



VNIVERSITAT
ID VALÈNCIA

Doctorado en Biomedicina y Farmacia

**Síntesis de nuevas isoquinoleínas 1-sustituidas con
actividad antibacteriana y antifúngica o dopaminérgica**

*Synthesis of new 1-substituted isoquinolines with antibacterial and
antifungal or dopaminergic activity*

TESIS DOCTORAL

Abraham Galán Morant

Valencia 2015

Directores:

Diego M. Cortes Martínez

M^a Jesús Sanz Ferrando

Nuria Cabedo Escrig



VNIVERSITAT
ID VALÈNCIA

FACULTAT DE FARMÀCIA
DEPARTAMENT DE FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE DOCTORADO EN BIOMEDICINA Y FARMACIA

**Síntesis de nuevas isoquinoleínas 1-sustituidas con
actividad antibacteriana y antifúngica o dopaminérgica**

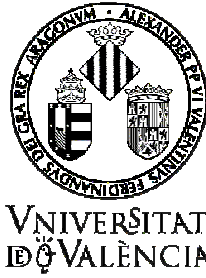
*Synthesis of new 1-substituted isoquinolines with antibacterial and
antifungal or dopaminergic activity*

TESIS DOCTORAL

presentada por:

Abraham Galán Morant

Valencia, Noviembre 2015



**FACULTAT DE FARMÀCIA
DEPARTAMENT DE FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE DOCTORADO EN BIOMEDICINA Y FARMACIA**

D. Diego M. Cortes Martínez, catedrático del Departamento de Farmacología de la Universitat de València, Dña. M^a Jesús Sanz Ferrando, catedrática del Departamento de Farmacología de la Universitat de València, y Dña. Nuria Cabedo Escrig, investigadora en Biopolis S.L. ubicada en el Parque Científico de la Universitat de València,

CERTIFICAN:

*Que el trabajo presentado por el Ldo. Abraham Galán Morant, titulado:
“Síntesis de nuevas isoquinoleínas 1-sustituidas con actividad antibacteriana y antifúngica o dopaminérgica”, 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, 30 de Noviembre de 2015

Dr. Diego M. Cortes Martínez Dra. M^a Jesús Sanz Ferrando Dra. Nuria Cabedo Escrig



Barts and The London
School of Medicine and Dentistry

**WILLIAM HARVEY
RESEARCH INSTITUTE**

William Harvey Research Institute
Barts and The London SMD
John Vane Science Centre
Charterhouse Square
London EC1M 6BQ
United Kingdom

Tel: +44 (0)20 7882 8782
Fax: +44 (0)20 7882 6076

Email: m.perretti@qmul.ac.uk

15th October 2015

TO WHOM IT MAY CONCERN

Ref: Abraham Galán Morant

I am writing to confirm Abraham Galán Morant was a visiting student at WHRI, QMUL for 3 months during the period 1st June-31st August 2014.

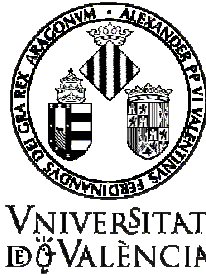
Mr Galán was carrying out a grant project entitled: "Síntesis de nuevas Isoquinoleinas 1-sustituidas con actividad antimicrobiana" (Synthesis of new 1-substituted isoquinolines with antimicrobial activity"), working in the departmental laboratory with fellow students and scientists.

Yours faithfully,

Mauro Perretti
Professor of Immunopharmacology
Co-Director of the William Harvey Research Institute
Dean for Research and Research Impact

www.whri.qmul.ac.uk

Research Excellence Framework 2014: 90% of our research was judged world-class or internationally excellent



**FACULTAT DE FARMÀCIA
DEPARTAMENT DE FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE DOCTORADO EN BIOMEDICINA Y FARMACIA**

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

a) Proyectos públicos

- ❖ Proyecto concedido por el C. I. C. Y. T. (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 Valentia Biopharma, 2011-2013.
“Síntesis de moléculas bioactivas”

c) Becas

- ❖ Beca predoctoral del Programa de Formación de Profesorado Universitario FPU, concedida por el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte para realizar el proyecto “Síntesis de nuevas isoquinoleínas 1-sustituidas con actividad antimicrobiana”.
- ❖ Estancias breves predoctorales concedidas y sufragadas dentro de la beca del Programa de Formación de Profesorado Universitario FPU por el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte.

El doctorando ha colaborado en los siguientes **artículos científicos**:

- ❖ Moreno, L.; Párraga, J.; **Galán, A.**; Cabedo, N.; Primo, J. y Cortes, D.
Synthesis of new antimicrobial pyrrolo[2,1-*a*]isoquinoline-3-ones.
Bioorg. Med. Chem. **2012**, *20*, 6589-6597.
- ❖ **Galán, A.**; Moreno, L.; Párraga, J.; Serrano, Á.; Sanz, M. J.; Cortes, D. y Cabedo, N.
Novel isoquinoline derivatives as antimicrobial agents.
Bioorg. Med. Chem. **2013**, *21*, 3221-3230.

- ❖ Párraga, J.; Cabedo, N.; Andujar, S.; Piqueras, L.; Moreno, L.; **Galán, A.**; Angelina, E.; Enriz, R. D.; Ivorra, M. D.; 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.

- ❖ Moreno, L.; Cabedo, N.; Boulangé, A.; Párraga, J.; **Galán, A.**; Leleu, S.; Sanz, M. J.; Cortes, D. y Franck, X.
Synthesis of pyrido[2,1-*a*]isoquinolin-4-ones and oxazino[2,3-*a*]isoquinolin-4-ones: new inhibitors of mitochondrial respiratory chain.
Eur. J. Med. Chem. **2013**, *69*, 69-76.

- ❖ Cortes, D.; Moreno, L.; Párraga, J.; **Galán, A.** y Cabedo, N.
Nuevos fármacos inspirados en Annonáceas.
Rev. Bras. Frutic. **2014**, *36*, 22-31.

- ❖ Párraga, J.; Moreno, L.; Diaz, A.; El Aouad, N.; **Galán, A.**; Sanz, M. J.; Caignard, D. H.; Figadère, B.; Cabedo, N. y Cortes, D.
Efficient synthesis of hexahydroindenopyridines and their potential as melatoninergic ligands.
Eur. J. Med. Chem. **2014**, *86*, 700-709.

- ❖ Párraga, J.; **Galán, A.**; Sanz, M. J.; Cabedo, N. y Cortes, D.
Synthesis of hexahydrocyclopenta[*ij*]isoquinolines as a new class of dopaminergic agents.
Eur. J. Med. Chem. **2015**, *90*, 101-106.

- ❖ Boulangé, A.; Párraga, J.; **Galán, A.**; Cabedo, N.; Leleu, S.; Sanz, M. J.; Cortes, D. y Franck, X.
Synthesis and antibacterial activities of cadiolides A, B and C and analogues.
Bioorg. Med. Chem. **2015**, *23*, 3618-3628.

Agradecimientos

Esfuerzo, perseverancia, dedicación, preponderancia de la vida laboral sobre la familiar y social,.... No. No citaré en estas líneas todos aquellos aspectos relativamente desagradables que confluyen en el desarrollo de una tesis doctoral y en ésta en particular. No lo haré por dos motivos relevantes. En primer lugar, ustedes ya son probablemente conscientes de todas las vicisitudes vividas en la realización de una tesis doctoral y, por tanto, no considero oportuno hacer más hincapié en ello. En segundo término me resulta más grato y saludable conservar en mi memoria los aspectos más agradables de esta etapa de mi vida, entre ellos, el conocimiento de aquellas personas que han resultado indispensables para la realización de la presente Tesis Doctoral.

Antes de comenzar estos breves agradecimientos quisiera rogar disculpas a todos aquéllos que no figuran en ellos por una simple omisión involuntaria. Debe resultar comprensible que en estos momentos no sea capaz de recordar a todas las personas que han intervenido en el desarrollo de esta tesis. A todos ellos les expreso mi más profundo y sincero agradecimiento por su colaboración y ayuda.

Ante todo quisiera manifestar mi gratitud a mis directores de tesis. A Diego Cortes le agradezco que me acogiera en su grupo de investigación transmitiéndome su pasión por la ciencia. Siempre recordaré agradecido su esfuerzo por darme ánimos constantes en todo momento, especialmente en los más difíciles; su capacidad para extraer de mí el máximo potencial posible y, por procurar que me sintiera cómodo y orgulloso con el trabajo que estaba desarrollando. Nuria

Cabedo siempre ha estado pendiente de mi trabajo, dispuesta a colaborar y a implicarse en él sin importarle en absoluto los propios esfuerzos que había que realizar para superar los mayores retos. María Jesús Sanz siempre ha procurado impulsar mi labor para lograr los más altos objetivos mostrándome además un profundo afecto. A vosotros os expreso mi más sentida gratitud y mi sincero afecto.

Es mi deseo agradecer expresamente al Ministerio de Educación, Cultura y Deporte la concesión de mi beca predoctoral del Programa de Formación de Profesorado Universitario (FPU), así como por permitirme realizar unas estancias breves predoctorales sufragadas. Quiero mostrar mi gratitud al profesor Mauro Perretti por permitirme llevar a cabo dichas estancias breves de tres meses de duración en su laboratorio del *William Harvey Research Institute – Queen Mary University of London* en Londres (Reino Unido).

También agradezco al profesor Jaime Primo que me permitiera realizar los ensayos de actividad antibacteriana y antifúngica en su grupo, bajo la supervisión de la doctora Nuria Cabedo, en el Centro de Ecología Química Agrícola - Instituto Agroforestal Mediterráneo de la Universidad Politécnica de Valencia.

Cabe destacar el trato agradable que he recibido en estos años por todo el profesorado del Departamento de Farmacología de la Universitat de València. A todos os doy las gracias por vuestro apoyo, especialmente a Dolores Ivorra y a los profesores de farmacognosia “José Luis Ríos, M^a Carmen Recio, Rosa Giner, Salvador Máñez y Amparo Blázquez” por vuestra disposición a ayudar. También le agradezco a la investigadora Laura Piqueras su afecto y apoyo.

Además quiero expresar mi agradecimiento al personal de administración (Mamen, Mati e Irene), así como a los técnicos de laboratorio (Carlos, Inés y el tristemente desaparecido Ángel) por vuestra gran ayuda y por vuestras conversaciones amistosas.

Entre mis compañeros doctorandos de todo el Departamento de Farmacología le debo agradecer a Laura que me brindara su amistad y que me enseñara los aspectos básicos del laboratorio mostrándose siempre positiva frente a los contratiempos. A Javi le muestro gratitud por haber estado siempre ayudando en los momentos necesarios y por el buen compañerismo demostrado. A Paloma, con la que coincidí durante muy poco tiempo, así como a las compañeras Isabel, Marta, Elisa, Rosa y Sònia les agradezco su gran apoyo y las amenas conversaciones mantenidas. Siempre recordaré con cariño la relación amistosa con Cristina, Paula, Aída, Arantxa, Patrice y Virginia. También guardo un grato recuerdo de los compañeros de otros grupos como: Fermín, Cristina, Diana, Rita, Carmen, Julia, Jorge, Rosa y Miguel, entre otros.

Para finalizar deseo manifestar mi infinito agradecimiento a mi familia, a mis tíos Antonio y Carmen por darme tantos ánimos y, especialmente, a mis padres. Gracias por haber estado siempre sosteniéndome en todo momento durante esta experiencia, por arengarme cuando mis ánimos flaqueaban, por sufrir conmigo los ingratos trances, por mostrar infinita paciencia, cariño, comprensión y amor.

Gracias a todos.

Abreviaturas

AC	Adenilato ciclasa
ACG	Acetogeninas
AcOEt	Acetato de etilo
AMPc	Adenosín monofosfato cíclico
AMS	Ácido metanosulfónico
BBIQ	Bisbencilisoquinoleína
BBr ₃	Tribromuro de boro
BIQ	Bencilisoquinoleína
BTHIQ	Benciltetrahidroisoquinoleína
CCM	Colección de la Cátedra de Microbiología
CECT	Colección Española de Cultivos Tipo
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
COMT	Catecol-O-metil-transferasa
COSY	Correlación homonuclear ¹ H- ¹ H
CRM	Cadena respiratoria mitocondrial
δ	Desplazamiento químico
d	Doblete
dd	Doble doblete
ddd	Doble doble doblete
dddd	Doble doble doble doblete
DA	Dopamina
DAT	Transportador de membrana de dopamina
DCC	<i>N,N</i> -Diciclohexilcarbodiimida
DEPT	Distorsión por polarización de transferencia
DHIQ	Dihidroisoquinoleína
DMAP	4-(Dimetilamino)piridina
ES	Error estándar
ESMS	Espectro de masas por electrospray
Et ₂ O	Éter etílico
Et ₃ N	Trietilamina
EtOH	Etanol
EtOAc	Acetato de etilo
HBr	Ácido bromhídrico
HCl	Ácido clorhídrico
HCPIQ	Hexahidrociclopenta[<i>ij</i>]isoquinoleína
HMBC	Correlación heteronuclear ¹ H- ¹³ C larga distancia
HMG-CoA	3-Hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A
HOBt	Hidroxibenzotriazol
HRESIMS	Espectro de masas de alta resolución por electrospray
HSQC	Correlación heteronuclear ¹ H- ¹³ C
HTS	High throughput screening
ICl	Cloruro de yodo

IQ	Isoquinoleína
ISRS	Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
K_2CO_3	Carbonato potásico
K_i	Constante de inhibición
LAAD	L-aminoácido aromático descarboxilasa
L-DOPA	L-3,4-dihidroxifenilalanina
$LiAlH_4$	Hidruro de aluminio y litio
<i>m</i>	Multiplete
M^+	Ion molecular
MAO	Monoaminoxidasa
MeI	Iodometano
MeOH	Metanol
MSA	Metabolitos secundarios activos
<i>m/z</i>	Relación masa-carga
N_2	Nitrógeno
$NaBH_4$	Borohidruro sódico
NaCl	Cloruro sódico
NaOH	Hidróxido sódico
Na_2SO_4	Sulfato sódico
NCS	Norcoclaurina sintasa
PARP1	Poli(ADP-ribosa) polimerasa
PCl_5	Pentacloruro de fósforo
P_2O_5	Pentaóxido de difósforo
$POCl_3$	Oxicloruro de fósforo
PPA	Ácido polifosfórico
<i>q</i>	Cuadruplete
<i>qt</i>	Quintuplete
RD	Receptor dopaminérgico
REA	Relación estructura-actividad
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
<i>s</i>	Singulete
SEM	Error estándar de la media
SNC	Sistema nervioso central
<i>t</i>	Triplete
TDAH	Trastorno de hiperactividad con déficit de atención
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
THIQ	Tetrahidroisoquinoleína
THPB	Tetrahidroprotoberberina
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana

Índice

Introducción y Objetivos	3
Introduction and Objectives	9
CAPÍTULO I: Metabolitos secundarios activos (MSA) de Annonáceas como inspiradores de nuevos fármacos	15
I.1. Introducción	15
I.2. MSA presentes en Annonáceas	18
I.2.1. Acetogeninas	18
I.2.2. Alcaloides isoquinoleínicos	22
a) Aporfinas	25
b) Protoberberinas	26
I.2.3. Azafluorenonas	26
I.2.4. Benzopiranos prenilados	26
I.2.5. Estiril-lactonas	27
I.3. Conclusiones	27
CAPÍTULO II: Síntesis de tetrahidroisoquinoleínas 1-sustituidas con actividad antibacteriana y antifúngica o dopaminérgica	31
II.1. Antecedentes bibliográficos	31
II.1.1. Síntesis de alcaloides isoquinoleínicos	32
a) Síntesis de tetrahidroisoquinoleínas mediante ciclación de Bischler-Napieralski	33
b) Síntesis y aplicaciones de compuestos funcionalizados con carbamatos	36
c) Síntesis de pirrolo[2,1- <i>a</i>]isoquinoleínas	42
d) Síntesis de hexahidrociclopenta[<i>ij</i>]isoquinoleínas	46
II.1.2. Actividad antibacteriana y antifúngica	52
II.1.3. Actividad dopaminérgica	56
a) Dopamina: biosíntesis y metabolismo	56
b) Receptores dopaminérgicos: clasificación y ubicación	57
c) Dopamina: relevancia fisiológica y patologías asociadas	58
d) Agonistas y antagonistas dopaminérgicos	60
e) Antecedentes del grupo de investigación	62
II.2. Síntesis de tetrahidroisoquinoleínas con actividad antibacteriana y antifúngica	67

II.2.1. Química	67
a) Síntesis de 1-alkil-tetrahydroisoquinoleínas con función carbamato y éster	67
b) Síntesis de pirrolo[2,1- <i>a</i>]isoquinoleín-3-onas	72
II.2.2. Actividad antibacteriana y antifúngica	74
a) 1-Alquil-tetrahydroisoquinoleínas	75
b) Pirrolo[2,1- <i>a</i>]isoquinoleín-3-onas	83
II.2.3. Conclusiones	84
II.2.4. Parte experimental	85
II.2.4.1. Equipos utilizados	85
II.2.4.2. Síntesis de 1-alkil-tetrahydroisoquinoleínas con función carbamato y éster	86
II.2.4.3. Síntesis de pirrolo[2,1- <i>a</i>]isoquinoleín-3-onas	116
II.2.4.4. Actividad antibacteriana y antifúngica	121
a) Especies bacterianas y fúngicas	121
b) Ensayo antibacteriano y antifúngico	122
II.3. Síntesis de tetrahydroisoquinoleínas con actividad dopaminérgica	124
II.3.1. Química	124
II.3.2. Afinidad por receptores dopaminérgicos	127
II.3.3. Conclusiones	129
II.3.4. Parte experimental	129
II.3.4.1. Equipos utilizados	129
II.3.4.2. Síntesis de 7-fenil-hexahidrociclopenta[<i>i</i>]isoquinoleínas	130
II.3.4.3. Afinidad por receptores dopaminérgicos	137
a) Animales de experimentación	137
b) Ensayos de competición	137
Resumen-Discusión de los Resultados	143
Summary-Results and Discussion	151
Conclusiones	159
Conclusions	163
Bibliografía	167

Introducción y Objetivos

Introducción y Objetivos

La Naturaleza ha proporcionado durante décadas una ingente cantidad de metabolitos secundarios activos (MSA) con muy diversas aplicaciones terapéuticas. Este hecho ha conllevado un gran interés en el desarrollo de compuestos semisintéticos y sintéticos inspirados en los productos naturales.

Durante décadas, nuestro grupo de investigación se ha centrado en el aislamiento de metabolitos secundarios activos de plantas pertenecientes a la familia Annonáceas. Además se ha desarrollado un gran número de análogos estructurales de algunos MSA como, por ejemplo, acetogeninas y alcaloides isoquinoleínicos (bencilisoquinoleínas, aporfinas y protoberberinas). Los compuestos aislados o sintetizados en nuestro grupo son sometidos a ensayos biológicos para determinar su actividad citotóxica (inhibición de la cadena respiratoria mitocondrial), antibacteriana y antifúngica o evaluar su afinidad por los receptores dopaminérgicos.

Considerando estos hechos se propuso en la presente **Tesis Doctoral** la consecución de los siguientes **objetivos**:

- 1- Estudio de los distintos tipos de metabolitos secundarios activos presentes en la familia Annonáceas que han servido de inspiración para el desarrollo de nuevos fármacos.
- 2- Síntesis y determinación de la actividad antibacteriana y antifúngica de:

- a) 1-Alquil-tetrahidroisoquinoleínas funcionalizadas con carbamatos y ésteres.
 - b) Pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-onas.
- 3- Síntesis de hexahidrociclopentilisoquinoleínas y estudio de su afinidad por receptores dopaminérgicos.

En el **Capítulo I** de esta Tesis Doctoral se hace un breve estudio de los principales grupos de metabolitos secundarios activos aislados en Annonáceas haciendo especial hincapié en los hallazgos hechos en nuestro grupo desde hace décadas. Una de nuestras principales líneas de investigación se ha centrado en el aislamiento de acetogeninas y en la determinación de su actividad citotóxica, pues estos MSA son potentes inhibidores de la cadena respiratoria mitocondrial.

En el **Capítulo II** se destaca la contribución realizada en los últimos años por nuestro grupo en el campo de la síntesis de alcaloides isoquinoleínicos biológicamente activos. En este capítulo se desarrolla la síntesis de diversas tetrahidroisoquinoleínas (THIQ) con actividad antibacteriana y antifúngica o dopaminérgica.

En el primer apartado de este capítulo se exponen los antecedentes bibliográficos que conducen al desarrollo del mismo.

En el segundo apartado del capítulo se describe la síntesis de 1-alkil-THIQ con diversos sustituyentes introducidos mediante funciones tipo carbamato y éster. También se muestra la síntesis de pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-onas. A continuación se describe la actividad antibacteriana y antifúngica manifestada por los compuestos sintetizados estableciéndose una relación estructura-actividad.

En la tercera parte de este capítulo se muestra la síntesis de isoquinoleínas 1-sustituidas con esqueleto hexahidrociclopenta[*ij*]isoquinoleínico. Se presenta además la afinidad de estos compuestos por los receptores dopaminérgicos tipo-D₁ y tipo-D₂ y, basándonos en dichos resultados, establecemos una relación estructura-actividad dopaminérgica.

Introduction and Objectives

Introduction and Objectives

Nature has provided for decades a huge number of active secondary metabolites (ASM) with a broad spectrum of therapeutic applications. This fact has led to a great interest in the development of semisynthetic and synthetic compounds inspired in natural products.

For decades, our research group has focused its studies on the isolation of active secondary metabolites from plants belonging to the Annonaceous family. In addition a great number of structural analogues of some ASM have been developed such as acetogenins and isoquinoline alkaloids (benzylisoquinolines, aporphines and protoberberines). The isolated or synthesized compounds by our group underwent biological assays to determine their cytotoxic (mitochondrial respiratory chain inhibition), antibacterial and antifungal activity or evaluate their affinity towards dopaminergic receptors.

Therefore, in the present **Doctoral Thesis** we proposed the achievement of the following **objectives**:

- 1- Study of the different types of active secondary metabolites present in the Annonaceous family that may inspire the development of new drugs.
- 2- Synthesis and determination of the antibacterial and antifungal activity of:
 - a) 1-Alkyl-tetrahydroisoquinolines functionalized with carbamates and esters.
 - b) Pyrrolo[2,1-*a*]isoquinolin-3-ones.

- 3- Synthesis of hexahydrocyclopentylisoquinolines and study of their affinity towards dopaminergic receptors.

In **Chapter I** of this Doctoral Thesis we do a brief study of the main active secondary metabolites groups isolated from Annonaceous with particular emphasis findings encountered by our group in the last decades. One of our main research lines focused on the isolation of acetogenins and the evaluation of their cytotoxic activity, since these ASM are potent mitochondrial respiratory chain inhibitors.

In **Chapter II** we highlight the contribution carried out by our group in the area of the synthesis of biologically active isoquinoline alkaloids in the recent years. In this chapter the synthesis of various tetrahydroisoquinolines (THIQ) with antibacterial and antifungal or dopaminergic activity has been carried out.

In the first section of this chapter we compile the bibliographic background that lead to their development.

In the second section of the chapter the synthesis of 1-alkyl-THIQ with different substituents introduced by carbamate and ester functions is described, besides the synthesis of pyrrolo[2,1-*a*]isoquinolin-3-ones. Then the antibacterial and antifungal activities displayed by all synthesized compounds have been detailed, establishing a structure-activity relationship.

In the third part of this chapter the synthesis of 1-substituted isoquinolines with hexahydrocyclopenta[*ij*]isoquinoline skeleton is carried out. The affinity of these compounds towards type-D₁ and type-D₂ dopaminergic receptors is demonstrated and, on the basis of the

Introduction and Objectives

generated data, a structure-dopaminergic activity relationship has been established.

*Capítulo I:
Metabolitos secundarios activos
(MSA) de Annonáceas como
inspiradores de nuevos fármacos*

CAPÍTULO I: Metabolitos secundarios activos (MSA) de Annonáceas como inspiradores de nuevos fármacos

I.1. Introducción

La Farmacoquímica Natural se define como el estudio de los principios activos de origen natural. Esta rama del conocimiento farmacéutico aborda el análisis de dichos principios activos naturales o metabolitos secundarios activos (MSA) desde varias perspectivas. En concreto se estudia su origen biológico y biogénico, las propiedades fisicoquímicas, la estructura química, las actividades biológicas y las aplicaciones a nivel terapéutico [1]. Cabe destacar que el origen natural de dichos principios activos es muy variado, puesto que pueden proceder de especies vegetales, animales o microorganismos [2]. Los MSA constituyen *per se* una parte importante del arsenal terapéutico actual, pudiendo ser empleados directamente como fármacos o sirviendo de inspiración para desarrollar nuevos productos derivados. Se debe enfatizar que algunos MSA presentan problemas de solubilidad, escasa estabilidad metabólica, baja potencia y/o selectividad [3]. Es en estos casos cuando cobra vital relevancia la modificación estructural del MSA mediante semisíntesis o la obtención de análogos estructurales a través de una síntesis total [4].

Históricamente, el mayor esfuerzo invertido por la industria farmacéutica en el descubrimiento de nuevos MSA se produjo durante la segunda guerra mundial. En primer término, las investigaciones se centraron en combatir las enfermedades infecciosas desarrollando

fármacos antibacterianos o antifúngicos. Posteriormente se fue ampliando el alcance de las investigaciones a otras patologías no infecciosas. Por ejemplo, las primeras estatinas de origen natural fueron descubiertas en los años 70, en concreto, la **mevastatina** fue aislada de *Penicillium citrinum* y la **lovastatina** de *Aspergillus terreus*. Estos compuestos poseen una analogía estructural evidente con la 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) y actúan inhibiendo de forma competitiva y reversible el enzima HMG-CoA-reductasa, el cual está implicado en el paso limitante de la síntesis hepática del colesterol (**Figura 1**) [5].

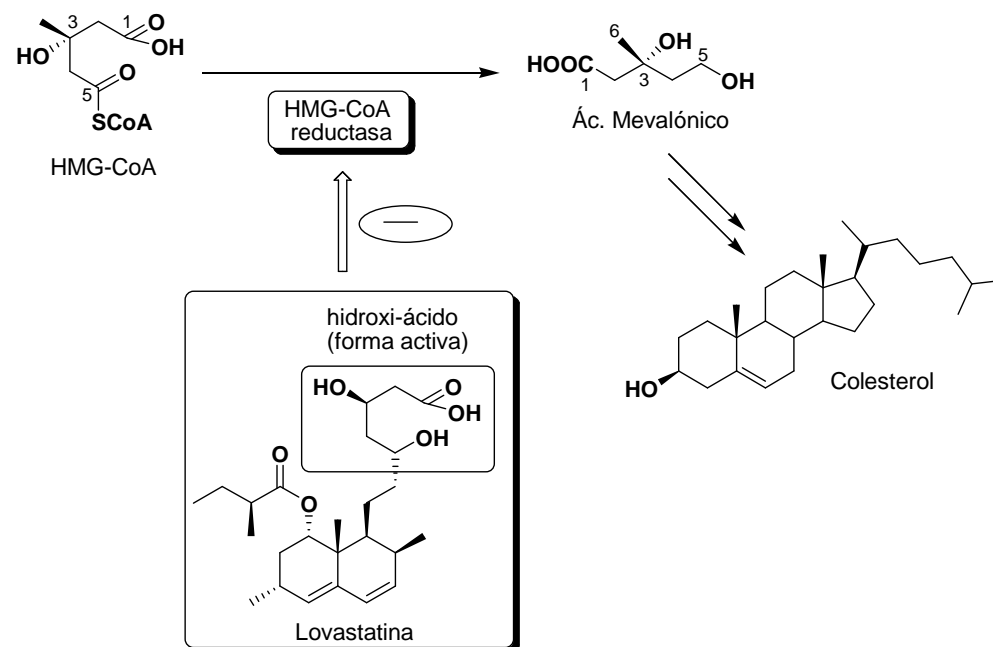


Figura 1. Mecanismo de acción de las estatinas

A pesar de los indiscutibles logros alcanzados, la investigación en productos naturales por parte de la industria farmacéutica fue en detrimento en los años 90. Se prefirió dirigir los esfuerzos a la búsqueda de productos activos a través del cribado de alto rendimiento o *high throughput screening* (HTS) de librerías obtenidas por la química combinatoria [6]. Tras considerar el escaso éxito de los métodos fundamentados en la química combinatoria se ha producido un resurgimiento del descubrimiento de nuevos MSA y del desarrollo de productos derivados de los naturales. Actualmente podría aseverarse que aproximadamente un 50 % de los fármacos comercializados son MSA o compuestos que han sido generados inspirándose en productos naturales [7]. Cabe destacar que en el campo de las enfermedades infecciosas y en oncología, la presencia de MSA es todavía más sustancial, llegando a los dos tercios del total.

Nuestro grupo de investigación ha desarrollado en los últimos años sus principales trabajos en el campo de la Farmacoquímica Natural. Concretamente, los estudios se han centrado en la obtención, determinación estructural y evaluación de las actividades biológicas de MSA provenientes de especies vegetales de la familia de las Annonáceas. Entre los numerosos MSA aislados en esta familia hay compuestos con propiedades antipalúdicas, insecticidas y dopaminérgicas, entre otras. Los MSA presentes en esta familia vegetal se pueden clasificar en: acetogeninas, alcaloides isoquinoleínicos, azafluorenonas, benzopiranos, estiril-lactonas y monoterpenos (**Figura 2**). En el presente capítulo se va a citar algunas azafluorenonas, benzopiranos y estiril-lactonas presentes en Annonáceas y se va a profundizar en el estudio de las acetogeninas [8]

y los alcaloides isoquinoleínicos [9], pues estos MSA son bastante abundantes y poseen gran relevancia en esta familia.

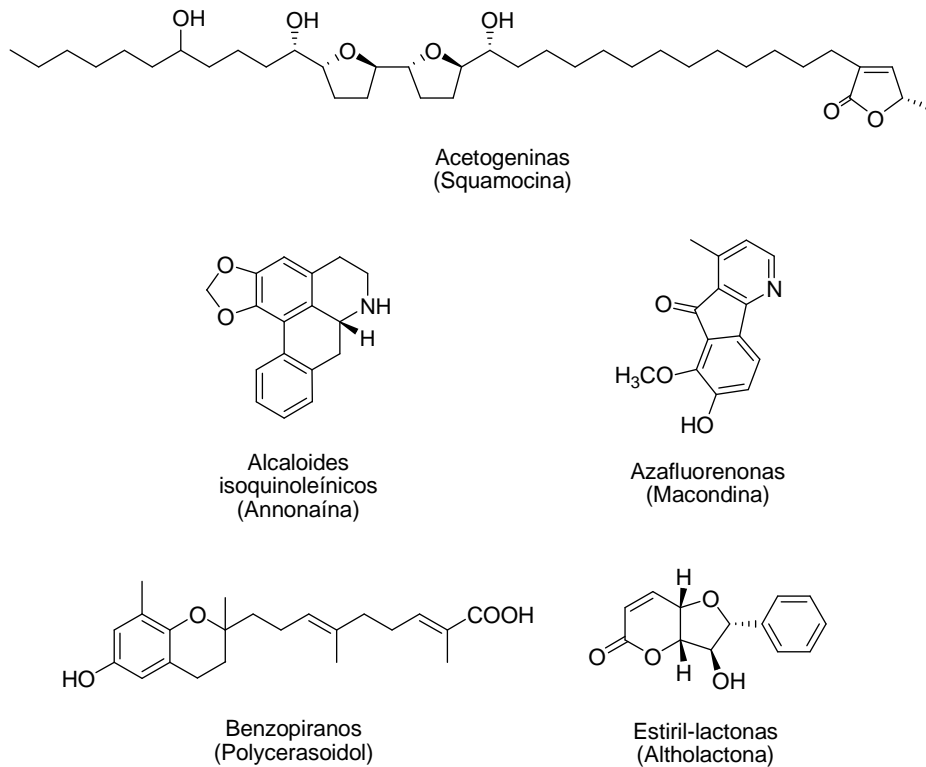


Figura 2. Ejemplos de los distintos grupos de MSA identificados en Annonáceas

I.2. MSA presentes en Annonáceas

I.2.1. Acetogeninas

Las acetogeninas (ACG) son MSA derivados de ácidos grasos y se caracterizan estructuralmente por poseer una larga cadena hidrocarbonada (32 ó 34 átomos de carbono), una γ -lactona terminal y

una región polioxigenada constituida por tetrahidrofuranos y grupos hidroxilos. Estos MSA han sido aislados exclusivamente de especies de Annonáceas, en particular, en los géneros *Annona*, *Goniothalamus*, *Rollinia*, *Asimina* y *Uvaria*.

Las ACG son metabolitos citotóxicos que manifiestan propiedades antimicrobianas, antivíricas, antihelmínticas, antipalúdicas, plaguicidas [10,11] y antitumorales [12-19]. Se ha demostrado la capacidad de las ACG de inhibir la cadena respiratoria mitocondrial (CRM) actuando sobre la NADH-ubiquinona oxidorreductasa (complejo I) [8,20-24]. Cabe destacar que dicha inhibición es ejercida con una gran potencia, llegando a ser superior a la manifestada por los inhibidores clásicos (rotenona y piericidina A) [25].

En nuestro grupo de investigación se ha colaborado en abundantes estudios para establecer una relación estructura-actividad (REA) [15-22,26]. A modo de ejemplo, se semisintetizaron derivados de **squamocina** (ACG extraída de las semillas de especies del género *Annona*) modificando la γ -lactona α,β -insaturada terminal. Se observó la relevancia del motivo estructural lactónico, siendo éste un farmacóforo indispensable para la actividad inhibitoria de las ACG sobre la CRM. Sólo las sustituciones de dicha γ -lactona α,β -insaturada terminal por bioisómeros consiguieron mantener la potencia citotóxica en el rango nanomolar (**Figura 3**) [21,22].

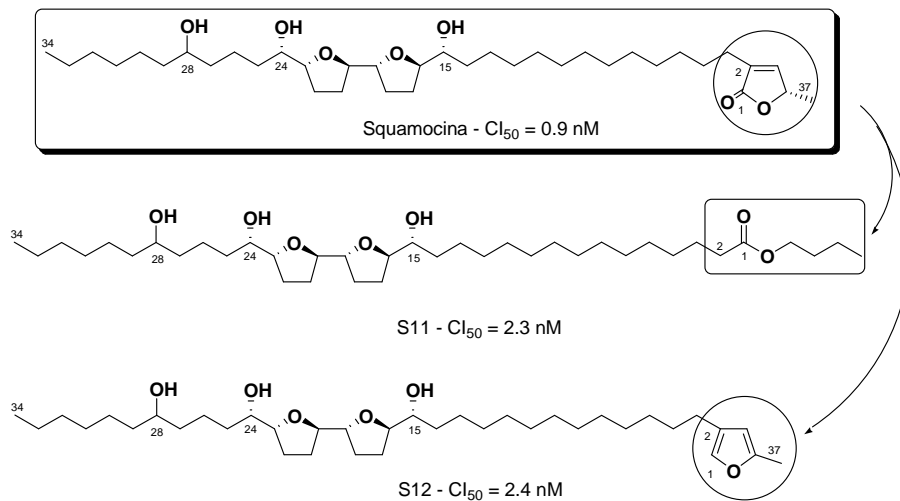


Figura 3. Análogos semisintéticos de squamocina

En este apartado nos gustaría destacar la semisíntesis de la **15,24-diacetilganacona**, ACG que posee una cetona en posición 10 (**Figura 4**). Este producto semisintético se obtuvo a partir de monoacetilados de la ganacona extraídos de las semillas de la especie *Annona spraguei* [19]. A través de estudios de modelización molecular se analizó la disposición espacial que adopta la 15,24-diacetilganacona en la bicapa lipídica observándose una interacción de sus grupos polares mediante puentes de hidrógeno con los fosfolípidos de membrana [19].

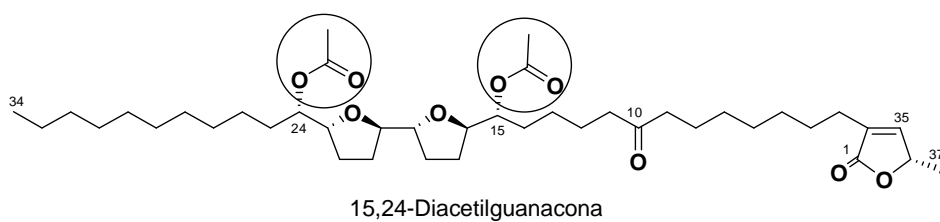


Figura 4. Estructura de la 15,24-diacetilganacona

Cabe resaltar la peculiaridad de algunas ACG con un grupo hidroxilo en su γ -lactona terminal, tales como la **laherradurina**, **itrabina**, **otivarina** y **jeteina**. Estos MSA fueron aislados de las semillas de *Annona cherimolia* [27,28] y destacan por manifestar la mayor potencia inhibitoria sobre la CRM (**Figura 5**) [14,25]. Además, la **laherradurina** es capaz de inhibir varias líneas celulares tumorales sin dañar a células no tumorales. Este importante hallazgo convierte a la **laherradurina** en un firme candidato para ser empleado como fármaco antitumoral [29].

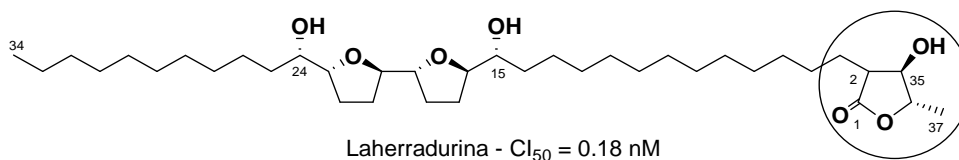


Figura 5. Estructura de la laherradurina: potente ACG inhibidora de la CRM

La actividad inhibitoria sobre la CRM también confiere a las ACG un interesante efecto insecticida. De hecho, la **laherradurina**, **squamocina** y **rolliniastatina-2** han puesto de manifiesto su capacidad insecticida frente a *Leptinotarsa decemlineata*. Estas ACG también mostraron un efecto tóxico frente al parásito *Trypanosoma cruzi* y frente a la larva de *Spodoptera littoralis* [30,31].

Algunas ACG isómeras de **squamocina**, aisladas de las semillas de *Annona squamosa*, ejercen una actividad tóxica frente a los nematodos fitoparásitos *Bursaphelenchus xylophilus* y *Meloidogyne incognita*.

También se ha observado la capacidad antifúngica de estas ACG frente a los agentes fitopatógenos *Puccinia recondita* y *Phytophthora infestans*, los cuales afectan al trigo y a las solanáceas respectivamente [32].

Considerando todos estos hechos, las ACG son MSA susceptibles de ser aplicados comercialmente como plaguicidas o incluso como suplementos tópicos [33,34].

I.2.2. Alcaloides isoquinoleínicos

Los alcaloides constituyen un grupo de compuestos orgánicos nitrogenados de origen natural con una gran diversidad de estructuras químicas y variadas actividades biológicas [35]. En particular, los alcaloides isoquinoleínicos o isoquinoleínas (IQ) son muy abundantes en el reino vegetal y resultan desde una perspectiva farmacológica muy interesantes debido a las actividades que manifiestan [36,37].

Estos MSA se han aislado de especies vegetales de muchas familias del orden de las Magnoliales, como por ejemplo en la familia de las Annonáceas [9].

Las isoquinoleínas son biosintetizadas a partir de la 1-benciltetrahydroisoquinoleína (BTHIQ) denominada **(S)-norcoclaurina**. Se trata de una BTHIQ 6,7-dioxigenada, cuya biosíntesis tiene lugar mediante la condensación de dopamina con *p*-hidroxifenilacetaldehído, formados éstos a su vez a partir de *L*-tirosina (**Figura 6**). Esta condensación de tipo Pictet-Spengler es catalizada de forma estereoselectiva por la enzima norcoclaurina sintasa (NCS), la cual fue aislada de varias especies vegetales de las familias Berberidáceas,

Papaveráceas y Ranunculáceas [38,39]. La **(S)-norcoclaurina** es un precursor central a partir del cual se originan una serie de intermediarios de diversificación biosintética que permiten obtener los distintos tipos de alcaloides isoquinoleínicos. Cabe destacar que se ha estudiado la gran cantidad de enzimas implicadas en las distintas rutas biosintéticas de las IQ [40-42].

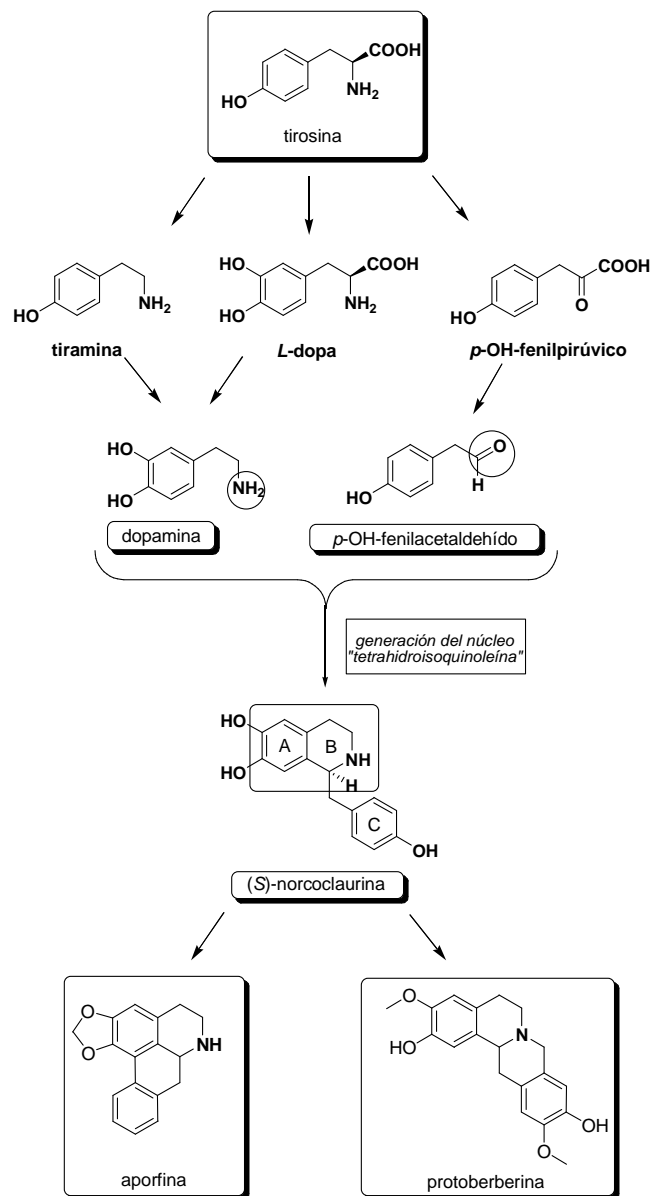


Figura 6. Biosíntesis de isoquinoleínas

Desde hace décadas, el estudio de los distintos tipos de IQ y sus propiedades biológicas ha constituido una de las principales líneas de

investigación de nuestro grupo [43-49]. A continuación se va a comentar brevemente algunas características de las aporfinas y protoberberinas, pues son MSA que se aíslan con frecuencia en las Annonáceas.

a) Aporfinas

Los alcaloides con esqueleto aporfínico conforman un extenso grupo dentro de las IQ. Su amplia distribución abarca un gran número de familias botánicas, entre las que destacan las Annonáceas, Berberidáceas, Lauráceas, Menispermáceas, Papaveráceas y Ranunculáceas [50].

Las aporfinas son un interesante grupo de MSA desde un punto de vista farmacológico, pues manifiestan un amplio abanico de propiedades biológicas. Muchas de estas IQ poseen actividad antimicrobiana, citotóxica, antitumoral, antiinflamatoria o son capaces de interactuar con receptores de neurotransmisores [51]. Por ejemplo, la **(R)-annonaína**, alcaloide aporfínico presente en muchas especies de Annonáceas, es capaz de inhibir la recaptación de dopamina en los sinaptosomas manifestando así una actividad dopaminérgica indirecta [48,49].

Cabe destacar que algunas aporfinas han llegado a ser aplicadas en terapéutica, tal es el caso de la **(R)-apomorfina**, la cual es obtenida mediante semisíntesis a partir de la **morfina** y es empleada en el tratamiento de la patología de Parkinson.

b) Protoberberinas

Las protoberberinas son alcaloides isoquinoleínicos con estructura tetracíclica que han sido aislados en especies de las familias Annonáceas, Ranunculáceas y Berberidáceas. Estos MSA poseen diversas propiedades farmacológicas, por ejemplo, la **berberina** ha sido muy estudiada por su actividad antibacteriana, antifúngica y antitumoral.

En nuestro grupo se aislaron varias protoberberinas, como la **(R)-coreximina**, de especies del género *Guatteria* que mostraron afinidad por los receptores dopaminérgicos tipo-D₂ [46].

I.2.3. Azafluorenonas

Las azafluorenonas son alcaloides aislados ocasionalmente en la familia de las Annonáceas [52]. Se ha observado que algunas azafluorenonas de *Mitrephora diversifolia* manifiestan actividad antipalúdica frente a *P. falciparum* [53]. También se ha sintetizado y demostrado la actividad antibacteriana de algunos MSA de este grupo [54].

I.2.4. Benzopiranos prenilados

Los benzopiranos prenilados han sido aislados de varias especies del género *Polyalthia* (Annonáceas), así como de plantas de otras familias y de organismos marinos. En nuestro grupo de investigación se aislaron nuevos benzopiranos prenilados de la corteza de *P. cerasoides* y *P. sclerophylla*. Los MSA **polycerasoidol**, **polycerasoidina** y **polyalthidina** fueron sometidos a ensayos sobre inhibición del complejo

I de la CRM. Estos compuestos resultaron activos siendo la **polyalthidina** el más potente de ellos con una CI_{50} de 4.4 μ M [55]. Al considerar esta actividad se logra comprender las propiedades antitumorales y citotóxicas que manifiestan las especies que contienen estos MSA.

I.2.5. Estiril-lactonas

Las estiril-lactonas poseen un esqueleto de 13 átomos de carbono que conforman una estructura estiril o pseudoestiril con una γ - o δ -lactona. Se encuentran principalmente en el género *Goniothalamus* y manifiestan actividad citotóxica y antitumoral. En nuestro grupo de investigación se aislaron varias estiril-lactonas de la corteza de *Goniothalamus arvensis* y se demostró la actividad inhibitoria de estos MSA sobre la CRM [56]. Además se han semisintetizado nuevos derivados de las estiril-lactonas naturales **altholactona** y **goniothalesdiol**. **Altholactona** y algunos de sus análogos semisintéticos manifestaron un interesante poder inhibitorio sobre la proliferación de la línea celular leucémica L-1210 [57].

I.3. Conclusiones

Las Annonáceas contienen una gran diversidad de MSA con estructuras químicas originales y propiedades biológicas de gran interés. Este hecho conlleva que los MSA de esta familia puedan ser considerados *per se* unos firmes candidatos a fármacos, cuyo campo de aplicación abarque desde la terapia antitumoral hasta el tratamiento de

patologías neurodegenerativas. Además cabe destacar su posible utilización como agentes plaguicidas en agricultura. Como consecuencia de estas variadas aplicaciones, ya sean terapéuticas o de otra índole, los MSA de Annonáceas son actualmente inspiradores del desarrollo de nuevos fármacos.

Capítulo II:
Síntesis de tetrahidroisoquinoleínas
1-sustituídas con actividad
antibacteriana y antifúngica o
dopaminérgica

CAPÍTULO II: Síntesis de tetrahidroisoquinoleínas 1-sustituídas con actividad antibacteriana y antifúngica o dopaminérgica

II.1. Antecedentes bibliográficos

Los alcaloides isoquinoleínicos constituyen un grupo de interesantes compuestos de origen natural o sintético con diversas propiedades biológicas, como por ejemplo su actividad antitumoral, antimicrobiana o su afinidad por receptores dopaminérgicos y serotoninérgicos [36].

Cabe destacar que los MSA isoquinoleínicos (bencilisoquinoleínas, aporfinas y protoberberinas) aislados de las Annonáceas han manifestado afinidad por los receptores dopaminérgicos. Este hecho ha servido de inspiración a nuestro grupo de investigación en los últimos años para sintetizar diversos cabezas de serie isoquinoleínicos con afinidad por dichos receptores y establecer estudios de relación estructura-actividad (REA) [48,58-63].

En la presente **Tesis Doctoral** se ha llevado a cabo la síntesis y la determinación de la actividad antibacteriana y antifúngica de THIQ sustituidas en posición 1 con carbamatos y ésteres funcionalizados. También se muestra la síntesis de pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-onas y la evaluación de la actividad antibacteriana y antifúngica que estos compuestos han manifestado. Además se describe la síntesis de 7-fenilhexahidrociclopenta[*ij*]isoquinoleínas y la afinidad por los receptores dopaminérgicos de tipo-D₁ y tipo-D₂ que estas isoquinoleínas han mostrado.

II.1.1 Síntesis de alcaloides isoquinoleínicos

Las aproximaciones generales utilizadas habitualmente en la síntesis de IQ se pueden clasificar en cinco grupos en función del lugar que ocupe el enlace químico que se forma durante el cierre del anillo B (**Figura 7**).

Tipo I. Formación del enlace C8a-C1: Se trata de la generación del anillo B mediante la unión del átomo de carbono C-1 y el anillo aromático. Este tipo de ciclación se lleva a cabo según las metodologías de Bischler-Napieralski y Pictet-Splenger [64].

Tipo II. Formación del enlace C1-N.

Tipo III. Formación del enlace N-C3.

Tipo IV. Formación del enlace C3-C4.

Tipo V. Formación del enlace C4-C4a.

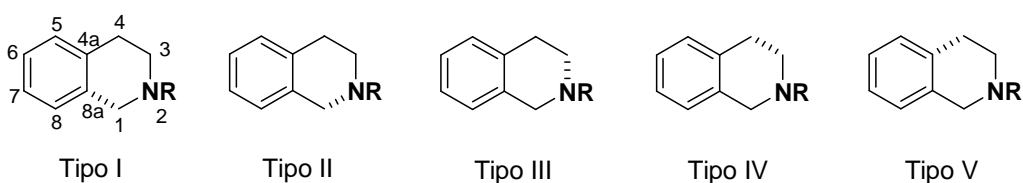


Figura 7. Tipos de ciclación en la formación del núcleo isoquinoleínico

Las ciclaciones tipo II-IV son realizadas a través de la reacción de Pomeranz-Fritsch [64] y sus modificaciones.

En la presente **Tesis Doctoral** se han sintetizado los núcleos isoquinoleínicos mediante la ciclación de Bischler-Napieralski.

a) Síntesis de THIQ mediante ciclación de Bischler-Napieralski

El método de ciclación de Bischler-Napieralski consiste en una ciclodeshidratación de *N*-feniletilamidas mediante un ácido de Lewis como por ejemplo oxicloruro de fósforo (POCl_3) o pentaóxido de difósforo (P_2O_5).

Entre los métodos más empleados para realizar la reacción de *N*-acilación de β -feniletilaminas con cloruros de ácido se encuentra la reacción de Schotten-Baumann. Ésta consiste en un ataque nucleofílico exotérmico de la β -feniletilamina al cloruro de ácido generándose la *N*-feniletilamida correspondiente y ácido clorhídrico, el cual es neutralizado mediante una base inorgánica (**Figura 8**). Además de la reacción de *N*-acilación de Schotten-Baumann, también se puede hacer reaccionar directamente la β -feniletilamina con el correspondiente ácido carboxílico calentando a temperatura elevada (150 °C) o bien utilizando agentes acoplantes como por ejemplo la *N,N*-diciclohexilcarbodiimida (DCC) o el hidroxibenzotriazol (HOBt) capaces de activar el grupo carboxilo.

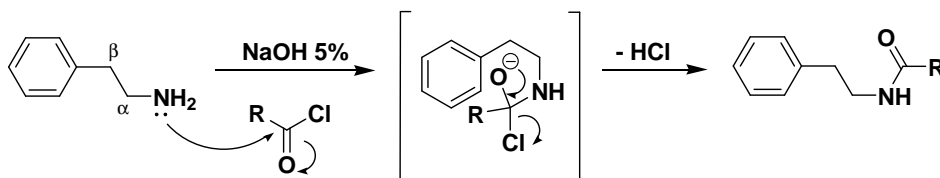


Figura 8. Mecanismo de acción de la *N*-acilación

Las *N*-feniletilamidas son sometidas a un proceso de ciclodeshidratación empleando ácidos de Lewis (POCl_3 o P_2O_5 , entre otros) en distintos disolventes (acetonitrilo, diclorometano o tolueno) a

reflujo (**Figura 9**). De esta forma se consigue generar el anillo B obteniéndose iminas 3,4-dihidroisoquinoleínicas, las cuales debido a su inestabilidad suelen ser reducidas a THIQ u oxidadas a IQ.

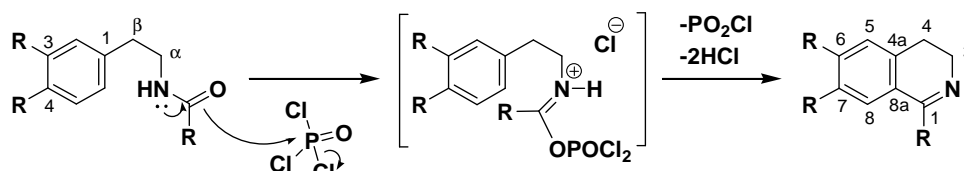


Figura 9. Mecanismo de la ciclación de Bischler-Napieralski

Cabe destacar que la ciclación de Bischler-Napieralski depende del número y naturaleza química de los sustituyentes del anillo aromático A de la *N*-feniletilamida. Este tipo de ciclación se produce preferentemente en la posición *para* respecto al sustituyente electrodonante situado en el carbono 3 del anillo aromático. Si en dicha posición del anillo A se introduce un grupo electroatrayente como por ejemplo un halógeno, la ciclación de Bischler-Napieralski se ve dificultada resultando necesaria la utilización de varios agentes deshidratantes. En nuestro grupo se sintetizaron varias series de 6-cloro-7-metoxi-THIQ 1-sustituídas empleando una mezcla de POCl_3 y P_2O_5 en tolueno a reflujo [62,65]. En otros grupos de investigación también se ha obtenido 6-cloro-isoquinoleínas 1-sustituídas empleando dicha mezcla de agentes deshidratantes en xileno [66,67].

La estrategia sintética de ciclación de Bischler-Napieralski proporciona en la mayoría de los casos un buen rendimiento y ha sido empleada habitualmente por nuestro grupo de investigación para obtener

alcaloides 1-sustituídos con esqueleto de bencilisoquinoleína, aporfina y protoberberina inspirados en los productos naturales (**Figura 10**) [62,63,68].

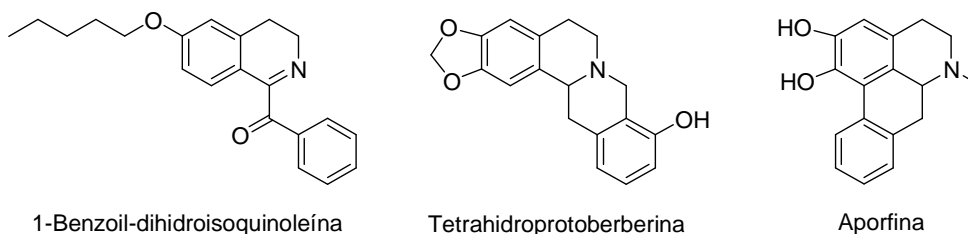


Figura 10. Tipos de alcaloides IQ sintetizados en nuestro grupo

Otros grupos también han sintetizado MSA y análogos estructurales mediante esta ciclación. A modo de ejemplo se va a citar la síntesis de las protoberberinas naturales **coralidina** y **O-metilcoritenquirina** [69]. El esqueleto protoberberínico de estos productos naturales y de sus análogos se sintetizó de forma *one-pot* a partir de la acetamida mediante una ciclación con pentacloruro de fósforo (PCl_5) en acetonitrilo (**Figura 11**). Una posterior reducción del dihidroprotoberberinio da lugar a las tetrahidroprotoberberinas (THPB).

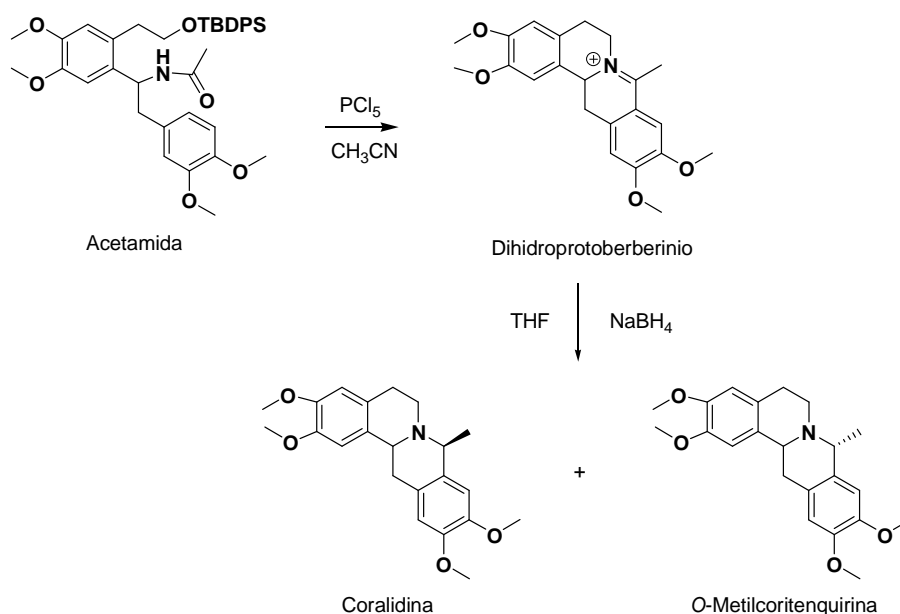


Figura 11. Síntesis de coralidina y *O*-metilcoritenquirina

Cabe destacar que tanto la ciclación de Bischler-Napieralski como la estrategia de Pictet-Spengler pueden llevarse a cabo en un sistema de microondas en tiempos reducidos y con buenos rendimientos. Utilizando esta metodología, se han sintetizado 3,4-dihidroisoquinoleínas con elevados rendimientos (75-90 %) mediante una ciclación de Bischler-Napieralski empleando POCl_3 en tolueno a 140 °C durante 30 minutos [70].

b) Síntesis y aplicaciones de compuestos funcionalizados con carbamatos

En la presente **Tesis Doctoral** se describe la síntesis de 1-alkil-THIQ funcionalizadas con carbamatos y ésteres con actividad antibacteriana y antifúngica.

En este apartado se va a poner de relieve la importancia que posee el grupo carbamato en el campo de la química médica describiendo algunos ejemplos de fármacos, funcionalizados con dicho grupo, con aplicaciones terapéuticas.

Desde hace décadas, el interés por este grupo funcional ha suscitado el desarrollo de una gran variedad de métodos sintéticos que permitan su obtención. Cabe destacar la implicación del grupo funcional carbamato en la actividad de fármacos y en la obtención de profármacos. Las estrategias empleadas para sintetizar carbamatos abarcan desde los métodos tradicionales, el uso de carbonatos mixtos activados y la síntesis en fase sólida (**Figura 12**). Entre los métodos tradicionales destaca la utilización de isocianatos, derivados alquílicos del ácido clorofórmico y dióxido de carbono. La síntesis de carbamatos a través de carbonatos mixtos activados fue desarrollada como una alternativa más económica a los métodos tradicionales. Los carbonatos mixtos producen una alcoxicarbonilación de las aminas dando lugar a los carbamatos. En la síntesis en fase sólida, las aminas y anilinas se unen a través de dióxido de carbono a una resina de Merrifield en presencia de carbonato de cesio y yoduro de tetrabutilamonio, empleando *N,N*-dimetilformamida como disolvente. Este método resulta eficiente y permite sintetizar librerías de compuestos con carbamatos para su posterior cribado biológico [71].

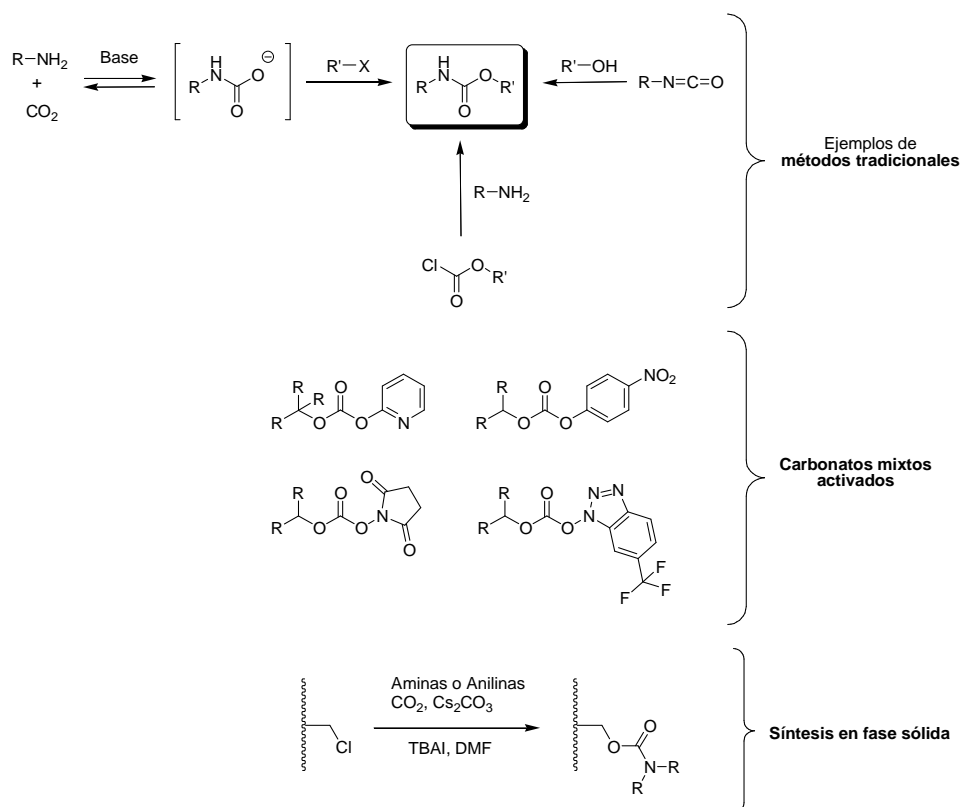


Figura 12. Ejemplos de estrategias sintéticas de carbamatos

A continuación se expone a modo de ejemplo algunos fármacos empleados en terapéutica funcionalizados con carbamatos (**Figura 13**).

La **fisostigmina** es un MSA aislado de *Physostigma venenosum* con capacidad de inhibir de forma reversible la acetilcolinesterasa y la butirilcolinesterasa. Este MSA posee un grupo carbamato en su estructura y su acción sobre las colinesterasas del sistema nervioso central se ve dificultada por su polaridad. Este hecho suscitó la síntesis de análogos que conservaran el grupo funcional carbamato y que fueran capaces de atravesar la barrera hematoencefálica [72]. Entre los

compuestos sintetizados cabe destacar la **rivastigmina**. Este fármaco es empleado actualmente en terapéutica en el tratamiento de las demencias asociadas a las enfermedades de Parkinson y Alzheimer [71].

La **mitomicina C** es un carbamato antibacteriano aislado de los cultivos de *Streptomyces caespitosus* y es empleado en clínica como antitumoral [71]. El producto natural paclitaxel, aislado de *Taxus brevifolia*, es un fármaco antineoplásico que se administra mediante perfusión debido a su pobre biodisponibilidad oral. En los últimos años se ha semisintetizado análogos con grupos carbamatos que presentan mejores propiedades de biodisponibilidad oral [73].

Se han desarrollado derivados semisintéticos funcionalizados con un grupo carbamato cíclico de la eritromicina A, MSA antibiótico aislado de la bacteria *Saccharopolyspora erythraea*. La eritromicina A ha sido empleada durante décadas y se ha observado que provoca irritación del tracto gastrointestinal. Entre los compuestos semisintéticos, denominados **ketólidos**, destaca la **telitromicina** pues es utilizada actualmente en el tratamiento de infecciones del sistema respiratorio [73].

En las infecciones debidas a helmintos se emplea el carbamato **albendazol**, fármaco de amplio espectro que es metabolizado hepáticamente. El principio activo **efavirenz** posee en su estructura un carbamato cíclico y es empleado en la terapia antirretroviral del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) como inhibidor no nucleosídico de la transcriptasa inversa. Otros fármacos con carbamatos empleados en la terapia antirretroviral son los inhibidores de la proteasa del VIH como, por ejemplo, **ritonavir** y **atazanavir** [71].

Desde hace décadas, los carbamatos han sido empleados como insecticidas siendo su mecanismo de acción la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa. Cabe destacar la aplicación que han tenido algunos de estos compuestos como por ejemplo el **carbaril**, el cual se ha utilizado como pediculicida frente a *Pediculus capitis*, si bien ya no se emplea debido a sus posibles efectos carcinogénicos [74].

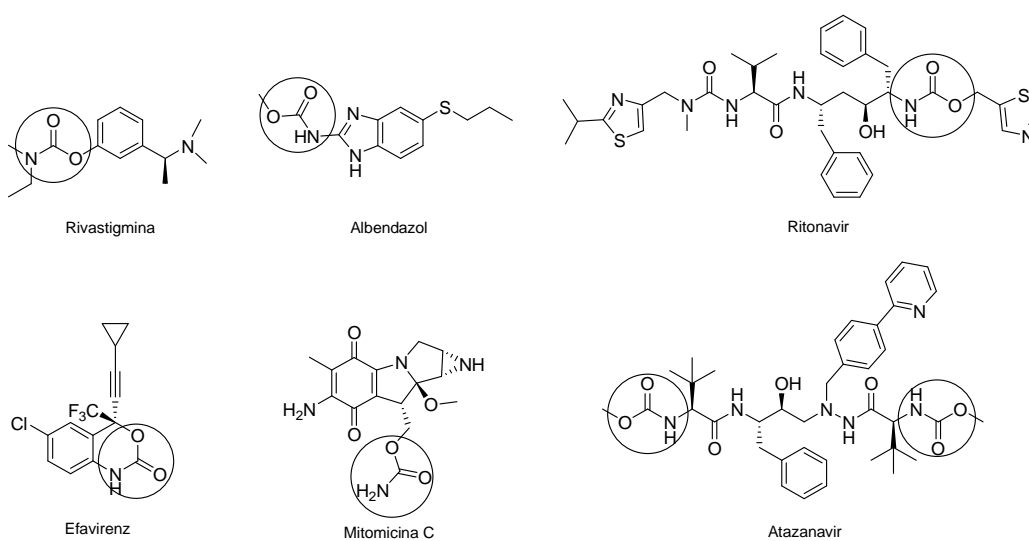


Figura 13. Ejemplos de carbamatos con aplicación terapéutica

Cabe destacar que la funcionalización con carbamatos es una estrategia empleada en química médica para obtener profármacos que mejoren la biodisponibilidad del compuesto activo. La hidrólisis de este grupo funcional puede producir, por tanto, la bioactivación del profármaco administrado o la inactivación del propio fármaco si éste requiere un carbamato para ejercer su acción [75].

A continuación se va a describir algunos profármacos con un grupo carbamato empleados en terapéutica (**Figura 14**).

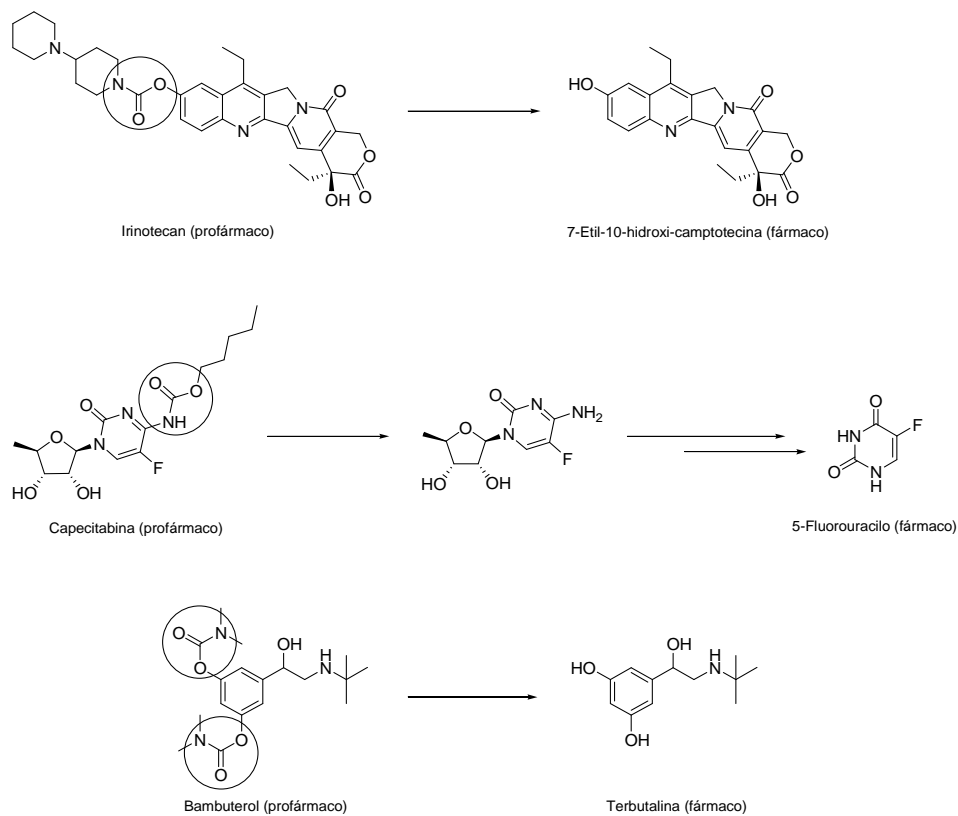


Figura 14. Ejemplos de profármacos con grupo carbamato

El **irinotecán** es un profármaco hidrosoluble que es metabolizado por carboxilesterasas hepáticas dando lugar al fármaco antitumoral 7-etil-10-hidroxi-camptotecina, potente inhibidor de la topoisomerasa I. La **capecitabina** es un profármaco que favorece la selectividad en la acción citostática de su correspondiente fármaco, el 5-fluorouracilo. Este profármaco es transformado por tres enzimas, siendo dos de ellas más

abundantes en los tumores. Debido a este hecho, la capecitabina es bioactivada a 5-fluorouracilo de forma selectiva en los tumores [71].

También cabe destacar el **bambuterol**, profármaco del agonista β_2 -adrenérgico terbutalina. Este profármaco mejora la acción de la terbutalina al disminuir considerablemente su metabolismo hepático [71].

c) Síntesis de pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleínas

Los alcaloides con esqueleto pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleínico están constituidos por un núcleo IQ fusionado con un ciclo nitrogenado de cinco miembros. Este tipo de compuestos fueron paradójicamente sintetizados antes de que se aislaran productos naturales con esta misma estructura. Las pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleínas poseen variadas propiedades biológicas como por ejemplo actividad antidepresiva y antitumoral [76]. Cabe destacar la actividad citotóxica frente a diversas líneas tumorales humanas de las **crispinas**, MSA con estructura de pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleínas aisladas de *Carduus crispus* [77]. También resulta interesante la **trollina**, obtenida del extracto etanólico de flores de *Trollius chinensis*. Este MSA ha manifestado actividad antibacteriana frente a *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae* y *Staphylococcus aureus*, así como actividad antivírica [78]. La **oleraceina E** es una pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleína aislada del extracto etanólico (70%) de *Portulaca oleracea* (**Figura 15**) [79]. Este MSA ha mostrado su capacidad antioxidante inhibiendo especialmente la peroxidación lipídica inducida por peróxido de hidrógeno [80].

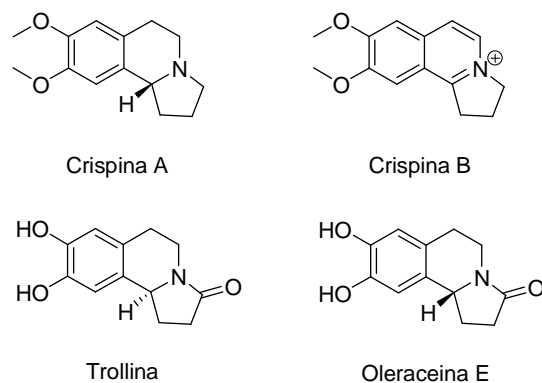


Figura 15. Pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleínas naturales bioactivas

Las relevantes propiedades biológicas de este tipo de IQ han suscitado el interés de varios investigadores que han desarrollado distintas estrategias para su síntesis.

A modo de ejemplo, la pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleína natural **crispina A** ha sido sintetizada a partir de una THIQ sustituida en posición 1 con trimetilsililpropargilo, la cual sufre una ciclación oxidativa intramolecular mediante acetato de plata dando lugar a la estructura pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleínica. Finalmente se genera la crispina A a través de la hidrogenación del pirrol (**Figura 16**) [81].

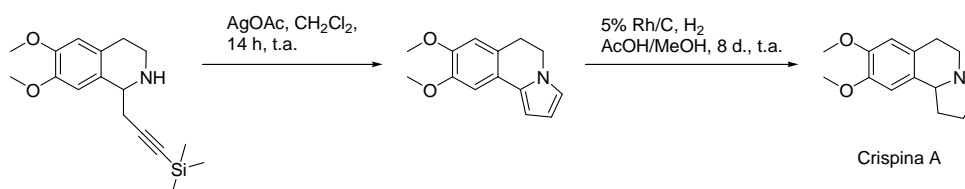


Figura 16. Síntesis de crispina A

Recientemente se ha descrito una síntesis estereoselectiva de las pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleínas naturales (*S*)-(-)-trollina, (*R*)-(+)-oleraceina E y (*R*)-(+)-crispina A. Se han sintetizado 1-propenil-THIQ quirales, las cuales son oxidadas con ozono, sometidas a una reacción de Wittig con un fosforano e hidrogenadas dando lugar a THIQ quirales sustituidas en posición 1 con un éster saturado. Estos compuestos sufren una desprotección del nitrógeno isoquinoleínico y una ciclación intramolecular generándose de este modo el esqueleto de pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleína con quiralidad. Finalmente se lleva a cabo modificaciones de los sustituyentes en las posiciones 8 y 9 para obtener los alcaloides naturales (**Figura 17**) [82].

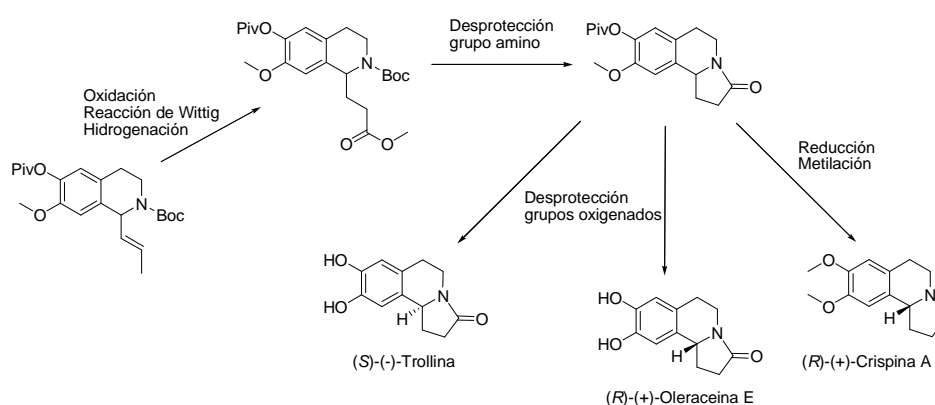


Figura 17. Síntesis de (*S*)-(-)-trollina, (*R*)-(+)-oleraceina E y (*R*)-(+)-crispina A

Otra aproximación para la obtención de pirrolo[2,1-*a*]isoquinolonas consiste en una síntesis en tándem, en la que partiendo de *N*-fenetilimidaz se produce una adición carbofílica de un organolítico dando lugar al

correspondiente *N*-aciliminio que es ciclado obteniéndose la pirrolo[2,1-*a*]isoquinolona. Esta reacción puede llevarse a cabo de forma *one-pot* empleando distintos tipos de organolíticos en tetrahidrofurano (THF) a -78 °C seguido de un tratamiento posterior de ácido trifluoroacético (TFA) en diclorometano o cloroformo (**Figura 18**) [83].

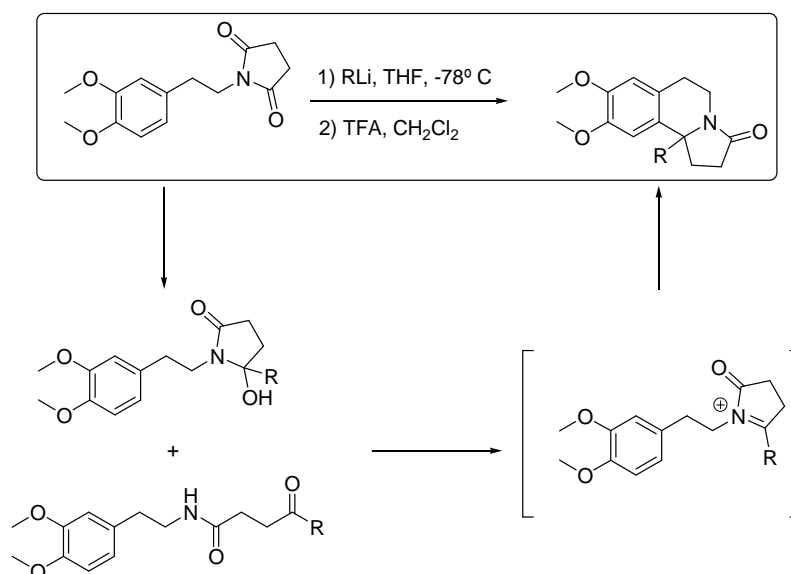


Figura 18. Síntesis *one-pot* de pirrolo[2,1-*a*]isoquinolonas

También se ha descrito la síntesis de pirrolo[2,1-*a*]isoquinolonas mediante una ciclación tipo Parham. Primero se somete a la *N*-fenetilimida a una halogenación con cloruro de yodo (ICl). Posteriormente se añade el reactivo organolítico produciéndose así un intercambio entre el halógeno (I) y el metal (Li). Cabe destacar que dicho intercambio se realiza con mayor rapidez que la adición del organolitio al grupo carbonilo de la imida. Debido a este hecho se produce una

ciclación intramolecular que origina el compuesto intermedio 10b-hidroxi-pirroloisoquinolona, el cual sufre deshidratación espontánea dando lugar a la enamida (**Figura 19**) [83].

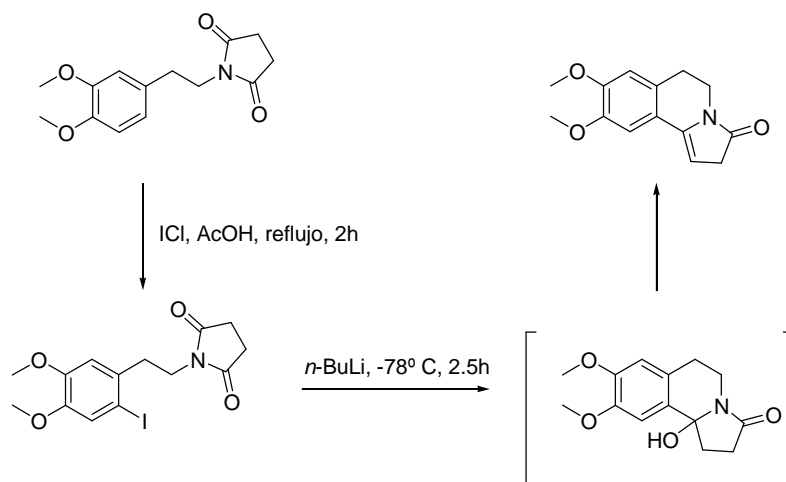


Figura 19. Obtención de pirrolo[2,1-*a*]isoquinolonas con enamida mediante la ciclación de Parham

d) Síntesis de hexahidrociclopenta[*ij*]isoquinoleínas

Los alcaloides con esqueleto hexahidrociclopenta[*ij*]isoquinoleínico se caracterizan por presentar en su estructura un ciclopentano fusionado con un núcleo IQ. Cabe destacar la escasa información encontrada en la literatura sobre este tipo concreto de alcaloides. Estos compuestos poseen una analogía estructural relevante con las proaporfinas.

Las proaporfinas son biosintetizadas a partir de bencilisoquinoleínas (BIQ) y son a su vez compuestos intermedios en la

obtención de aporfinas naturales como la **isotebaína** (Figura 20). De forma general, las BIQ sufren un acoplamiento oxidativo dando lugar a las proaporfinas, las cuales son transformadas a aporfinas mediante reordenamientos [84,85].

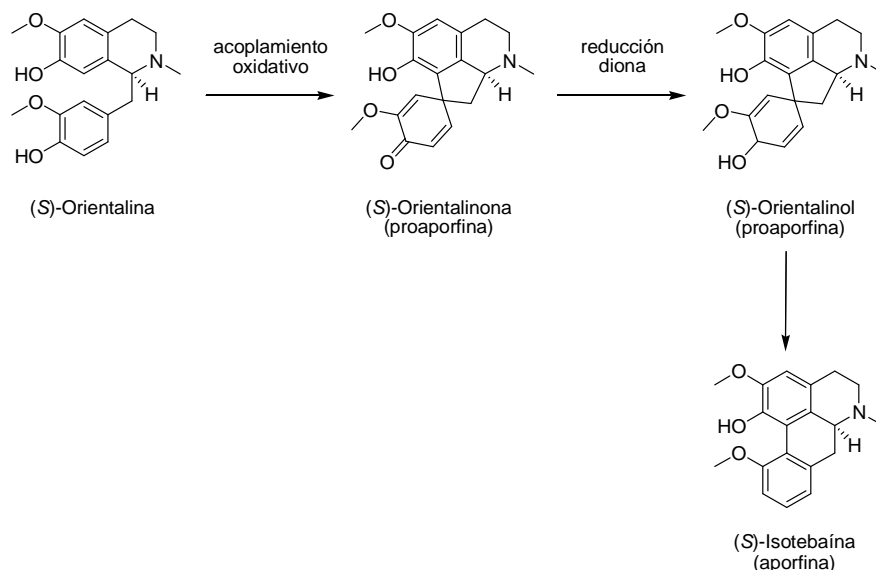


Figura 20. Biosíntesis de (S)-isotebaína

Recientemente se ha aislado la proaporfina **pronuciferina** y su análogo *N*-sustituido con isopropanonitrilo, la **epiganina A**, de las raíces de *Stephania epigaea* [86]. Se ha propuesto un posible mecanismo biosintético de la epiganina A a través de dos *N*-hidroxilaciones enzimáticas del ácido glutámico. La cianohidrina biosintetizada reacciona con la pronuciferina dando lugar a un producto intermedio que es decarboxilado generándose la epiganina A (Figura 21).

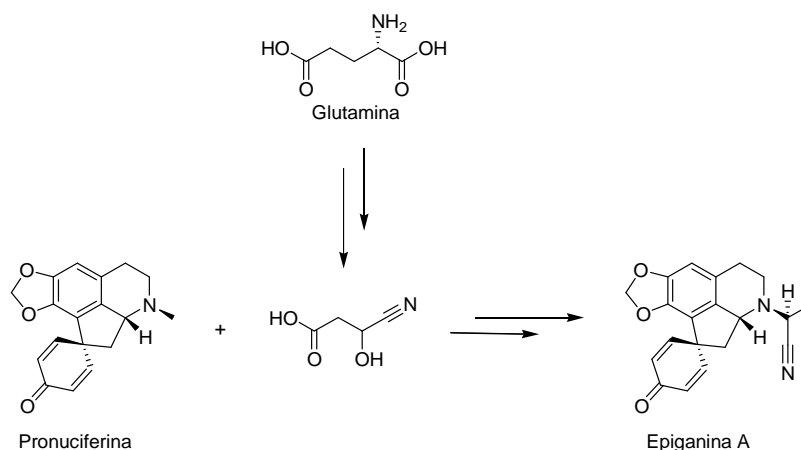


Figura 21. Biosíntesis hipotética de epiganina A

Otras proaporfinas como la **litsericinona**, la **8,9,11,12--tetrahidromecambrina** y la **hexahidromecambrina A** fueron aisladas de las hojas de *Phoebe grandis*. Estas proaporfinas manifestaron una actividad citotóxica *in vitro* frente a la línea celular tumoral HepG2 [87]. La **glaciovina** es una proaporfina aislada de *Ocotea lancifolia* que ha mostrado su actividad antiparasitaria frente a promastigotes de varias especies del género *Leishmania* y frente a *Trypanosoma cruzi* [88].

Las proaporfinas naturales también han sido obtenidas mediante síntesis total y además han inspirado el desarrollo sintético de análogos con esqueleto de hexahidroclopenta[*ij*]isoquinoleína (HCPIQ).

Desde hace décadas se ha descrito distintas estrategias sintéticas para obtener el núcleo HCPIQ presente en las proaporfinas. En la década de los setenta se propuso una síntesis total de alcaloides con estructura de aporfina, proaporfina y morfinandienona mediante fotólisis partiendo de las correspondientes 1-bencilisoquinoleínas bromadas [89].

También se ha sintetizado el esqueleto de HCPIQ mediante catálisis ácida haciendo reaccionar el correspondiente ácido isoquinoleinacético o su éster metilado con ácido polifosfórico (PPA) a 115° C. La cetona obtenida es sometida a una reacción de Wittig con cloruro de metoximetil-trifenilfosfonio obteniéndose los derivados enol éteres, los cuales son hidrolizados al aldehído mediante ácido metanosulfónico (AMS) acuoso. El aldehído es sometido a una anelación de Robinson con butenona en presencia de tert-butóxido potásico para obtener la HCPIQ amuronina (Figura 22) [90].

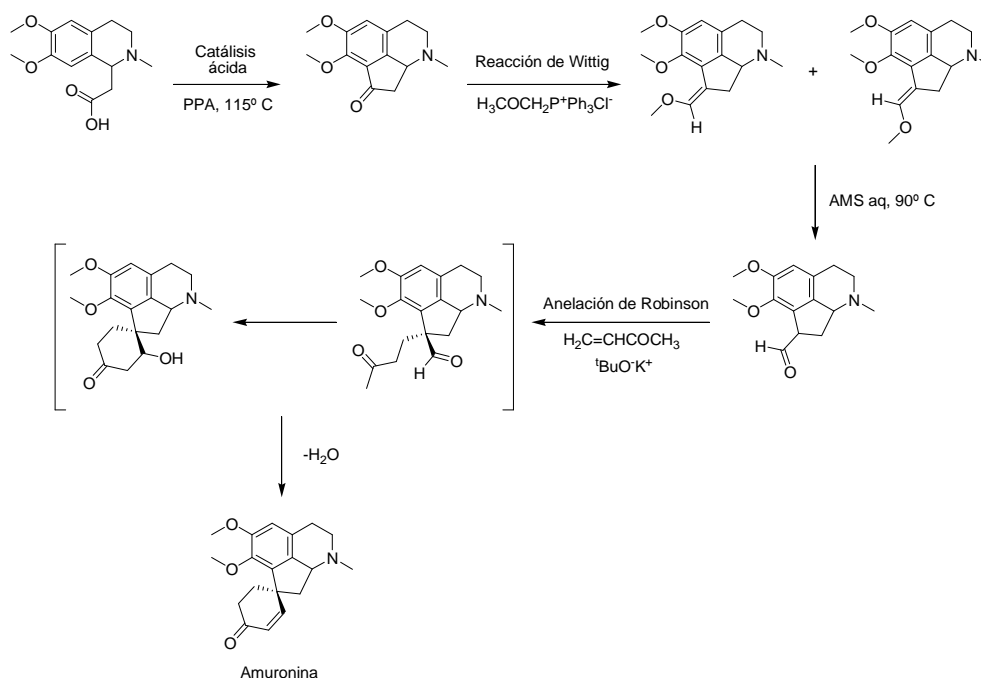


Figura 22. Síntesis de la HCPIQ amuronina

Cabe resaltar el reactivo de Eaton que permite llevar a cabo alquilaciones y acilaciones sobre compuestos aromáticos u olefínicos de forma más económica en comparación con el empleo del ácido polifosfórico [91]. Este reactivo consiste en una mezcla de pentóxido de fósforo en ácido metanosulfónico en una proporción en masa 1:10. Mediante el empleo de este reactivo se sintetizaron varios compuestos como la dihidrojasmona y la 1-indanona (**Figura 23**).

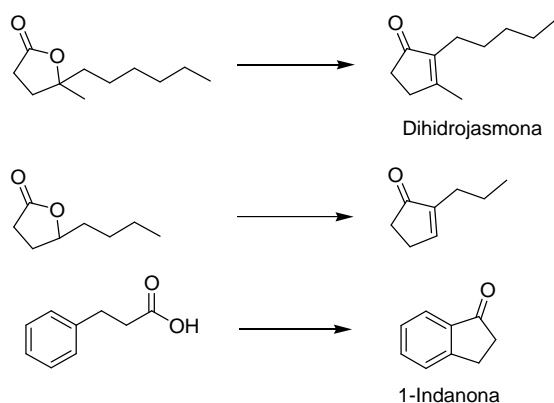


Figura 23. Compuestos sintetizados con el reactivo de Eaton

También ha sido descrita la síntesis total de las proaporfina **stefarina** y **pronuciferina**. La stefarina se ha obtenido a través de una ciclación oxidativa intramolecular haciendo reaccionar a la correspondiente enamida fenólica con diacetato de yodobenceno en trifluoroetanol a 0° C, seguida de una reducción con borohidruro sódico (NaBH₄). La pronuciferina se genera mediante la *N*-metilación de la stefarina (**Figura 24**) [92].

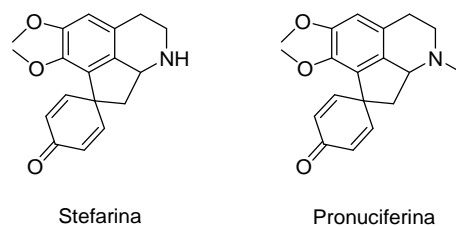


Figura 24. Stefarina y pronuciferina

Cabe destacar que se han sintetizado análogos de HCPIQ con actividad inhibitoria sobre la feniletanolamina *N*-metiltransferasa, enzima implicada en la síntesis de la adrenalina [93]. Recientemente se han obtenido derivados sintéticos de HCPIQ capaces de inhibir de forma potente la poli(ADP-ribosa) polimerasa 1 (PARP1) resultando citotóxicos frente a células deficientes en genes supresores de tumores [94]. Considerando estos hechos resulta interesante profundizar en la obtención de HCPIQ con posibles actividades biológicas.

Desde hace años se conoce la relevancia que tienen los grupos hidroxilos libres en alcaloides con núcleo IQ para la interacción con los receptores dopaminérgicos (RD) [36,58-63,65]. La desprotección de los hidroxilos en las IQ sintéticas con afinidad por los RD resulta, por consiguiente, una etapa importante. Cabe destacar que la reacción de *O*-demetilación es el proceso de desprotección de hidroxilos que se emplea en la síntesis de compuestos con actividad dopaminérgica en nuestro grupo de investigación.

La reacción de *O*-demetilación se lleva a cabo desde hace décadas utilizando tribromuro de boro (BBr_3) en un disolvente inerte y anhidro, habitualmente diclorometano [95-97]. Esta reacción suele realizarse en

condiciones suaves mezclando el compuesto a demetilar y el BBr_3 a -80°C para posteriormente dejar que la reacción alcance la temperatura ambiente. Cabe destacar que otros grupos de investigación han descrito procesos de *O*-demetilación de 1-fenil-, 4-fenil- y 1-bencil-THIQ dopaminérgicas empleado ácido bromhídrico (HBr) a temperaturas elevadas (100°C) obteniendo en dicha reacción bajos rendimientos [66].

II.1.2. Actividad antibacteriana y antifúngica

En la Naturaleza existe una gran variedad de alcaloides isoquinoleínicos y quinoleínicos con actividad antibacteriana y antifúngica que, a su vez, han inspirado la síntesis de derivados químicamente más complejos y biológicamente activos. De hecho, en las últimas décadas se han aislado y sintetizado un gran número de THIQ con actividad antitumoral y antimicrobiana [98,99].

En la **figura 25** aparecen representados los principales cabezas de serie de alcaloides antimicrobianos.

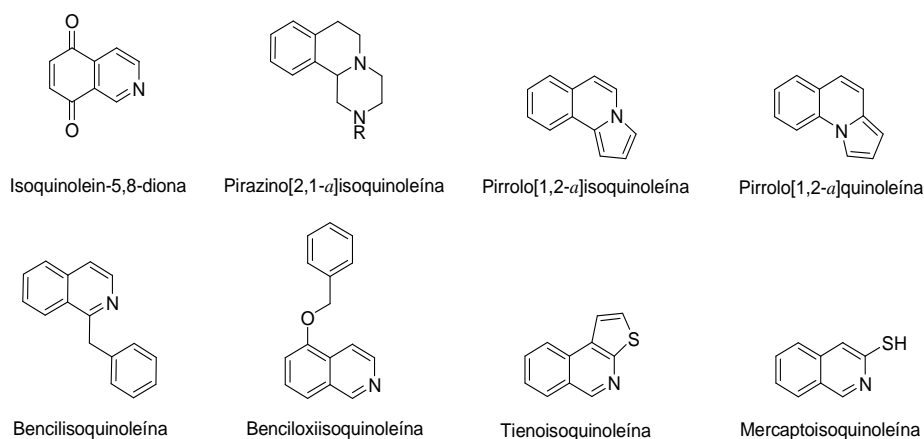


Figura 25. Cabezas de serie de alcaloides antimicrobianos

En estudios previos se ha observado que la cuaternización del *N* y la protección de los grupos polares de los alcaloides isoquinoleínicos sustituidos resultan relevantes en la actividad antibacteriana, antifúngica y antimalárica. Sin embargo, cabe destacar que las IQ con actividad antiviral, concretamente frente al VIH, son aquellas que presentan los grupos polares desprotegidos, como las THIQ o las sales de 6,7-dihidroxi-isoquinolinio [100].

Cabe destacar que varias quinonas antimicrobianas con estructura de **isoquinoleín-5,8-dionas** fueron extraídas de esponjas marinas del género *Xestospongia*, así como de su molusco nudibranquio (*Jorunna funebris*). Dichos compuestos mostraron actividad frente a bacterias Gram-positivas (*Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus*) y frente a hongos (*Cladosporium cucumerinum*). Además, se ha observado que estos MSA ejercen una actividad insecticida frente a *Spodoptera littoralis* [101-103]. Como consecuencia de la relevante actividad antibacteriana y también antitumoral de las quinonas se ha realizado la síntesis de varias isoquinoleín-5,8-dionas, las cuales resultaron activas frente a *B. subtilis* [104].

Cabe destacar la potente actividad antibacteriana frente a *Helicobacter pylori* manifestada por varias quinolonas aisladas del actinomiceto *Pseudonocardia* sp. CL38489. En concreto, el compuesto **CJ-13,136** mostró una concentración inhibitoria mínima frente a *H. pylori* de 0.1 ng/mL [105].

Recientemente se han aislado alcaloides antimicrobianos con estructura de benzofenantridina del vegetal *Zanthoxylum rhoifolium*.

Entre los MSA obtenidos, el compuesto con mayor potencia y amplio espectro de acción fue la **queleritrina** [106].

Se ha observado que varias THIQ con estructura de **pirazino[2,1-a]isoquinoleína** ejercen una actividad antifúngica *in vitro* frente a: *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton rubrum*, *Aspergillus fumigatus* y *Candida albicans* [107-108].

Alcaloides sintéticos con estructura **pirrolo[1,2-a]quinoleína e isoquinoleína** mostraron actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholera*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*. Este tipo de compuestos también manifestaron actividad antifúngica (*Candida tropicalis*, *C. albicans* y *Aspergillus niger*) [109].

Se ha observado que las **mercapto-** y **tieno-isoquinoleínas** sintéticas resultan antibacterianas *in vitro* frente a *Bacillus cereus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*. Algunos de estos compuestos también mostraron actividad antifúngica frente a *A. niger* y *C. albicans* [110].

Cabe destacar que varias IQ con esqueleto de **benciloxiisoquinoleína** han resultado activas *in vitro* frente a *H. pylori*, mostrando una de ellas mayor actividad que la amoxicilina y la claritromicina, si bien no manifestó eficacia *in vivo* [111]. También se ha descrito que algunas **bencilisoquinoleínas** poseen actividad citotóxica, antifúngica, antibacteriana y antimalárica [100]. Recientemente se ha sintetizado 1-aryl-6,7-dimetoxi-THIQ con potente actividad antibacteriana [112].

Se ha descubierto la actividad antimalárica, antibacteriana y antifúngica *in vitro* de IQ con estructura **bisbencilisoquinoleínica** (BBIQ) aisladas de la especie vegetal *Epinetrum villosum* [113]. La BBIQ **cefarantina**, aislada de *Stephania rotunda*, ha mostrado actividad antipalúdica *in vitro* [114]. Se ha observado un efecto larvicida frente a *Culex quinquefasciatus* en 1-fenilisoquinoleínas sintéticas, así como en las fracciones de un extracto de tallos de *Berberis tabiensis* que contienen varias bisbencilisoquinoleínas [115].

La **tetrandrina** es un alcaloide BBIQ aislado de *Stephania tetrandra* y se ha observado que produce un efecto sinérgico con fluconazol frente a *C. albicans*. Este MSA reduce la resistencia frente a fluconazol al ser un inhibidor de la expresión génica de las proteínas que forman las bombas de expulsión de principios activos azólicos en *C. albicans* [116]. Se ha observado que la tetrandrina también puede revertir la resistencia a agentes quimioterápicos en células tumorales al inhibir la glicoproteína-P y reducir su expresión, ya que esta proteína se encarga de expulsar los fármacos de las células [117].

Se debe enfatizar que una gran diversidad de compuestos con esqueleto quinoleínico e isoquinoleínico también muestran una importante actividad antipalúdica tanto *in vitro* como *in vivo* [118,119]. Algunas IQ antimaláricas sintéticas poseen sustituyentes tipo uretano, tiouretano y carbamato [118,120] (**Figura 26**).

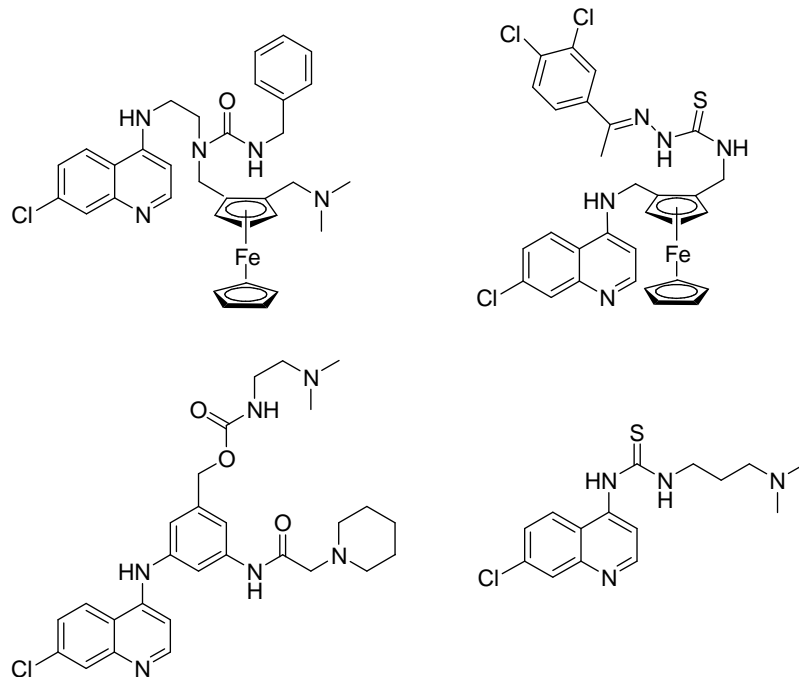


Figura 26. Quinoleínas antipalúdicas con uretano, tiouretano o carbamato

II.1.3. Actividad dopaminérgica

a) Dopamina: biosíntesis y metabolismo

La dopamina (DA) es un neurotransmisor con estructura de catecolamina y su biosíntesis se realiza a partir del aminoácido L-tirosina. En primer lugar, la L-tirosina es transformada a 3,4-dihidroxiifenilalanina (L-DOPA) mediante una hidroxilación catalizada por la tirosina hidroxilasa. Finalmente, la L-DOPA sufre una descarboxilación por la L-aminoácido aromático descarboxilasa (LAAD) dando lugar a la dopamina [121] (**Figura 27**). La dopamina puede ser degradada a ácido 3,4-dihidroxiifenilacético en las terminaciones nerviosas por la monoaminoxidasa (MAO). Una vez resulta liberada la

dopamina al espacio sináptico, ésta también puede ser metabolizada primero a 3-metoxitiramina por la catecol-O-metil-transferasa (COMT) y luego degradada a ácido 3-metoxi-4-hidroxifenilacético por la MAO [122].

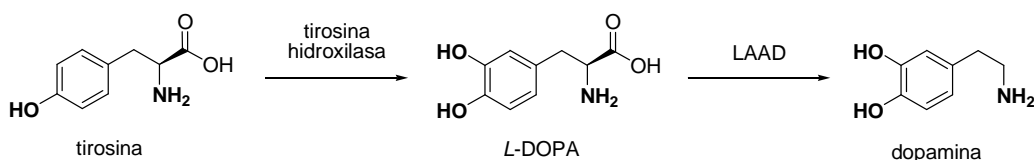


Figura 27. Biosíntesis de dopamina

La biosíntesis de dopamina y su secreción por las neuronas puede ser regulada a través de dos mecanismos que disminuyen la transmisión dopaminérgica: la activación de receptores presinápticos de tipo-D₂ por agonistas dopaminérgicos y la recaptación de dopamina del espacio sináptico por neuronas presinápticas mediante el transportador de membrana de dopamina (DAT) [123,124].

b) Receptores dopaminérgicos: clasificación y ubicación

Los receptores dopaminérgicos (RD) son de naturaleza proteica y están formados por siete dominios helicoidales transmembrana asociados al complejo de la proteína G. Los RD son tanto presinápticos como postsinápticos y son clasificados en la subfamilia tipo-D₁ (formada por D₁ y D₅) y en la subfamilia tipo-D₂ (constituida a su vez por D₂, D₃ y D₄) [123,125]. Se ha observado dos isoformas del receptor D₂, llamadas D_{2S} y D_{2L}. Se sospecha que el receptor D_{2L} es principalmente postsináptico, sin embargo la isoforma D_{2S} resulta ser presináptica [122].

Se ha visto que la activación de los RD de tipo-D₁ promueve la actividad de la adenilato ciclasa (AC) mediante la proteína G α_s , lo que conlleva un incremento en los niveles intracelulares de adenosín monofosfato cíclico (AMPC). En contraposición, la activación de los receptores tipo-D₂ conlleva la inhibición de la AC a través de las proteínas G $\alpha_{i/o}$ y el consiguiente descenso de la concentración de AMPC intracelular [126].

Cabe destacar que las neuronas dopaminérgicas se encuentran mayoritariamente en el sistema nervioso central (SNC) dando lugar a los sistemas nigroestriado, mesocortical, mesolímbico y tuberoinfundibular. De forma general, los receptores tipo-D₁ predominan sobre los tipo-D₂ a lo largo de todo el cerebro humano. Se ha observado que en la subfamilia tipo-D₁ (D₁ y D₅), los receptores D₁ son mayoritarios en el cerebro, ubicándose sobre todo en el sistema nigroestriado y mesolímbico. Por el contrario, los receptores D₅ son bastante minoritarios y están distribuidos principalmente en el hipocampo e hipotálamo. En lo referente a la distribución de los receptores tipo-D₂ (D₂, D₃ y D₄), los receptores D₂ resultan más abundantes en el sistema mesolímbico y nigroestriado. Los receptores D₃ tienen mayor densidad en los islotes de Calleja, tubérculo olfatorio y núcleo *accumbens* anterior. El receptor D₄ se ubica en el tálamo, hipotálamo, corteza frontal, núcleo *accumbens* y mesencéfalo [122].

c) Dopamina: relevancia fisiológica y patologías asociadas

La dopamina resulta ser un importante neurotransmisor del SNC. El sistema nigroestriado es imprescindible en el control de los

movimientos voluntarios y el sistema mesolímbico está implicado en los procesos conductuales, en los que la motivación resulte clave. Se ha observado que la dopamina contribuye en el control de las funciones cognitivas, actividad locomotora, estados anímicos y en desórdenes debidos al consumo de sustancias de abuso [122].

Algunas patologías están asociadas a una alteración de los sistemas dopaminérgicos. Entre ellas, cabe destacar la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Huntington, la esquizofrenia y la hiperactividad con déficit de atención.

La enfermedad de Parkinson es debida a una hipofunción de la vía dopaminérgica nigroestriada como consecuencia de una neurodegeneración. En el tratamiento de esta patología se estimula la actividad dopaminérgica directa (levodopa y agonistas dopaminérgicos) o indirectamente (inhibidores de MAO y COMT). La levodopa es administrada con un inhibidor de la LAAD para aumentar su biodisponibilidad cerebral. Además, los inhibidores de MAO y de COMT son utilizados en el tratamiento coadyuvante a la levodopa para reducir el catabolismo de ésta. Los agonistas dopaminérgicos empleados pueden ser derivados ergóticos o no ergóticos. En algunos casos, también se administra fármacos anticolinérgicos para tratar la enfermedad de Parkinson [122].

La enfermedad o corea de Huntington cursa con síntomas característicos de una hiperactividad dopaminérgica. La terapia consiste en la administración de antagonistas dopaminérgicos de receptores postsinápticos (butirofenonas, benzamidas y fenotiazinas) o de fármacos que deplecionen los depósitos de dopamina. También se puede emplear

activadores de RD presinápticos a dosis bajas como la apomorfina o la bromocriptina [122].

Se considera que en la esquizofrenia hay un desequilibrio en el sistema dopaminérgico, en concreto una hipofunción a nivel D₁ y una hiperactividad de D₂. En el tratamiento de esta patología se emplean neurolépticos, cuya acción se centra en el bloqueo de los RD D₂. Los neurolépticos se clasifican en típicos (fenotiazinas, tioxantenos y butirofenonas, entre otros) y en atípicos (benzamidas, dibenzodiazepinas, dibenzotiazepinas y benzisoxazol), los cuales generan menos reacciones adversas. Cabe destacar que los antipsicóticos antagonizan de forma selectiva los RD presinápticos y postsinápticos, siendo variable la intensidad del bloqueo y el subtipo de receptor afectado [122].

Se considera que en el trastorno de hiperactividad con déficit de atención (TDAH) hay una deficiencia tanto en los sistemas dopaminérgicos como en los noradrenérgicos. Debido a ello, en el tratamiento del TDAH se puede utilizar estimulantes dopaminérgicos y noradrenérgicos, entre otros fármacos [122,127].

d) Agonistas y antagonistas dopaminérgicos

Se debe destacar la gran variedad de estructuras químicas que presentan los agonistas dopaminérgicos: feniletilaminas, aporfinas, aminotetralinas, aminoindanos, octahidrobenczoquinolinas y derivados ergóticos, entre otros (**Figura 28**). Como se ha comentado anteriormente, los agonistas dopaminérgicos son empleados en clínica en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson y en trastornos neuroendocrinos (supresión de la lactación al bloquear la secreción de prolactina) [122].

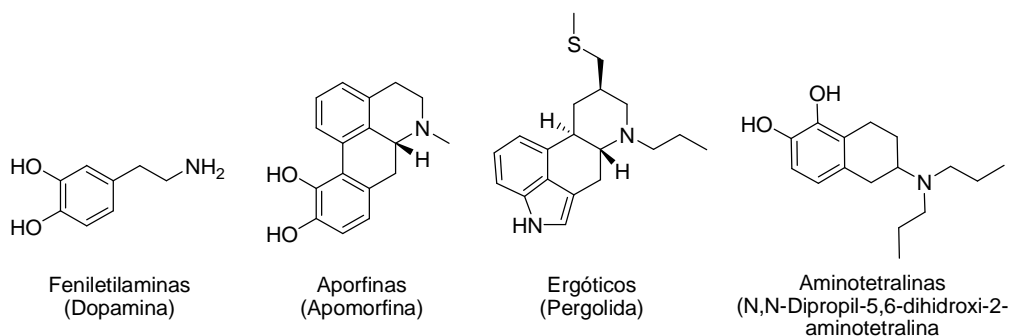


Figura 28. Agonistas dopaminérgicos

Entre los antagonistas dopaminérgicos cabe resaltar los compuestos SCH23390 y SCH39166, los cuales actúan sobre receptores tipo-D₁. Las benzamidas como, por ejemplo, la racloprida y las benzazepinas (clozapina) inhiben de manera selectiva los RD de tipo-D₂. Otros compuestos como los tioxantenos y las fenotiazinas actúan de forma inespecífica (**Figura 29**) [122]. Los antagonistas dopaminérgicos resultan eficaces en el tratamiento de la esquizofrenia, delirios, manía y en la enfermedad de Huntington [123].

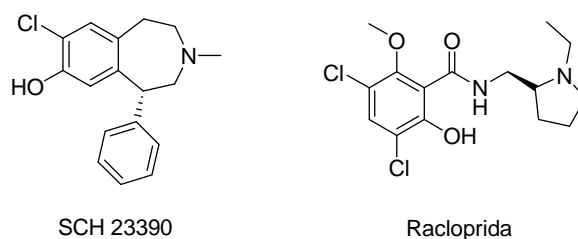


Figura 29. Antagonistas dopaminérgicos

En la determinación de la afinidad por los RD se emplea ensayos *in vitro* de fijación con radioligandos específicos en cuerpo estriado de rata. En esta técnica, denominada *binding*, se estudia la capacidad de los compuestos a ensayar para desplazar a los radioligandos selectivos ($[^3\text{H}]$ -SCH 23390 para RD tipo-D₁ y $[^3\text{H}]$ -racloprida para receptores tipo-D₂) de su lugar de unión al receptor.

e) Antecedentes del grupo de investigación

Los alcaloides isoquinoleínicos son biosintetizados a partir de la dopamina y del *p*-hidroxi-fenilacetaldehído. La subestructura de tipo feniletilamina aportada por el sintón dopamina debe de conferir a las IQ cierta afinidad por los receptores dopaminérgicos, los cuales están implicados en severas patologías neurológicas anteriormente descritas en el presente capítulo.

Este hecho ha generado un mayor interés en la síntesis de nuevas IQ, inspiradas en análogos naturales, que posean afinidad específica por algunos tipos de RD [36,58,60,61,65,128-131].

En nuestro grupo de investigación se ha desarrollado durante las últimas décadas una línea de investigación sobre síntesis de IQ con actividad dopaminérgica.

A modo de ejemplo se va a citar la síntesis enantioselectiva de 1-benciltetrahidroisoquinoleínas con actividad dopaminérgica. Se logró sintetizar sales de isoquinolinio con (*R*)- o (*S*)-fenilglicinol como auxiliar quiral. Tras una reducción de los diastereoisómeros y eliminación del auxiliar quiral se obtuvieron los enantiómeros, los cuales fueron sometidos a una *N*-metilación y a una posterior desprotección de los

grupos oxigenados del anillo A. Cabe destacar que las (1*R*)-BTHIQ sólo manifestaron una leve afinidad por los RD tipo-D₂ en rango micromolar y no presentaron afinidad por los receptores tipo-D₁. Sin embargo, las (1*S*)-BTHIQ sí resultaron considerablemente más afines por los dos tipos de RD. También se observó que la introducción de un grupo propilo en el nitrógeno no favorece la afinidad de las BTHIQ por estos receptores (**Figura 30**) [60].

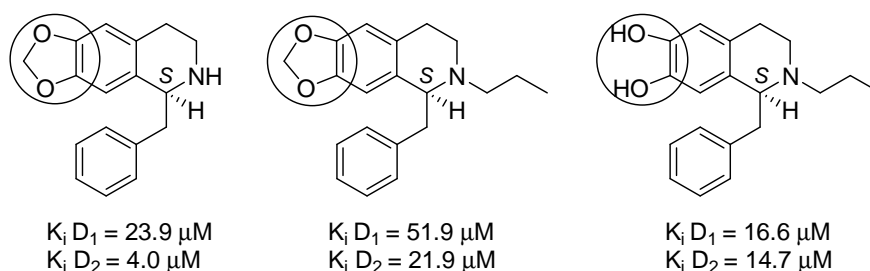


Figura 30. 1-bencil-THIQ quirales con actividad dopaminérgica

Posteriormente se llevó a cabo la síntesis de las series de 1-butil-, 1-bencil- y 1-fenil-tetrahidroisoquinoleínas cloradas en su posición 6 e hidroxiladas en la posición 7. La serie 1-fenil-THIQ manifestó una mayor afinidad por los RD tipo-D₁, mientras que las 1-butil- y 1-bencil-THIQ resultaron más afines por los receptores tipo-D₂ (**Figura 31**). Merece una mención especial la 1-butil-6-hidroxi-7-cloro-THIQ, pues mostró una mayor selectividad *in vitro* por los RD tipo-D₂ (cociente D₁/D₂ = 49), una notable afinidad por ellos ($K_i D_2 = 66 \text{ nM}$) y una actividad antidepresora *in vivo* [65].

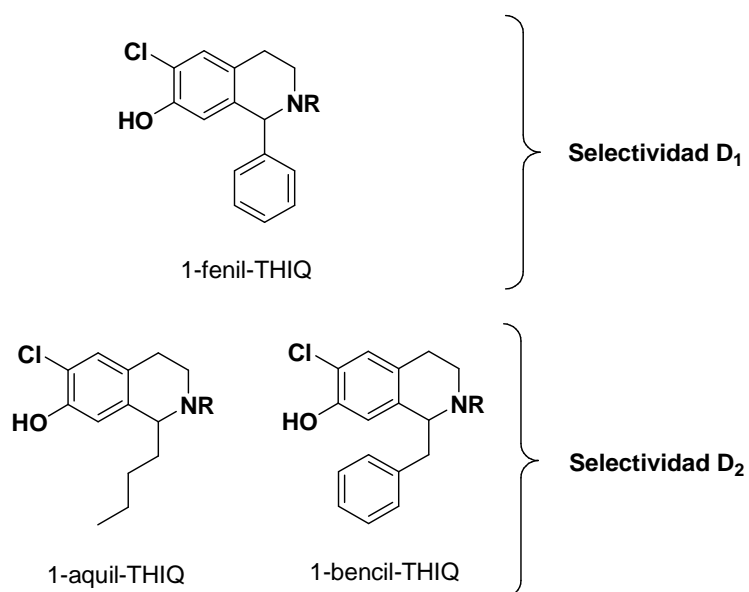


Figura 31. Series 1-butil-, 1-bencil- y 1-fenil-tetrahidroisoquinoleínas con afinidad dopaminérgica

Recientemente se ha sintetizado una serie de aporfinas y de alcaloides fenantrénicos, algunos de ellos presentes en la Naturaleza, con afinidad por los RD. Se observó que tanto las aporfinas como los fenantrenos no cuaternarios manifestaban una afinidad elevada por los RD tipo-D₂, especialmente los compuesto con un grupo catecol o con grupos metilendioxi. Cabe destacar la considerable selectividad de los derivados fenantrénicos por los receptores tipo-D₂ (**Figura 32**) [63].

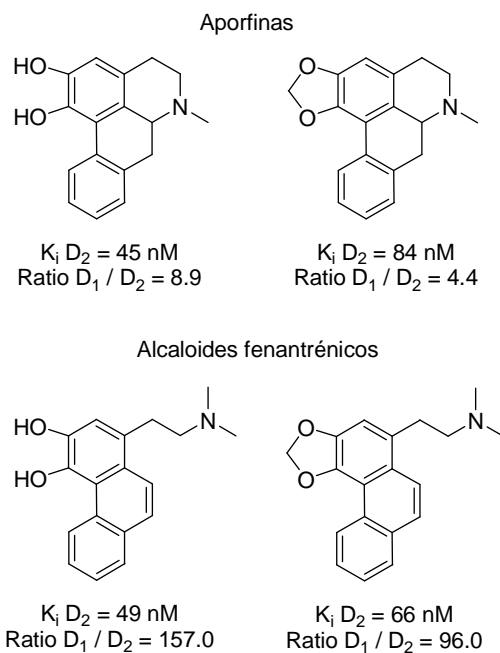


Figura 32. Aporfinas y fenantrenos dopaminérgicos

En un estudio reciente se ha llevado a cabo la síntesis de THPB con diversos sustituyentes en los anillos A y D y se ha analizado la implicación de dichos grupos funcionales en la afinidad por los RD. Se observó que en rasgos generales los compuestos con un anillo catecólico A poseen mayor afinidad por ambos tipos de receptores en comparación con sus análogos metilendioxi y dimetoxilados. Se vió que la introducción de un átomo de cloro en posición 3 del anillo A incrementa la afinidad por los receptores tipo- D_1 con la consiguiente disminución de la selectividad por los RD tipo- D_2 . También cabe destacar la relevancia que tiene la posición de un grupo hidroxilo en el anillo D para esta actividad. Se constató que la introducción de un grupo hidroxilo en la posición 9 mejora la afinidad por ambos tipos de receptores, mientras que

CAPÍTULO II: Síntesis de THIQ 1-sustituídas con actividad antibacteriana y antifúngica o dopaminérgica

su presencia en posición 11 empeora considerablemente dicha afinidad. Cabe resaltar la gran selectividad que manifestó la 2,3,9-trihidroxi-THPB por los RD tipo-D₂ (ratio K_i D₁/D₂ = 40.6) (Figura 33) [62].

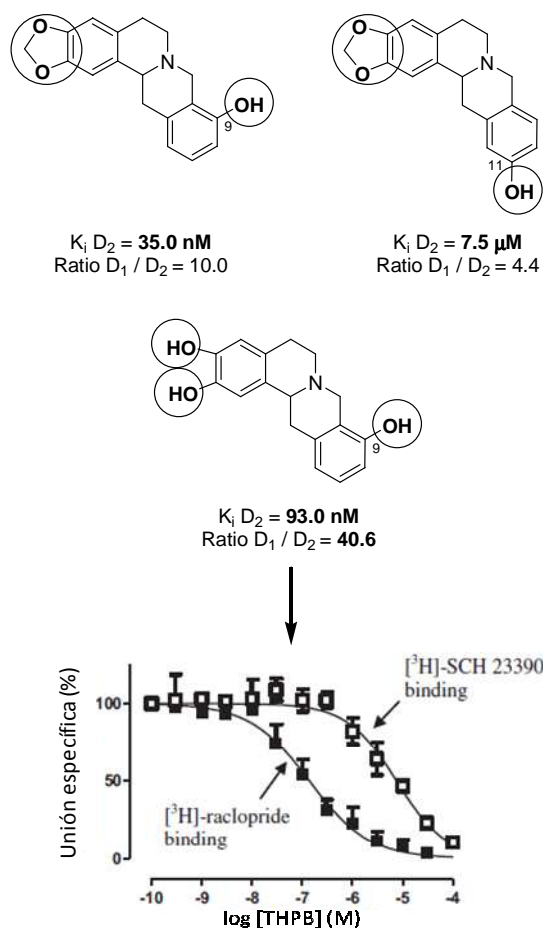


Figura 33. THPB con afinidad dopaminérgica

II.2. Síntesis de tetrahidroisoquinoleínas con actividad antibacteriana y antifúngica

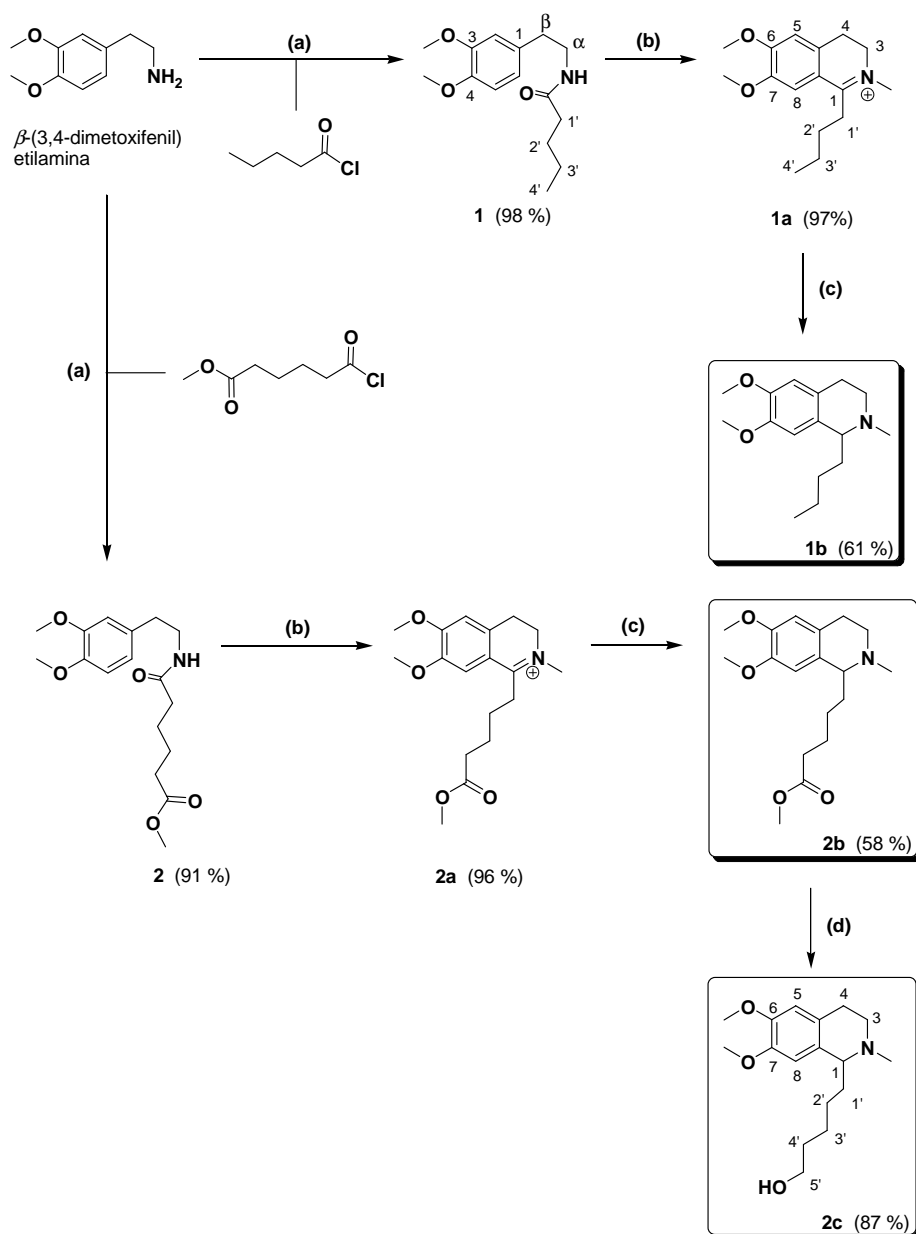
II.2.1. Química

a) Síntesis de 1-alkil-THIQ con función carbamato y éster

Las 1-alkil-THIQ descritas en la presente **Tesis Doctoral** se sintetizaron a partir de la β -(3,4-dimetoxifenil)etilamina. Este reactivo fue sometido a una *N*-acilación con cloruro de pentanoilo o con metil 6-cloro-6-oxohexanoato empleando el método de Schotten-Baumann. Se obtuvo las correspondientes amidas *N*-(3,4-dimetoxifenetil)pentanamida **1** y metil *N*-(3,4-dimetoxifenetilamino)-6-oxohexanoato **2** con alto rendimiento. Dichas amidas fueron sometidas a una ciclación de Bischler-Napieralski y a una inmediata *N*-metilación para obtener los respectivos imonios: *N*-metil-1-butil-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolinio **1a** y *N*-metil-1-(metilpentanoato)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolinio **2a**. Los dihidroisoquinolinios fueron reducidos mediante NaBH₄ a las correspondientes *N*-metil-1-butil-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-THIQ **1b** y *N*-metil-1-(metilpentanoato)-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-THIQ **2b** (**Figura 34**).

Se decidió modificar el éster metílico terminal de la THIQ **2b** para introducir a través de un grupo carbamato o un éster diversos sustituyentes que enriquecieran el estudio de relación estructura-actividad antibacteriana y antifúngica.

CAPÍTULO II: Síntesis de THIQ 1-sustituídas con actividad antibacteriana y antifúngica o dopaminérgica



(a) NaOH 5%, CH₂Cl₂, t.a., 2 h; (b) POCl₃, CH₃CN, reflujo, N₂, 1 h; después Mel, acetona, reflujo, N₂, 3 h; (c) NaBH₄, MeOH, t.a., 2 h; (d) LiAlH₄, Et₂O, THF, reflujo, N₂, 2 h.

Figura 34. Síntesis de 1-alkil-THIQ

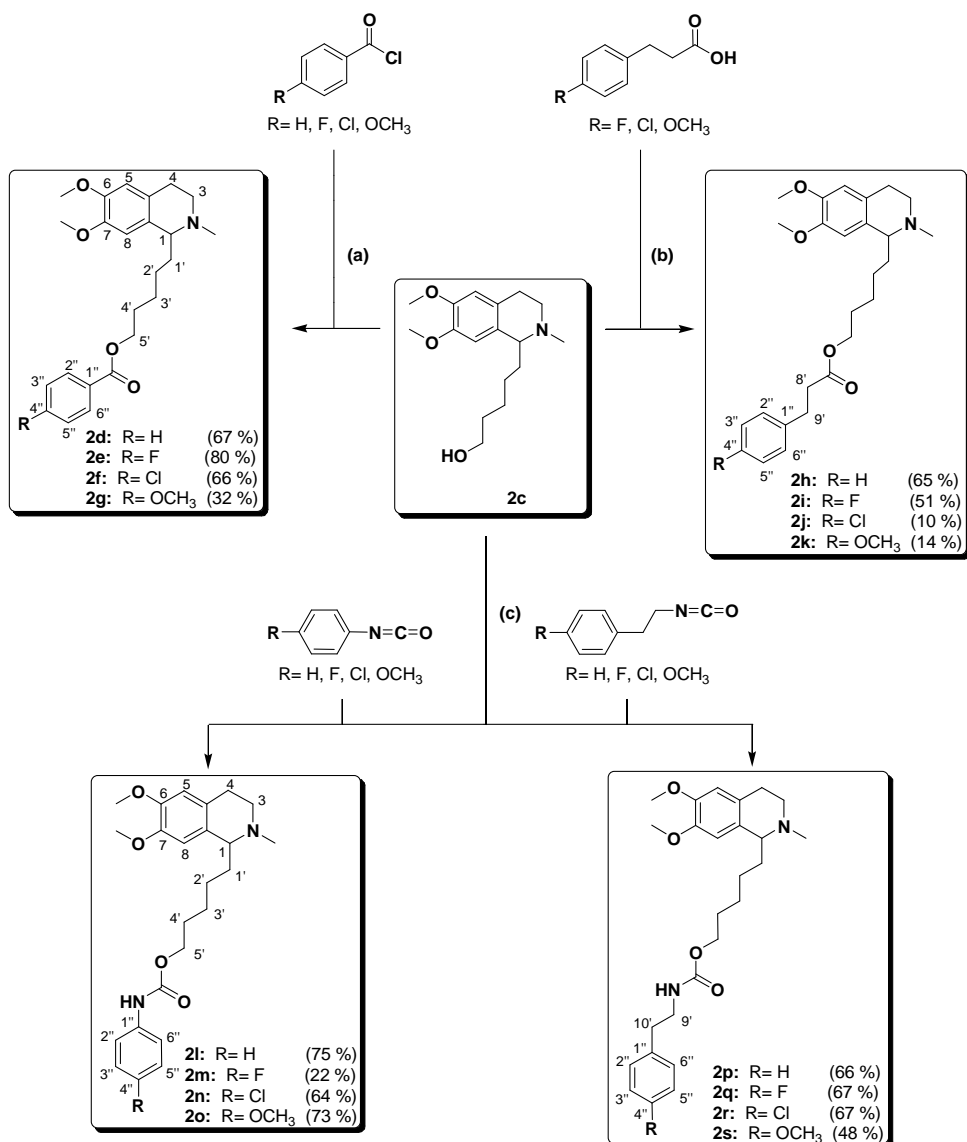
Considerando este hecho se redujo el éster metílico terminal del compuesto **2b** mediante hidruro de aluminio y litio (LiAlH_4) para generar la *N*-metil-1-pentanol-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-THIQ **2c**. A partir de esta THIQ **2c** se sintetizó varias 1-pentil-THIQ con función éster **2d-2k** o carbamato **2l-2s**, a través de los cuales se introdujo distintos sustituyentes fenilo y fenetilo (**Figura 35**).

A continuación se describe el procedimiento empleado en la síntesis de estas 1-alkil-THIQ y de sus precursores.

Reacción de *N*-acilación para sintetizar las β -feniletilamidas **1** y **2**:

El método sintético llevado a cabo consiste en una reacción de Schotten-Baumann. La β -(3,4-dimetoxifenil)etilamina comercial es disuelta en diclorometano (CH_2Cl_2) y se le añade una solución de hidróxido sódico (NaOH) al 5 %. El medio de reacción se enfría a 0°C y posteriormente se adiciona el correspondiente cloruro de alquilo gota a gota debido al carácter exotérmico de esta reacción. Se deja que el medio en agitación alcance la temperatura ambiente y una vez finalizada la reacción se realiza la purificación de la amida.

CAPÍTULO II: Síntesis de THIQ 1-sustituídas con actividad antibacteriana y antifúngica o dopaminérgica



(a) 4-DMAP, Et_3N , CH_2Cl_2 , t.a., N_2 , 5 h; **(b)** SOCl_2 , CH_2Cl_2 , reflujo, 3 h; después 4-DMAP, Et_3N , CH_2Cl_2 , t.a., N_2 , 5 h; **(c)** CH_2Cl_2 , reflujo, N_2 , 24 h.

Figura 35. Síntesis de 1-pentil-THIQ con función éster o carbamato

Reacción de ciclación de Bischler-Napieralski y de N-metilación para obtener los dihidroisoquinolinios **1a** y **2a**:

En la presente **Tesis Doctoral** se empleó la ciclodeshidratación de Bischler-Napieralski para sintetizar el núcleo IQ. Las *N*-feniletilamidas, previamente sintetizadas, son disueltas en acetonitrilo anhidro y se les adiciona POCl₃ como ácido de Lewis. La reacción se lleva a cabo a reflujo bajo atmósfera de nitrógeno (N₂). El crudo de reacción es evaporado, el residuo se disuelve en agua con pH básico y se realiza una extracción líquido/líquido obteniéndose en la fase orgánica la correspondiente 3,4-dihidroisoquinoleína (DHIQ).

Las 3,4-DHIQ son disueltas en acetona anhidra para ser *N*-metiladas inmediatamente empleando yodometano (MeI). La reacción se realiza a reflujo en atmósfera de N₂. Tras la purificación se obtienen los respectivos dihidroisoquinolinios **1a** y **2a**.

Reducción de las iminas para sintetizar las THIQ **1b** y **2b**:

Los imonios son disueltos en metanol (MeOH). Esta solución se enfría a 0° C y se le adiciona NaBH₄. La reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente y se detiene mediante la adición de agua destilada. Tras la purificación se obtiene las correspondientes THIQ **1b** y **2b**.

Reducción del éster metílico terminal para obtener la 1-pentanol-THIQ **2c**:

La THIQ **2b** es disuelta en tetrahidrofurano (THF) anhidro y dicha solución es adicionada gota a gota a una suspensión de LiAlH₄ en éter etílico anhidro bajo atmósfera de N₂. La reacción se lleva a cabo a reflujo

y, para finalizarla, se enfria el medio y se adiciona agua destilada. Tras la apropiada purificación se obtiene la 1-pentanol-THIQ **2c** con buen rendimiento.

Método general empleado en la síntesis de las 1-pentil-THIQ funcionalizadas con un éster **2d-2k**:

La 1-pentanol-THIQ **2c** es disuelta con 4-(dimetilamino)piridina (DMAP) y trietilamina (Et₃N) en CH₂Cl₂ anhidro. Esta solución es enfriada a 0° C y se le adiciona gota a gota una solución del respectivo cloruro de ácido en CH₂Cl₂ seco. La reacción se realiza a temperatura ambiente bajo atmósfera de N₂. Tras la correspondiente purificación se obtiene las 1-pentil-THIQ con función éster **2d-2k**.

Método general utilizado en la preparación de las 1-pentil-THIQ funcionalizadas con un carbamato **2l-2s**:

A una solución de la 1-pentanol-THIQ **2c** en CH₂Cl₂ se le adiciona el respectivo isocianato. La reacción se lleva a cabo en atmósfera de N₂ a reflujo. Una vez ha transcurrido la reacción se realiza una purificación y se obtiene las 1-pentil-THIQ con función carbamato **2l-2s**.

b) Síntesis de pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-onas

Estos compuestos se sintetizaron a partir del etil *N*-(3-benciloxifenetilamino)-4-oxobutanoato **3**. Cabe destacar que, a diferencia de la síntesis de las 1-alkil-THIQ, esta amida tiene el éster terminal en una cadena alquílica más corta y, tras la ciclación de Bischler-Napieralski y la reducción de la imina con NaBH₄, el nitrógeno nucleofílico de esta

THIQ permite obtener el anillo lactámico presente en la pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-ona **3a**. Mediante una debencilación del compuesto **3a** sintetizamos la THIQ **3b** y, posteriormente, introducimos sustituyentes en el hidroxilo del compuesto **3b** obteniéndose los derivados **3c** y **3d** (Figura 36).

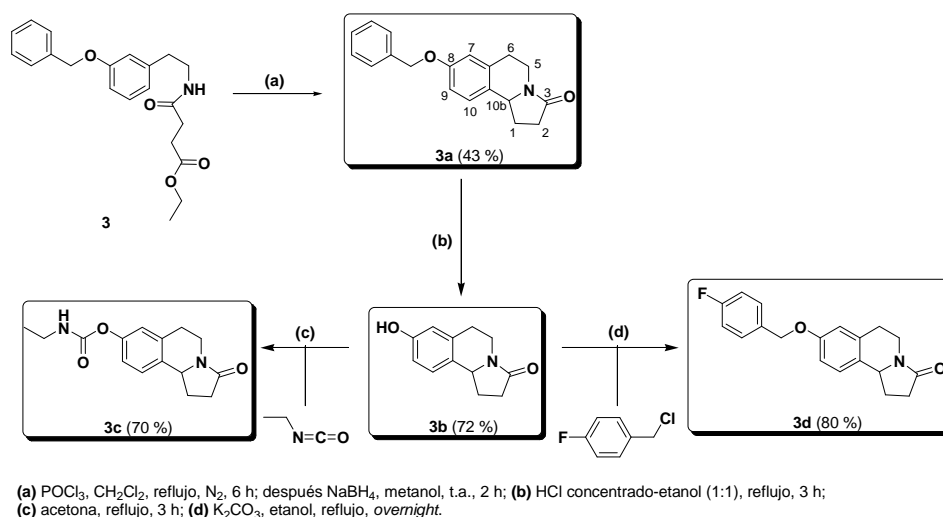


Figura 36. Síntesis de pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-onas

A continuación se describe la metodología para preparar las pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-onas.

Síntesis del núcleo pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-ona:

La feniletilamida **3** es sometida a una ciclación mediante el método de Bischler-Napieralski descrito anteriormente. La imina sintetizada es reducida con NaBH₄ a una THIQ intermedia que sufre una ciclación intramolecular dando lugar a la pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-ona **3a**.

Síntesis de la 8-hidroxi-pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-ona **3b:**

El producto bencilado **3a** es disuelto en una mezcla de ácido clorhídrico (HCl) concentrado y etanol (1:1) y sometido a reflujo. Tras la correspondiente purificación, se obtiene el compuesto hidroxilado **3b**.

Obtención del compuesto funcionalizado con un carbamato **3c:**

El procedimiento empleado en la síntesis de la THIQ **3c** es igual que el descrito en la síntesis de las 1-pentil-THIQ funcionalizadas con un carbamato. En este caso, el sustituyente es introducido empleando etilisocianato y el disolvente de la reacción es acetona anhidra.

Síntesis de la pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-ona con función éter **3d:**

La pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-ona **3b** es disuelta en etanol absoluto y se le adiciona carbonato potásico anhidro y cloruro de *p*-fluorobencilo. La reacción se lleva a cabo a reflujo bajo atmósfera de N₂ y, tras la purificación, se consigue la pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-ona **3d**.

II.2.2. Actividad antibacteriana y antifúngica

El doctorando ha realizado los ensayos de actividad antibacteriana y antifúngica en el grupo del profesor Jaime Primo, bajo la supervisión de la doctora Nuria Cabedo, en el Centro de Ecología Química Agrícola – Instituto Agroforestal Mediterráneo de la Universidad Politécnica de Valencia. Estos ensayos fueron llevados a cabo *in vitro* empleando la técnica de difusión en agar mediante discos de papel determinándose los halos de inhibición desarrollados por los compuestos. Se han utilizado siete cepas de bacterias patógenas en humanos y cinco hongos

fitopatógenos. Entre las especies bacterianas empleadas hay tanto Gram positivas (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Enterococcus faecalis*) como Gram negativas (*Erwinia carotovora*, *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*). El antibiótico utilizado como control positivo fue clorhidrato de tetraciclina. Las especies fúngicas fitopatógenas empleadas son: *Aspergillus parasiticus*, *Trichoderma viride*, *Fusarium culmorum*, *Phytophthora citrophthora* y *Geotrichum candidum*. En el ensayo antifúngico se utilizó como control positivo benomilo. En todos los experimentos se comprobó la ausencia de actividad del disolvente empleado para solubilizar los productos.

A continuación se describe los resultados de la actividad antibacteriana y antifúngica obtenidos y se establece una relación estructura-actividad.

a) 1-Alquil-tetrahidroisoquinoleínas

En lo referente a la actividad antibacteriana de las 1-alkil-THIQ, se observó que el 1-butil-dihidroisoquinolinio **1a** y su correspondiente THIQ **1b** son activos frente a casi todas las bacterias empleadas. Cabe destacar que los análogos estructurales con un éster metílico terminal en la cadena butílica (dihidroisoquinolinio **2a** y THIQ **2b**) mostraron un espectro de actividad bastante más restringido. La reducción de dicho éster terminal da lugar a una THIQ con un pentanol en la posición 1 (THIQ **2c**). Esta modificación estructural resulta interesante desde un punto de vista biológico, pues tanto la actividad antibacteriana como el espectro de acción son mejorados en comparación con los compuestos

CAPÍTULO II: Síntesis de THIQ 1-sustituídas con actividad antibacteriana y antifúngica o dopaminérgica

precursores (**Tabla 1**). Cabe destacar la actividad desarrollada por la THIQ **2c** frente a *E. coli* 100 (16.0 ± 0 mm) y *S. typhi* (12.33 ± 0.82 mm).

Bacterias	Actividad antibacteriana					Tetraciclina ^b
	Zona de inhibición (mm) 24 h (media \pm ES) ^a					
	1a^b	1b^b	2a^b	2b^b	2c^b	
<i>B. cereus</i>	7.0 \pm 0 ^A	6.0 \pm 0.5 ^A	6.33 \pm 0.41 ^A	6.33 \pm 0.41 ^A	0 \pm 0	23.33 \pm 0.41 ^B
<i>S. aureus</i>	7.0 \pm 0 ^A	6.0 \pm 0 ^{AB}	0 \pm 0	5.50 \pm 0 ^B	10.67 \pm 1.08 ^C	27.0 \pm 0.71 ^D
<i>E. faecalis</i>	7.0 \pm 0 ^A	7.0 \pm 0 ^A	0 \pm 0	0 \pm 0	10.33 \pm 1.08 ^B	31.17 \pm 0.89 ^C
<i>S. typhi</i>	6.75 \pm 0.25 ^A	6.25 \pm 0.25 ^A	0 \pm 0	0 \pm 0	12.33 \pm 0.82 ^B	24.33 \pm 0.41 ^C
<i>E. coli</i> 405	7.0 \pm 0 ^A	6.0 \pm 0 ^A	0 \pm 0	0 \pm 0	11.33 \pm 1.08 ^B	25.67 \pm 0.41 ^C
<i>E. carotovora</i>	7.0 \pm 0 ^A	6.0 \pm 0 ^A	5.50 \pm 0 ^A	0 \pm 0	8.0 \pm 0.71 ^A	34.67 \pm 1.45 ^B
<i>E. coli</i> 100	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	5.83 \pm 0.20 ^A	16.0 \pm 0 ^B	25.67 \pm 0.41 ^C

^aLos valores expresan la media \pm el error estándar obtenidos de tres experimentos independientes. En cada fila, los valores señalados con un superíndice distinto (A-D) manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$). ^bDosis: 0.2 mg/disco.

Tabla 1. Actividad antibacteriana de 1-alkil-IQ

A continuación se ensayó la actividad antibacteriana de las 1-pentil-THIQ con función éster o carbamato sustituidas con distintos fenilos o fenetilos.

Cabe destacar que todas las 1-pentil-THIQ funcionalizadas con un éster **2d-2k** manifestaron actividad antibacteriana, siendo en general las más activas aquellas con un sustituyente fluorado en posición *para* del anillo aromático. De hecho, la THIQ fluorada **2e** mostró los mayores halos de inhibición y su actividad antibacteriana frente a *E. faecalis* (13.67 ± 0.41 mm), *S. typhi* (14.83 ± 0.20 mm) y *E. coli* 405 (13.67 ± 0.41 mm) resultó significativa en comparación con el resto de compuestos con función éster (**Tabla 2**). Además, entre las THIQ

sustituídas con un fenilpropanoato **2h-2k**, el compuesto fluorado **2i** manifestó mayor actividad frente a la mayoría de las especies. Cabe resaltar que estas THIQ con un sustituyente fenilpropanoato **2h-2k** poseen una cadena más larga y mayor flexibilidad al tener dos metilenos entre el grupo éster y el anillo aromático. Este hecho no mejora la actividad de estas THIQ en comparación con sus análogos fenil-sustituídos.

Las 1-pentil-THIQ con función carbamato **2l-2s** también mostraron actividad antibacteriana frente a todas las especies empleadas. Al igual que en los compuestos funcionalizados con un éster, la actividad de las THIQ con un sustituyente halogenado manifestaron, en rasgos generales, una actividad superior a la de sus análogos *para*-metoxilados o no sustituidos (**Tabla 3**). La THIQ fluorada **2m** manifestó una mayor actividad frente a *E. faecalis* (20.0 ± 1.87 mm) y *E. carotovora* (22.33 ± 0.82 mm) y el compuesto clorado **2n** fue el más activo frente a *S. aureus* (17.33 ± 0.41 mm). Entre las THIQ con un sustituyente fenetilo, el compuesto fluorado **2q** y el clorado **2r** desarrollaron en general halos de inhibición mayores. Además, la THIQ clorada **2r** fue el compuesto más activo, entre todos los funcionalizados con un carbamato, frente a *S. typhi* (18.33 ± 0.41 mm) y *E. coli* 405 (17.67 ± 0.41 mm).

En lo respectivo a la actividad antifúngica, los dihidroisoquinolinios **1a** y **2a** no resultaron activos en ambas dosis testadas y la 1-butil-THIQ **1b** sólo fue ligeramente activa frente a *F. culmorum*. Cabe destacar que la THIQ con un éster terminal **2b** y la 1-pentanol-THIQ **2c** tampoco manifestaron actividad en las dosis ensayadas. No obstante, la introducción de sustituyentes lipófilos a través

de una función éster o carbamato permitió obtener compuestos con actividad antifúngica.

Entre las THIQ funcionalizadas con un éster **2d-2k**, las THIQ cloradas **2f** y **2j** desarrollaron en general halos de inhibición superiores al resto de análogos con función éster (**Tabla 4**). Por ejemplo, la THIQ **2f** fue el éster más activo frente a *G. candidum* (12.33 ± 0 mm) y *P. citrophthora* (10.33 ± 0 mm), mientras que la THIQ **2j** desarrolló el mayor halo frente a *F. culmorum* (9.5 ± 0.5 mm). Cabe destacar que los compuestos sustituidos con fenilpropanoato presentan una tendencia a ejercer un mayor espectro, pues también inhiben a *P. citrophthora*. Sólo se observó una inhibición de *A. parasiticus* en las THIQ **2d** (6.5 ± 0.5 mm), **2e** (6.0 ± 0.0 mm) y **2j** (5.5 ± 0.0 mm) a la dosis más elevada.

Las THIQ con función carbamato **2l-2s** también mostraron actividad antifúngica, a excepción del compuesto fluorado **2m** (**Tabla 5**). Cabe resaltar que en estos productos, la introducción de sustituyentes fenetilo reduce el espectro de acción, salvo en la THIQ clorada **2r**. De hecho, la THIQ **2r** es la única que manifiesta actividad frente a *P. citrophthora* (6.25 ± 0.25 mm). El compuesto no halogenado **2p** y la THIQ fluorada **2q** manifestaron actividad a la dosis más elevada frente a *T. viride* (7.67 ± 0.41 mm y 8.00 ± 0.71 mm, respectivamente) y *F. culmorum* (6.67 ± 0.41 mm y 6.00 ± 0.0 mm).

Bacterias	Actividad antibacteriana									
	Zona de inhibición (mm) 24 h. (media ± ES) ^a									
	2d ^b	2e ^b	2f ^b	2g ^b	2h ^b	2i ^b	2j ^b	2k ^b	2l ^b	Tetraciclina ^b
<i>B. cereus</i>	10.83±1.59A	13.0±0.71B	13.0±0B	10.33±0.41A	10.33±0.41A	10.33±0.41A	11.33±0.41AB	11.0±0A	8.50±0.71C	23.33±0.41D
<i>S. aureus</i>	10.67±0.82AB	13.67±1.08C	12.67±0.41CD	11.33±0.41BC	9.67±0.41AB	10.33±0.41AB	10.33±0.41AB	8.67±0.41EF	7.83±0.20F	27.0±0.71G
<i>E. faecalis</i>	9.83±0.73A	13.67±0.41B	11.67±0.41C	11.33±0.41C	8.67±0.41DE	9.33±0.41AD	8.33±0.20E	8.33±0.20E	7.0±0F	31.17±0.89G
<i>S. pyphi</i>	9.67±0.41A	14.83±0.20B	11.50±0.35C	11.33±0.41C	8.67±0.41DE	9.17±0.20AD	8.17±0.41E	8.0±0.35E	8.0±0.35E	24.33±0.41F
<i>E. coli 405</i>	9.83±0.54A	13.67±0.41B	11.50±0.35C	11.33±0.41C	8.67±0.41D	8.83±0.54D	9.17±0.54AD	7.33±0.20E	7.33±0.20E	25.67±0.41F
<i>E. carotovora</i>	12.17±1.14A	13.50±0.35AB	12.67±0.41A	10.33±1.08A	10.67±0.41A	11.67±0.41A	11.0±0A	11.33±0.82A	11.33±0.82A	34.67±1.45B
<i>E. coli 100</i>	11.0±0.71AB	14.0±0.71C	13.67±0.20C	10.83±0.20A	11.33±0.41AB	11.83±0.20B	8.67±0.20D	7.0±0E	7.0±0E	25.67±0.41F

^aLos valores expresan la media ± el error estándar obtenidos de tres experimentos independientes. En cada fila, los valores señalados con un superíndice distinto (A-C) manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$). ^bDosis: 0.2 mg/disco.

Tabla 2. Actividad antibacteriana de 1-pentil-THIQ funcionalizadas con un éster

Bacterias	Actividad antibacteriana									
	Zona de inhibición (mm) 24 h (media ± ES) ^a									
	2l ^b	2m ^b	2n ^b	2o ^b	2p ^b	2q ^b	2r ^b	2s ^b	2t ^b	Tetraciclina ^b
<i>E. cereus</i>	12.67±1.08A	14.33±0.41B	14.33±0.41B	10.33±0.41C	10.17±0.20C	11.33±0.41DE	14.67±0.41B	12.0±0AB	23.33±0.41F	
<i>S. aureus</i>	15.0±0.93ABC	14.0±1.41AB	17.33±0.41C	13.67±0.41A	14.0±0.71AB	15.33±0.41ABC	16.33±0.41BC	9.0±1.41D	27.0±0.71E	
<i>E. faecalis</i>	14.17±0.89A	20.0±1.87B	18.0±0.71BC	14.67±0.41A	13.67±0.82A	15.0±0.71AB	17.0±0.71CD	11.0±0.71E	31.17±0.89F	
<i>S. pyphi</i>	12.0±1.87AB	14.67±0.82CD	16.33±0.41CE	11.33±0.41A	13.50±0.35BC	14.83±0.20CD	18.33±0.41E	13.33±0.82BC	24.33±0.41F	
<i>E. coli 405</i>	12.33±1.74AB	12.0±0.71A	17.33±0.41C	13.33±0.41AB	14.0±0.71BD	16.0±0.71CD	17.67±0.41C	13.33±0.41AB	25.67±0.41E	
<i>E. carotovora</i>	10.67±0.41A	22.33±0.82B	12.50±0.35AC	9.67±0.41A	11.0±0A	11.67±0.41A	18.33±0.82B	17.0±1.22BC	34.67±1.45B	
<i>E. coli 100</i>	15.17±0.20A	12.33±0.41BC	13.17±0.54B	11.67±0.41CD	10.67±0.41E	11.33±0.41DE	12.33±0.41BC	10.67±0.41E	25.67±0.41F	

^aLos valores expresan la media ± el error estándar obtenidos de tres experimentos independientes. En cada fila, los valores señalados con un superíndice distinto (A-F) manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$). ^bDosis: 0.2 mg/disco.

Tabla 3. Actividad antibacteriana de 1-pentil-THIQ funcionalizadas con un carbamato

Hongos	Actividad antifúngica										
	Zona de inhibición (mm) 72 h (media ± ES) ^a										
	1b ^b	2d ^b	2e ^b	2f ^b	2g ^b	2h ^b	2i ^b	2j ^b	2k ^b	2l ^b	Benornilo
<i>F. culmorum</i>	5.50±0A	7.0±0 ^b c	8.0±0 ^d	6.67±0.41 ^b	5.50±0.25 ^A	6.33±0.41 ^B	7.67±0.41 ^{CD}	9.5±0.5 ^E	6.5±0.5 ^B	18.0±0 ^{F,a}	18.0±0 ^{F,a}
<i>C. candidum</i>	0±0	6.75±0.25 ^A	7.0±0 ^A	12.33±0 ^B	7.33±0.25 ^{AC}	7.83±0.20 ^{CD}	8.33±0.82 ^D	8.5±0.5 ^D	5.75±0.25 ^E	0±0	0±0
<i>T. viride</i>	0±0	7.25±0.25 ^{AB}	7.0±0 ^A	9.0±0.50 ^C	5.50±0.61 ^P	8.0±0.71 ^{ABC}	8.33±0.41 ^{BC}	9.0±0 ^C	6.0±0 ^P	22.0±1.0 ^{E,d}	22.0±1.0 ^{E,d}
<i>P. citrophthora</i>	0±0	0±0	0±0	10.33±0 ^A	0±0	6.67±0.41 ^B	6.0±0 ^B	8.5±0.5 ^C	0±0	24.5±1.5 ^{D,e}	24.5±1.5 ^{D,e}
<i>A. parasiticus</i>	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	18.0±1.0 ^f	18.0±1.0 ^f

^aLos valores expresan la media ± el error estándar obtenidos de tres experimentos independientes. En cada fila, los valores señalados con un superíndice distinto (A-F) manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$). ^bDosis: 0.2 mg/disco. ^cDosis: 10 µg/disco. ^dDosis: 1 µg/disco. ^eDosis: 1.5 µg/disco.

Tabla 4. Actividad antifúngica de la 1-butiril-THIQ y de las 1-pentil-THIQ funcionalizadas con un éster

Hongos	Actividad antifúngica									
	Zona de inhibición (mm) 72 h (media ± ES) ^a									
	21 ^b	2n ^b	2o ^b	2p ^b	2q ^b	21 ^b	2s ^b	Benomilo		
<i>F. culmorum</i>	7.0±0 ^A	7.33±0.41 ^A	0±0	0±0	0±0	15.0±3.0 ^B	0±0	18.0±0 ^{B,c}		
<i>G. candidum</i>	6.25±0.25 ^A	10.33±0.41 ^B	6.67±0.41 ^A	7.67±0.41 ^C	7.67±0.41 ^C	10.0±0 ^B	7.0±0 ^{AC}	0±0		
<i>T. viride</i>	5.75±0.25 ^A	8.67±0.82 ^B	6.17±0.54 ^A	0±0	0±0	7.0±0 ^{AB}	0±0	22.0±1.0 ^{C,d}		
<i>P. citrophthora</i>	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	6.25±0.25 ^A	0±0	24.5±1.5 ^{B,e}		
<i>A. parasiticus</i>	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	18.0±1.0 ^d		

^aLos valores expresan la media ± el error estándar obtenidos de tres experimentos independientes. En cada fila, los valores señalados con un superíndice distinto (A-C) manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$). ^bDosis: 0.2 mg/disco. ^cDosis: 10 µg/disco. ^dDosis: 1 µg/disco. ^eDosis: 1.5 µg/disco.

Tabla 5. Actividad antifúngica de las 1-pentil-THIQ funcionalizadas con un carbamato

b) Pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-onas

La pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-ona **3a** manifestó actividad antibacteriana frente a *B. cereus* (8.66 ± 0.20 mm), *E. carotovora* (7.26 ± 0.18 mm), *E. faecalis* (6.83 ± 0.20 mm), *E. coli* 405 (6.33 ± 0.20 mm) y *S. typhi* (6.0 ± 0.0 mm) a una dosis de 0.2 mg/disco. Cabe destacar que su análogo con el hidroxilo libre **3b** resultó activo sólo frente a *B. cereus* (7.50 ± 0.35 mm). Este hecho indica la importancia que tiene la protección del hidroxilo con un sustituyente lipófilo. La introducción de un grupo carbamato mejoró el espectro de acción, pues el compuesto **3c** fue activo frente a *E. carotovora* (8.83 ± 0.20 mm), *E. faecalis* (8.50 ± 0.35 mm), *S. typhi* (7.50 ± 0.35 mm), *E. coli* 405 (6.83 ± 0.54 mm), *B. cereus* (6.50 ± 0.35 mm) y *E. coli* 100 (6.33 ± 0.41 mm). La pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-ona **3d** con un sustituyente fluorobencilo también mostró actividad frente a *E. carotovora* (8.0 ± 0.61 mm), *B. cereus* (7.50 ± 0.61 mm), *S. aureus* (6.33 ± 0.20 mm) y *E. coli* 405 (6.16 ± 0.20 mm).

En lo respectivo a la actividad antifúngica, la introducción de un sustituyente bencilo en posición 8 resulta esencial. La pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-ona bencilada **3a** resultó activa frente a todos los hongos empleados a una dosis de 0.2 mg/disco: *F. culmorum* (12.0 ± 0.71 mm), *P. citrophthora* (11.33 ± 0.41 mm), *A. parasiticus* (6.83 ± 0.20 mm), *G. candidum* (6.16 ± 0.20 mm) y *T. viride* (6.0 ± 0 mm). De igual modo, el derivado fluorobencilado **3d** fue activo frente a todas las especies: *P. citrophthora* (10.66 ± 0.41 mm), *F. culmorum* (10.50 ± 0.35 mm), *T. viride* (8.10 ± 0.25 mm), *A. parasiticus* (7.83 ± 0.20 mm) y *G. candidum* (7.0 ± 0.35 mm). Cabe destacar que el compuesto hidroxilado

3b no mostró actividad y el derivado con una función carbamato **3c** sólo fue activo frente a *P. citrophthora* (9.66 ± 0.41 mm).

II.2.3. Conclusiones

Se han sintetizado de forma satisfactoria diversas 1-alkil-THIQ con una función éster o carbamato.

Se ha observado que los compuestos 1-butilo **1a** y **1b**, así como los intermediarios **2a-2c** presentan actividad antibacteriana. A partir del compuesto **2c** se sintetizaron diversas THIQ funcionalizadas con un éster **2d-2k** o con un carbamato **2l-2s**. Estos compuestos IQ mostraron actividad antibacteriana frente a todas las bacterias empleadas. Entre las THIQ con función éster cabe destacar la actividad de los compuestos con un sustituyente fluorado **2e** y **2i**. Las THIQ funcionalizadas con un carbamato y con un sustituyente fluorado **2m** y **2q**, o clorado **2n** y **2r** desarrollaron también mayor actividad.

En lo referente a la actividad antifúngica, la introducción de sustituyentes aromáticos a través de una función éster o carbamato en la cadena pentílica de las IQ resultó de gran importancia. Cabe destacar que, en rasgos generales, las THIQ funcionalizadas con un éster **2d-2k** fueron más activas frente a los hongos empleados que sus análogos funcionalizados con un carbamato **2l-2s**.

Las pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-onas sustituidas en posición 8 han resultado ser activas frente a la mayoría de las especies bacterianas empleadas. Entre todas las pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-onas sintetizadas cabe destacar los compuestos bencilados **3a** y **3d**, pues han manifestado actividad antifúngica frente a todas las especies ensayadas.

II.2.4. Parte experimental

II.2.4.1. Equipos utilizados

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de ^1H y de ^{13}C se llevaron a cabo en un espectrómetro Bruker DRX-500 o AC-500. Las asignaciones de ^1H y ^{13}C se hicieron con métodos mono- y bidimensionales (COSY 45, HMQC, HSQC y HMBC). Las multiplicidades de ^{13}C RMN fueron asignadas a través de DEPT. Los desplazamientos químicos δ han sido expresados en ppm y las constantes de acoplamiento J en Hz. El disolvente empleado fue CDCl_3 .

Los espectros de masa se obtuvieron con un espectrómetro de trampa de iones Esquire 3000 Plus (Bruker) mediante la técnica de electrospray (ESMS).

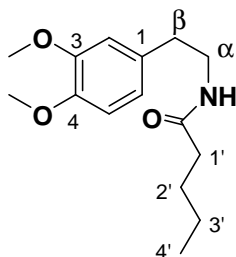
Los reactivos fueron adquiridos de Sigma-Aldrich Chemical Company (St. Louis, MO, USA) y los disolventes de Scharlab (Barcelona, Spain).

Las reacciones fueron controladas mediante cromatografía en capa fina utilizando silicagel 60 F₂₅₄ (Merck 5554). Los productos fueron purificados a través de cromatografía en columna con silicagel 60 (40-63 μm , Merck 9385).

Los rendimientos son referidos a los productos purificados.

II.2.4.2. Síntesis de 1-alkil-tetrahidroisoquinoleínas con función carbamato y éster

Síntesis de la *N*-(3,4-dimetoxifenil)pentanamida **1**:

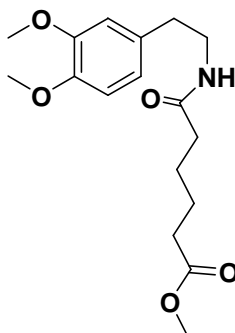


A una solución de β -(3,4-dimetoxifenil)etilamina (3.0 g, 16.6 mmol) en CH_2Cl_2 (30 mL) se le adiciona una solución acuosa de NaOH 5 % (15 mL) y se enfría a 0 °C. A continuación se añade gota a gota cloruro de pentanoilo (2.0 mL, 16.6 mmol) y se lleva a cabo la reacción a temperatura ambiente durante 2 h. Posteriormente se realiza extracciones con CH_2Cl_2 (3 x 10 mL) y la fase orgánica es lavada con una solución saturada de NaCl (2 x 10 mL) y H_2O (2 x 10 mL), deshidratada con Na_2SO_4 anhidro, filtrada y evaporada a sequedad. El residuo es purificado en columna cromatográfica con silicagel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95:5) obteniéndose 4.3 g del compuesto **1** como un sólido blanco (98 %). $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 6.80–6.77 (m, 1H, H-5), 6.72–6.68 (m, 2H, H-2, H-6), 5.55 (s, 1H, CONH), 3.84 (s, 6H, OCH_3 -3, OCH_3 -4), 3.47 (dd, $J = 6.9, 12.9$ Hz, 2H, H- α), 2.74 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, H- β), 2.10 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, H-1'), 1.60–1.51 (m, 2H, H-2'), 1.34–1.24 (m, 2H, H-3'), 0.87 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H, H-4'); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ 173.1

(CONH), 149.0 (C-3), 147.6 (C-4), 131.4 (C-1), 120.6 (CH-6), 111.9 (CH-2), 111.3 (CH-5), 55.9 (OCH₃-3), 55.8 (OCH₃-4), 40.5 (CH₂-α), 36.5 (CH₂-1'), 35.2 (CH₂-β), 27.8 (CH₂-2'), 22.3 (CH₂-3'), 13.7 (CH₂-4'); **ESMS** *m/z* (%): 266 (5) [M+H]⁺.

Síntesis de la metil *N*-(3,4-dimetoxifenetilamino)-6-oxohexanoato

2:



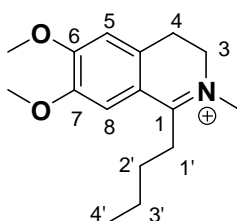
Este producto se sintetiza siguiendo el procedimiento utilizado para **1** empleando β-(3,4-dimetoxifenil)etilamina (3.0 g, 16.6 mmol) y metil 6-cloro-6-oxohexanoato (2.6 mL, 16.6 mmol). Tras purificar el residuo mediante una columna cromatográfica con silicagel (CH₂Cl₂/MeOH 95:5) se obtuvo 4.9 g del producto **2** como un sólido amarillo (91 %).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 6.77 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-5), 6.72–6.67 (m, 2H, H-2, H-6), 5.71 (s, 1H, CONH), 3.82 y 3.80 (2s, 6H, OCH₃-3, OCH₃-4), 3.62 (s, 3H, COOCH₃), 3.46 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, H-α), 2.72 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, H-β), 2.28 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, H-4'), 2.11 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H, H-1'), 1.65–1.53 (m, 4H, H-2', H-3'); ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃):

δ 173.8 (CO), 172.4 (CONH), 148.9 (C-3), 147.6 (C-4), 131.3 (C-1), 120.5 (CH-6), 111.8 (CH-5), 111.3 (CH-2), 55.8 (OCH₃-3, OCH₃-4), 51.4 (COOCH₃), 40.6 (CH₂- α), 36.1 (CH₂-1'), 35.2 (CH₂- β), 33.5 (CH₂-4'), 25.0 (CH₂-2'), 24.3 (CH₂-3'); **ESMS** m/z (%): 324 (5) [M+H]⁺.

Síntesis de la *N*-metil-1-butil-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolinio

1a:

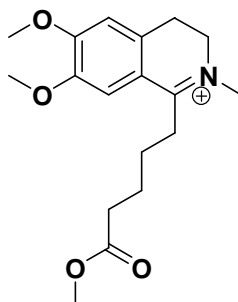


A una solución de la amida **1** (2.0 g, 7.5 mmol) en acetonitrilo anhidro (30 mL) se le adiciona POCl₃ (3.5 mL, 37.7 mmol). La reacción se lleva a cabo a reflujo en atmósfera de N₂ durante 1 h. A continuación se evapora el medio a sequedad y se disuelve el residuo en H₂O (10 mL) basificada a pH \approx 9. Se extrae con CH₂Cl₂ (3 x 10 mL) y la fase orgánica es lavada con una solución saturada de NaCl (2 x 10 mL) y H₂O (2 x 10 mL), deshidratada con Na₂SO₄ anhidro, filtrada y evaporada a sequedad. La imina obtenida es disuelta en acetona anhidra (30 mL) y se le adiciona yodometano (1.7 mL, 26.6 mmol). La reacción se realiza a reflujo bajo atmósfera de N₂ durante 3 h. Posteriormente se evapora el medio a sequedad y el residuo es purificado en columna cromatográfica con

silicagel (CH₂Cl₂/MeOH 9:1) obteniéndose 1.9 g del compuesto **1a** como un sólido amarillo (97 %).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7.18 (s, 1H, H-8), 6.91 (s, 1H, H-5), 4.14 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H, H-3), 3.99 y 3.91 (2s, 6H, OCH₃-6, OCH₃-7), 3.91 (s, 3H, NCH₃), 3.27 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H, H-4), 3.21–3.16 (m, 2H, H-1'), 1.72–1.63 (m, 2H, H-2'), 1.56–1.47 (m, 2H, H-3'), 1.00–0.95 (m, 3H, H-4'); ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): δ 177.1 (C-1), 156.4 (C-6), 148.7 (C-7), 133.4 (C-4a), 118.6 (C-8a), 112.0 (CH-8), 111.1 (CH-5), 56.9 (OCH₃-6), 56.6 (OCH₃-7), 53.3 (CH₂-3), 45.9 (NCH₃), 31.7 (CH₂-1'), 29.7 (CH₂-2'), 26.0 (CH₂-4), 22.8 (CH₂-3'), 13.6 (CH₂-4'); ESMS *m/z* (%): 263 (31) [M+H]⁺.

Síntesis de la *N*-metil-1-(metilpentanoato)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolinio **2a**:

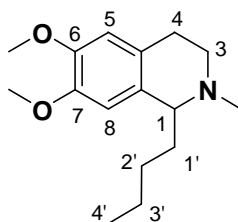


Este compuesto se sintetiza según el procedimiento descrito para **1a** utilizando la amida **2** (2.0 g, 6.2 mmol) y POCl₃ (2.9 mL, 31 mmol). Después de purificar el residuo con una columna cromatográfica con

silicagel (CH₂Cl₂/MeOH 9:1) se obtuvo 1.9 g del producto **2a** como un aceite amarillo (96 %).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7.22 (s, 1H, H-8), 6.90 (s, 1H, H-5), 4.11 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, H-3), 3.96 y 3.93 (2s, 6H, OCH₃-6, OCH₃-7), 3.91 (s, 3H, NCH₃), 3.60 (s, 3H, COOCH₃), 3.30–3.20 (m, 4H, H-4, H-1'), 2.38 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, H-4'), 1.84–1.72 (m, 4H, H-2', H-3'); ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): δ 176.6 (C-1), 173.2 (CO), 156.3 (C-6), 148.7 (C-7), 133.3 (C-4a), 118.5 (C-8a), 111.9 (CH-8), 111.0 (CH-5), 56.9 (OCH₃-7), 56.7 (OCH₃-6), 53.2 (CH₂-3), 51.6 (COOCH₃), 46.0 (NCH₃), 32.7 (CH₂-4'), 31.7 (CH₂-1'), 26.8 (CH₂-2'), 25.9 (CH₂-4), 24.6 (CH₂-3'); ESMS *m/z* (%): 320 (11) [M]⁺.

Síntesis de la *N*-metil-1-butil-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-THIQ **1b**:

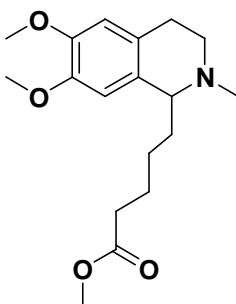


A una solución del compuesto **1a** (0.5 g, 1.9 mmol) en metanol (30 mL) a 0 °C se le adiciona NaBH₄ (216 mg, 5.7 mmol). La reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente durante 2 h. A continuación se adiciona gota a gota H₂O (15 mL) y se evapora el disolvente orgánico. La mezcla acuosa se extrae con CH₂Cl₂ (3 x 10 mL) y la fase orgánica es lavada con una solución saturada de NaCl (2 x 10 mL) y H₂O (2 x 10

mL). La fase orgánica se deshidrata con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora a sequedad. El residuo es purificado en columna cromatográfica con silicagel (CH₂Cl₂/MeOH 93:7) obteniéndose 303 mg del producto **1b** como un aceite translúcido (61 %).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 6.52 (s, 1H, H-8), 6.49 (s, 1H, H-5), 3.77 y 3.76 (2s, 6H, OCH₃-6, OCH₃-7), 3.30 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H, H-1), 3.08–3.00 (m, 1H, Ha-3), 2.71–2.54 (m, 3H, Hb-3, H-4), 2.37 (s, 3H, NCH₃), 1.71–1.64 (m, 2H, H-1'), 1.38–1.15 (m, 4H, H-2', H-3'), 0.82 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, H-4'); ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): δ 146.9 (C-6, C-7), 130.1 (C-8a), 126.3 (C-4a), 111.0 (CH-5), 110.0 (CH-8), 63.11 (CH-1), 55.6 (OCH₃-6), 55.4 (OCH₃-7), 48.0 (CH₂-3), 42.5 (NCH₃), 34.4 (CH₂-1'), 27.5 (CH₂-2'), 25.3 (CH₂-4), 22.7 (CH₂-3'), 13.8 (CH₂-4'); ESMS *m/z* (%): 264 (39) [M+H]⁺.

Síntesis de la *N*-metil-1-(metilpentanoato)-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-THIQ **2b**:

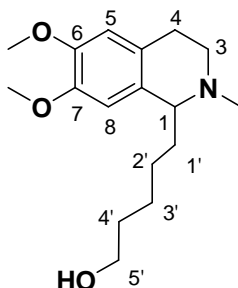


Esta THIQ se sintetiza con el procedimiento descrito para **1b** empleando el dihidroisoquinolinio **2a** (1.0 g, 3.1 mmol) y NaBH₄ (352

mg, 9.3 mmol). Tras purificar el residuo en columna cromatográfica con silicagel (CH₂Cl₂/MeOH 93:7) se obtuvo 576 mg del producto **2b** como un aceite translúcido (58 %).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 6.55 (s, 1H, H-5), 6.54 (s, 1H, H-8), 3.83 (s, 6H, OCH₃-6, OCH₃-7), 3.63 (s, 3H, COOCH₃), 3.35 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H, H-1), 3.11–3.04 (m, 1H, Ha-3), 2.76–2.69 (m, 1H, Ha-4), 2.68–2.60 (m, 2H, Hb-3, Hb-4), 2.46 (s, 3H, NCH₃), 2.28 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, H-4'), 1.76–1.71 (m, 2H, H-1'), 1.66–1.56 (m, 2H, H-3'), 1.46–1.39 (m, 1H, Ha-2'), 1.31–1.24 (m, 1H, Hb-2'); ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): δ 174.2 (CO), 147.2 (C-6), 147.1 (C-7), 130.0 (C-8a), 126.6 (C-4a), 111.2 (CH-5), 110.1 (CH-8), 63.1 (CH-1), 55.9 (OCH₃-7), 55.7 (OCH₃-6), 51.4 (COOCH₃), 48.2 (CH₂-3), 42.7 (NCH₃), 34.6 (CH₂-1'), 34.0 (CH₂-4'), 25.5 (CH₂-4), 25.2 (CH₂-3'), 25.0 (CH₂-2'); ESMS *m/z* (%): 322 (2) [M+H]⁺.

Síntesis de la *N*-metil-1-pentanol-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-THIQ **2c**:



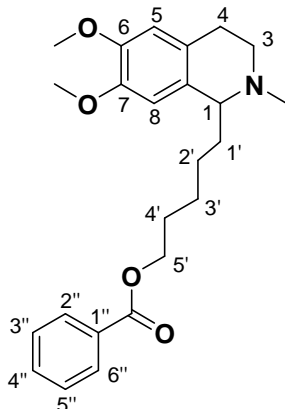
Una solución de la THIQ **2b** (545 mg, 1.7 mmol) en THF anhidro (30 mL) es adicionada gota a gota a una suspensión de LiAlH₄ (69 mg,

1.8 mmol) en Et₂O seco (6 mL). La reacción se lleva a cabo a reflujo bajo atmósfera de N₂ durante 2 h. Tras enfriar la reacción se añade gota a gota H₂O (15 mL) y se evapora el medio a presión reducida. El residuo es filtrado a vacío empleando CH₂Cl₂. El filtrado es evaporado a sequedad y el residuo es purificado en columna cromatográfica con silicagel (CH₂Cl₂/MeOH 9:1). Se consiguieron 431 mg del producto **2c** como un aceite rosa (87 %).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 6.55 (s, 1H, H-5), 6.54 (s, 1H, H-8), 3.83 (s, 6H, OCH₃-6, OCH₃-7), 3.59 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, H-5'), 3.37 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H, H-1), 3.13–3.05 (m, 1H, Ha-3), 2.77–2.69 (m, 1H, Ha-4), 2.68–2.61 (m, 2H, Hb-3, Hb-4), 2.42 (s, 3H, NCH₃), 1.77–1.70 (m, 2H, H-1'), 1.58–1.50 (m, 2H, H-4'), 1.47–1.26 (m, 4H, H-2', H-3'); ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): δ 147.2 (C-6), 147.1 (C-7), 130.1 (C-8a), 126.5 (C-4a), 111.2 (CH-5), 110.2 (CH-8), 63.25 (CH-1), 62.7 (CH₂-5'), 56.0 (OCH₃-7), 55.8 (OCH₃-6), 48.0 (CH₂-3), 42.7 (NCH₃), 34.9 (CH₂-1'), 32.5 (CH₂-4'), 25.9 (CH₂-4), 25.3 (CH₂-3'), 25.2 (CH₂-2'); ESMS *m/z* (%): 294 (14) [M+H]⁺.

Síntesis de la *N*-metil-1-(pentilbenzoato)-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-

THIQ 2d:

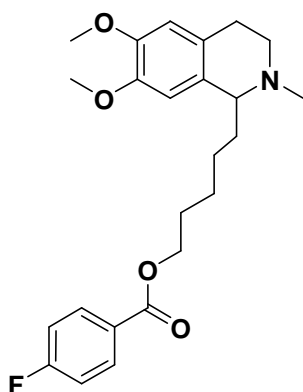


A una solución de la THIQ **2c** (88 mg, 0.3 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (20 mL) se le adiciona DMAP (12 mg, 0.1 mmol) y Et₃N (42 μL, 0.3 mmol). Esta solución se enfría a 0 °C y se le adiciona una solución gota a gota de cloruro de benzoilo (35 μL, 0.3 mmol) en CH₂Cl₂ seco (5 mL). La reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente en atmósfera de N₂ durante 5 h. A continuación se añade H₂O (10 mL), se realiza extracciones con CH₂Cl₂ (3 x 10 mL) y se lava la fase orgánica con H₂O (2 x 10 mL). La fase orgánica se deshidrata con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora a sequedad. El residuo es purificado en columna cromatográfica con silicagel (tolueno/AcOEt/MeOH 6:3:1) obteniéndose 80 mg del compuesto **2d** como un aceite amarillo (67 %).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8.04–8.00 (m, 2H, H-2'', H-6''), 7.57–7.50 (m, 1H, H-4''), 7.46–7.39 (m, 2H, H-3'', H-5''), 6.58 (s, 1H, H-5), 6.56 (s, 1H, H-8), 4.28 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, H-5'), 3.85 y 3.84 (2s, 6H,

OCH₃-6, OCH₃-7), 3.58 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H, H-1), 3.30–3.20 (m, 1H, Ha-3), 2.91–2.85 (m, 1H, Hb-3), 2.85–2.78 (m, 1H, Ha-4), 2.78–2.70 (m, 1H, Hb-4), 2.54 (s, 3H, NCH₃), 1.97–1.85 (m, 1H, Ha-1'), 1.80–1.71 (m, 3H, Hb-1', H-4'), 1.54–1.39 (m, 4H, H-2', H-3'); ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): δ 166.6 (CO), 147.7 (C-6), 147.4 (C-7), 132.8 (CH-4'), 130.5 (C-1'), 129.5 (CH-2'', CH-6''), 128.4 (C-8a), 128.3 (CH-3'', CH-5''), 125.3 (C-4a), 111.4 (CH-8), 110.3 (CH-5), 65.0 (CH₂-5'), 63.2 (CH-1), 56.0 (OCH₃-6), 55.8 (OCH₃-7), 46.9 (CH₂-3), 41.7 (NCH₃), 34.8 (CH₂-1'), 28.7 (CH₂-4'), 26.3 (CH₂-3'), 25.6 (CH₂-2'), 24.5 (CH₂-4); ESMS *m/z* (%): 398 (29) [M+H]⁺.

Síntesis de la *N*-metil-1-[(4''-fluorobenzoato)pentil]-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-THIQ 2e:

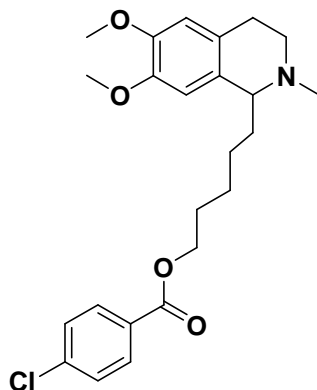


Este compuesto se sintetiza según el procedimiento descrito para **2d** empleando la THIQ **2c** (147 mg, 0.5 mmol) y cloruro de 4-fluorobenzoilo (60 μL, 0.5 mmol). Después de purificar el residuo con

columna cromatográfica con silicagel (tolueno/AcOEt/MeOH 6:3:1) se obtuvo 166 mg del producto **2e** como un aceite amarillo (80 %).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7.98–7.90 (m, 2H, H-2'', H-6''), 7.05–7.00 (m, 2H, H-3'', H-5''), 6.51 (s, 1H, H-5), 6.49 (s, 1H, H-8), 4.18 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, H-5'), 3.55 y 3.54 (2s, 6H, OCH₃-6, OCH₃-7), 3.49 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H, H-1), 3.20–3.11 (m, 1H, Ha-3), 2.81–2.70 (m, 1H, Hb-3), 2.70–2.62 (m, 2H, H-4), 2.44 (s, 3H, NCH₃), 1.86–1.77 (m, 1H, Ha-1'), 1.72–1.62 (m, 3H, Hb-1', H-4'), 1.45–1.30 (m, 4H, H-2', H-3'); ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): δ 165.2 (C-4'', d, *J* = 251 Hz), 165.2 (CO), 147.3 (C-6), 147.0 (C-7), 131.5 (CH-2'', CH-6'', d, *J* = 9 Hz), 128.1 (C-8a), 126.4 (C-4a), 125.1 (C-1''), 114.6 (CH-3'', CH-5'', d, *J* = 21 Hz), 111.1 (CH-8), 110.1 (CH-5), 64.8 (CH₂-5'), 62.8 (CH-1), 55.7 (OCH₃-6), 55.5 (OCH₃-7), 46.7 (CH₂-3), 41.4 (NCH₃), 34.3 (CH₂-1'), 28.3 (CH₂-4'), 25.9 (CH₂-2'), 25.2 (CH₂-3'), 24.2 (CH₂-4); ESMS *m/z* (%): 416 (17) [M+H]⁺.

Síntesis de la N-metil-1-[(4''-clorobenzoato)pentil]-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-THIQ **2f**:

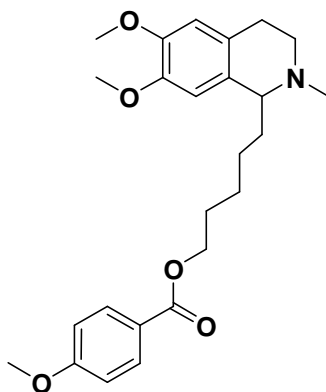


Este producto se sintetizó siguiendo el procedimiento empleado para **2d** utilizando la THIQ **2c** (147 mg, 0.5 mmol) y cloruro de 4-clorobenzoilo (0.1 mL, 0.8 mmol). El residuo fue purificado en columna cromatográfica con silicagel (tolueno/AcOEt/MeOH 6:3:1) y se obtuvo 143 mg de la THIQ **2f** como un aceite amarillo (66 %).

$^1\text{H RMN}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 7.97–7.91 (m, 2H, H-2'', H-6''), 7.42–7.35 (m, 2H, H-3'', H-5''), 6.56 (s, 1H, H-8), 6.55 (s, 1H, H-5), 4.28 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H, H-5'), 3.83 y 3.82 (2s, 6H, OCH_3 -6, OCH_3 -7), 3.38 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H, H-1), 3.15–3.04 (m, 1H, Ha-3), 2.77–2.61 (m, 3H, Hb-3, H-4), 2.43 (s, 3H, NCH_3), 1.79–1.69 (m, 4H, H-1', H-4'), 1.51–1.30 (m, 4H, H-2', H-3'); $^{13}\text{C RMN}$ (125 MHz, CDCl_3): δ 165.7 (CO), 147.2 (C-6, C-7), 139.2 (C-1''), 130.9 (CH-2'', CH-6''), 129.9 (C-8a), 128.9 (C-4'), 128.6 (CH-3'', CH-5''), 126.5 (C-4a), 111.2 (CH-5), 110.1 (CH-8), 65.3 (CH_2 -5'), 63.3 (CH-1), 56.0 (OCH_3 -6), 55.7 (OCH_3 -7), 48.2 (CH_2 -

3), 42.7 (NCH₃), 34.9 (CH₂-1'), 28.7 (CH₂-4'), 26.3 (CH₂-3'), 25.5 (CH₂-4), 25.2 (CH₂-2'); **ESMS** *m/z* (%): 432 (12) [M+H]⁺.

Síntesis de la *N*-metil-1-[(4''-metoxibenzoato)pentil]-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-THIQ **2g**:

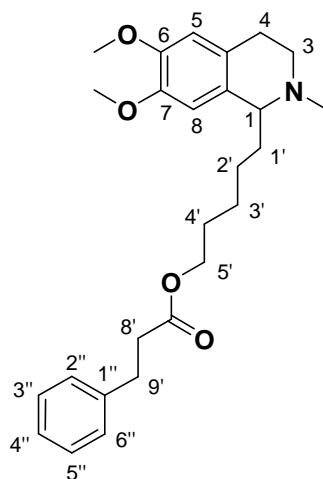


Este producto es sintetizado según el procedimiento empleado para **2d** utilizando la THIQ **2c** (147 mg, 0.5 mmol) y cloruro de 4-metoxibenzoilo (0.1 mL, 0.8 mmol). Tras purificarse el residuo en columna cromatográfica con silicagel (tolueno/AcOEt/MeOH 6:3:1) se obtuvo 68 mg del compuesto **2g** como un aceite amarillo (32 %).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7.98–7.92 (m, 2H, H-3'', H-5''), 6.91–6.86 (m, 2H, H-2'', H-6''), 6.56 (s, 1H, H-5), 6.55 (s, 1H, H-8), 4.24 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, H-5'), 3.83 (s, 9H, OCH₃-6, OCH₃-7, OCH₃-4''), 3.51 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H, H-1), 3.24–3.14 (m, 1H, Ha-3), 2.84–2.64 (m, 3H, Hb-3, H-4), 2.49 (s, 3H, NCH₃), 1.91–1.82 (m, 1H, Ha-1'), 1.79–1.68 (m, 3H, Hb-1', H-4'), 1.53–1.37 (m, 4H, H-2', H-3'); ¹³C RMN (125 MHz,

CDCl₃): δ 166.3 (CO), 163.2 (C-4''), 147.5 (C-6), 147.3 (C-7), 131.4 (CH-3'', CH-5''), 128.9 (C-8a), 125.6 (C-4a), 122.9 (C-1''), 113.2 (CH-2'', CH-6''), 111.3 (CH-5), 110.3 (CH-8), 64.6 (CH₂-5'), 63.1 (CH-1), 56.0 (OCH₃-6), 55.8 (OCH₃-7), 55.3 (OCH₃-4'), 47.1 (CH₂-3), 41.9 (NCH₃), 34.8 (CH₂-1'), 28.7 (CH₂-4'), 26.3 (CH₂-3'), 25.5 (CH₂-2'), 24.6 (CH₂-4); **ESMS** m/z (%): 428 (14) [M+H]⁺.

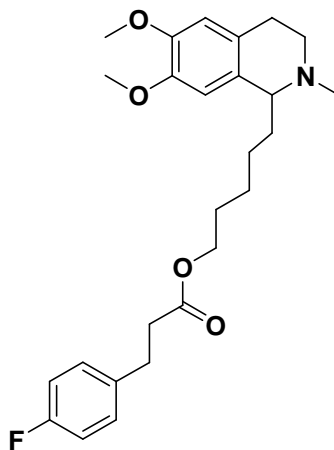
Síntesis de la N-metil-1-[(fenilpropanoato)pentil]-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-THIQ **2h**:



Esta THIQ es sintetizada según el procedimiento descrito para la síntesis de **2d** empleando la THIQ **2c** (147 mg, 0.5 mmol) y cloruro de 3-fenilpropionilo (0.12 mL, 0.8 mmol). El residuo es purificado en columna cromatográfica con silicagel (tolueno/AcOEt/MeOH 6:3:1) obteniéndose 139 mg del producto **2h** como un aceite amarillo (65 %).

$^1\text{H RMN}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 7.30–7.23 (m, 2H, H-2'', H-6''), 7.21–7.15 (m, 3H, H-3'', H-4'', H-5''), 6.56 (s, 1H, H-5), 6.55 (s, 1H, H-8), 4.03 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H, H-5'), 3.83 (s, 6H, OCH_3 -6, OCH_3 -7), 3.37 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H, H-1), 3.14–3.05 (m, 1H, Ha-3), 2.93 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H, H-9'), 2.78–2.63 (m, 3H, Hb-3, H-4), 2.60 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H, H-8'), 2.44 (s, 3H, NCH_3), 1.77–1.69 (m, 2H, H-1'), 1.63–1.53 (m, 2H, H-4'), 1.47–1.24 (m, 4H, H-2', H-3'); $^{13}\text{C RMN}$ (125 MHz, CDCl_3): δ 172.8 (CO), 147.1 (C-6, C-7), 140.4 (C-1''), 129.9 (C-8a), 128.3 (CH-2'', CH-6''), 128.1 (CH-3'', CH-5''), 126.5 (C-4a), 126.2 (CH-4''), 111.2 (CH-5), 110.1 (CH-8), 64.5 (CH_2 -5'), 63.2 (CH-1), 55.9 (OCH_3 -6), 55.7 (OCH_3 -7), 48.1 (CH_2 -3), 42.6 (NCH_3), 35.8 (CH_2 -8'), 34.8 (CH_2 -1'), 30.8 (CH_2 -9'), 28.5 (CH_2 -4'), 26.1 (CH_2 -3'), 25.4 (CH_2 -4), 25.1 (CH_2 -2'); **ESMS** m/z (%): 426 (14) $[\text{M}+\text{H}]^+$.

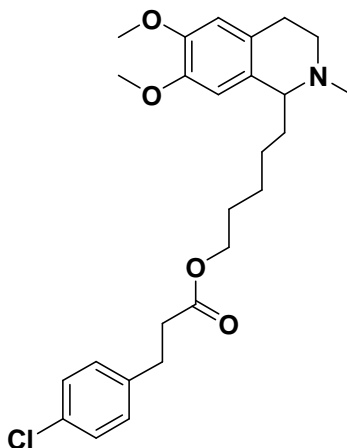
Síntesis de la *N*-metil-1-[(4''-fluorofenilpropanoato)pentil]-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-THIQ **2i**:



A una solución de ácido 3-(4-fluorofenil)propiónico (300 mg, 1.8 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (20 mL) se le adiciona cloruro de tionilo (2.2 mL, 30.2 mmol). La reacción se lleva a cabo a reflujo durante 3 h. Tras evaporar el disolvente se obtiene el cloruro de 3-(4-fluorofenil)propanoilo, el cual es empleado en la siguiente etapa inmediatamente. Siguiendo el procedimiento descrito para la síntesis de **2d**, se utiliza la THIQ **2c** (314.5 mg, 1.1 mmol) y el cloruro de 3-(4-fluorofenil)propanoilo (300 mg, 1.6 mmol). Después de purificar el residuo en columna cromatográfica con silicagel (tolueno/AcOEt/MeOH 6:3:1) se obtiene 251 mg del compuesto **2i** como un aceite amarillo (51 %).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7.15–7.09 (m, 2H, H-2'', H-6''), 6.95–6.89 (m, 2H, H-3'', H-5''), 6.55 (s, 1H, H-5), 6.53 (s, 1H, H-8), 4.01 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, H-5'), 3.82 y 3.81 (2s, 6H, OCH₃-6, OCH₃-7), 3.35 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H, H-1), 3.12–3.03 (m, 1H, Ha-3), 2.88 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, H-9'), 2.74–2.60 (m, 3H, Hb-3, H-4), 2.56 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, H-8'), 2.41 (s, 3H, NCH₃), 1.75–1.67 (m, 2H, H-1'), 1.59–1.52 (m, 2H, H-4'), 1.44–1.21 (m, 4H, H-2', H-3'); ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): δ 172.6 (CO), 161.3 (C-4'', d, *J* = 242 Hz), 147.1 (C-6, C-7), 136.1 (C-1''), 130 (CH-2'', CH-6'', d, *J* = 8 Hz), 126.5 (C-8a, C-4a), 115.0 (CH-3'', CH-5'', d, *J* = 21 Hz), 111.2 (CH-8), 110.0 (CH-5), 64.5 (CH₂-5'), 63.2 (CH-1), 55.9 (OCH₃-6), 55.6 (OCH₃-7), 48.1 (CH₂-3), 42.6 (NCH₃), 35.8 (CH₂-8'), 34.7 (CH₂-1'), 30.0 (CH₂-9'), 28.5 (CH₂-4'), 26.1 (CH₂-4), 25.4 (CH₂-2'), 25.0 (CH₂-3'); ESMS *m/z* (%): 444 (19) [M+H]⁺.

Síntesis de la N-metil-1-[(4''-clorofenilpropanoato)pentil]-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-THIQ **2j**:

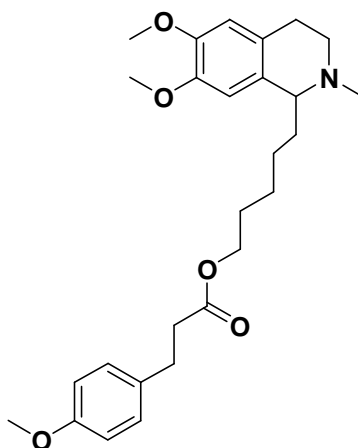


A una solución de ácido 3-(4-clorofenil)propiónico (111 mg, 0.6 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (20 mL) se le adiciona cloruro de tionilo (0.7 mL, 9.6 mmol) y, tras 3 h de reacción a reflujo, se evapora el disolvente obteniéndose el cloruro de 3-(4-clorofenil)propanoilo. A continuación se emplea el mismo método descrito para la preparación de **2d** utilizando, en este caso, la THIQ **2c** (118 mg, 0.4 mmol) y el cloruro de 3-(4-clorofenil)propanoilo (102 mg, 0.6 mmol). El residuo es purificado en columna cromatográfica con silicagel (tolueno/AcOEt/MeOH 6:3:1) obteniéndose 19 mg del producto **2j** como un aceite amarillo (10 %).

$^1\text{H RMN}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 7.23 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, H-3'', H-5''), 7.12 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, H-2'', H-6''), 6.56 (s, 1H, H-5), 6.55 (s, 1H, H-8), 4.02 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H, H-5'), 3.84 (s, 6H, OCH_3 -6, OCH_3 -7), 3.40 (t, $J = 5.1$ Hz, 1H, H-1), 3.17–3.08 (m, 1H, Ha-3), 2.90 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H,

H-9'), 2.80–2.64 (m, 3H, H_b-3, H-4), 2.58 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, H-8'), 2.45 (s, 3H, NCH₃), 1.80–1.68 (m, 2H, H-1'), 1.62–1.53 (m, 2H, H-4'), 1.36–1.22 (m, 4H, H-2', H-3'); ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): δ 172.7 (CO), 147.3 (C-6), 147.2 (C-7), 139.0 (C-1''), 132.0 (C-8a, C-4''), 129.7 (CH-2'', CH-6''), 128.6 (CH-3'', CH-5''), 126.6 (C-4a), 111.3 (CH-5), 110.2 (CH-8), 64.7 (CH₂-5'), 63.3 (CH-1), 56.0 (OCH₃-6), 55.8 (OCH₃-7), 48.0 (CH₂-3), 42.6 (NCH₃), 35.7 (CH₂-8'), 34.9 (CH₂-1'), 30.3 (CH₂-9'), 28.6 (CH₂-4'), 26.2 (CH₂-2', CH₂-3'), 25.3 (CH₂-4); **ESMS** *m/z* (%): 460 (32) [M+H]⁺.

Síntesis de la *N*-metil-1-[(4''-metoxifenilpropanoato)pentil]-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-THIQ **2k**:

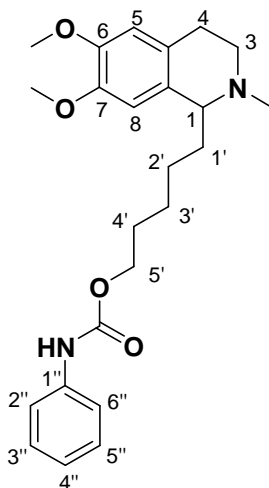


A una solución del ácido 3-(4-metoxifenil)propiónico (198 mg, 1.1 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (20 mL) se le adiciona cloruro de tionilo (1.4 mL, 19.2 mmol). La reacción se lleva a cabo a reflujo durante 3 h y, tras

evaporar el disolvente, se hace reaccionar el cloruro de 3-(4-metoxifenil)propanoilo (198.7 mg, 1.0 mmol) con la THIQ **2c** (212 mg, 0.7 mmol) siguiendo el mismo procedimiento descrito para **2d**. Tras purificar el residuo en columna cromatográfica con silicagel (tolueno/AcOEt/MeOH 6:3:1) se obtiene 46 mg del compuesto **2k** como un aceite amarillo (14 %).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7.13–7.07 (m, 2H, H-2'', H-6''), 6.84–6.78 (m, 2H, H-3'', H-5''), 6.56 (s, 1H, H-5), 6.55 (s, 1H, H-8), 4.03 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H, H-5'), 3.84 (s, 6H, OCH₃-6, OCH₃-7), 3.77 (s, 3H, OCH₃-4'), 3.38 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H, H-1), 3.15–3.06 (m, 1H, Ha-3), 2.87 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H, H-9'), 2.79–2.71 (m, 1H, Ha-4), 2.71–2.63 (m, 2H, Hb-3, Hb-4), 2.57 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H, H-8'), 2.44 (s, 3H, NCH₃), 1.78–1.69 (m, 2H, H-1'), 1.62–1.53 (m, 2H, H-4'), 1.47–1.23 (m, 4H, H-2', H-3'); **¹³C RMN** (125 MHz, CDCl₃): δ 173.0 (CO), 158.0 (C-4'), 147.2 (C-6, C-7), 132.6 (C-1''), 129.9 (C-8a), 129.2 (CH-2'', CH-6''), 126.4 (C-4a), 113.8 (CH-3'', CH-5''), 111.3 (CH-5), 110.2 (CH-8), 64.5 (CH₂-5'), 63.3 (CH-1), 56.0 (OCH₃-6), 55.8 (OCH₃-7), 55.2 (OCH₃-4'), 48.1 (CH₂-3), 42.7 (NCH₃), 36.1 (CH₂-8'), 34.9 (CH₂-1'), 30.1 (CH₂-9'), 28.6 (CH₂-4'), 26.2 (CH₂-2'), 25.4 (CH₂-3'), 25.2 (CH₂-4); **ESMS** m/z (%): 456 (15) [M+H]⁺.

Síntesis de la N-metil-1-[(fenilcarbamato)pentil]-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-THIQ **2l**:

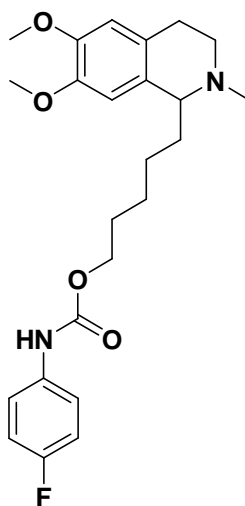


A una solución de la THIQ **2c** (118 mg, 0.4 mmol) en CH₂Cl₂ (20 mL) se le adiciona fenilisocianato (0.13 mL, 1.2 mmol). La reacción se lleva a cabo a reflujo en atmósfera de N₂ durante 24 h. Tras evaporar el disolvente a sequedad, se disuelve el crudo en CH₂Cl₂ (10 mL) y se extrae con una solución saturada de NaCl y H₂O (3 x 10 mL). La fase orgánica se deshidrata con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora a sequedad. El residuo es purificado en columna cromatográfica con silicagel (CH₂Cl₂/MeOH 97:3) obteniéndose 124 mg del producto **2l** como un aceite de color amarillo oscuro (75 %).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7.41–7.35 (m, 2H, H-3'', H-5''), 7.30–7.25 (m, 2H, H-2'', H-6''), 7.05–7.00 (m, 1H, H-4''), 6.86 (s, 1H, NH), 6.56 (s, 1H, H-5), 6.55 (s, 1H, H-8), 4.12 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, H-5'), 3.83

(s, 6H, OCH₃-6, OCH₃-7), 3.41 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H, H-1), 3.17–3.08 (m, 1H, Ha-3), 2.79–2.63 (m, 3H, Hb-3, H-4), 2.45 (s, 3H, NCH₃), 1.83–1.70 (m, 2H, H-1'), 1.65 (qt, *J* = 6.9 Hz, 2H, H-4'), 1.49–1.30 (m, 4H, H-2', H-3'); ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): δ 153.7 (CO), 147.3 (C-6), 147.2 (C-7), 138.0 (C-1'), 129.6 (C-8a), 128.9 (CH-2'', CH-6''), 126.3 (C-4a), 123.2 (CH-4''), 118.6 (CH-3'', CH-5''), 111.3 (CH-8), 110.2 (CH-5), 65.3 (CH₂-5'), 63.3 (CH-1), 56.0 (OCH₃-6), 55.8 (OCH₃-7), 48.0 (CH₂-3), 42.5 (NCH₃), 34.8 (CH₂-1'), 28.8 (CH₂-4'), 26.2 (CH₂-3'), 25.3 (CH₂-4), 25.2 (CH₂-2'); **ESMS** *m/z* (%): 413 (36) [M+H]⁺.

Síntesis de la *N*-metil-1-[(4''-fluorofenilcarbamato)pentil]-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-THIQ **2m**:

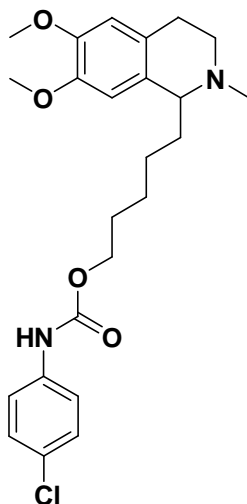


Este compuesto se sintetiza siguiendo el mismo método empleado para **2l** utilizando en este caso, la THIQ **2c** (84 mg, 0.3 mmol) y el 4-

fluorofenilisocianato (0.1 mL, 0.9 mmol). Después de purificar el residuo en columna cromatográfica con silicagel (CH₂Cl₂/MeOH 97:3) se obtuvo 28 mg de la THIQ **2m** como un aceite de color amarillo oscuro (22 %).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7.34–7.24 (m, 2H, H-2'', H-6''), 6.94–6.88 (m, 2H, H-3'', H-5''), 6.50 (s, 1H, H-5), 6.49 (s, 1H, H-8), 4.05 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, H-5'), 3.77 (s, 6H, OCH₃-6, OCH₃-7), 3.50–3.43 (m, 1H, H-1), 3.18–3.10 (m, 1H, Ha-3), 2.77–2.66 (m, 3H, Hb-3, H-4), 2.45 (s, 3H, NCH₃), 1.83–1.74 (m, 1H, Ha-1'), 1.73–1.65 (m, 1H, Hb-1'), 1.62–1.55 (m, 2H, H-4'), 1.46–1.27 (m, 4H, H-2', H-3'); ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): δ 163.0 (C-4'', d, *J* = 243 Hz), 153.9 (CO), 147.6 (C-6), 147.4 (C-7), 134.1 (C-1''), 129.4 (C-8a), 125.5 (C-4a), 120.3 (CH-2'', CH-6'', d, *J* = 8 Hz), 115.5 (CH-3'', CH-5'', d, *J* = 23 Hz), 111.3 (CH-5), 110.2 (CH-8), 65.4 (CH₂-5'), 63.5 (CH-1), 56.0 (OCH₃-7), 55.8 (OCH₃-6), 47.6 (CH₂-3), 42.1 (NCH₃), 34.8 (CH₂-1'), 28.7 (CH₂-4'), 26.3 (CH₂-3'), 25.3 (CH₂-2'), 24.8 (CH₂-4); ESMS *m/z* (%): 431 (45) [M+H]⁺.

Síntesis de la N-metil-1-[(4''-clorofenilcarbamato)pentil]-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-THIQ **2n**:

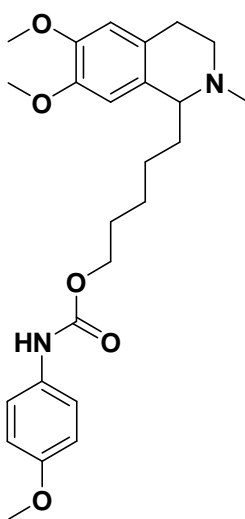


Esta THIQ se prepara utilizando el procedimiento para la síntesis de **2l** a partir de la THIQ **2c** (150 mg, 0.5 mmol) y el 4-clorofenilisocianato (0.2 mL, 1.5 mmol). El residuo es purificado en columna cromatográfica con silicagel (CH₂Cl₂/MeOH 97:3) obteniéndose 144 mg del producto **2n** como un aceite amarillo (64 %).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7.32 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H-3'', H-5''), 7.23 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H-2'', H-6''), 6.92 (s, 1H, NH), 6.56 (s, 1H, H-5), 6.55 (s, 1H, H-8), 4.11 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, H-5'), 3.83 y 3.82 (2s, 6H, OCH₃-6, OCH₃-7), 3.37 (t, *J* = 5.3 Hz, 1H, H-1), 3.13–3.06 (m, 1H, Ha-3), 2.77–2.62 (m, 3H, Hb-3, H-4), 2.43 (s, 3H, NCH₃), 1.78–1.71 (m, 2H, H-1'), 1.67–1.59 (m, 2H, H-4'), 1.47–1.27 (m, 4H, H-2', H-3'); ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): δ 153.6 (CO), 147.2 (C-6), 147.1 (C-7), 136.7

(C-1''), 129.9 (C-8a), 128.9 (CH-2'', CH-6''), 128.1 (C-4''), 126.6 (C-4a), 119.8 (CH-3'', CH-5''), 111.3 (CH-5), 110.2 (CH-8), 65.5 (CH₂-5'), 63.3 (CH-1), 56.0 (OCH₃-6), 55.7 (OCH₃-7), 48.2 (CH₂-3), 42.7 (NCH₃), 34.8 (CH₂-1'), 28.8 (CH₂-4'), 26.2 (CH₂-4), 25.3 (CH₂-2', CH₂-3'); ESMS *m/z* (%): 447 (100) [M+H]⁺.

Síntesis de la *N*-metil-1-[(4''-metoxifenilcarbamato)pentil]-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-THIQ **2o**:

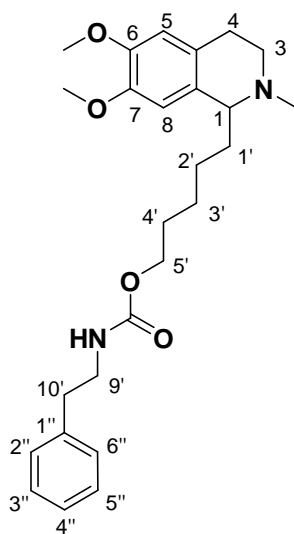


Este producto es sintetizado según el método utilizado para **2i** empleando la THIQ **2c** (150 mg, 0.5 mmol) y el 4-metoxifenilisocianato (0.2 ml, 1.5 mmol). Tras purificar el residuo en columna cromatográfica con silicagel (CH₂Cl₂/MeOH 97:3) se obtiene 160 mg de la THIQ **2o** como un aceite amarillo (73 %).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7.30–7.23 (m, 2H, H-2'', H-6''), 6.83–6.79 (m, 2H, H-3'', H-5''), 6.55 (s, 1H, H-5), 6.54 (s, 1H, H-8), 4.09 (t, *J*

= 6.6 Hz, 2H, H-5'), 3.82 (s, 6H, OCH₃-6, OCH₃-7), 3.75 (s, 3H, OCH₃-4'), 3.37 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H, H-1), 3.13–3.05 (m, 1H, Ha-3), 2.77–2.61 (m, 3H, Hb-3, H-4), 2.42 (s, 3H, NCH₃), 1.77–1.70 (m, 2H, H-1'), 1.62 (qt, *J* = 6.63 Hz, 2H, H-4'), 1.48–1.27 (m, 4H, H-2', H-3'); ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): δ 155.7 (C-4'), 154.1 (CO), 147.1 (C-6, C-7), 131.1 (C-1'), 129.9 (C-8a), 128.5 (C-4a), 120.5 (CH-2'', CH-6''), 114.1 (CH-3'', CH-5''), 111.2 (CH-5), 110.1 (CH-8), 65.1 (CH₂-5'), 63.2 (CH-1), 56.0 (OCH₃-6), 55.7 (OCH₃-7), 55.3 (OCH₃-4'), 48.1 (CH₂-3), 42.7 (NCH₃), 34.7 (CH₂-1'), 28.8 (CH₂-4'), 26.2 (CH₂-4), 25.2 (CH₂-2', CH₂-3'); **ESMS** *m/z* (%): 443 (100) [M+H]⁺.

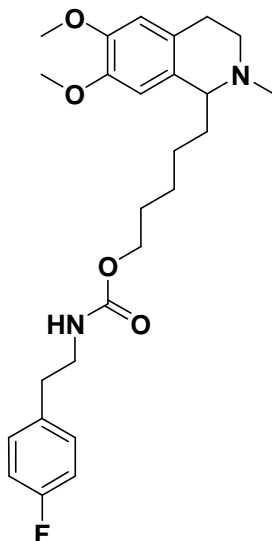
Síntesis de la *N*-metil-1-[(fenetilcarbamato)pentil]-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-THIQ **2p**:



Este compuesto se prepara con el procedimiento empleado en la síntesis de **2l** partiendo de la THIQ **2c** (150 mg, 0.5 mmol) y fenetilisocianato (0.21 mL, 1.5 mmol). El residuo es purificado en columna cromatográfica con silicagel (CH₂Cl₂/MeOH 97:3) obteniéndose 146 mg del producto **2p** como un aceite amarillo (66 %).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7.31–7.25 (m, 2H, H-2'', H-6''), 7.24–7.14 (m, 3H, H-3'', H-4'', H-5''), 6.56 (s, 1H, H-5), 6.55 (s, 1H, H-8), 4.71 (s, 1H, NH), 4.01 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, H-5'), 3.84 y 3.83 (2s, 6H, OCH₃-6, OCH₃-7), 3.45–3.39 (m, 2H, H-9'), 3.37 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H, H-1), 3.13–3.05 (m, 1H, Ha-3), 2.83–2.76 (m, 2H, H-10'), 2.77–2.62 (m, 3H, Hb-3, H-4), 2.43 (s, 3H, NCH₃), 1.78–1.69 (m, 2H, H-1'), 1.64–1.52 (m, 2H, H-4'), 1.46–1.25 (m, 4H, H-2', H-3'); ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): δ 156.6 (CO), 147.2 (C-6, C-7), 138.8 (C-1''), 130.1 (C-8a), 128.8 (CH-2'', CH-6''), 128.5 (CH-3'', CH-5''), 126.5 (CH-4'), 126.3 (C-4a), 111.2 (CH-5), 110.2 (CH-8), 64.9 (CH₂-5'), 63.3 (CH-1), 56.0 (OCH₃-6), 55.7 (OCH₃-7), 48.1 (CH₂-3), 42.7 (NCH₃), 42.1 (CH₂-9'), 36.1 (CH₂-10'), 34.9 (CH₂-1'), 29.0 (CH₂-4'), 26.2 (CH₂-4), 25.3 (CH₂-2', CH₂-3'); ESMS *m/z* (%): 441 (100) [M+H]⁺.

Síntesis de la *N*-metil-1-[(4''-fluorofenetilcarbamato)pentil]-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-THIQ **2q**:

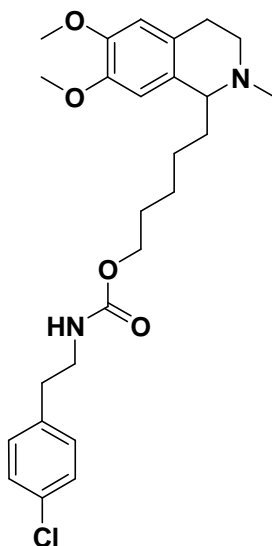


Esta THIQ se sintetiza siguiendo el método utilizado para **2l** a partir de la THIQ **2c** (150 mg, 0.5 mmol) y el 4-fluorofenetilisocianato (0.22 mL, 1.5 mmol). Después de purificar el residuo en columna cromatográfica con silicagel (CH₂Cl₂/MeOH 97:3) se obtiene 153 mg del compuesto **2q** como un aceite amarillo (67 %).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7.17–7.08 (m, 2H, H-2'', H-6''), 7.00–6.94 (m, 2H, H-3'', H-5''), 6.55 (s, 1H, H-5), 6.54 (s, 1H, H-8), 4.72 (s, 1H, NH), 4.00 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, H-5'), 3.83 y 3.81 (2s, 6H, OCH₃-6, OCH₃-7), 3.41–3.31 (m, 3H, H-1, H-9'), 3.13–3.04 (m, 1H, Ha-3), 2.81–2.60 (m, 5H, Hb-3, H-4, H-10'), 2.42 (s, 3H, NCH₃), 1.76–1.68 (m, 2H, H-1'), 1.62–1.52 (m, 2H, H-4'), 1.45–1.23 (m, 4H, H-2', H-3'); ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): δ 161.6 (C-4'', d, *J* = 243 Hz), 156.6 (CO),

147.2 (C-6, C-7), 134.4 (C-1'), 130.1 (CH-2'', CH-6'', d, $J = 8$ Hz), 130.0 (C-8a), 126.5 (C-4a), 115.3 (CH-3'', CH-5'', d, $J = 21$ Hz), 111.2 (CH-8), 110.2 (CH-5), 64.9 (CH₂-5'), 63.3 (CH-1), 56.0 (OCH₃-7), 55.7 (OCH₃-6), 48.1 (CH₂-3), 42.7 (NCH₃), 42.1 (CH₂-9'), 35.3 (CH₂-10'), 34.9 (CH₂-1'), 29.0 (CH₂-4'), 26.2 (CH₂-4), 25.3 (CH₂-2', CH₂-3');
ESMS m/z (%): 459 (100) [M+H]⁺.

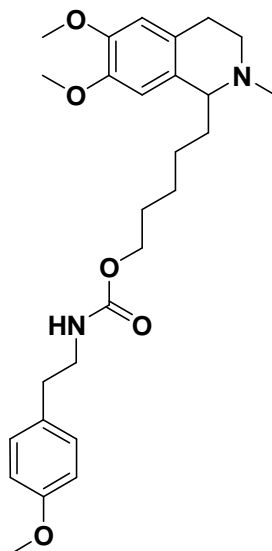
Síntesis de la *N*-metil-1-[(4''-clorofenetilcarbamato)pentil]-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-THIQ **2r**:



Este compuesto se obtiene mediante el procedimiento empleado en la síntesis de **2l** utilizando la THIQ **2c** (244 mg, 0.8 mmol) y el 4-clorofenetilisocianato (0.4 mL, 2.5 mmol). El residuo es purificado en columna cromatográfica con silicagel (CH₂Cl₂/MeOH 97:3) obteniéndose 253 mg del producto **2r** como un aceite amarillo (67 %).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7.27 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, H-3'', H-5''), 7.12 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, H-2'', H-6''), 6.56 (s, 2H, H-5, H-8), 4.70 (s, 1H, NH), 4.02 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, H-5'), 3.85 y 3.84 (2s, 6H, OCH₃-6, OCH₃-7), 3.43–3.34 (m, 3H, H-1, H-9'), 3.15–3.07 (m, 1H, Ha-3), 2.80–2.75 (m, 2H, H-10'), 2.75–2.64 (m, 3H, Hb-3, H-4), 2.45 (s, 3H, NCH₃), 1.80–1.69 (m, 2H, H-1'), 1.62–1.53 (m, 2H, H-4'), 1.49–1.38 (m, 1H, Ha-2'), 1.38–1.23 (m, 3H, Hb-2', H-3'); ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): δ 156.6 (CO), 147.2 (C-6, C-7), 137.3 (C-1''), 132.2 (C-4''), 130.1 (CH-2'', CH-6''), 129.9 (C-8a), 128.7 (CH-3'', CH-5''), 126.5 (C-4a), 111.3 (CH-5), 110.2 (CH-8), 65.0 (CH₂-5'), 63.3 (CH-1), 56.0 (OCH₃-7), 55.8 (OCH₃-6), 48.1 (CH₂-3), 42.7 (NCH₃), 41.9 (CH₂-9'), 35.5 (CH₂-10'), 34.9 (CH₂-1'), 29.0 (CH₂-4'), 26.2 (CH₂-3'), 25.4 (CH₂-2'), 25.2 (CH₂-4); **ESMS** *m/z* (%): 475 (7) [M+H]⁺.

Síntesis de la N-metil-1-[(4''-metoxifenetilcarbamato)pentil]-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-THIQ 2s:



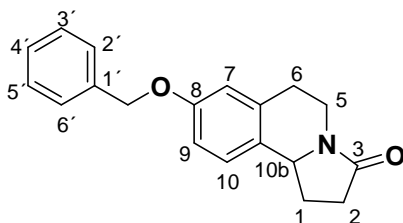
Este producto es sintetizado según el método utilizado en la obtención de **2l** a partir de la THIQ **2c** (162 mg, 0.6 mmol) y el 4-metoxifenetilisocianato (0.3, 1.8 mmol). Tras purificar el residuo en columna cromatográfica con silicagel (CH₂Cl₂/MeOH 97:3) se obtiene 136 mg de la THIQ **2s** como un aceite amarillo (48 %).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7.09 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H-2'', H-6''), 6.84 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H-3'', H-5''), 6.55 (s, 2H, H-5, H-8), 4.68 (s, 1H, NH), 4.01 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, H-5'), 3.84 y 3.83 (2s, 6H, OCH₃-6, OCH₃-7), 3.77 (s, 3H, OCH₃-4'), 3.43–3.33 (m, 3H, H-1, H-9'), 3.15–3.08 (m, 1H, Ha-3), 2.78–2.63 (m, 5H, Hb-3, H-4, H-10'), 2.45 (s, 3H, NCH₃), 1.81–1.68 (m, 2H, H-1'), 1.64–1.53 (m, 2H, H-4'), 1.47–1.37 (m,

1H, Ha-2'), 1.37–1.23 (m, 3H, Hb-2', H-3'); ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): δ 158.2 (C-4'), 156.6 (CO), 147.3 (C-6), 147.2 (C-7), 130.8 (C-1'), 129.7 (C-8a, CH-3'', CH-5''), 126.3 (C-4a), 114.0 (CH-2'', CH-6''), 111.3 (CH-5), 110.2 (CH-8), 64.9 (CH₂-5'), 63.4 (CH-1), 56.0 (OCH₃-6), 55.8 (OCH₃-7), 55.2 (OCH₃-4'), 48.0 (CH₂-3), 42.6 (NCH₃), 42.3 (CH₂-9'), 35.2 (CH₂-10'), 34.9 (CH₂-1'), 29.0 (CH₂-4'), 26.2 (CH₂-2'), 25.3 (CH₂-4, CH₂-3'); ESMS *m/z* (%): 471 (8) [M+H]⁺.

II.2.4.3. Síntesis de pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-onas

Síntesis de la 8-benciloxi-1,2,3,5,6,10b-hexahidropirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-ona **3a**:

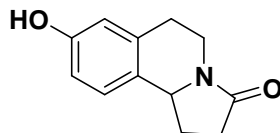


A una solución de *N*-(3-benciloxifenetilamino)-4-oxobutanoato **3** (300 mg, 0.84 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (30 mL) se le adiciona POCl₃ (0.39 mL, 4.20 mmol). La reacción se lleva a cabo a reflujo en atmósfera de N₂ durante 6 h. A continuación se añade H₂O (10 mL) y se hace extracciones con CH₂Cl₂ (3 x 10 mL). La fase orgánica es deshidratada con Na₂SO₄ anhidro y se evapora a sequedad. El residuo obtenido es solubilizado inmediatamente en MeOH (25 mL) para ser tratado con

NaBH₄ (400 mg, 10.57 mmol). La reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente durante 2 h. Posteriormente se adiciona H₂O (5 mL) y se elimina el disolvente orgánico a presión reducida. A continuación se basifica el medio acuoso y se extrae con CH₂Cl₂ (3 x 10 mL). La fase orgánica se deshidratada con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y es evaporada a sequedad. El crudo es purificado en columna cromatográfica con silicagel (tolueno/EtOAc/MeOH/Et₃N 6:3:1:0.1) lográndose 105 mg del compuesto **3a** como un aceite amarillo (43 %).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7.36 (m, 5H, Ph), 7.02 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, H-10), 6.87 (dd, *J* = 8.5, 2.5 Hz, 1H, H-9), 6.75 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, H-7), 5.04 (s, 2H, OCH₂Ph), 4.71 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-10b), 4.23 (ddd, *J* = 12.4, 5.8, 2.7 Hz, 1H, H-5α), 3.05 (m, 1H, H-5β), 2.91 (m, 1H, H-6α), 2.71 (m, 1H, H-6β), 2.61 (m, 1H, H-1α), 2.54 (m, 1H, H-2α), 2.45 (m, 1H, H-2β), 1.82 (m, 1H, H-1β); ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): δ 173.2 (NCO), 157.4 (C-8), 136.7 (C-1'), 134.8 (C-6a), 130.0 (C-10a), 128.5 (CH-3', CH-5'), 127.9 (CH-4'), 127.3 (CH-2', CH-6'), 125.8 (CH-10), 114.6 (CH-7), 113.8 (CH-9), 69.9 (OCH₂Ph), 56.3 (CH-10b), 36.8 (CH₂-5), 31.6 (CH₂-2), 28.7 (CH₂-6), 27.5 (CH₂-1); ESMS *m/z* (%): 293 (100) [M]⁺.

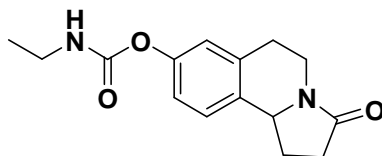
Síntesis de la 8-Hidroxi-1,2,3,5,6,10b-hexahidropirrolol[2,1-*a*]isoquinoleín-3-ona **3b**:



Una solución de la pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-ona **3a** (200 mg, 0.68 mmol) en una mezcla de EtOH y HCl concentrado 1:1 (50 mL) es sometida a reflujo durante 3 h. Después, la reacción es evaporada a sequedad y se purifica el residuo en columna cromatográfica con silicagel (CH₂Cl₂/MeOH 94:6) obteniéndose 101 mg del producto **3b** como un aceite blanco (72 %).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 6.76 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-10), 6.53 (dd, *J* = 8.3, 2.0 Hz, 1H, H-9), 6.42 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-7), 4.56 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-10b), 3.90 (m, 1H, H-5α), 2.91 (m, 1H, H-5β), 2.67 (m, 1H, H-6α), 2.56 (m, 1H, H-6β), 2.45 (m, 1H, H-1α), 2.37 (m, 1H, H-2α), 2.22 (m, 1H, H-2β), 1.65 (m, 1H, H-1β); ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): δ 174.0 (NCO), 155.3 (C-8), 134.2 (C-6a), 128.0 (C-10a), 125.4 (CH-10), 114.7 (CH-7), 113.9 (CH-9), 56.5 (CH-10b), 36.9 (CH₂-5), 31.3 (CH₂-2), 28.1 (CH₂-6), 27.1 (CH₂-1); ESMS *m/z* (%): 203 (100) [M]⁺.

Síntesis de la 8-etilcarbamato-1,2,3,5,6,10b-hexahidropirroló[2,1-a]isoquinoleín-3-ona **3c**:

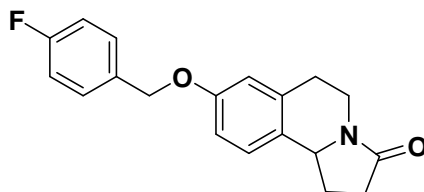


Este compuesto se sintetizó de forma análoga a las THIQ funcionalizadas con carbamato partiendo de la pirrolo[2,1-a]isoquinoleín-3-ona **3b** (35 mg, 0.17 mmol), disuelta en acetona anhidra (10 mL), y etilisocianato (0.03 mL, 0.34 mmol). En este caso, la reacción se lleva a cabo durante 3 h y, después de las pertinentes extracciones líquido/líquido y la posterior evaporación de la fase orgánica, el residuo es purificado en columna cromatográfica con silicagel (CH₂Cl₂/MeOH 97:3) obteniéndose 34 mg del compuesto **3c** como un aceite amarillo (70 %).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7.09 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-10), 7.00 (dd, *J* = 8.3, 2.0 Hz, 1H, H-9), 6.91 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-7), 4.71 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-10b), 4.26 (m, 1H, H-5α), 3.30 (m, 2H, CH₂NHCO), 3.07 (m, 1H, H-5β), 2.92 (m, 1H, H-6α), 2.77 (m, 1H, H-6β), 2.63 (m, 1H, H-1α), 2.53 (m, 1H, H-2α), 2.45 (m, 1H, H-2β), 1.86 (m, 1H, H-1β), 1.20 (m, 3H, CH₃CH₂NHCO); ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): δ 173.2 (NCO), 154.4 (C-8), 149.6 (NHCO), 134.8 (C-6a), 134.4 (C-10a), 128.7 (CH-10), 125.1 (CH-7), 120.3 (CH-9), 56.5 (CH-10b), 36.8 (CH₂-5), 36.7

(CH₃CH₂NHCO), 31.3 (CH₂-2), 28.5 (CH₂-6), 27.5 (CH₂-1), 15.0 (CH₃CH₂NHCO); ESMS *m/z* (%): 312 (100) [M+Na]⁺.

Síntesis de la 8-(4-fluorobenciloxi)-1,2,3,5,6,10b-hexahidropirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-ona **3d**:



A una solución de la pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-ona **3b** (20 mg, 0.10 mmol) en etanol absoluto se le adiciona K₂CO₃ anhidro (10 mg) y cloruro de *p*-fluorobencilo (0.01 mL). La reacción se lleva a cabo a reflujo toda la noche. A continuación, se evapora la reacción a sequedad, se disuelve el crudo en CH₂Cl₂ (10 mL) y se extrae con una solución acuosa de NaOH al 5 % (3 x 10 mL). La fase orgánica es deshidratada con Na₂SO₄ anhidro, filtrada y evaporada a sequedad. El residuo es purificado en columna cromatográfica con silicagel (CH₂Cl₂/MeOH 97:3) lográndose 25 mg del producto **3d** como un aceite amarillo (80 %). ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7.38 (m, 2H, PhF), 7.07 (m, 3H, PhF, H-10), 6.86 (dd, *J* = 8.5, 2.5 Hz, 1H, H-9), 6.74 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, H-7), 5.00 (s, 2H, OCH₂Ph), 4.73 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, H-10b), 4.25 (m, 1H, H-5α), 3.04 (m, 1H, H-5β), 2.91 (m, 1H, H-6α), 2.75 (m, 1H, H-6β), 2.63 (m, 1H, H-1α), 2.56 (m, 1H, H-2α), 2.46 (m, 1H, H-2β), 1.82 (m, 1H, H-

1 β); ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3): δ 173.4 (NCO), 162.5 (C-4', $J = 246$ Hz), 157.3 (C-8), 135.0 (C-1'), 132.5 (C-6a), 130.2 (C-10a), 129.3 (CH-2', CH-6'), 125.9 (CH-10), 115.5 (CH-3', CH-5', $J = 21.7$ Hz), 114.5 (CH-7), 113.9 (CH-9), 69.3 (OCH_2Ph), 56.4 (CH-10b), 36.9 (CH_2 -5), 31.7 (CH_2 -2), 28.7 (CH_2 -6), 27.6 (CH_2 -1); ESMS m/z (%): 311 (100) $[\text{M}]^+$.

II.2.4.4. Actividad antibacteriana y antifúngica

a) Especies bacterianas y fúngicas

- Especies bacterianas:

Gram positivas: *Enterococcus faecalis* (CECT 481), *Bacillus cereus* (CECT 148) y *Staphylococcus aureus* (CECT 86).

Gram negativas: *Salmonella typhi* (CECT 409), *Erwinia carotovora* (CECT 225), *Escherichia coli* (CECT 405) y *Escherichia coli* (CECT 100).

- Especies fúngicas: *Aspergillus parasiticus* (CECT 2681), *Trichoderma viride* (CECT 2423), *Phytophthora citrophthora* (CECT 2353), *Geotrichum candidum* (CCM 245) y *Fusarium culmorum* (CCM 172).

Las cepas de las bacterias y hongos utilizados proceden de la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT) o de la Colección de la Cátedra de Microbiología (CCM) del departamento de Biotecnología de la Universidad Politécnica de Valencia.

b) Ensayo antibacteriano y antifúngico

El doctorando ha llevado a cabo los ensayos de actividad antibacteriana y antifúngica en el grupo del profesor Jaime Primo, bajo la supervisión de la doctora Nuria Cabedo, en el Centro de Ecología Química Agrícola – Instituto Agroforestal Mediterráneo de la Universidad Politécnica de Valencia. Dichos ensayos se realizaron *in vitro* utilizando el método de difusión en agar mediante discos de papel. Las dosis empleadas de las 1-alkil-THIQ (**1a**, **1b**, **2a-2s**) fueron 0.2 y 0.4 mg/disco. En las pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-onas (**3a-3d**) se ensayaron dosis de 0.2, 0.3 y 0.4 mg/disco. Cada compuesto fue ensayado por triplicado.

En la determinación de la actividad antibacteriana se empleó cultivos de 24 h de cada cepa bacteriana en medio sólido mantenidos en tubos inclinados. A continuación se reactivaron las cepas empleando caldo nutritivo Nutrient Broth (Difco) y se incubaron a 28 ó 37 °C, en función de la cepa bacteriana, durante 24 h. Después se llevó a cabo la determinación de la densidad óptica de las suspensiones bacterianas a 660 nm y se ajustaron a un valor de 0.01. Luego se virtió 1 mL de la correspondiente suspensión en placas Petri estériles y se le adicionó 15 mL de medio de cultivo Plate Count Agar (Difco). Una vez el medio se solidificó, se depositaron en las placas los discos de papel impregnados con los compuestos. Como control positivo se empleó discos impregnados con clorhidrato de tetraciclina (Sigma-Aldrich) a 0.2 mg/disco y como control negativo discos con el disolvente utilizado en la solución de los productos. Las placas Petri fueron incubadas a 28 ó 37 °C, dependiendo de la cepa bacteriana, durante 24 h. Finalmente se

determinó el halo de inhibición desarrollado alrededor de los discos de papel.

Las distintas especies fúngicas se sembraron en medio Patata Dextrosa Agar (Difco) en placas Petri estériles. Los hongos fueron incubados a 28 °C durante 7 días y, posteriormente, se obtuvo suspensiones de 10⁶ esporas/mL empleando una solución de Tween 80 (0.05 %) en agua destilada estéril. El conteo se realizó en una cámara de Neubauer con un microscopio óptico (40X). Luego se adicionó 1 mL de la respectiva suspensión a 15 mL de medio Patata Dextrosa Agar en placas Petri estériles. Tras la solidificación del medio se depositaron en las placas los discos de papel impregnados con los productos. El control positivo empleado fue benomilo (Sigma-Aldrich) a distintas concentraciones, dependiendo de la especie fúngica. Como control negativo se utilizó discos con el disolvente empleado en la solución de los productos. Las especies fúngicas se incubaron durante 72 h a 28 °C y a continuación se determinaron los halos de inhibición producidos alrededor de los discos de papel.

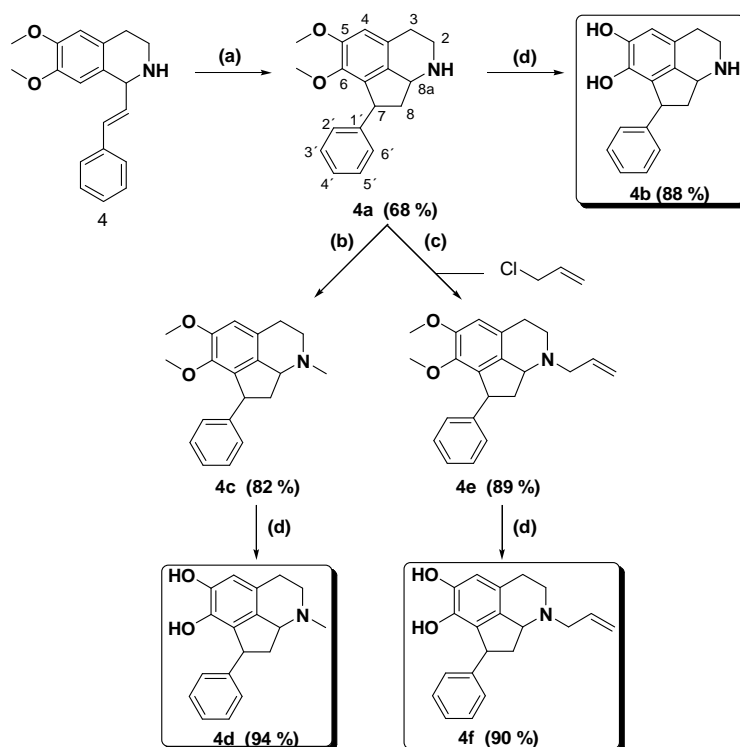
Los resultados se han expresado como la media de los halos de inhibición ± error estándar. Se ha llevado a cabo el análisis de varianza *one-way* ANOVA y el test F para establecer las diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) mediante el programa Statgraphics® Centurion XVI.

II.3. Síntesis de tetrahidroisoquinoleínas con actividad dopaminérgica

II.3.1. Química

A continuación se describe la metodología empleada para sintetizar THIQ con estructura de 7-fenil-hexahidrociclopenta[*ij*]isoquinoleínas (HCPIQ).

A partir de la β -(3,4-dimetoxifenil)etilamina se realiza una *N*-acilación de Schotten-Baumann con cloruro de 3-fenilprop-2-enoilo dando lugar a la correspondiente *N*-(3,4-dimetoxifenetil)cinamida. Esta amida es sometida a una ciclación de Bischler-Napieralski y a una inmediata reducción de la imina generada con NaBH₄ siguiendo el procedimiento descrito anteriormente en este capítulo. De este modo se obtiene la 6,7-dimetoxi-1-estiril-1,2,3,4-THIQ **4**. Esta THIQ sufre una ciclación intramolecular en presencia de P₂O₅ en ácido metanosulfónico (1:10 m/m) dando lugar a la 5,6-dimetoxi-7-fenil-1,2,3,7,8,8a-HCPIQ **4a**. Posteriormente se introduce sustituyentes en el nitrógeno de la HCPIQ **4a** obteniéndose así los compuestos **4c** y **4e**. Las HCPIQ catecólicas **4b**, **4d** y **4f** se sintetizaron mediante la *O*-demetilación de sus precursores dimetoxilados (**Figura 37**).



(a) P_2O_5 - CH_3SO_3H (1:10 m/m), 45 °C, 15 h; (b) HCHO, HCO₂H, metanol, reflujo, 1h; después NaBH₄, reflujo, 1 h; (c) K₂CO₃, acetonitrilo, reflujo, 10 h; (d) BBr₃, CH₂Cl₂, t.a., 2 h.

Figura 37. Síntesis de hexahidroclopenta[*ij*]isoquinoleínas

Síntesis de la HCPIQ 4a:

Este compuesto es sintetizado mediante una ciclación intramolecular de la 6,7-dimetoxi-1-estiril-1,2,3,4-THIQ **4** con el reactivo de Eaton (P_2O_5 -AMS en proporción 1:10 m/m). Tras reaccionar a 45 °C durante 15 h, la reacción se detiene añadiendo una solución básica acuosa y el crudo se purifica obteniéndose la HCPIQ **4a**.

N-sustitución para la obtención de las HCPIQ **4c** y **4e**:

El producto *N*-metilado **4c** se obtiene al disolver la HCPIQ **4a** en metanol y adicionarle formaldehído al 37 % y una gota de ácido fórmico. Tras reaccionar a reflujo durante 1 h, se enfría el medio a temperatura ambiente, se adiciona NaBH₄ y se somete la reacción de nuevo a reflujo durante 1 h. Después de la correspondiente purificación se obtiene la HCPIQ **4c**.

La HCPIQ **4e** *N*-sustituída con un grupo alilo se sintetiza al disolver el compuesto **4a** en acetonitrilo adicionándole carbonato potásico y cloruro de alilo. La reacción se lleva a cabo a reflujo durante 10 h. Tras la purificación se obtiene el producto **4e**.

Síntesis de las HCPIQ catecólicas **4b**, **4d** y **4f**:

Estos productos catecólicos se obtienen mediante la *O*-demetilación de los correspondientes análogos metoxilados **4a**, **4c** y **4e**. Las HCPIQ dimetoxiladas son disueltas en CH₂Cl₂ anhidro y, tras enfriar las soluciones a -78 °C, se les adiciona gota a gota el BBr₃. Tras 15 minutos, se deja que las reacciones alcancen la temperatura ambiente y que continúen durante 2 h. Las reacciones se detienen adicionando gota a gota metanol y tras 30 minutos en agitación se realiza las correspondientes purificaciones para obtener las HCPIQ catecólicas **4b**, **4d** y **4f**.

II.3.2. Afinidad por receptores dopaminérgicos

El estudio de la afinidad por los receptores dopaminérgicos tipo-D₁ y tipo-D₂ fue llevado a cabo *in vitro* empleando un ensayo de competición con radioligandos en membranas de estriado de rata. Las HCPIQ ensayadas mostraron su capacidad para desplazar a los radioligandos (³H]-SCH 23390 para receptores tipo-D₁ y [³H]-racloprida para los de tipo-D₂) de sus sitios de unión en rango micromolar (μM) o nanomolar (nM).

Las HCPIQ catecólicas han mostrado en general mayor afinidad por los RD que sus análogos dimetoxilados. Este hecho podría deberse a que la presencia del grupo catecólico dota a los compuestos de mayor similitud estructural con la molécula de dopamina.

Las HCPIQ catecólicas **4b**, **4d** y **4f** han manifestado una gran afinidad por los receptores tipo-D₂ con valores respectivos de K_i de 29, 13 y 18 nM. Cabe destacar que la gran afinidad de estos productos también va acompañada de una importante selectividad por los RD de tipo-D₂ (**Figura 38**). De hecho, la HCPIQ **4b** posee un cociente de K_i D₁/D₂ de 2465, el compuesto **4d** de 1010 y el producto **4f** de 382 (**Tabla 6**).

Cabe resaltar que la introducción de un grupo metilo o alilo en el nitrógeno isoquinoleínico de las HCPIQ catecólicas aumenta de forma significativa la afinidad por los RD tipo-D₁ (**Tabla 6**).

HCPIQ	Unión específica RD tipo-D ₁ [³ H]-SCH 23390		Unión específica RD tipo-D ₂ [³ H]-racloprida		K _i D ₁ /D ₂
	K _i (μM) ^a	pK _i ^a	K _i (μM) ^a	pK _i ^a	
	4a	33.373 ± 6.891	4.499 ± 0.104	10.977 ± 1.933	
4b	71.493 ± 16.281	4.174 ± 0.117	0.029 ± 0.009	7.593 ± 0.184 ^e	2465.3 ^d
4c	23.780 ± 4.549	4.640 ± 0.084	4.188 ± 1.348	5.422 ± 0.137 ^f	5.7 ^c
4d	13.136 ± 2.452	4.895 ± 0.076 ^g	0.013 ± 0.002	7.890 ± 0.083 ^h	1010.5 ^d
4e	18.620 ± 4.822	4.758 ± 0.109	3.514 ± 0.654	5.472 ± 0.092 ^f	5.29 ^c
4f	6.873 ± 1.391	5.179 ± 0.085 ^g	0.018 ± 0.007	7.800 ± 0.160 ⁱ	381.8 ^d

^aLos valores expresan la media ± SEM de 3 experimentos independientes. La estadística fue realizada mediante ANOVA con test de comparación multiple post Newmann-Keuls. ^bp < 0.05 vs RD tipo-D₁. ^cp < 0.01 vs RD tipo-D₁. ^dp < 0.001 vs RD tipo-D₁. ^ep < 0.001 vs **4a**. ^fp < 0.05 vs **4a**. ^gp < 0.001 vs **4b**. ^hp < 0.001 vs **4c**. ⁱp < 0.001 vs **4e**.

Tabla 6. Afinidad y selectividad en experimentos *in vitro* de unión específica a RD tipo-D₁ y tipo-D₂

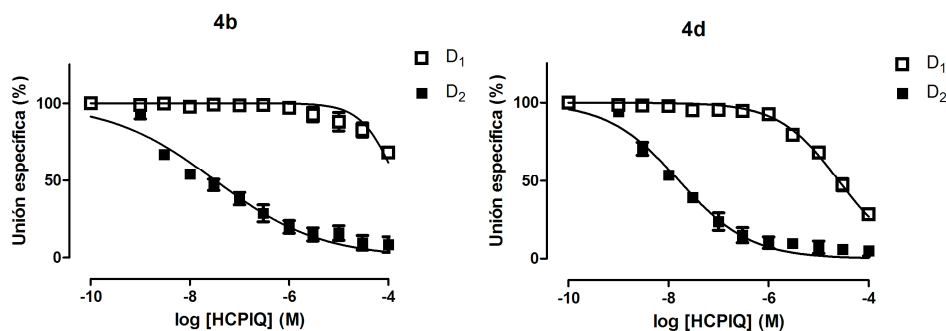


Figura 38. Curvas de desplazamiento de la unión específica para RD tipo-D₁ y tipo-D₂ de los productos **4b** y **4d**.

II.3.3. Conclusiones

Se ha sintetizado satisfactoriamente el esqueleto hexahidrociclopenta[*ij*]isoquinoleínico mediante una ciclación intramolecular con el reactivo de Eaton.

Las HCPIQ han manifestado afinidad tanto por los RD tipo-D₁ como por los de tipo-D₂. Cabe destacar la gran afinidad, en rango nanomolar, de las HCPIQ catecólicas **4b**, **4d** y **4f** por los RD tipo-D₂ siendo además muy selectivas por este tipo de RD.

Al considerar estos hechos se pone de manifiesto el gran interés que este tipo estructural de compuestos puede suscitar en el tratamiento de patologías debidas a alteraciones de las vías dopaminérgicas.

II.3.4. Parte experimental

II.3.4.1. Equipos utilizados

Los espectros de RMN de ¹H y de ¹³C se realizaron en un espectrómetro Bruker AC-500. Las asignaciones de ¹H y ¹³C se hicieron con métodos mono- y bidimensionales (COSY 45, HSQC y HMBC). Las multiplicidades de ¹³C RMN se asignaron mediante DEPT. Los desplazamientos químicos δ han sido expresados en ppm y las constantes de acoplamiento *J* en Hz. El disolvente empleado fue CDCl₃ o CD₃OD.

Los espectros de masas se obtuvieron con un espectrómetro cuadrupolo-tiempo de vuelo (Q-TOF) Waters Xevo (Waters) mediante ionización electrospray (HRESIMS).

Los reactivos y disolventes empleados fueron adquiridos de fuentes comerciales.

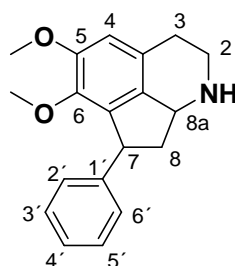
Las reacciones fueron controladas a través de cromatografía en capa fina empleando silicagel 60 F₂₅₄ (Merck 5554). Los productos fueron purificados mediante cromatografía en columna utilizando silicagel 60 (40-63 µm, Merck 9385).

Los rendimientos son referidos a los productos purificados.

En la determinación de la afinidad por los RD se ensayaron los productos en forma de clorhidrato, los cuales fueron obtenidos mediante una solución de metanol-HCl 5 % partiendo de los correspondientes compuestos en forma de base.

II.3.4.2. Síntesis de 7-fenil-hexahidrociclopenta[*ij*]isoquinoleínas

Síntesis de la 5,6-dimetoxi-7-fenil-1,2,3,7,8,8a-HCPIQ 4a:

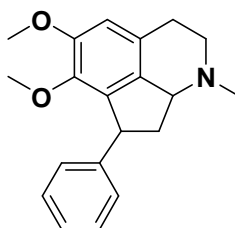


La 6,7-dimetoxi-1-estiril-1,2,3,4-THIQ **4** (500 mg, 1.69 mmol) es solubilizada a temperatura ambiente en P₂O₅-CH₃SO₃H 1:10 m/m (5 mL) y, posteriormente, se lleva a cabo la reacción a 45 °C durante 15 h. Transcurrido este tiempo se adiciona una solución acuosa de NaOH al 5

% y se extrae con CH₂Cl₂ (3 x 15 mL). La fase orgánica es deshidratada con Na₂SO₄ anhidro, filtrada y evaporada a sequedad. Tras purificar el residuo mediante una columna cromatográfica con silicagel (CH₂Cl₂/MeOH 95:5) se obtiene 339 mg del compuesto **4a** como un aceite marrón (68 %).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7.27 (m, 2H, H-3', H-5'), 7.19 (m, 2H, H-2', H-6'), 7.18 (m, 1H, H-4'), 6.64 (s, 1H, H-4), 4.59 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-7), 4.24 (dd, *J* = 11.8, 6.4 Hz, 1H, H-8a), 3.84 (s, 3H, OCH₃-5), 3.59 (s, 3H, OCH₃-6), 3.49 (dd, *J* = 12.6, 6.7 Hz, 1H, H-2α), 3.14 (dd, *J* = 12.6, 10.5 Hz, 1H, H-2β), 2.81 (m, 1H, H-3α), 2.72 (m, 1H, H-3β), 2.50 (dd, *J* = 11.8, 6.4 Hz, 1H, H-8α), 2.35 (dd, *J* = 11.8, 8.3 Hz, 1H, H-8β); **¹³C RMN** (125 MHz, CDCl₃): δ 152.7, 143.9, 143.8, 135.6, 134.7, 128.3, 127.3, 126.8, 126.0, 111.0, 60.3, 57.5, 56.1, 46.3, 44.6, 44.4, 25.8; **HRESIMS** *m/z*: 296.1637 [M+H]⁺ (296.1651, calc para C₁₉H₂₂NO₂).

Síntesis de la *N*-metil-5,6-dimetoxi-7-fenil-1,2,3,7,8,8a-HCPIQ **4c:**

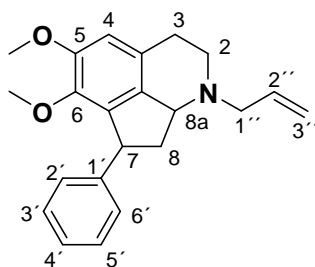


A una solución de la HCPIQ **4a** (100 mg, 0.34 mmol) en metanol (15 mL) se le adiciona formaldehido al 37 % (4.7 mL) y una gota de ácido fórmico. La reacción se lleva a cabo a reflujo durante 1 h y, tras

dicho tiempo, se enfría el medio a temperatura ambiente y se le añade NaBH_4 (120 mg, 3.4 mmol). A continuación se deja la reacción a reflujo durante 1 h, se enfría a temperatura ambiente el medio y se evapora el disolvente a sequedad. Se adiciona H_2O (3 mL) al residuo y se extrae con CH_2Cl_2 (3 x 15 mL). La fase orgánica es deshidratada con Na_2SO_4 anhidro, filtrada y evaporada a sequedad. Después de purificar el residuo en columna cromatográfica con silicagel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95:5) se obtiene 86 mg la HCPIQ **4c** como un aceite blanquecino (82 %).

$^1\text{H RMN}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 7.18 (m, 2H, H-3', H-5'), 7.09 (m, 2H, H-2', H-6'), 7.08 (m, 1H, H-4'), 6.53 (s, 1H, H-4), 4.51 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H-7), 3.74 (s, 3H, OCH_3 -5), 3.48 (s, 3H, OCH_3 -6), 3.33 (dd, $J = 9.8, 6.6$ Hz, 1H, H-8a), 3.05 (dd, $J = 12.0, 6.6$ Hz, 1H, H-2 α), 2.89 (m, 1H, H-3 α), 2.72 (m, 1H, H-3 β), 2.42 (m, 1H, H-2 β), 2.31 (m, 2H, H-8), 2.26 (s, 3H, NCH_3); $^{13}\text{C RMN}$ (125 MHz, CDCl_3): δ 152.7, 144.1, 144.0, 135.1, 128.4, 128.1, 127.5, 127.4, 126.1, 110.6, 65.7, 60.3, 56.1, 54.8, 46.4, 43.6, 43.2, 27.2; **HRESIMS** m/z : 310.1797 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (310.1807, calc para $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{NO}_2$).

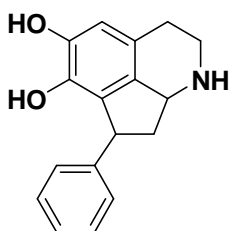
Síntesis de la *N*-alil-5,6-dimetoxi-7-fenil-1,2,3,7,8,8a-HCPIQ **4e**:



A una solución de la HCPIQ **4a** (100 mg, 0.34 mmol) en acetonitrilo (10 mL) se le adiciona K₂CO₃ (300 mg, 2.17 mmol) y cloruro de alilo (0.1 mL, 1.23 mmol). La reacción se lleva a cabo durante 10 h a reflujo. A continuación, el medio es enfriado a temperatura ambiente y se evapora el disolvente a sequedad. Se adiciona H₂O (3 mL) al residuo y se realiza extracciones con CH₂Cl₂ (3 x 15 mL). Luego se deshidrata la fase orgánica con Na₂SO₄ anhidro siendo después filtrada y evaporada a sequedad. La purificación del residuo se lleva a cabo mediante columna cromatográfica con silicagel (CH₂Cl₂/MeOH 99:1) obteniéndose 101 mg de la HCPIQ **4e** como un aceite marrón (89 %).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7.18 (m, 2H, H-3', H-5'), 7.10 (m, 2H, H-2', H-6'), 7.08 (m, 1H, H-4'), 6.53 (s, 1H, H-4), 5.82 (m, 1H, H-2''), 5.11 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H, H-3''α), 5.07 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H, H-3''β), 4.51 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, H-7), 3.74 (s, 3H, OCH₃-5), 3.50 (dd, *J* = 10.2, 6.3 Hz, 1H, H-8a), 3.47 (s, 3H, OCH₃-6), 3.36 (dd, *J* = 13.6, 3.1 Hz, 1H, H-1''α), 3.18 (dd, *J* = 11.8, 6.5 Hz, 1H, H-2α), 2.82 (m, 1H, H-3α), 2.74 (m, 1H, H-3β), 2.65 (dd, *J* = 13.6, 8.2 Hz, 1H, H-1''β), 2.36 (m, 1H, H-2β), 2.26 (m, 2H, H-8); ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): δ 152.7, 144.2, 144.0, 135.4, 135.3, 128.4, 128.1, 127.5, 127.1, 126.0, 117.8, 110.7, 64.4, 60.3, 58.5, 56.1, 51.0, 46.4, 43.8, 27.5; HRESIMS *m/z*: 336.1956 [M+H]⁺ (336.1964, calc para C₂₂H₂₆NO₂).

Síntesis de la 5,6-dihidroxi-7-fenil-1,2,3,7,8,8a-HCPIQ **4b**:

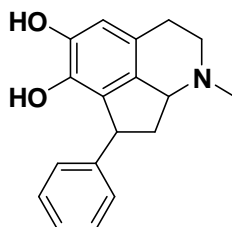


Una solución de la HCPIQ **4a** (100 mg, 0.34mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (10 mL) es enfriada a -78 °C y, a continuación, se le adiciona gota a gota BBr₃ (0.13 mL, 1.36 mmol). Tras 15 minutos, se permite que la reacción alcance la temperatura ambiente y se deja en agitación durante 2 h. Transcurrido dicho tiempo se adiciona gota a gota metanol (1.5 mL) y se deja el medio en agitación durante 30 minutos. Luego se evapora el medio a sequedad y se purifica el residuo en columna cromatográfica con silicagel (CH₂Cl₂/MeOH 9:1) obteniéndose 80 mg de la HCPIQ catecólica **4b** como un aceite marrón (88 %).

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD): δ 7.25 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, H-3', H-5'), 7.19 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H, H-2', H-6'), 7.17 (m, 1H, H-4'), 6.70 (s, 1H, H-4), 4.66 (dd, *J* = 9.0, 6.6 Hz, 1H, H-8a), 4.63 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, H-7), 3.78 (dd, *J* = 13.1, 6.8 Hz, 1H, H-2α), 3.51 (ddd, *J* = 13.1, 11.4, 6.8 Hz, 1H, H-2β), 3.05 (dd, *J* = 11.4, 6.8 Hz, 1H, H-3α), 2.97 (dd, *J* = 13.1, 6.8 Hz, 1H, H-3β), 2.69 (dd, *J* = 12.1, 8.1 Hz, 1H, H-8α), 2.62 (d, *J* = 12.1, 6.6 Hz, 1H, H-8β); ¹³C RMN (125 MHz, CD₃OD): δ 147.7, 143.5, 141.8, 129.5, 129.2, 128.9, 128.2, 127.2, 121.6, 114.2, 58.1, 46.4, 44.4, 42.5,

23.6; **HRESIMS** m/z : 268.1331 $[M+H]^+$ (268.1338, calc para $C_{17}H_{18}NO_2$).

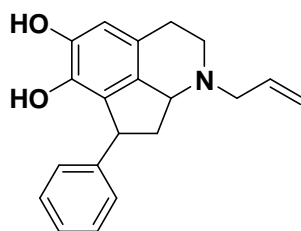
Síntesis de la *N*-metil-5,6-dihidroxi-7-fenil-1,2,3,7,8,8a-HCPIQ **4d**:



Este compuesto se sintetiza según el procedimiento descrito para **4b** empleando la HCPIQ **4c** (100 mg, 0.32 mmol) y BBr_3 (0.13 mL, 1.28 mmol). Después de purificar el residuo en columna cromatográfica con silicagel ($CH_2Cl_2/MeOH$ 9:1) se obtiene 84 mg de la HCPIQ catecólica **4d** como un aceite verde (94 %).

1H RMN (500 MHz, CD_3OD): δ 7.26 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, H-3', H-5'), 7.16 (m, 2H, H-2', H-6'), 7.14 (m, 1H, H-4'), 6.48 (s, 1H, H-4), 4.42 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H-7), 3.38 (m, 1H, H-8a), 3.07 (m, 1H, H-2 α), 2.72 (m, 1H, H-3 α), 2.63 (m, 1H, H-3 β), 2.49 (m, 1H, H-2 β), 2.36 (m, 1H, H-8 α), 2.20 (s, 3H, NCH_3), 2.14 (m, 1H, H-8 β); **^{13}C RMN** (125 MHz, CD_3OD): δ 145.4, 143.7, 140.1, 128.5, 128.1, 128.0, 127.2, 125.8, 121.1, 112.9, 65.6, 54.4, 45.1, 42.7, 39.9, 26.0; **HRESIMS** m/z : 282.1495 $[M+H]^+$ (282.1494, calc para $C_{18}H_{20}NO_2$).

Síntesis de la *N*-alil-5,6-dihidroxi-7-fenil-1,2,3,7,8,8a-HCPIQ **4f**:



Este producto se prepara con el método empleado en la síntesis de **4b** a partir de la HCPIQ **4e** (100 mg, 0.30 mmol) y BBr_3 (0.12 mL, 1.20 mmol). Tras purificar el residuo en columna cromatográfica con silicagel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1) se obtiene 83 mg de la HCPIQ catecólica **4f** como un aceite marrón (90 %).

$^1\text{H RMN}$ (500 MHz, CD_3OD): δ 7.24 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, H-3', H-5'), 7.18 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H, H-2', H-6'), 7.14 (m, 1H, H-4'), 6.52 (s, 1H, H-4), 5.87 (dddd, $J = 17.3, 10.2, 8.0, 4.8$ Hz, 1H, H-2''), 5.18 (d, $J = 17.3$ Hz, 1H, H-3'' α), 5.09 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H, H-3'' β), 4.49 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, H-7), 3.45 (dd, $J = 10.4, 6.0$ Hz, 1H, H-8a), 3.39 (dd, $J = 13.8, 4.8$ Hz, 1H, H-1'' α), 3.16 (dd, $J = 11.8, 6.4$ Hz, 1H, H-2 α), 2.72 (m, 1H, H-3 α), 2.68 (dd, $J = 13.8, 8.2$ Hz, 1H, H-1'' β), 2.65 (dd, $J = 16.4, 6.0$ Hz, 1H, H-8 α), 2.64 (dd, $J = 11.8, 6.4$ Hz, 1H, H-3 β), 2.41 (dd, $J = 11.8, 5.9$ Hz, 1H, H-2 β), 2.22 (m, 1H, H-8 β); $^{13}\text{C RMN}$ (125 MHz, CD_3OD): δ 145.7, 144.9, 140.8, 136.7, 135.4, 129.2, 128.9, 128.4, 126.7, 123.5, 117.6, 113.6, 65.5, 59.2, 52.2, 46.6, 44.7, 27.8; **HRESIMS** m/z : 308.1641 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (308.1651, calc para $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{NO}_2$).

II.3.4.3. Afinidad por receptores dopaminérgicos

a) Animales de experimentación

En los ensayos de unión con radioligandos se han empleado membranas de cuerpo estriado de ratas hembras Wistar criadas en el animalario de la Facultad de Farmacia de la Universitat de València en condiciones experimentales estándar. Los animales fueron criados en un ambiente controlado con ciclos de luz/oscuridad de 12 h, humedad del 60 % y temperatura de 22 °C. Los protocolos cumplen las directrices del uso de animales de experimentación de la Comunidad Europea y están aprobados por el Comité de Ética de la Universitat de València.

b) Ensayos de competición

Los cuerpos estriados fueron homogeneizados en 2 mL de tampón Tris-HCl (50 mM, pH = 7.4) frío empleando un Polytron durante 4 segundos a máxima potencia. Los homogenados fueron inmediatamente diluidos en tampón Tris-HCl y centrifugados a 20000 g durante 10 minutos a 4 °C. Los homogenados fueron centrifugados a dichas condiciones dos veces, para los experimentos de unión a RD tipo-D₁, o cuatro veces para los experimentos de unión a RD tipo-D₂, resuspendiendo los pellets obtenidos tras cada centrifugación en el mismo volumen de tampón Tris-HCl.

Para los ensayos de unión a RD tipo-D₁, el pellet final fue resuspendido en tampón Tris frío con MgSO₄ 5 mM, EDTA 0.5 mM y ácido ascórbico 0.02 % (tampón Tris-Mg). Dicha suspensión fue sonicada rápidamente y diluida a una concentración proteica de 1 mg/mL. Una alícuota con 100 µg de proteína de estriado fue incubada

con [³H]-SCH 23390 (concentración final de 0.25 nM, Perkin Elmer) y el compuesto a ensayar en tampón Tris-Mg a 25 °C durante 1 h. La unión inespecífica fue determinada mediante SK&F 38393 a 30 μM.

En los ensayos de unión a RD tipo-D₂, el pellet final fue resuspendido en tampón Tris-iones frío (Tris 50 mM, NaCl 120 mM, KCl 5 mM, CaCl₂ 1 mM, MgCl₂ 1 mM y ácido ascórbico 0.1 %) y la suspensión fue sonicada muy brevemente y diluida a una concentración proteica de 1 mg/mL. Una alícuota con 200 μg de proteína de estriado fue incubada con [³H]-racloprida (una concentración final de 0.5 nM, Perkin Elmer) y el producto a testar en tampón Tris-iones a 25 °C durante 1 h. La unión inespecífica fue realizada con apomorfina a 50 μM.

En ambos ensayos, las incubaciones fueron detenidas mediante la adición en frío de 3 mL de tampón Tris-Mg o Tris-iones, respectivamente. Inmediatamente se lleva a cabo una rápida filtración a través de filtros Whatman GF/B utilizando un equipo para muestras múltiples (Brandel M24R). Los tubos fueron enjuagados con 3 mL del correspondiente tampón frío y los filtros fueron lavados también con dicho tampón (3 x 3 mL). Posteriormente, los filtros fueron secados completamente en oscuridad a temperatura ambiente durante 15h. A continuación, se añadió a los filtros 4 mL de líquido de centelleo Optiphase “Hisafe” 2 (Perkin Elmer) y se llevó a cabo el contaje de la radioactividad en un analizador de centelleo Tri-Carb[®] 2810TR (Perkin Elmer).

Los datos fueron analizados con el programa GraphPad Prism[®]. Los resultados fueron expresados como la media de K_i ± el error estándar

de la media (SEM) y la media de $pK_i \pm SEM$ de 3 experimentos independientes llevados a cabo por duplicado.

Resumen-Discusión de los Resultados

Resumen-Discusión de los Resultados

En la presente **Tesis Doctoral** se destaca los diversos metabolitos secundarios activos (MSA) de plantas de la familia Annonáceas que han inspirado el desarrollo de nuevos fármacos en nuestro grupo de investigación. Además, en esta **Tesis Doctoral** se desarrolla la síntesis de isoquinoleínas 1-sustituidas con actividad antibacteriana y antifúngica o dopaminérgica.

En el **Capítulo I** se hace un breve estudio de los distintos MSA presentes en plantas de la familia Annonáceas. Se describe principalmente los hallazgos realizados en nuestro grupo sobre acetogeninas inhibidoras de la cadena respiratoria mitocondrial (CRM) como la laherradurina, la 15,24-diacetilguanacona semisintética, la squamocina y los distintos derivados semisintéticos de ésta.

En el **Capítulo II** se expone la síntesis de THIQ 1-sustituidas con actividad antibacteriana y antifúngica o dopaminérgica.

En un primer apartado se describe los antecedentes bibliográficos tanto sintéticos como biológicos que han inspirado este capítulo.

En el segundo apartado de este capítulo se explica la síntesis de THIQ con actividad antibacteriana y antifúngica. En primer término se desarrolla la síntesis de THIQ 1-sustituídas funcionalizadas con un éster o carbamato. La síntesis del núcleo isoquinoleínico se realiza mediante una ciclodeshidratación de Bischler-Napieralski a partir de la β -feniletilamida. Mediante una *N*-metilación, posterior reducción del imonio y una modificación del éster terminal de la cadena alquílica se

obtiene la 1-pentanol-THIQ **2c**. A partir de este compuesto se sintetizan derivados con función éster **2d-2k** o carbamato **2l-2s** sustituidos con diversos fenilos o fenilos (**Figura 39**).

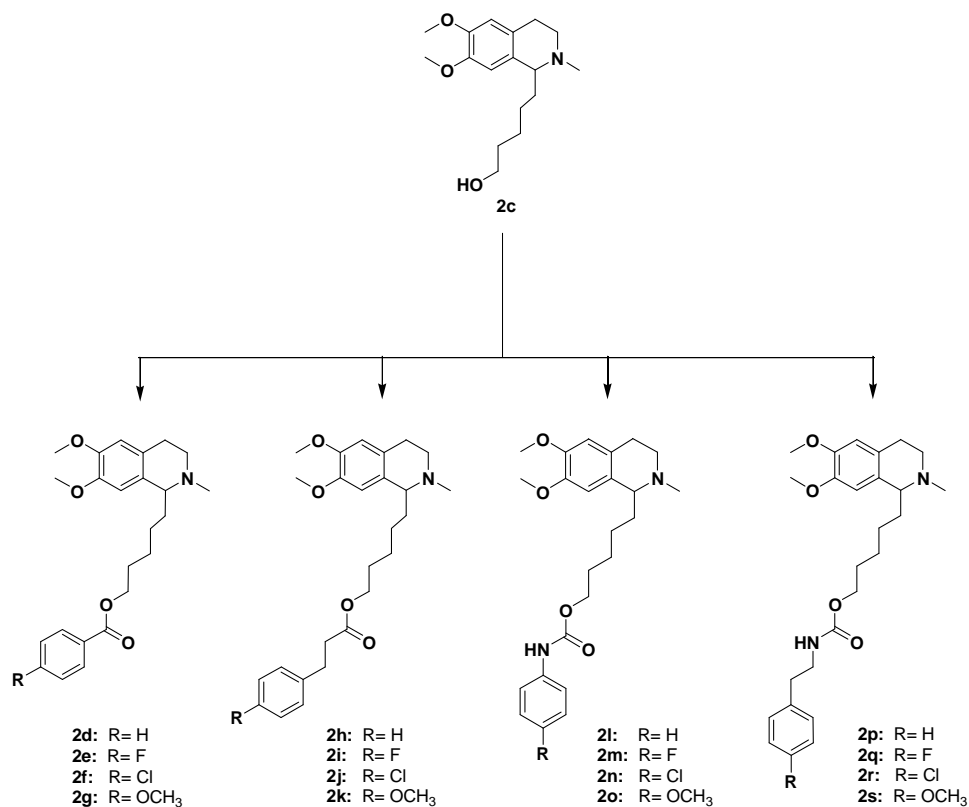


Figura 39. THIQ con función éster **2d-2k** o carbamato **2l-2s**

En segundo término se muestra la síntesis de pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-onas llevada a cabo. Una β -feniletilamida con un éster terminal en una cadena alquílica más corta permite realizar una doble ciclación dando lugar a este tipo de THIQ. Se han sintetizado pirrolo[2,1-

a]isoquinoleín-3-onas con distintos sustituyentes en posición 8 (Figura 40).

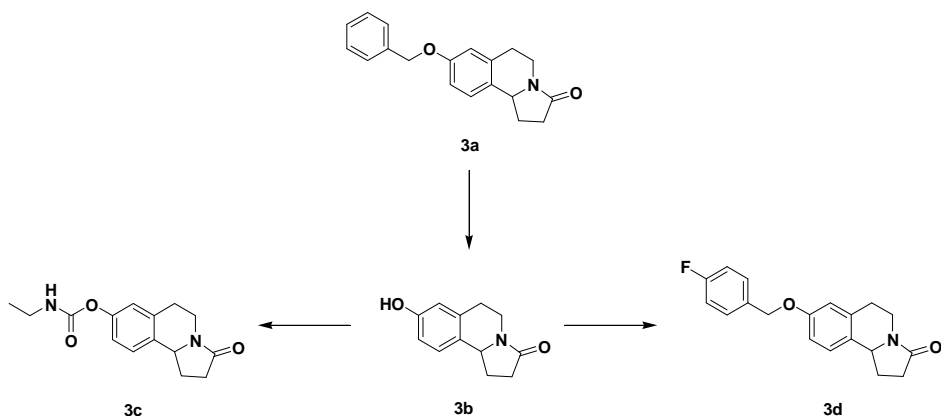


Figura 40. Pirrolo[2,1-a]isoquinoleín-3-onas

La determinación de la actividad antibacteriana y antifúngica de las THIQ sintetizadas se ha realizado con el método de difusión en agar mediante discos de papel midiéndose los halos de inhibición. Las bacterias patógenas en humanos ensayadas fueron: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Erwinia carotovora*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* 405 y *E. coli* 100. Los compuestos también fueron ensayados frente a los siguientes hongos fitopatógenos: *Aspergillus parasiticus*, *Trichoderma viride*, *Fusarium culmorum*, *Phytophthora citrophthora* y *Geotrichum candidum*.

En lo referente a la actividad antibacteriana de las 1-alkil-THIQ, todos los compuestos funcionalizados con un éster **2d-2k** o carbamato **2l-2s** manifestaron actividad frente a las bacterias ensayadas. Entre las 1-pentil-THIQ con función éster **2d-2k**, se ha observado que, en rasgos

generales, los compuestos más activos poseen un sustituyente fluorado en el anillo aromático (**2e** y **2i**). Cabe destacar que las 1-pentil-THIQ con función carbamato y con un anillo aromático fluorado (**2m** y **2q**) o clorado (**2n** y **2r**) también mostraron mayor actividad antibacteriana.

En lo respectivo a la actividad antifúngica de las 1-alkil-THIQ se ha observado la importancia de introducir sustituyentes lipófilos mediante una función éster o carbamato para lograr productos activos frente a los hongos empleados. De forma general, las 1-pentil-THIQ con función éster **2d-2k** mostraron mayor actividad que los derivados funcionalizados con un carbamato **2l-2s**. Entre las THIQ con función éster cabe destacar los compuestos con sustituyentes clorados **2f** y **2j**.

Las pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-onas sustituidas en posición 8 con un grupo lipófilo resultaron activas frente a la mayoría de las bacterias utilizadas. Cabe destacar que los productos **3a** y **3d** mostraron actividad antifúngica frente a todos los hongos empleados.

En el tercer apartado del segundo capítulo se describe el procedimiento utilizado para sintetizar 7-fenil-HCPIQ empleando el reactivo de Eaton. Se han sintetizado HCPIQ *N*-alquiladas con grupos hidroxilos metoxilados o desprotegidos.

El estudio de la afinidad por los receptores dopaminérgicos tipo-D₁ y tipo-D₂ se realizó *in vitro* utilizando un ensayo de competición con radioligandos ([³H]-SCH 23390 para RD tipo-D₁ y [³H]-racloprida para RD tipo-D₂) en membranas de estriado de rata.

Todas las HCPIQ han mostrado afinidad por los RD tipo-D₁ y tipo-D₂ en rango micromolar o nanomolar. En general, los compuestos

catecólicos manifestaron mayor afinidad que sus análogos dimetoxilados. En las HCPIQ catecólicas se observó un incremento significativo de la afinidad por los RD tipo-D₁ al introducir un sustituyente metilo o alilo en el nitrógeno.

Cabe destacar la gran afinidad y selectividad por los RD tipo-D₂ manifestada por las HCPIQ catecólicas **4b**, **4d** y **4f** (Figura 41). El compuesto **4b** mostró un valor de K_i de 29 nM y un cociente de K_i D₁/D₂ de 2465. El producto *N*-metilado **4d** manifestó una gran afinidad (K_i = 13 nM) y un cociente de selectividad K_i D₁/D₂ de 1010. La *N*-alil-HCPIQ **4f** mostró un valor de K_i de 18 nM y un cociente de K_i D₁/D₂ de 382.

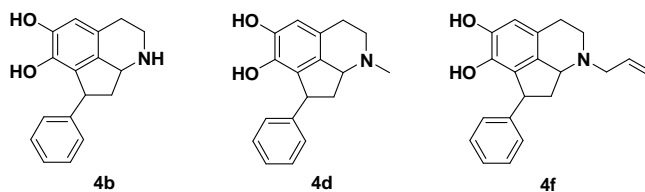


Figura 41. HCPIQ con gran afinidad y selectividad por RD tipo-D₂

Summary-Results and Discussion

Summary-Results and Discussion

The present **Doctoral Thesis** emphasizes the various active secondary metabolites (ASM) from plants of the Annonaceous family, which have inspired the development of new drugs by our research group. In addition, in this **Doctoral Thesis** the synthesis of 1-substituted isoquinolines with antibacterial and antifungal or dopaminergic activity has been developed.

In **Chapter I** a brief study regarding the different ASM present in plants from the Annonaceous family has been done. It has been mainly described the findings encountered by our group on mitochondrial respiratory chain (MRC) inhibition by acetogenins such as laherradurin, the semisynthetic 15,24-diacetylguanacone, squamocin and its different semisynthetic derivatives.

In **Chapter II** the synthesis of 1-substituted THIQ with antibacterial and antifungal or dopaminergic activity is described.

In the first section we review the bibliographic backgrounds of both, chemical synthesis and biological activities that led us to carry out the study.

In the second section of this chapter, we present the synthesis of THIQ with antibacterial and antifungal activity. First it is develop the synthesis of 1-substituted THIQ functionalized with an ester or carbamate. The synthesis of the isoquinoline core is performed by a Bischler-Napieralski cyclodehydration from the β -phenylethylamide. Next, by means of an *N*-methylation, subsequent reduction of the

imonium and a modification of the terminal ester at the alkyl chain, the 1-pentanol-THIQ **2c** is obtained. From this compound derivatives with ester **2d-2k** or carbamate **2l-2s** function substituted with different phenyls or phenethyls have been synthesized (**Figure 39**).

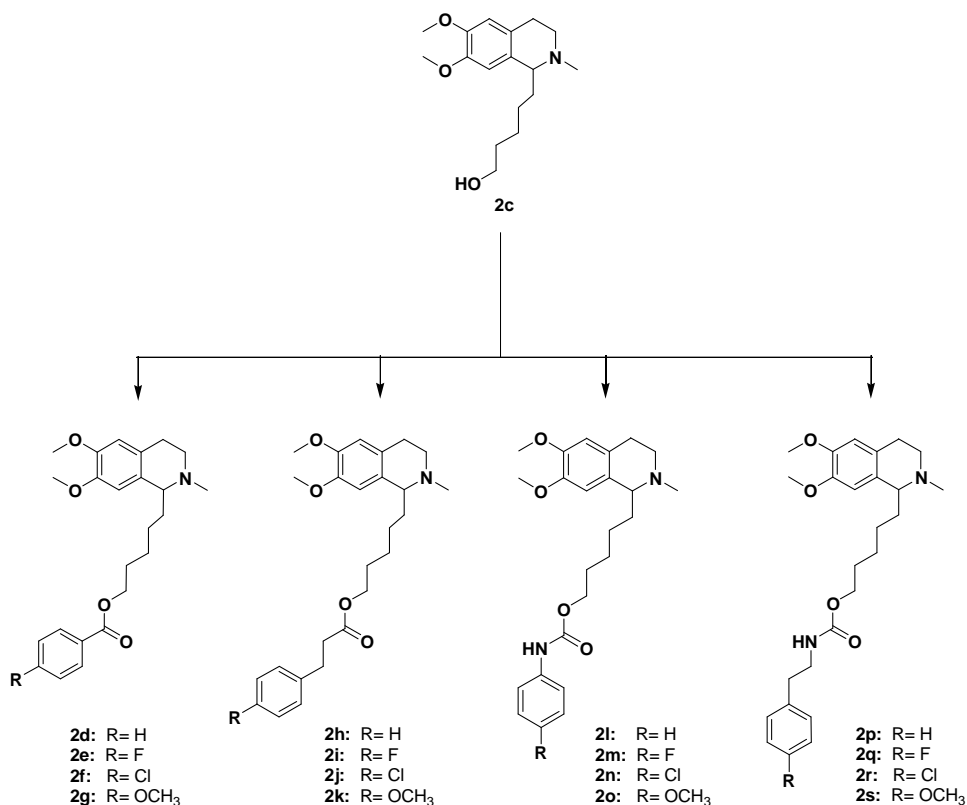


Figure 39. THIQ with ester **2d-2k** or carbamate **2l-2s** function

Next, it is shown the synthesis of pyrrolo[2,1-*a*]isoquinolin-3-ones carried out. A β -phenylethylamide with a terminal ester at a shorter alkyl chain allows a double cyclization leading to this type of THIQ.

Pyrrolo[2,1-*a*]isoquinolin-3-ones with different substituents at 8-position were then synthesized (**Figure 40**).

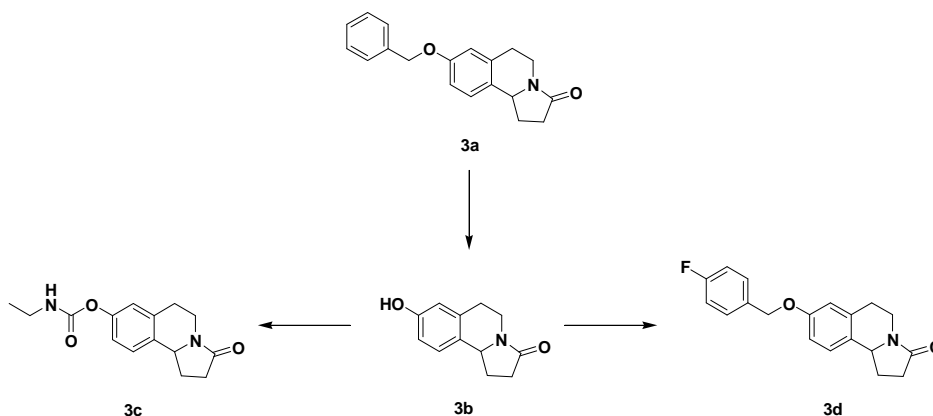


Figure 40. Pyrrolo[2,1-*a*]isoquinolin-3-ones

The evaluation of the antibacterial and antifungal activity of the synthesized THIQ were carried out by the paper disk-agar diffusion method measuring the inhibition halos. The human pathogenic bacteria tested were: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Erwinia carotovora*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* 405 and *E. coli* 100. Compounds were also assayed against the following phytopathogenic fungi: *Aspergillus parasiticus*, *Trichoderma viride*, *Fusarium culmorum*, *Phytophthora citrophthora* and *Geotrichum candidum*.

Regarding the antibacterial activity of the 1-alkyl-THIQ, all compounds functionalized with an ester **2d-2k** or carbamate **2l-2s** displayed activity against the tested bacteria. Among the 1-pentyl-THIQ with ester function **2d-2k**, we observed that, in general terms, the most

active compounds have a fluorinated substituent at the aromatic ring (**2e** and **2i**). It should be noted that the 1-pentyl-THIQ with carbamate function and with a fluorinated (**2m** and **2q**) or chlorinated (**2n** and **2r**) aromatic ring showed also greater antibacterial activity.

In regard to the antifungal activity of 1-alkyl-THIQ, the relevance of introducing lipophilic substituents through an ester or carbamate function to achieve active products against the assayed fungi has been observed. In general, the 1-pentyl-THIQ with ester function **2d-2k** showed greater activity than the derivatives functionalized with a carbamate **2l-2s**. Among the THIQ with ester function, it was noteworthy the effect displayed by the compounds with chlorinated substituents **2f** and **2j**.

The pyrrolo[2,1-*a*]isoquinolin-3-ones substituted at 8-position with a lipophilic group, were found to be active against most of the tested bacteria. Notably products **3a** and **3d** displayed antifungal activity against all fungi assayed.

In the third section of the second chapter the procedure used to synthesize 7-phenyl-HCPIQ using Eaton's reagent has been described. *N*-alkylated HCPIQ with methoxylated or deprotected hydroxyls groups have been synthesized.

The affinity study towards type-D₁ and type-D₂ dopaminergic receptors was carried out *in vitro* by a competition assay with radioligands ([³H]-SCH 23390 towards type-D₁ DR and [³H]-raclopride towards type-D₂ DR) on rat striatal membranes.

All HCPIQ have shown affinity towards type-D₁ and type-D₂ DR at a micromolar or nanomolar range. In general, catecholic compounds displayed greater affinity than their dimethoxylated analogues. In catecholic HCPIQ we observed a significant increase of the affinity towards type-D₁ DR by introducing a methyl or allyl substituent at the nitrogen.

It should be noted the great affinity and selectivity towards type-D₂ DR revealed by the catecholic HCPIQ **4b**, **4d** and **4f** (Figure 41). Compound **4b** showed a K_i value of 29 nM and a K_i D₁/D₂ ratio of 2465. The *N*-methylated product **4d** displayed a high affinity (K_i = 13 nM) and a selectivity ratio K_i D₁/D₂ of 1010. The *N*-allyl-HCPIQ **4f** showed a K_i value of 18 nM and a K_i D₁/D₂ ratio of 382.

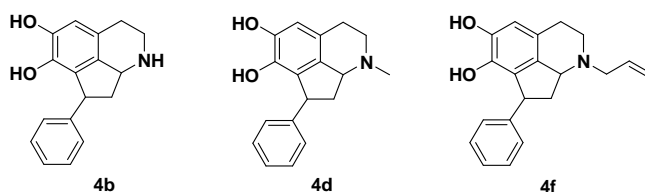


Figure 41. HCPIQ with great affinity and selectivity towards type-D₂ DR

Conclusiones

Conclusiones

1. Los metabolitos secundarios activos procedentes de plantas de la familia Annonáceas, especialmente, las acetogeninas y los alcaloides isoquinoleínicos han servido de inspiración durante décadas a nuestro grupo de investigación para desarrollar nuevos compuestos que pudieran ser biológicamente activos.
2. Se han sintetizado diversas 1-alkil-tetrahidroisoquinoleínas con actividad antibacteriana y antifúngica mediante una ciclodeshidratación de Bischler-Napieralski. Cabe destacar que todas las THIQ con una función éster o carbamato sustituidas con diversos fenilos o fenetilos mostraron actividad antibacteriana frente a todas las especies empleadas. De hecho, la mayor actividad antibacteriana fue desarrollada por las THIQ con función éster y un sustituyente fluorado (**2e** y **2i**) y por las THIQ con función carbamato y un sustituyente fluorado (**2m** y **2q**) o clorado (**2n** y **2r**). En cuanto a la actividad antifúngica, los compuestos con función éster **2d-2k** resultaron generalmente más activos que las THIQ con carbamatos **2l-2s**.
3. Las pirrolo[2,1-*a*]isoquinoleín-3-onas fueron sintetizadas mediante una doble ciclación intramolecular. Los compuestos con un sustituyente lipófilo en posición 8 mostraron actividad antibacteriana frente a la mayoría de las bacterias empleadas.

Cabe destacar la actividad antifúngica desarrollada frente a todas las especies fúngicas ensayadas por los productos bencilados **3a** y **3d**.

4. Las hexahidrociclopenta[*ij*]isoquinoleínas (HCPIQ) fueron sintetizadas mediante una ciclación intramolecular empleando el reactivo de Eaton. Cabe destacar tanto la gran afinidad, en rango nanomolar, como la relevante selectividad de las HCPIQ catecólicas **4b**, **4d** y **4f** por los receptores dopaminérgicos tipo-D₂.

Conclusions

Conclusions

1. The active secondary metabolites from plants of the Annonaceous family, mainly acetogenins and isoquinoline alkaloids, have inspired our research group for decades leading to the development of new compounds with biological activity.
2. Different 1-alkyl-tetrahydroisoquinolines with antibacterial and antifungal activity have been synthesized by a Bischler-Napieralski cyclodehydration. Of note, all THIQ with an ester or carbamate function substituted with different phenyls or phenethyls, showed antibacterial activity against all the species tested. Indeed, the greatest antibacterial activity was displayed by THIQ with ester function bearing a fluorinated substituent (**2e** and **2i**) and by THIQ with carbamate function bearing a fluorinated (**2m** and **2q**) or chlorinated (**2n** and **2r**) substituent. In regard to the antifungal activity, compounds with an ester function **2d-2k** showed generally greater activity than the THIQ with a carbamate function **2l-2s**.
3. Pyrrolo[2,1-*a*]isoquinolin-3-ones were synthesized through a double intramolecular cyclization. Compounds with a lipophilic substituent at 8-position showed antibacterial activity against most of the bacteria tested. Notably, benzylated products **3a** and **3d** exerted antifungal activity against all fungal species assayed.

4. The hexahydrocyclopenta[*ij*]isoquinolines (HCPIQ) were synthesized by an intramolecular cyclization using Eaton's reagent. It was remarkable both the high affinity (nanomolar range) and the relevant selectivity of catecholic HCPIQ **4b**, **4d** and **4f** towards type-D₂ dopaminergic receptors.

Bibliografía

Bibliografía

- 1- Cortes, D.
Farmacoquímica Natural, Moliner-40, Valencia, **2007**. ISBN: 978-84-934871-4-0
- 2- Cragg, G. M. y Newman, D. J.
Natural products: A continuing source of novel drug leads.
Biochim. Biophys. Acta **2013**, *1830*, 3670-3695.
- 3- Chen, J.; Li, W.; Yao, H. y Xu, J.
Insights into drug discovery from natural products through structural modification.
Fitoterapia **2015**, *103*, 231-241.
- 4- Bauer, A. y Brönstrup, M.
Industrial natural product chemistry for drug discovery and development.
Nat. Prod. Rep. **2014**, *31*, 35-60.
- 5- Baker, D. D.; Chu, M.; Oza, U. y Rajgarhia, V.
The value of natural products to future pharmaceutical discovery.
Nat. Prod. Rep. **2007**, *24*, 1225-1244.
- 6- Newman, D. J. y Cragg, G. M.
Natural products as sources of new drugs over the last 25 years.
J. Nat. Prod. **2007**, *70*, 461-477.
- 7- Schumacher, M.; Kelkel, M.; Dicato, M. y Diederich, M.
Gold from the sea: marine compounds as inhibitors of the hallmarks of cancer.
Biotechnol. Adv. **2011**, *29*, 531-547.

- 8- Bermejo, A.; Figadère, B.; Zafra-Polo, M. C.; Barrachina, I.; Estornell, E. y Cortes, D.
Acetogenins from Annonaceae: recent progress in isolation, synthesis and mechanisms of action.
Nat. Prod. Rep. **2005**, *22*, 269-303.
- 9- Leboeuf, M.; Cavé, A.; Bhaumik, P. K.; Mukherjee, B. y Mukherjee, R.
The phytochemistry of the annonaceae.
Phytochemistry **1980**, *21*, 2783-2813.
- 10- Lewis, M. A.; Arnason, J. T.; Philogene, B. J. R.; Rupprecht, J. K. y McLaughlin, J. L.
Inhibition of respiration at site I by asimicin, an insecticidal acetogenin of the pawpaw, *Asimina triloba* (Annonaceae).
Pestic. Biochem. Physiol. **1993**, *45*, 15-23.
- 11- Isman, M. B.
Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world.
Annu. Rev. Entomol. **2006**, *51*, 45-66.
- 12- Hopp, D. C.; Zeng, L.; Gu, Z. M. y McLaughlin, J. L.
Squamotacin: an annonaceous acetogenin with cytotoxic selectivity for the human prostate tumor cell line (PC-3).
J. Nat. Prod. **1996**, *59*, 97-99.
- 13- Hopp, D. C.; Zeng, L.; Gu, Z. M.; Kozłowski, J. F. y McLaughlin, J. L.

- Novel mono-tetrahydrofuran ring acetogenins, from the bark of *Annona squamosa*, showing cytotoxic selectivities for the human pancreatic carcinoma cell line, PACA-2.
J. Nat. Prod. **1997**, *60*, 581-586.
- 14- Tormo, J. R.; Gallardo, T.; González, M. C.; Bermejo, A.; Cabedo, N.; Andreu, I. y Estornell, E.
Annonaceous acetogenins as inhibitors of mitochondrial complex I.
Curr. Top. Phytochemistry **1999**, *2*, 69-90.
- 15- Tormo, J. R.; Royo, I.; Gallardo, T.; Zafra-Polo, M. C.; Hernández, P.; Cortes, D. y Peláez, F.
In vitro antitumor structure–activity relationships of *threo/trans/threo* mono-tetrahydrofuranic acetogenins: correlations with their inhibition of mitochondrial complex I.
Oncol. Res. **2003**, *14*, 147-154.
- 16- Royo, I.; DePedro, N.; Estornell, E.; Cortes, D.; Peláez, F. y Tormo, J. R.
In vitro antitumor SAR of *threo/cis/threo/cis/erythro* bis-THF acetogenins: correlations with their inhibition of mitochondrial complex I.
Oncol. Res. **2003**, *13*, 521-528.
- 17- Tormo, J. R.; DePedro, N.; Royo, I.; Barrachina, I.; Zafra-Polo, M. C.; Cuadrillero, C.; Hernández, P.; Cortes, D. y Peláez, F.
In vitro antitumor structure–activity relationships of *threo/trans/threo/trans/erythro* bis-tetrahydrofuranic acetogenins: correlations with their inhibition of mitochondrial complex I.
Oncol. Res. **2005**, *15*, 129-138.

- 18- Chahboune, N.; Barrachina, I.; Royo, I.; Romero, V.; Sáez, J.; Tormo, J. R.; De Pedro, N.; Estornell, E.; Zafra-Polo, M. C.; Peláez, F. y Cortes, D.
Guanaconetins, new antitumoral acetogenins, mitochondrial complex I and tumor cell growth inhibitors.
Bioorg. Med. Chem. **2006**, *14*, 1089-1094.
- 19- Barrachina, I.; Royo, I.; Baldoni, H. A.; Chahboune, N.; Suvire, F.; DePedro, N.; Zafra-Polo, M. C.; Bermejo, A.; El Aouad, N.; Cabedo, N.; Sáez, J.; Tormo, J. R.; Enriz, R. D. y Cortes, D.
New antitumoral acetogenin 'guanacone type' derivatives: isolation and bioactivity. Molecular dynamics simulation of diacetyl-guanacone.
Bioorg. Med. Chem. **2007**, *15*, 4369-4381.
- 20- Tormo, J. R.; Gallardo, T.; Peris, E.; Bermejo, A.; Cabedo, N.; Estornell, E.; Zafra-Polo, M. C. y Cortes, D.
Inhibitory effects on mitochondrial complex I of semisynthetic mono-tetrahydrofuran acetogenin derivatives.
Bioorg. Med. Chem. Lett. **2003**, *13*, 4101-4105.
- 21- Duval, R. A.; Lewin, G.; Peris, E.; Chahboune, N.; Garofano, A.; Dröse, S.; Cortes, D.; Brandt, U. y Hocquemiller, R.
Heterocyclic analogues of squamocin as inhibitors of mitochondrial complex I. On the role of the terminal lactone of annonaceous acetogenins.
Biochemistry **2006**, *45*, 2721-2728.
- 22- Duval, R. A.; Poupon, E.; Romero, V.; Peris, E.; Lewin, G.; Cortes, D.; Brandt, U. y Hocquemiller, R.

- Analogues of cytotoxic squamocin using reliable reactions: new insights into the reactivity and role of the α,β -unsaturated lactone of the annonaceous acetogenins.
Tetrahedron **2006**, *62*, 6248-6257.
- 23- Gupta, A.; Pandey, S.; Shah, D. R.; Yadav, J. S. y Seth, N. R.
Annonaceous acetogenins: the unrevealed area for cytotoxic and pesticidal activities.
Syst. Rev. Pharm. **2011**, *2*, 104-109.
- 24- Liaw, C. C.; Wu, T. Y.; Chang, F. R. y Wu, Y. C.
Historic perspectives on annonaceous acetogenins from the chemical bench to preclinical trials.
Planta Med. **2010**, *76*, 1390-1404.
- 25- Degli Esposti, M.; Ghelli, A.; Ratta, M.; Cortes, D. y Estornell, E.
Natural substances (acetogenins) from the family *Annonaceae* are powerful inhibitors of mitochondrial NADH dehydrogenase (complex I).
Biochem. J. **1994**, *301*, 161-167.
- 26- Gallardo, T.; Zafra-Polo, M. C.; Tormo, J. R.; González, M. C.; Franck, X.; Estornell, E. y Cortes, D.
Semisynthesis of antitumoral acetogenins: SAR of functionalized alkyl-chain bis-tetrahydrofuranic acetogenins, specific inhibitors of mitochondrial complex I.
J. Med. Chem. **2000**, *43*, 4793-4800.
- 27- Cortes, D.; Myint, S. H.; Leboeuf, M. y Cavé, A.
A new type of cytotoxic acetogenins: the tetrahydrofuranic β -hydroxy methyl γ -lactones.

- Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 6133-6134.
- 28- Cortes, D.; Myint, S. H.; Dupont, B. y Davoust, D.
Bioactive acetogenins from seeds of *Annona cherimolia*.
Phytochemistry **1993**, 32, 1475-1482.
- 29- De Pedro, N.; Cautain, B.; Melguizo, A.; Cortes, D.; Vicente, F.;
Genilloud, O.; Tormo, J. R. y Peláez, F.
Analysis of cytotoxic activity at short incubation times reveals
profound differences among annonaceous acetogenins, inhibitors of
mitochondrial complex I.
J. Bioenerg. Biomembr. **2013**, 45, 145-152.
- 30- Guadaño, A.; Gutierrez, C.; de la Peña, E.; Cortes, D. y González-
Coloma, A.
Insecticidal and mutagenic evaluation of two annonaceous
acetogenins.
J. Nat. Prod. **2000**, 63, 773-776.
- 31- González-Coloma, A.; Guadaño, A.; de Inés, C.; Martínez-Díaz, R.
y Cortes, D.
Selective action of acetogenin mitochondrial complex I inhibitors.
Z. Naturforsch. C **2002**, 57c, 1028-1034.
- 32- Dang, Q. L.; Kim, W. K.; Nguyen, C. M.; Choi, Y. H.; Choi, G. J.;
Jang, K. S.; Park, M. S.; Lim, C. H.; Luu, N. H. y Kim, J. C.
Nematicidal and antifungal activities of annonaceous acetogenins
from *Annona squamosa* against various plant pathogens.
J. Agric. Food Chem. **2011**, 59, 11160-11167.
- 33- Pomper, K. W.; Lowe, J. D.; Crabtree, S. B. y Keller, W.

- Identification of annonaceous acetogenins in the ripe fruit of the north american pawpaw (*Asimina triloba*).
J. Agric. Food Chem. **2009**, *57*, 8339-8343.
- 34- McLaughlin, J. L.
Paw paw and cancer: annonaceous acetogenins from discovery to commercial products.
J. Nat. Prod. **2008**, *71*, 1311-1321.
- 35- Bentley, K. W.
 β -Phenylethylamines and the isoquinoline alkaloids
Nat. Prod. Rep. **2006**, *23*, 444-463.
- 36- 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.
- 37- Li, H. T.; Wu, H. M.; Chen, H. L.; Liu, C. M. y Chen, C. Y.
The pharmacological activities of (-)-anonaine.
Molecules **2013**, *18*, 8257-8263.
- 38- Stöckigt, J.; Antonchick, A. P.; Wu, F. y Waldmann, H.
The Pictet-Spengler reaction in nature and in organic chemistry.
Angew. Chem. Int. Ed. **2011**, *50*, 8538-8564.
- 39- Rueffer, M.; El-Shagi, H.; Nagakura, N. y Zenk, M. H.
(S)-Norlaudanoline synthase: the first enzyme in the benzyloisoquinoline biosynthetic pathway.
FEBS Lett. **1981**, *129*, 5-9.
- 40- De-La-Cruz, I.; González-Esquinca, A. R. y Riley-Saldaña, C. A.
Biosíntesis de alcaloides bencilisoquinolínicos.

- Univ. Sci. (Bogota)* **2012**, *17*, 189-202.
- 41- Herbert, R. B.
The biosynthesis of plant alkaloids and nitrogenous microbial metabolites.
Nat. Prod. Rep. **1992**, *9*, 507-529.
- 42- Bjorklund, J. A.; Frenzel, T.; Rueffer, M.; Kobayashi, M.; Mocek, U.; Fox, C.; Beale, J. M.; Gröger, S.; Zenk, M. H. y Floss, H. G.
Cryptic stereochemistry of berberine alkaloid biosynthesis.
J. Am. Chem. Soc. **1995**, *117*, 1533-1545.
- 43- Protais, P.; Cortes, D.; Pons, J. L.; Lopez, S.; Villaverde, M. C. y Castedo, L.
Displacement activity of some natural cularine alkaloids at striatal ^3H -SCH 23390 and ^3H -raclopride binding sites.
Experientia **1992**, *48*, 27-30.
- 44- Cortes, D.; Figadère, B.; Sáez, J. y Protais, P.
Displacement activity of bisbenzylisoquinoline alkaloids at striatal ^3H -SCH 23390 and ^3H -raclopride binding sites.
J. Nat. Prod. **1992**, *55*, 1281-1286.
- 45- Ivorra, M. D.; Lugnier, C.; Catret, M.; Anselmi, E.; Cortes, D. y D'Ocon, P.
Investigations of the dual contractile/relaxant properties showed by antioquine in rat aorta.
Br. J. Pharmacol. **1993**, *109*, 502-509.
- 46- Cortes, D.; Arbaoui, J. y Protais, P.
High affinity and selectivity of some tetrahydroprotoberberine alkaloids for rat striatal ^3H -raclopride binding sites.

- Nat. Prod. Lett.* **1993**, 3, 233-238.
- 47- Martín, M. L.; Díaz, M. T.; Montero, M. J.; Prieto, P.; San Roman, L. y Cortes, D.
Antispasmodic activity of benzyloisoquinoline alkaloids analogous to papaverine.
Planta Med. **1993**, 59, 63-67.
- 48- 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, 1475-1484.
- 49- Bermejo, A.; Protais, P.; Blázquez, M. A.; Rao, K. S.; Zafra-Polo, M. C. y Cortes, D.
Dopaminergic isoquinoline alkaloids from roots of *Xylopia papuana*.
Nat. Prod. Lett. **1995**, 6, 57-62.
- 50- Guinaudeau, H.; Leboeuf, M y Cavé, A.
Aporphinoid alkaloids, V.
J. Nat. Prod. **1994**, 57, 1033-1135.
- 51- Ríos, J. L.; Máñez, S.; Giner, R. M. y Recio, M. C.
Biological aspects of aporphinoid alkaloids, *The Alkaloids*, Academic Press, San Diego, **2000**. ISBN 0-12-469553-1.
- 52- Mérienne, C. ; Arango, G. J.; Cortes, D.; Cassels, B. K. y Cavé, A.
Azafluorenones from *Oxandra* cf. *major* and biogenetic considerations.
Phytochemistry **1987**, 26, 2093-2098.

- 53- Mueller, D.; Davis, R. A.; Duffy, S.; Avery, V. M.; Camp, D. y Quinn, R. J.
Antimalarial activity of azafluorenone alkaloids from the Australian tree *Mitrephora diversifolia*.
J. Nat. Prod. **2009**, *72*, 1538-1540.
- 54- Kraus, G. A. y Kempema, A.
Synthesis of azafluorenone antimicrobial agents.
J. Nat. Prod. **2010**, *73*, 1967-1968.
- 55- Zafra-Polo, M. C.; González, M. C.; Tormo, J. R.; Estornell, E. y Cortes, D.
Polyalthidin: new prenylated benzopyran inhibitor of the mammalian mitochondrial respiratory chain.
J. Nat. Prod. **1996**, *59*, 913-916.
- 56- Peris, E.; Estornell, E.; Cabedo, N.; Cortes, D. y Bermejo A.
3-Acetylalcoholactone and related styryl-lactones, mitochondrial respiratory chain inhibitors.
Phytochemistry **2000**, *54*, 311-315.
- 57- Bermejo, A.; Léonce, S.; Cabedo, N.; Andreu, I.; Caignard, D. H.; Atassi, G. y Cortes, D.
Semisynthesis and cytotoxicity of styryl-lactone derivatives.
J. Nat. Prod. **1999**, *62*, 1106-1109.
- 58- 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.

- 59- 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.
- 60- 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.
- 61- Andreu, I.; Cabedo, N.; Torres, G.; Chagraoui, A.; Ramírez de Arellano, M. C.; Gil, S.; Bermejo, A.; Valpuesta, M.; Protais, P. y Cortes, D.
Syntheses of dopaminergic 1-cyclohexylmethyl-7,8-dioxygenated tetrahydroisoquinolines by selective heterogeneous tandem hydrogenation.
Tetrahedron **2002**, *58*, 10173-10179.
- 62- Párraga, J.; Cabedo, N.; Andujar, S.; Piqueras, L.; Moreno, L.; Galán, A.; Angelina, E.; Enriz, R. D.; Ivorra, M. D.; 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.
- 63- Moreno, L.; Cabedo, N.; Ivorra, M. D.; Sanz, M. J.; López, A.; Álvarez, M. C. y Cortes, D.

- 3,4-Dihydroxy- and 3,4-methylenedioxy- phenanthrene-type alkaloids with high selectivity for D₂ dopamine receptor.
Bioorg. Med. Chem. Lett. **2013**, *23*, 4824-4827.
- 64- Shamma, M.
The Isoquinoline Alkaloids: Chemistry and Pharmacology, Academic Press, New York, **1972**. ISBN-13: 978-0124125346.
- 65- 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-hydroxy-tetrahydroisoquinoline, a new compound with antidepressant-like activity in mice.
Bioorg. Med. Chem. **2009**, *17*, 4968-4980.
- 66- Charifson, P. S.; Wyrick, S. D.; Hoffman, A. J.; Simmons, R. M. A.; 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.
- 67- 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 antagonists.
J. Med. Chem. **1994**, *37*, 4317-4328.

- 68- 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.
- 69- 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'-functionalized 3-arylisoquinolines.
J. Org. Chem. **1996**, *61*, 4062-4072.
- 70- 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.
- 71- Ghosh, A. K. y Brindisi, M.
Organic carbamates in drug design and medicinal chemistry.
J. Med. Chem. **2015**, *58*, 2895-2940
- 72- Pinho, B. R.; Ferreres, F.; Valentão, P. y Andrade, P. B.
Nature as a source of metabolites with cholinesterase-inhibitory activity: an approach to Alzheimer's disease treatment.
J. Pharm. Pharmacol. **2013**, *65*, 1681-1700.
- 73- Myles, D. C.
Novel biologically active natural and unnatural products.
Curr. Opin. Biotechnol. **2003**, *14*, 627-633.

- 74- Durand, R.; Bouvresse, S.; Berdjane, Z.; Izri, A.; Chosidow, O. y Clark, J. M.
Insecticide resistance in head lice: clinical, parasitological and genetic aspects.
Clin. Microbiol. Infect. **2012**, *18*, 338-344.
- 75- Vacondio, F.; Silva, C.; Mor, M. y Testa, B.
Qualitative structure-metabolism relationships in the hydrolysis of carbamates.
Drug Metab. Rev. **2010**, *42*, 551-589.
- 76- Passler, U. y Knölker, H. J.
The Pyrrolo[2,1-*a*]isoquinoline alkaloids, *The Alkaloids: Chemistry and Biology*, Academic Press, San Diego, **2011**. ISBN: 978-0-12-391426-2.
- 77- Zhang, Q.; Tu, G.; Zhao, Y. y Cheng, T.
Novel bioactive isoquinoline alkaloids from *Carduus crispus*.
Tetrahedron **2002**, *58*, 6795-6798.
- 78- Wang, R. F.; Yang, X. W.; Ma, C. M.; Cai, S. Q.; Li, J. N. y Shoyama, Y.
A bioactive alkaloid from the flowers of *Trollius chinensis*.
Heterocycles **2004**, *63*, 1443-1448.
- 79- Xiang, L.; Xing, D.; Wang, W.; Wang, R.; Ding, Y. y Du, L.
Alkaloids from *Portulaca oleracea* L.
Phytochemistry **2005**, *66*, 2595-2601.
- 80- Yang, Z.; Liu, C.; Xiang, L. y Zheng, Y.
Phenolic alkaloids as a new class of antioxidants in *Portulaca oleracea*.

- Phytother. Res.* **2009**, *23*, 1032-1035.
- 81- Knölker, H. J. y Agarwal, S.
Total synthesis of the antitumor active pyrrolo[2,1-*a*]isoquinoline alkaloid (±)-crispine A.
Tetrahedron Lett. **2005**, *46*, 1173-1175.
- 82- Kawai, N.; Matsuda, M. y Uenishi, J.
Stereoselective synthesis of tetrahydroisoquinoline alkaloids: (-)-trolline, (+)-crispin A, (+)-oleracein E.
Tetrahedron **2011**, *67*, 8648-8653.
- 83- Collado, M. I.; Manteca, I.; Sotomayor, N.; Villa, M. J. y Lete, E.
Metalation vs nucleophilic addition in the reactions of *N*-phenethylimides with organolithium reagents. Ready access to isoquinoline derivatives via *N*-acyliminium ions and Parham-type cyclizations.
J. Org. Chem. **1997**, *62*, 2080-2092.
- 84- Dewick, P. M.
Medicinal Natural Products, A Biosynthetic Approach, John Wiley & Sons, Chichester, **2002**. ISBN: 0470846275.
- 85- Barton, D. H. R.; Bhakuni, D. S.; Chapman, G. M. y Kirby, G. W.
Phenol oxidation and biosynthesis. Part XV. The biosynthesis of roemerine, anonaine, and mecambaine.
J. Chem. Soc. C **1967**, 2134-2140.
- 86- Dong, J. W.; Cai, L.; Fang, Y. S.; Xiao, H.; Li, Z. J. y Ding, Z. T.
Proaporphine and aporphine alkaloids with acetylcholinesterase inhibitory activity from *Stephania epigaea*.
Fitoterapia **2015**, *104*, 102-107.

- 87- Omar, H.; Hashim, N. M.; Zajmi, A.; Nordin, N.; Abdelwahab, S. I.; Azizan, A. H. S.; Hadi, A. H. A. y Ali, H. M.
Aporphine alkaloids from the leaves of *Phoebe grandis* (Nees) Mer. (Lauraceae) and their cytotoxic and antibacterial activities.
Molecules **2013**, *18*, 8994-9009.
- 88- Fournet, A.; Ferreira, M. E.; Rojas de Arias, A.; Guy, I.; Guinaudeau, H. y Heinzen, H.
Phytochemical and antiprotozoal activity of *Ocotea lancifolia*.
Fitoterapia **2007**, *78*, 382-384.
- 89- Kametani, T.; Fukumoto, K.; Shibuya, S.; Nemoto, H.; Nakano, T.; Sugahara, T.; Takahashi, T.; Aizawa, Y. y Toriyama, M.
Studies on the syntheses of heterocyclic compounds. Part CDLXII. Total photolytic syntheses of aporphine [(±)-*N*-methyl-laurotetanine, (±)-cassythicine, and (±)-pukateine], proaporphine [(±)-orientalinone], and morphinandienone [(±)-pallidine and (±)-salutaridine] alkaloids.
J. Chem. Soc. Perkin Trans.1 **1972**, 1435-1441.
- 90- Casagrande, C.; Canonica, L. y Severini-Ricca, G.
Studies on proaporphine and aporphine alkaloids. Part VI. Synthesis of (±)-glaziovine by spiran ring construction on a cyclopent[*ij*]isoquinoline; stereochemistry of reduced proaporphines.
J. Chem. Soc. Perkin Trans.1 **1975**, 1652-1658.
- 91- Eaton, P. E.; Carlson, G. R. y Lee, J. T.

- Phosphorus pentoxide-methanesulfonic acid. A convenient alternative to polyphosphoric acid.
J. Org. Chem. **1973**, 38, 4071-4073.
- 92- Honda, T. y Shigehisa, H.
Novel and efficient synthetic path to proaporphine alkaloids: total synthesis of (±)-stepharine and (±)-pronuciferine.
Org. Lett. **2006**, 8, 657-659.
- 93- Grunewald, G. L.; Sall, D. J. y Monn, J. A.
Conformational and steric aspects of the inhibition of phenylethanolamine *N*-methyltransferase by benzylamines.
J. Med. Chem. **1988**, 31, 433-444.
- 94- Ye, N.; Chen, C. H.; Chen, T. T.; Song, Z.; He, J. X.; Huan, X. J.; Song, S. S.; Liu, Q.; Chen, Y.; Ding, J.; Xu, Y.; Miao, Z. H. y Zhang, A.
Design, synthesis, and biological evaluation of a series of benzo[*de*][1,7]naphthyridin-7(8*H*)-ones bearing a functionalized longer chain appendage as novel PARP1 inhibitors.
J. Med. Chem. **2013**, 56, 2885-2903.
- 95- McOmie, J. F. W.; Watts, M. L. y West, D. E.
Demethylation of aryl methyl ethers by boron tribromide.
Tetrahedron **1968**, 24, 2289-2292.
- 96- 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.
- 97- Wang, X.; Stavchansky, S.; Bowman, P. D. y Kerwin, S. M.
Cytoprotective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and catechol ring-fluorinated CAPE derivatives against menadione-induced oxidative stress in human endothelial cells.
Bioorg. Med. Chem. **2006**, *14*, 4879-4887.
- 98- Cushnie, T. P. T.; Cushnie, B. y Lamb, A. J.
Alkaloids: an overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities.
Int. J. Antimicrob. Agents **2014**, *44*, 377-386.
- 99- Scott, J. D. y Williams, R. M.
Chemistry and biology of the tetrahydroisoquinoline antitumor antibiotics.
Chem. Rev. **2002**, *102*, 1669-1730.
- 100- Iwasa, K.; Moriyasu, M.; Tachibana, Y.; Kim, H. S.; Wataya, Y.; Wiegrebe, W.; Bastow, K. F.; Cosentino, L. M.; Kozuka, M. y Lee, K. H.
Simple isoquinoline and benzyloisoquinoline alkaloids as potential antimicrobial, antimalarial, cytotoxic, and anti-HIV agents.
Bioorg. Med. Chem. **2001**, *9*, 2871-2884.
- 101- Edrada, R. A.; Proksch, P.; Wray, V.; Christ, R.; Witte, L. y Van Soest, R. W. M.
Bioactive isoquinoline quinone from an undescribed philippine marine sponge of the genus *Xestospongia*.
J. Nat. Prod. **1996**, *59*, 973-976.
- 102- McKee, T. C. y Ireland, C. M.

- Cytotoxic and antimicrobial alkaloids from the fijian sponge *Xestospongia caycedoi*.
J. Nat. Prod. **1987**, *50*, 754-756.
- 103- Kuwabara, N.; Hayashi, H.; Hiramatsu, N.; Choshi, T.; Kumemura, T.; Nobuhiro, J. y Hibino, S.
Syntheses of the antibiotic alkaloids renierone, mimocin, renierol, renierol acetate, renierol propionate, and 7-methoxy-1,6-dimethylisoquinoline-5,8-dione.
Tetrahedron **2004**, *60*, 2943-2952.
- 104- Rao, K. V. y Beach, J. W.
Streptonigrin and related compounds. 5. Synthesis and evaluation of some isoquinoline analogues.
J. Med. Chem. **1991**, *34*, 1871-1879.
- 105- Dekker, K. A.; Inagaki, T.; Gootz, T. D.; Huang, L. H.; Kojima, Y.; Kohlbrenner, W. E.; Matsunaga, Y.; McGuirk, P. R.; Nomura, E.; Sakakibara, T.; Sakemi, S.; Suzuki, Y.; Yamauchi, Y. y Kojima, N.
New quinolone compounds from *Pseudonocardia* sp. with selective and potent anti-*Helicobacter pylori* activity: taxonomy of producing strain, fermentation, isolation, structural elucidation and biological activities.
J. Antibiot. (Tokyo) **1998**, *51*, 145-152.
- 106- Tavares, L. C.; Zanon, G.; Weber, A. D.; Neto, A. T.; Mostardeiro, C. P.; Da Cruz, I. B. M.; Oliveira, R. M.; Ilha, V.; Dalcol, I. I. y Morel, A. F.
Structure-activity relationship of benzophenanthridine alkaloids from *Zanthoxylum rhoifolium* having antimicrobial activity.

- PLoS One* **2014**, *9*, e97000.
- 107- Tang, H.; Zheng, C.; Lv, J.; Wu, J.; Li, Y.; Yang, H.; Fu, B.; Li, C.; Zhou, Y. y Zhu, J.
Synthesis and antifungal activities in vitro of novel pyrazino [2,1-*a*] isoquinolin derivatives.
Bioorg. Med. Chem. Lett. **2010**, *20*, 979-982.
- 108- Tang, H.; Zheng, C. H.; Zhu, J.; Fu, B. Y.; Zhou, Y. J. y Lv, J. G.
Design and synthesis of novel pyrazino[2,1-*a*]isoquinoline derivatives with potent antifungal activity.
Arch. Pharm. Chem. Life Sci. **2010**, *343*, 360-366.
- 109- Hazra, A.; Mondal, S.; Maity, A.; Naskar, S.; Saha, P.; Paira, R.; Sahu, K. B.; Paira, P.; Ghosh, S.; Sinha, C.; Samanta, A.; Banerjee, S. y Mondal, N. B.
Amberlite-IRA-402 (OH) ion exchange resin mediated synthesis of indolizines, pyrrolo [1,2-*a*] quinolines and isoquinolines: antibacterial and antifungal evaluation of the products.
Eur. J. Med. Chem. **2011**, *46*, 2132-2140.
- 110- Elkholy, Y. M.
Studies with polyfunctionally substituted heterocycles: syntheses of polyfunctionally substituted isoquinolines.
Chem. Heterocycl. Compd. **2002**, *38*, 1342-1347.
- 111- Yoshida, Y.; Barrett, D.; Azami, H.; Morinaga, C.; Matsumoto, S.; Matsumoto, Y. y Takasugi, H.
Studies on anti-*Helicobacter pylori* agents. Part 1: benzyloxyisoquinoline derivatives.
Bioorg. Med. Chem. **1999**, *7*, 2647-2666.

- 112- Tiwari, R. K.; Singh, D.; Singh, J.; Chhillar, A. K.; Chandra, R. y Verma, A. K.
Synthesis, antibacterial activity and QSAR studies of 1,2-disubstituted-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines.
Eur. J. Med. Chem. **2006**, *41*, 40-49.
- 113- Otshudi, A. L.; Apers, S.; Pieters, L.; Claeys, M.; Pannecouque, C.; De Clercq, E.; Van Zeebroeck, A.; Lauwers, S.; Frédérick, M. y Foriers, A.
Biologically active bisbenzylisoquinoline alkaloids from the root bark of *Epinetrum villosum*.
J. Ethnopharmacol. **2005**, *102*, 89-94.
- 114- Desgrouas, C.; Chapus, C.; Desplans, J.; Travaille, C.; Pascual, A.; Baghdikian, B.; Ollivier, E.; Parzy, D. y Taudon, N.
In vitro antiplasmodial activity of cepharanthine.
Malar. J. **2014**, *13*, 327.
- 115- Quevedo, R.; Baquero, E. y Quiñones, M. L.
1-Phenylisoquinoline larvicidal activity against *Culex quinquefasciatus*.
Nat. Prod. Res. **2012**, *26*, 1094-1100.
- 116- Zhang, H.; Gao, A.; Li, F.; Zhang, G.; Ho, H. I. y Liao, W.
Mechanism of action of tetrandrine, a natural inhibitor of *Candida albicans* drug efflux pumps.
Yakugaku Zasshi **2009**, *129*, 623-630.
- 117- Sun, Y. F. y Wink, M.
Tetrandrine and fangchinoline, bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Stephania tetrandra* can reverse multidrug resistance by

inhibiting P-glycoprotein activity in multidrug resistant human cancer cells.

Phytomedicine **2014**, *21*, 1110-1119.

118- Kaur, K.; Jain, M.; Reddy, R. P. y Jain, R.

Quinolines and structurally related heterocycles as antimalarials.

Eur. J. Med. Chem. **2010**, *45*, 3245-3264.

119- Delarue-Cochin, S.; Paunescu, E.; Maes, L.; Mouray, E.; Sergheraert, C.; Grellier, P. y Melnyk, P.

Synthesis and antimalarial activity of new analogues of amodiaquine.

Eur. J. Med. Chem. **2008**, *43*, 252-260.

120- Delarue-Cochin, S.; Grellier, P.; Maes, L.; Mouray, E.; Sergheraert, C. y Melnyk, P.

Synthesis and antimalarial activity of carbamate and amide derivatives of 4-anilinoquinoline.

Eur. J. Med. Chem. **2008**, *43*, 2045-2055.

121- Voet, D. y Voet, J. G.

Bioquímica, Ediciones Omega, Barcelona, **1992**. ISBN: 84-282-0906-5.

122- Flórez, J.; Armijo, J. A. y Mediavilla, Á.

Farmacología humana, Elsevier Masson, Barcelona, **2008**. ISBN: 978-84-458-1861-9.

123- Marsden, C. A.

Dopamine: the rewarding years.

Br. J. Pharmacol. **2006**, *147*, S136-S144.

124- Gainetdinov, R. R. y Caron, M. G.

- Monoamine transporters: from genes to behavior.
Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. **2003**, *43*, 261-284.
- 125- 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.
- 126- Neve, K. A.; Seamans, J. K. y Trantham-Davidson, H.
Dopamine receptor signaling.
J. Recept. Sig. Transd. **2004**, *24*, 165-205.
- 127- Bobb, A. J.; Castellanos, F. X.; Addington, A. M. y Rapoport, J. L.
Molecular genetic studies of ADHD: 1991 to 2004.
Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet. **2006**, *141B*, 551-565.
- 128- 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. Struct. (Theochem) **2003**, *666-667*, 455-467.
- 129- El Aouad, N.; Berenguer, I.; Romero, V.; Marín, P.; Serrano, Á.; Andujar, S.; Suvire, F.; Bermejo, A.; Ivorra, M. D.; Enriz, R. D.; Cabedo, N. y Cortes, D.
Structure-activity relationship of dopaminergic halogenated 1-benzyl-tetrahydroisoquinoline derivatives.
Eur. J. Med. Chem. **2009**, *44*, 4616-4621.
- 130- Andujar, S.; Suvire, F.; Berenguer, I.; Cabedo, N.; Marín, P.; Moreno, L.; Ivorra, M. D.; Cortes, D. y Enriz, R. D.

Tetrahydroisoquinolines acting as dopaminergic ligands. A molecular modeling study using MD simulations and QM calculations.

J. Mol. Model. **2012**, *18*, 419-431.

- 131- Andujar, S. A.; Tosso, R. D.; Suvire, F. D.; Angelina, E.; Peruchena, N.; Cabedo, N.; Cortes, D. y Enriz, R. D.

Searching the “biologically relevant” conformation of dopamine: a computational approach.

J. Chem. Inf. Model. **2012**, *52*, 99-112.