**3g** y 1-butil THIQ racémica (**4**) [22]

Tabla 2. Valores de K_i , pK_i en experimentos de binding específico a receptores dopaminérgicos D_1 y D_2 de los diferentes enantiómeros ensayados.

Comp.	Ligando específico D_1 [3H]-SCH 23390		Ligando específico D_2 [3H]-raclopride	
	K_i (μM)	pK_i	$K_i(\mu M)$	pK_i
(<i>S</i>)- 3f	> 100	-	4.51 ± 0.852	5.49 ± 0.29^a
(<i>S</i>)- 3g	> 100	-	0.57 ± 0.083	$6.54 \pm 0.37^{b,c}$
(<i>R</i>)- 3f	34.14	4.48 ± 0.122	5.42 ± 0.912	$5.26 \pm 0.25^{a,d}$
(<i>R</i>)- 3g	> 100	-	2.33 ± 0.695	5.63 ± 0.26^a
4	3.247 ± 0.256	5.49 ± 0.04	0.066 ± 0.017	7.20 ± 0.14

Los resultados están expresados como la media \pm SEM de 3-6 experimentos.
ANOVA, post Newmann Keuls test de comparación múltiple:

^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$ vs tipo D_1 receptor dopaminérgico.

^d $p < 0.05$, ^e $p < 0.01$, ^f $p < 0.001$ vs correspondencia con -NH derivados (comp. **b** vs **a**, y **d** vs **c**).

^g $p < 0.05$, ^h $p < 0.01$, ⁱ $p < 0.001$ vs correspondencia con -OCH₃ derivados (comp. **e** vs **a**, y **d** vs **b**).

En conclusión, ambos enantiómeros poseen afinidad por los RD D_2 siendo el enantiómero (*S*)-6-hidroxi-1-butyl-THIQ, (*S*)-**3g**, el de mayor afinidad, y también el de mayor selectividad por los RD D_2 , en comparación con el enantiómero (*R*). Sin embargo, la 7-cloro-6-hidroxi-1-butyl THIQ racémica (**4**), presenta una afinidad por los RD D_2 de rango nM [22] (**Tabla 2**).

I.2.3 Modelización Molecular de BTHIQ halogenadas, 1-alkil,1-bencil y 1-fenil-THIQ

Se realizó un estudio de modelización molecular de 16 THIQ dopaminérgicas sobre los receptores D₂. El objetivo fue interpretar mejor los resultados obtenidos *in vitro* con cada uno de los compuestos detallados en este capítulo. Además también se realizó la modelización molecular de otras THIQ ya sintetizadas por nuestro grupo de investigación como es el caso de las butil, fenil y bencil Isoquinoleínas [22].

Este estudio se realizó en dos etapas, en una primera etapa se llevaron a cabo simulaciones de dinámica molecular con el objetivo de obtener una visión de la relación de los compuestos ensayados con el lugar de unión de los RD D₂. En una segunda etapa se realizaron cálculos mecánico-cuánticos combinando SEMIEMPIRICAL (AM1) con *ab initio* [RHF/6-31G(d)] y DFT [b3LYP/6-31G(d,p)] con el objetivo de calcular las energías de binding teóricas para cada uno de los compuestos (**Figura 23**). Para ello se emplearon sistemas de modelos reducidos, como el mostrado en la **Figura 24**.

Las simulaciones de dinámica molecular mostraron datos en concordancia con resultados previos experimentales [53] y teóricos [54]. Estos resultados revelan la importancia del Asp86 para la unión de los ligandos al RD. La interacción más importante para la formación del complejo ligando-receptor sería de tipo puente salino entre el grupo carboxilo terminal del Asp86 situado en la hélice 3 (TM3) y el grupo amino protonado que poseen algunos ligandos. Todos los compuestos fueron anclados al receptor (Asp86) con su grupo amino protonado. Datos farmacológicos [52, 55] indican que el grupo OH del anillo A del ligando dopaminérgico es fundamental para la estabilización de los complejos por uniones por puentes de hidrógeno con diferentes residuos de

serina. La Ser141 y Ser144 localizadas en TM5 tienen fuertes interacciones con el ligando durante todo el proceso de simulación, lo cual corrobora la importancia de estos residuos que forman uniones por puente de hidrógeno con el ligando. También se observaron interacciones más débiles con Ser122 y Ser118 (TM4) (Figura 24).

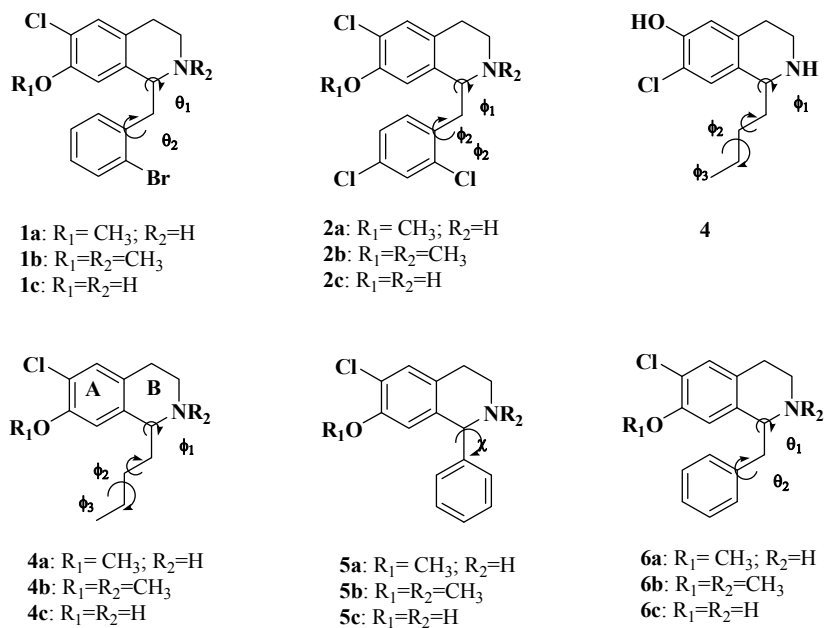


Figura 23. THIQ y sus respectivos ángulos de torsión.

Cabe señalar que para los compuestos con OH en el anillo A y con NH (**1c**, **2c**, **4**, **4c**, **5c** y **6c**) el grupo hidroxilo del anillo A actúa como dador de protones por lo que la Ser141 actuaría como aceptor de protones, en estos casos se observaron interacciones fuertes. Por otra parte, para los compuestos con OCH₃ en el anillo A y con la amina tanto NH como NCH₃ (**1a**, **1b**, **2a**, **2b**, **4a**, **4b**, **5a**, **5b**, **6a** y **6b**), la Ser141 actúa como dador de protones y el grupo OCH₃ como aceptor, mostrando interacciones más débiles.

La mayor parte del bolsillo hidrofóbico para los ligandos en el receptor está formado por Phe82, Val83 y Val87 en TM3; Phe145 en TM5 y Trp182, Phe185, Phe186 e His189 en TM6. Las únicas diferencias estructurales entre los compuestos ensayados son el sustituyente situado en el C1. El sustituyente fenil del compuesto **5c** ensayado es bastante rígido, mientras que en el resto de compuestos presentan mayor libertad de movimiento para rotar (compuestos con C1 sustituidos por un grupo butil, bencil y bencil halogenados) (**Figura 24**).

En esta primera etapa del estudio se pudieron observar los ángulos de torsión de los ligandos. En los compuestos de la serie butil, bencil y bencil halogenados los ángulos de torsión tenían gran flexibilidad, por ejemplo en el compuesto **6c** el ángulo de torsión θ_1 es bastante fijo (250° aproximadamente) pero θ_2 puede variar desde 20° hasta 300°, por lo tanto el compuesto adoptaría la conformación más efectiva para la unión. En cambio los compuestos con fenilo como sustituyente en C1 el ángulo de torsión es muy rígido lo que dificulta su movilidad para adoptar una conformación más efectiva.

Por otra parte y para completar el estudio de modelización molecular se realizaron los cálculos mecánico cuánticos con AM1, ab initio RHF/6-31G(d) y optimizaciones DFT[B3LYP/6-31G(d,p)]. En la **Figura 25** podemos ver la interacción del ligando **1c** con RD D₂ optimizando datos y realizando cálculos

mecánico cuánticos. En ella se observa la fuerza del enlace entre Asp86 y el grupo amino protonado del ligando obteniendo un enlace de 3.47Å, además podemos observar el enlace por puentes de hidrógeno bifurcado entre el oxígeno del hidroxilo del ligando y el oxígeno del carbonilo de la Ser141 que se comportan como proton-aceptores dando enlaces de 2.28Å y 2.40Å.

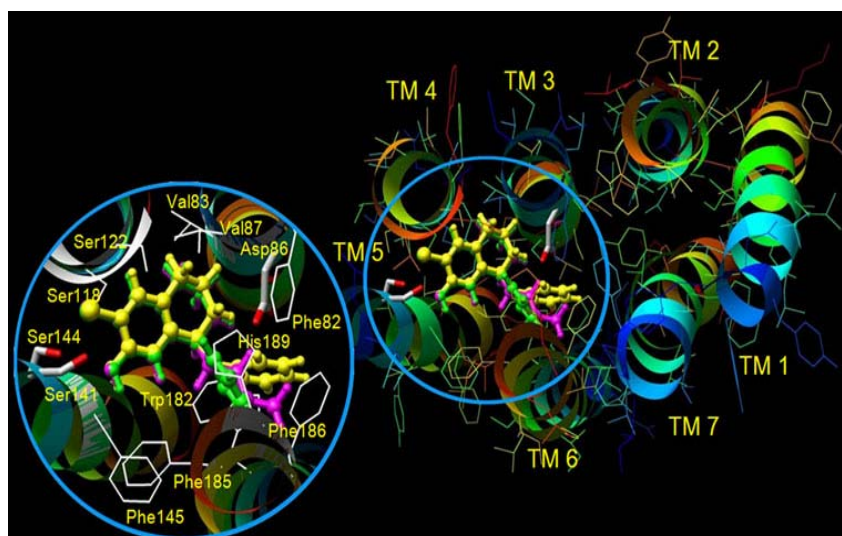


Figura 24. Vista espacial del modelo de receptor D₂ de DA utilizando el programa Chimera como interfase gráfica.

Los compuestos **4c** (rosa), **5c** (amarillo) y **6c** (verde) se utilizaron para simulaciones de dinámica molecular. El sitio de unión, que se optimizó mediante cálculos mecánico-cuánticos, se muestra en el círculo. El número de aminoácidos incluidos corresponden a los de la referencia [56].

En cambio la **Figura 25** también encontramos el ligando **1a**, donde el grupo metoxilo del ligando sería el proton-aceptor mientras que la Ser141 sería donador de protones en este caso, esto se traduce en un aumento de la distancia de enlace a 2.32Å.

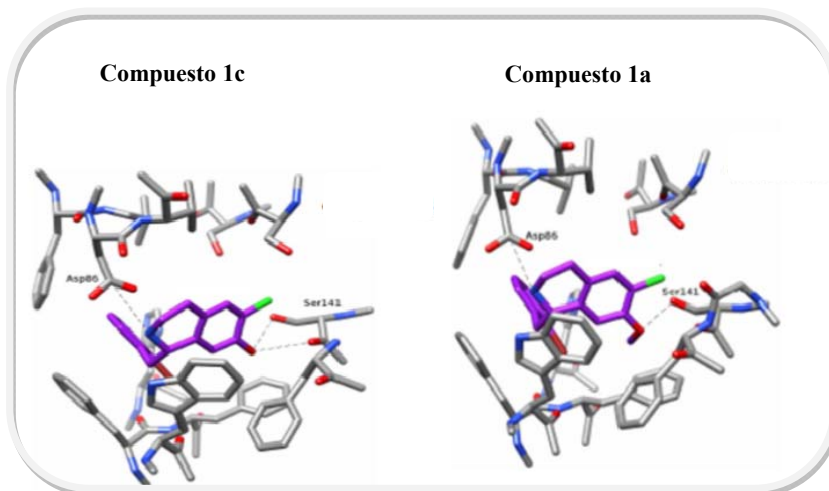


Figura 25. Compuesto **1c** y **1a** mostrando interacción con Asp86 por puente de hidrogeno.

Compuesto **1c** muestra puente de hidrogeno con Ser141, el grupo hidroxilo actúa como donador de protones. Compuesto **1a** muestra interacción más débil, el metoxilo actúa como aceptor de protones

En la **Figura 26** podemos observar el comportamiento de algunos ligandos con los D₂ DR, pero en este caso la visión de la figura muestra las interacciones hidrofóbicas. En primer lugar el ligando **6c** (con bencilo en C1) adopta una conformación adecuada para poder interaccionar con Phe186, Phe82 e His189. De forma muy similar ocurre con los ligandos **1c** y **2c**, con un sustituyente bencil-halogeno en C1, en ellos el halógeno aumenta la polarizabilidad del grupo bencilo por lo que aumenta la fuerza de interacción

hidrofóbica. El ligando **4c**, con sustituyente butilo en C1, se comporta de forma muy similar y realizando las mismas interacciones hidrofóbicas con los mismos residuos. En cambio, el ligando **5c**, con fenilo como sustituyente C1, muestra un ordenamiento espacial diferente por lo que la única interacción hidrofóbica que se permite es con Phe186. El compuesto **4**, con sustituyente butilo procedente de la reacción inusual de BN, adopta un ordenamiento que le permite la interacción con 3 residuos, Trp182, Phe82 y Phe186.

Por último mencionar los compuestos **5a-c** con residuo fenil en posición C1, este sustituyente se ordena de forma perpendicular al resto del ligando por lo que el anclaje en el centro activo de los DR D₂ es débil. Podemos asegurar que la forma y flexibilidad de la cadena lateral afecta al subtipo de receptor, la selectividad del ligando depende de la geometría, flexibilidad y tipo de sustituyentes del ligando. Lan *et al.* [57] describieron que el ligando SCH23390 selectivo de los DR D₁ poseía un grupo fenilo perpendicular al resto de la molécula y al plano de la membrana y paralelo a los ejes de la hélice, esto está en concordancia con los resultados obtenidos para los ligandos **5a-c** que se disponen de la misma forma en el receptor.

Se calcularon las energías de binding (BE) para los diferentes complejos receptor-ligando de todos los compuestos usando cálculos RHF/6-31(d) y DFT[BLYP/6-31G(d,p)]. Todos los compuestos con grupo metoxilo en el anillo A de la IQ muestran BE superiores respecto a sus homólogos demetilados. Los resultados obtenidos estuvieron en concordancia con los pK_i obtenidos en los ensayos *in vitro* ya realizados previamente [22]. Se obtuvo una correlación de $r^2=0.9134$ en los cálculos realizados con RHF y de $r^2=0.9460$ para los realizados con DFT. Las aproximaciones por lo tanto son fiables por lo que permiten la predicción de BE para futuras moléculas sin necesidad de su

síntesis, esto serviría por tanto de cribaje a la hora de la búsqueda de cabezas de serie.

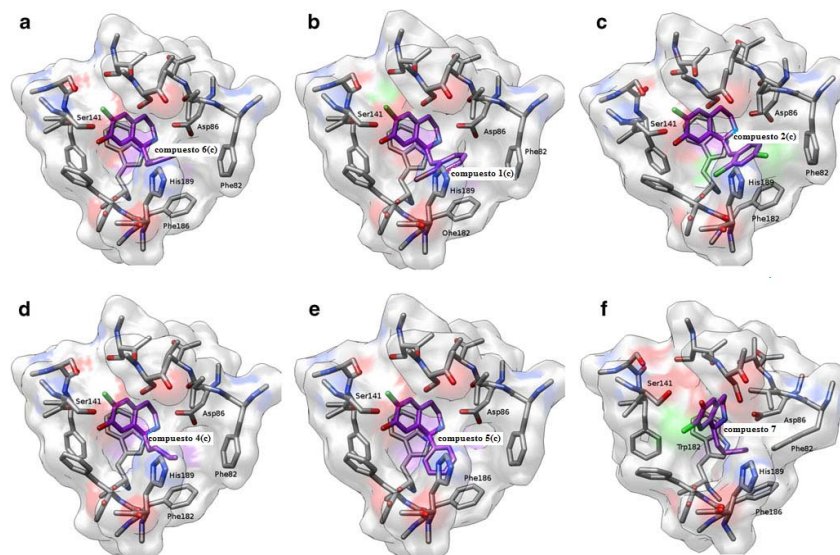


Figura 26. Interacciones de los compuestos **6c** (a), **1c** (b), **2c** (c), **4c** (d), **5c** (e) y **4** (f) con el centro activo de los RD D₂. Vista espacial de las interacciones hidrofóbicas.

I.3 Parte experimental

I.3.1 Aparatos utilizados

Los espectros de masa se registraron en un espectrómetro tipo VG analítica, Fisons (Manchester, Reino Unido) mediante técnicas de impacto electrónico (EMIE) y bombardeo con átomos rápidos (FAB-EM).

Los espectros de RMN de ^1H y RMN de ^{13}C se realizaron en espectrómetros Bruker AC-300, AC-400 o AC-500, usando como referencia la señal del disolvente (CDCl_3 a δ_{H} 7.26 ; δ_{C} 77.0). Las multiplicidades de la resonancia de ^{13}C RMN se asignaron mediante los experimentos DEPT.

Las asignaciones de ^1H y RMN de ^{13}C se llevaron a cabo mediante técnicas mono y bidimensionales (COSY 45, HMQC, HSQC y HMBC) y por comparación con datos bibliográficos. Los desplazamientos químicos (δ) se expresan en ppm y las constantes de acoplamiento (J) en Hz.

Todas las reacciones fueron supervisadas por cromatografía en capa fina, empleando como soporte silicagel 60 F $_{254}$ (Merck 5554).

Los residuos fueron aislados y purificados por cromatografía en columna, empleando como soporte silicagel 60 H (5-40 μm Merck 7736).

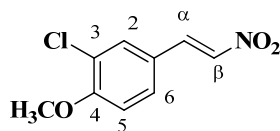
Los disolventes y reactivos utilizados y adquiridos de fuentes comerciales.

Los rendimientos citados fueron de material purificado.

Los compuestos en forma de clorhidrato se prepararon a partir de la correspondiente base con MeOH-HCl 5%.

I.3.2 Síntesis de las THIQ halogenadas

- Preparación de 3-cloro-4-metoxi- β -nitroestireno, B



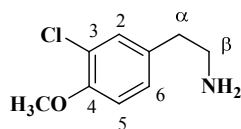
A una solución de 3-cloro-4-metoxi-benzaldehído **A** (1.0 g, 5.87 mmol) y acetato de amonio NH_4OAc (1.2 g, 15.57 mmol) en ácido acético (15 ml) se añade nitrometano (1 ml, 18.41 mmol) se mantiene a reflujo y en agitación durante 4 h. La mezcla se deja enfriar, se adiciona agua (10 ml) y se extrae con CH_2Cl_2 (3 x 10 ml). La fase orgánica se lava con NaCl saturado (2 x 10 ml) y agua (2 x 10 ml), se deshidrata con Na_2SO_4 anhidro y se concentra en rotavapor, adicionándose EtOH y obteniéndose cristales amarillos en forma de aguja **3-cloro-4-metoxi- β -nitroestireno, B** (1.1 g, 88%) que se utilizó en la etapa siguiente.

$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.91 (d, $J = 13.74$ Hz, 1H, H- β), 7.59 (d, $J = 2.16$ Hz, 1H, H-2), 7.52 (d, $J = 13.74$ Hz, 1H, H- α), 7.44 (dd, $J = 8.58, 2.16$ Hz, 1H, H-6), 6.97 (d, $J = 8.58$ Hz, 1H, H-5), 3.90 (s, 3H, OCH_3 -4);

$^{13}\text{C RMN}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 158.4 (C-4), 138.4 (CH- β), 136.4 (CH- α), 130.9 (CH-2), 130.1 (CH-6), 124.2 (C-1), 123.7 (C-3), 112.7 (CH-5), 56.8 (OCH_3);

EM (IE) m/z (%): 213 (55) $[\text{M}]^+$, 185 (100).

• Preparación de 2-(3-Cloro-4-metoxi-fenil)etilamina, C



Una disolución de 3-cloro-4-metoxi- β -nitroestireno **B** (1.0 g, 4.7 mmol) en THF anhidro (14 mL) se adiciona gota a gota a una suspensión bien agitada de LiAlH_4 (0.7 g, 18.5 mmol) en éter anhidro (20 mL) bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla se mantiene a reflujo durante 2 h. Transcurrido este tiempo, se deja enfriar y el exceso de LiAlH_4 fue destruido por la adición gota a gota de agua (1 ml) y NaOH 15% (1 ml), formándose un precipitado de sales de aluminio que se filtra y se lava repetidas veces con CH_2Cl_2 . Después el filtrado se concentra, se redissuelve en CH_2Cl_2 , se lava con agua (2x10 ml) y NaCl saturado (2x10 ml).

A continuación se efectúan purificaciones L/L variando el pH y la fase orgánica resultante se deshidrata con Na_2SO_4 anhidro, se filtra y concentra a sequedad en rotavapor, hasta obtener un residuo oleoso puro de **2-(3-cloro-4-metoxifenil)etilamina, C** (630 mg, 72%).

$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.3 (d, $J= 2.24$ Hz, 1H, H-2), 7.2 (dd, $J= 8.46$, 2.24 Hz, 1H, H-6), 6.8 (d, $J= 8.46$ Hz, 1H, H-5), 3.9 (s, 3H, OCH_3 -4), 3.1 (m, 2H, H- α), 2.8 (m, 2H, H- β);

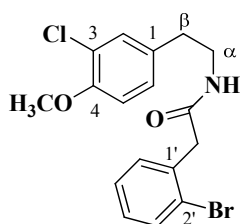
$^{13}\text{C RMN}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 153.8 (C-4), 133.3 (C-1), 130.8 (CH-2), 128.4 (CH-6), 122.6 (C-3), 112.5 (CH-5), 56.5 (OCH_3), 43.8 (CH_2 - α), 39.1 (CH_2 - β);

EM (IE) m/z (%): 185 (45) $[\text{M}]^+$.

- Síntesis de las acetamidas **1** y **2**

Las fenilacetamidas **1** y **2** se prepararon bajo condiciones Schotten-Baumann por condensación de 2-(3-cloro-4-metoxifenil)etilamina con el correspondiente cloruro de ácido.

Síntesis 2-(2'-bromofenil)-N-(3-cloro-4-metoxifenil)acetamida, **1**



Se disuelven el ácido 2-bromofenilacético (1 g, 4.65 mmol) y el cloruro de tionilo (0.4 ml, 5.58 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro, dejándolos a reflujo durante 3 h. A continuación, se elimina el disolvente en rotavapor para obtener el cloruro de 2-bromofenilacetilo como un aceite de color amarillo pálido, que se utiliza en el paso siguiente sin purificación.

Una solución de 2-(3-cloro-4-metoxifenil)etilamina **C** (500 mg, 2.69 mmol) en CH₂Cl₂ (20 ml), se trata con NaOH 5% (4.5 mL) y se adiciona cloruro de 2-bromofenilacetilo (0.6 ml, 4.03 mmol) gota a gota, sobre un baño de hielo a 0°C. Se deja en agitación a temperatura ambiente durante 3 h. A continuación se realiza una extracción L/L, la fase orgánica se lava con HCl 2.5%, NaCl saturado (2 x 10 mL) y finalmente con agua (2 x 10 mL), por último se deshidrata sobre Na₂SO₄ anhidro y evapora a sequedad. El residuo se purifica

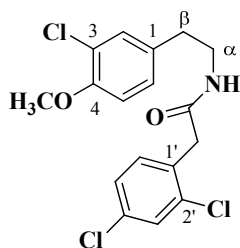
mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/EtOAc, 50:50) para obtener 753 mg de amida **1** (1.97 mmol, 73%).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7.58 (dd, *J*= 7.84, 1.11 Hz, 1H, H-3'), 7.27 (m, 2H, H-5', H-4'), 7.16 (m, 1H, H-6'), 7.08 (d, *J*=2.14 Hz, 1H, H-2), 6.94-6.91 (dd, *J*= 8.36, 2.16 Hz, 1H, H-6), 6.78 (d, *J*= 8.35 Hz, 1H, H-5), 3.94 (s, 3H, OCH₃-4), 3.72 (s, 2H, CH₂CO), 3.37 (dd, *J*= 12.40, 6.82 Hz, 2H, H-α), 2.83 (t, *J*= 6.96 Hz, 2H, H-β);

¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ 169.6 (CO), 153.6 (C-4), 134.5 (C-1'), 133.8 (C-1), 133.1 (CH-3'), 131.5 (CH-2), 130.4 (CH-4'), 129.2 (CH-6'), 128.1 (CH-5'), 127.6 (CH-6), 124.9 (C-2'), 122.3 (C-3), 112.3 (CH-5), 56.2 (OCH₃), 43.9 (CH₂-α), 40.7 (CH₂), 34.9 (CH₂-β).

FAB-EM *m/z* (%) 381 (85) [M]⁺, 368 (65), 168 (100); **HREIMS** *m/z* 381.0139 (C₁₇H₁₇BrClNO₂, calc 381.0131).

Síntesis 2-(2',4'-diclorofenil)-N-(3-cloro-4-metoxifenil)acetamida, **2**



Este compuesto se prepara según el procedimiento empleado para **1**, partiendo de 500 mg (2.69 mmol) de la amina **C** y cloruro de 2,4-diclorofenilacetilo (0.6 ml, 4.03 mmol). Se obtuvieron 682 mg de la amida **2** (1.83 mmol, 68%).

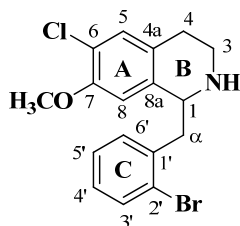
$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.41 (d, $J= 1.11$ Hz, 1H, H-3'), 7.22 (m, 2H, H-5', H-6'), 7.10 (d, $J= 2.16$ Hz, 1H, H-2), 6.90 -6.93 (dd, $J= 8.42, 2.16$ Hz, 1H, H-6), 6.80 (d, $J= 8.42$ Hz, 1H, H-5), 3.88 (s, 3H, OCH_3 -4), 3.60 (s, 2H, CH_2CO), 3.43 (dd, $J= 12.2, 6.75$ Hz, 2H, H- α), 2.70 (t, $J= 6.76$ Hz, 2H, H- β);

$^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 169.3 (CO), 154.0 (C-4), 135.3 (C-2'), 134.4 (C-4), 132.8 (C-1), 131.8 (C-1'), 132.0 (CH-3'), 130.8 (CH-2), 129.9 (CH-6'), 128.3 (CH-6), 128.1 (CH-5'), 122.7 (C-3), 112.5 (CH-5), 56.6 (OCH_3), 41.2 (CH_2 - α), 41.0 (CH_2), 34.7 (CH_2 - β);

FAB-EM m/z (%) 372 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 168 (40); **HREIMS** m/z 372.0312 ($\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{NO}_2$, calc. 372.0325).

- Obtención de 1-bencil-THIQ **1a** y **2a**

Síntesis de 1-(2'-Bromobencil)-6-cloro-7-metoxi-1,2,3,4-THIQ, **1a**



Mediante el uso de un matraz de 250 ml de fondo redondo con tres bocas se introduce la amida **1** (500 mg, 1.31 mmol) en tolueno seco (20 mL) bajo atmósfera de N_2 , tratándose con P_2O_5 (3.7 g, 13.1 mmol) y añadido en pequeñas porciones seguido de la adición gota a gota de POCl_3 (1.2 mL, 13.1 mmol). La mezcla se agita y se mantiene a reflujo bajo atmósfera de N_2 durante

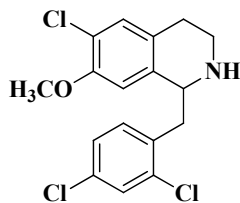
6-8 h, y luego se deja enfriar. El tolueno se evapora a presión reducida y la mezcla de reacción se vierte lentamente sobre hielo troceado. El residuo sólido se tritura con NaOH 10% para conseguir una suspensión (pH \approx 8-9) y a continuación se extrae con CH₂Cl₂ (3 x 15 mL). Se combinan las diferentes fases de CH₂Cl₂ extraídas y se secan con Na₂SO₄ anhidro y el disolvente se evapora en rotavapor obteniéndose un aceite de color rojizo. El residuo se disuelve en MeOH (20 mL), y luego se enfría a -78°C y se trata con NaBH₄ (76 mg, 2 mmol). La mezcla de reacción se agita durante 2 h. Se adiciona agua (15 mL) para destruir el exceso de NaBH₄ y se evapora a presión reducida. La fase orgánica se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 15 mL), y la combinación de fases orgánicas se seca sobre Na₂SO₄ anhidro y evapora a sequedad. El producto crudo se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice (CH₂Cl₂/MeOH/NH₃, 100:2:0.5) para proporcionar 164 mg de **1a** (0.45 mmol, 34%) como un aceite amarillo.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7.60 (dd, 1H, J = 8.0, 0.9 Hz, H-3'), 7.30-7.24 (m, 2H, H-6', H-4'), 7.16-7.13 (m, 1H, H-5'), 7.11 (s, 1H, H-5), 6.73 (s, 1H, H-8), 4.28 (dd, 1H, J = 9.7, 4.1 Hz, H-1), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 3.33 (dd, 1H, J = 13.6, 4.1 Hz, H- α), 3.25-3.19 (m, 1H, H-3a), 3.04-2.76 (m, 2H, H- α b, H-3b), 2.74-2.71 (m, 2H, H-4);

¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ 152.7 (C-7), 138.4 (C-1'), 138.0 (C-8a, C-4a), 133.0 (CH-3'), 131.9 (CH-4'), 130.4 (CH-5), 128.3 (CH-6'), 127.4 (CH-5'), 124.8 (C-2'), 120.2 (C-6), 110.2 (CH-8), 56.0 (OCH₃), 55.0 (CH-1), 43.0 (CH₂- α), 39.6 (CH₂-3), 28.7 (CH₂-4);

FAB-EM m/z (%) 366 [M+H]⁺ (60), 196 (100); HRFABMS m/z 366.0238 [M+H]⁺ (C₁₇H₁₈NOCIBr, calc. 366.0260).

Síntesis de 1-(2', 4'-Diclorobencil)-6-cloro-7-metoxi- 1,2,3,4-THIQ, **2a**



Este compuesto se prepara según el procedimiento empleado para **1a**, utilizando la correspondiente amida **2** (500 mg, 1.34 mmol), P_2O_5 (3.8 g, 13.4 mmol) y $POCl_3$ (1.3 mL, 13.4 mmol). El residuo se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice ($CH_2Cl_2/MeOH/NH_3$, 100:2:0.5) para obtener 193 mg de **2a** (0.51 mmol, 38%) como un aceite amarillo.

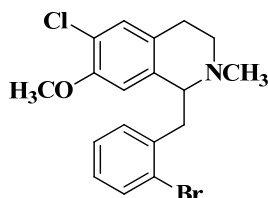
1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.43 (d, 1H, $J= 1.7$ Hz, H-3'), 7.21-7.20 (m, 2H, H-5', H-6'), 7.12 (s, 1H, H-5), 6.66 (s, 1H, H-8), 4.24 (dd, 1H, $J= 9.8, 4.1$ Hz, H-1), 3.83 (s, 3H, OCH_3), 3.29 (dd, 1H, $J=13.7, 4.1$ Hz, H- $\alpha\alpha$), 3.25-3.19 (m, 1H, H-3a), 3.00-2.94 (m, 2H, H-3b, H- $\alpha\beta$), 2.74-2.71 (m, 2H, H-4), 1.73 (s, 1H, NH).

^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 152.9 (C-7), 137.8 (C-1'), 135.41 (C-8a), 134.9 (C-4a), 133.1 (C-2'), 132.6 (CH-6'), 130.6 (CH-5), 129.5 (CH-3'), 128.2 (C-4'), 127.1 (CH-5'), 120.6 (C-6), 110.2 (CH-8), 56.1 (OCH_3), 55.0 (CH-1), 40.1 (CH_2 -3), 39.7 (CH_2 - α), 28.7 (CH_2 -4);

FAB-EM m/z (%) 356 $[M+H]^+$ (96), 196 (100); **HRFABMS** m/z 356.0321 $[M+H]^+$ ($C_{17}H_{17}NOCl_3$, calc. 356.0375).

- Procedimiento de N-metilación: síntesis de **1b** y **2b**

Síntesis 1-(2'-bromobencil)-6-cloro-7-metoxi-N-metil-1,2,3,4-THIQ, **1b**



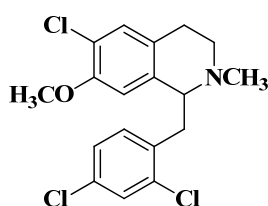
A una solución en agitación de **1a** (500 mg, 1.37 mmol) en MeOH (20 mL) se adicionan 15 mL de formaldehído (37%) y una gota de ácido fórmico. La mezcla se deja a reflujo durante 1 h. A continuación enfria hasta temperatura ambiente, se trata con NaBH₄ (520 mg, 13.7 mmol), y se deja a reflujo durante 1 h. La mezcla de reacción se enfría hasta temperatura ambiente y se añade 1 mL de agua. Se elimina el disolvente a presión reducida, se añaden (3 mL) de agua a los residuos y la mezcla acuosa se extrae con CH₂Cl₂ (3 x 15 mL). La combinación de fases orgánicas se seca sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentra a presión reducida para dar un crudo que se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice (CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH, 100:1:0.3) para obtener **1b** (437 mg, 1.23 mmol, 90%).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7.56 (dd, 1H, *J*= 7.81, 1.21 Hz, H-3'), 7.17 (dd, 1H, *J*= 7.44, 1.41 Hz, H-6'), 7.09 (s, 1H, H-5), 7.07 (dd, 1H, *J*= 7.63 Hz, 1.78 Hz, H-4'), 6.97 (dd, 1H, *J*= 7.44 Hz, 1.80 Hz, H-5'), 5.91 (s, 1H, H-8), 3.92 (m, 1H, H-1), 3.49 (s, 3H, OCH₃), 3.35-3.30 (m, 2H, H-αa, H-3a), 2.93-2.80 (m, 3H, H-4a, H-3b, H-αb), 2.64-2.59 (m, 2H, H-4b), 2.54 (s, 3H, NCH₃);

^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ 151.8 (C-7), 138.8 (C-1'), 136.2 (C-8a, C-4a), 133.7 (CH-3', CH-6'), 130.0 (CH-5), 127.9 (CH-4'), 127.1 (CH-5'), 125.1 (C-2'), 120.1 (C-6), 111.8 (CH-8), 62.3 (CH-1), 55.6 (OCH_3), 42.5 (CH_2 -3), 42.4 (CH_3N), 40.5 (CH_2 - α), 24.4 (CH_2 -4);

FAB-EM m/z (%) 380 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (36), 210 (100); HRFABMS m/z 380.0318 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{NOClBr}$, calc. 380.0417).

Síntesis de 1-(2', 4'-diclorobencil)-6-cloro-7-metoxi-N-metil-1,2,3,4-THIQ, 2b



Se prepara según el procedimiento empleado para **1b**, obteniendo **2b** (469 mg, 1.27 mmol, 90%).

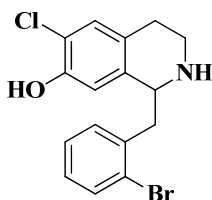
^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7.38 (d, 1H, $J=2.13$ Hz, H-3'), 7.13 (dd, 1H, $J=8.24, 2.15$ Hz, H-5'), 7.09 (s, 1H, H-5), 6.04 (s, 1H, H-8), 3.91-3.82 (m, 1H, H-1), 3.59 (s, 3H, OCH_3), 3.27-3.20 (m, 2H, H- α , H-3a), 2.91-2.77 (m, 3H, H- α , H-3b, H-4a), 2.61-2.56 (m, 1H, H-4b), 2.49 (s, 3H, NCH_3);

^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ 152.2 (C-7), 136.2 (C-1'), 135.9 (C-8a), 135.0 (C-4a), 133.2 (CH-6'), 132.6 (C-2'), 130.1 (CH-5), 129.1 (CH-3'), 127.1 (C-4'), 126.7 (CH-5'), 120.4 (C-6), 111.6 (CH-8), 62.5 (CH-1), 55.7 (OCH_3), 45.7 (CH_2 -3), 42.4 (CH_3N), 37.7 (CH_2 - α), 24.2 (CH_2 -4);

FAB-EM m/z (%) 370 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (79), 210 (100); HRFABMS m/z 370.0520 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NOCl}_3$, calc. 370.0532).

- Procedimiento general para la O-demetilación: síntesis de **1c**, **1d**, **2c** y **2d**

Síntesis de 1-(2'-bromobencil)-6-cloro-7-hidroxi-1,2,3,4-THIQ, **1c**



Una solución de la isoquinoleína **1a** (260 mg, 0.71 mmol) en CH₂Cl₂ seco (10 mL) se enfría a -78°C. A esta solución en agitación se le añade gota a gota BBr₃ (0.28 mL, 2.8 mmol). Después de 15 minutos, la mezcla de reacción se lleva a temperatura ambiente y se agita durante 3 h. La reacción se dio por finalizada mediante la adición de MeOH (5 mL) gota a gota y la mezcla se agita durante otros 30 minutos. El disolvente se concentra a sequedad. El residuo resultante se disuelve en AcOEt (2 mL) y se alcaliniza con NH₄OH 37% hasta pH ≈ 11, y posteriormente se neutralizada con HCl 1M hasta pH ≈ 7-8. La fase acuosa se extrae con la EtOAc (3 x 10 mL). La combinación de fases de EtOAc se seca sobre Na₂SO₄ anhidro y evapora a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice (CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH, 100:6:0.5) y se obtienen 185 mg de **1c** (0.53 mmol, 75%).

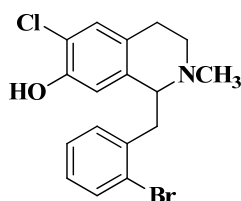
¹ H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7.56 (dd, 1H, *J*= 7.81, 1.21 Hz, H-3'), 7.27 (s, 1H, H-5), 7.22-7.19 (m, 1H, H-5'), 7.16 (dd, 1H, *J*= 7.44, 1.41 Hz, H-6'), 7.04-6.99 (m, 1H, H-4'), 6.91 (s, 1H, H-8), 4.29 (dd, 1H, *J*= 9.69, 4.10 Hz, H-1), 3.25-3.19 (m, 1H, H-3a), 3.05 (dd, 1H, *J*= 13.56, 4.10 Hz, H-α), 3.04-2.76 (m, 2H, H-αb, H-3b), 2.79-2.75 (m, 2H, H-4);

^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ 150.4 (C-7), 139.3 (C-1'), 136.2 (C-8a), 132.5 (CH-3'), 131.1 (CH-6'), 130.7 (C-4a), 130.4 (CH-5), 128.1 (CH-3'), 127.6 (CH-5'), 124.4 (C-2'), 117.2 (C-6), 114.1 (CH-8), 57.6 (CH-1), 42.1 (CH_2 -3), 39.4 (CH_2 - α), 27.9 (CH_2 -4);

FAB-EM m/z (%) 370 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (79) 210 (100); **HRFABMS** m/z 370.0520 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NOCl}_3$, calc. 370.0532)

Síntesis de 1-(2'-bromobencil)-6-cloro-7-hidroxi-N-metil-1,2,3,4-THIQ

1d



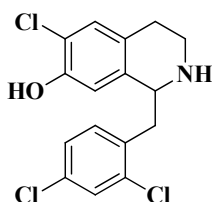
Se prepara según el procedimiento empleado para la síntesis del compuesto **1c**, partiendo de **1b** se obtuvo 190 mg de **1d** (0.56 mmol, 77%).

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 7.60 (dd, 1H, $J=7.99, 0.85$ Hz, H-3'), 7.30-7.24 (m, 2H, H-6', H-4'), 7.16-7.13 (m, 1H, H-5'), 7.27 (s, 1H, H-5), 6.92 (s, 1H, H-8), 4.30-4.02 (m, 1H, H-1), 3.35-3.30 (m, 2H, H- α a, H-3a), 2.93-2.80 (m, 3H, H-4a, H-3b, H- α b), 2.64-2.59 (m, 2H, H-4b), 2.53 (s, 3H, NCH_3);

^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ 150.3 (C-7), 139.6 (C-1'), 135.3 (C-8a), 132.6 (C-3'), 131.4 (C-4a), 131.1 (C-6'), 130.1 (C-5), 128.2 (C-4'), 127.6 (C-5'), 124.4 (C-2'), 119.9 (C-6), 115.8 (C-8), 64.8 (C-1), 47.5 (CH_2 -3), 39.1 (CH_2 - α), 26.5 (CH_2 -4);

FAB-EM m/z (%) 367 $[\text{M}+1]^+$ (28), 183 (100).

Síntesis de 1-(2', 4'-diclorobencil)-6-cloro-7-hidroxi-1,2,3,4-THIQ, 2c



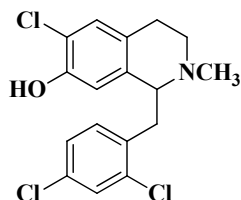
Este compuesto se prepara según el procedimiento empleado para la síntesis del compuesto **1c**, partiendo de **2a**. Después de purificar el residuo obtenido por cromatografía en columna de gel de sílice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$, 100:6:0.5) se obtiene 182 mg de **2c** (0.5 mmol, 73%).

$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 9.92 (s, 1H, OH), 7.51 (d, 1H, $J= 2.14$ Hz, H-3'), 7.31 (dd, 1H, $J= 8.24, 2.14$ Hz, H-5'), 7.25 (d, 1H, $J= 8.24$ Hz, H-6'), 7.18 (s, 1H, H-5), 6.45 (s, 1H, H-8), 4.01-3.96 (m, 1H, H-1), 3.35-3.25 (m, 2H, H-3), 3.09-2.89 (m, 2H, H- α), 2.79-2.75 (m, 2H, H-4).

$^{13}\text{C RMN}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 150.4 (C-7), 138.1 (C-1'), 136.0 (C-8a), 134.0 (C-2'), 132.4 (C-4') 132.0 (C-4a), 130.5 (CH-6'), 130.2 (CH-5), 130.1 (CH-3'), 126.8 (CH-5'), 118.7 (C-6), 114.1 (CH-8), 61.6 (CH-1), 42.7 (CH₂-3), 37.1 (CH₂- α), 26.8 (CH₂-4);

FAB-EM m/z (%) 343 $[\text{M}+1]^+$ (23), 183 (100), 148 (53).

Síntesis de 1-(2', 4'-diclorobencil)-6-cloro-7-hidroxi-N-metil-1,2,3,4-THIQ, **2d**



Este compuesto se prepara según el procedimiento empleado para la síntesis del compuesto **1c**, partiendo de **2b**. Se obtienen 198 mg de **2d** (0.56 mmol, 80%).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7.43 (d, 1H, *J*= 1.7 Hz, H-3'), 7.31-7.20 (m, 2H, H-5', H-6'), 7.18 (s, 1H, H-5), 6.92 (s, 1H, H-8), 4.27 (dd, 1H, *J*= 9.77, 4.09 Hz, H-1), 3.08-2.81 (m, 2H, H-α), 2.77-2.73 (m, 2H, H-4), 2.74-2.67 (m, 2H, H-3), 2.46 (s, 3H, NCH₃)

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ 150.8 (C-7), 139.9 (C-1'), 135.3 (C-8a), 134.1 (C-2'), 132.8 (C-4a), 132.9 (C-4'), 131.5 (CH-6'), 130.3 (CH-3'), 130.1 (CH-5), 126.8 (CH-5'), 118.3 (C-6), 115.8 (CH-8), 64.1 (CH-1), 48.3 (CH₂-3), 43.6 (NCH₃), 36.5 (CH₂-α), 26.5 (CH₂-4);

FAB-EM *m/z* (%) 357 [M+H]⁺ (18), 196 (100).

I.3.3 Receptores Dopaminérgicos

a) Animales de experimentación

Se utilizaron hembras de ratas Wistar (200-220 g), criadas en el animalario en condiciones experimentales estándar de la Facultad de Farmacia para los ensayos de captación de la [³H]-dopamina y ensayos de binding con radioligandos. Las ratas fueron criadas enjauladas en un ambiente controlado de temperatura (22°C) y humedad 60% y ciclos de 12 horas luz / oscuridad. Todos los protocolos cumplen con las directrices de la Comunidad Europea sobre el uso de animales de experimentación y están aprobados por el Comité de Ética de la Universidad de Valencia.

b) Radioligandos

Los radioligandos empleados en los ensayos de competición por los receptores D₁ y D₂ fueron [³H]-SCH 23390 (85.5 Ci/mmol, Amersham, GE Healthcare, UK) y [³H]-racloprida (86.5 Ci/mmol, Perkin Elmer) y la unión específica a los receptores D₁ y D₂ se determinó por adición de SKF 38393 y apomorfina (Sigma) respectivamente.

c) Ensayos de competición

- Ensayos de fijación específica de [³H]-SCH 23390 y [³H]-racloprida a membranas de cuerpo estriado de rata.

- Preparación de los tampones

* Tampón Tris-HCl 50 mM: Tris (hidroximetil)-aminometano en agua; se ajustó pH hasta 7.4 con HCl 1N.

* Tampón Tris-iones: Tris 50 mM, NaCl 120 mM, CaCl₂ 2 mM, KCl 5 mM, MgCl₂ 1 mM y ácido ascórbico 1% en agua; se ajustó pH hasta 7.4 con HCl concentrado. Ambos tampones se mantuvieron en hielo.

- Preparación de las membranas

En primer lugar se extrajeron los cuerpos estriados de rata para ser homogeneizados en un ultramax T25 (Janke & Kinkel), durante 10 segundos y homogeneizados en 10 volúmenes de Tris-HCl 50 mM. Los triturados que se obtuvieron se centrifugaron a 49000 g y a 4 °C durante 15 minutos, para ello se utilizó una ultracentrífuga.

Después se descartó el sobrenadante y el pellet se resuspendió en el mismo volumen de Tris-HCl 50 mM. Se agitó vigorosamente, se homogeneizó y a continuación se centrifugó 15 minutos a 49000 g y 4 °C. Se descartó de nuevo el sobrenadante y el precipitado se resuspendió en el mismo volumen de Tris citado anteriormente. Las membranas del estriado se conservaron en hielo hasta su posterior uso.

- Incubación

Para los ensayos de binding para el receptor D₁, las membranas (100 μg/mL) fueron incubadas con [³H]-SCH 23390 (0.25 nM; 66 Ci/mmol, Amersham, GE Healthcare, UK) y diferentes concentraciones del compuesto competidor (10⁻¹⁰M - 10⁻⁴ M) durante 1 h a 23 °C. La unión inespecífica fue realizada con la presencia de SK&F 38393 a una concentración de 30 μM.

Para los ensayos de binding para el receptor D₂, se emplearon membranas (200 μg/mL) que fueron incubadas con [³H]-racloprida (0.5 nM; 62.2 Ci/mmol, Perkin Elmer) y diferentes concentraciones del compuesto competidor (10⁻¹⁰M - 10⁻⁴M) durante 1 h a 23 °C. La unión inespecífica se realizó en este caso con apomorfinina (Sigma) a una concentración de 50 μM.

En ambos casos, las incubaciones se pararon con la adición de 3mL de tampón Tris-iones.

- Filtración

Los tubos inmediatamente se filtraron con filtros de fibra de vidrios (Schleicher & Schuell Grade 30) para ello se empleó un aparato de filtración automática para múltiples muestras (Cell Harvester Brandel M24R). Dispone de 24 filtros que se lavaron 3 veces con 3 mL de tampón Tris-iones, tras la filtración se dejaron secar los filtros a temperatura ambiente durante 15 h aproximadamente.

- Contaje

Una vez estuvieron secos los filtros se adicionaron 4 mL de líquido de centelleo (Optiphase “Hisafe” 2, Perkin Elmer Tri-Carb 2810 TR). Se taparon los tubos y se agitaron vigorosamente e inmediatamente después se introdujeron en el contador de centelleo.

Los datos se analizaron con Prim (Graph Pad Software; San Diego, California, USA), y los valores de K_i fueron determinados usando los valores de K_D para [3H]-SCH 23390 (0.36 nM) y para [3H]-racloprida (1.25 nM). Los valores se expresaron como la media \pm SEM desde 3 hasta 6 determinaciones independientes realizadas por duplicado.

Capítulo II

*“Síntesis de Hexahidroindenopiridinas con afinidad por los
receptores de la melatonina”*

CAPÍTULO II: Síntesis de Hexahidroindenopiridinas con afinidad por los receptores de la melatonina

II.1 Antecedentes bibliográficos

Las hexahidroindenopiridinas (HHIP) son compuestos de origen natural, como las azafluorenonas, o de síntesis. Se caracterizan por contener en su estructura un esqueleto tricíclico nitrogenado, en el que destaca un anillo bencénico fusionado a un ciclopentano (anillo indeno) y una piperidina.

Este esqueleto podría ser considerado como un análogo tricíclico del ligando *trans*-2-amino-3-fenil-2,3-dihidro-1*H*-indeno-5-ol con afinidad por los receptores D₁ y D₂ importante en el tratamiento de diferentes enfermedades neurodegenerativas y en el envejecimiento cerebral [58-60]. También habría que destacar la proximidad estructural de las HHIP con el aminoindano rasagilina, (1*R*)-*N*-propargil aminoindano [61], fármaco utilizado en la enfermedad del Parkinson (**Figura 27**).

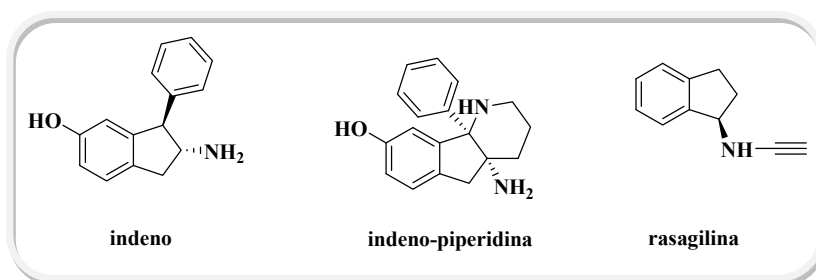


Figura 27. Estructura del indeno (*trans*-2-amino-3-fenil-2,3-dihidro-1*H*-indeno-5-ol), del análogo indeno-piperidina y de rasagilina

En función de la posición del nitrógeno en el anillo piperidina, las podemos clasificar en tres grupos (**Figura 28**).

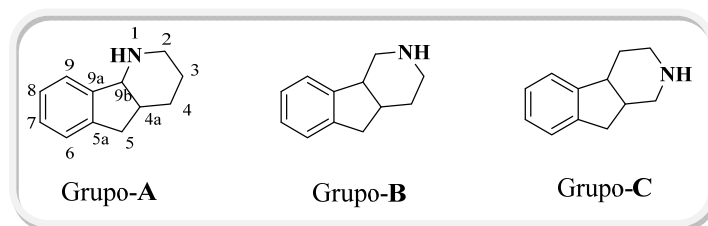


Figura 28. Clasificación de las hexahidroindenopiridinas (HHIP)

Grupo A: Fenilmetilaminas y fenilpropilaminas

Grupo B: Feniletilaminas y fenilbutilaminas

Grupo C: Fenilpropilaminas

II.1.1 Síntesis de HHIP

Se han utilizado diversas rutas sintéticas a lo largo de los años para la preparación de HHIP, y en particular, de las clasificadas según su estructura dentro del grupo A (fenilmetilaminas y fenilpropilaminas). Podemos agrupar estas síntesis en diversos tipos:

a) TIPO I: a partir de cianoalquil-indanona.

Augstein *et al.* [62] abordaron la síntesis partiendo de la cianoalquil-indanona y mediante una ciclación reductiva con Ni llegaron a la hexahidro-1*H*-indeno[1,2-*b*]piridina, la cual fue tratada con KOH en *n*-BuOH a alta temperatura, obteniendo el epímero correspondiente en posición 5 dando lugar al isómero *trans* (**Figura 29**).

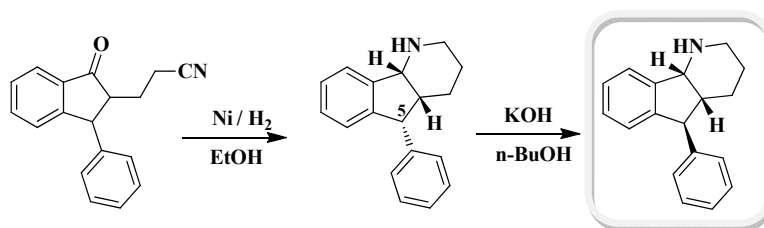


Figura 29. Síntesis de HHIP a partir de cianoalquil-indanona [62]

b) TIPO II: a partir de 5-oxo-fenilvaleronitrilos

La carencia de una síntesis adecuada para hexahidro-1*H*-indeno[1,2-*b*]piridinas que permitiera conseguir una amplia variedad de sustituyentes, condujo a Kunstmann *et al.* [63] al diseño de una ruta sintética más versátil. Este método sintético parte de los compuestos 5-oxo-5-fenilvaleronitrilos, los cuales fácilmente ciclan obteniendo 6-fenil-3,4-dihidropiridin-2-onas, que condensan rápidamente con un apropiado aldehído y ácido polifosfórico, obteniéndose hexahidro-1*H*-indeno[1,2-*b*]piridin-2-onas.

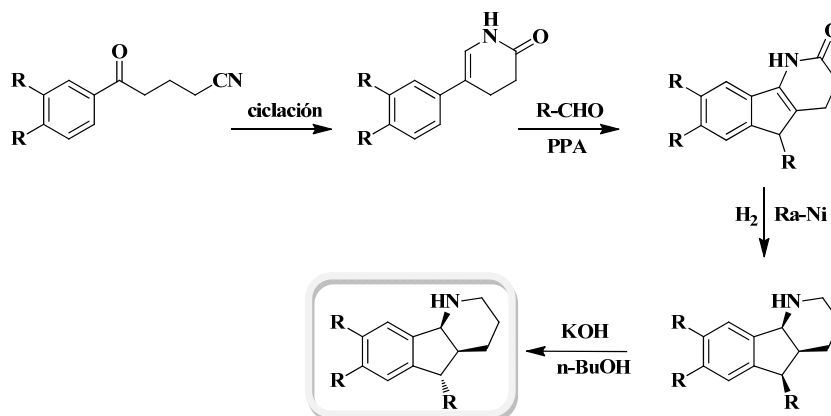


Figura 30. Síntesis de HHIP a partir de 5-oxo-fenilvaleronitrilos [63]

Posteriormente, se produce una hidrogenación catalítica con Ni-Ra dando lugar a las hexahidro-1*H*-indeno[1,2-*b*]piridinas deseadas, las cuales reaccionan con KOH en *n*-BuOH a alta temperatura, dando lugar al epímero correspondiente, como hemos mencionado en el método sintético anterior (Figura 30).

c) TIPO III: a partir de indanonas

Van Emelen *et al.* [58] propusieron una síntesis diastereoselectiva de hexahidro-1*H*-indeno[1,2-*b*]piridina (Figura 31). Una adición de Michael de 1-indanona β-cetoéster y acrilonitrilo, seguida por una reacción de Grignard sobre el grupo ceto, permitía preparar un intermedio indanol, que mediante una reacción intramolecular de Ritter conducía al isómero *cis*-hexahidro-4*aH*-indeno[1,2-*b*]piridina, la cual podría considerarse como análogo tricíclico de los antagonistas piperidínicos de los receptores NK-1 y del ligando bicíclico de los RD, *trans*-2-amino-3-fenil-2,3-dihidro-1*H*-indeno-5-ol.

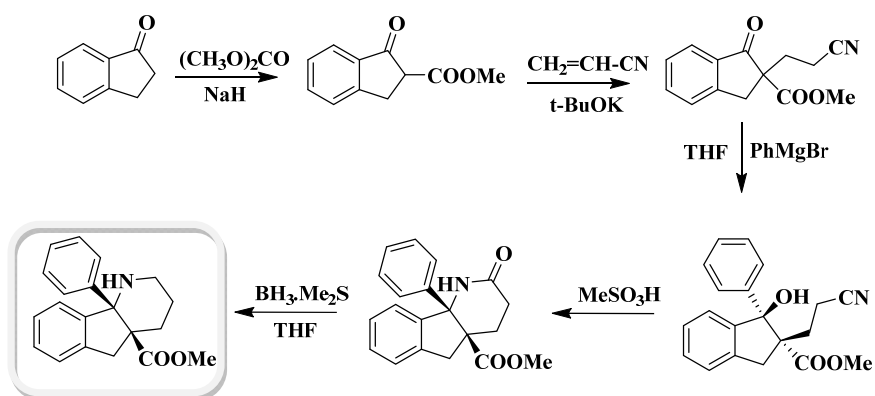


Figura 31. Síntesis de HHIP a partir de indanonas [58]

d) TIPO IV: mediante la reacción de Diels-Alder

Recientemente, Hong *et al.* [64] han diseñado una ruta sintética para 5*H*-indeno[1,2-*b*]piridinas partiendo de un indeno con *N*-sulfonil-1-aza-1,3-butadieno vía cicloadición hetero Diels-Alder como etapa clave, consiguiendo una alta regio y estereoselectividad que mediante otros métodos sintéticos no era posible (**Figura 32**). Con una posterior eliminación y reducción de la 5*H*-indeno[1,2-*b*]piridina, ofrecen una nueva ruta sintética de azafluorenonas para la preparación de onichina, alcaloide aislado por primera vez en 1976 de especies brasileñas de la familia Annonaceae (*Onychopetalum amazonicum*, *Guatteria dielsiana*) que mostró poseer actividad anti-candida [65] (**Figura 33**).

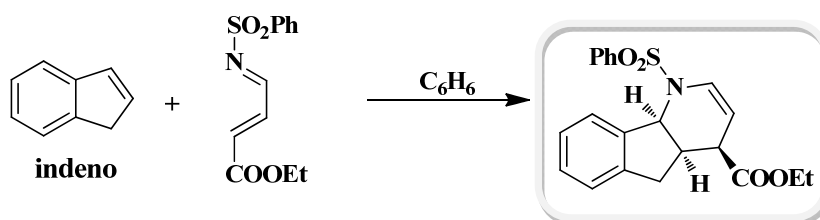


Figura 32. Síntesis de HHIP mediante la reacción de Diels-Alder [64]



Figura 33. Estructura de onichina [65]

II.1.2 Actividad Farmacológica de HHIP

a) Actividad antidepresora

Algunos grupos de investigación han observado que pequeñas modificaciones estructurales en fármacos antihistamínicos, consigue convertirlos en otros compuestos dotados de un carácter predominantemente antidepresor. Augstein *et al.* [62] transformaron un conocido antihistamínico con esqueleto HHIP en otro con un perfil farmacológico similar al del antidepresor desmetilimipramina. La actividad antidepresora se evaluó posteriormente.

Kunstmann *et al.* [63,66] evaluaron la potencia antidepresora de una serie de diastereoisómeros con esqueleto hexahidro-1*H*-indeno[1,2-*b*]piridina diferentemente sustituidos. Algunas de estas moléculas serían potenciales antidepresores con propiedades estimulantes del SNC, las cuales fueron caracterizadas por una notable inhibición de la recaptación de noradrenalina y dopamina.

b) Afinidad por los receptores serotoninérgicos

La serotonina (5-HT) es un neurotransmisor del SNC y periférico que juega un importante papel en diversas funciones fisiológicas o comportamentales como el ritmo circadiano, funciones cardiovasculares, el apetito, el comportamiento y la agresión. Alteraciones en el sistema serotoninérgico dan lugar a diversas enfermedades psiquiátricas incluyendo depresiones, obsesiones compulsivas, esquizofrenia, ansiedad, etc [67]. La actividad serotoninérgica se produce vía interacción con siete poblaciones de

receptores 5-HT, (de 5-HT₁ a 5-HT₇). Excluyendo el receptor 5-HT₃, el cual es dependiente de los canales iónicos, el resto de subtipos de los receptores serotoninérgicos pertenecen a la superfamilia de receptores acoplados a proteína G (G-PCR) [68].

Meyer *et al.* [69] sintetizaron una serie de HHIP como ligandos específicos de los receptores 5-HT_{1A}. El objetivo de su estudio fue el diseño de una estructura con cierta rigidez, la cual mimetizara los requerimientos para la interacción con el sitio 5-HT_{1A} propuesto por Hibert (**Figura 34**). Es decir, la molécula debía presentar un anillo aromático y un nitrógeno básico a una distancia de aproximadamente 5.6 Å desde el centro del anillo aromático.

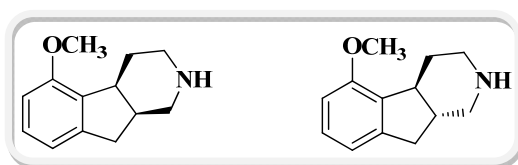


Figura 34. HHIP con afinidad por los receptores 5-HT

c) Actividad antiespermatogénica

Un fármaco ideal para la contracepción masculina, sería aquél que bloqueara eficaz y reversiblemente la fertilidad del varón sin afectar a los niveles hormonales, la libido y las funciones de los órganos sexuales. Utilizando hormonas esteroideas o ciertos agonistas/antagonistas de las hormonas liberadoras de gonadotropina (GnRH), se pudo observar la inducción de azoospermia u oligospermia. Además, con este tipo de tratamiento se necesita una terapia suplementaria con andrógenos para contrarrestar el problema de la disminución de la libido y el de las características sexuales secundarias [70-72].

Para conseguir un agente antiespermatogénico eficaz habría que centrarse en la búsqueda de un “cabeza de serie”, estudiando la actividad de compuestos que han sido diseñados, en principio, para efectos no relacionados con la contracepción pero que han demostrado, en ensayos de toxicidad, una inesperada actividad bloqueante de la fertilidad.

Estudios de REA basados en estos compuestos, pueden dar lugar no sólo a productos útiles clínicamente sino que, conjuntamente con estudios biológicos, pueden servir de herramienta para identificar las etapas del proceso reproductivo. En este sentido, una molécula descubierta en Sandoz, una HHIP con actividad analgésica y antagonista serotoninérgica, demostró en los ensayos de toxicidad, poseer una fuerte actividad antiespermatogénica en perros, ratones y ratas, sin afectar a la libido. Estos resultados permitieron a Cook *et al.* [70] utilizar dicha molécula como cabeza de serie para la síntesis de otros análogos y comprobar su capacidad antiespermatogénica en ratones (**Figura 35**).

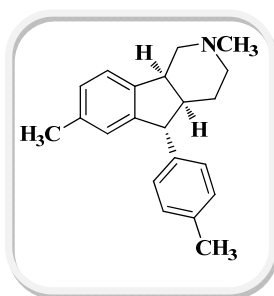


Figura 35. HHIP con actividad antiespermatogénica

d) Posibles ligandos tricíclicos de los receptores NK-1 y RD

La farmacología de la sustancia P ha sido intensamente explorada. Diversos antagonistas no-peptídicos de la sustancia P han sido identificados,

incluyendo las bases con esqueletos quinuclidínicos, piperidínicos y el triptófano. Además, actualmente se dispone del receptor NK-1 clonado en humanos.

Las acciones que la sustancia P ejerce sobre el receptor NK-1 han sido relacionadas con la inflamación neurogénica, la transmisión del dolor, la vasodilatación, la contracción aeróbica del músculo liso, así como la regulación de la respuesta inmunológica. En consecuencia, un antagonista de los receptores NK-1 podría ser de uso terapéutico en el tratamiento del dolor crónico, la migraña y la artritis reumatoide [73].

Así, Van Emelen *et al.* [58-60] sintetizaron una serie de HHIP, análogos conformacionalmente rígidos de los antagonistas piperidínicos del receptor NK-1.

A parte del estudio del antagonismo de la sustancia P, este grupo de investigación también se centró en la obtención de HHIP análogas al ligando bicíclico *trans*-2-amino-3-fenil-2,3-dihidro-1*H*-indeno-5-ol, activo tanto a nivel de los receptores D₁ como de D₂, tan importantes en las enfermedades neurodegenerativas y el envejecimiento cerebral [58-60].

En la presente **Tesis Doctoral** y continuando con el trabajo ya iniciado en nuestro grupo de investigación nos centramos en la síntesis de nuevas HHIP *N*-sustituidas con afinidad por los receptores de la melatonina, con el objetivo de obtener potenciales análogos de la melatonina que interactúen con su receptor.

II.1.3 Afinidad por los receptores de la melatonina

a) Melatonina

La **melatonina (MT)** o *N*-acetil-5-metoxitriptamina es una hormona encontrada en animales superiores y en algunas algas, en concentraciones que varían de acuerdo al ciclo diurno/nocturno. La MT, sintetizada a partir del neurotransmisor serotonina (**Figura 36**), se produce principalmente en la glándula pineal [74], y participa en una gran variedad de procesos celulares, neuroendocrinos y neurofisiológicos. Una de las características más sobresalientes respecto a la biosíntesis pineal de MT es su variabilidad a lo largo del ciclo de 24 horas, y su respuesta precisa a cambios en la iluminación ambiental. El patrón de secreción de MT consiste en un aumento gradual nocturno hasta alcanzar el pico de secreción y permite la información sobre el fotoperiodo y del ritmo circadiano a los órganos periféricos para la regulación fisiológica diaria y estacional [75, 76].

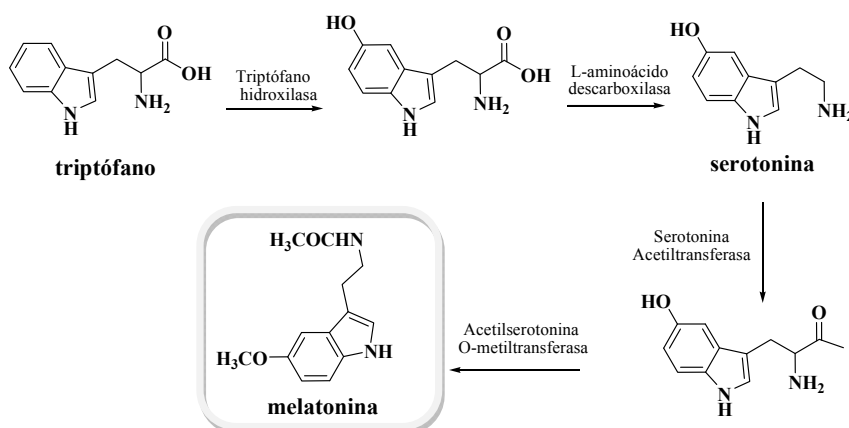


Figura 36. Síntesis de melatonina

Por ello, la MT se considera una neurohormona producida por los pinealocitos en la glándula pineal (localizada en el diencéfalo), la cual produce la hormona bajo la influencia del núcleo supraquiasmático del hipotálamo, el cual recibe información de la retina acerca de los patrones diarios de luz y oscuridad. Se encuentra ocupando la depresión entre el colículo superior y la parte posterior del cuerpo calloso. A pesar de la existencia de conexiones entre la glándula pineal y el cerebro, aquella se encuentra fuera de la barrera hematoencefálica y está inervada principalmente por los nervios simpáticos que proceden de los ganglios cervicales superiores.

Aunque mucho tiempo se consideró que la MT era de origen exclusivamente cerebral, se ha demostrado la biosíntesis del metoxindol en otros tejidos como la retina, la glándula harderiana, el hígado, el intestino, los riñones, las adrenales, el timo, la glándula tiroideas, las células inmunes, el páncreas, los ovarios, el cuerpo carotídeo, la placenta y el endometrio.

Se produce una síntesis constante de MT que disminuye abruptamente hacia los 30 años de edad [77]. Después de la pubertad se produce una calcificación llamada "arenilla del cerebro", que recubre la glándula pineal, pero ésta sigue liberando melatonina. Estudios recientes observan que la MT tiene, entre otras funciones (además de la hipnoinductora), la de disminuir la oxidación; por esto los déficits de MT casi siempre van acompañados de los siguientes efectos psíquicos: insomnio y depresión, mientras que, en la metabolización, el déficit de MT parecería tener por contraparte una paulatina aceleración del envejecimiento.

Esta indolamina se libera por un proceso de fototransducción, se estimula en oscuridad a través del ojo enviando señales nerviosas que a través del tracto retinohipotalámico, hace escala por el núcleo supraquiasmático, sale por la médula al ganglio cervical superior, y de allí a la glándula pineal donde

los pinealocitos secretaran MT. Por tanto, la glándula pineal es un transductor neuroendocrino [77].

Los factores que regulan la MT se pueden dividir en dos grupos, los ambientales (fotoperiodo, estaciones del año, temperatura, etc) y endógenos (estrés y la edad.).

La MT producida en la glándula pineal actúa como una hormona endocrina, ya que es liberada al torrente circulatorio, mientras que la producida en la retina y en el tracto gastrointestinal actúa como una hormona paracrina. Los lugares de acción de la MT son los neurales, hipocampo, hipófisis, hipotálamo, retina, glándula pineal, etc y no neurales, gónadas, intestino, vasos sanguíneos, células inmunes, etc.

b) Receptores melatoninérgicos

La MT ejerce sus efectos centrales y periféricos a través de un número aún no determinado de receptores o dianas moleculares [75]. Los receptores mejor conocidos son aquellos que se denominan receptores acoplados a proteína G y son MT₁ y MT₂ [78] que fueron clonados a mediados de la década de 1990 [79-82]. Estos receptores muestran un 55 % de identidad global en el nivel de aminoácidos y alrededor de un 70 % dentro de los dominios transmembrana. Están acoplados negativamente a la adenilato ciclasa y poseen una afinidad parecida por la MT (dentro del rango sub-nanomolar) [83, 84].

Los receptores MT₁ se expresan en varias áreas del cerebro, en particular en el núcleo supraquiasmático (SCN) y los pares tuberalis. Los receptores MT₂ están localizados en el SNC y la retina.

Otro receptor algo menos conocido es MT₃ que presenta una baja afinidad para el radioligando (RL) 2-[¹²⁵I]-iodomelatonina [85-88] y se ha

caracterizado en hámster como el homólogo humano de la quinona reductasa 2 [89], aunque se había sugerido previamente que este receptor no estaba acoplado a proteína G [90,91]. Existe un RL más específico, 2-[¹²⁵I]-yodo-5-metoxicarbonilamino-*N*-acetiltryptamina, y se ha demostrado que discrimina MT₃ de la proteína G acoplada a los receptores MT₁ y MT₂ [92-94]. Este sitio de unión de baja afinidad MT₃, ha demostrado estar involucrado en las respuestas inflamatorias agudas en la rata [95] y en la regulación de la presión intraocular en el conejo [96].

Debido a que los agonistas de MT sintéticos tienen considerables potenciales terapéuticos en la modulación del insomnio y trastornos relacionados con el ciclo circadiano del sueño, es deseable desarrollar compuestos melatoninérgicos selectivos de cada subtipo. Aunque hay algunos ligandos que muestran selectividad para MT₂ [97-102], se han encontrado muy pocos compuestos en la literatura selectivos para MT₁.

c) Relación estructura-actividad

Con el fin de aclarar las funciones biológicas de MT₁, MT₂ y MT₃, en los últimos años se han sintetizado varios ligandos [103-112]. Sólo rametreon (Rozerem®) [113] y la agomelatina (Valdoxan®) [114], dos agonistas de los receptores MT₁ y MT₂, están respectivamente comercializados para el tratamiento de insomnio e importantes trastornos depresivos, **Figura 37**. La agomelatina es el primer antidepresivo que no bloquea la recaptación de monoaminas. Por lo tanto, podría representar el prototipo de una nueva clase de fármacos antidepresivos. El desarrollo de nuevos derivados tiene el propósito de aumentar la eficacia y reducir los efectos secundarios. La agomelatina, que también es un antagonista selectivo de 5-HT_{2C} se reveló también como potente resincronizador de los ritmos circadianos [115,116].

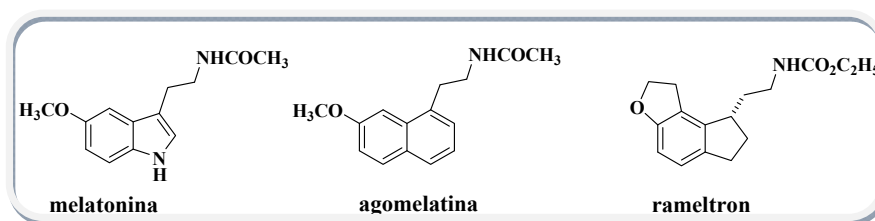


Figura 37. Agonistas de los receptores MT₁ y MT₂

Los primeros estudios de REA mostraron que tanto el grupo metoxi como la cadena lateral *N*-acetilamino de la melatonina, son cruciales para la afinidad por el receptor de la melatonina, y que la distancia espacial relativa entre estos grupos es también un factor importante [117]. Además, el análisis 3D-QSAR de ligandos melatoninérgicos reveló que la afinidad de unión MT₁ y MT₂ se podría mejorar mediante la sustitución y/o restricción conformacional del sustituyente amida [118]. Este enfoque podría ayudar a sondear el farmacóforo existente para crear potentes ligandos selectivos MT₁ y MT₂, y abre nuevas perspectivas terapéuticas dirigidas a un receptor específico. En el continuo esfuerzo por desarrollar nuevos ligandos de melatonina utilizando la agomelatina como referencia, se llegó a la preparación de ligandos no selectivos MT₁ y MT₂ con actividad 5-HT_{2C}. De estas nuevas aproximaciones estructurales surgen nuevas series de compuestos naftalénicos restringidos con la incorporación de la cadena amídica en el heterociclo [119]. En comparación con la agomelatina, el bloqueo de la cadena lateral etilamida por la incorporación en estructuras rígidas condujo a la disminución de las afinidades de unión en ambos receptores melatoninérgicos siendo más notable para MT₁ que para MT₂, conservando esta última una débil selectividad [119].

II.2. Síntesis y actividad de Hexahidroindenopiridinas

II.2.1 Química

a) Síntesis de 7-cloro-8-metoxi-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-1H-indeno [1,2-b] piridina.

Para abordar la síntesis del esqueleto **7-cloro-8-metoxi-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-1H-indeno[1,2-b] piridina (7b)** se empleó un nuevo método sintético basado en un intermedio enamina (**7a**) que ha sido diseñado en nuestro grupo de investigación (**Figura 35**). La primera etapa consiste en la formación de una enamina (**7a**) a partir de la indanona (**7**) utilizando TiCl_4 como catalizador y agente deshidratante, bajo condiciones que ya habían sido optimizadas por Guinot *et al.* [120]. Como producto de partida empleamos la 5,6-metilendioxi-1-indanona (**7**) y piperidina, que es la amina secundaria elegida para la formación de la enamina (**7a**). Esta reacción tiene lugar a temperatura ambiente durante 3 días y en tolueno. Seguidamente, y sin necesidad de purificar la enamina resultante (**7a**), pasamos a abordar la ciclación obteniendo la imina intermediaria que, tras una etapa reductiva con NaBH_4 , dará lugar al esqueleto HHIP (**7b**). Esta ciclación consiste en la reacción del hidrobromato de 3-bromopropilamina con la enamina (**7a**) disuelta en DMF a 100°C y se puede extender a diferentes enaminas e iminas para obtener con éxito diferentes productos. Finalmente, llevamos a cabo la alquilación sobre el átomo de nitrógeno de la HHIP **7b**. En primer lugar se acetiló **7b** obteniéndose así **7c** y por tratamiento con etilisocianato se obtuvo la HHIP **7d** (**Figura 38**).

• Síntesis de 1-(6-cloro-5-metoxi-1*H*-inden-3-il)piperidina (**7a**)

Esta primera etapa consistió en la obtención del intermedio 1-(6-cloro-5-metoxi-1*H*-inden-3-il)piperidina (**7a**). Para ello se hizo reaccionar la indanona de partida (**7**) disuelta en tolueno seco con piperidina y añadiendo TiCl_4 gota a gota. Procedimiento descrito por Guinot *et al.* [119].

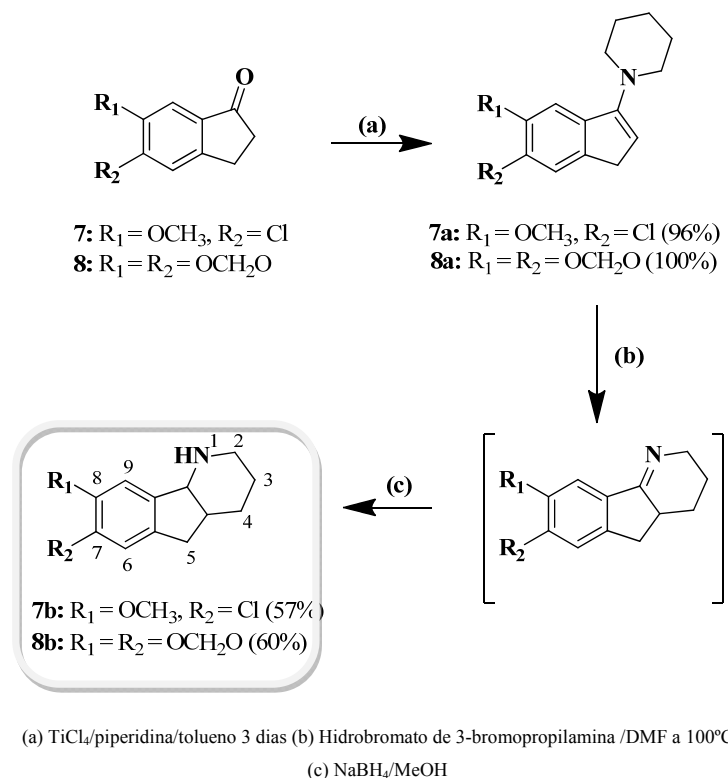


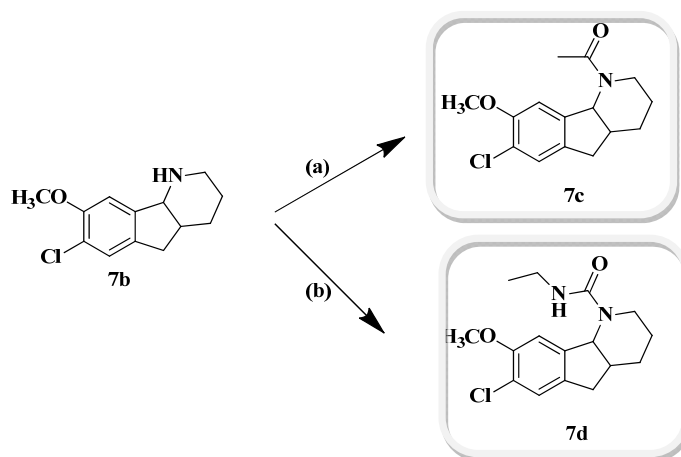
Figura 38. Síntesis de HHIP a partir de 1-indanona y piperidina

- Síntesis de 7-cloro-8-metoxi-2,3,4,4a,5,9b-1*H*-indeno[1,2-*b*]piridina (**7b**).

Esta segunda etapa consiste en una ciclación y posterior reducción en “one-pot”. Partiendo de **7a** se hace reaccionar con hidrobromato de 3-bromopropilamina en DMF, así se realiza la ciclación de la molécula. Para reducirla, se añade NaBH₄ en MeOH obteniéndose la HHIP deseada, 7,8-metilendioxi-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-1*H*-indeno[1,2-*b*]piridina (**7b**).

- Síntesis de 7-cloro-8-metoxi-2,3,4,4a,5,9b-1*H*-indeno[1,2-*b*]piridina (**7c** y **7d**)

A continuación y tras el aislamiento de **7b** se procedió a la obtención de los derivados de la HHIP. En primer lugar se acetiló **7b** obteniéndose así **7c** y por tratamiento con etilisocianato se obtuvo la HHIP **7d** (**Figura 39**).

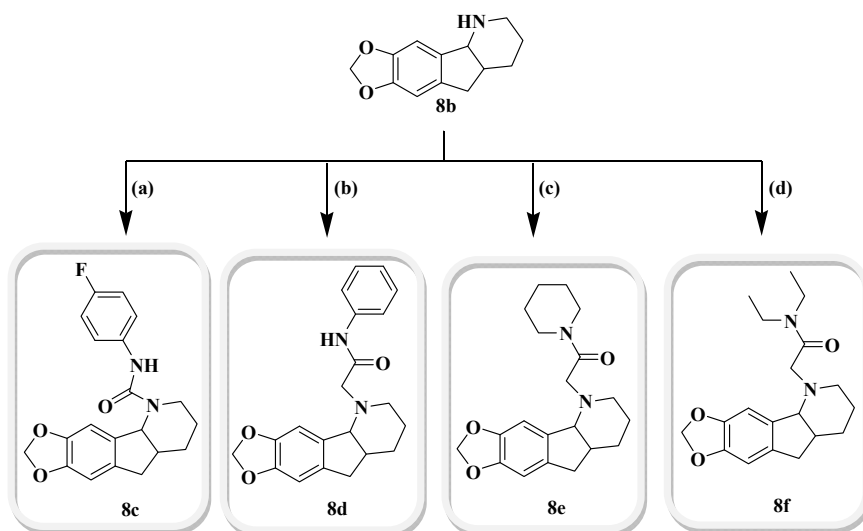


(a) Ac₂O/Piridina, ta, 2h; (b) Etilisocianato, CH₂Cl₂, reflujo, 2h.

Figura 39. Síntesis de derivados de 7-cloro-8-metoxi-HHIP (**7b**)

b) Síntesis de 7,8-metilendioxi-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-1H-indeno [1,2-*b*] piridina.

Para abordar la síntesis del esqueleto **7,8-metilendioxi-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-1H-indeno[1,2-*b*] piridina (8b)** se empleó la misma secuencia sintética que en el apartado anterior (**Figura 38**). Se procedió a la formación nuevamente de una enamina (**8a**), a partir de la indanona (**8**) utilizando TiCl_4 como catalizador y agente deshidratante, en las mismas condiciones que en el apartado anterior. Como producto de partida empleamos la 5,6-metilendioxi-indanona (**8**) y piperidina, obteniendo de este modo la enamina (**8a**).



(a) *p*-Fluor-fenilisocianato/ CH_2Cl_2 , N_2 , 24h; (b) 2-bromo-fenilacetamida/ Et_3N , CH_3CN , reflujo, 2h; (c) 2-bromo-1(piperidin-1-il)etanona/ Et_3N , CH_3CN , reflujo, 2h; (d) 2-bromo-*N,N*-dietilacetamida/ Et_3N , CH_3CN , reflujo, 2h.

Figura 40. Síntesis de los derivados de 7,8-metilendioxi-HHIP (**8b**)

Seguidamente, y sin necesidad de purificar la enamina resultante (**8a**), realizaremos la ciclación obteniendo la imina intermedia que, tras la reducción con NaBH₄, dará lugar al esqueleto HHIP (**8b**). La ciclación de nuevo se realiza con hidrobromato de 3-bromopropilamina y la enamina (**8a**) disuelta en DMF. Finalmente, llevamos a cabo la sustitución sobre el átomo de nitrógeno de la HHIP (**5b**), por tratamiento con 4 reactivos diferentes, *p*-fluor-fenilisocianato, 2-bromo-*N*-fenilacetamida, 2-bromo-1-(piperidin-1-yl)etanona y 2-bromo-*N*, *N*-dietilacetamida. De esta forma se obtienen las HHIP *N*-sustituidas **8c**, **8d**, **8e** y **8f** (Figura 40).

c) Mecanismo de ciclación

La estrategia sintética llevada a cabo para la preparación de las nuevas HHIP **7b** y **8b** presenta como etapa clave la reacción de ciclación, en la que se consigue generar el esqueleto indenopiridina. Dada la naturaleza del producto de partida de esta reacción, nos podemos encontrar ante una enamina o un ión iminio. Por otra parte, el agente alquilante de nuestra síntesis (bromopropilamina) posee tanto carácter electrófilo (grupo saliente: Br⁻) como nucleófilo (NH₂). Teniendo en cuenta estos aspectos, formulamos dos posibles mecanismos de reacción para la formación de este esqueleto HHIP.

En primer lugar, proponemos el mecanismo general de alquilación de la enamina por agentes electrófilos (Figura 41). Las enaminas son ricas en electrones debido a la presencia del átomo de nitrógeno, de tal manera que existe una resonancia entre el par de electrones solitario del nitrógeno y el doble enlace, dando así la posibilidad de que este último pueda ser atacado por electrófilos. En efecto, las enaminas en presencia de haloalcanos sufren una reacción SN₂, alquilándose en el carbono β de la enamina y favoreciendo la

formación de una sal de iminio. La hidrólisis ácida de un ión iminio, produce la recuperación de la correspondiente cetona α -alquilada, y la amina secundaria original (piperidina). Debido a que en nuestra síntesis el electrófilo es una amina primaria (bromopropilamina), ésta podría atacar rápidamente el grupo carbonilo produciéndose una condensación intramolecular y dando lugar a las iminas intermediarias.

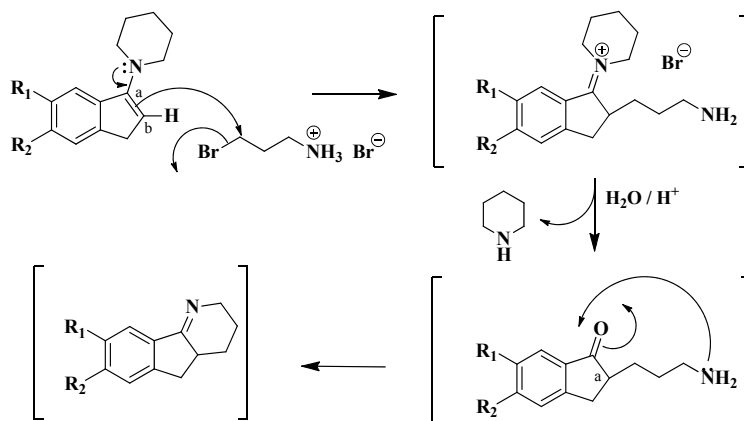


Figura 41. Mecanismo general de alquilación de enaminas

Describimos a continuación el mecanismo propuesto por Parcell *et. al.* [121] (Figura 42). Estos autores basan dicho mecanismo, en el hecho de no haber encontrado trazas de la “cetona alquilada”, que debería obtenerse tras la hidrólisis, ni siquiera después de utilizar como agente alquilante una haloalquil amina terciaria. En primer lugar ocurriría la donación de un protón del ión 3-bromopropilamonio a la enamina dando lugar a su forma de sal iminio. A continuación, la 3-bromopropilamina (reaccionando como nucleófilo), ataca a la sal de iminio produciéndose la eliminación de la piperidina y la formación de un

intermedio imina que estaría en equilibrio con su forma enamina. Finalmente, el doble enlace de la enamina atacaría a la 3-bromopropilamina (reaccionando ahora como electrófilo) según una reacción S_N2 , desplazando el grupo Br y produciendo la ciclación intramolecular que daría la imina deseada.

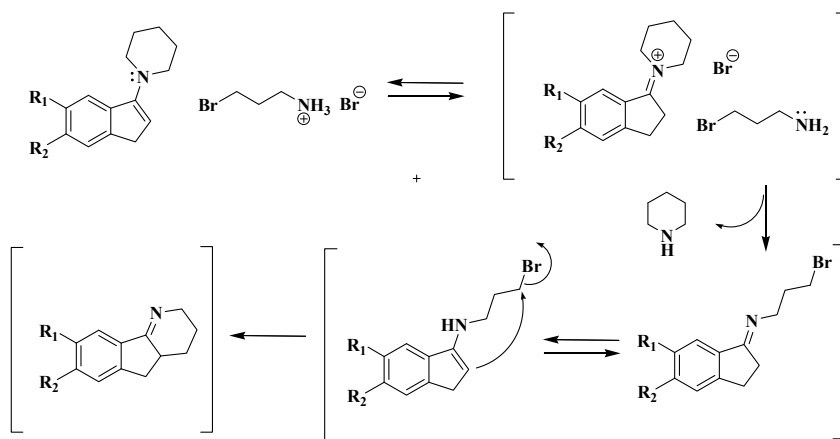


Figura 42. Mecanismo de ciclación propuesto por Parcell *et. al.* [121]

II.2.2 Afinidad por los receptores melatoninérgicos. REA

Todos las HHIP sintetizadas fueron ensayadas *in vitro* por los laboratorios Servier, en el *Département des Sciences Expérimentales, Institut de Recherches Servier, 92150 Suresnes*, de Francia.

En trabajos previos se determinaron una serie de requerimientos estructurales imprescindibles para mantener la afinidad por los receptores melatoninérgicos. Como ya hemos mencionado anteriormente, tanto el grupo metoxi como la cadena lateral *N*-acetilamino de la melatonina son cruciales para fijarse a dichos receptores con alta afinidad. La distancia espacial relativa entre estos grupos es también un factor importante [117] (**Figura 43**). Por ello los compuestos ensayados presentan estos dos requerimientos estructurales, aunque en ocasiones se encuentren ligeramente modificados.

Algunos de las HHIP ensayadas son capaces de desplazar al radioligando [¹²⁵I]-yodo-melatonina de los receptores MT₁ y MT₂. Las afinidades de unión a dichos receptores (K_i) se resumen en la **Tabla 3**, y estos resultados han puesto de manifiesto algunas tendencias generales de relación estructura-actividad.

A través de los datos expuestos en la **Tabla 3** se puede decir en primer lugar, que se aprecian dos comportamientos diferentes: por un lado hay un ligando que desplaza a la melatonina tanto de los receptores MT₁ como de los MT₂ (**7d**), con lo que se trataría de una HHIP con alta afinidad pero con poca selectividad; por otro lado están aquellos ligandos que desplazan a la melatonina de los receptores MT₁ o de los receptores MT₂ (**8d** y **8f**), es decir, HHIP a la vez con afinidad y selectividad por los receptores melatoninérgicos.

Tabla 3. Valores de K_i en experimentos de binding específico a receptores melatoninérgicos tipo MT_1 y MT_2 de las HHIP de las series **7** y **8**.

Compuestos	MT_1 (K_i nM)	MT_2 (K_i nM)
7c	>1000	>1000
7d	670	190
8c	>1000	>1000
8d	500	>1000
8e	>1000	>1000
8f	>1000	380

Ensayos de binding melatoninérgico *in vitro* realizados en el *Département des Sciences Expérimentales, Institut de Recherches Servier, 92150 Suresnes, France*.

Hemos sintetizado dos tipos de HHIP: serie **7** y serie **8**. La serie **7** corresponde a los 7-cloro-8-metoxi-HHIP *N*-sustituidas, mientras que la serie **8** corresponde a las 7,8-metilendioxi-HHIP *N*-sustituidas (**Figura 43**).

Cabe destacar, que de las dos HHIP ensayadas de la serie **7** (con OMe y Cl en el anillo aromático), solo muestra afinidad por ambos receptores melatoninérgicos (tanto MT_1 como MT_2) la que presenta un grupo carbamato sobre el nitrógeno piperidínico de la HHIP (**7d**). Sin embargo, la afinidad por ambos receptores desaparece cuando el *N* se encuentra sustituido por un grupo acilo (**7c**).

Algunas de las HHIP ensayadas de la serie **8** (con un grupo metilendioxi en el anillo aromático), presentan selectividad por uno de los receptores melatoninérgicos, hecho que las diferencia de las HHIP de las serie **7**.

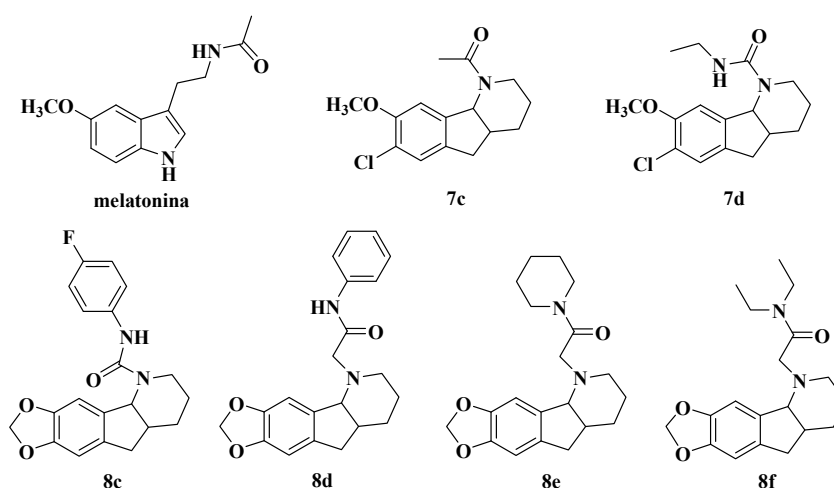


Figura 43. Melatonina y HHIP de las series 7 y 8

De los compuestos ensayados de la serie 8, el que presenta un grupo carbamato sobre el nitrógeno piperidínico de la HHIP (8c), no muestra afinidad por los receptores melatonínicos. Sin embargo, dos de los compuestos de dicha serie, con una cadena amídica aromática o alifática unida al nitrógeno piperidínico (8d y 8f, respectivamente), son capaces de unirse específicamente a uno de los dos receptores (MT₁ o MT₂) (Tabla 3 y Figura 43).

En conclusión, las HHIP presentan afinidad por los receptores de la melatonina, que los hace candidatos a una posible utilización terapéutica. Se observan claramente dos tendencias, las que presentan afinidad por ambos receptores, HHIP de la serie 7 sustituidas en el anillo aromático por un OMe y un Cl, y las que presentan afinidad y además selectividad por uno de los receptores, HHIP de la serie 8 sustituidas en el anillo aromático por un grupo metilendioxi.

II.3 Parte experimental

II.3.1 Aparatos utilizados

Los espectros de masa se registraron en un espectrómetro tipo VG analítica, Fisons (Manchester, Reino Unido) o un equipo CG-MS (PerkinElmer Clarus 500 gas chromatography, Shelton, EEUU) acoplado a una columna capilar (ZB-5 MS, Phenomenex, Torrance, CA, EEUU) mediante técnicas de impacto electrónico (EMIE).

Los espectros de RMN de ^1H y RMN de ^{13}C se realizaron en espectrómetros Bruker AC-500, usando como referencia la señal del disolvente (CDCl_3 a δ_{H} 7.26 ; δ_{C} 77.0). Las multiplicidades de la resonancia de ^{13}C RMN se asignaron mediante los experimentos DEPT.

Las asignaciones de ^1H y RMN de ^{13}C se llevaron a cabo mediante técnicas mono y bidimensionales (COSY 45, HMQC, HSQC y HMBC) y por comparación con datos bibliográficos. Los desplazamientos químicos (δ) se expresan en ppm y las constantes de acoplamiento (J) en Hz.

Todas las reacciones fueron supervisadas por cromatografía en capa fina, empleando como soporte silicagel 60 F ₂₅₄ (Merck 5554).

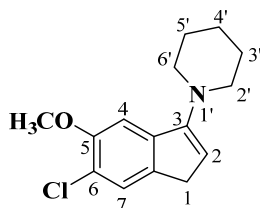
Los residuos fueron aislados y purificados por cromatografía en columna, empleando como soporte silicagel 60 H (5-40 μm , Merck 7736).

Los disolventes y reactivos utilizados y adquiridos de fuentes comerciales.

Los rendimientos citados fueron de material purificado.

II.3.2 Síntesis de 2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-1H-indeno[1,2-b]piridinas

- Preparación de 1-(6-cloro-5-metoxi-1H-inden-3-il)piperidina, **7a**



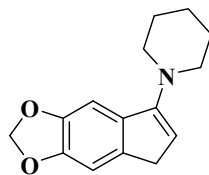
Una solución de 5-cloro-6-metoxi-1-indanona (500mg, 2.55 mmol) en tolueno seco (30 mL) se mantiene en agitación bajo atmósfera de N₂ a temperatura ambiente. Posteriormente, se adiciona piperidina (1.5 mL, 15.17 mmol), y la mezcla se enfría a -10 °C (con un baño de hielo y NaCl). Seguidamente se añade TiCl₄ (0.17 mL, 1.53 mmol) gota a gota, controlando que la temperatura del baño no ascienda de 0 °C. Una vez añadido, la mezcla se mantiene en agitación a -10 °C durante 1 h. Pasado ese tiempo se retira el baño de hielo dejando la mezcla en agitación durante 3 días. Finalmente el crudo de la reacción se filtra a través de Celite y el residuo se lava con AcOEt (3 x 10 mL), se seca con Na₂SO₄ y se concentra obteniendo un residuo de 650 mg (96%) del compuesto **4a** como un aceite marrón, el cual se utiliza en la siguiente etapa sin necesidad de purificación.

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 7.37 (s, 1H, H-7), 6.94 (s, 1H, H-4), 5.57 (t, 1H, J= 2.3 Hz, H-2), 3.93 (s, 3H, OCH₃), 3.23 (d, 2H, J= 2.3 Hz, CH₂-1), 3.00 (m, 4H, CH₂-2' y CH₂-6'), 1.75 (m, 4H, CH₂-3' y CH₂-5'), 1.61 (m, 2H, CH₂-4');

¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) δ 153.6 (C-3), 153.5 (C-5), 141.5 (C-3a), 137.1 (C-7a), 125.4 (CH-7), 119.2 (C-6), 110.7 (CH-2), 104.0 (CH-4), 56.4 (OCH₃), 52.2 (CH₂-2' y CH₂-6'), 34.8 (CH₂-1), 25.8 (CH₂-3' y CH₂-5'), 24.5 (CH₂-4');

EMIE *m/z* (%) 263 [M]⁺ (50), 248 (40).

• Preparación de 1-(5,6-metilenedioxi-1*H*-inden-3-il)piperidina, **8a**



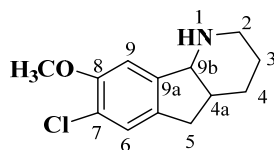
Este compuesto se prepara de acuerdo con el procedimiento mencionado para **4a**, usando 5,6-metilendioxi-1-indanona (400 mg, 2.27 mmol) en tolueno seco (10 mL), 1.2 mL de piperidina (12.14 mmol) y TiCl_4 (0.15 mL, 1.36 mmol). Se obtiene **5a** (560 mg, 100%) como un aceite de color marrón que se utiliza en la etapa posterior sin necesidad de purificación.

$^1\text{H RMN}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.90 (s, 1H, H-7), 6.88 (s, 1H, H-4), 6.06 (s, 2H, OCH_2O), 5.44 (t, 1H, $J=2.3$ Hz, H-2), 3.61 (d, 2H, $J=2.3$ Hz, CH_2 -1), 2.97 (m, 4H, CH_2 -2' y CH_2 -6'), 1.72 (m, 4H, CH_2 -3' y CH_2 -5'), 1.58 (m, 2H, CH_2 -4');

$^{13}\text{C RMN}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 153.8 (C-3), 146.1 (C-5) 145.5 (C-6), 138.1 (C-3a), 135.6 (C-7a), 107.9 (CH-2), 105.3 (CH-7), 100.8 (CH-4 y OCH_2O), 52.0 (CH_2 -2' y CH_2 -6'), 35.8 (CH_2 -1), 26.11 (CH_2 -3' y CH_2 -5'), 24.4 (CH_2 -4');

EMIE m/z (%) 243 $[\text{M}]^+$ (80), 159 (100), 103 (70).

- Preparación de 7-cloro-8-metoxi-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-1*H*-indeno[1,2-*b*]piridina, **7b**



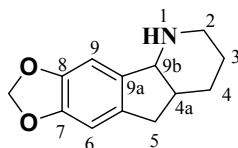
Se disuelven hidrobromato de 3-bromopropilamina (471 mg, 2.51 mmol) en 5 mL de DMF y se añade **7a** (640 mg, 2.42 mmol). La mezcla se deja a reflujo a 110° C bajo atmósfera de N₂ durante 8 h. Transcurrido dicho tiempo, la mezcla se evapora a sequedad, se disuelve en EtOH (15 mL) y se añade NaBH₄ (410 mg, 11.08 mmol). La reacción se deja en agitación y a temperatura ambiente durante toda la noche. Para detener la reacción se añade 1 mL de agua y se deja en agitación. La suspensión resultante se lava con AcOEt (3 x 10 mL). La fase orgánica se seca con Na₂SO₄ y se concentra a sequedad. El residuo se purifica con cromatografía en columna de gel de sílice (CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH 97:3:0.2) para obtener **7b** (327 mg, 57%).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 7.06 (s, 1H, H-6), 6.78 (s, 1H, H-9), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 3.38 (d, 1H, J= 10 Hz, H-9b), 3.14 (dd, 1H, J= 4.5, 13.0 Hz, CH₂-2α), 2.73 (td, 1H, J= 3.16, 13.0 Hz, CH₂-2β), 2.62 (dd, 1H, J= 6.5, 14.5 Hz, CH₂-5α), 2.26 (m, 1H, CH₂-5β), 1.94 (m, 1H, CH₂-4α), 1.64 (m, 2H, CH₂-3α y H-4a), 1.50 (m, 1H, CH₂-4β), 1.40 (m, 1H, CH₂-3β);

¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) δ 153.1 (C-8), 144.5 (C-9a), 134.5 (C-5a), 125.6 (CH-6), 119.4 (C-7), 105.5 (CH-9), 67.4 (CH-9b), 55.8 (OCH₃), 51.2 (CH-4a), 46.8 (CH₂-2), 34.1 (CH₂-5), 28.9 (CH₂-4), 26.6 (CH₂-3);

EMIE *m/z* (%) 236 [M-H]⁺ (100), 194 (75), 145 (40), 115 (40), 102 (40); HRESIMS *m/z* 238.0992 [M+H]⁺ (C₁₃H₁₇NOCl, calc. 238.0999).

- Preparación de 7,8-metilendioxi-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-1H-indeno[1,2-b]piridina, 8b



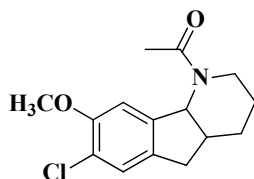
Este compuesto se prepara de acuerdo con el procedimiento mencionado para **7b**, utilizando el compuesto **8a** (560 mg, 2.27 mmol) e hidrobromato de 3-bromopropilamina (471 mg, 2.58 mmol) en 5 mL de DMF y posteriormente NaBH_4 (342 mg, 9.04 mmol) en 20 mL de EtOH. El residuo se purifica con cromatografía en columna de gel de sílice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$ 92:8:0.2) para obtener 300 mg (60%) de **8b**.

$^1\text{H RMN}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 6.59 (s, 1H, H-9), 6.56 (s, 1H, H-6), 5.77 (s, 1H, $\text{OCH}_2\text{O}-\alpha$), 5.74 (s, 1H, $\text{OCH}_2\text{O}-\beta$), 3.27 (d, 1H, $J=10$ Hz, H-9b), 3.10 (dd, 1H, $J=4.5, 13.0$ Hz, $\text{CH}_2-2\alpha$), 2.67 (td, 1H, $J=3.16, 13.0$ Hz, $\text{CH}_2-2\beta$), 2.55 (dd, 1H, $J=6.5, 14.5$ Hz, $\text{CH}_2-5\alpha$), 2.20 (m, 1H, $\text{CH}_2-5\beta$), 1.86 (m, 1H, $\text{CH}_2-4\alpha$), 1.60 (m, 2H, $\text{CH}_2-3\alpha$ y H-4a), 1.47 (m, 1H, $\text{CH}_2-4\beta$), 1.37 (m, 1H, $\text{CH}_2-3\beta$);

$^{13}\text{C RMN}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 145.8 (C-8), 145.5 (C-7), 137.6 (C-9a), 134.9 (C-5a), 105.2 (CH-6), 102.1 (CH-9), 100.3 (OCH_2O), 67.2 (CH-9b), 51.4 (CH-4a), 46.7 (CH_2-2), 34.7 (CH_2-5), 28.8 (CH_2-4), 26.6 (CH_2-3);

EMIE m/z (%) 216 $[\text{M}-\text{H}]^+$ (100), 174 (25), 102 (40); **HRESIMS** m/z 218.1187 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{NO}_2$, calc. 218.1181).

- Preparación de 7-cloro-8-metoxi-N-acetil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-1H-indeno[1,2-b]piridina, 7c



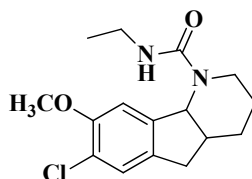
A una disolución de **7b** (100 mg, 0.42 mmol) en Ac₂O (3 mL) seco y piridina (0.25 mL) se mantiene en agitación bajo atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente durante 3h. A continuación, se añade agua (5 mL) a la mezcla de reacción y se extrae con CH₂Cl₂. La combinación de fases orgánicas se seca con Na₂SO₄ y se evapora a sequedad para obtener 109 mg (100%) de **7c** como un sólido blanco.

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 7.09 (s, 1H, H-6), 6.83 (s, 1H, H-9), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 4.10 (d, 1H, J= 10.3 Hz, H-9b), 3.22 (m, 2H, CH₂-2), 2.81 (dd, 1H, J= 13.9, 6.8 Hz, CH₂-5α), 2.28 (m, 1H, H-4a), 2.27 (m, 1H, CH₂-5β), 2.06 (s, 3H, CH₃CO), 2.05 (m, 1H, CH₂-4α), 1.57-1.74 (m, 3H, CH₂-4β, CH₂-3);

¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) δ 171.2 (CO), 153.4 (C-8), 143.1 (C-9a), 133.0 (C-5a), 125.9 (CH-6), 120.8 (C-7), 109.3 (CH-9), 68.9 (CH-9b), 56.3 (OCH₃), 47.9 (CH₂-2), 45.8 (CH-4a), 34.4 (CH₂-5), 29.6 (CH₂-4), 25.4 (CH₂-3), 23.1 (COCH₃);

EMIE *m/z* (%) 279 [M]⁺ (100), 250 (65), 222 (45), 208 (60); HRESIMS *m/z* 280.1095 [M+H]⁺ (C₁₅H₁₉NO₂Cl, calc. 280.1104).

- Preparación de 7-cloro-8-metoxi-*N*-etil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-1*H*-indeno[1,2-*b*]piridin-1-carboxamida, **7d**



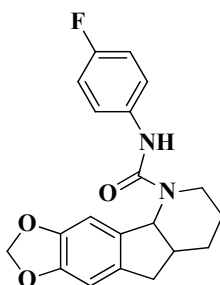
Una mezcla de **7b** (200 mg, 0.84 mmol) y etilisocianato (2.52 mmol) en CH₂Cl₂ (20 mL) se mantiene a reflujo bajo atmósfera de N₂ durante 24 h. La mezcla de la reacción se extrae con CH₂Cl₂ (3 x 10 mL) y se lava con agua (3 x 10 mL). La fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora a sequedad. El residuo se purifica con (CH₂Cl₂/MeOH 97:3) hasta obtener la correspondiente HHIP carbamato **7d** (0.70 mmol, 84%).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 7.26 (s, 1H, H-6), 6.94 (s, 1H, H-9), 4.57 (s, 1H, NH), 4.45 (dd, 1H, J= 12.6, 4.8 Hz, CH₂-2α), 4.20 (d, 1H, J= 10.7 Hz, H-9b), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 3.28 (m, 1H, CH₂-2'α), 3.04 (m, 1H, CH₂-2'β), 2.90 (m, 2H, CH₂-2β y CH₂-5α), 2.41 (m, 1H, CH₂-5β), 2.35 (m, 1H, H-4a), 2.14 (m, 1H, CH₂-4α), 1.64 (m, 3H, CH₂-4β y CH₂-3), 0.96 (t, 3H, J= 7.0 Hz, CH₃-3');

¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) δ 158.2 (CO), 153.9 (C-8), 140.3 (C-9a), 134.4 (C-5a), 127.3 (CH-6), 121.9 (C-7), 107.8 (CH-9), 69.6 (CH-9b), 56.3 (OCH₃), 49.2 (CH₂-2), 44.9 (CH-4a), 35.3 (CH₂-2'), 34.6 (CH₂-5), 30.4 (CH₂-4), 24.7 (CH₂-3), 15.5 (CH₃-3');

EMIE *m/z* (%) 309 [M+H]⁺ (40), 238 (100); HRESIMS *m/z* 309.1372 [M+H]⁺ (C₁₆H₂₂N₂O₂Cl, calc. 309.1370).

- Preparación de 7,8-metilendioxi-*N*-(4'-flúorofenil)-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-1*H*-indeno[1,2-*b*]piridin-1-carboxamida, **8c**



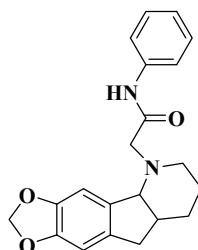
Este compuesto se prepara de acuerdo con el procedimiento mencionado para **7d**, utilizando **8b** (200 mg, 0.92 mmol) y *p*-flúor-fenilisocianato (2.76 mmol) en CH₂Cl₂ (20 mL). El residuo se purifica con (CH₂Cl₂/MeOH 97:3) para obtener la correspondiente HHIP carbamato **8c** (0.73 mmol, 79%).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 7.09 (dd, J= 8.4, 5.7 Hz, 2H, H-2' y H-6'), 6.93 (s, 1H, H-9), 6.90 (dd, J= 8.9, 8.4 Hz, 2H, H-5' y H-3'), 6.78 (s, 1H, H-6), 5.96 (s, 1H, OCH₂O-α), 5.75 (s, 1H, OCH₂O-β), 4.56 (dd, 1H, J= 13.7, 4.3 Hz, CH₂-2α), 4.28 (d, 1H, J= 10.8 Hz, H-9b), 2.91 (m, 2H, CH₂-5α y CH₂-2β), 2.33 (m, 2H, H-4a y CH₂-5β), 2.16 (m, 1H, CH₂-4α), 1.61 (m, 3H, CH₂-4β y CH₂-3);

¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) δ 159.6 (C-4', J= 241 Hz), 155.7 (CO), 148.7 (C-8), 147.1 (C-7), 135.8 (C-5a), 134.8 (C-1'), 132.4 (C-9a), 120.9 (CH-2' y CH-6', J=7.5 Hz), 115.2 (CH-3' y CH-5', J= 21.3 Hz), 106.7 (CH-6), 104.7 (CH-9), 101.5 (OCH₂O), 69.9 (CH-9b), 49.3 (CH₂-2), 46.2 (CH-4a), 35.3 (CH₂-5), 29.7 (CH₂-4), 24.9 (CH₂-3);

EMIE *m/z* (%) 377 [M+Na]⁺ (100), 355 (25), 326 (25), 309 (15), 241 (25); HRESIMS *m/z* 355.1457 [M+H]⁺ (C₂₀H₂₀N₂O₃F, calc. 355.1458).

- Preparación de 7,8-metilendioxi-*N*-fenil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-1*H*-indeno [1,2-*b*]piridin-1-acetamida, **8d**



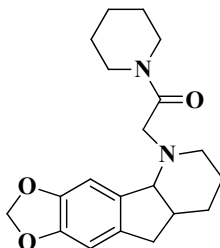
A una disolución de **8b** (200 mg, 0.92 mmol) en CH₃CN (20 mL) se le añade Et₃N (0.12 ml, 0.92 mmol) y 2-bromo-*N*-fenilacetamida (1.15 mmol). La mezcla de reacción se lleva a refluxo bajo atmósfera de N₂ durante 2 h. La suspensión se lava con CH₂Cl₂ (3 x 10 mL) y se evapora a sequedad. El residuo se purifica con (CH₂Cl₂/MeOH 97:3) para obtener la correspondiente HHIP alquil-amida **8d** (0.86 mmol, 93%).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 9.66 (s, 1H, NH), 7.65 (m, 2H, H-2' y H-6'), 7.36 (m, 2H, H-3' y H-5'), 7.12 (m, 1H, H-4'), 6.70 (s, 1H, H-6), 6.60 (s, 1H, H-9), 5.89 (s, 2H, OCH₂O), 3.80 (d, 1H, J= 8.7 Hz, H-9b), 3.32 (m, 2H, CH₂CO), 3.01 (m, 2H, CH₂-2), 2.75 (dd, 1H, J= 14.2, 6.1 Hz, CH₂-5α), 2.32 (m, 1H, CH₂-5β), 2.05 (m, 1H, CH₂-4α), 1.78 (m, 1H, H-4a) 1.60 (m, 1H, CH₂-3α), 1.52 (m, 1H, CH₂-4β), 1.37 (m, 1H, CH₂-3β);

¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) δ 169.9 (CO), 146.9 (C-8), 146.5 (C-7), 137.7 (C-5a), 135.6 (C-9a y C-1'), 129.0 (CH-3' y CH-5'), 124.2 (CH-4'), 119.6 (CH-2' y CH-6'), 106.1 (CH-6), 103.3 (CH-9), 100.9 (OCH₂O), 72.6 (CH-9b), 52.9 (CH₂-2), 51.7 (CH₂CO), 43.8 (CH-4a), 35.1 (CH₂-5), 29.7 (CH₂-4), 20.6 (CH₂-3);

EMIE *m/z* (%) 351 [M+H]⁺ (100), 282 (25); HRESIMS *m/z* 351.1707 [M+H]⁺ (C₂₁H₂₃N₂O₃, calc. 351.1709).

- Preparación de 7,8-metilendioxi-N-(piperidin-1-il)-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-1H-indeno [1,2-b]piridin-1-etanona, **8e**



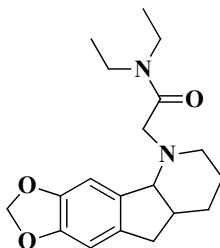
Este compuesto se prepara de acuerdo con el procedimiento mencionado para **8d**, utilizando **8b** (200 mg, 0.92 mmol) en CH₃CN (20 mL) se le añade Et₃N (0.12 ml, 0.92 mmol) y a continuación 2-bromo-1-(piperidin-1-il)etanona (1.15 mmol). El residuo se purifica con (CH₂Cl₂/MeOH 97:3) para obtener la correspondiente HHIP alquil-amida **8e** (0.77 mmol, 84%).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 6.76 (s, 1H, H-9), 6.69 (s, 1H, H-6), 5.93 (s, 1H, OCH₂O-α), 5.89 (s, 1H, OCH₂O-β), 3.80 (d, 1H, J= 9.4 Hz, H-9b), 3.64 (d, 1H, J= 12.9 Hz, CH₂CO-α), 3.58-3.53 (m, 4H, CH₂-2' y CH₂-6'), 3.44 (m, 1H, CH₂CO-β), 3.16 (dd, J= 13.5, 4.1 Hz, 1H, CH₂-2α), 2.91 (m, 1H, CH₂-2β), 2.73 (dd, 1H, J= 12.6, 6.4 Hz, CH₂-5α), 2.28 (m, 1H, CH₂-5β), 2.12 (m, 1H, H-4a), 2.02 (m, 1H, CH₂-4α), 1.79 (m, 1H, CH₂-3α), 1.56-1.54 (m, 7H, CH₂-4β, CH₂-3', CH₂-4' y CH₂-5'), 1.53 (m, 1H, CH₂-3β);

¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) δ 168.4 (CO), 146.6 (C-8), 146.2 (C-7), 135.9 (C-5a y C-9a), 106.0 (CH-6), 104.3 (CH-9), 100.9 (OCH₂O), 72.7 (CH-9b), 52.5 (CH₂-2), 50.5 (CH₂CO), 46.4 (CH₂-2'), 43.0 (CH-4a), 42.8 (CH₂-6'), 35.3 (CH₂-5), 29.8 (CH₂-4), 26.5 (CH₂-3'), 25.6 (CH₂-5'), 24.5 (CH₂-4'), 20.9 (CH₂-3);

EMIE *m/z* (%) 343 [M+H]⁺ (10), 230 (100); HRESIMS *m/z* 343.2019 [M+H]⁺ (C₂₀H₂₇N₂O₃, calc. 343.2022).

- Preparación de 7,8-metilendioxi-*N,N*-dietil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-1*H*-indeno [1,2-*b*]piridin-1-etanona, **8f**



Este compuesto se prepara de acuerdo con el procedimiento mencionado para **8d**, utilizando **8b** (200 mg, 0.92 mmol) en CH₃CN (20 mL) se le añade Et₃N (0.12 ml, 0.92 mmol) y posteriormente 2-bromo-*N,N*-dietilacetamida (1.15 mmol). El residuo se purifica con (CH₂Cl₂/MeOH 97:3) hasta obtener la correspondiente HHIP alquil-amida **8f** (0.82 mmol, 89%).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 6.76 (s, 1H, H-9), 6.69 (s, 1H, H-6), 5.92 (s, 1H, OCH₂O-α), 5.88 (s, 1H, OCH₂O-β), 3.80 (d, 1H, J= 9.4 Hz, H-9b), 3.54 (d, 1H, J= 13.2Hz, CH₂CO-α), 3.43 (m, 3H, CH₂CO-β, CH₂-2'α y CH₂-4'α), 3.36 (m, 2H, CH₂-2'β y CH₂-4'β), 3.17 (m, 1H, CH₂-2α), 2.92 (td, 1H, J= 12.1, 2.1, Hz, CH₂-2β), 2.73 (dd, 1H, J= 12.6, 6.2 Hz, CH₂-5α), 2.28 (m, 1H, CH₂-5β), 2.12 (m, 1H, H-4a), 2.03 (m, 1H, CH₂-4α), 1.82 (m, 1H, CH₂-3α), 1.55 (m, 1H, CH₂-4β), 1.46 (m, 1H, CH₂-3β), 1.14 (m, 6H, CH₃-3' y CH₃-5');

¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) δ 169.4 (CO), 146.6 (C-8), 146.3 (C-7), 135.8 (C-5a), 135.7 (C-9a), 106.0 (CH-6), 104.1 (CH-9), 100.9 (OCH₂O), 72.7 (CH-9b), 52.4 (CH₂-2), 49.9 (CH₂CO), 42.6 (CH-4a), 40.2 (CH₂-2' y CH₂-4'), 35.3 (CH₂-5), 29.9 (CH₂-4), 20.7 (CH₂-3), 14.3 (CH₃-3' y CH₃-5');

EMIE *m/z* (%) 330 [M]⁺ (90), 282 (35); HRESIMS *m/z* 331.2033 [M+H]⁺ (331.2022, calc for C₁₉H₂₇N₂O₃).

II.3.3 Receptores Melatoninérgicos

a) Línea y cultivo celular

Se utilizó la línea celular HEK 293 (riñón embrionario humano) que expresa de forma estable los receptores MT₁ y MT₂ humanos.

La línea celular HEK 293 se cultivó en medio DMEM (Medio de cultivo Eagle modificado de Dulbecco) suplementado con 10% de suero de ternero fetal, 2 mM de glutamina, 100 UI/mL de penicilina y 100 µg/mL de estreptomicina. Se cultivó a 37°C (95% de O₂ / 5% de CO₂), se recogió en PBS que contenía EDTA 2 mM y se centrifugaron a 1000 g durante 5 min (4°C). El precipitado resultante se suspendió en Tris 5 mM (pH 7.5), que contenía EDTA 2 mM y se homogeneizó utilizando un polytron Kinematica. El homogenado se centrifugó (95000 g, 30 min, 4°C) y el precipitado resultante se suspendió en Tris 75 mM (pH 7.5), MgCl₂ 12.5 mM y EDTA 2 mM. Las alícuotas de las preparaciones de membrana se almacenaron a -80°C hasta su uso.

b) Radioligandos

El radioligando empleado para los ensayos de competición fue 2-[¹²⁵I]-yodo-melatonina (actividad específica: 2200 Ci/mmol) que se adquirió de NEN (Boston, MA, EE.UU).

c) Ensayos de competición

La afinidad de los compuestos por los receptores MT₁ y MT₂ humanos, transfectados de forma estable en células HEK 293, se evaluó mediante

experimentos de competición utilizando 2 [¹²⁵I]-yodo-melatonina como radioligando [121]. El ensayo se inició por adición de preparaciones de membrana, obtenidas de células HEK transfectadas de forma estable (40 µg/mL) y diluidas en una solución de tampón en el tampón (Tris-HCl 50 mM, pH 7.4 y MgCl₂ 5 mM), en 2-[¹²⁵I]-yodo-melatonina (25 o 200 pM para los receptores MT₁ y MT₂, respectivamente) y el compuesto ensayado. La unión no específica se realizó en presencia de melatonina 1 µM. Después de 120 min de incubación a 37 °C, la reacción se detuvo por filtración rápida a través de filtros GF/B previamente empapados en polietilenimina 5 % (v/v). Los filtros se lavaron tres veces con 1 mL de tampón Tris-HCl (50 mM, pH 7.4) previamente enfriado con hielo.

Los datos de las curvas dosis-respuesta (siete concentraciones por duplicado) se analizaron con el programa PRISM (Graph Pad Software Inc., San Diego, CA, EE.UU.) para obtener la CI₅₀ (concentración inhibitoria del 50%). Los resultados se expresaron como $K_i = CI_{50} / (1 + ([L] / K_D))$, donde [L] es la concentración de radioligando usado en el ensayo y K_D, la constante de disociación del radioligando.

Conclusiones

*“Síntesis de Isoquinoleinas Dopaminérgicas y de Indenopiridinas
Melatoninérgicas”*

Conclusiones

1. Hemos sintetizado dos series de 1-bencil-IQ, monobromada y diclorada en el anillo bencilico: series **1** y **2** respectivamente. Ambas mantienen el mismo núcleo isoquinoleínico, sustituido por un átomo de Cl y una función oxigenada, con el nitrógeno en forma de amina secundaria o terciaria.
2. Las dos series de 1-bencil-IQ halogenadas poseen mayor afinidad por los RD, que las correspondientes no sustituidas en el anillo bencilico, aunque muestran una menor selectividad. Cabe destacar que las 1-bencil-IQ monobromadas, de la serie **1**, poseen una afinidad 10 veces superior por los RD que las de la serie **2**, 1-bencil-IQ diclorada.
3. Las 1-alkil-IQ quirales, presentaron una moderada selectividad por los receptores D₂, siendo el enantiómero *S* el de mayor afinidad. Sin embargo, el análogo racémico con un átomo de Cl en el núcleo IQ, resultó ser el compuesto de mayor afinidad de la serie.
4. El estudio de Modelización Molecular sobre el receptor D₂ muestra que los cálculos teóricos están en concordancia con los resultados de afinidad por los RD. Se puede observar una clara interacción entre los ligandos con OH fenólicos y los aminoácidos implicados en la unión al receptor, además de una libertad de movimiento y por tanto una mejor acomodación en el receptor de los restos butilo,

bencilo y bencil-halogenados con preferencia al resto fenilo, que resulta considerablemente más rígido.

5. Sintetizamos los primeros derivados de un esqueleto novedoso, las hexaidroindenopiridinas (HHIP), mediante un procedimiento puesto a punto por nuestro grupo de investigación. Se partió de dos 1-indanonas diferentes, la 5-metoxi-6-cloro y la 5,6-metilendioxi, para obtener a través de la alquilación de una enamina intermedia con el bromuro de propilamina, el esqueleto HHIP con buenos rendimientos.
6. Se prepararon HHIP con diversas sustituciones sobre el nitrógeno piperidínico: acilo, carbamato y alquilamida, lo que nos permitió obtener moléculas con diferencias sustanciales en cuanto a su afinidad por los receptores de la melatonina: MT₁ y MT₂. Se observaron claramente dos tendencias: las HHIP de la serie **7**, sustituidas en el anillo aromático por un OMe y un Cl, presentaron afinidad por ambos receptores; y las HHIP de la serie **8**, sustituidas en el anillo aromático por un grupo metilendioxi, mostraron afinidad y además selectividad por uno de los dos receptores.
7. Se trata por tanto de una nueva familia de moléculas con afinidad por los receptores de la melatonina, candidatas a ser utilizadas en terapéutica como reguladores de los trastornos del sueño y/o como antidepresivos.

Bibliografía

*“Síntesis de Isoquinoleinas Dopaminérgicas y de Indenopiridinas
Melatoninérgicas”*

BIBLIOGRAFIA

- [1] Oloff, S., Mailman, R.B. y Tropsha, A.
Application of validated QSAR models of D₁ dopaminergic antagonists for database mining.
J. Med. Chem. **2005**, *48*, 7322-7332.
- [2] Protais, P., Arbaoui, J., Bakkali, E-H., Bermejo, A. y Cortes, D.
Effects of various isoquinoline alkaloids on in vitro ³H-Dopamine uptake by rat striatal synaptosomes.
J. Nat. Prod. **1995**, *58*, 1474-1484.
- [3] Cabedo, N., Protais, P., Cassels, B.K. y Cortes, D.
Synthesis and dopamine receptor selectivity of the benzyltetrahydroisoquinoline (R)-(+)-nor-roefractine.
J. Nat. Prod. **1998**, *61*, 709-712.
- [4] Andreu, I., Cortes, D., Protais, P., Cassels, B.K., Chagraoui, A. y Cabedo, N.
Preparation of dopaminergic N-alkyl-benzyltetrahydroisoquinolines using a "One Pot" procedure in acid medium.
Bioorg. Med. Chem. **2000**, *8*, 889-895.
- [5] Cabedo, N., Andreu, I., Ramírez de Arellano, M.C., Chagraoui, A., Serrano, A., Bermejo, A., Protais, P. y Cortes, D.
Enantioselective syntheses of dopaminergic (R)- and (S)-benzyltetrahydroisoquinolines.
J. Med. Chem. **2001**, *44*, 1794-1801.
- [6] Andreu, I., Cabedo, N., Torres, G., Chagraoui, A., Ramírez de Arellano, M.C., Gil, S., Bermejo, A., Valpuesta, M., Protais, P. y Cortes, D.
Synthesis of dopaminergic 1-cyclohexylmethyl-7,8-dioxygenated tetrahydroisoquinolines by selective heterogenous tandem hydrogenation.
Tetrahedron **2002**, *58*, 10173-10179.
- [7] Párraga, J., Cabedo, N., Andujar, S., Piqueras, L., Moreno, L., Galán, A., Angelina, E., Enriz, R.D., Ivorra, M.D. y Sanz, M.J. y Cortes, D.
2,3,9- and 2,3,11-Trisubstituted tetrahydroprotoberberines as D₂ dopaminergic ligands.
Eur. J. Med. Chem. **2013**, *68*, 150-166.

- [8] Moreno, L., Cabedo, N., Ivorra, M.D., Sanz, M.J., López-Castel, A., Alvarez, M.C. y Cortes, D.
2,4-Dihydro- and 3,4-methylenedioxy-phenanthrene-type alkaloids with high selectivity for D₂ dopamine receptor.
Bioorg. Med. Chem. Lett. **2013**, *23*, 4824-4827.
- [9] Shamma, M.
The Isoquinoline Alkaloids: Chemistry and Pharmacology, Academic Press: New York, **1972**.
- [10] Shamma, M. y Moniot, J.L.
Isoquinoline Alkaloids Research, 1972-1977, Plenum Press: New York, **1978**
- [11] Whaley, W.M. y Govindachari, T.R.
The preparation of 3,4-dihydroisoquinolines and related compounds by the Bischler-Napieralski reaction, in *Organic Reactions*, vol.VI, Adams, R., Adkins, H., Blatt, A. H., Cope, A.C., Mc Grew, F.C., Niemann, C. y Shyder, H.R. Eds., John Wiley y Sons: New York, **1951**.
- [12] Ammar, H.A., Schiff Jr., P.L. y Slatkin, D.J.
Synthesis of 7,7-dimethylaporphine alkaloids.
Heterocycles **1983**, *20*, 451-454.
- [13] Zhang, Z., Lu, X.; Xu, J., Rothfuss, J., Mach, R.H. y Tu, Z.
Synthesis and in vitro evaluation of new analogues as inhibitors for phosphodiesterase 10A.
Eur. J. Med. Chem. **2011**, *46*, 3986-3995.
- [14] Naito, Y., Tanabe, T., Kawabata, Y., Ishikawa, Y. y Nishiyama, S.
Electrochemical construction of the diaryl ethers: a synthetic approach to o-methylthalibrine.
Tetrahedron Lett. **2010**, *51*, 4776-4778.
- [15] Bermejo, A., Andreu, I., Suvire, F., Léonce, S., Caignard, D., H., Renard, P., Pierré, A., Enriz, R.D., Cortes, D. y Cabedo, N.
Syntheses and antitumor targeting G₁ phase of the cell cycle of benzoyldihydroisoquinolines and related 1-substituted isoquinolines.
J. Med. Chem **2002**, *45*, 5058-5068.

- [16] Charifson, P.S., Wyrick, S.D., Hoffman, A.J., Simmons, R.M., Bowen, J.P., McDougald, D.L y Mailman, R.B.
Synthesis and pharmacological characterization of 1-phenyl, 4-phenyl and 1-benzyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines as dopamine receptor ligands.
J. Med. Chem. **1988**, *31*, 1941-1946.
- [17] Minor, D.L., Wyrick, S.D., Charifson, P.S., Watts, V.J., Nichols, D.E. y Mailman, R.B.
Synthesis and molecular modeling of 1-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines and related 5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[*a,h*]quinolizines as D₁ dopamine agonists.
J. Med. Chem. **1994**, *37*, 4317-4328.
- [18] Fordor, G., Gal, J. y Phillips, B.A.
The mechanism of the Bischler Napieralski reaction.
Angew. Chem. Int. Ed. Engl. **1972**, *11*, 919-920.
- [19] Lantos, I., Bhattacharjee, D. y Eggleston, D.S.
Synthesis of 1-phenyl-5H-2-benzazepines by ring expansion of 1-phenyl-1,2-dihydroisoquinolines.
J. Org. Chem. **1986**, *51*, 4147-4150.
- [20] Nicoletti, M., O'Hagan, D. y Slawin, A.M.Z.
The asymmetric Bischler-Napieralski reaction: preparation of 1,3,4-trisubstituted 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines.
J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, **2002**, 116-121.
- [21] Doi, S., Shirai, N. y Sato, Y.
Abnormal products in the Bischler-Napieralski isoquinoline synthesis.
J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, **1997**, 2217-2221.
- [22] Berenguer, I., El Aouad, N., Andujar, S., Romero, V., Suvire, F., Freret, T., Bermejo, A., Ivorra, M.D., Enriz, R.D., Boulouard, M., Cabedo, N. y Cortes, D.
Tetrahydroisoquinolines as dopaminergic ligands: 1-Butyl-7-chloro-6-hydroxytetrahydroisoquinoline, a new compound with antidepressant-like activity in mice.
Bioorg. Med. Chem. **2009**, *17*, 4968-4980.
- [23] Sotomayor, N., Domínguez, E. y Lete, E.
Bischler-Napieralski cyclization-N/C-alkylation sequences for the construction of isoquinoline alkaloids. Synthesis of protoberberines and benzo[*c*]phenanthridines via C-2'-funcionalized 3-arylisoquinolines.
J. Org. Chem. **1996**, *61*, 4062-4072.

- [24] Shamma, M. y Hwang, D.Y.
The synthesis of (±)-thalphenine, thaliglucine and thaliglucinone.
Tetrahedron **1974**, *30*, 2279-2282.
- [25] Awuah, E. y Capretta, A.
Strategies and synthetic methods directed toward the preparation of libraries of substituted isoquinolines.
J. Org. Chem. **2010**, *75*, 5627-5634.
- [26] Cabedo, N., Berenguer, I., Figadère, B. y Cortes, D.
An overview on benzyloisoquinoline derivatives with dopaminergic and serotonergic activities.
Curr. Med. Chem. **2009**, *16*, 2441-2467.
- [27] Yang, Z-Y., Perry, B., y Mukherjee, J.
Fluorinated benzazepines: 1. Synthesis, radiosynthesis and biological evaluation of a series of substituted benzazepines as potential radiotracers for positron emission tomographic studies of dopamine D-1 receptors.
Nucl. Med. Biol. **1996**, *23*, 793-805.
- [28] Wang, X., Stavchansky, S., Bowman, P.D. y Kerwin, S.M.
Cytoprotective effect of caffeic acid phenylethylester (CAPE) and catechol ring-fluorinated CAPE derivatives against menadione-induced oxidative stress in human endothelial cells.
Bioorg. Med. Chem. **2006**, *14*, 4879-4887.
- [29] Chegaev, K., Lazzarato, L., Tosco, P., Cena, C., Marini, E., Rolando, B., Carrupt, P.A., Fruttero, R. y Gasco, A.
NO-Donor COX-2 inhibitors. New nitrooxy-substituted 1,5-diarylimidazoles endowed with COX-2 inhibitory and vasodilator properties.
J. Med. Chem. **2007**, *50*, 1449-1457.
- [30] Carlsson, A.
Dopamine receptor agonists: intrinsic activity vs state of receptor.
J. Neural. Transm. **1983**, *57*, 309-315.
- [31] Clarck, D., Hjorth, S. y Carlsson, A.
Dopamine-receptor agonists: mechanisms underlying autoreceptor selectivity. I. Review of the evidence.
J. Neural. Transm. **1985**, *62*, 151-170.

- [32] Clark, D., Hjorth, S. y Carlsson, A.
Dopamine receptor agonists: mechanisms underlying autoreceptor selectivity.
II. Theoretical considerations.
J. Neural. Transm. **1985**, *62*, 171-207.
- [33] Tamminga, C.A.
Partial dopamine agonist and the treatment of psychosis.
Curr. Neuropharmacol. **2005**, *3*, 3-8.
- [34] Marsden, C.A.
Dopamine: the rewarding years.
Br. J. Pharmacol. **2006**, *147*, S136-S144.
- [35] Gainetdinov, R.R. y Caron, M.G.
Monoamine transporters: from genes to behaviour.
Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. **2003**, *43*, 261-284.
- [36] Zhang, A., Neumeier, J.L. y Baldessarini, R.J.
Recent progress in development of dopamine receptor subtype-selective agents: potential therapeutics for neurological and psychiatric disorders.
Chem. Rev. **2007**, *107*, 274-302.
- [37] Kebabian, J.W. y Calne, D.B.
Multiple receptors for dopamine.
Nature **1979**, *277*, 93-96.
- [38] Missale, C., Nash, S.R., Robinson, S.W., Jaber, M. y Caron, M.G.
Dopamine receptors: from structure to function.
Physiol. Rev. **1998**, *78*, 189-225.
- [39] Sunahara, R.K., Guan, H. C., O'Dowd, B.F., Seemann, P., Laurier, L.G., Ng, G., George, S. R., Torchia, J., Van yol, H.H. y Niznik, H.B.
Cloning for a gene for human dopamine D₅ receptor with higher affinity for dopamine than D₁.
Nature **1991**, *350*, 614-619.
- [40] Levant, B.
The D₃ dopamine receptor: neurobiology and potential clinical relevance.
Pharmacol. Rev. **1997**, *49*, 231-252.

- [41] Luthra, P.M. y Kumar, J.B.S.
Plausible improvements for selective targeting of dopamine receptors in therapy of Parkinson's disease.
Mini-reviews in Med. Chem. **2012**, *14*, 1556-1564.
- [42] Poewe, W.
Treatments for Parkinson disease-past achievements and current clinical needs.
Neurology **2009**, *72*, S65-S73.
- [43] Bobb, A.J., Castellanos, F.X., Addington, A.M. y Rapport, J.L.
Molecular genetic studies of ADHD: 1991 to 2004.
Am. J. Med. Genet. B (Neuropsychiatr. Genet.) **2006**, *141B*, 551-565.
- [44] Howell, L.L. y Wilcox, K.M.
The dopamine transporter and cocaine medication development: drug self-administration in nonhuman primates.
J. Pharmacol. Exp. Ther. **2001**, *298*, 1-6.
- [45] Protais, P., Cortes, D., Pons, J.L., López, S., Villaverde, M.C. y Castedo, L.
Displacement activity of some natural cularine alkaloid at striatal [³H]-SCH 23390 and [³H]-raclopride binding sites.
Experientia **1992**, *48*, 27-30.
- [46] Neumeyer, J.L., Gao, Y., Kula, N.S. y Baldessarini, R.J.
R and *S* enantiomers of 11-hydroxy-N-allynoraporphine and 10,11-dihydroxy-N-allynoraporphine. Synthesis and affinity for dopamine receptors in rat brain tissue.
J. Med. Chem. **1991**, *34*, 24-28.
- [47] Bentley, K.W.
 β -Phenylethylamines and the isoquinoline alkaloids.
Nat. Prod Rep. **2006**, *23*, 444-463.
- [48] Claudi, F., Di Stefano, A., Napolitani, F., Cingolani, G.M., Giorgioni, G., Fontenla, J. A., Montenegro, G.Y., Rivas, M.E., Rosa, E., Michelotto, B., Orlando, G. y Brunetti, L.
Binding and preliminary evaluation of 5-hydroxy- and 10-hydroxy-2,3,12,12a-tetrahydro-1*H*-[1]benzoxepino[2,3,4-*ij*]isoquinolines as dopamine receptors ligands.
J. Med. Chem. **2000**, *43*, 599-608.

- [49] Kubota, S., Masui, T., Fujita, E. y Kupchan, S.M.
The structure and total synthesis of takatonine.
J. Org. Chem. **1996**, *31*, 516-520.
- [50] Taylor, S.R., Ung, A.T. y Pyne, S.G.
The synthesis of 2',2'-bis-benzylisoquinolines and their cytostatic activities.
Tetrahedron **2007**, *63*, 10896-10901.
- [51] Suvire, F.D., Andreu, I., Bermejo, A., Zamora, A., Cortes, D. y Enriz, R.D.
Conformational study of *N*-alkyl-benzyltetrahydroisoquinoline alkaloids.
J. Mol. Struc. (Tetrahedron) **2003**, *666-667*, 109-116.
- [52] Suvire, F.D., Cabedo, N., Chagraoui, A., Zamora, M.A., Cortes, D. y Enriz, R.D.
Molecular recognition and binding mechanism of *N*-alkyl-benzyltetrahydroisoquinolines to the D₁ dopamine receptor. A computational approach.
J. Mol. Struc. (Tetrahedron) **2003**, *666-667*, 455-467.
- [53] Manzour, A., Meng, F., Meador-Woodruff, J.H., Taylor, L.P., Civeri, O. y Akil, H.
Site-directed mutagenesis of the human dopamine D₂ receptor.
Eur. J. Pharm. Mol. Pharmacol. **1992**, *227*, 205-214.
- [54] Hjerde, E., Dahl, S.G. y Sylte, I.
Atypical and typical antipsychotic drug interactions with the dopamine D₂ receptor.
Eur. J. Med. Chem. **2005**, *40*, 185-194.
- [55] Wiens, B.L., Nelson, C.S. y Neve, K.A.
Contribution of serine residues to constitutive and agonist-induced signaling via the D_{2S} dopamine receptor: evidence for multiple agonist.
Mol. Pharmacol. **1998**, *54*, 435-444.
- [56] Andujar, S.A., Migliore de Angel, B.M., Charris, J.E., Israel, A., Suárez-Roca, H., López, S.E., Garrido, M.R., Cabrera, E.V., Visual, G., Rosales, C., Suvire, F.D., Enriz, R.D. y Angel-Guío, J.E.
Synthesis dopaminergic profile and molecular dynamics calculations of *N*-aralkyl substituted 2-aminoindans.
Bioorg Med Chem. **2008**, *16*, 3233-3244.

- [57] Lan, H., Durand, C.J., Teeter, M.M. y Neve, K.A.
Structural determinants of pharmacological specificity between D₁ and D₂ dopamine receptors.
Mol. Pharmacol. **2006**, *69*, 185-194.
- [58] Van Emelen, K., De Wit, T., Hoornaert, G. J. y Compernelle, F.
Synthesis of *cis*-fused hexahydro-4a*H*-indeno[1,2-*b*]pyridine via intramolecular Ritter reaction and their conversion into tricyclic analogues of NK-1 and dopamine receptor ligands.
Tetrahedron. **2002**, *58*, 4225-4236.
- [59] Van Emelen, K., De Wit, T., Hoornaert, G.J. y Compernelle, F.
Diastereoselective intramolecular Ritter reaction: generation of a *cis*-fused hexahydro-4a*H*-indeno[1,2-*b*]pyridine ring system with 4a,9b-diangular substituents.
Org. Lett. **2000**, *2*, 4225-4236.
- [60] De Wit, T., Van Emelen, K., Maertens, F., Hoornaert, G.J. y Compernelle, F.
Cis-fused hexahydro-4a*H*-indeno[1,2-*b*]pyridine: transformation of bridgehead ester group and conversion to tricyclic analogues of NK-1 and dopamine receptor ligands.
Tetrahedron Lett. **2001**, *42*, 4919-4922.
- [61] Sterling, J., Herzig, Y., Goren, T., Finkelstein, N., Lerner, D., Goldenberg, W., Miskolczi, I., Molnar, S., Rantal, F., Tamas, T., Toth, G., Zagyyva, A., Zekany, A., Lavian, G., Gross, A., Friedman, R., Razin, M., Huang, W., Kraiss, B., Chorev, M., Youdin, M. B. y Weinstock, M.
Novel dual inhibitors of AChE and MAO derived from hydroxy aminoindan and phenethylamine as potential treatment for Alzheimer's disease.
J. Med. Chem. **2002**, *45*, 5260-5279.
- [62] Augstein, J., Ham, A. L. y Leeming, P. R.
Relationship between antihistamine and antidepressant activity in hexahydroindenopyridines.
J. Med. Chem. **1972**, *15*, 466-470.
- [63] Kunstmann, R., Lerch, U., Gerhards, H., Leven, M. y Schacht, U.
2,3,4,4a,5,9b-Hexahydro-1*H*-indeno[1,2-*b*]pyridines: potential antidepressants.
J. Med. Chem. **1984**, *27*, 432-439.
- [64] Hong, B-C., Hallur, M. S. y Liao, J-H.
Hetero Diels-Alder cycloaddition of indene for the formal synthesis of onychnine.
Synth. Commun. **2006**, *36*, 1521-1528.

- [65] De Almeida, M.E.I., Braz, F.R., von Bulow, M.V., Gottlieb, O.R. y Maia, J.G.S.
The chemistry of Brazilian Annonaceae. Part 1. Onychine, an alkaloid from *Onychopetalum amazonicum*.
Phytochem. **1976**, *15*, 1186-1187.
- [66] Kunstmann, R. y Fischer, G.
Molecular analysis of hexahydro-1*H*-indeno[1,2-*b*]pyridines: potential antidepressants.
J. Med. Chem. **1984**, *27*, 1312-1316.
- [67] Heninger, G.R.
Serotonin, sex, and psychiatric ions.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **1996**, *94*, 4823-4824.
- [68] Bikker, J.A., Trumpp-Kallmeyer, S. y Humblet, C.
G-protein coupled receptors: models, mutagenesis, and drug design.
J. Med. Chem. **1998**, *41*, 2911-2927.
- [69] Meyer, M.D., Debernardis, J.F. y Hancock, A.A.
Synthesis and structure relationship of *cis*- and *trans*-2,3,4,4a,9,9a-hexahydro-1*H*-indeno[2,1-*c*]pyridines for 5-HT receptor subtypes.
J. Med. Chem. **1994**, *37*, 105-112.
- [70] Cook, C.E., Wani, M.C., Jump, J.M., Lee, Y-W., Fail, P.A., Anderson, S.A., Gu, Y-Q. y Petrow, V.
Structure-activity studies of 2,3,4,4a,5,9b-hexahydro-1*H*-indeno[1,2-*c*]pyridines as antispermatogenic agents for male contraception.
J. Med. Chem. **1995**, *38*, 753-763.
- [71] Cook, C. E., Jump, J. M., Zhang, P., Stephens, J. R., Lee, Y-W., Fail, P. A. y Anderson, S. A.
Exceptionally potent antispermatogenic compounds from 8-halogenation of (4aRS, 5RS, 9bRS)-hexahydroindeno[1,2-*c*]pyridines.
J. Med. Chem. **1997**, *40*, 2111-2112.
- [72] Jump, J.M., McPhail, A.T. y Cook, C.E.
Reversal of expected stereochemical outcome in the Oppolzer reaction of a cyclic *N*-enoylsultam: enantioselective synthesis and absolute configuration of antispermatogenic hexahydroindeno[1,2-*c*]pyridines.
Tetrahedron Lett. **1997**, *38*, 3691-3694.

- [73] Stevenson, G.I., MacLeod, I.H., Cascieri, S.S. y Baker, R.
4,4-Disubstituted piperidines: a new class of NK-1 antagonist.
J. Med Chem. **1995**, *38*, 1264-1266.
- [74] Arendt, J., Deacon, S., English, J., Hampton, S. y Morgan, L.
Melatonin and adjustment to phase shift.
J. Sleep. Res. **1995**, *4*, 74-79.
- [75] Delagrangé, P., Atkinson, J., Boutin, J.A., Casteilla, L., Lesieur, D., Misslin, R., Pellissier, S., Pénicaud, L. y Renard, P.
Therapeutic perspectives for melatonin agonists and antagonists.
J. Neuroendocrinol. **2003**, *15*, 442-448.
- [76] Boutin, J.A., Audinot, V., Ferry, G. y Delagrangé, P.
Molecular tools to study melatonin pathways and actions.
Trends Pharmacol. Sci. **2005**, *26*, 412-419.
- [77] Florez, J.
Farmacología humana.
Toctris Cookson **2003**, .501-503.
- [78] Sugden, D.
Melatonin receptors.
Toctris Cookson **2000**, 1-3.
- [79] Guerrero, J.M. y Reiter, R.J.
Melatonin-immune system relationships.
Curr. Top. Med. Chem. **2002**, *2*, 167-169.
- [80] Dubocovich, M.L., Mansana, M.I. y Benloucif, S.
Molecular pharmacology and function of melatonin receptor subtype. *Adv. Exp. Med. Biol.* **1999**, *460*, 181-190.
- [81] Malpoux, B., Migaud, M., Tricoire, H. y Chemineau, P.
Biology of mammalian photoperiodism and the critical role of the pineal gland and melatonin.
J. Biol. Rhythms. **2001**, *16*, 336-347.
- [82] Reiter, R.J.
The melatonin rhythm: Both a clock and a calendar.
Experientia **1993**, *49*, 654-664.

- [83] Reppert, S.M., Weaver, D.R. y Ebisawa T.
Cloning and characterization of a mammalian melatonin receptor that mediates reproductive and circadian responses.
Neuron. **1994**, *13*, 1177-1185.
- [84] Reppert, S.M., Godson, C., Mahle, C.D., Weave, D.R., Slaugenhaupt, S.A. y Gusella, J.F.
Molecular characterization of a second melatonin receptor expressed in human retina and brain: The Mel1b melatonin receptor.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **1995**, *92*, 734-8738.
- [85] Duncan, M.J., Takahashi, J.S. y Dubocovich, M.L.
2-[¹²⁵I]-iodomelatonin binding sites in hamster brain membranes: pharmacological characteristics and regional distribution.
Endocrinology, **1988**, *122*, 1825-1833.
- [86] Duncan, M.J., Takahashi, J.S. y Dubocovich, M.L.
Characteristics and autoradiographic localization of 2-[¹²⁵I]-iodomelatonin binding sites in Djungarian hamster brain.
Endocrinology **1989**, *125*, 1011-1018.
- [87] Pickering, D.S. y Niles, L.P.
Pharmacological characterization of melatonin binding sites in Syrian hamster hypothalamus.
Eur. J. Pharmacol. **1990**, *175*, 71-77.
- [88] Paul, P., Lahaye, C., Delagrangé, P., Nicolas, J.P., Canet, E. y Boutin, J.A.
Characterization of 2-[¹²⁵I]-iodomelatonin binding sites in Syrian hamster peripheral organs.
J. Pharmacol. Exp. Ther. **1999**, *290*, 334-340.
- [89] Nosjean, O., Ferro, M., Coge, F., Beauverger, P., Henlin, J.M., Lefoulon, F., Fauchere, J.L., Delagrangé, P., Canet, E., Boutin, J.A.
MT1 melatonin receptors mediate somatic, behavioral, and reproductive neuroendocrine responses to photoperiod and melatonin in Siberian hamsters.
J. Biol. Chem. **2000**, *275*, 31311-31317.
- [90] Dubocovich, M.L.
Pharmacology and function of melatonin receptors.
FASEB J. **1988**, *2*, 2765-2773.
- [91] Dubocovich, M.L.
Melatonin receptors: are there multiple subtypes?
Trends Pharmacol. Sci. **1995**, *16*, 50-56.

- [92] Molinari, E.J., North, P.C. y Dubocovich, M.L.
2-[¹²⁵I]-iodo-5-methoxycarbonylamino-*N*-acetyltryptamine: a selective radioligand for the characterization of melatonin ML2 binding sites.
Eur. J. Pharmacol. **1996**, *301*, 159-168.
- [93] Nosjean, O., Ferro, M., Coge, F., Beauverger, P., Henlin, J.M., Lefoulon, F., Fauchère, J.L., Delagrangé, P., Canet, E. y Boutin, J.A.
Identification of the melatonin-binding site MT₃ as the quinone reductase 2.
J. Biol. Chem. **2000**, *275*, 31311-31317.
- [94] Nosjean, O., Nicolas, J.P., Klupsch, F., Delagrangé, P., Canet, E. y Boutin, J.A.
Comparative pharmacological studies of melatonin receptors: MT₁, MT₂ and MT₃/QR₂. Tissue distribution of MT₃/QR₂.
Biochem. Pharmacol. **2001**, *61*, 1369-1379.
- [95] Lotufo, C.M.C., Lopes, C., Dubocovich, M.L., Farsky, S.H.P. y Markus, R.P.
Melatonin and *N*-acetylserotonin inhibit leukocyte rolling and adhesion to rat microcirculation.
Eur. J. Pharmacol. **2001**, *430*, 351-357.
- [96] Pintor, J., Martín, L., Peláez, T., Hoyle, C.H.V. y Peral, A.
Involvement of melatonin MT₃ receptors in the regulation of intraocular pressure in rabbits.
Eur. J. Pharmacol. **2001**, *416*, 251-254.
- [97] Dubocovich, M.L., Masana, M.I., Iacob, S. y Sauri, D.M.
Melatonin receptor antagonists that differentiate between the human Mel_{1a} and Mel_{1b} recombinant subtypes are used to assess the pharmacological profile of the rabbit retina ML₁ presynaptic heteroreceptor.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. **1997**, *355*, 365-375.
- [98] Teh, M.T. y Sugden, D.
Comparison of the structure-activity relationships of melatonin receptor agonists and antagonists: lengthening the *N*-acyl side-chain has differing effects on potency on *Xenopus* melanophores.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. **1998**, *358*, 522-528.
- [99] Sugden, D., Yeh, L.K. y Teh, M.T.
Design of subtype selective melatonin receptor agonists and antagonists.
Reprod. Nutr. Dev. **1999**, *39*, 335-344.

- [100] Faust, R., Garratt, P.J., Jones, R. y Yeh, L.K.
Mapping the melatonin receptor. 6.Melatonin agonists and antagonists derived from 6*H*-isoindolo[2,1- α]indoles, 5,6-dihydroindolo[2,1 α]isoquinolines, and 6,7-dihydro-5*H*-benzo[*c*]azepino[2,1- α]indoles.
J. Med. Chem. **2000**, *43*, 1050-061.
- [101] Spadoni, G., Balsamini, C., Diamantini, G., Tontini, A. y Tarzia G.
2-*N*-Acylaminoalkylindoles: design and quantitative structure-activity relationship studies leading to MT₂-selective melatonin antagonists.
J. Med. Chem. **2001**, *44*, 2900-2912.
- [102] Wallez, V., Durieux-Poissonnier, S., Chavatte, P., Boutin, J.A., Audinot, V., Nicolas, J.P., Bennejean, C., Delagrangé, P., Renard, P. y Lesieur, D.
Synthesis and structure-activity relationships of novel benzofuran derivatives as MT(2) melatonin receptor selective ligands.
J. Med. Chem. **2002**, *45*, 2788-2800.
- [103] Zlotos, D.P.
Recent advances in melatonin receptor ligands.
Arch. Pharm. Chem. Life Sci. **2005**, *338*, 229-247.
- [104] Garratt, P.J. y Tsotinis, A.
Synthesis of compounds as melatonin agonists and antagonists.
Mini-Rev.Med. Chem. **2007**, *7*, 1075-1088.
- [105] Carocci, A., Catalano, A., Lovece, A., Lentini, G.,Duranti, A., Lucini, V., Pannacci, M., Scaglione, F. y Franchini, C.
Design, synthesis, and pharmacological effects of structurally simple ligands for MT₁ and MT₂ melatonin receptors.
Bioorg. Med. Chem. **2010**, *18*, 6496-6511.
- [106] Tsotinis, A., Afroudakis, P.A., Davidson, K., Prashar, A. y Sugden, D.
Design, synthesis, and melatoninergetic activity of new azido- and isothiocyanato-substituted indoles.
J. Med. Chem. **2007**, *50*, 6436-6440.
- [107] Nonno, R., Pannacci, M., Lucini, V., Angeloni, D., Fraschini, F. y Stankov, B.M.
Ligand efficacy and potency at recombinant human MT₂ melatonin receptors: Evidence for agonist activity of some MT₁-antagonists.
Br. J. Pharmacol. **1999**, *127*, 1288-1294.

- [108] Fisher, S.P. y Sugden, D.
Sleep-promoting action of IIK7, a selective MT₂ melatonin receptor agonist in the rat.
Neurosci. Lett. **2009**, *457*, 93-96.
- [109] Koike, T., Hoashi, Y., Takai, T., Nakayama, M., Yukuhiro, N., Ishikawa, T., Hirai, K. y Uchikawa, O.
1,6-Dihydro-2*H*-indeno[5,4-*b*]furan derivatives: Design, synthesis and pharmacological characterization of a novel class of highly potent MT₂-selective agonists.
J. Med. Chem. **2011**, *54*, 3436-3444.
- [110] Ettaoussi, M., Sabaouni, A., Rami, M., Boutin, J.A., Delagrangre, P., Renard, P., Spedding, M., Caignard, D.H., Berthelot, P. y Yous, S.
Design, synthesis and pharmacological evaluation of new series of naphthalenic analogues as melatoninérgic (MT₁/MT₂) and serotoninérgic 5-HT_{2C} dual ligands (I).
Eur. J. Med. Chem. **2012**, *49*, 310-323.
- [111] Markl, C., Attia, M.I., Julius, J., Sethi, S., Witt-Enderby, P.A. y Zlotos, D.P.
Synthesis and pharmacological evaluation of 1,2,3,4-tetrahydropyrazino [1,2-*a*]indole and 2-[(phenylmethylamino) methyl]-1*H*-indole analogues as novel melatoninérgic ligands. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 4583-4594.
- [112] Attia, M.I., Witt-Enderby, P.A. y Julius, J.
Synthesis and pharmacological evaluation of pentacyclic 6*a*,7-dihydroindole and 2,3-dihydroindole derivatives as novel melatoninérgic ligands.
Bioorg. Med. Chem. **2008**, *16*, 7654-7661.
- [113] Simpson, D. y Curran, M.P.
Ramelteon: A review of its use in insomnia.
Drugs **2008**, *68*, 1901-1919.
- [114] Montgomery, S.A.
Major depressive disorders: Clinical efficacy and tolerability of agomelatine, a new melatoninérgicagonist.
Eur. Neuropsychopharmacol. **2006**, *16*, S633-S638.
- [115] Dageyte, G., Trentani, A., Postema, F., Luiten, P.G., Den Boer, J.A., Gabriel, C., Mocaër, E. Meerlo, P. y Van der Zee, E.
The novel antidepressant agomelatine normalizes hippocampal neuronal activity and promotes neurogenesis in chronically stressed rats.
CNS Neurosci. Ther. **2010**, *16*, 195-207.

- [116] Dageyte, G., Luiten, P.G., De Jager, T., Gabriel, C., Mocaër, E., Den Boer, J.A. y Van der Zee, E.
Chronic stress and antidepressant agomelatine induce region-specific changes in synapsin I expression in the rat brain.
J. Neurosci. Res. **2011**, *89*, 1646-1657.
- [117] Mathé-Allainmat, M., Andrieux, J. y Langlois, M.
Recent developments in melatonin receptor ligands.
Expert Opin. Ther. Pat. **1997**, *7*, 1447-1458.
- [118] Marot, C., Chavatte, P., Morin-Allory, L., Guillaumet, G., Viaud-Massuard, M.C., Renard, P., Lesieur, D. y Michel, A.
Pharmacophoric search and 3D-QSAR comparative molecular field analysis studies on agonists of melatonin sheep receptors.
J. Med. Chem. **1998**, *41*, 4453-4465.
- [119] Rami, M., Landagaray, E., Ettaoussi, M., Boukhalifa, K., Caignard, D-H., Delagrance, P., Berthelot, P. y Yous, S.
Novel conformationally constrained analogues of agomelatine as new melatonergic ligands
Molecules **2013**, *18*, 154-166.
- [120] Guinot, S. G. R., Hepworth, J. D. y Wainwright, M.
Synthesis of tertiary 1-naphthylamines via the enamine.
Dyes & Pigments. **1998**, *36*, 387-393.
- [121] Parcell, R. F. y Hauck, JR., F.P.
The preparation of tetrahydropyridines from enamines and imines.
J. Org. Chem. **1963**, *28*, 3468-3473.
- [122] Poissonnier-Durieux, S., Ettaoussi, M., Pérès, B., Boutin, J. A., Audinot, V., Bennejean, C., Delagrance, P., Caignard, D. H., Renard, P., Berthelot, P., Lesieur, D., Yous, S.
Synthesis of 3-phenylnaphthalenic derivatives as new selective MT₂ melatonergic ligands.
Bioorg. Med. Chem. **2008**, *16*, 8339-8348.