

UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS



“SÍNTESIS, MODELACIÓN MOLECULAR Y EVALUACIÓN  
FARMACOLÓGICA DE NUEVOS DERIVADOS INDÓLICOS COMO  
MODULADORES DUALES EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER”

Tesis presentada a la Universidad de Chile para optar al grado  
de Doctor en Química por:

**MICHAEL ALEXIS MALLEA CATALÁN**

DIRECTOR(ES) DE TESIS DR. HERNÁN PESSOA MAHANA

**Santiago - CHILE**

2023

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS**

**INFORME DE APROBACIÓN DE TESIS DE DOCTORADO**

**Se informa a la Dirección de la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas que la Tesis de Doctorado presentada por el candidato**

**MICHAEL ALEXIS MALLEA CATALÁN**

**Ha sido aprobada por la Comisión de Evaluadora de Tesis como requisito para optar al grado de Doctorado en Química, en el examen público rendido el día**

---

**Director de Tesis:**

**Dr. Hernán Pessoa Mahana**

**Comisión Evaluadora de Tesis:**

**Dr. Bruce Cassels (presidente)**

**Dr. Pablo Jaque**

**Dr. Marcelo Kogan**

**Dr. Javier Romero**

**Dedicado a M<sup>a</sup> Angelica Catalán, Víctor Mallea S, Francisco y Víctor Mallea**

**Gabriela Reinoso y Luciana Mallea**

**Gracias por tanto apoyo a lo largo de mi vida**

**¡¡LOS AMO!!**

## **Agradecimientos**

Quiero comenzar este apartado agradeciendo al Dr. Hernán Pessoa Mahana, quien abrió las puertas de su grupo de investigación de forma desinteresada siendo enorme apoyo y guía durante todos estos años. Quiero destacar su gran simpatía, preocupación y disponibilidad, las cuales fueron cruciales para el termino de este proceso. Solo tengo palabras de agradecimiento y gratitud para usted Profe.

Por otro lado, quiero agradecer a todos mis compañeros que fueron parte del laboratorio de mecanismos de reacción. Entre ellos quiero destacar a Julio, Andrés y Jazmín, los cuales mostraron una gran disponibilidad para ayudarme con las distintas tareas relacionadas con la síntesis, se los agradezco mucho.

Por último, pero por sobre todo importante, quiero agradecer a mi familia. A mis amados padres y hermanos, quienes me apoyaron desde el día uno. Me faltan palabras, gestos y acciones para agradecer tanto apoyo. Con mucho orgullo puedo decir que tengo la mejor familia, jamás voy a olvidar todos los gestos que tuvieron conmigo durante todo este proceso. ¡Son una pieza fundamental e irremplazable en mi vida, LOS AMO!

Además, quiero plasmar estas últimas palabras para dos personas que se han transformado en un pilar fundamental en mi vida y que hasta el día de hoy me han apoyado es este sueño, mi compañera de vida y gran amor que me regalo la dicha de ser padre, Gabriela y a la niña de mis ojos que me alegra mis días Luciana. Me siento una persona tremendamente afortunada de compartir mi vida con ustedes, gracias por ayudarme a ser una gran persona y padre. Solo espero poder retribuir tanto apoyo y amor. ¡LAS AMO DEMASIADO!

## Índice

Resumen .....	1
Summary.....	2
1. INTRODUCCIÓN .....	3
1.1 Enfermedad de Alzheimer .....	3
1.2 Etiología de la enfermedad .....	4
1.2.1 Hipótesis de la cascada amiloide .....	4
1.2.2 Hipótesis alteraciones de la proteína tau .....	7
1.2.3 Hipótesis colinérgica .....	8
1.2.3.1 Colinesterasas y su relación con la Enfermedad de Alzheimer .....	10
1.2.4 Hipótesis Serotonérgica .....	14
1.2.4.1 Transportador de serotonina (TSER) .....	16
1.3 Tratamiento actual de la enfermedad de Alzheimer.....	18
1.3.1 Fármacos multi-diana (MTL, multi-targeted ligands) .....	21
1.4 Núcleo indólico en Alzheimer .....	22
1.4.1 Antecedentes .....	22
1.4.2 Núcleo indólico y su actividad en AChE y TSER .....	24
2. HIPÓTESIS .....	27
2.1. Objetivo general.....	27
2.2. Objetivos específicos .....	27
3. MATERIALES Y REACTIVOS .....	28
3.1 Materiales .....	28
3.1.1 Solventes .....	28
3.1.2 Reactivos.....	29
4 RESULTADOS .....	30
4.1 Síntesis de los derivados indólicos.....	30
4.1.1 Ruta sintética para la obtención de derivados indólicos .....	31
4.1.1.1 Síntesis de Fischer para indoles.....	31
4.2 Metodología y resultados .....	33
4.2.1 Obtención de los derivados 3-(1H-3-indolil)-propanoles .....	33

4.2.2	Obtención de los derivados 3-(1H-3-Indolil)-propil-4 metilbencensulfonatos (II)	34
4.2.3	Obtención de los derivados intermediarios 4-(3-1-piperazinilpropil)-1-piperazinobenzamida (III)	36
4.2.4	Síntesis de los derivados 3-(3-{4-[3-(4-benzoilpiperazin-1-il) propil] piperazin-1-il} propil)-1H-indol	42
4.3	ENSAYOS FARMACOLÓGICOS	47
4.3.1	Fundamentos de los Ensayos de unión por competencia con radioligando. Medición de actividad enzimática y estudios de acoplamiento molecular inducido	47
4.3.1.1	Ensayos de afinidad por desplazamiento de radioligando	47
4.3.1.2	Conceptos básicos en estudios de afinidad	48
4.3.1.3	Ensayos de desplazamiento de un radioligando. Fundamento	50
4.4	Ensayos de inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE)	52
4.4.1	Metodología	52
4.5	ESTUDIOS DE ACOPLAMIENTO MOLECULAR INDUCIDO (DOCKING)	54
4.5.1	Metodología	54
4.5.3	Acoplamiento molecular inducido en TSER	54
4.5.2	Acoplamiento molecular inducido en AChE	55
4.6	RESULTADOS Y DISCUSIONES	57
4.6.1	Inhibición de acetilcolinesterasa (hAChE)	57
4.6.2	Estudios de modelamiento molecular inducido AChE	62
4.6.2.1	Calculos de Pka y posibles estados de protonación de nitrógenos básicos	63
4.6.2.2	Resultados del estudio docking para los compuestos más relevantes en la inhibición de hAChE	67
4.6.3	Estudio de Afinidad por el transportador de serotonina (TSER)	71
4.6.4	Estudios de modelamiento molecular inducido TSER	75
5.	CONCLUSIONES	80
6.	ANEXO: SÍNTESIS DE COMPUESTOS	84
7.	BIBLIOGRAFÍA	126

## Índice de figuras

Figura 1. Proceso de fragmentación de la proteína precursora de amiloide.....	5
Figura 2. Representación de la cascada amiloide para la formación de las placas A $\beta$ (fuente ..... <a href="https://infotiti.com/2018/08/beta-amiloide-alzheimer/">https://infotiti.com/2018/08/beta-amiloide-alzheimer/</a> ) .....	7
Figura 3. Formación de NFTs mediante fosforilación de la proteína tau. (Fuente ..... <a href="https://infotiti.com/2016/07/proteina-vinculada-al-alzheimer/">https://infotiti.com/2016/07/proteina-vinculada-al-alzheimer/</a> ) .....	8
Figura 4. Esquema representativo de la neurotransmisión colinérgica. Fuente: Adaptado del banco de imágenes del Lundbeck Institute, 2016. ....	9
Figura 5. Mecanismo de hidrólisis de ACh mediado por AChE. Fuente: “Acetylcholinesterase inhibitors as Alzheimer therapy: From nerve toxins to neuroprotection” .....	11
Figura 6. Estructura de AChE (PDB ID 4ey4). En la parte superior se aprecia la enzima en una vista frontal de la garganta catalítica, mientras que en la inferior se ha rotado la estructura 90°. En las figuras de la derecha se observan las diferentes zonas que ocupan los residuos en la garganta: Triada catalítica (azul), sitio de unión aniónico (gris), bolsillo de unión acilo (amarillo), bolsillo de unión oxianiónico (rojo) y sitio de unión aniónica periférico (verde). Fuente: C. Roca et al., “Identification of new allosteric sites and modulators of AChE through computational and experimental tools” .....	13
Figura 7. Estructura química de neurotransmisores implicados en procesos cognitivos, noradrenalina (A), serotonina (B) y dopamina (C) .....	15
Figura 8. A) Estructura de TSER vista de forma paralela a la membrana. Las moléculas de (S)-citalopram unidas en el sitio central y alostérico se muestran en representación de barras de colores verde y cian, respectivamente. Los iones de sodio se muestran como esferas de color salmón. (CHS) Hemisuccinato de colesterol y (NAG) N-acetilglucosamina. B) Vista superior de TSER desde el lado extracelular de la membrana.....	17
Figura 9. Estructura de los fármacos utilizados para el tratamiento de la EA en la actualidad. ....	19
Figura 10. Fármacos con actividad múltiple para la EA.....	22
Figura 11. Compuestos naturales bioactivos que presentan en su estructura el núcleo indólico .....	23
Figura 12. Derivados de sulfamida con base de núcleo indólico y su actividad en AChE ....	24
Figura 13. Derivados 2-(indol-2-il)-1,3,4-oxadiazoles sintetizados por Bingul et. al y su porcentaje de inhibición de AChE .....	25

Figura 14. Ligando bis-indolil imina más potente en la inhibición de AChE sintetizado por Saglam et. al.....	25
Figura 15. Derivados indólicos con actividad en AChE y TSER .....	26
Figura 16. Mecanismo de apertura para el 3,4-dihidropirano.....	32
Figura 17. Mecanismo propuesto para la síntesis de índoles de Fischer .....	32
Figura 19a. Espectro <sup>1</sup> H-RMN de campo alto del compuesto 3-(1H-3-Indolil)-propil-4-metilbencensulfonato .....	35
Figura 19b. Espectro <sup>1</sup> H-RMN de la zona de campo alto del compuesto 3-(1H-3-Indolil)-propil-4-metilbencensulfonato. ....	36
Figura 20. Espectro <sup>1</sup> H-RMN de la zona de campo alto del compuesto <i>tert</i> -butil 4-(3-cloropropil) piperazino-1-carboxilato.....	39
Figura 21. Espectro <sup>1</sup> H-RMN de la zona de campo alto y bajo del compuesto <i>tert</i> -butil 4-{3-[4-(2-metilbenzoil) piperazino-1-il] propil} piperazino-1-carboxilato (2b).....	41
Figura 22. Espectro <sup>1</sup> H-RMN de la zona aromática del compuesto final 18 .....	42
Figura 23. Espectro <sup>1</sup> H-RMN de zona aromática del compuesto final 10.....	44
Figura 24. Espectro <sup>1</sup> H-RMN de la zona alifática del compuesto final 10 .....	45
Figura 25. Espectro <sup>13</sup> C- RMN del derivado indólico 13 .....	46
Figura 26. Ecuación química en el equilibrio.....	48
Figura 27. Ecuación de la ley de acción de masas, para la cual KD es la constante de equilibrio del proceso de disociación.....	48
Figura 28: Proceso del estudio de afinidad por desplazamiento de radioligando. ....	49
Figura 29: Ecuación de Cheng y Prusoff donde IC <sub>50</sub> es la concentración del ligando no marcado que inhibe el 50% de la unión del radioligando, [RL] es la concentración del radioligando usado y KD es la afinidad del radioligando por el receptor. ....	51
Figura 30. Esquema de reacción para el método de Ellman en ensayos de inhibición de colinesterasas. ....	52
Figura 31. Modo de unión descrito para (S)-citalopram en el sitio de unión central del hTSER. En verde se representan las interacciones hidrofóbicas, en rojo las interacciones pi-cación y en rojo-azulado las interacciones por puente salino.....	55
Figura 32. Modo de unión descrito para (S)- Donepezilo en el sitio de unión central de hAChE. En verde se representan las interacciones hidrofóbicas, en rojo las interacciones pi-cación y en rojo-azulado las interacciones por puente salino. ....	56
Figura 33. Estructura general de los 25 derivados indólicos sintetizados .....	57



Figura 34. Comparación de actividad inhibitoria entre un derivado indólico no sustituido previamente reportado <sup>105</sup> (izquierda) y el compuesto final 3 (derecha).....	59
Figura 35. Comparación de actividad inhibitoria entre un derivado indólico C5 metoxilado previamente reportado <sup>23</sup> (izquierda) y el compuesto final 16. ....	60
Figura 36. Compuestos que presentan una mayor potencia inhibitoria sobre la enzima hAChE.....	61
Figura 37. Mejor pose e interacción en la enzima acetilcolinesterasa (PDB: 4EY7) para S- Donepezilo, Glide XP Score = -18.886. Se aprecian interacciones con los residuos Trp86, Tyr133.....	62
Figura 38. Valores de pKa calculados utilizando el programa Epik para los nitrógenos piperazínicos del compuesto 3.....	64
Figura 39. Valores de energía potencial total determinados mediante métodos semiempíricos para los posibles estados mono y diprotonados del compuesto 3.....	65
Figura 40. Valores de pKa calculados utilizando el programa Epik para los nitrógenos piperazínicos del compuesto 14.....	66
Figura 41. Mejor pose e interacción en la enzima acetilcolinesterasa (AChE) (PDB: 4EY7) para el compuesto 3 ( $R_1 = H$ , $R_2 = H$ , $IC_{50} = 10,62 \mu M$ ), Glide XP Score = -14.793. Se aprecian interacciones con los residuos Trp86, Tyr133 y Tyr341 sus respectivas distancias de enlaces en Å.....	67
Figura 42. Mejor pose e interacción en la enzima acetilcolinesterasa (PDB: 4EY7) para el compuesto 16 (Verde, $R_1 = OCH_3$ , $R_2 = 4 OCH_3$ , $IC_{50} = 10,12 \mu M$ ) Glide XP Score = -15.178, compuesto 19 ( $R_1 = F$ , $R_2 = 2CH_3$ , $IC_{50} = 5,8 \mu M$ ) (amarillo) y Donepezilo (rojo). Se aprecian interacciones con los residuos Thr83, Ser125, Asp131, Tyr449 y Glu452.....	68
Figura 43. Mejor pose e interacción en la enzima acetilcolinesterasa (PDB: 4EY7) para el compuesto 19 (Amarillo, $R_1 = F$ , $R_2 = 2CH_3$ , $IC_{50} = 5,8 \mu M$ ) Glide XP Score = -17.495 y donepezilo (rojo). Se aprecian interacciones con los residuos Glu452, Trp86, Glu202, Tyr 449 y Thr 436. ....	69
Figura 44. Mejor pose e interacción en la enzima acetilcolinesterasa (PDB: 4EY7) para el compuesto 14 (blanco, $R_1 = OCH_3$ , $R_2 = 2CH_3$ , $IC_{50} = 60.40 \mu M$ ) Glide XP Score = -7123, ligando 19 (amarillo 5.8 $\mu M$ ) y donepezilo (rojo). Se aprecian interacciones con los residuos Glu81, Glu84 y Thr 436. ....	70
Figura 45. Compuestos que presentan una mayor afinidad por el transportador de serotonina TSER.....	74
Figura 46. Vista superior del transportador, se aprecia la amplitud del poro y como dos S-citalopram están dentro de la cavidad.....	75

Figura 47. S-citalopram. Mejor pose e interacción en el transportador de serotonina (PDB: 5I73) para S-citalopram. Se aprecian interacciones con los residuos Try95, Tyr1176 y Asp98. ....	76
Figura 48. Mejor pose e interacción en TSER (PDB: 5I73) para el compuesto 9 (R <sub>1</sub> = Cl, R <sub>2</sub> =2-CH <sub>3</sub> , IC <sub>50</sub> = 1,12 µM) Glide XP Score = -12.464 y S-citalopram (verde). Se aprecian interacciones con los residuos Try95, Tyr176, Asp98, Asn 177 y Phe 335. ....	77
Figura 49. Mejor pose e interacción en hTSER (PDB: 5I73) para el compuesto 12 (R <sub>1</sub> = Cl, R <sub>2</sub> =4-F, IC <sub>50</sub> = 2,23 µM) Glide XP Score = -12.904 y S-citalopram (verde). Se aprecian interacciones con los residuos Asp98 y Asn 177. ....	78
Figura 50. Mejor pose e interacción en TSER (PDB: 5I73) para el ligando 23 (R <sub>1</sub> = Br, R <sub>2</sub> =H, IC <sub>50</sub> = 1,92 µM) Glide XP Score = -12.410 y S-citalopram (verde). Se aprecian interacciones con los residuos Asp98, Asn 177, Try95, Try176, Ser338 y Phe335 .....	79

## Índice de tablas

Tabla 1. Valores de inhibición AChE en µM para los derivados indólicos sintetizados.....	58
Tabla 2. Valores de afinidad de <i>hTSER</i> en µM para los derivados indólicos sintetizados....	72

## Índice de esquemas

Esquema 1. Esquema retrosintético para la formación de derivados indólicos. ....	30
Esquema 2. Esquema general de la síntesis de índoles de Fisher. ....	31
Esquema 3. Esquema general de la reacción de formación de derivados II .....	35
Esquema 4. Esquema general de síntesis convergente para los derivados 4-(3-1-piperazinilpropil)-1-piperazinobenzamida (III). ....	37
Esquema 5. Esquema general para la síntesis de los derivados 3-27 .....	42

## Abreviaciones

OMS	Organización mundial de la salud
EA	Enfermedad de Alzheimer
A $\beta$	$\beta$ -amiloide
NFTs	ovillos neurofibrilares
APP	proteína precursora de amiloide
ACh	acetilcolina
SNC	Sistema nervioso central
AChT	acetilcolintransferasa
CoA	acetil coenzima A
ChEs	Colinesterasas
AChE	acetilcolinesterasa
BuChE	butirilcolinesterasa
PAS	aniónico periférico
CAS	centro activo
5-HT	5-hidroxitriptamina
PET	tomografía por emisión de positrones
RMN	resonancia magnética nuclear
MMSE	MiniExamen del Estado Mental
LCR	Líquido céfalo raquídeo
ISRS	inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina

TSER	transportador de serotonina
MAO-A	monoaminoxidasa A
NMDA	N-metil-D-aspartato
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos
MTL	Ligandos multidiana
DMA	dimetilacetamida
DHP	3,4- dihidropirano
AcOEt	acetato de etilo
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	diclorometano
DMAP	4-dimetilaminopiridina
TEA	trietilamina
TFA	Ácido trifluoroacético
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Carbonato de potasio
THF	tetrahidrofurano
CH <sub>3</sub> CN	Acetonitrilo
CDCl <sub>3</sub>	Cloroformo deuterado
Boc	ter-butiloxicarbonilo
CH <sub>3</sub> OH	Metanol
KD	constante de equilibrio
Bmax	densidad de sitio de unión
RL	radioligando
Recep	receptor

RLRecep	Complejo radioligando receptor
ATC	acetilcolina
DTNB	Ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico
TNB	5-tio-2- nitrobenzoato
DMSO	dimetilsulfóxido
PB	buffer de fosfato
DPZ	donepezilo
N.D	No desplaza

## Resumen

La presente tesis doctoral titulada “SÍNTESIS, MODELACIÓN MOLECULAR Y EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA DE NUEVOS DERIVADOS INDÓLICOS COMO MODULADORES DUALES EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER” se enmarca en un tema tan importante como es la investigación de terapias eficaces para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. En este trabajo de investigación hemos sintetizado y evaluado una nueva serie de indolilpropil-piperazinilpropil-piperazinobenzamidas como una herramienta farmacológica enfocada a lograr un potencial efecto inhibitorio dual en la acetilcolinesterasa humana (hAChE) y transportador de serotonina humano (hTSER).

Los resultados *in vitro* muestran que más del 50% de los compuestos evaluados presentan buenos y moderados valores de inhibición de AChE. Entre los compuestos sintetizados, destacan los derivados 3 (R1= H, R2= 4-OCH3 IC<sub>50</sub>= 10,62 μM), 11 (R1= Cl, R2= 4-OMe IC<sub>50</sub>= 10,79 μM), 16 (R1= OCH3, R2= 4-OCH3 IC<sub>50</sub>= 10,12 μM) y 19 (R1= F, R2= 2-CH3 IC<sub>50</sub>= 5,80 μM), donde este último exhibe un perfil de inhibición en el mismo orden de magnitud que donepezilo (DPZ, IC<sub>50</sub> = 2,17 μM).

Los estudios de afinidad efectuados por desplazamiento de radioligandos, mostraron que esta familia exhibió un total de 9 compuestos activos para la unión a hTSER. Entre todos los derivados, los compuestos más relevantes en términos farmacológicos corresponden a: 9 (R1= Cl, R2= 2-CH3 IC<sub>50</sub> = 1,12 μM), 12 (R1= Cl, R2= 4F IC<sub>50</sub> = 2,33 μM) y 23 (R1= Br, R2= H IC<sub>50</sub> = 1,92 μM) con afinidades en el rango μM, en comparación con los estándares citalopram (3,0 nM) y fluoxetina (3,15 nM) cuyas afinidades se encuentran en el rango de nM. Para ambos blancos, estudios de modelamiento molecular inducido (*docking*) permitieron complementar, contrastar y discutir los resultados obtenidos.

## Summary

The present doctoral thesis entitled as “MULTITARGET LIGANDS, AN ALTERNATIVE STRATEGY FOR THE TREATMENT OF ALZHEIMER’S DISEASE” belongs to such an important area as the research into effective therapies to fight against the Alzheimer’s disease. In this research we have synthesized and evaluated a novel series of indolylpropyl-piperazinyl-propyl-benzamido piperazines as a pharmacological tool focused on achieving a potential dual inhibitory effect on human acetylcholinesterase (hAChE) and human serotonin transporter (hTSER).

*In vitro* results showed that over fifty percent of the synthesized compounds showed a significant activity against AChE. In the synthesized series the highest activities were observed in the compounds 3 (R1= H, R2= 4-OCH<sub>3</sub> IC<sub>50</sub>= 10,62 μM), number 11 (R1= Cl, R2= 4-OMe IC<sub>50</sub>= 10,79 μM), number 16 (R1= OCH<sub>3</sub>, R2= 4-OCH<sub>3</sub> IC<sub>50</sub>= 10,12 μM) and number 19 (R1= F, R2= 2-CH<sub>3</sub> IC<sub>50</sub>= 5,80 μM) which exhibited AChE inhibition profile in the same order of magnitude as donepezil (DPZ, IC<sub>50</sub> = 2,17 μM).

Radioligand binding tests on SERT carried out for molecules belonging to the family, showed that 9 compounds present affinity for hSERT. Among the new studied compounds, the highest activities were observed for compounds number 9 (R1= Cl, R2= 2-CH<sub>3</sub> IC<sub>50</sub> =1, 12 μM), number 12 (R1= Cl, R2= 4F IC<sub>50</sub> = 2,33 μM) and number 23 (R1= Br, R2= H IC<sub>50</sub> = 1,92 μM) displaying micromolar affinity in compared to nanomolar affinity showed to citalopram (3,0 nM) and fluoxetine (3,15 nM). The pharmacological results were supported and discussed using induced molecular coupling studies (*docking*).

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Enfermedad de Alzheimer

Las demencias, si bien exhiben múltiples etiologías, presentan en común la pérdida de las capacidades cognitivas interfiriendo en el funcionamiento social u ocupacional de una persona. Según el informe de la Organización Mundial de la Salud (OMS), sobre la situación mundial de esta patología, el número de personas que viven con demencia está creciendo: la OMS calcula que más de 55 millones de personas (el 8,1% de las mujeres y el 5,4% de los hombres mayores de 65 años) viven con demencia. Se calcula que esta cifra aumentará a 78 millones para 2030 y a 139 millones para 2050<sup>1</sup>.

La enfermedad de Alzheimer (EA) constituye la causa más común de demencia, entre el 60-70%, de los casos informados de la población mundial<sup>2</sup>. Se caracteriza principalmente por la pérdida de memoria, disminución de las habilidades lingüísticas, cambios en la personalidad y otros trastornos cognitivos<sup>4</sup>, este proceso es irreversible instalándose como una secuencia neurodegenerativa crónica y progresiva que inevitablemente culmina con la muerte de la persona que la padece. De acuerdo con las diferentes estimaciones, el porcentaje de personas con enfermedad de Alzheimer aumenta dramáticamente con la edad: el 3% de los pacientes se sitúa entre el rango de 65 a 74 años, el 17% de 75 a 84 años y el 32% de 85 años o más padecen la EA.

La enfermedad de Alzheimer empeora con el tiempo, es una enfermedad progresiva, en la que los síntomas de demencia aumentan gradualmente con el paso de los años. En sus primeras etapas, la pérdida de memoria es leve, pero en la etapa final de la EA, las personas pierden la capacidad de mantener una conversación y responder al entorno. Los pacientes con EA viven un promedio de ocho años después de que los síntomas se vuelven evidentes, pero la supervivencia puede oscilar entre 4 y 20 años, dependiendo de la edad y otras afecciones de salud. En la actualidad, la EA no tiene cura, pero hay tratamientos para los síntomas disponibles y se continúa investigando. Si bien los tratamientos actuales para la EA no pueden detener el avance de la enfermedad, pueden ralentizar por un tiempo el



empeoramiento de los síntomas y mejorar la calidad de vida de las personas y sus cuidadores. Actualmente existe una intensa investigación a nivel mundial para encontrar una solución real a esta patología, ya sea retrasando su inicio y/o evitando su desarrollo.<sup>5</sup>

## 1.2 Etiología de la enfermedad

La etiología de la enfermedad, es decir, el origen o la causa de la enfermedad, no se ha podido desvelar completamente poniendo en evidencia que se trata de una enfermedad compleja y multifactorial<sup>6</sup>.

Neuropatológicamente la EA está caracterizada por depósitos extracelulares del péptido  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ), llamados placas seniles o placas amiloides, depósitos intracelulares de la proteína tau hiperfosforilada (conocidos como ovillos neurofibrilares o NFTs), pérdida neuronal y pérdida sináptica. En los últimos años, diversas investigaciones han descrito una serie de diferentes mecanismos patológicos subyacentes a las causas de la EA que comprenden neuroinflamación, estrés oxidativo, la teoría del calcio, desregulación del metabolismo del hierro, reducción de la utilización de glucosa, señalización imperfecta de la insulina, homeostasis anormal del colesterol y disfunción mitocondrial<sup>7</sup>. Estas evidencias han llevado a los científicos a establecer hipótesis que se correlacionen con los hechos observados. Las de mayor importancia y aceptación son la hipótesis de la cascada amiloide, la de la proteína tau y la hipótesis colinérgica.

### 1.2.1 Hipótesis de la cascada amiloide

El carácter patogénico del péptido  $A\beta$  ha dado origen a la llamada hipótesis amiloide. Esta establece que la formación y deposición de pequeños péptidos de  $A\beta$  genera fibras amiloides largas e insolubles, que se acumulan como placas seniles en regiones críticas del cerebro, llevando al desarrollo y progreso de la EA, la cual eventualmente conduce a discapacidades crecientes y finalmente a la muerte.

Los péptidos  $A\beta$  patogénicos, junto con otros péptidos no patogénicos, son originados por la actividad proteolítica de la proteína precursora amiloide (APP), una proteína normal de

las membranas celulares. La actividad de distintas secretasas ( $\alpha$ ,  $\beta$  o  $\gamma$  secretasa) escinde la APP, produciendo diferentes péptidos dependiendo de dos rutas: la ruta  $\alpha$  (o no amiloidogénica) la cual deriva en la formación de APP soluble ( $sAPP\alpha$ ), y la ruta de la  $\beta$  secretasa (o amiloidogénica), mediada por la acción secuencial de  $\beta$ -secretasa (BACE-1) y  $\gamma$  secretasa, resultando en la formación de péptidos  $A\beta$ . La primera en llevar a cabo la función de endoproteasa en la APP es la  $\beta$ -secretasa que libera un derivado largo que luego es secretado ( $sAPP\beta$ ). Un fragmento de 99 aminoácidos (CTF $\beta$ ) queda anclado a la membrana, el cual es cortado inmediatamente por  $\gamma$ -secretasa generando el péptido  $A\beta$ . El corte producido por  $\gamma$  secretasa es impreciso y ocasiona una heterogeneidad en el extremo C-terminal de los péptidos resultantes. Es por esta razón que existen distintos péptidos  $A\beta$  que difiere solo en su longitud (entre 39-43 aminoácidos). Las especies dominantes son  $A\beta$ 1-40, constituyendo 80-90% de los péptidos  $A\beta$ , y  $A\beta$ 1-42, el cual en condiciones normales constituye entre 5-10% (Figura 1). Ese pequeño alargamiento (Ile-Ala) del tramo de residuos hidrofóbicos en la región C-terminal en  $A\beta$ 1-42, aumenta drásticamente su tendencia de agregación, convirtiéndolo en un péptido altamente tóxico<sup>8</sup>.

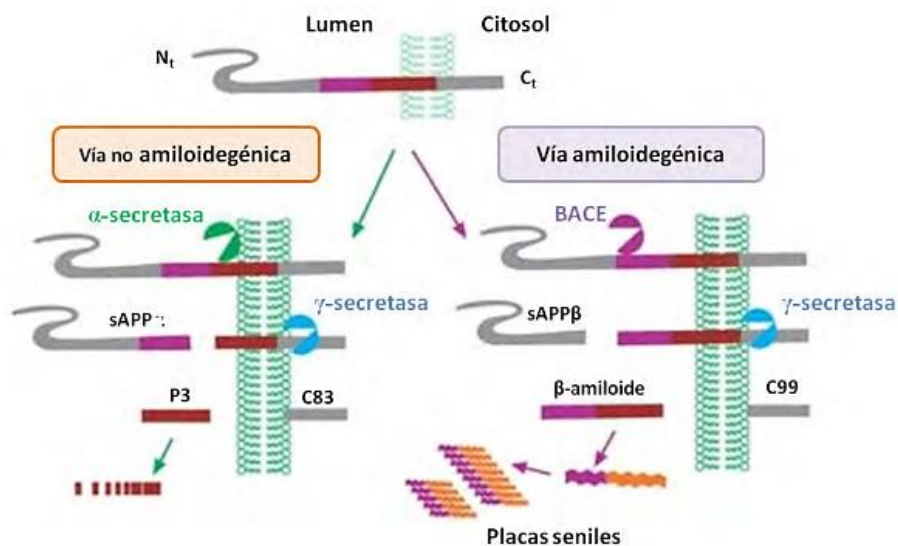


Figura 1. Proceso de fragmentación de la proteína precursora de amiloide

Debido a su rol esencial en la generación del péptido A $\beta$ , las enzimas  $\beta$ - y  $\gamma$ -secretasas han sido consideradas como posibles blancos terapéuticos para el desarrollo de fármacos contra la EA<sup>9</sup>. Diversos factores, genéticos y ambientales, hacen que la proporción de las especies de péptidos A $\beta$  varíe, desencadenando la acumulación de oligómeros y polímeros A $\beta$ 1-42 de mayor toxicidad y activando una cascada de enzimas responsables del estrés oxidativo y de la regulación de los niveles de Ca<sup>2+</sup> en las células. Consecuentemente se produce la formación de radicales libres, respuesta inflamatoria, un aumento en la fosforilación de la proteína tau y depósito de ovillos neurofibrilares (NFTs), concluyendo finalmente con la muerte neuronal. Se ha comprobado que la expresión y actividad de la enzima  $\beta$ -secretasa incrementa con el aumento de la edad, contribuyendo a una mayor incidencia de demencia en ancianos <sup>10-11</sup>, Figura 2.

Sin embargo, algunos investigadores sostienen que la hipótesis de la cascada amiloide no engloba todos los componentes cruciales de los procesos fisiopatológicos de la enfermedad. Un argumento común es que la patología de la placa y su diseminación no siempre se correlacionan con los hallazgos clínicos en la EA. Las placas amiloides cerebrales pueden existir en individuos sanos, sin deterioro cognitivo asociado. Hasta el 30% de los individuos sanos con edad aproximada de 70 años, exhiben placas amiloides sin disfunción cognitiva<sup>12</sup>.

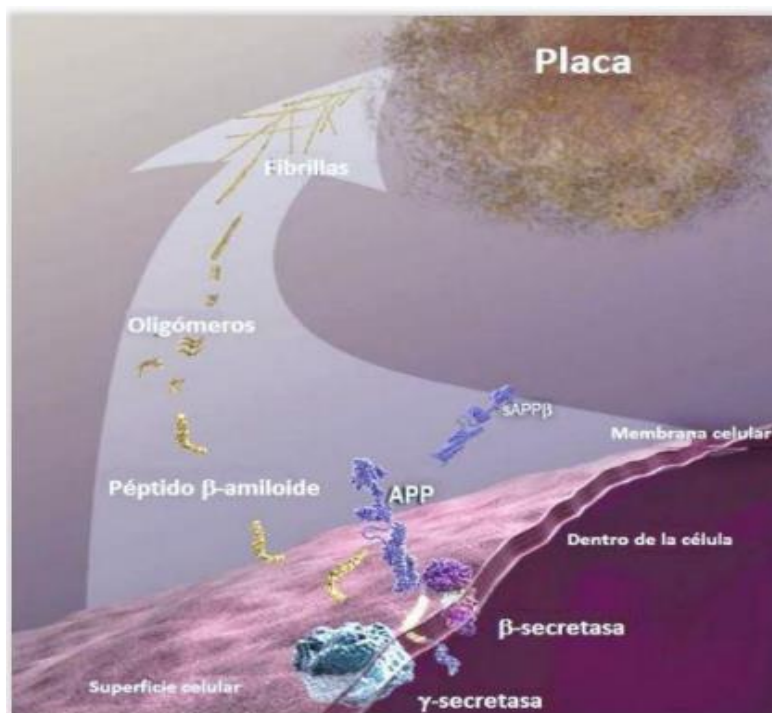


Figura 2. Representación de la cascada amiloide para la formación de las placas A $\beta$  (fuente <https://infotiti.com/2018/08/beta-amiloide-alzheimer/>)

### 1.2.2 Hipótesis alteraciones de la proteína tau

Estos hechos han llevado a considerar una segunda hipótesis relacionada con la causa de la enfermedad de Alzheimer que tiene que ver con alteraciones de la proteína tau. Los ovillos neurofibrilares (NFTs), el otro agregado de proteína distintivo en la EA, están compuestos de proteína tau hiperfosforilada. En condiciones normales, tau promueve la estabilización de los microtúbulos; Durante la EA, la fosforilación de la proteína tau se ve aumentada regulando negativamente su unión a los microtúbulos, afectando el transporte axonal e incrementando la capacidad de tau de autoensamblarse y formar agregados, conduciendo a su deposición como NFTs (Figura 3). La tau también es un requisito para el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer, pero las mutaciones en el gen tau causan demencia frontotemporal sin placas amiloides, es decir, la tau puede actuar independientemente de A $\beta$  para causar neurodegeneración. Aunque en la hipótesis amiloide, se pensaba que las alteraciones patológicas de la tau eran eventos posteriores a la deposición de A $\beta$ , llevando a la pérdida neuronal y a un mayor compromiso de la función neurotransmisora, es

igualmente plausible que la proteína tau y  $A\beta$  actuen en vías paralelas causando la EA y aumentando los efectos tóxicos de cada uno<sup>9, 13</sup>.

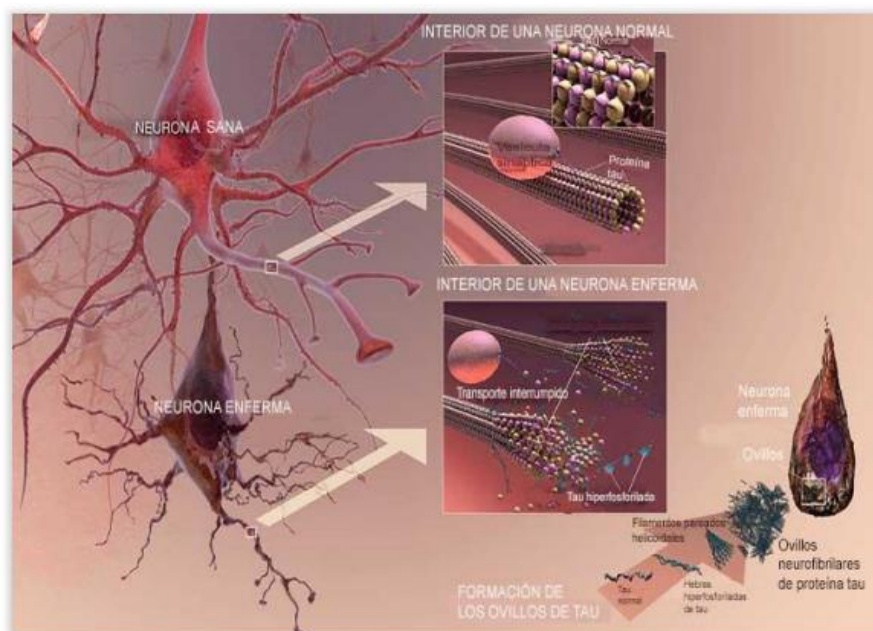


Figura 3. Formación de NFTs mediante fosforilación de la proteína tau. (Fuente <https://infotiti.com/2016/07/proteina-vinculada-al-alzheimer/>)

### 1.2.3 Hipótesis colinérgica

Además de la formación de agregados proteicos, en la EA existen alteraciones en la neurotransmisión, en especial en el sistema colinérgico. El sistema colinérgico es uno de los sistemas moduladores más importantes de la transmisión neuronal, regulando funciones cognitivas como la memoria, el aprendizaje, el desarrollo y diferenciación neuronal y otras no colinérgicas como la estimulación de la formación de placas neuríticas o amiloides<sup>14</sup>. Los síntomas de la EA están relacionados con la alteración de la neurotransmisión y la degeneración de los circuitos neuronales de las zonas afectadas del cerebro, como son el hipocampo y la corteza entorrinal. Estos daños se relacionan con la disminución del neurotransmisor acetilcolina (ACh del SNC) a nivel central<sup>15</sup>. También se han hallado alteraciones en otros sistemas de neurotransmisores, como los regulados por glutamato<sup>16</sup>, dopamina<sup>17</sup> y serotonina<sup>18</sup>.

La ACh es sintetizada a partir de colina y acetil coenzima A (CoA) por acción de la enzima acetilcolintransferasa (AChT), posteriormente por acción de un impulso nervioso, el neurotransmisor es liberado de la neurona al espacio sináptico donde será reconocido por los receptores nicotínicos y muscarínicos, responsables de transmitir la señal hacia el interior de la célula.

Finalmente, la ACh es hidrolizada por las enzimas acetilcolinesterasa (AChE) o butirilcolinesterasa (BuChE) en acetil o butiril CoA y colina, que será transportada de nuevo a la neurona pre-sináptica<sup>19</sup> (figura 4).

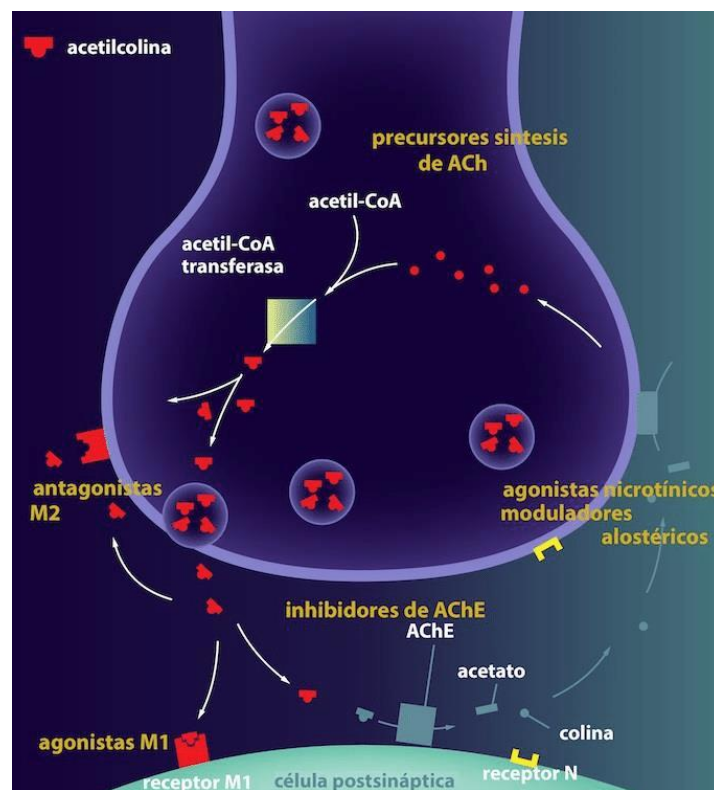


Figura 4. Esquema representativo de la neurotransmisión colinérgica. Fuente: Adaptado del banco de imágenes del Lundbeck Institute, 2016.

AChE y BuChE son enzimas homólogas que guardan aproximadamente un 50% de identidad en su secuencia de aminoácidos y que son codificadas por diferentes genes en los cromosomas humanos 9 y 3 respectivamente. La enzima AChE se encuentra en el espacio sináptico donde hidroliza la ACh, mientras que BuChE está asociado a las células gliales y se

va a encargarse de compensar la hidrólisis para así mantener una función cerebral eficiente<sup>14,20</sup>.

Además de su papel en la transmisión del impulso nervioso, la AChE desempeña otras funciones no colinérgicas, incluido un importante rol en el procesamiento del A $\beta$ . Varios estudios han indicado que la AChE aumenta la formación de fibrillas A $\beta$  *in vitro*<sup>21</sup> y de placas amiloides en la corteza cerebral de modelos de ratones transgénicos de la EA<sup>22</sup>. Estos efectos parecen estar mediados por interacciones entre el A $\beta$  y el sitio aniónico periférico (PAS) de la enzima, apoyado por el hecho de que el propidio, un inhibidor de AChE no-competitivo que se une puramente a PAS, disminuye significativamente la agregación del A $\beta$  inducida por AChE<sup>23</sup>. Sin embargo, el edrofonio, un inhibidor competitivo puro, se une al centro activo (CAS), no muestra ningún efecto sobre la fibrillogénesis de A $\beta$  inducida por AChE<sup>24</sup>. Por lo tanto, parece existir una estrecha relación entre la actividad catalítica de la AChE y la precipitación del péptido A $\beta$ .

#### *1.2.3.1 Colinesterasas y su relación con la Enfermedad de Alzheimer*

La acetilcolinesterasa (AChE), es una enzima que pertenece a la superfamilia de las  $\alpha/\beta$  hidrolasas, cuya función es la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina (ACh) en acetil-CoA y colina<sup>25, 26</sup>. La AChE es una serina hidrolasa, en la que el sitio activo de la enzima está compuesta por una triada de residuos (serina, histidina y ácido glutámico) conocida como triada catalítica, que se encarga de hidrolizar la ACh (figura 5). El proceso de hidrólisis toma lugar según las siguientes reacciones: La naturaleza electrofílica del grupo carboxilato del ácido glutámico se exalta a través de la quelación de puentes de hidrógeno de los N-H amídicos presentes en los residuos de Glicina 118-119. Por otra parte, las propiedades básicas del anillo de imidazol de la histidina activan al grupo hidroxilo de la serina por desprotonación, permitiendo un ataque nucleofílico y posterior sustitución con desplazamiento del grupo de colina del sustrato, formando un intermediario de acetil-AChE. El siguiente paso de hidrólisis libera el grupo acetato recuperando el enzima su estado inicial.

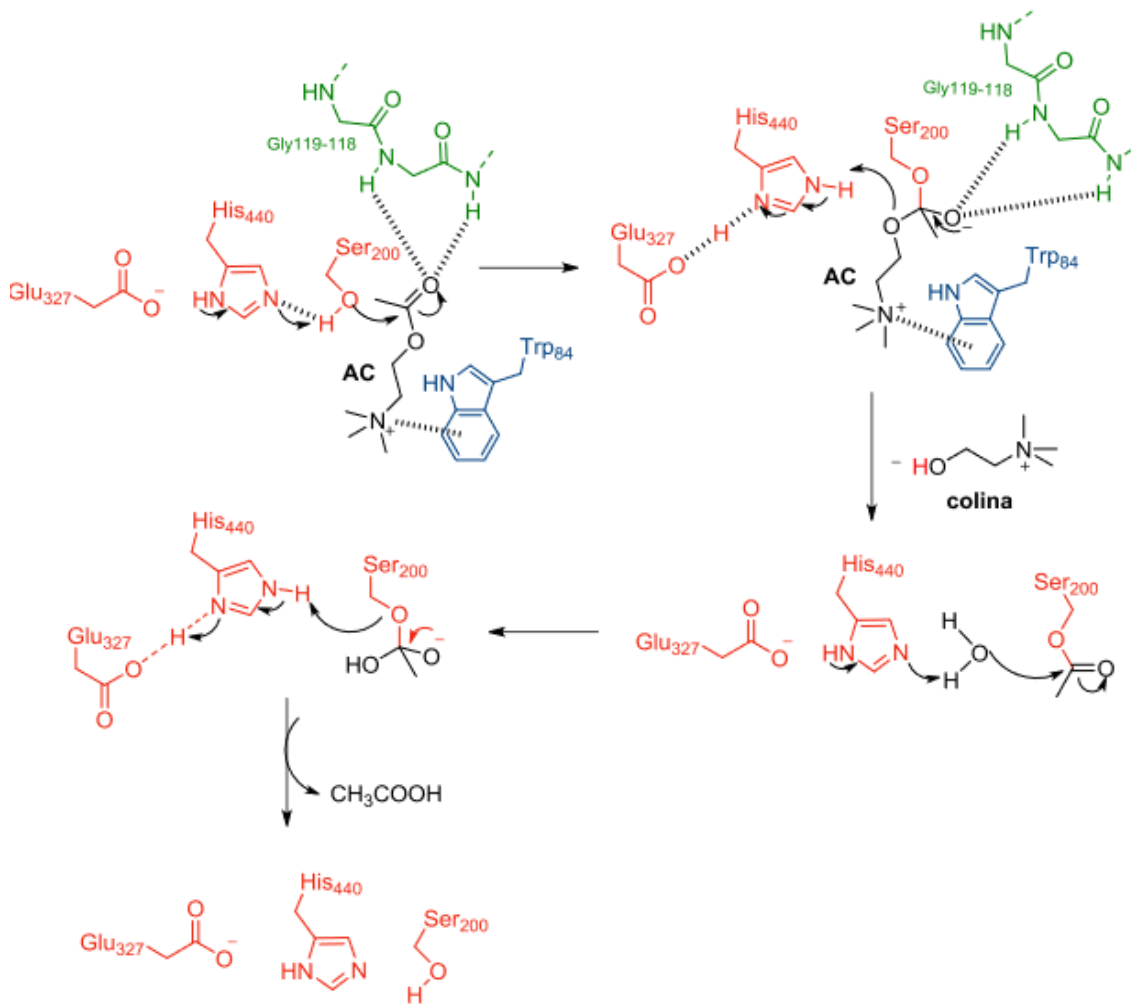


Figura 5. Mecanismo de hidrólisis de ACh mediado por AChE. Fuente: “Acetylcholinesterase inhibitors as Alzheimer therapy: From nerve toxins to neuroprotection”

Este mecanismo de acción de la enzima posee una tasa de conversión extremadamente rápida, teniendo en cuenta que el sustrato tiene que reconocer y atravesar una distancia relativamente larga hasta el sitio activo del enzima. Algunas teorías relacionan este fenómeno con el potente campo eléctrico que posee la AChE y que podría atraer fuertemente el sustrato catiónico, repeliendo el producto formado aniónico. Otra de las posibles razones de la gran velocidad de hidrólisis de AChE es la existencia de las conocidas “puertas de salida”. Estas regiones de la hAChE son rutas alternativas de la garganta catalítica para el despeje de los productos de la hidrólisis de ACh. Estudios experimentales de cristalografía de rayos-X y teóricos de modelado molecular sugieren tres posibles regiones de hAChE implicadas en la eliminación de los productos resultantes de la hidrólisis



de ACh, conocidos como “puerta trasera” (back door), “puerta lateral” (side door) y “puerta del loop acilo” (acyl loop door)<sup>27.28</sup>.

La primera estructura cristalográfica de esta enzima resuelta fue obtenida de Torpedo californica (TcAChE) en 1991<sup>29</sup>. La enzima está formada por 614 residuos, con una garganta característica de unos 20 Å de largo, que contiene diferentes regiones de unión a los ligandos además del sitio activo (Figura 6). El sitio activo (CAS) consiste en la tríada catalítica, compuesta por los residuos Ser203, His447 y Glu334 situada en el fondo de la garganta. Un sitio de unión aniónico cerca del residuo Trp86, también en el fondo de la garganta, proporciona contactos clave en la unión del resto cargado positivamente de la ACh, mientras que el bolsillo de unión acilo (Phe295, Phe297 y Trp236) estabiliza el grupo acetilo de la misma. Es importante destacar que el bolsillo de unión oxianiónico (Gly121, Gly122 y Ala204) proporciona una estabilización de los estados de transición de acilación y desacilación mediante la estabilización de la acumulación de carga negativa en el oxígeno del carbonilo. Estos cuatro sitios son fundamentales para la catálisis enzimática, ya que la proteína debe atraer y orientar rápidamente el sustrato, romper los enlaces requeridos y eliminar los productos del sitio activo actuando a gran velocidad. Por último, el sitio de unión aniónico periférico, denominado PAS, está formado por los residuos Tyr72, Asp74, Tyr124, Glu285, Trp286 y Tyr341, se ubica justo dentro de la entrada de la garganta, donde atrapa y orienta adecuadamente el sustrato<sup>30</sup>. El PAS es un sitio de unión alostérico de AChE, pudiendo la unión de ligandos ocasionar el bloqueo de la entrada a la garganta<sup>30</sup>

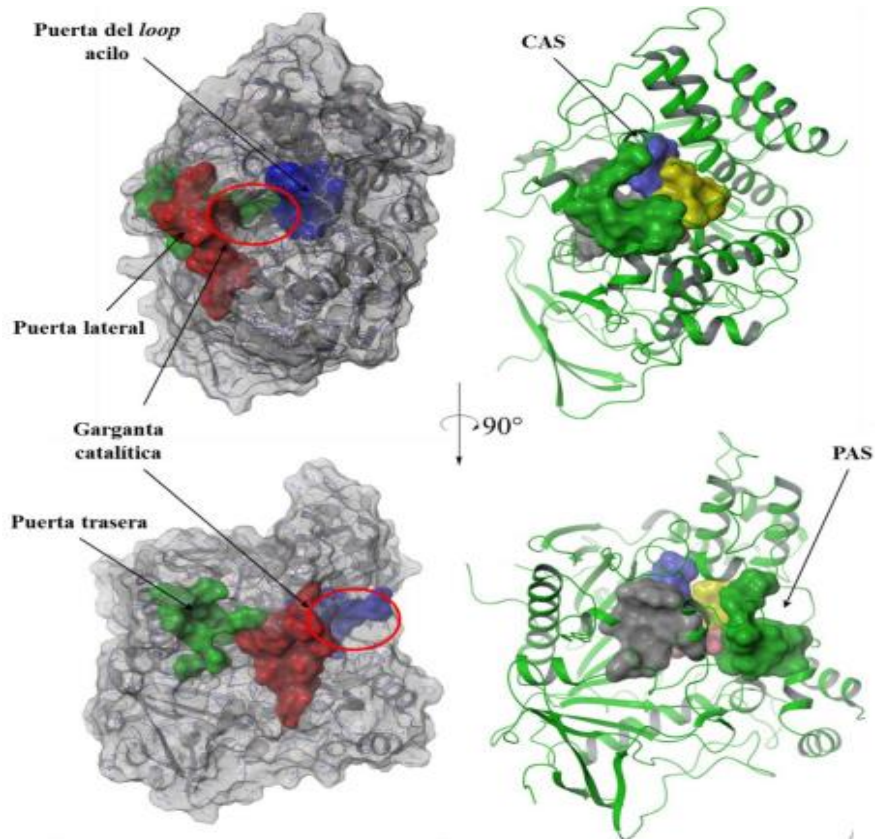


Figura 6. Estructura de AChE (PDB ID 4ey4). En la parte superior se aprecia la enzima en una vista frontal de la garganta catalítica, mientras que en la inferior se ha rotado la estructura 90°. En las figuras de la derecha se observan las diferentes zonas que ocupan los residuos en la garganta: Triada catalítica (azul), sitio de unión aniónico (gris), bolsillo de unión acilo (amarillo), bolsillo de unión oxianiónico (rojo) y sitio de unión aniónica periférico (verde). Fuente: C. Roca et al., “Identification of new allosteric sites and modulators of AChE through computational and experimental tools”

Según la hipótesis colinérgica, durante la EA, los niveles de ACh se reducen drásticamente debido a la muerte neuronal, por lo tanto, la inhibición de la AChE conducirá a un aumento de los niveles del neurotransmisor en la neurona colinérgica, lográndose una mejora cognitiva disminuyendo en parte la sintomatología clínica, pero solo como un tratamiento paliativo, no terminando con esta enfermedad<sup>31</sup>.

Por otro lado, la enzima BuChE también capaz de hidrolizar el neurotransmisor acetilcolina. Mientras que AChE se encuentra asociada principalmente a neuronas y axones, BuChE es expresada y secretada por células gliales en el cerebro. En un cerebro sano, AChE y BuChE se encuentran en una proporción 4:1. Sin embargo, en cerebros de pacientes con la EA la actividad de AChE puede disminuir hasta un 45% durante el progreso de la enfermedad,

reflejando la desaparición de neuronas y axones a las cuales se encuentra asociada, mientras que la actividad de BuChE puede hasta duplicarse. Se ha demostrado también, que niveles en crecimiento de BuChE se correlacionan con el depósito de placas amiloides y NFTs. Ambas enzimas, AChE y BuChE, interactúan con las fibrillas cerebrales de los péptidos A $\beta$ . Sin embargo, BuChE no produce un efecto observable en la formación de las placas seniles y esto se debe, a que BuChE carece de tres de los aminoácidos aromáticos presentes en el PAS de AChE (Tyr70, Tyr121, Trp279). Por lo tanto, el PAS de BuChE, que media la activación del sustrato, tiene una afinidad más débil que el PAS en AChE<sup>32</sup>.

#### 1.2.4 Hipótesis Serotoninérgica

Tradicionalmente, el papel principal en la patología de EA se asignó a la degeneración y muerte de las neuronas ACh y una disminución general de la actividad de la colina acetiltransferasa (enzima responsable de la síntesis de ACh) <sup>33, 34,35</sup>. Sin embargo otros sistemas de neurotransmisores, como noradrenalina, dopamina y serotonina<sup>36, 37, 38, 39,40</sup> se hallan también presentes en los procesos cognitivos, generando hipótesis complementarias para el tratamiento de la EA<sup>33, 41</sup>. La serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), figura 7, juega un papel reconocido en la cognición, incluida la memoria a corto y largo plazo. Los núcleos del rafe, que contienen la mayoría de las neuronas 5-HT, dan lugar a proyecciones serotoninérgicas que están ampliamente distribuidas en todo el cerebro, especialmente en áreas críticas para la función cognitiva funciones tales como tabique, corteza frontal, corteza temporal y la formación del hipocampo<sup>42,43</sup>.

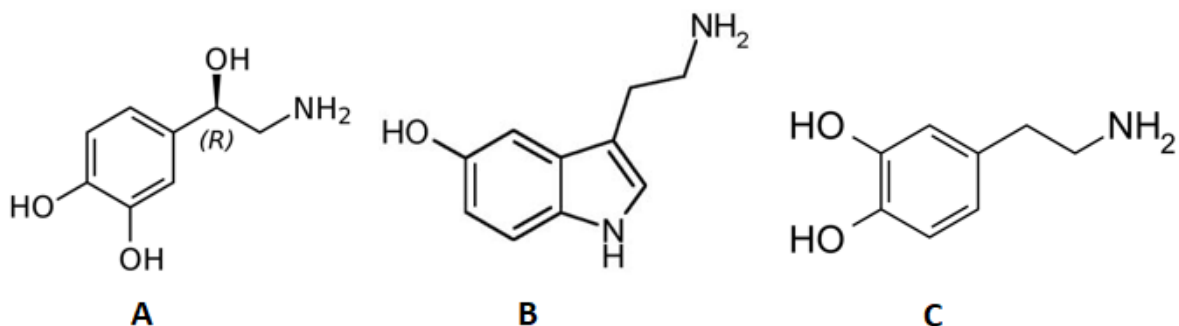


Figura 7. Estructura química de neurotransmisores implicados en procesos cognitivos, noradrenalina (A), serotonina (B) y dopamina (C)

Los pacientes con patología tipo EA muestran disminuciones a nivel central y neurotransmisiones periféricas de 5-HT, como lo revela la reducción de concentraciones de este neurotransmisor en el líquido cefalorraquídeo<sup>44, 45</sup> y plaquetas<sup>46</sup>. Los estudios de tomografía por emisión de positrones (PET) y resonancia magnética nuclear (RMN) han corroborado aún más una disminución relacionada con la EA de los receptores de 5-HT en el SNC<sup>47, 48</sup>. Por otro lado, el examen post-mortem de cerebros con EA revelaron disminuciones en los niveles extracelulares de 5-HT y su metabolito (ácido 5-hidroxiindolacético, 5-HIAA) así como disminución en la expresión de los receptores de 5-HT en varias regiones del cerebro incluyendo la neocorteza y el hipocampo<sup>49-51</sup>. Además, el deterioro de la neurotransmisión 5-HT en la EA es consistente con una pérdida de neuronas 5-HT en los núcleos del rafe y pérdida asociada de proyecciones corticales de 5-HT<sup>52</sup>.

Los déficits relacionados con la EA en la neurotransmisión 5-HT están asociados con declive cognitivo acelerado, según lo determinado por la puntuación del MiniExamen del Estado Mental (MMSE)<sup>39</sup> y con síntomas conductuales, incluida la psicosis<sup>37</sup>, así como con la gravedad de la demencia. Puede, por tanto, ser responsable de las anomalías cognitivas y no cognitivas asociado con EA.

El Tratamiento con inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) aumenta la concentración de 5-HT en el LCR y mejora la capacidad cognitiva y memoria en pacientes con demencia de tipo EA<sup>53, 54, 55</sup>. Los fármacos que actúan sobre receptores 5-HT específicos también han sido sugeridos como agentes terapéuticos para incrementar la capacidad cognitiva en la EA<sup>56</sup>.

#### 1.2.4.1 Transportador de serotonina (TSER)

Una significativa disminución del sitio de unión del transportador de serotonina (TSER) fue observada en la corteza temporal, la corteza frontal y el hipocampo en pacientes con inicio temprano de la enfermedad de Alzheimer (50-60 años). Los estudios de imágenes han confirmado la reducción en la unión de TSER en las primeras etapas de la enfermedad, sin embargo, la reducción en la densidad de TSER no parece estar correlacionada con algunos síntomas característicos de esta enfermedad, pero algunos estudios han relacionado el polimorfismo de TSER con trastornos del comportamiento incluidos la agresión y psicosis<sup>18</sup>.

En el SNC, el transportador de serotonina (TSER) es una proteína situada en la membrana de la neurona presináptica y cuya función es recaptar la serotonina remanente en el espacio sináptico para volver a incluirlo, mediante un proceso  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$  dependiente al citosol de la neurona presináptica con el fin de ser nuevamente almacenado en vesículas para su reutilización o simplemente ser degradado por la enzima monoaminooxidasa A (MAO-A).

Este transportador (humano) fue co-cristalizado junto a los ligandos (S)-citalopram y paroxetina para poder dilucidar su estructura<sup>56</sup> mediante rayos-X el año 2016. Dicha cristalización se consiguió gracias a mutaciones puntuales en la secuencia de aminoácidos dirigidas a estabilizar la estructura termosensible.

La estructura de TSER humano tiene 12 hélices transmembrana y cuando se une a (S)-citalopram o paroxetina exhibe una conformación abierta hacia el exterior con el fármaco antidepressivo unido al sitio central, a la mitad de la membrana y acunado en una cavidad formada por residuos de TM1, TM3, TM6, TM8 y TM10 (Figura 8). También se encontró una segunda molécula de (S)-citalopram en el sitio alostérico, dentro del vestíbulo extracelular del (S)-citalopram ubicado a aproximadamente 13Å del sitio central.

Los análisis realizados a la estructura cristalizada con (S)-citalopram y paroxetina, conducen a que el sitio central mostraría 3 subsitios (A, B, C) dentro de esta cavidad, los cuales presentan determinados grupos de aminoácidos que generarían las distintas interacciones fisicoquímicas que estabilizarían la unión de estos ligandos dentro de dicha cavidad.

Los grupos amino de (S)-citalopram y paroxetina ocupan el subsitio A e interactúan con el carboxilato del Asp98 a una distancia de 4.1 y 3.1 Å, lo que explicaría, en parte, el hecho de que la paroxetina tiene una mayor afinidad por TSER en comparación con (S)-citalopram. Tyr95 se localiza 4.2 y 5.3 Å debajo de los grupos amino de (S)-citalopram y paroxetina, formando una interacción catión- $\pi$  crucial para la potencia mostrada por citalopram y mazindol.

Tyr95 también puede formar un enlace de hidrógeno con el oxígeno del (S)-citalopram. Ser336 se asocia en una red de interacción con ligandos e iones al participar en la coordinación  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$ , iones que son esenciales para la unión del ligando y transporte de sustrato.

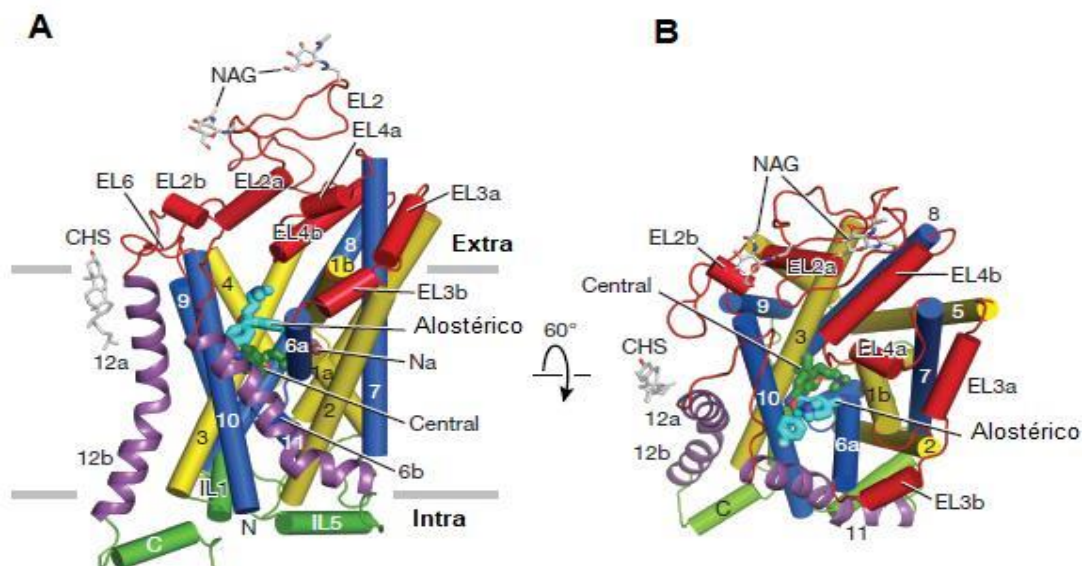


Figura 8. A) Estructura de TSER vista de forma paralela a la membrana. Las moléculas de (S)-citalopram unidas en el sitio central y alostérico se muestran en representación de barras de colores verde y cian, respectivamente. Los iones de sodio se muestran como esferas de color salmón. (CHS) Hemisuccinato de colesterol y (NAG) N-acetilglucosamina. B) Vista superior de TSER desde el lado extracelular de la membrana.

El subsitio B es particularmente importante para los antidepresivos con alta afinidad. Tyr176 participa en interacciones hidrofóbicas con los grupos fluorofenil y benzodioxol de (S)-citalopram y paroxetina respectivamente. Ile172 y Phe341 definen una cavidad apolar que envuelve los grupos hidrofóbicos de estas drogas. Phe341 forma una interacción aromática

con la 'cara' del cianoftalano del (S)- citalopram y con el 'borde' del grupo fluorofenil de paroxetina. Ser439, Leu443, Ala169 y Ala173 definen una cavidad hidrofóbica, en la que se insertan los grupos fluorofenil y benzodioxol de (S)-citalopram y paroxetina. El grupo fluorofenil del (S)- citalopram se ubica 1.5 Å más profundo en este espacio en comparación con el benzodioxol de paroxetina.

En el subsitio C, el grupo fluorofenil de la paroxetina se apila de forma paralela al anillo de Phe335. Por el contrario, para (S)-citalopram, el cianoftalano forma una interacción aromática directa. Val501 y Thr497 forman un sector que presenta una superficie de características polar / apolar en la que se insertan los grupos fluorofenil y cianoftalano de paroxetina y (S)-citalopram.

### 1.3 Tratamiento actual de la enfermedad de Alzheimer.

Aspectos intrínsecos asociados a diversos biomarcadores y extrínsecos como el nivel de desarrollo socioeconómico, la educación, las comorbilidades y los hábitos de vida ponen en evidencia la dimensión multifactorial de la enfermedad de Alzheimer, lo cual ha dificultado el hallazgo de una cura. Los tratamientos farmacológicos presentes en la actualidad solo logran atenuar la progresión de la enfermedad o disminuir el impacto de la sintomatología exhibiendo algunos efectos adversos sobre el paciente <sup>57</sup>. Las opciones terapéuticas para el tratamiento de la EA, figura 9, han estado limitadas a tres inhibidores de la AChE y/o BuChE: donepezilo, rivastigmina y galantamina<sup>58</sup>, ya que la tacrina se retiró del mercado dada su hepatotoxicidad. Estos fármacos son empleados en las etapas leve o moderada de la enfermedad y actúan inhibiendo la actividad de la enzima AChE, excepto rivastigmina que también inhibe la enzima BuChE<sup>59, 60,61</sup>.

Todos ellos son administrados en cápsulas y comparten efectos secundarios colinérgicos comunes, entre los que se encuentran náuseas, vómitos, diarreas, pérdida de apetito y debilidad muscular, pero se ha observado que los pacientes tienden a desarrollar tolerancia a estos síntomas gastrointestinales.

En algunos ensayos comparativos, rivastigmina ha mostrado tener mayor potencia inhibitoria de AChE que donepezilo y además, tras la aprobación en 2007 de los parches de

rivastigmina, se han realizado estudios que muestran un perfil de seguridad y tolerabilidad mejor que en el tratamiento oral, sin diferencias en los niveles de concentración del fármaco en plasma<sup>62-63</sup>.

Otro fármaco aprobado para el tratamiento de la EA es el antagonista acompetitivo del receptor NMDA (N-metil-D-aspartato) memantina (ebixa®, 2003)<sup>64</sup>. Éste actúa sobre el receptor de glutamato bloqueando la persistente activación de NMDA para estabilizar el flujo de iones de calcio y reducir la excitotoxicidad. Su utilización está indicada para las fases de moderada a severa de EA donde se ha visto que mejora las capacidades cognitivas y las actividades de la vida diaria, se ralentiza el declive funcional y disminuye el empeoramiento del estado de ánimo y del comportamiento<sup>62</sup>

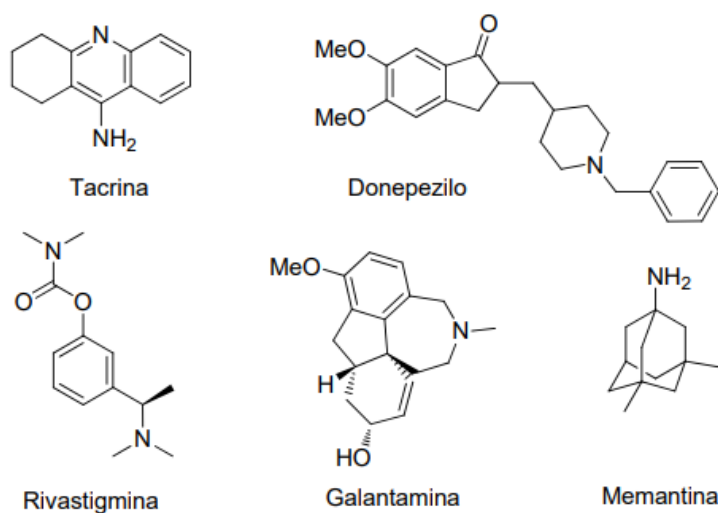


Figura 9. Estructura de los fármacos utilizados para el tratamiento de la EA en la actualidad.

A pesar de los numerosos esfuerzos y recursos invertidos en el desarrollo de drogas durante las últimas tres décadas, no ha sido posible encontrar tratamientos efectivos, que permitan curar la enfermedad. No obstante, frente a esta carencia terapéutica de sanamiento, se decidió incorporar hace aproximadamente un año, el fármaco Aducamunab, a pesar de no cumplir con las exigencias clínicas.



**Aducanumab** (bajo la marca comercial Aduhelm) del laboratorio Biogen, es el fármaco más reciente aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA), después de un vacío de casi dos décadas en el avance de nuevos fármacos<sup>65</sup>. El medicamento es un anticuerpo que tiene como objetivo terapéutico la eliminación de los depósitos de beta amiloide.

En el año 2019 fue suspendido el estudio, pese a que el fármaco cumplió el objetivo de reducir los niveles de A $\beta$ , éste no ralentizaba ni detenía el deterioro cognitivo y provocaba efectos secundarios adversos en los pacientes, tales como inflamación severa y hemorragia cerebral<sup>65</sup>; además el estudio se realizó en pacientes con deterioro cognitivo leve. No obstante, el medicamento fue aprobado en junio de 2021 basado en un “criterio de valoración sustituto”<sup>66</sup>; sin embargo, la compañía farmacéutica tiene 9 años para completar los ensayos clínicos necesarios para ratificar los beneficios del fármaco.

Esta decisión tomada el pasado 7 de junio de 2021 por la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA) de Estados Unidos de aprobar aceleradamente el medicamento aducanumab (Aduhelm), ha sido una de las más polémicas de este organismo. Se trata del primer fármaco en 18 años que se aprueba para el tratamiento temprano de esta demencia asociada a la edad. Sin embargo, como ya se ha mencionado Aduhelm no ha demostrado, por ahora, eficacia clínica. La directora del Centro de Evaluación e Investigación de medicamentos de la FDA, la doctora Patrizia Cavazzoni, explicó que habían decidido usar la aprobación acelerada porque hay una “expectativa” de beneficio clínico, la cual aún no ha sido demostrada, debilidad que se une al altísimo precio de este fármaco (>50.000 euros por año). Se espera que los resultados del ensayo clínico de fase 4 para Aducanumab, estén disponibles a principios de 2030, por tanto, continúa existiendo una gran demanda y urgencia por nuevas alternativas terapéuticas<sup>67</sup>.

### 1.3.1 Fármacos multi-diana (MTL, multi-targeted ligands)

A pesar de todos los esfuerzos realizados en el desarrollo de fármacos durante las últimas décadas, el número de medicamentos exitosos y de nuevas dianas no ha sido el esperado. El descubrimiento de fármacos centrado principalmente en el paradigma “una diana, un fármaco”, bajo un enfoque tradicional, proporciona un éxito limitado para tratar enfermedades multifuncionales y complejas como es la EA<sup>43</sup>. La complejidad de la patología de la EA ha fomentado el diseño de moléculas capaces de interactuar con dos o más dianas farmacológicas complementarias, esperando que estos ligandos multi-diana (MTL, por sus siglas en inglés) puedan representar ventajas importantes en el tratamiento de la enfermedad<sup>68</sup>

En los últimos años, se han desarrollado muchos MTL interesantes, como memoquina, ladostigil y huprina X, entre otros (Figura 10). Memoquina es un inhibidor de AChE y  $\beta$ -secretasa-1 (BACE-1) con propiedades antiagregantes y antioxidantes adicionales, que recientemente ha demostrado su eficacia in vivo usando diferentes modelos de ratones de amnesia inducida<sup>69</sup>

Ladostigil es un inhibidor de colinesterasas (ChEs) y un inhibidor selectivo de monoaminooxidasas cerebrales (MAO-A y -B), con poco o ningún efecto inhibitorio de la MAO periférica en experimentos in vivo<sup>70</sup>. Y la huprina X es un inhibidor sub-nanomolar de AChE con efectos adicionales, tales como inhibición de BACE-1, activación de  $\alpha$ -secretasas y estimulación de la señalización de la ruta de la proteína quinasa activada por mitógeno, que es capaz de mejorar el aprendizaje y la memoria en un modelo triple de ratones transgénicos con EA<sup>71</sup>. Además, se han desarrollado varias familias de MTL derivadas de donepezilo<sup>72</sup> o de tacrina<sup>73-76</sup> (Figura 10), que combinan propiedades neuroprotectoras, colinérgicas y antioxidantes. Los derivados del ácido L-glutámico con fragmentos de donepezilo presentaron interesantes propiedades en modelos in vitro de EA y de isquemia cerebral<sup>77-78</sup>. Y entre los derivados de tacrina, destacan los híbridos tacrina – clioquinol y tacrina – melatonina que han mostrado su eficacia in vivo en ratones transgénicos APP- Ps1, mejorando sus capacidades cognitivas y reduciendo la carga amiloide en cerebro<sup>79-80</sup>

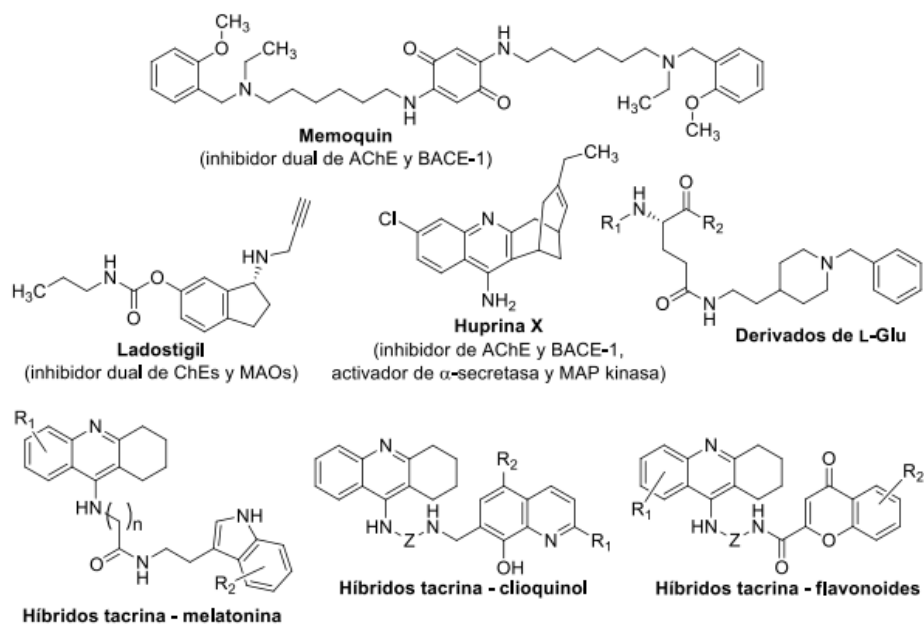


Figura 10. Fármacos con actividad múltiple para la EA.

## 1.4 Núcleo indólico en Alzheimer

### 1.4.1 Antecedentes

El indol o 2,3-benzopirrol representa importante clase de compuestos heterocíclicos que se ha encontrado en muchos productos naturales y ha sido objeto de muchos estudios sintéticos<sup>81-82</sup>. Los compuestos que soportan este andamio han atraído el interés de los investigadores debido a su amplia gama de actividades biológicas como antimicrobiano<sup>83</sup>, antifúngico<sup>84</sup>, antiviral<sup>85</sup>, antiinflamatorio<sup>86</sup>, antidepresivo<sup>87</sup>, antimigrañoso<sup>88</sup>, antihipertensivo<sup>89</sup>, anticancerígeno<sup>90</sup>, inhibidor de la  $\alpha$ -glucosidasa<sup>91</sup>,  $\beta$ -inhibidor de la glucuronidasa<sup>92</sup>, inhibidor de la ureasa<sup>93</sup>, inhibidor de la  $\alpha$ -amilasa<sup>94</sup>, inhibidor de la acetilcolinesterasa<sup>95-98</sup> e inhibidor de la butirilcolinesterasa<sup>99-101</sup>.

Compuestos como la bufotenina (agente antipsicótico), la psilocibina (agente antipsicótico), el triptófano (antidepresivo), la serotonina (neurotransmisor), la vinblastina (agente anticancerígeno) y la vincristina (agente anticancerígeno) son ejemplos de compuestos naturales bioactivos que contienen anillo de indol, figura 11, Indometacina (medicamento antiinflamatorio), Roxindole (esquizofrenia), Pravadolina (analgésico), Atevirdina (medicamento anti-VIH), Oxypertina (medicamento antipsicótico), Pindolol (medicamento

antihipertensivo), Delavirdine (medicamento anti-VIH), Arbidol (fármaco antiviral) y Apaziquone (fármaco contra el cáncer) son algunos ejemplos que se comercializan y contienen un resto indol.

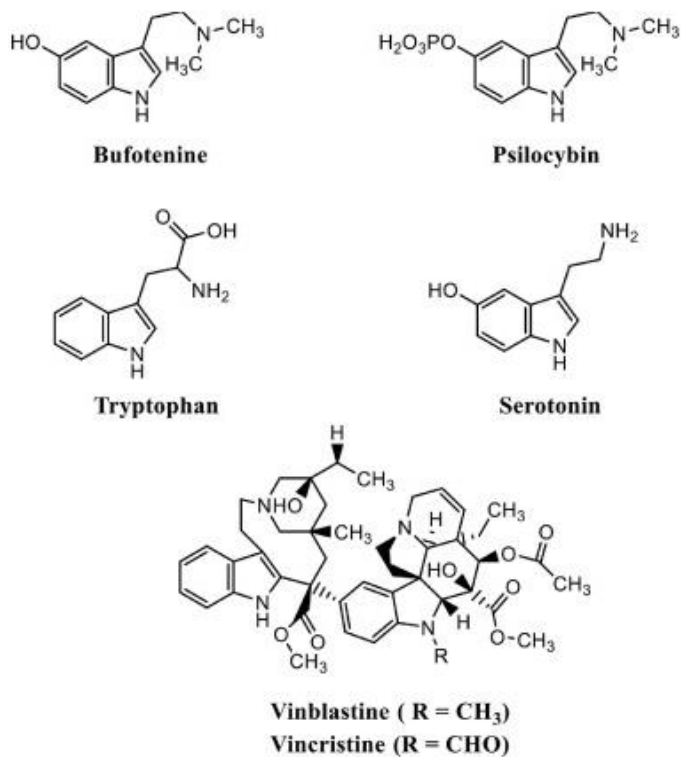


Figura 11. Compuestos naturales bioactivos que presentan en su estructura el núcleo indólico

#### 1.4.2 Núcleo indólico y su actividad en AChE y TSER

En estudios previos, Taha et al. Informaron sobre el diseño, la síntesis y la evaluación de la actividad inhibitoria de la acetilcolinesterasa de una serie de derivados de sulfonamida a base de indol<sup>95</sup>, figura 12. En este trabajo, los valores  $IC_{50}$  de estos compuestos basados en indol estuvieron entre 0,17  $\mu$ M y 8,53  $\mu$ M (Donepezil  $IC_{50}$ : 0,014  $\mu$ M).

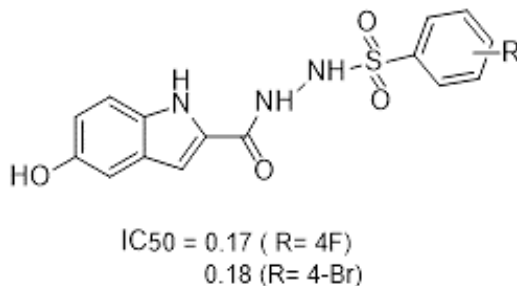


Figura 12. Derivados de sulfamida con base de núcleo indólico y su actividad en AChE

Por otro lado, Bingul et al. Informó sobre la síntesis de los derivados de indol-2-carbohidrazidas y 2-(indol-2-il)-1, 3,4-oxadiazoles, estudiando la actividad inhibitoria de la acetilcolinesterasa y la butirilcolinesterasa<sup>96</sup>. Algunos de los compuestos mostraron una actividad anticolinesterasa más alta que la galantamina. En otro estudio, Bingul et. al. Informaron sobre el diseño y la evaluación de la actividad anticolinesterásica de nuevas hidrazidas hidrazonas basadas en 4,6-dimetoxiindol<sup>96</sup>, figura 13. Los compuestos ensayados exhibieron una actividad anticolinesterasa comparable o mejor que el compuesto de referencia galantamina (% de inhibición AChE = 78.476).

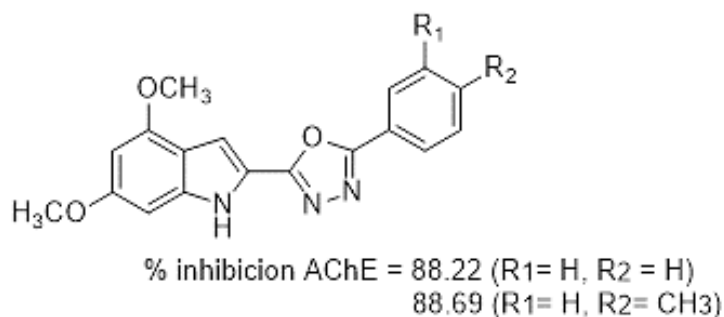


Figura 13. Derivados 2-(indol-2-il)-1,3,4-oxadiazoles sintetizados por Bingul et. al y su porcentaje de inhibición de AChE

Además, Saglam et al. Informaron de la síntesis, caracterización y actividad anticolinesterasa de una nueva serie de sistemas de ligando bis-indolil imina <sup>97</sup>, figura 14. Los resultados demostraron actividades inhibitorias más potentes que la estándar galantamina (% de inhibición AChE = 78.76%), para el derivado sin sustituir en el anillo aromático.

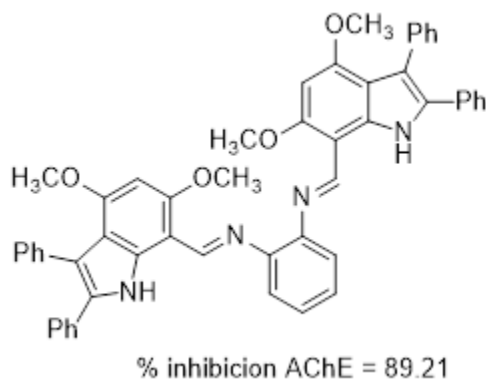
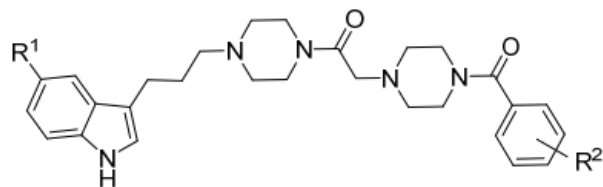


Figura 14. Ligando bis-indolil imina más potente en la inhibición de AChE sintetizado por Saglam et. al.

Antecedentes previos de investigación han demostrado la importancia del sistema indol-propil-piperazina sustituidos en la posición C-5 del indol ya sea en la forma de unidad o como hetero u homo bis-ligandos<sup>101-104</sup> para la unión de estos compuestos al transportador de serotonina (TSER), logrando muy buenos valores de afinidad. En base a los anterior, Pessoa-Mahana et al. Informaron la síntesis de una nueva clase de derivados indolilpropil benzamidopiperazinas con actividad dual AChE/SERT<sup>104</sup> (figura 15). Estos derivados

exhibieron un perfil de inhibición de AChE (3.4 y 3.6  $\mu\text{M}$ ) en el mismo orden de magnitud que el donepezilo (DPZ,  $\text{IC}_{50} = 2.17 \mu\text{M}$ ), mostrando también afinidad nanomolar en TSER.



**17** ( $\text{R}^2 = \text{F}$ ,  $\text{R}^1 = 4\text{-Br}$ )  
AChE = 39.4  $\mu\text{M}$ , SERT = 9.2 nM

**18** ( $\text{R}^2 = \text{F}$ ,  $\text{R}^1 = 4\text{-CH}_3$ )  
AChE = 3.6  $\mu\text{M}$ , SERT = 122 nM

**19** ( $\text{R}^2 = \text{F}$ ,  $\text{R}^1 = 4\text{-F}$ )  
AChE = 3.4  $\mu\text{M}$ , SERT = 212 nM

**24** ( $\text{R}^2 = \text{F}$ ,  $\text{R}^1 = 2\text{-Br}$ )  
AChE = 33.3  $\mu\text{M}$ , SERT = 1.9 nM

Figura 15. Derivados indólicos con actividad en AChE y TSER

## 2. HIPÓTESIS

Considerando los antecedentes descritos, que revelan la compleja naturaleza de la enfermedad de Alzheimer, y que la obtención de ligandos de acción dual serotoninérgica y colinérgica se ha perfilado como una de las estrategias más acertadas en la búsqueda de un tratamiento efectivo para esta patología. En consecuencia:

“La síntesis de nuevos derivados indólicos que incluyan en su estructura la agrupación indolil-propil-piperazina conectados a esqueletos de tipo benzamida, conducirán a Ligandos de acción dual modulando simultáneamente la bioactividad de acetilcolina y serotonina a nivel central a través de la inhibición de acetilcolinesterasa y de la proteína transportadora de serotonina”.

### 2.1. Objetivo general

Obtención de una nueva serie de derivados indólicos polifuncionalizados que actúen como ligandos con actividad farmacológica de acción dual colinérgica y serotoninérgica.

### 2.2. Objetivos específicos

- Síntesis de 3-(3-{4-[3-(4-benzoilpiperazin-1-il) propil] piperazin-1-il} propil)-1H-indol funcionalizadas (R1= H, F, Cl, Br y OMe // R2= H, 2-CH<sub>3</sub>, 4-CH<sub>3</sub>, 4-OMe y 4-F).
- Caracterización química mediante <sup>1</sup>H-RMN, <sup>13</sup>C-RMN, y HRMS.
- Evaluación farmacológica in vitro de la enzima acetilcolinesterasa en plasma sanguíneo humano.
- Estudio farmacológico mediante ensayos de unión por competencia con radioligando para TSER
- Racionalización de los resultados farmacológicos obtenidos vía estudios de acoplamiento molecular inducido para los compuestos sintetizados en los blancos propuestos.



## 3. MATERIALES Y REACTIVOS

### 3.1 Materiales

#### 3.1.1 Solventes

Los solventes utilizados fueron adquiridos a Sigma-Aldrich y Merck en Grado Reactivo Analítico (p.a.) que corresponden a:

- Acetato de etilo  $\geq 99,8\%$  para cromatografía líquida. Merck.
- n-Hexano  $\geq 98,0\%$  para cromatografía de gas. Merck.
- Diclorometano  $\geq 99,5\%$  para análisis. Merck.
- Dimetilformamida  $\geq 99,5\%$  para análisis. Merck.
- N,N-dimetilacetamida  $\geq 99,0\%$  para síntesis. Merck.
- Trietilamina  $\geq 99\%$  para síntesis. Merck.
- Acetonitrilo  $\geq 99,9\%$  para cromatografía líquida. Merck.
- Tetrahidrofurano  $\geq 99,5\%$  para análisis. Merck.19
- Metanol  $\geq 99,8\%$  para análisis. Merck.
- Etanol absoluto  $\geq 99,9\%$  para análisis. Merck.
- Acetona  $\geq 99,8\%$  para cromatografía líquida. Merck.

De grado técnico, purificados por destilación y posterior secado con sulfato de sodio anhidro para su uso en cromatografía en capa fina y para cromatografía en columnas se utilizó acetato de etilo y n-hexano.

### 3.1.2 Reactivos

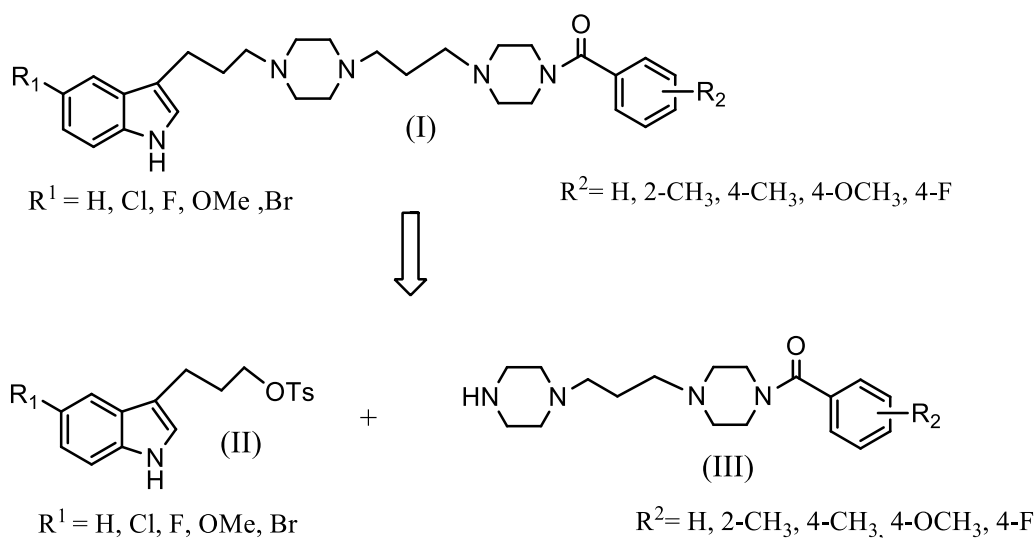
- Clorhidrato de fenilhidrazina  $\geq 98\%$  para análisis. Merck.
- Clorhidrato de 4-flúor-fenilhidrazina 97% para análisis. Merck.
- Clorhidrato de 4-cloro-fenilhidrazina 97% para análisis. Merck.
- Clorhidrato de 4-bromo-fenilhidrazina 97% para análisis. Merck.
- Clorhidrato de 4-metoxi-fenilhidrazina 97% para análisis. Merck.
- 3,4-Dihidro-2H-pirano  $\geq 98\%$  para síntesis. Merck
- $\text{H}_2\text{SO}_4$  95-97% para análisis, Merck.
- Cloruro de p-toluensulfonilo  $\geq 98\%$  para síntesis. Merck.
- 4-Dimetilaminopiridina 99%. Sigma-Aldrich.20
- Carbonato de potasio 99,4% para análisis. BiosLab Chile.
- Tert-Butil piperazina-1-carboxilato 97%. Merck
- Ácido trifluoroacético 99%. Merck
- Cloruro de benzoílo 99%. Merck
- Cloruro de 4-metilbenzoílo 98%. Merck
- Cloruro de 2-metilbenzoílo 98%. Merck
- Cloruro de 4-metoxibenzoílo 98%. Merck
- Cloruro de 4-fluorbenzoílo 98%. Merck

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Síntesis de los derivados indólicos

A continuación, se describen y detallan todos los procesos y metodologías sintéticas que condujeron a la obtención y caracterización de los 25 productos finales.

La síntesis de los derivados indólicos (I) se abordó considerando el siguiente esquema retrosintético (esquema 1):



Esquema 1. Esquema retrosintético para la formación de derivados indólicos.

En esta propuesta se evidencia que los derivados indólicos finales (I) serán obtenidos por la reacción de desplazamiento nucleofílico de los intermediarios 4-(3-(1-piperazinilpropil)-1-piperazinobenzamida funcionalizadas (III), como nucleófilos, con los tosil derivados 3-(1H-indol-3-il) propil-4 metilbenzenosulfonatos (II).

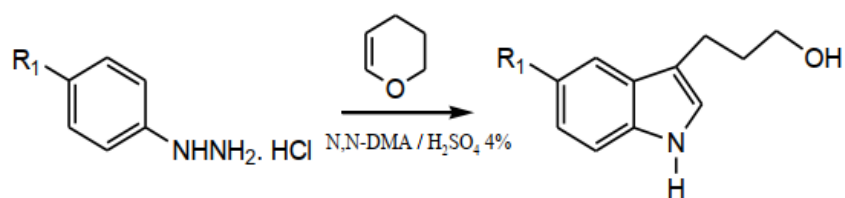
#### 4.1.1 Ruta sintética para la obtención de derivados indólicos

##### **Procedimiento sintético. Síntesis de 3-(3-p-toluensulfonil-1-il-propil)-1H-indoles (II).**

Este intermediario avanzado (II), se obtuvo por reacción de tosilación del derivado indólico 3-(1H-3-indolil)-propano C-5 funcionalizado, obtenido previamente utilizando la síntesis de Fischer de índoles.

##### *4.1.1.1 Síntesis de Fischer para índoles*

La obtención del fragmento indólico C-5 funcionalizado se logró a través de la síntesis de Fisher, utilizando como reactivos de partida una serie de clorhidratos de fenilhidrazinas comerciales, sustituidas en C-4, en presencia de 3,4-dihidropirano en medio ácido (esquema 2).



Esquema 2. Esquema general de la síntesis de índoles de Fisher.

##### **Mecanismo de reacción:**

##### **Apertura del anillo de 3,4-dihidropirano**

La reacción toma lugar a través de la apertura del anillo de 3,4-dihidropirano en medio ácido, según la secuencia de reacciones siguientes (figura 16) generando como producto 5-hidroxi-pentanal (5).

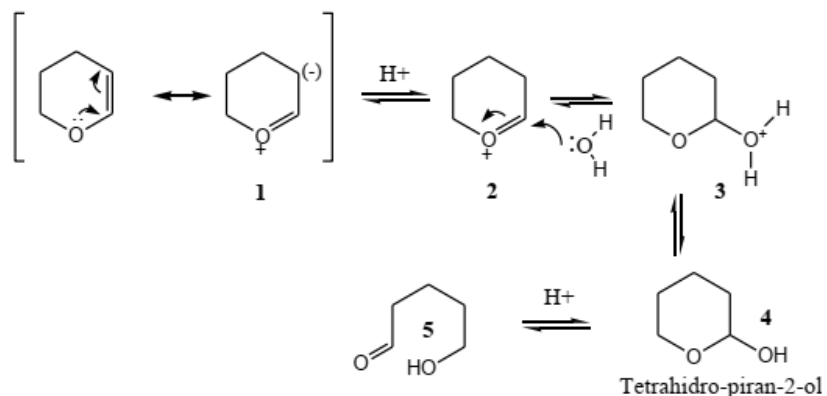


Figura 16. Mecanismo de apertura para el 3,4-dihidropirano.

### Formación del anillo indólico

El 5-hidroxi-pentanal experimenta una reacción de condensación (6) con la arilhidrazina descrita para generar una arilhidrazona (7), la cual tautomeriza vía (8) a una en-hidrazina (9), que por desplazamiento sigmatropico [3,3], forma el intermediario diimínico (10) el cual finalmente por medio de una ciclación intramolecular con posterior pérdida de amoniaco y aromatización (11), da lugar a los derivados 3-(1H-3-indolil)-propanol (12) (Figura 17).

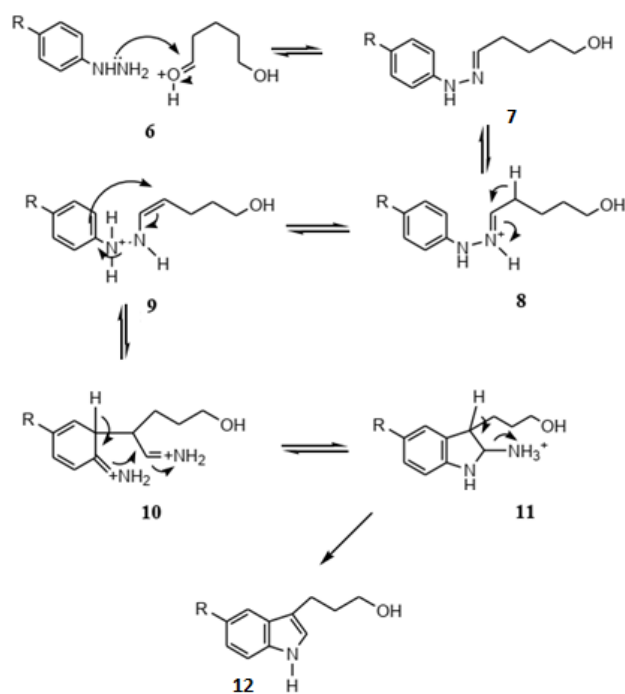


Figura 17. Mecanismo propuesto para la síntesis de índoles de Fischer

## 4.2 Metodología y resultados

### 4.2.1 Obtención de los derivados 3-(1H-3-indolil)-propanoles

Se describe a continuación un resumen de la marcha experimental para la obtención de los derivados 3-(1H-3-indolil)-propanoles.

#### **Procedimiento general**

Por disolución de los respectivos clorhidratos de fenilhidrazinas comerciales en dimetilacetamida (DMA), se agregó H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 4% p/p seguido de 3,4- dihidropirano (DHP). La mezcla resultante se calentó a reflujo hasta que se completa la reacción. El crudo orgánico fue purificado por cromatografía en columna de gel de sílice utilizando acetato de etilo (AcOEt) como fase móvil, obteniendo rendimientos entre el 80 al 90%.

**Caracterización.** - Los productos purificados fueron caracterizados fundamentalmente por espectroscopía <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>), observando para el derivado C-5 (R= H) (Figura 18) dos dobletes a  $\delta$ : 7,32 ppm y 7,60 ppm para los hidrógenos de C-4 y C-7 y dos tripletes de doblete a  $\delta$ : 7,10 y 7,18 ppm para los hidrógenos de C-5 y C-6 de la porción aromática. El protón de C-2 aparece como un fino doblete a  $\delta$ : 6,93, al acoplarse con el N-H del núcleo indólico. Además se aprecia una señal singulete ancho a  $\delta$ : 8,03 ppm para el N-H indólico. Para la cadena hidroxipropílica, se aprecian las siguientes señales: un triplete a 2,83 ppm que correspondería al grupo metileno conectado directamente al anillo indólico; un triplete a  $\delta$ : 3,7 ppm asignable al metileno conectado a la función hidroxilo y un quintuplete a  $\delta$ : 1,96 ppm asignado al metileno de posición C-2 de la cadena propílica.

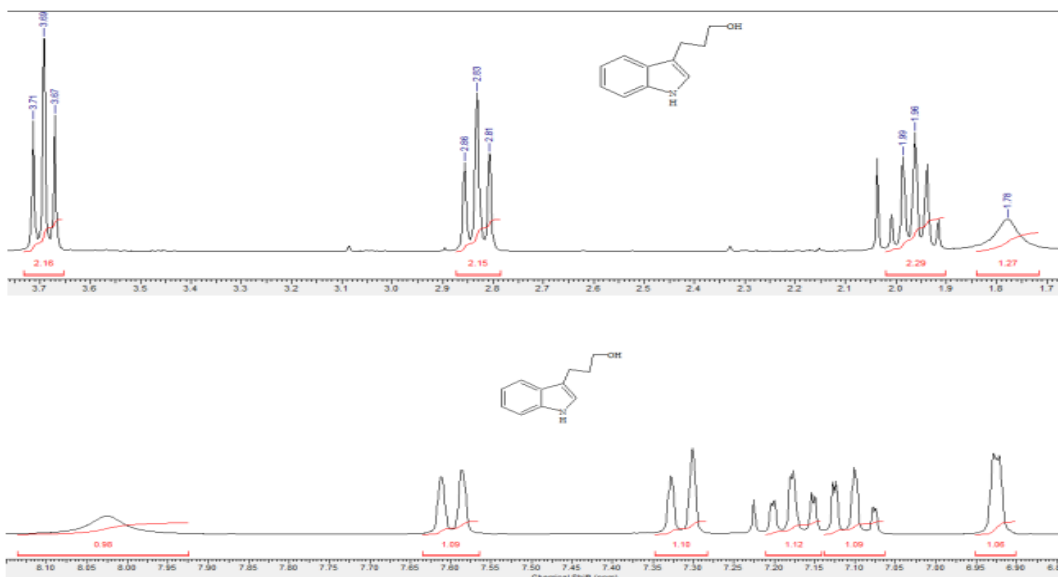
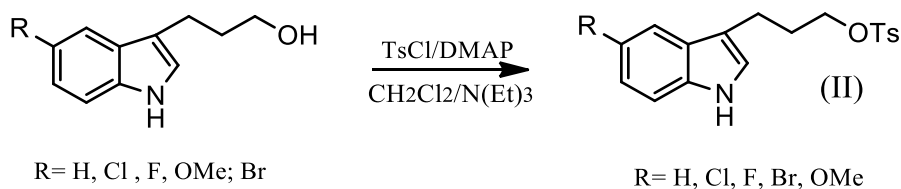


Figura 18. Espectro 1H-RMN del compuesto 3-(1H-3-indolil)-propanol

Los compuestos indólicos análogos presentaron en el sector de campo alto básicamente el mismo patrón de acoplamiento anteriormente descrito, con excepción del derivado C-5 metoxilado, el cual presentó una señal singlete a campo alto a  $\delta$ : 3,81 ppm, correspondiente a los protones del grupo metileno ( $\text{CH}_3$ ). En la zona aromática se observaron las mayores diferencias en virtud del acoplamiento de F-H y de la presencia de los sustituyentes Cl, Br y OMe.

#### 4.2.2 Obtención de los derivados 3-(1H-3-Indolil)-propil-4 metilbencensulfonatos (II)

Los derivados (II) fueron sintetizados por reacción de adición-sustitución de los derivados 3-(3-hidroxipropil)-1H-indoles con cloruro de p-toluensulfonilo (cloruro de tosilo) en diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) anhidro en presencia de trietilamina (TEA) y 4-dimetilaminopiridina (DMAP), obteniéndose los derivados (II) con rendimientos entre 70-80% (esquema 3).



### Esquema 3. Esquema general de la reacción de formación de derivados II

#### **Procedimiento general.**

Se disolvieron los 3-(1*H*-3-indolil)-propanoles en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco, más cloruro de *p*-toluensulfonilo y trietilamina anhidra (TEA) en presencia de concentraciones catalíticas de 4-dimetilaminopiridina (DMAP). La solución se agitó a temperatura ambiente bajo atmósfera de N<sub>2</sub> por 48 horas. La mezcla resultante fue rotavaporada a sequedad y purificada en columna cromatográfica de gel de sílice con fase móvil AcOEt/*n*-Hexano (1:2), los productos obtenidos resultaron sólidos de tonalidades café claro con rendimientos entre un 70 a 75%.

**Caracterización.** Los productos purificados fueron caracterizados por espectroscopía <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) (Figura 19a), observándose en campo alto la presencia de los dos tripletes y un quintuplete correspondientes a la cadena de propilo, y la ausencia de la señal hidroxílica a δ: 1,7 ppm más la presencia de un singulete en δ: 2,43ppm correspondiente al CH<sub>3</sub> aromático.

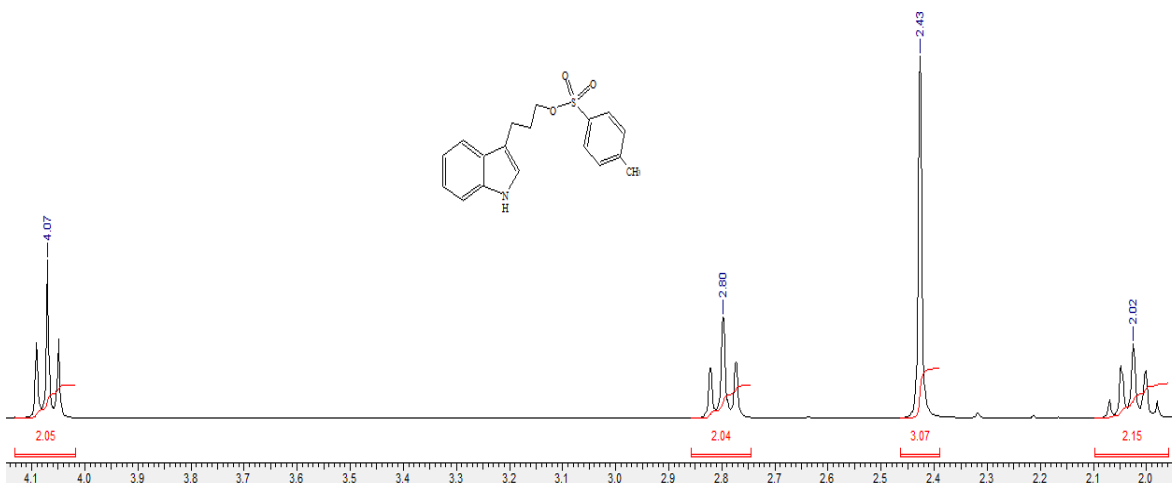


Figura 19a. Espectro <sup>1</sup>H-RMN de campo alto del compuesto 3-(1*H*-3-Indolil)-propil-4-metilbencensulfonato

En la zona aromática (figura 19b), se mantiene el patrón de señales del núcleo indólico con dos tripletes de dobletes, un singulete y dos dobletes, uno de los cuales coincide en δ: 7,3 ppm con el doblete que integra para dos protones, los que corresponde a protones equivalentes en las posiciones 3 y 5, contiguos al grupo metilo en C-4, del anillo bencénico.



Los otros 2 protones idénticos de este sistema aparecen en  $\delta$ : 7,7 ppm y corresponden a aquellos en posiciones 2 y 6 vecinos al grupo sulfonilo. El grupo NH indólico se aprecia a  $\delta$ : 7.98 ppm.

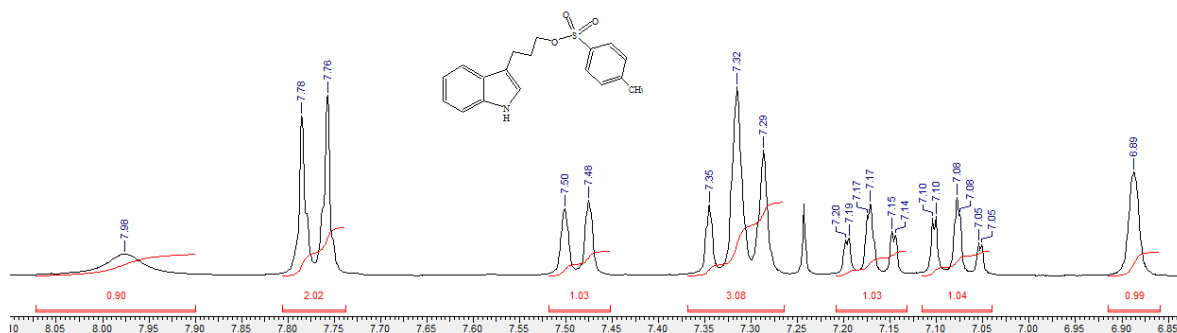


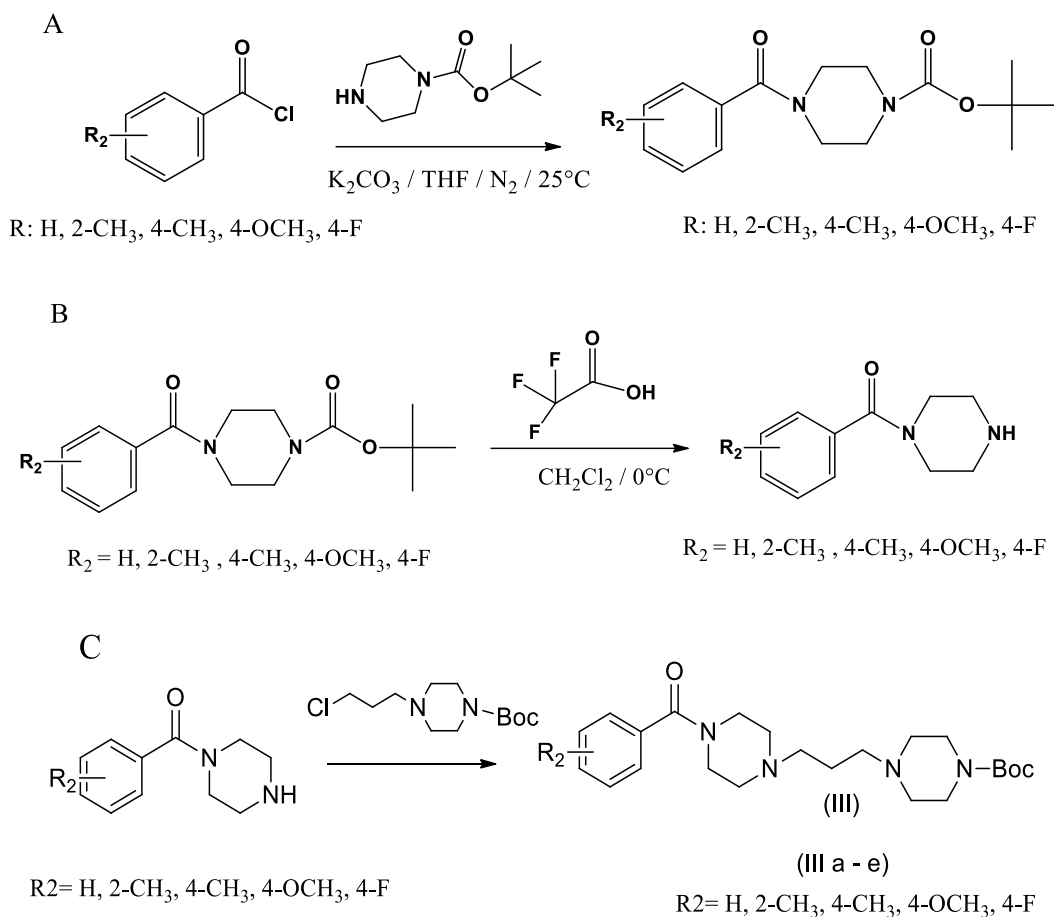
Figura 19b. Espectro <sup>1</sup>H-RMN de la zona de campo alto del compuesto 3-(1H-3-Indolil)-propil-4-metilbencensulfonato.

Los compuestos indólicos análogos, presentaron en el sector de campo alto básicamente el mismo patrón de acoplamiento anteriormente descrito. En el sector aromático se observan las mismas diferencias correspondientes a la sustitución en C-5 ya sea por el acoplamiento F-H o por la presencia del Cl, Br y OMe.

#### 4.2.3 Obtención de los derivados intermediarios 4-(3-1-piperazinilpropil)-1-piperazinobenzamida (III).

La síntesis de los derivados (III), se llevó a cabo mediante una estrategia de síntesis convergente en dos etapas. Inicialmente fueron sintetizadas las series de piperazino-benzamidas (Esquema 4A) según procedimientos anteriormente reportados<sup>105-106</sup>. Los derivados obtenidos fueron desprotegidos mediante reacción de hidrólisis con ácido trifluoroacético (TFA) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro, para obtener los compuestos 1a-e (esquema 4B). Posteriormente los derivados 1a-e reaccionaron con 4-(3-cloropropil) piperazin-1 –

carboxilato de ter-butil <sup>107</sup> en acetonitrilo anhidro (CH<sub>3</sub>CN), obteniéndose los respectivos derivados (III) con rendimientos de 70 – 75% (esquema 4C).



Esquema 4. Esquema general de síntesis convergente para los derivados 4-(3-1-piperazinilpropil)-1-piperazinobenzamida (III).

#### **Procedimiento general:**

La síntesis de los derivados piperazino benzamidicos (esquema 4C) se realizó mediante la reacción de cloruros de benzoílos comerciales (esquema 4A) y terbutilpiperazina-1-carboxilato. Para esto, se agregaron cantidades estequiométricas de terbutilpiperazina-1-carboxilato y carbonato de potasio (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) en tetrahidrofurano anhidro (THF), para luego agregar, en una temperatura de 0°C, los distintos cloruros de benzoílos funcionalizados. La reacción toma lugar en 2 horas hasta comprobar la formación del producto por

cromatografía de capa fina. El crudo obtenido fue purificado por cromatografía en columna de gel de sílice, utilizando AcOEt como fase móvil. Se obtuvieron compuestos sólidos de color blanco con rendimientos entre 90 y 95%.

### Obtención de ter-butil 4-(3-cloropropil) piperazin-1 –carboxilato

En una segunda etapa, se realizó la síntesis de ter-butil 4-(3-cloropropil) piperazin-1 –carboxilato, siguiendo el protocolo reportado por *Melnyk et al.* Para ello, se agregó en acetonitrilo (CH<sub>3</sub>CN) anhidro, terbutilpiperazina-1-carboxilato, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y 1-bromo-3-cloropropano. La mezcla de reacción se mantuvo por 72 horas a temperatura ambiente. Posteriormente se realizó el mismo procedimiento de extracción anteriormente mencionado, el crudo fue purificado por cromatografía en columna de gel de sílice utilizado AcOEt como fase móvil. Se obtuvo un compuesto oleoso de color amarillo pálido con un rendimiento de 95%. Su estructura fue confirmada por espectroscopia <sup>1</sup>H-RMN (figura 20), observándose a campo alto un conjunto de 3 señales correspondiente a las absorciones de la cadena 3-cloropropil conectada al anillo de piperazina. Se aprecia un quintuplete a  $\delta$ : 1,58 ppm, para el CH<sub>2</sub> central y dos tripletes a  $\delta$ : 2,51 ppm y  $\delta$ : 3,29 ppm para los CH<sub>2</sub> conectados al nitrógeno piperazínico y al átomo de cloro. Además, se visualiza la característica señal singulete que integra para 9 protones asociada al grupo terbutilo a  $\delta$ : 1,39 ppm y singletes anchos para los CH<sub>2</sub> piperazínicos a  $\delta$ : 2,2 y 4,0 ppm e integran para un total de 8 protones.

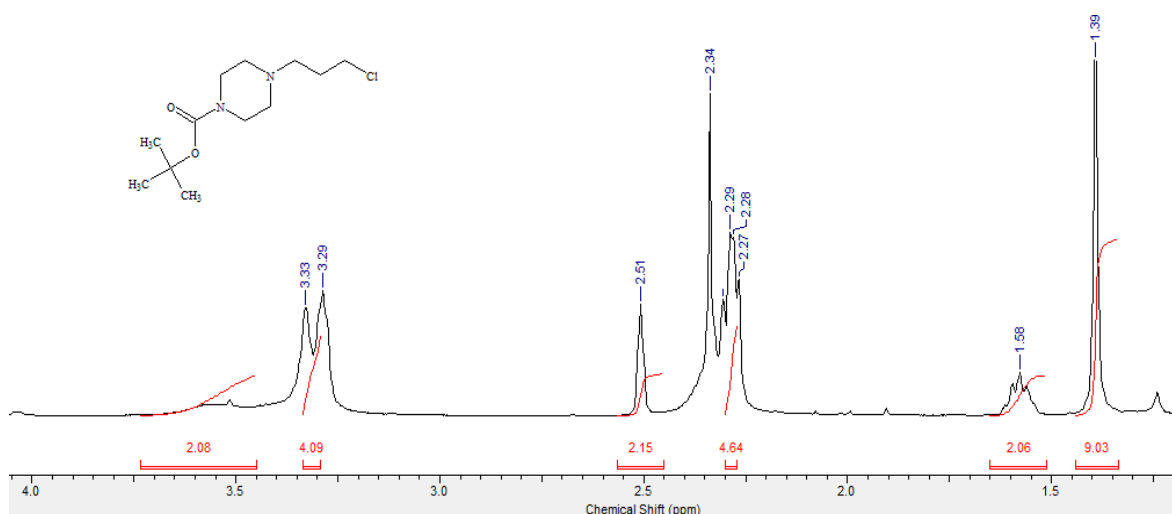
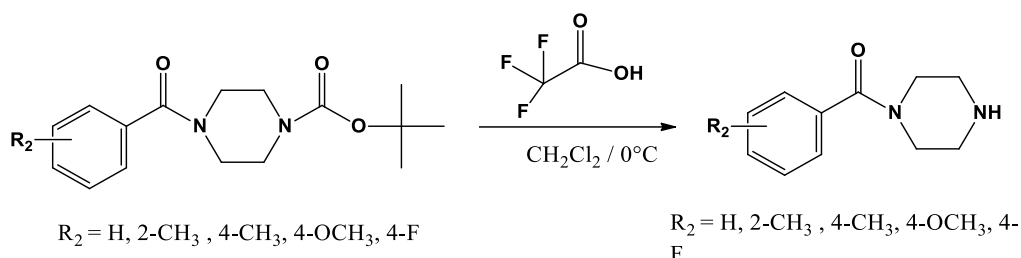


Figura 20. Espectro  $^1\text{H-RMN}$  de la zona de campo alto del compuesto *tert*-butil 4-(3-cloropropil) piperazino-1-carboxilato

Una vez obtenidos ambos precursores, se llevó a cabo la reacción de síntesis de los derivados (III). Que consta de una secuencia de dos pasos:

**Hidrólisis de los derivados *ter*-butoxi-carbonil piperazinobenzamidicos (esquema 4B).**



Los distintos derivados piperazino benzamidicos (esquema 4A) fueron solubilizados en una mezcla de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anhidro y TFA, la reacción se mantuvo agitando a  $25\text{ }^\circ\text{C}$  por dos horas, para luego ser monitoreada por cromatografía de capa fina, utilizando como fase móvil una mezcla de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , TEA y  $\text{CH}_3\text{OH}$  en una proporción de 4:0.5:1.

Una vez completada la reacción por seguimiento cromatografico, el crudo fue llevado a sequedad, e inmediatamente reaccionado con 4-(3-cloropropil) piperazin-1 –carboxilato de *ter*-butilo en  $\text{CH}_3\text{CN}$  seco y  $\text{K}_2\text{CO}_3$  anhidro (esquema 4C).

La mezcla resultante se mantuvo por 24 horas a reflujo ( $85^\circ\text{C}$ ) obteniéndose una serie de compuestos sólidos (2a – 2e) de color café claro, con rendimientos entre 70-75%.

**Caracterización espectroscópica de los compuestos 2a-e.** Los compuestos resultantes fueron caracterizados por espectroscopía  $^1\text{H-RMN}$  en cloroformo deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ).

**Caracterización  $^1\text{H-RMN}$  del compuesto ter-butil 4-{3-[4-(2-metilbenzoil) piperazin-1-il] propil} piperazino-1-carboxilato. (2b)**

El compuesto 2b, figura 21, presentó en  $^1\text{H-RMN}$  un conjunto de señales a campo alto que corresponden a: un singulete a  $\delta$ : 1,37 ppm que integra para 9 protones pertenecientes al grupo ter-butilo, además de un quintuplete a  $\delta$ : 1,55 ppm que integra para 2 protones, que corresponde a los hidrógenos del  $\text{CH}_2$  central de la cadena propilénica. A campo más bajo,  $\delta$ : 2,19 ppm aparece una señal de tipo singulete que integra para 3 protones para los hidrógenos del metilo aromático. Se observa además un conjunto de señales acopladas que aparece a  $\delta$ : 2,2 y 2,4 ppm que integran para un total de 12 protones, las cuales son asignados a los protones de los núcleos piperazínicos y a los protones de los  $\text{CH}_2$  de la cadena propilénica conectada a los nitrógenos de ambos núcleos. Los restantes 8 protones piperazínicos, aparecen entre  $\delta$ : 3,0 y 3,7 ppm, se hallan a campo más bajo debido a su cercanía con los grupos amida y carbamato respectivamente.

Por otro lado, a campo bajo en la zona aromática, alrededor de  $\delta$ : 7,10 a 7,30 ppm se observa un grupo de señales con distintas multiplicidades que integran para un total de 4 protones, los que corresponden a los hidrógenos del núcleo de la benzamida C-2 sustituido confirmando la estructura señalada.

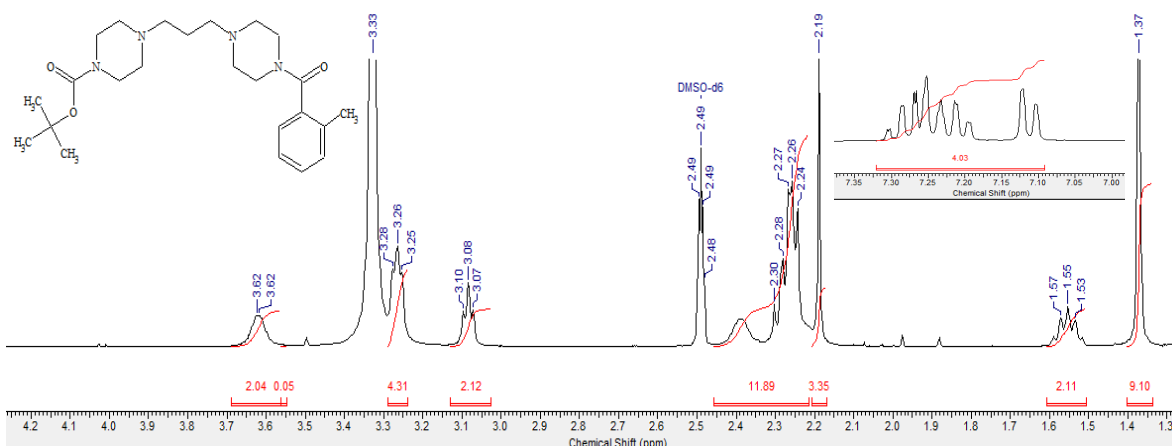


Figura 21. Espectro  $^1\text{H}$ -RMN de la zona de campo alto y bajo del compuesto tert-butil 4-{3-[4-(2-metilbenzoi) piperazin-1-il] propil} piperazino-1-carboxilato (2b)

Los demás derivados presentaron patrones similares de señales a campo alto, con algunas variaciones dependiendo de la posición (C-2 y C-4) y el sustituyente (H,  $\text{CH}_3$ ,  $\text{OCH}_3$ ) del núcleo de la benzamida, como por ejemplo una señal de tipo singlete a  $\delta$ : 3,83 que también integra para 3 protones correspondiente el grupo metoxilo presente en C-4.

En relación con la zona aromática de los compuestos sintetizados, se observan distintos patrones de señales que están relacionadas con la posición del sustituyente en la porción benzamidica. Los compuestos con sustitución en C-4 (4- $\text{CH}_3$ , 4- $\text{OMe}$  y 4-F), muestran un patrón de señales del tipo AB, para protones idénticos en posiciones 2-6 y 3-5, con cambios a nivel del desplazamiento y multiplicidad dependiendo del tipo de sustituyente.

En el núcleo indólico, el cambio de sustituyente produce un cambio en el desplazamiento de los protones debido al entorno químico que establecen por sus características electrónicas. Por ejemplos, los acoplamiento que se establecen entre los protones y el flúor en posición C-5 del anillo indólico, debido a su momento de espín nuclear. En base a esta características, el compuestos final 18 ( $\text{R}_1 = \text{F}$  y  $\text{R}_2 = \text{H}$ ), presenta las siguientes señales: un triplete de dobletes a  $\delta$ : 6,74 ppm que integra para 1H, asociado al hidrógeno del C-6, y dos doblete de dobletes que integran para 1H, a  $\delta$ : 7,03 ppm y 7.07 ppm asignados a los protones de los carbonos C-2 y C-7 respectivamente. Estas señales características se muestran en la figura 22.

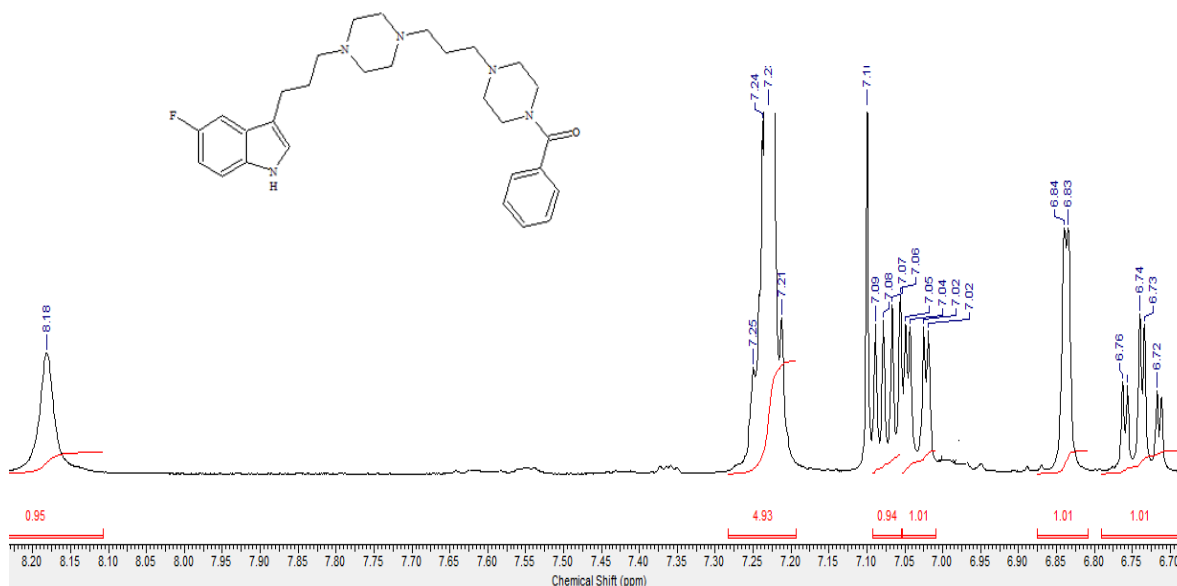
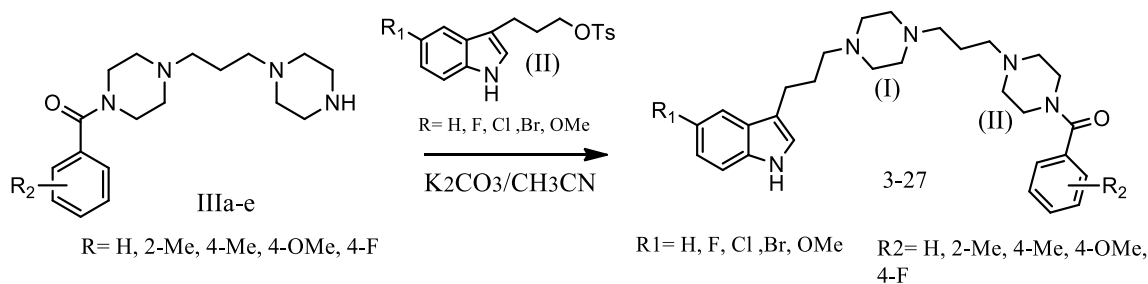


Figura 22. Espectro  $^1\text{H}$ -RMN de la zona aromática del compuesto final 18

#### 4.2.4 Síntesis de los derivados 3-(3-{4-[3-(4-benzoilpiperazin-1-il) propil] piperazin-1-il} propil)-1H-indol

Los compuestos III (IIIa-e) fueron hidrolizados en ácido trifluoroacético (TFA), utilizando el procedimiento anteriormente mencionado. Finalmente, las aminas resultantes (IIIa-e), fueron llevadas inmediatamente a reacción con los derivados 3-(1H-indol-3-il) propil-4-metilbencensulfonatos (II). Los crudos de reacción fueron purificados obteniéndose los compuestos finales 3-27 con rendimientos de 75-88%, esquema 6.



Esquema 5. Esquema general para la síntesis de los derivados 3-27

### **Procedimiento general:**

La obtención de los derivados 3-27 se realizó mediante una síntesis convergente en dos etapas. Inicialmente fue removido de los derivados III (IIIa-e) el grupo protector ter-butiloxicarbonilo (Boc) utilizando una mezcla 1:1 ácido trifluoroacético (TFA) / diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Una vez obtenidas las diferentes amido-dipiperazinas libres (IIIa-e), estas fueron inmediatamente llevadas a reacción con 3-(1H-indol-3-il) propil-4-metilbencensulfonatos (II) en presencia de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> en CH<sub>3</sub>CN seco, bajo condiciones de reflujo. El crudo orgánico fue purificado por cromatografía en columna de gel de sílice utilizando una mezcla de diclorometano/metanol (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH) (4:1) como fase móvil. Se obtuvieron compuestos sólidos de tonalidades amarillo claro y café oscuro con rendimientos entre 65 y 75%.

### **Caracterización espectroscópica**

La asignación por espectroscopía <sup>1</sup>H-RMN y <sup>13</sup>C-RMN confirmó la estructura de los compuestos sintetizados. Se obtuvieron 25 compuestos finales, apreciándose en todos ellos, una señal singulete cuyo desplazamiento químico varió entre δ: 8,10 a 8,43 ppm asignable al NH indólico.

### **Caracterización <sup>1</sup>H-RMN del compuesto ter-butil 5-cloro-3-[3-(4-{3-[4-(4-metilbenzoil) piperazin-1-il] propil} piperazin-1-il) propil]-1H-indol (10)**

El compuesto final 10, figura 23, presentó en <sup>1</sup>H-RMN un conjunto de señales a campo bajo para el núcleo indólico que corresponde a: Un singulete desdoblado a δ: 7,55 ppm (J=1,71 Hz) que integra para para 1 protón perteneciente al C-4, un doblete a δ: 7,25 ppm (J= 8,56 Hz) que integra para 1 protón correspondiente al C-7, además de un doblete de dobletes a δ: 7,11 ppm ( J1=8,56 Hz, J2=1,96 Hz) que integra para 1 protón presente en el C-6 y un singulete desdoblado a δ: 6,99 que integra para 1 protón presente en el C-2 del anillo indólico. En relación con el núcleo benzamídico, la porción aromática presentó a campo bajo señales para dos pares de protones equivalentes a un δ: 7,30 y δ: 7,20 que integra para



dos protones, cada uno asignado al sistema A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> de los carbonos C-2''' - C-6''' y C-3''' - C-5''' respectivamente, para el núcleo de benzamida con sustitución en C-4.

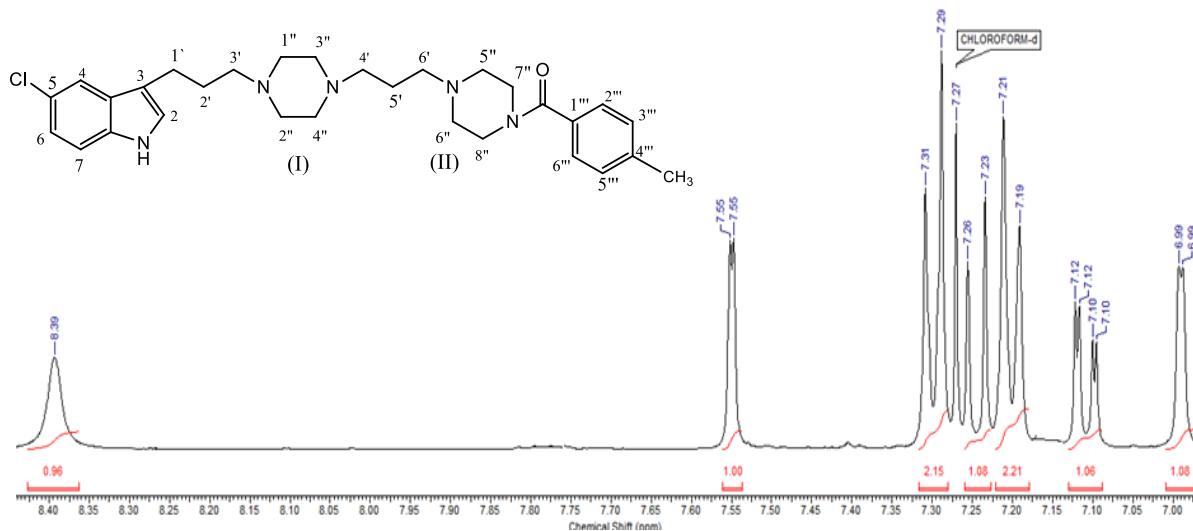


Figura 23. Espectro 1H-RMN de zona aromática del compuesto final 10.

En relación a las señales presentes en la zona alifática (campo alto), el compuesto final 10 (figura 23), presentó las siguientes señales en <sup>1</sup>H-RMN: dos quintupletes a  $\delta$ : 1,68 ppm y  $\delta$ : 1,92 ppm que integran para 2 protones cada uno, que corresponden a los hidrógenos metilénicos centrales 2' y 5' pertenecientes a las cadenas conectoras propilénicas unidas a piperazinas y núcleo indólico respectivamente.

En el mismo sector, a campos más bajo,  $\delta$ : 2,34 ppm aparece una señal de tipo singlete que integra para 3 protones (CH<sub>3</sub>-Ar) de C-4'''. Esta última, absorbe en la misma zona con una señal de tipo triplete a  $\delta$ : 2,33 ppm que integra para 2 protones pertenecientes a los hidrógenos del CH<sub>2</sub> unido al nitrógeno de la piperazina (I). Se observa además dos señales de tipo triplete a un desplazamiento entre  $\delta$ : 2,40 -  $\delta$ : 2,55 ppm que integran para dos protones cada una, asignadas a los hidrógenos metilénicos (4'-H y 6'-H) que conectan a los anillos piperazínicos.

En esta misma zona, se aprecian un conjunto de señales anchas a  $\delta$ : 2,59,  $\delta$ : 3,42 y 3,71 ppm asignadas a los hidrógenos de ambos núcleos de piperazina. Estos últimos aparecen a campo más bajo debido a su cercanía con los grupos amida y carbamato respectivamente.

Finalmente, la señal de los protones correspondientes a los hidrógenos metilénicos del CH<sub>2</sub> unidos al núcleo indólico, se observa a  $\delta$ : 2,74 ppm debido a un probable efecto anisotropico del anillo heterociclico. Estas señales son presentadas en el espectro <sup>1</sup>H-RMN de la zona de campo alto del compuesto final 10 en la figura 24.

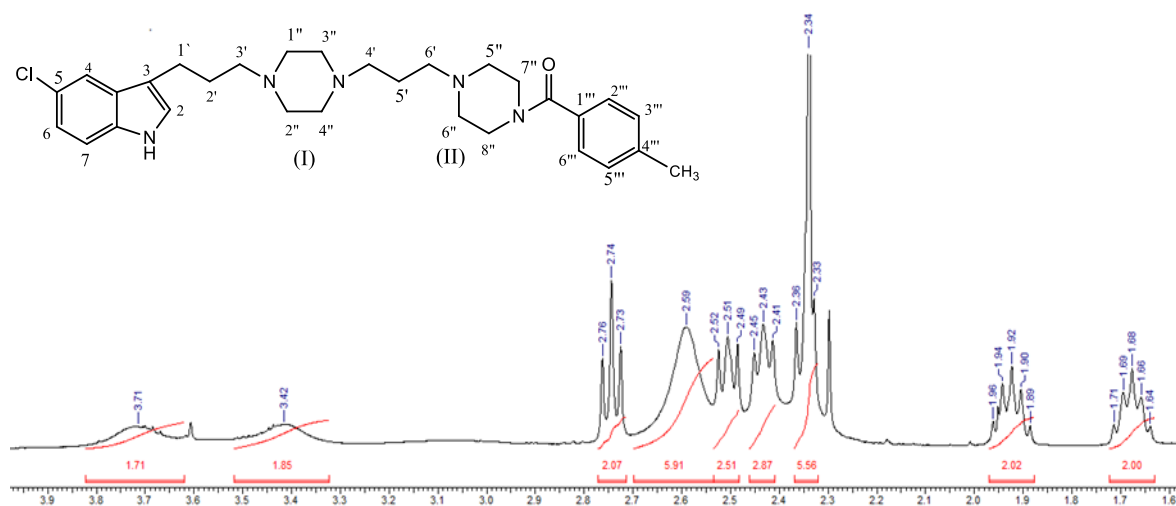


Figura 24. Espectro <sup>1</sup>H -RMN de la zona alifática del compuesto final 10

Los análisis realizados por <sup>13</sup>C-RMN, confirmaron las estructuras de las 25 moléculas sintetizadas. En relación con lo anterior, podemos mencionar una señal a campo bajo alrededor de  $\delta$ : 170 ppm asignable al carbono carbonílico de la amida, presente en la porción benzamídica. A modo de ejemplo, a continuación, se presenta la asignación por espectroscopía <sup>13</sup>C-RMN del compuesto final 13.

### Espectro <sup>13</sup>C-RMN del compuesto 3-(3-{4-[3-(4-benzoilpiperazin-1-il) propil] piperazin-1-il} propil)-5-metoxi-1H-indol (13)

En relación con las señales aromáticas del núcleo de benzamida de este compuesto, podemos identificarlas en el rango entre  $\delta$ : 128.0 a  $\delta$ : 127.0 ppm. Las señales aromáticas restantes, del anillo indólico, se despliegan entre  $\delta$ : 111,9 y  $\delta$ : 100,84 ppm. Otras señales importantes corresponden a los carbonos piperazínicos (CH<sub>2</sub>). El anillo piperazínicos central (I) presenta señales con desplazamientos entre  $\delta$ : 56.3 ppm (2C) y  $\delta$ : 52.4 ppm (2C). El resto

de las señales presentes a campo alto, a desplazamientos químicos entre  $\delta$ : 16 y 32 ppm, dan cuenta de los carbonos alifáticos, correspondiente a las cadenas propilénicas conectoras en la estructura. (Figura 25)

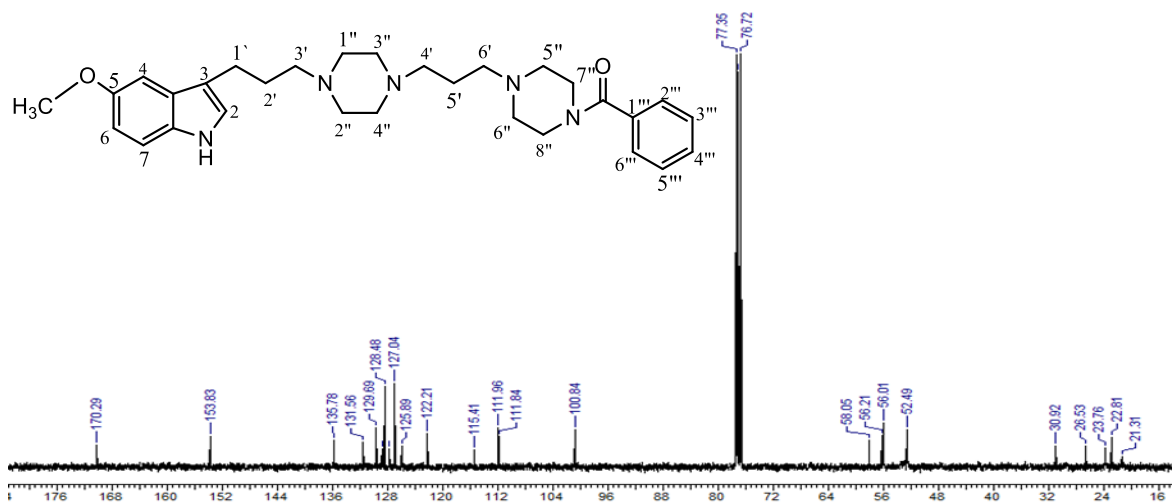


Figura 25. Espectro <sup>13</sup>C- RMN del derivado indólico 13

## 4.3 ENSAYOS FARMACOLÓGICOS

### 4.3.1 Fundamentos de los Ensayos de unión por competencia con radioligando. Medición de actividad enzimática y estudios de acoplamiento molecular inducido

A continuación, se exponen los resultados obtenidos de los ensayos de unión por competencia con radioligando, medición de actividad enzimática y su correlación teórica-molecular con los estudios de acoplamiento molecular inducido (docking) para aquellos ligandos finales pertenecientes a la familia de derivados indólicos sintetizados, con sus mejores y peores valores de afinidad farmacológica y/o porcentaje de actividad inhibitoria.

#### *4.3.1.1 Ensayos de afinidad por desplazamiento de radioligando.*

Previa a la descripción metodológica y exposición de los resultados, nos referimos brevemente a los principios y procedimientos que regulan los ensayos de afinidad. Los estudios de desplazamiento de radioligando constituyen una herramienta vital para evaluar potenciales ligandos que puedan interaccionar con un receptor. El radioligando lo podemos definir como un compuesto que exhibe marcaje radioactivo y que se une con buena afinidad a un receptor o proteína. Cuando se trabaja con radioligando, hay dos tipos de experimentos que podemos llevar a cabo: saturación y desplazamiento.

Los estudios de saturación son utilizados para determinar la afinidad de un ligando marcado por un receptor.

Al realizar este experimento, se pueden conocer valores como el de  $KD$  y  $B_{max}$  del receptor en una muestra o tejido específico. El valor de  $KD$  se puede interpretar como la constante de equilibrio de la disociación del complejo radioligando-receptor  $[RLRecep]$  y  $B_{max}$  es la densidad de sitios de unión en los receptores presentes en una preparación particular.

Los experimentos de desplazamiento se utilizan para determinar la afinidad de ligandos no marcados por un receptor definido. El valor de  $K_i$  sería la constante de equilibrio de la disociación del complejo droga-receptor  $[DR]$  obtenido para un inhibidor competitivo del

receptor y que podría considerarse como una “medida de la fuerza de unión” del ligando a ese receptor. Las afinidades más altas (valores de  $K_i$  más bajos) denotan uniones más fuertes.

#### 4.3.1.2 Conceptos básicos en estudios de afinidad.

Los estudios de afinidad por desplazamiento de radioligando, se basan en procesos de equilibrio químico, los cuales están determinados por la ley de acción de masas (Figura 26).

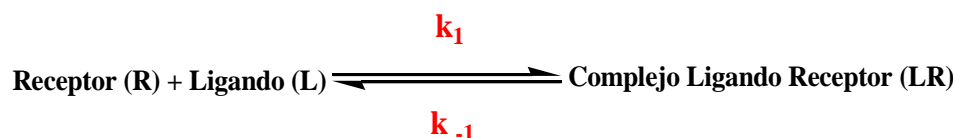


Figura 26. Ecuación química en el equilibrio.

La unión de un radioligando (RL) a un receptor (Recep) para formar el complejo radioligando-receptor [RLRecep] no es un proceso estático, sino más bien que puede ser visto como un proceso cinético del radioligando interaccionando y liberándose del receptor. La conformación de equilibrio es un punto de energía libre mínima dentro del campo de fuerza del receptor, el cual se alcanza cuando la velocidad de asociación es igual a la velocidad de disociación. Este equilibrio se expresa en términos de la reacción de disociación ( $K_D$ ). El valor de  $K_D$  se obtiene al reordenar la ecuación de la ley de acción de masas según (Figura 27).

$$[\text{LR}] \times k_1 = [\text{R}] [\text{L}] \times k_{-1}$$

$$K_D = \frac{k_{-1}}{k_1} = \frac{[\text{L}] [\text{R}]}{[\text{RL}]}$$

Figura 27. Ecuación de la ley de acción de masas, para la cual  $K_D$  es la constante de equilibrio del proceso de disociación.

$K_D$  corresponde a una medida que da cuenta de la afinidad del radioligando por el receptor y es igual a  $k_{-1}/k_1$ , donde  $k_1$  es la constante de velocidad para la asociación y  $k_{-1}$  es la constante de velocidad para la disociación.  $[\text{RL}]$  es la concentración del radioligando no enlazado,  $[\text{R}]$  es la concentración del receptor no enlazado y  $[\text{RLRecep}]$  es la concentración

del complejo radioligando-receptor. Cuando la concentración del radioligando es igual a  $K_D$ , la mitad de los receptores en equilibrio estarán ocupados. Si el receptor presenta una alta afinidad por el radioligando,  $K_D$  será baja ya que se necesitará una baja  $[RL]$  para ocupar la mitad de los receptores. Es necesario tener en cuenta que la ley de acción de masas no es útil en todas las situaciones, sino solamente cuando:

- Todos los receptores son igualmente accesibles al radioligando.
- Los receptores están libres o enlazados con el radioligando.
- No existe más de un estado de afinidad.
- El enlace es reversible y no altera al radioligando o al receptor

Los estudios de afinidad se realizan en una serie de pasos que se mencionan a continuación (Figura 28).

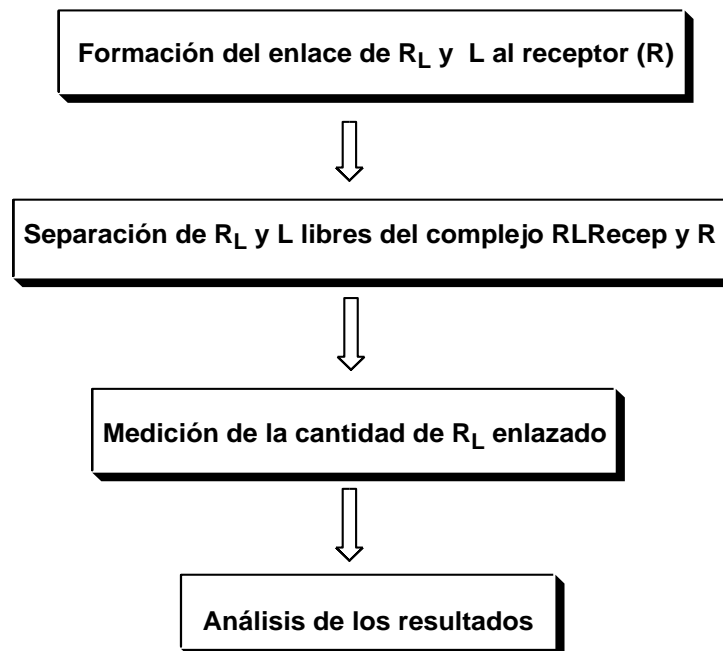


Figura 28: Proceso del estudio de afinidad por desplazamiento de radioligando.

Para una obtener una buena aproximación del enlace formado entre R y RL o L, se deben considerar los siguientes aspectos:

- El isótopo de marcaje.
- La actividad específica y la estabilidad del RL.

- La concentración de la proteína.
- La composición del buffer y su pH final.
- Duración y temperatura de la incubación.

Una vez alcanzado el equilibrio, el RL y el L libres son separados de los complejos RL-Recep y L-Recep usando filtración (cuando  $K_D$  tiene un valor igual o menor a  $10^{-8}$  M) o centrifugación (cuando  $K_D$  tiene un valor mayor  $10^{-8}$  M).

La cantidad de complejo RL-Recep formado puede ser estimada midiendo la cantidad de radioactividad sobre el filtro o la pastilla (dependiendo el método de separación) usando un contador de centelleo (en nuestro caso).

#### *4.3.1.3 Ensayos de desplazamiento de un radioligando. Fundamento.*

En el presente estudio, se procedió a determinar la afinidad de un ligando no marcado por un receptor, razón por lo cual, fue necesario realizar un ensayo de desplazamiento de RL. En estos experimentos de competición, la concentración del RL es fija, mientras la concentración del ligando no marcado se varia para evaluar la competencia por el enlace con el receptor. El parámetro de enlace obtenido a partir de este experimento es la concentración del ligando no marcado que desplaza el 50 % del RL enlazado, lo que se denomina como "valor de  $IC_{50}$ ". La  $IC_{50}$  es influenciada por la concentración y la afinidad del radioligando por el receptor. Si la concentración del RL es muy alta, se necesitarán concentraciones más altas del ligando no marcado para competir con él. Al mismo tiempo, la concentración no puede ser muy baja ya que los datos obtenidos podrían no ser confiables. El valor de  $IC_{50}$  puede ser convertido a  $K_i$  usando la ecuación de Cheng y Prusoff (Figura 29).

$$K_i = \frac{IC_{50}}{\left(1 + \frac{[RL]}{K_D}\right)}$$

Figura 29: Ecuación de Cheng y Prusoff donde  $IC_{50}$  es la concentración del ligando no marcado que inhibe el 50% de la unión del radioligando,  $[RL]$  es la concentración del radioligando usado y  $K_D$  es la afinidad del radioligando por el receptor.

El valor de  $K_i$  es definido como la constante de equilibrio de la disociación para un inhibidor competitivo (agonista o antagonista) del receptor. En otras palabras, el valor de  $K_i$  para un ligando no marcado debería ser el mismo que el valor de  $K_D$  obtenido usando la misma droga marcada. Si el valor de  $K_i$  es bajo, la afinidad del receptor por el inhibidor es alta.



## 4.4 Ensayos de inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE)

### 4.4.1 Metodología

La actividad colinesterásica se determinó espectrofotométricamente siguiendo el método descrito por Ellman<sup>108, 109</sup>. Este método se basa en la siguiente reacción:

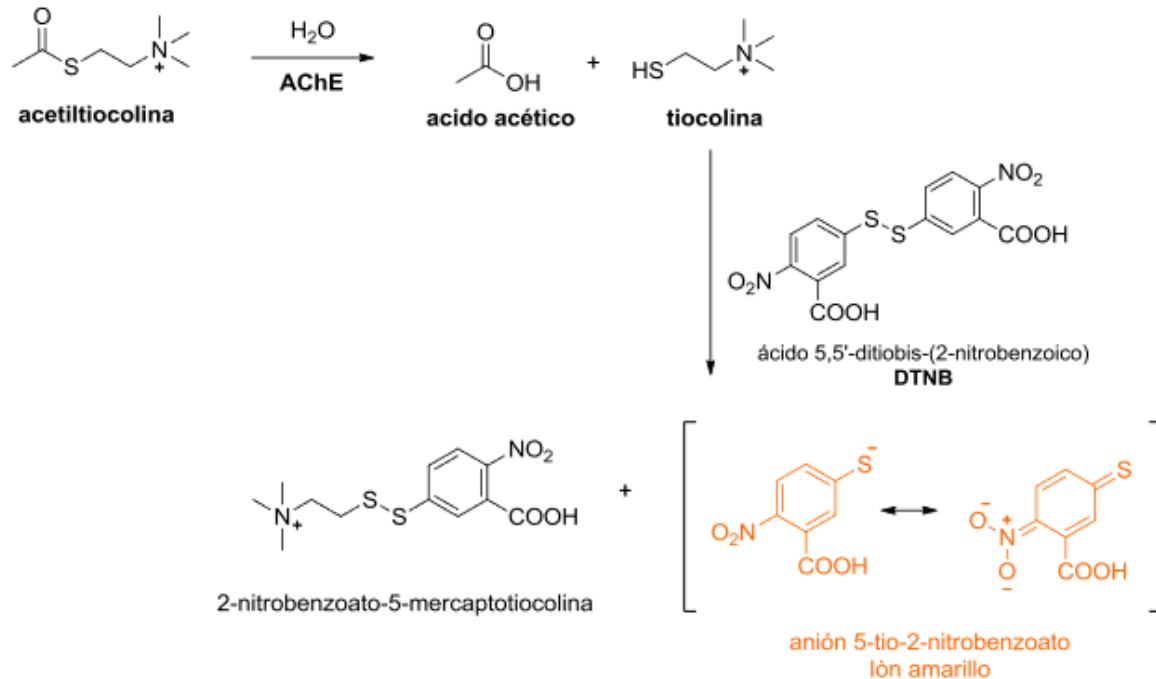


Figura 30. Esquema de reacción para el método de Ellman en ensayos de inhibición de colinesterasas.

La primera parte de la reacción consiste en la degradación de la acetiltiocolina por parte de la AChE, produciéndose tiocolina y acetato. En la segunda parte se produce la unión de la tiocolina al reactivo DTNB (5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoic acid, reactivo de Ellman) dando lugar al 5-tio-2 nitrobenzoato (TNB,  $\lambda = 412$  nm, color amarillo), indicador de la cantidad de acetiltiocolina degradada por la AChE

### Procedimiento experimental

Los ensayos se llevaron a cabo en un volumen total de 200  $\mu$ L por pocillo que contenían plasma sanguíneo humano (180  $\mu$ g proteína/mL), 250  $\mu$ M de DTNB, los compuestos sintetizados disueltos en dimetilsulfóxido (DMSO), 250  $\mu$ M de acetilcolina (ATC) en buffer fosfato (PB) 0,1 M a pH 8,0. El procedimiento general consistió en mezclar el plasma

sanguíneo, el DTNB y los compuestos sintetizados en el PB 0,1 M a pH 8,0 e incubar la mezcla a 25°C por 10 minutos. Después de la incubación, se le adicionó ATC a la mezcla. La aparición del anión de color amarillo (5-tio-2-nitrobenzoato) fue registrada por 10 minutos midiendo la absorbancia generada a 412 nm usando un lector de placas Biotek-Synergy MX (Biotek Instruments Inc, Winoosky, VT, USA). DMSO al 5% v/v fue usado como control positivo (100% de actividad) y donepezilo como método de control de la actividad inhibitoria de acetilcolinesterasa. Inicialmente se realizó un screening con todos los compuestos sintetizados preparados a una concentración final de 100  $\mu$ M, los compuestos que presentaron una inhibición mayor al 50% de la actividad de acetilcolinesterasa fueron usados para la obtención de curvas de inhibición entre los 100 a 0.01  $\mu$ M para obtener los valores de IC<sub>50</sub> para cada compuesto. Los datos fueron graficados usando GraphPad Prism 7.01 (Graph Pad, SanDiego, CA). Todos los valores obtenidos corresponden al promedio  $\pm$  D.S de tres ensayos independientes por triplicado.

## 4.5 ESTUDIOS DE ACOPLAMIENTO MOLECULAR INDUCIDO (DOCKING)

### 4.5.1 Metodología

Para realizar estos estudios de acoplamiento molecular inducido, fueron seleccionados aquellos compuestos que presentaron los mejores y peores valores de afinidad de la familia sintetizada. Para ello se utilizó la estructura cristalizada del transportador de serotonina humano (hSERT código PDB: 5I73)<sup>110</sup> y la estructura cristalizada de la enzima acetilcolinesterasa humana (hAChE código PDB: 4EY7).

Los ligandos co-cristalizados (S)-citalopram y R y S donepezilo fueron utilizados para validar el protocolo en el caso del SERT y AChE respectivamente. Los resultados muestran las poses de acoplamiento más estables para los compuestos analizados.

### 4.5.3 Acoplamiento molecular inducido en TSER.

Los compuestos estudiados en el TSER fueron analizados utilizando como referencia el modo de unión del inhibidor (S)-citalopram, de acuerdo con lo descrito en la estructura cristalizada<sup>110</sup>.

El modo de unión de (S)-citalopram puede describirse dividiendo el sitio de unión en los subsitios A, B y C<sup>111</sup> (Figura 31). Las interacciones principales que se observan en la estructura cristalizada se resumen a continuación<sup>110</sup>:

- 1) El grupo amino se sitúa en el subsitio A e interacciona con Asp98
- 2) Tyr95 establece una interacción catión- $\pi$  con el grupo amino
- 3) Ser336 participa en la coordinación de los iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$
- 4) En el subsitio B, Tyr176 establece interacciones hidrofóbicas con el grupo fluoro-fenil de (S)-citalopram.
- 5) Phe341 forma interacciones aromáticas con la cara del grupo cianofalano



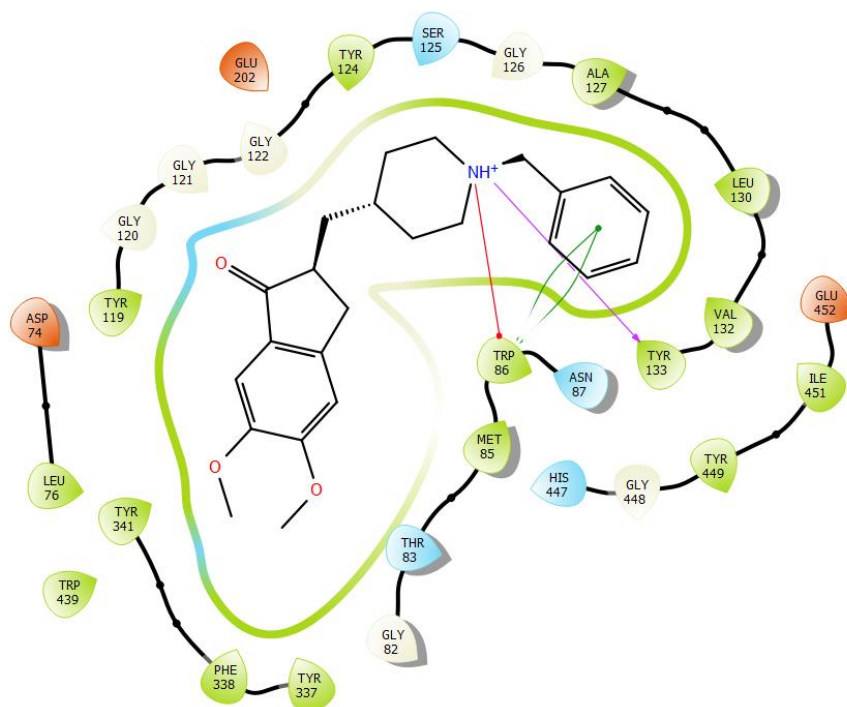


Figura 32. Modo de unión descrito para (S)- Donepezilo en el sitio de unión central de hAChE. En verde se representan las interacciones hidrofóbicas, en rojo las interacciones pi-cación y en rojo-azulado las interacciones por puente salino.

## 4.6 RESULTADOS Y DISCUSIONES

A continuación, se presentan los resultados experimentales de los ensayos de desplazamiento por competencia de radioligando e inhibición enzimática para los 25 derivados indólicos sintetizados. Además de los estudios de acoplamiento molecular inducido con el fin de discutir en detalle las interacciones moleculares que fundamentan en principio las mejores y peores afinidades en hTSER y hAChE.

### 4.6.1 Inhibición de acetilcolinesterasa (hAChE)

Los ensayos de inhibición de hAChE para todos los compuestos sintetizados (3-27) (figura 33) fueron realizados en el laboratorio de Farmacología y Toxicología Molecular del Departamento de Farmacia de la Facultad de Química y Farmacia, Pontificia Universidad Católica de Chile bajo la supervisión del Dr. Mario Faúndez Cáceres, acorde al método de Ellman<sup>108-109</sup>. En este estudio, se utilizó donepezilo (DPZ) como inhibidor de la hAChE control. Los valores de IC<sub>50</sub> (μM) son resumidos en la tabla 1. Todos los compuestos fueron solubles a pH = 7,4 a una concentración de 100 μM o DMSO 1% v/v.

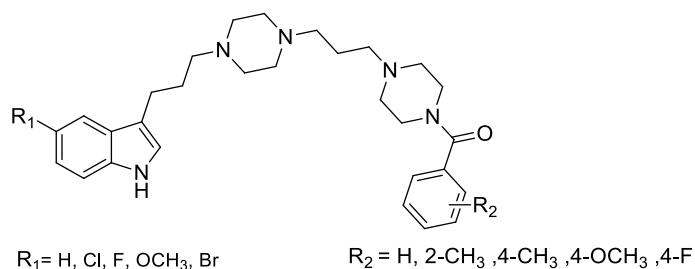


Figura 33. Estructura general de los 25 derivados indólicos sintetizados

Compuesto			IC <sub>50</sub> sobre actividad hAChE humana (μM)
Nº	R1	R2	
	<b>Donopezilo</b>		<b>2,17 ± 0,15</b>
<b>3</b>	<b>H</b>	<b>H</b>	<b>10,62 ± 8,78</b>
4	H	2CH <sub>3</sub>	18,99 ± 1,30
5	H	4CH <sub>3</sub>	11,55 ± 11,56
6	H	4 OMe	31,38 ± 16,36
7	H	4F	14,72 ± 2,65
8	Cl	H	15,29 ± 14,98
9	Cl	2CH <sub>3</sub>	27,47 ± 24,99
10	Cl	4CH <sub>3</sub>	11,57 ± 8,34
11	<b>Cl</b>	<b>4 OMe</b>	<b>10,79 ± 6,99</b>
12	Cl	4F	19,17 ± 13,71
13	OMe	H	16,56 ± 11,95
14	OMe	2CH <sub>3</sub>	60,40 ± 79,78
15	OMe	4CH <sub>3</sub>	29,52 ± 34,48
16	<b>OMe</b>	<b>4 OMe</b>	<b>10,12 ± 5,08</b>
17	OMe	4F	39,13 ± 28,95
18	F	H	15,84 ± 9,53
19	<b>F</b>	<b>2CH<sub>3</sub></b>	<b>5,80 ± 3,87</b>
20	F	4CH <sub>3</sub>	14,10 ± 8,29
21	F	4 OMe	27,08 ± 29,49
22	F	4F	27,21 ± 17,99
23	Br	H	19,54 ± 14,72
24	Br	2CH <sub>3</sub>	40,22 ± 31,85
25	Br	4CH <sub>3</sub>	20,00 ± 26,55
26	Br	4 OMe	27,87 ± 31,45
27	Br	4F	22,70 ± 18,62

**Tabla 1. Valores de inhibición AChE en μM para los derivados indólicos sintetizados**

Nuestros resultados revelaron que más de la mitad de los compuestos sintetizados exhibieron una significativa actividad contra hAChE, donde el compuesto 3 (R<sub>1</sub>= R<sub>2</sub>=H) exhibió uno de los valores más alto de inhibición de las series sintetizadas (10,62 μM). Resultado que se contrasta con estudios previos de análogos estructurales, que presentaron valores de inhibición mayores a 50 μM<sup>104</sup> (figura 34), y que pueden estar relacionados con la libertad conformacional de la estructura 3.

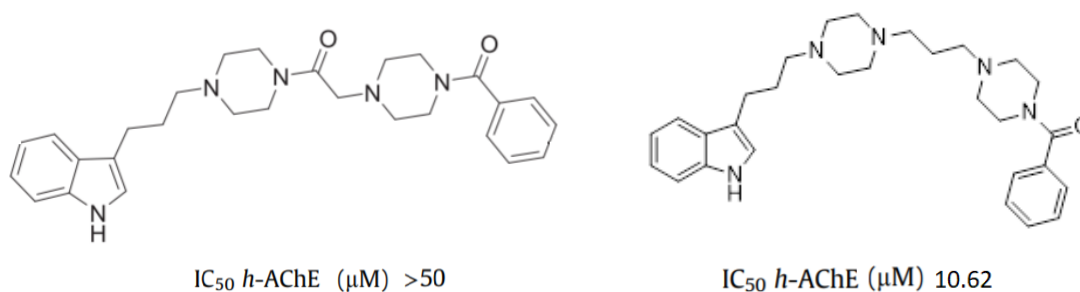


Figura 34. Comparación de actividad inhibitoria entre un derivado indólico no sustituido previamente reportado<sup>105</sup> (izquierda) y el compuesto final 3 (derecha).

Al interpretar los resultados farmacológicos se pudo observar que en derivados indólicos C-5 metoxilados (R<sub>1</sub>), la presencia de este grupo donador de electrones, presentó buenos y moderados valores de inhibición (10 a 39  $\mu\text{M}$ ), con excepción del compuesto 14 (R<sub>1</sub>= OCH<sub>3</sub> R<sub>2</sub>=2-CH<sub>3</sub>, IC<sub>50</sub> = 60,40  $\mu\text{M}$ ). Por ejemplo, la sustitución de H por OCH<sub>3</sub> en el compuesto 6 (R<sub>1</sub>=H R<sub>2</sub>=OCH<sub>3</sub>, IC<sub>50</sub> = 31,38  $\mu\text{M}$ ), genera uno de los compuestos más activos de este estudio, que corresponde al compuesto 16 (R<sub>1</sub>= OCH<sub>3</sub> R<sub>2</sub>=OCH<sub>3</sub>, IC<sub>50</sub> = 10,12  $\mu\text{M}$ ).

Por otro lado, la presencia de un átomo de hidrógeno o flúor en la posición C-5-indólica, condujo a compuestos de moderada a muy buena actividad, dependiendo del sustituyente en la benzamida. Así, el compuesto 4 (R<sub>1</sub>= H, R<sub>2</sub>=2-CH<sub>3</sub>, IC<sub>50</sub> = 18,99  $\mu\text{M}$ ) de moderada actividad, cambia de forma determinante su concentración media de inhibición, al sustituir el átomo de H por F, conduciendo de esta forma al compuesto más activo de la serie, 19 (R<sub>1</sub>= F R<sub>2</sub>=2-CH<sub>3</sub>, IC<sub>50</sub> = 5,80  $\mu\text{M}$ ), con valores de IC<sub>50</sub> en el rango de DPZ (IC<sub>50</sub> = 2,17  $\mu\text{M}$ ). La importancia del flúor en el anillo indólico, átomo estéricamente equivalente al hidrógeno, puede explicarse en términos de su elevada electronegatividad, debido a su efecto inductivo fuertemente atractor (-I), que genera una deficiencia electrónica en el anillo indólico, y a su vez un incremento de la acidez en los hidrógenos de los carbonos vecino, pudiendo este marco estructural estabilizarse con residuos aromáticos  $\pi$ -donores. Además, es importante mencionar que la serie con un átomo de Cl en R<sub>1</sub> (compuestos 8 -12), presenta moderado y bueno valores de inhibición, donde podemos destacar el compuesto 11 (R<sub>1</sub>= Cl R<sub>2</sub>=4-OCH<sub>3</sub>, IC<sub>50</sub> = 10,79  $\mu\text{M}$ ), que representa uno de los mejores resultados de este estudio. Dichos valores pueden ser explicados por la posibilidad que presenta este átomo en la formación de puentes de halógeno. Recientemente, estos enlaces han sido



observados en sistemas biológicos donde podrían cumplir un papel importante en la afinidad que muestran algunas moléculas. Antecedente que puede dar respuesta a la moderada actividad de la serie bromada en la posición C-5-indólica, con valores que van desde 19.54  $\mu\text{M}$  a 27.87  $\mu\text{M}$ . Con excepción del compuesto 24 ( $R_1 = \text{Br}$ ,  $R_2 = 2\text{-CH}_3$ ,  $\text{IC}_{50} = 40,22 \mu\text{M}$ ).

En relación a la sustitución de la porción benzamídica, el cambio de sustituyente metil ( $\text{CH}_3$ ) del carbono 2 al 4 conduce, en la mayoría de los casos, un aumento de la actividad, con excepción de la serie que presenta un átomo de flúor en C-5, por ejemplo, los derivados 19 ( $R_1 = \text{F}$ ,  $R_2 = 2\text{-CH}_3$   $\text{IC}_{50} = 5,80 \mu\text{M}$ ) y 20 ( $R_1 = \text{F}$ ,  $R_2 = 4\text{-CH}_3$   $\text{IC}_{50} = 14,10 \mu\text{M}$ ).

De los compuestos 3 a 27, la serie que exhibe las afinidades más altas corresponde a los derivados que no presenta sustitución en el C-5 de anillo indólico, con valores de inhibición menor a 20  $\mu\text{M}$ , con excepción del derivado 6 ( $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = 4\text{-OCH}_3$   $\text{IC}_{50} = 31,38 \mu\text{M}$ ). Esta serie presenta uno de los cuatro compuestos de mayor afinidad de este estudio, que corresponde al derivado 3 ( $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{H}$   $\text{IC}_{50} = 10,62 \mu\text{M}$ ). Los restantes compuestos con alta actividad, corresponden a los derivados 11 ( $R_1 = \text{Cl}$ ,  $R_2 = 4\text{-OCH}_3$   $\text{IC}_{50} = 10,79 \mu\text{M}$ ) y 16 ( $R_1 = \text{OCH}_3$ ,  $R_2 = 4\text{-OCH}_3$   $\text{IC}_{50} = 10,12 \mu\text{M}$ ). En relación con esto último, es necesario mencionar que en estudios previos se ha reportado que los derivados con un sustituyente metoxilo en el C-5 del anillo indólico presentan bajos valores de inhibición, mayores a 50  $\mu\text{M}$ <sup>104</sup>, Por lo que en esta oportunidad el compuesto 16 representa un resultado interesante, figura 35.

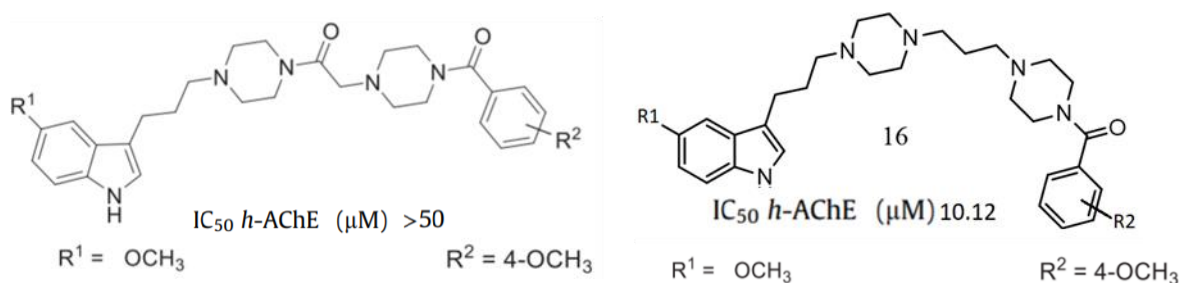


Figura 35. Comparación de actividad inhibitoria entre un derivado indólico C5 metoxilado previamente reportado<sup>23</sup> (izquierda) y el compuesto final 16.

Finalmente, el compuesto 19 ( $R_1 = F$ ,  $R_2 = 2\text{-Me}$   $IC_{50} = 5,80 \mu\text{M}$ ), es el derivado indólico con la actividad más alta de los compuestos estudiados. El cual corresponde a un resultado esperado, debido a que se han reportado buenas actividades de inhibición a hAChE en derivados con átomos de flúor en el C-5 del anillo con valores menores a  $5 \mu\text{M}$ <sup>104</sup>.

Cabe destacar que en esta misma serie se encuentran los compuestos 18 ( $R_1 = F$ ,  $R_2 = H$   $IC_{50} = 15,84 \mu\text{M}$ ) y 20 ( $R_1 = F$ ,  $R_2 = 4 \text{ CH}_3$ ,  $IC_{50} = 14,10 \mu\text{M}$ ) que también presentan buenos valores de inhibición.

Estos resultados indican que los derivados arilacetilpiperazinil-propilpiperazinil-propil-1H-indoles con un apropiado patrón de sustitución pueden generar actividades relevantes de inhibición sobre hAChE, ofreciendo un espacio químico notablemente amplio para una mayor optimización.

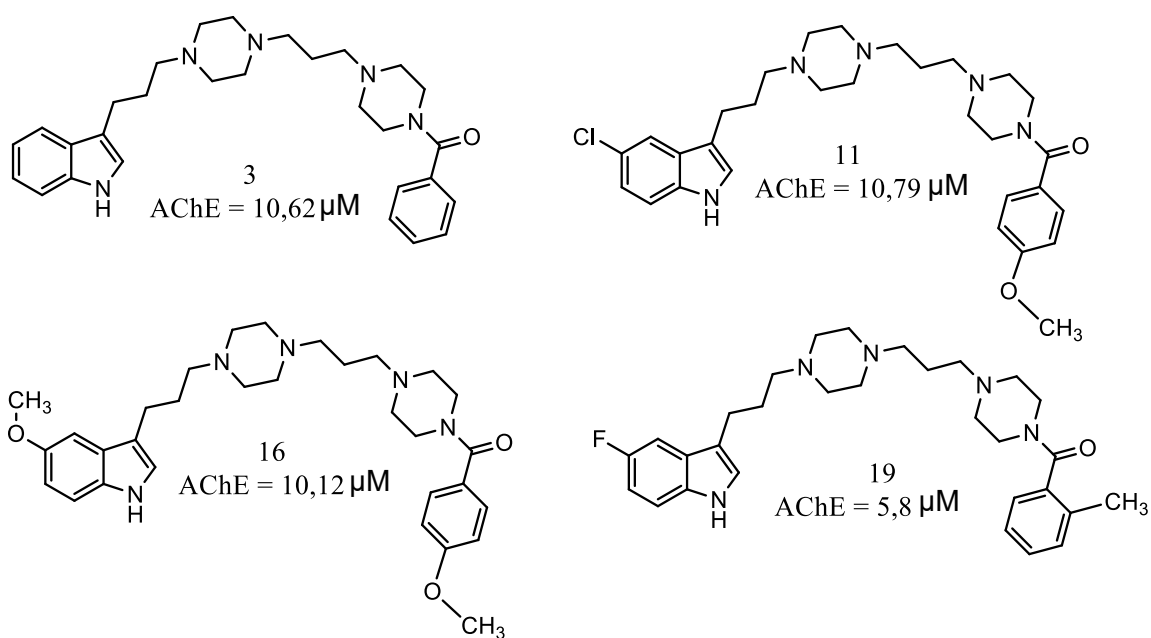


Figura 36. Compuestos que presentan una mayor potencia inhibitoria sobre la enzima hAChE.



#### 4.6.2.1 Cálculos de Pka y posibles estados de protonación de nitrógenos básicos

Los compuestos más activos de las series sintetizadas presentan una amplia variabilidad conformacional, lo que penaliza sus afinidades de unión debido a la gran cantidad de enlaces rotables. Al estudiar las estructuras, se observa que existen varios estados de protonación posibles a pH fisiológico, de acuerdo a esto se podría esperar que los derivados 3, 16 y 19 podrían exhibir una monoprotonación, y una diprotonación de un segundo nitrógeno básico, generando estructuras dicatiónicas que darían muy probablemente diferentes estados conformacionales en función de las distancias presentes entre los amonios cuaternarios.

Con el fin de dar respuesta a la probabilidad de distintos estados de protonación a pH fisiológico de los compuestos ensayados *in vitro*, se realizaron estudios teóricos para determinar el pKa y la energía potencial de los compuestos 3 ( $R_1 = H$ ,  $R_2 = H$ ) y 14 ( $R_1 = OCH_3$ ,  $R_2 = 2CH_3$ ), debido a que sus estudios de modelamiento molecular inducido fueron realizados considerando solo un estado de protonación, en comparación con los demás compuestos seleccionados, donde se favorece un estado diprotonado.

A cada compuesto se le calculó el valor de pKa mediante el algoritmo de cálculo Epik. Los cálculos fueron llevados a cabo utilizando agua como disolvente a pH 7.0. Inicialmente los nitrógenos piperazínicos (I) tienen una probabilidad de protonación muy similar. Dependiendo de cuál nitrógeno se protone primero eso determinará cuál otro nitrógeno y en qué proporción podría protonarse en segundo lugar. Por lo tanto, no es posible asegurar un único modo de unión de cada compuesto. Los modos de unión reportados a continuación, para los compuestos 3 y 14, están en base a la forma de protonación más probable, y a su mejor scoring de docking.

### Compuesto 3 (R<sub>1</sub>= H, R<sub>2</sub>= H)

El resultado de los cálculos realizados para predecir los valores de pKa de los posibles nitrógenos protonables del compuesto 3, arrojo que la piperazina central es el sistema más básico, y ambos nitrógenos A y B tienen casi la misma basicidad. Es de esperar que primero se protone un nitrógeno piperazínico, (**A**) o (**B**), y que luego en menor proporción hayan moléculas diprotonadas en **C**. El valor de pKa de C se verá afectado por cuál nitrógeno (**A**) o (**B**) se protona primero. Por lo tanto, la actividad inhibitoria de estos compuestos puede deberse a que el estado molecular que inhiba la enzima sea la que a su vez tiene la menor probabilidad de existir a pH fisiológico de 7.0.

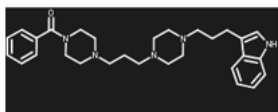
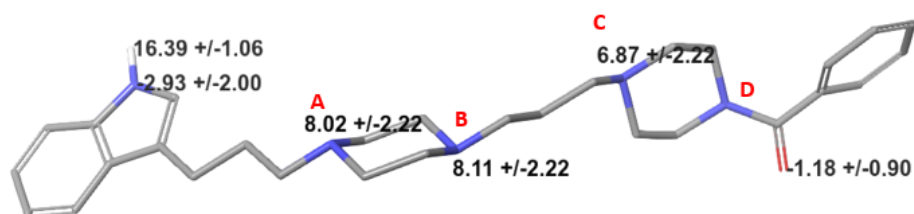


Figura 38. Valores de pKa calculados utilizando el programa Epik para los nitrógenos piperazínicos del compuesto 3

De acuerdo al cálculo, el nitrógeno piperazínico de 8.11 (**B**) tiene la mayor probabilidad de protonación. Al protonarse (**B**), se reducen los valores de pKa del resto. Una especie diprotonada posible sería en el nitrógeno piperazínico (**C**) de 5.86.

Dado el valor de pKa de (**C**) 5.86, la tasa de compuesto monoprotonado *versus* diprotonado a pH 7.0 es de **10:1** respectivamente.

Por otra parte, si se protona inicialmente el nitrógeno (**A**) la situación cambia. El Valor de pKa de (**C**) es de 6.74. En tal caso si llegara a diprotonarse en (C), la proporción de monoprotonado *versus* diprotonado sería de **1:1**.

Se realizó finalmente un cálculo de energía potencial total en el vacío de cada molécula mediante el método semiempírico AM1 en Gaussian, con el fin de estimar las diferencias energéticas entre las formas mono y diprotonadas. La forma diprotonada más probable presenta una energía que es más del doble que la de la forma monoprotonada.

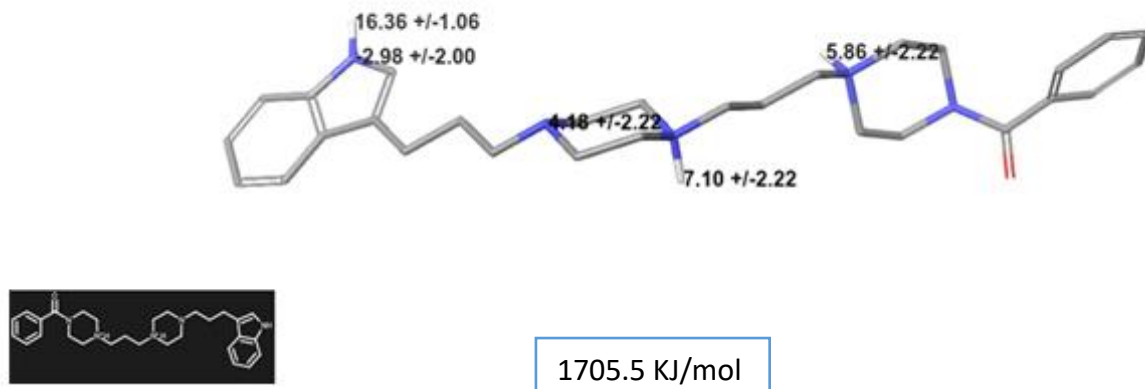
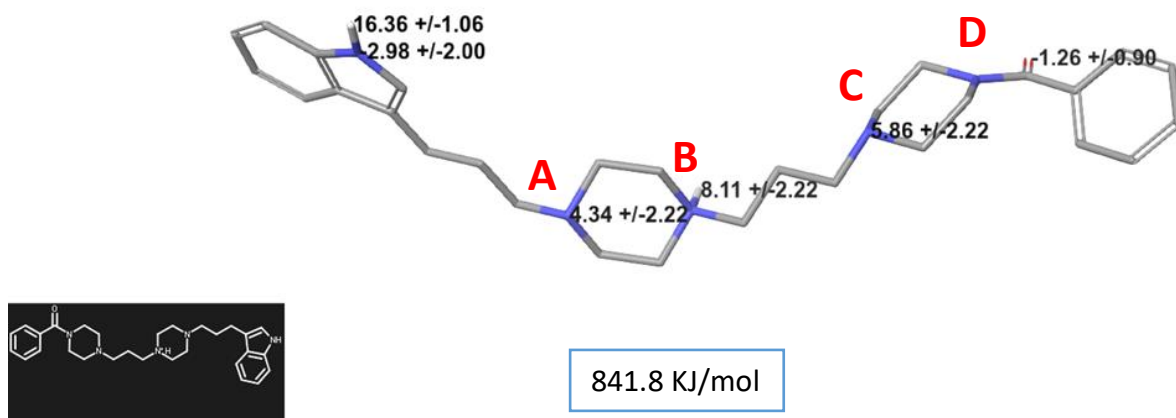


Figura 39. Valores de energía potencial total determinados mediante métodos semiempíricos para los posibles estados mono y diprotonados del compuesto 3

### Compuesto 14 (R<sub>1</sub>= OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>= 2CH<sub>3</sub>)

El cálculo para predecir los valores de pKa del compuesto 14 fue realizado utilizando el mismo procedimiento anteriormente descrito a través del programa computacional Epik. Los resultados dan a conocer que no se presentan diferencias en los valores de pKa los nitrógenos (A), (B), y (C) dado la lejanía de los sustituyentes. El sustituyente metoxilo no presenta un afecto determinante el valor de pKa del nucleo indolico, lo cual no es relevante en este caso. Por lo tanto, para este compuesto rige el mismo análisis y conclusiones que se presentaron para el compuesto 3.

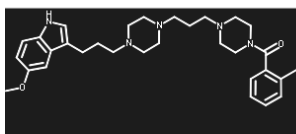
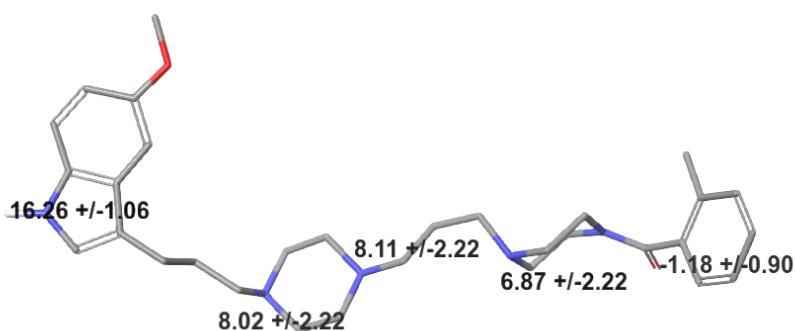


Figura 40. Valores de pKa calculados utilizando el programa Epik para los nitrógenos piperazínicos del compuesto 14

#### 4.6.2.2 Resultados del estudio docking para los compuestos más relevantes en la inhibición de hAChE

Entre los compuestos más activos de la serie, el derivado 3 ( $R_1=H$ ,  $R_2=H$ ,  $IC_{50}=10,62\ \mu M$ ) figura 41, presenta interacciones del tipo: pi-cación con Trp86 y Tyr133 a través del nitrógeno protonado ( $NH^+$ ) de la piperazina (I), una interacción del tipo pi-stacking entre Trp86 y el anillo indólico. Por otro lado, una interacción con Tyr341 con el anillo bencénico de la benzamida de tipo T-shaped. El análisis de los estudios docking nos permite concluir que este ligando se dispone a lo largo de la garganta, mediante la interacción de la porción estructural indolil-propil-piperazina, sitio anionico (AS) dada su interacción con Trp86 y Tyr 133 de forma análoga a lo descrito para el inhibidor DPZ y el sitio anionico periférico (PAS) debido a su interacción con Tyr341, explicando su valor de inhibición *in vitro*.

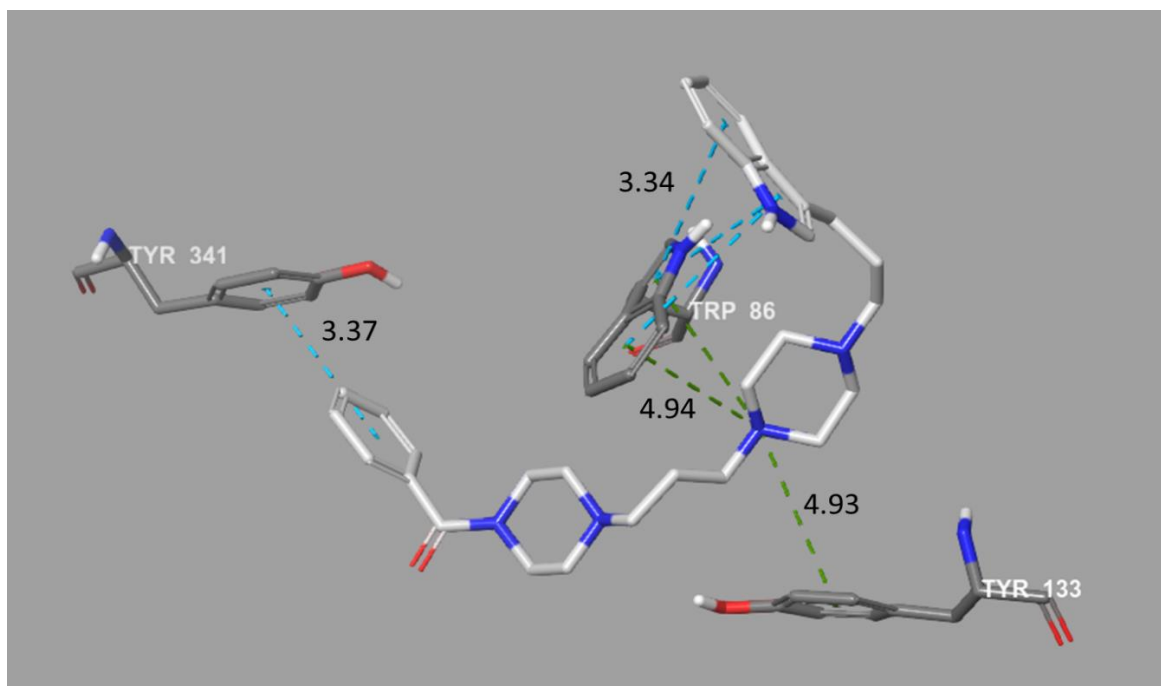


Figura 41. Mejor pose e interacción en la enzima acetilcolinesterasa (AChE) (PDB: 4EY7) para el compuesto 3 ( $R_1=H$ ,  $R_2=H$ ,  $IC_{50}=10,62\ \mu M$ ), Glide XP Score = -14.793. Se aprecian interacciones con los residuos Trp86, Tyr133 y Tyr341 sus respectivas distancias de enlaces en Å.



El compuesto 16 (Verde,  $R_1 = \text{OCH}_3$ ,  $R_2 = 4 \text{ OCH}_3$ ,  $\text{IC}_{50} = 10,12 \mu\text{M}$ ), que corresponde al segundo compuesto más activo de la serie, establece cuatro interacciones por puentes de hidrógeno, que corresponden a: Thr83 con el grupo metoxilo del C-5 del anillo de indol, Ser125 con la porción NH indólica, Asp131 y el grupo metoxilo de la porción benzamida, y Glu452 con el  $\text{NH}^+$  de la piperazina distal (II). Esta última establece además una interacción iónica con Glu452 y una interacción pi-cación con Tyr449 (figura 42). El análisis del estudio docking nos permite observar que este ligando adopta un modo de unión similar a DPZ solo por parte del anillo indólico, el cual se orienta de forma análoga al núcleo indanónico de este inhibidor. En base a esto, este compuesto no mantiene interacciones claves presentes en DPZ (Trp86, Tyr133), pero presenta interacción con otros residuos que son importantes a nivel de esta enzima. Ser125 es parte del PAS y por otro lado, Tyr449 y Glu452 han sido descritos en la bibliografía como residuos que forman parte de la conocida “Puerta trasera” o back door de hAChE<sup>114</sup> lo que nos permite inferir que el posible modo de acción de este ligando está relacionado con una inhibición de tipo alosterica.

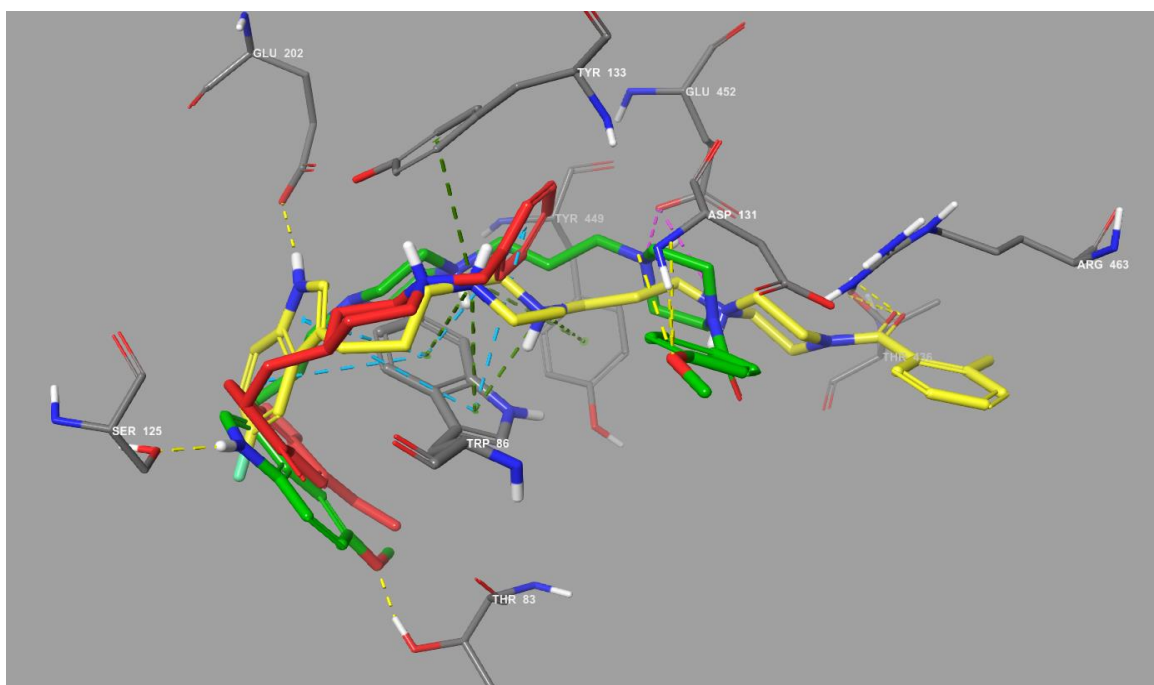


Figura 42. Mejor pose e interacción en la enzima acetilcolinesterasa (PDB: 4EY7) para el compuesto 16 (Verde,  $R_1 = \text{OCH}_3$ ,  $R_2 = 4 \text{ OCH}_3$ ,  $\text{IC}_{50} = 10,12 \mu\text{M}$ ) Glide XP Score = -15.178, compuesto 19 ( $R_1 = \text{F}$ ,  $R_2 = 2\text{CH}_3$ ,  $\text{IC}_{50} = 5,8 \mu\text{M}$ ) (amarillo) y Donepezilo (rojo). Se aprecian interacciones con los residuos Thr83, Ser125, Asp131, Tyr449 y Glu452.

El compuesto 19 (Amarillo,  $R_1 = F$ ,  $R_2 = 2CH_3$ ,  $IC_{50} = 5,8 \mu M$ ) corresponde al derivado de mayor actividad inhibitoria. Establece dos interacciones por puentes de hidrogeno, que corresponden a: Glu202 con el NH de anillo indólico y Thr436 con el oxígeno del carbonilo de la porción benzamídica. Además, se detectaron interacciones del tipo pi-cati3n con Trp86 y Try131 y la piperazina protonada distal (I), adem3s de interacciones del tipo pi-stacking con el anillo ind3lico. Finalmente, la piperazina protonada (II) de la benzamida establece una interacci3n i3nica con Glu452. El an3lisis del estudio docking pone de manifiesto que este ligando se dispone en el fondo de la cavidad donde participa en interacciones de apilamiento arom3tico o pi-stacking y pi-cati3n con Trp86, adoptando una pose de uni3n similar a DPZ cercano al sitio anionico perif3rico (AP), por parte del anillo ind3lico y piperazina protonada (I) , validando nuevamente la importancia del sistema indolil-propil-piperazina, el cual a nivel global establece una interaccion de tipo dono-aceptor con la porci3n benzamidica, a trav3s de sus sustituyentes ( $R_1 = F$  ,  $R_2 = 2-CH_3$ ), este antecedente podr3a ser parte del fundamento de su buena actividad inhibitoria ( $5,8 \mu M$ ).

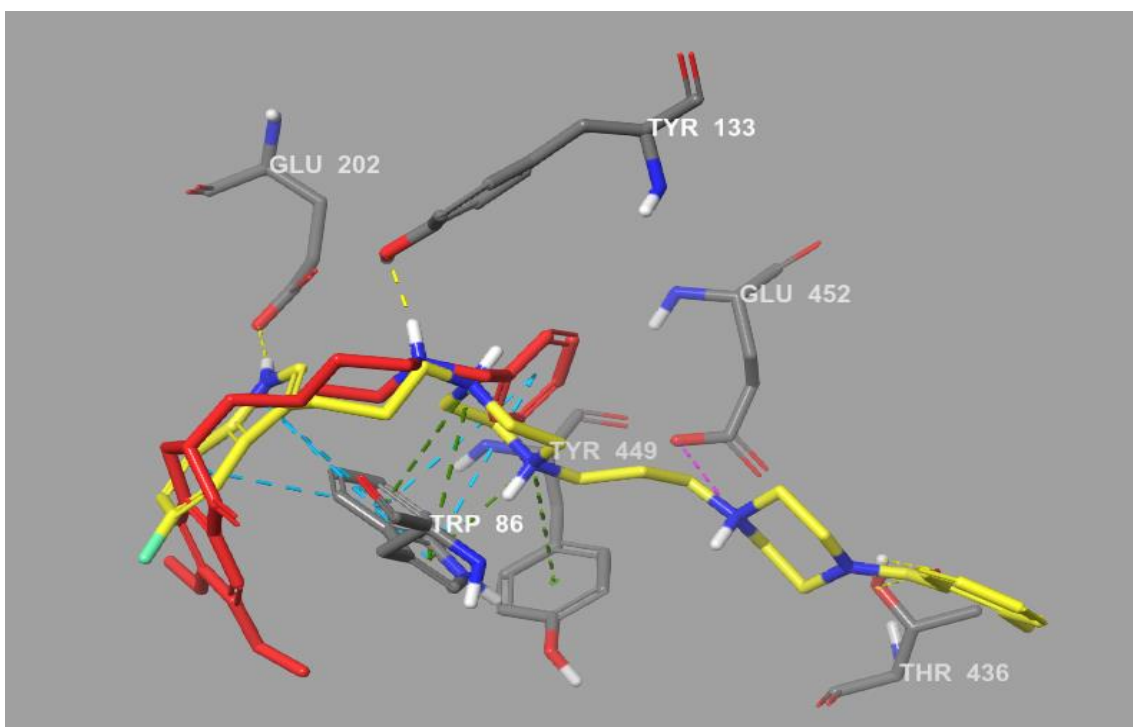


Figura 43. Mejor pose e interacci3n en la enzima acetilcolinesterasa (PDB: 4EY7) para el compuesto 19 (Amarillo,  $R_1 = F$ ,  $R_2 = 2CH_3$ ,  $IC_{50} = 5,8 \mu M$ ) Glide XP Score = -17.495 y donepezilo (rojo). Se aprecian interacciones con los residuos Glu452, Trp86, Glu202, Tyr 449 y Thr 436.

El compuesto 14 (blanco,  $R_1 = \text{OCH}_3$ ,  $R_2 = 2\text{CH}_3$ ,  $\text{IC}_{50} = 60,40 \mu\text{M}$ ) exhibió las siguientes interacciones: dos puentes de hidrogeno entre Glu84 y el NH indólico y Thr463 con el carbonilo CO del anillo benzamídico. Además de una interacción de tipo iónica entre Glu81 y el nitrógeno protonado de la piperazina (I). A diferencia de los derivados indólico previos, este compuesto no se orienta de modo similar al inhibidor donepezilo. Su disposición no logra establecer interacciones claves presentes en el compuesto de referencia (DPZ, Trp86 y Try131), quedando parte del núcleo indólico situado fuera de la cavidad de esta enzima. Antecedentes que fundamentarían su baja actividad inhibitoria, presentando este ligando el mayor valor de  $\text{IC}_{50}$  de la serie sintetizada. Su modo de unión, en comparación con el compuesto más activo de la serie y donepezilo se muestran en la figura 44.

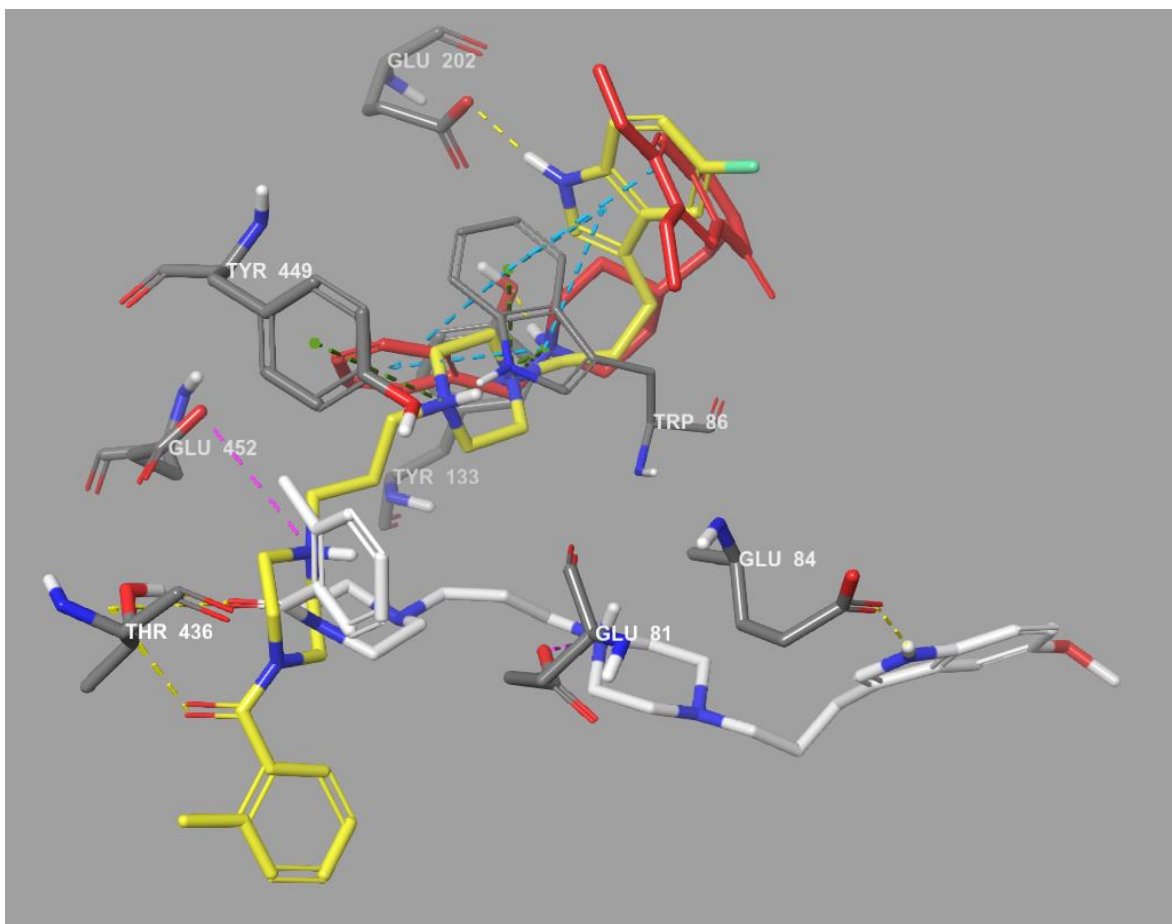


Figura 44. Mejor pose e interacción en la enzima acetilcolinesterasa (PDB: 4EY7) para el compuesto 14 (blanco,  $R_1 = \text{OCH}_3$ ,  $R_2 = 2\text{CH}_3$ ,  $\text{IC}_{50} = 60,40 \mu\text{M}$ ) Glide XP Score = -7123, ligando 19 (amarillo  $5,8 \mu\text{M}$ ) y donepezilo (rojo). Se aprecian interacciones con los residuos Glu81, Glu84 y Thr 436.

#### 4.6.3 Estudio de Afinidad por el transportador de serotonina (TSER)

El estudio de afinidad por el hTSER fue realizado en el Laboratorio de Farmacoquímica de la Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera bajo la supervisión del Dr. Patricio Iturriaga Vásquez.

En farmacología, los estudios de desplazamiento de radioligando constituyen una herramienta vital para evaluar potenciales ligandos que puedan interactuar con un receptor. En estos experimentos de competición, la concentración del radioligando no enlazado es fija, mientras la concentración del ligando no marcado se varia para evaluar la competencia por el enlace con el receptor. El parámetro de enlace obtenido a partir de este experimento es la concentración del ligando no marcado que desplaza el 50 % del radio ligando (RL) enlazado, lo que se denomina como “valor de IC<sub>50</sub>”. La IC<sub>50</sub> es influenciada por la concentración y la afinidad del radioligando por el receptor. A continuación, se presentan los resultados del estudio de afinidad para los veinticinco derivados indólicos sintetizados.

Compuesto			IC <sub>50</sub> sobre actividad TSER (μM)
Nº	R1	R2	
3	H	H	N.D
4	H	2CH <sub>3</sub>	8.84 ±0.79
5	<b>H</b>	<b>4CH<sub>3</sub></b>	<b>4.73 ±0.18</b>
6	H	4 OMe	N.D.
7	H	4F	N.D.
8	<b>Cl</b>	<b>H</b>	<b>4.09±0.39</b>
9	<b>Cl</b>	<b>2CH<sub>3</sub></b>	<b>1.12 ±0.15</b>
10	Cl	4CH <sub>3</sub>	N.D.
11	Cl	4 OMe	4.55±0.22
12	<b>Cl</b>	<b>4F</b>	<b>2.33±0.11</b>
13	OMe	H	N.D.

14	OMe	2CH <sub>3</sub>	N.D.
15	OMe	4CH <sub>3</sub>	N.D.
16	OMe	4 OMe	N.D.
17	OMe	4F	N.D.
18	F	H	N.D.
19	F	2CH <sub>3</sub>	8.27
20	F	4CH <sub>3</sub>	N.D.
21	F	4 OMe	N.D.
22	<b>F</b>	<b>4F</b>	<b>2.39±0.19</b>
23	<b>Br</b>	<b>H</b>	<b>1.92±0.13</b>
24	Br	2CH <sub>3</sub>	N.D.
25	Br	4CH <sub>3</sub>	N.D.
26	Br	4 OMe	N.D.
27	Br	4F	N.D.

**N.D: No desplaza**

**Tabla 2. Valores de afinidad de *h*TSER en  $\mu$ M para los derivados indólicos sintetizados**

El análisis de los resultados pone de manifiesto que más de la mitad de los compuestos sintetizados no logran desplazar [<sup>3</sup>H]-paroxetina de *h*TSER en experimentos de unión. Los compuestos que logran desplazar al ligando marcado lo hacen en concentraciones en el rango de micromolar ( $\mu$ M), en comparación con los estándares utilizados para estos experimentos (citalopram 3,0 nM y fluoxetina 3,15 nM).

Entre los 25 compuestos sintetizados, solo 9 derivados indólicos logran desplazar al ligando marcado radiactivamente. En base a estos resultados, podemos observar que el derivado sin sustituir a nivel de ambos núcleos aromáticos (derivado 3 R<sub>1</sub>= H, R<sub>2</sub>= H ND.), no logra desplazar al radio ligando marcado en el rango de concentración estudiado. Sin embargo, al modificar el sustituyente R<sub>1</sub>, correspondiente al C-5 del núcleo indólico, se observa un aumento significativo en la afinidad para 2 de los 3 sustituyentes halogenados en esta posición. Así podemos observar este efecto en los derivados 8 (R<sub>1</sub>= Cl, R<sub>2</sub>=H IC<sub>50</sub>= 4,09  $\mu$ M) y 23 (R<sub>1</sub>= Br, R<sub>2</sub>=H IC<sub>50</sub>= 1,92  $\mu$ M). Este aumento en la afinidad por el receptor puede

explicarse en términos de la electronegatividad de estos átomos, debido a su efecto inductivo negativo (-I), que genera una deficiencia electrónica en el anillo indólico, y un incremento de la acidez en los hidrógenos vecinos que se estabilizaría con residuos aromáticos  $\pi$ -donores. Estos últimos resultados presentan notables diferencias en relación a estudios anteriores, donde se establece que la introducción de un átomo de flúor en la posición C-5 del resto indólico genera un aumento en la afinidad<sup>102, 103,105</sup>. En relación con lo anteriormente señalado, en nuestro caso la serie con flúor en C-5 solo logra desplazar al radioligando en dos derivados que corresponden a los compuestos 19 ( $R_1= F$ ,  $R_2= CH_3$   $IC_{50} = 8.27 \mu M$ ) y 22 ( $R_1= F$ ,  $R_2= 4F$   $IC_{50} = 2.39 \mu M$ ), con concentraciones que llegan al doble del compuesto de mayor afinidad de este estudio. Situación que podría ser explicada a la gran libertad conformacional de la estructura general de los compuestos sintetizados, permitiendo a estos ligandos establecer distintos modos de unión con el transportador.

Por otro lado, la serie que presenta el grupo metoxilo ( $OCH_3$ ) en C-5 del anillo indólico, no logra desplazar al radioligando marcado en el rango de concentración estudiado. Lo anterior corresponde a un resultado esperado, debido a que se ha reportado en estudios previos la disminución y baja afinidad de los derivados que presentan este patrón de sustitución para hTSER<sup>101, 115</sup>.

En relación con la importancia de los sustituyentes a nivel de la porción benzamídica ( $R_2$ ), solo es posible establecer un cambio o pérdida de afinidad para el derivado que presenta un sustituyente metilo en C-4. Solo el derivado 5 ( $R_1=H$ ,  $R_2= 4-CH_3$   $IC_{50} = 4,73 \mu M$ ) logra desplazar al ligando marcado. Un cambio a nivel del sustituyente  $R_2$ , genera una pérdida de la afinidad para todas las series que presentan este sustituyente a nivel de la porción benzamídica.

Para los demás sustituyentes no es posible establecer una relación, debido a que en algunos casos, el cambio de afinidad es resultado de la sustitución en C-5 del anillo indólico ( $R_1$ ), o no existe un cambio determinante entre los valores de afinidad al comparar los distintos derivados con el mismo patrón de sustitución a nivel de  $R_2$ . Un ejemplo de lo anteriormente descrito corresponde a los derivados 12 ( $R_1= Cl$ ,  $R_2= 4F$   $IC_{50} = 2,33 \mu M$ ) y 23 ( $R_1= F$ ,  $R_2= 4-F$

IC<sub>50</sub> = 2,39 μM), donde observamos valores dentro del mismo rango a pesar de presentar sustituyentes distintos a nivel de R<sub>1</sub>. Este fenómeno podría ser explicado debido a la gran libertad conformacional de la estructura anteriormente mencionada, la cual permite que estos derivados puedan adquirir distintas poses al momento de interactuar con el receptor. Debido a ello, es que al menos uno de los derivados que cada serie desplaza al ligando, con excepción de los derivados metoxilados. Resultado que dificulta establecer un patrón al momento de analizar los resultados de este estudio.

En esta serie los compuestos de mayor afinidad corresponde a los derivados 9 (R<sub>1</sub>= Cl, R<sub>2</sub>= 2-CH<sub>3</sub> IC<sub>50</sub> =1,12 μM), 12 (R<sub>1</sub>= Cl, R<sub>2</sub>= 4-F IC<sub>50</sub> = 2,33 μM), los cuales son parte de la serie mejor evaluada de este estudio con 4 de 5 derivados que desplazan al radioligando (tabla 2), y por último el derivado 23 (R<sub>1</sub>= Br, R<sub>2</sub>= H IC<sub>50</sub> = 1,92μM). Estos resultados son interesantes en relación con lo reportado en estudios previos, donde átomos pequeños con propiedades electro atractoras en C-5 del anillo indólico, como el átomo de flúor, podrían ser responsables de las altas afinidades en hTSER. En nuestro caso solo los derivados 19 y 22, de la serie con flúor en C-5, destacan presentando afinidades en el rango de concentración estudiado, pero no son parte de los mejores resultados de este estudio.

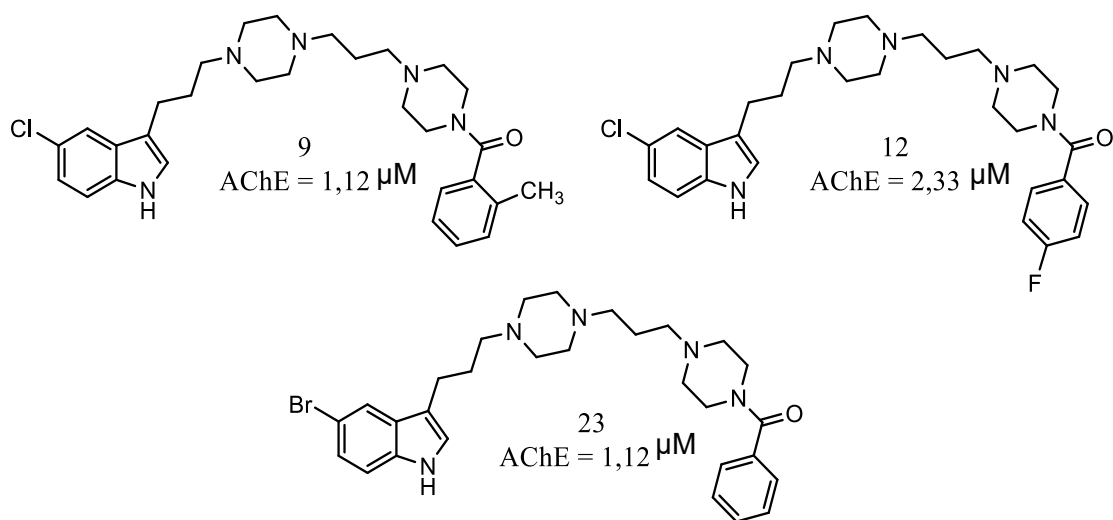


Figura 45. Compuestos que presentan una mayor afinidad por el transportador de serotonina TSER

#### 4.6.4 Estudios de modelamiento molecular inducido TSER

El estudio de modelamiento molecular inducido (docking) para h-TSER fue realizado en el laboratorio de Química Medicinal y Orgánica, del instituto de Química y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Valparaíso, bajo la supervisión del Dr. Jaime Mella-Rapan.

Dentro de la cavidad de hSERT, se aprecian dos S-citalopram cristalizados separados por 6 Å de distancia, siendo Phe335 un residuo central y adyacente a ambos (figura 46).

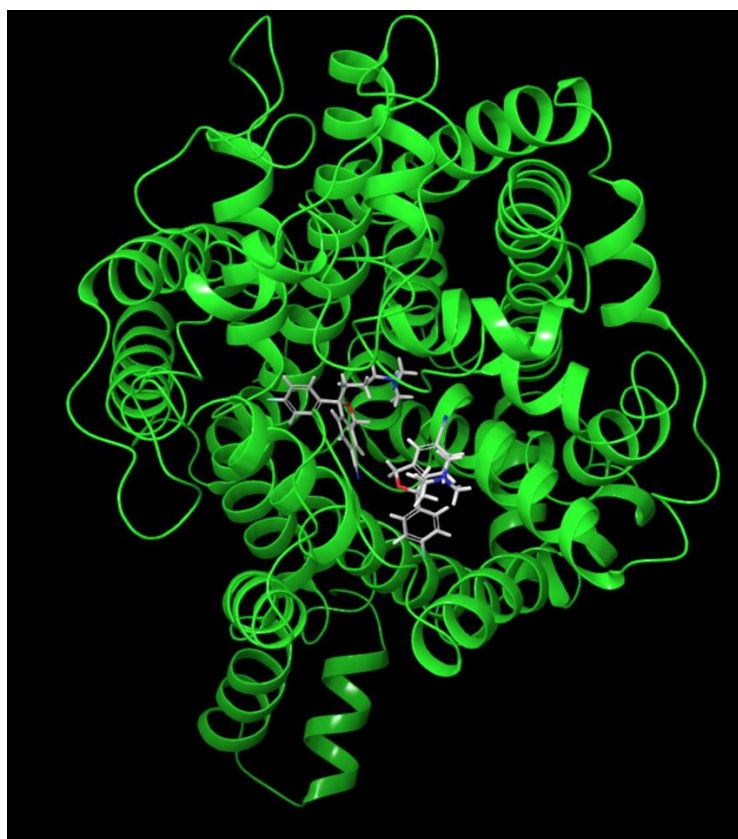


Figura 46. Vista superior del transportador, se aprecia la amplitud del poro y como dos S-citalopram están dentro de la cavidad.

Los estudios docking se realizaron considerando ambos enantiómeros de citalopram como centros de grilla con el fin de obtener los mejores scoring. Entre ellos, el enantiomero S-citalopram (verde) se acopla mejor en relación con los derivados indólicos utilizados para este estudio. Las interacciones que presenta este fármaco corresponde a: una interacción



por puente de hidrógeno y una interacción pi-cación con Try95 y el nitrógeno protonado del grupo amino, el cual establece además una interacción iónica con Aps98. Por otro lado, se aprecia una doble interacción pi-stacking entre el anillo de benceno y benzofurano con Try176 (figura 47).

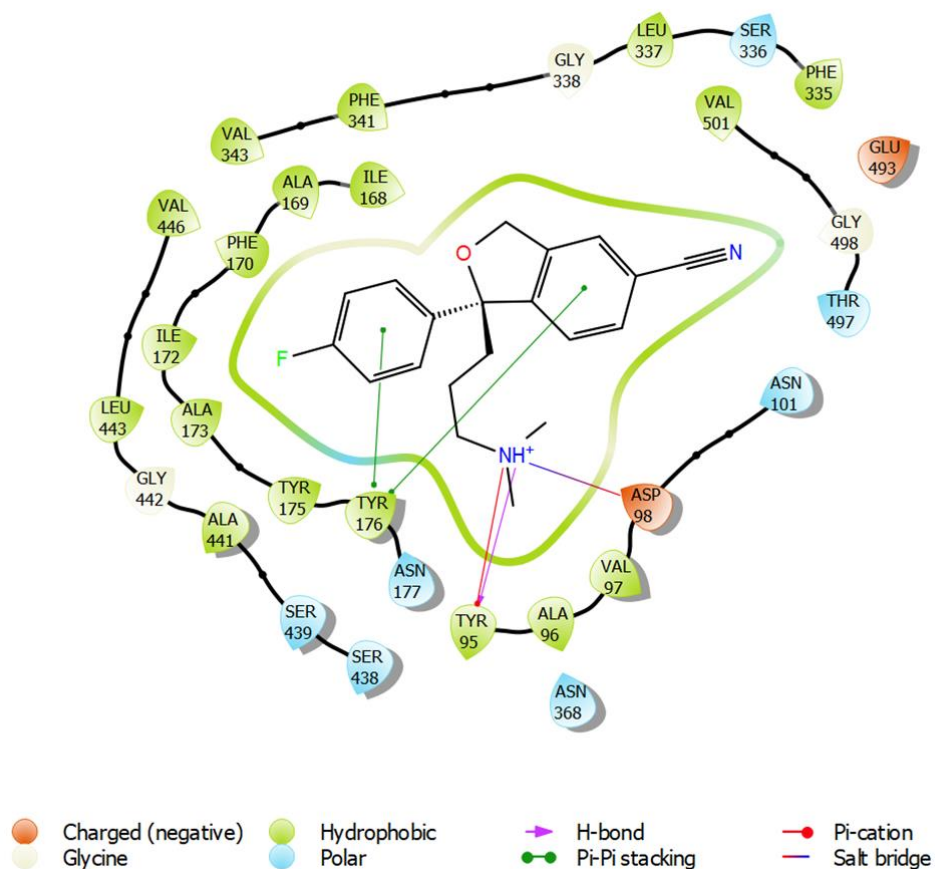


Figura 47. S-citalopram. Mejor pose e interacción en el transportador de serotonina (PDB: 5I73) para S-citalopram. Se aprecian interacciones con los residuos Try95, Tyr1176 y Asp98.

El derivado 9 ( $R_1 = \text{Cl}$ ,  $R_2 = 2\text{-CH}_3$ ,  $\text{IC}_{50} = 1,12 \mu\text{M}$ ) figura 48, corresponde al compuesto más activo de la serie. Este compuesto presenta las siguientes interacciones: pi-stacking entre el anillo indólico y Phe335, dos interacciones por puentes de hidrogeno entre Gly498 y el nitrógeno del anillo indólico y Asn177 con el oxígeno del carbonilo de la benzamida. Además de dos interacciones del tipo pi-cación entre Tyr95 y el nitrógeno protonados de piperazinas (I), con quien además establece una interacción iónica con Asp98 y Tyr176 con el nitrógeno protonado de la piperazina (II). El análisis teórico de modulación molecular para el compuesto de mayor actividad de la serie nos muestra un modo de unión en el cual las interacciones principales coinciden con los aminoácidos presentes en las cavidades A (Asp98 y Tyr95) y B (Tyr176). Estos resultados nos permiten confirmar la importancia de nitrógenos protonados en la estructura (piperazina I), debido a que esta zona presenta las interacciones más importantes del estudio. Además, corresponde a la zona principal de orientación con la proteína con S-citalopram.

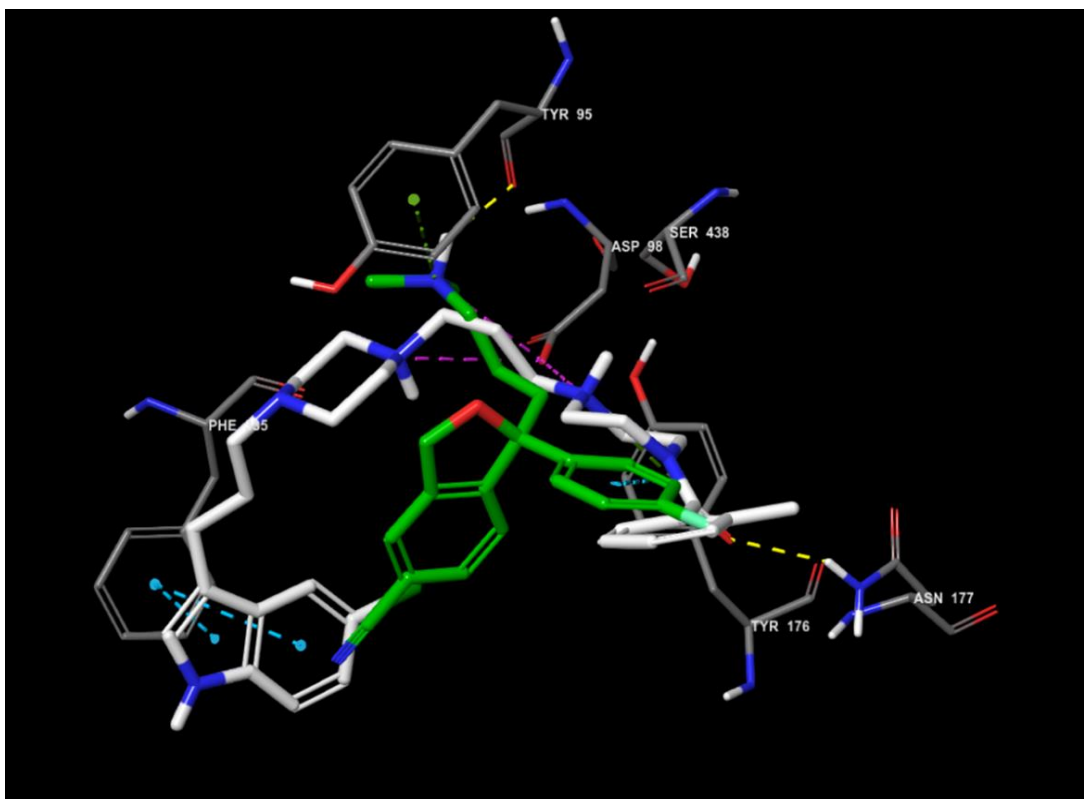


Figura 48. Mejor pose e interacción en TSER (PDB: 5I73) para el compuesto 9 ( $R_1 = \text{Cl}$ ,  $R_2 = 2\text{-CH}_3$ ,  $\text{IC}_{50} = 1,12 \mu\text{M}$ ) Glide XP Score = -12.464 y S-citalopram (verde). Se aprecian interacciones con los residuos Tyr95, Tyr176, Asp98, Asn 177 y Phe 335.

El derivado 12 ( $R_1 = \text{Cl}$ ,  $R_2 = 4\text{-F}$ ,  $\text{IC}_{50} = 2,33 \mu\text{M}$ ) figura 49, es otro de los derivados indólicos que presentó altos valores de afinidad en el estudio de desplazamiento de radioligando. Este compuesto presenta las siguientes interacciones: una interacción iónica entre Asp98 y el nitrógeno protonado de la piperazina y un puente de hidrogeno entre Asn177 y el grupo carbonilo de la benzamida. En base a este resultado, podemos destacar nuevamente la importancia del nitrógeno protonado en la estructura y su relación directa con interacción de puente salino con el aminoácido Asp98. A pesar de que la orientación de este derivado pierde la interacción con Try95, presenta uno de los resultados más altos de este estudio. En base a lo anterior, podemos establecer que esta interacción coulombica (Asp98, sub sitio A) es clave para la afinidad de estos compuestos. Además, podemos observar que la parte central de la estructura, a nivel de la piperazina protonada (I) corresponde a la zona que se orienta de forma similar al fármaco S-citalopram, estableciendo una conformación similar al grupo amino protonado de este compuesto, cercano al aminoácido Asp98.

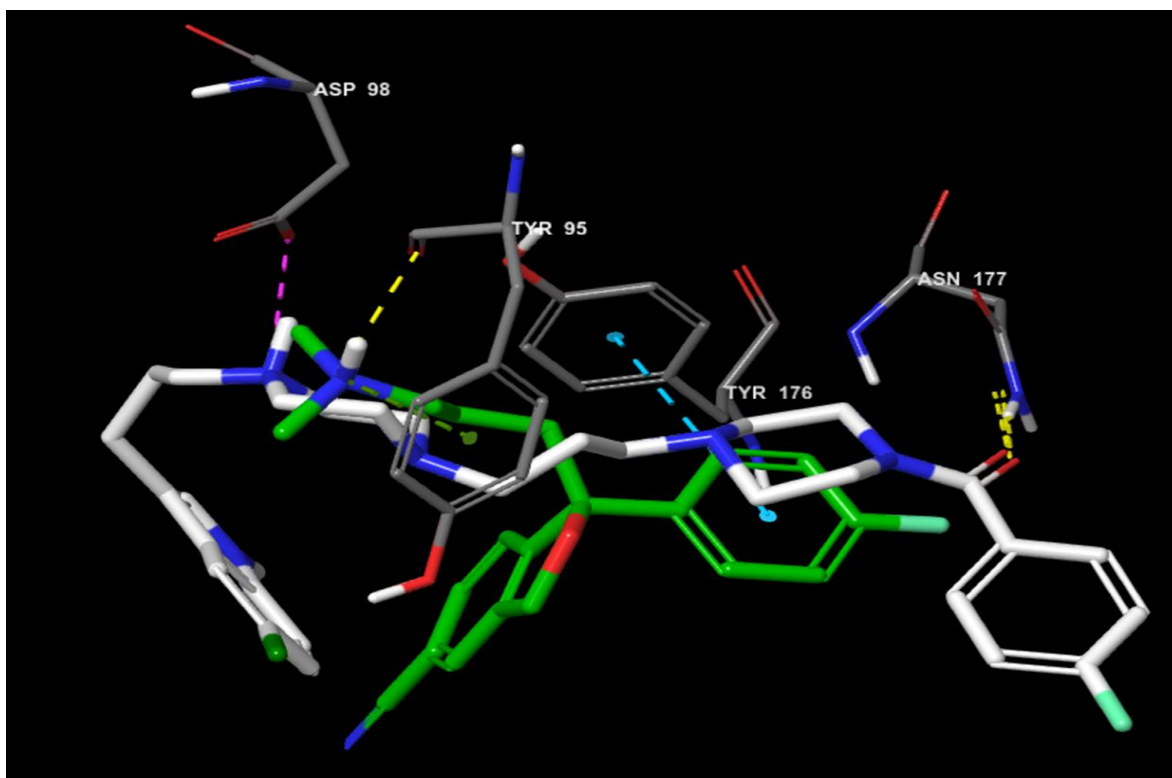


Figura 49. Mejor pose e interacción en hTSER (PDB: **5I73**) para el compuesto 12 ( $R_1 = \text{Cl}$ ,  $R_2 = 4\text{-F}$ ,  $\text{IC}_{50} = 2,23 \mu\text{M}$ ) Glide XP Score = -12.904 y S-citalopram (verde). Se aprecian interacciones con los residuos Asp98 y Asn 177.

El derivado 23 ( $R_1 = \text{Br}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $\text{IC}_{50} = 1,92\mu\text{M}$ ), figura 50, corresponde al segundo compuesto más activo de la serie, el cual establece las siguientes interacciones con el transportador: tres puentes de hidrogeno entre Tyr175 y el nitrógeno del anillo indólico, Ser438 y el nitrógeno protonado de la piperazina II, que además establece una interacción pi-cación con Tyr176 y Asn177 con el carbonilo de la benzamida. Por otro lado, también establece interacciones de tipo pi-stacking entre Phe335 y en anillo indólico, además de una interacción iónica entre Asp98 y el nitrógeno protonado de la piperazina (I). El análisis del estudio de modelamiento permite establecer la importancia de los aminoácidos presentes en el subsitio A, y su relación con la afinidad por el receptor. Este derivado se orienta de forma similar al compuesto 9, compuesto más activo de la serie, manteniendo interacciones claves con el transportador (Asp98 subsitio A y Try176 subsitio B) a nivel de ambos nitrógenos protonados de las piperazinas (I) y (II), lo que explica que ambos compuestos presenten valores de  $\text{IC}_{50}$  en el mismo rango de concentración independiente del volumen de sus sustituyentes en el núcleo indólico, confirmando que la zona más importante de interacción con el receptos corresponde a las piperazinas protonadas.

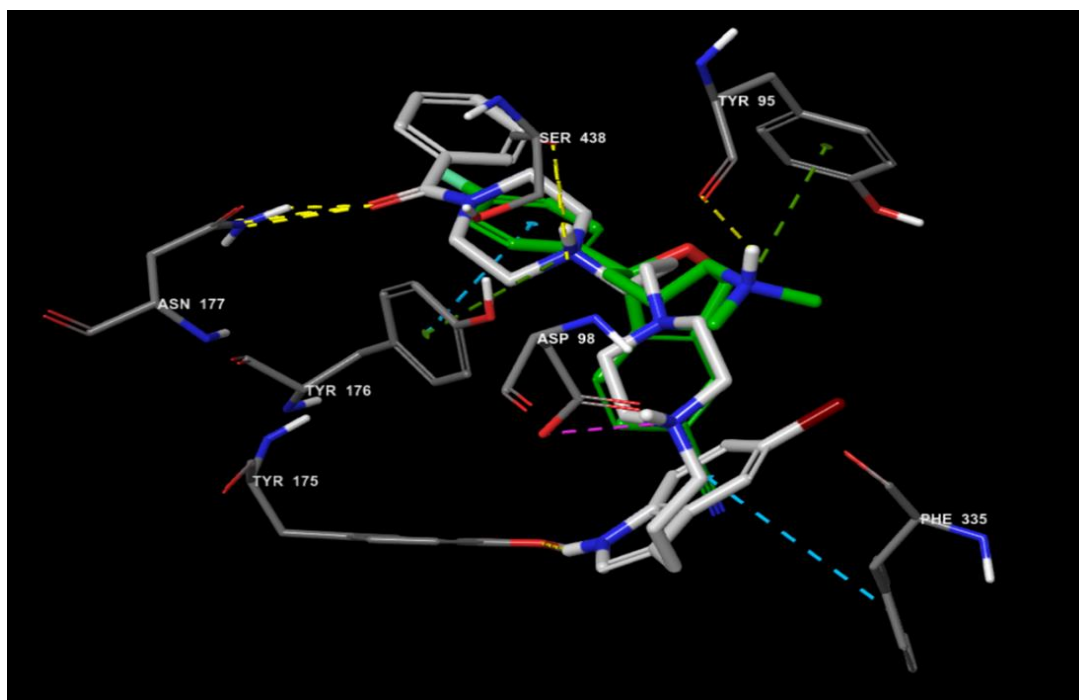


Figura 50. Mejor pose e interacción en TSER (PDB: **5173**) para el ligando 23 ( $R_1 = \text{Br}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $\text{IC}_{50} = 1,92\mu\text{M}$ ) Glide XP Score = -12.410 y S-citalopram (verde). Se aprecian interacciones con los residuos Asp98, Asn 177, Try95, Try176, Ser338 y Phe335

## 5. CONCLUSIONES

Este estudio primario, se enmarcó en la búsqueda de posibles ligandos que farmacológicamente exhibieran una acción dual en blancos terapéuticos para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer (EA). En base a estos antecedentes, este trabajo abordó la síntesis de nuevos derivados arilacetilpiperazinil-propil-piperazinil-propil-1H-indoles en la búsqueda de nuevos compuestos con acción dual, vinculadas a la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa, unión al transportador de serotonina, y a los niveles de acumulación del péptido A $\beta$ . Del estudio efectuado, se derivaron las siguientes conclusiones:

- Se sintetizó una serie de 25 estructuras heterocíclicas indólicas como compuestos finales con rendimientos comprendidos entre 75 a 88% evaluándose su actividad farmacológica in vitro.
- Esta familia exhibió un total de 9 compuestos activos para la unión a hTSER, entre todos los derivados, los compuestos más relevantes en términos farmacológicos corresponden a: 9 ( $R_1 = \text{Cl}$ ,  $R_2 = 2\text{-CH}_3$   $\text{IC}_{50} = 1,12 \mu\text{M}$ ), 12 ( $R_1 = \text{Cl}$ ,  $R_2 = 4\text{F}$   $\text{IC}_{50} = 2,33 \mu\text{M}$ ) y 23 ( $R_1 = \text{Br}$ ,  $R_2 = \text{H}$   $\text{IC}_{50} = 1,92 \mu\text{M}$ ) con afinidades en el rango  $\mu\text{M}$ . Estructuralmente estos compuestos presentan la agrupación 3-indolilpropil C-5 funcionalizada, con sustituyentes halogenados, que resultaron ser relevantes en su unión al transportador comparado con los otros sustituyentes.

Los estudios de modelamiento molecular avalaron los resultados farmacológicos obtenidos, dando a conocer que la orientación principal de los compuestos más activos, en comparación con S-citalopram, está en torno al aminoácido Asp98 (subsitio A), mediante una interacción del tipo coulombica con el nitrógeno protonado de la piperazina I. Por tanto, resulta fundamental la presencia de nitrógenos protonables, a nivel de estos heterociclos, en su afinidad por hTSER.

A nivel general, es importante destacar que debido a la cantidad de compuestos que logran desplazar al radioligando marcado (9 de 25), es complejo establecer algún patrón estructural de afinidad por la proteína, con excepción de los derivados metoxilo en C-5 que no logran desplazar al radioligando, lo cual corresponde a un resultado esperado según estudios previos realizados con análogos estructurales que presentan la agrupación indolil-propil-piperazina.

Los mejores resultados de afinidad corresponden a derivados indólicos que presentan un halógeno en su estructura, cloro y bromo. Según estudios previos, la agrupación indolil-propil-piperazina C-5 sustituida con un átomo de flúor, presenta buenos valores de afinidad, lo cual estaría fundamentado en la acidez del sistema aromático estabilizado por aminoácidos pi-donores. En relación con lo anterior, este comportamiento no se refleja en los resultados de este estudio. El mejor derivado C-5 fluorado, exhibe el doble de la concentración de desplazamiento en comparación con el mejor compuesto de la serie. Una posible explicación a este comportamiento es la gran libertad conformacional presente en estos derivados, debido a la presencia de enlaces rotables y distintos estados de protonación, que le permiten adquirir distintas conformaciones al interactuar con la proteína. Este antecedente podría explicar el rango de concentración similar entre los dos compuestos más activos de la serie (9 y 23), los cuales presentan distintos halógenos en C-5 del anillo indólico.

- De los resultados obtenidos en los ensayos de inhibición en hAChE se comprueba que más del 50% los compuestos medidos exhibieron actividades inhibitorias consideradas como buenas y moderadas, en comparación con el inhibidor DPZ. Entre ellos destacan los derivados 3 ( $R_1 = H$ ,  $R_2 = 4-OCH_3$   $IC_{50} = 10,62 \mu M$ ), 11 ( $R_1 = Cl$ ,  $R_2 = 4-OMe$   $IC_{50} = 10,79 \mu M$ ), 16 ( $R_1 = OCH_3$ ,  $R_2 = 4-OCH_3$   $IC_{50} = 10,12 \mu M$ ) y 19 ( $R_1 = F$ ,  $R_2 = 2-CH_3$   $IC_{50} = 5,80 \mu M$ ), donde este último presenta la mejor potencia inhibitoria de los compuestos sintetizados, exhibiendo un perfil de inhibición en el mismo rango que donepezilo (DPZ,  $IC_{50} = 2,17 \mu M$ ).

Los estudios de modelamiento molecular inducido dan a conocer que estos ligandos se caracterizan por presentar interacciones claves a nivel de la porción de 3-indolilpropilpiperazina C-5 funcionalizada. Los tipos de interacción más importantes corresponde a: puentes de hidrogeno, pi-cación y pi-stacking, debido a la presencia de varios estados de protonación posibles a pH fisiológico, en su porción piperazínica. Esta última está involucrada directamente en interacciones claves con residuos de aminoácidos que se observan en la unión de acoplamiento del S-donepezil (2,17  $\mu\text{M}$ ) con la proteína hAChE (Phe295, Glu202 y Trp86), correspondientes al sitio catalítico y algunas interacciones con residuos del sitio anionico periférico (Ser125, Tyr337), validando de esta forma la propuesta sintética y su actividad inhibitoria.

En términos generales, podemos mencionar que la sustitución del anillo aromático a nivel del C-5, disminuye la actividad inhibitoria de los compuestos sintetizados. A nivel de la porción benzamidica la funcionalización de este núcleo produce un comportamiento similar al anteriormente descrito. En base a lo anterior, es necesario destacar que el cambio de posición a nivel de esta porción (2-CH<sub>3</sub> a 4-CH<sub>3</sub>), exhibe una disminución de la actividad para 4 de las 5 series sintetizadas. Solo la serie con sustitución de flúor en C-5 del anillo indólico presenta un comportamiento contrario a lo mencionado anteriormente. Este comportamiento podría estar relacionado con el efecto donador – aceptor (push-pull) del mejor derivado de la serie (R1= F y R2= 2-CH<sub>3</sub> / AChE IC<sub>50</sub> = 5,8  $\mu\text{M}$ ), que podría ayudar a entender su buena actividad inhibitoria.

- Estos resultados comprueban la hipótesis planteada en este estudio, destacando la importancia de la porción estructural indolil-propil-piperazina funcionalizada, a partir de la interacción de los diferentes estados de protonación a nivel de las piperazinas con los aminoácidos presentes en el sitio activos y/o alosterico de los blancos estudiados en esta investigación.

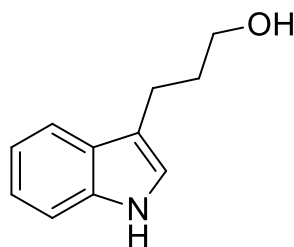
Estos antecedentes podrían contribuir al campo de estudio de los ligandos dirigidos para la enfermedad de Alzheimer, no obstante se requieren mayores esfuerzos para desarrollar un mayor número de estructuras con acciones multidiana, que nos permitan poder definir con mayor claridad los patrones de sustitución que otorguen mayor potencia farmacológica.



## 6. ANEXO: SÍNTESIS DE COMPUESTOS

Obtención y caracterización de los derivados 3-(1H-3-indolil)-propanoles.

### 3-(1H-3-indolil)-propanol (1a)

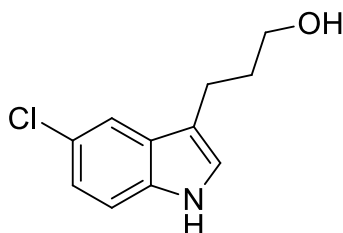


En un balón de 100 mL provisto de agitación se disolvió 1,0 g (6,9 mmol) de clorhidrato de fenilhidrazina en una mezcla de 10 mL N,N-dimetilacetamida (DMAc) y 10 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 4%. Cuando la mezcla alcanzó una temperatura de 100 °C se adicionaron 0,63 mL (6,9 mmol) de 3,4-dihidro-2H-dihidropirano (DHP), manteniendo esta temperatura por un lapso de 2 horas tras lo cual se adicionaron 50 mL de H<sub>2</sub>O y extrayéndose con 100 mL de AcOEt (2 x 50 mL). La fase orgánica fue secada con sulfato de sodio (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) anhidro, posteriormente filtrada y el solvente remanente concentrado a presión reducida obteniéndose un producto oleoso, el cual se purificó mediante una columna cromatográfica en gel de sílice, utilizando AcOEt como medio eluyente. Se obtuvieron 0,89 g de producto puro (74% de rendimiento) de un producto oleoso de color café oscuro.

**<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>):** δ 1H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) : 2,02 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-), 2,87 (t, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>-, J = 7,5 Hz), 3,72 (t, 2H, -CH<sub>2</sub>-OH, J = 6,5 Hz), 6,93 (m, 1H, 2-H), 7,14 (t, 1H, 6-H, J = 7,0 Hz), 7,22 (td, 1H, 5-H, J<sub>o</sub> = 8,0 Hz, J<sub>m</sub> = 1,1 Hz), 7,34 (d, 1H, 7-H, J = 7,4 Hz), 7,64 (d, 1H, 5-H, J = 7,8 Hz), 8,17 (s, 1H, NH) ppm.

**<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>):** δ 21,4, 32,9, 62,6, 111,2, 115,9, 118,9, 119,2, 121,4 122,0, 127,5 y 136,4.

3-(5-Cloro-1H-3-indolil)-propanol (Ib)

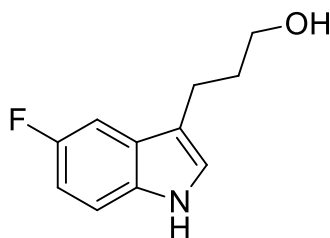


En un balón de 50 mL se disolvió 0,5 g (3,07 mmol) de clorhidrato de 4-clorofenilhidrazina en una mezcla conteniendo 5 mL N, N-dimetilacetamida (DMAc) y 5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 4%. La mezcla se calentó a 100 °C, se adicionaron 0,28 mL (3,07 mmol) de 3,4-dihidro-2H-dihidropirano (DHP) y se mantuvo a esta temperatura por un lapso de 2 horas, trascurrido este tiempo se adicionaron 25 mL de H<sub>2</sub>O, extrayéndose con 50 mL de AcOEt (2 x 25 mL). La fase orgánica fue secada con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, posteriormente filtrada y el solvente evaporado a presión reducida. La mezcla obtenida fue purificada mediante una columna cromatográfica (gel de sílice) utilizando AcOEt como medio eluyente. Se obtuvieron 0,285 g de producto puro (48% de rendimiento) de un producto oleoso de color café oscuro.

**<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>):** δ 1,94 (q, 2H, -CH<sub>2</sub>-, J = 7,4 Hz), 2,21 (sa, 1H, OH), 2,73 (t, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>-, J = 7,5 Hz), 3,67 (t, 2H, -CH<sub>2</sub>-OH, J = 6,5 Hz), 7,33 (m, 2H, 2-H y 7-H), 8,28 (sa, 1H, -NH-), 6,73 (d, 1H, J = 2,12 Hz, H- 4) y 7,00 (d, 1H, J = 8,4 Hz, H-6 ) ppm.

**<sup>13</sup>C-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>):** δ 25,4, 28,2, 64,4, 109,7, 115,9, 116,3, 120,3, 121,1, 127,5, 137,7 ppm.

### 3-(5-Flúor-1H-3-indolil)-propanol (Ic)

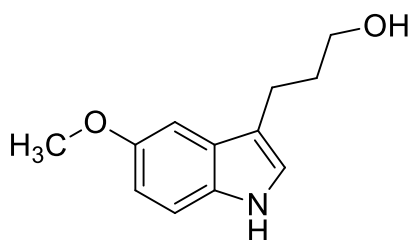


En un balón de 50 mL se disolvió 0,5 g (3,07 mmol) de clorhidrato de 4-fluorfenilhidrazina en una mezcla conteniendo 5 mL N,N-dimetilacetamida (DMAc) y 5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 4%. La mezcla se calentó a 100 °C, se adicionaron 0,28 mL (3,07 mmol) de 3,4-dihidro-2H-dihidropirano (DHP) y se mantuvo a esta temperatura por un lapso de 2 horas, trascurrido este tiempo se adicionaron 25 mL de H<sub>2</sub>O, extrayéndose con 50 mL de AcOEt (2 x 25 mL). La fase orgánica fue secada con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, posteriormente filtrada y el solvente eliminado a presión reducida. La mezcla obtenida fue purificada mediante una columna cromatografía utilizando AcOEt como medio eluyente. Se obtuvieron 0,285 g de producto puro (48% de rendimiento), de un producto oleoso de color café oscuro.

**<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>):** δ 1,92 (q, 2H, -CH<sub>2</sub>-, J = 7,4 Hz), 2,21 (sa, 1H, OH), 2,76 (t, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>-, J = 7,5 Hz), 3,68 (t, 2H, -CH<sub>2</sub>-OH, J = 6,5 Hz), 6,90 (dt, 1H, J = 9,1 y 2,5 Hz), 6,96 (d, 1H, 2-H, J = 2,0 Hz), 8,28 (sa, 1H, -NH-), 7,20 (d, 1H, J = 8,6 Hz, H- 4 ó H-7) y 7,22 (d, 1H, J = 8,4 Hz, H-7 ó H-4) ppm.

**<sup>13</sup>C-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>):** δ 21,3, 32,7, 62,4, 103,7, 110,1, 111,8, 115,8, 123,4, 127,8, 132,9 y 157,6 ppm.

3-(5-Metoxi-1H-3-Indolil)-propanol. (Id)

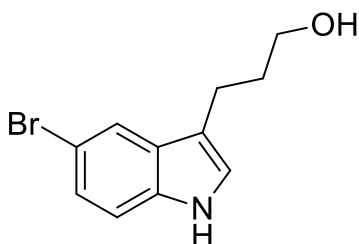


En un balón de 50 mL se disolvió 0,5 g (2,8 mmol) de clorhidrato de 4-metoxifenilhidrazina en una mezcla conteniendo 5 mL N,N -dimetilacetamida (DMAc) y 5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 4%. La mezcla se calentó a 60 °C y se adicionaron 0,26 mL (2,8 mmol) de 3,4-dihidro-2H-dihidropirano (DHP) manteniéndose a esta temperatura por un lapso de 2 horas. Posteriormente se adicionaron 25 mL de H<sub>2</sub>O, extrayéndose con 50 mL de AcOEt (2 x 25 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, posteriormente filtrada y el solvente concentrado a presión reducida, para dejar un producto oleoso el cual se purificó mediante una columna cromatografía (gel de sílice), utilizando AcOEt como medio eluyente. Se obtuvieron 0,3 g de producto puro (51% de rendimiento) de un producto oleoso de color café oscuro.

**<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>):** δ 1,92 (q, 2H, -CH<sub>2</sub>-, J = 6,9 Hz), 2,40 (s, 1H, OH), 2,75 (t, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>-, J = 7,3 Hz), 3,65 (t, 2H, -CH<sub>2</sub>-OH, J = 6,50 Hz), 3,81 (s, 3H, OMe), 6,80–6,84 (m, 2H, 4-H y 6-H), 7,02 (d, 1H, 2-H, J = 2,0 Hz), 7,13 (d, 1H, 7-H, J = 8,8 Hz) y 8,14 (s, 1H, N-H) ppm.

**<sup>13</sup>C-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>):** δ 21,2, 32,5, 55,9, 62,3, 100,7, 111,7, 111,8, 115,2, 122,3, 127,6, 131,5 y 153,5 ppm.

### 3-(5-Bromo-1H-3-indolil)-propanol (Ie)

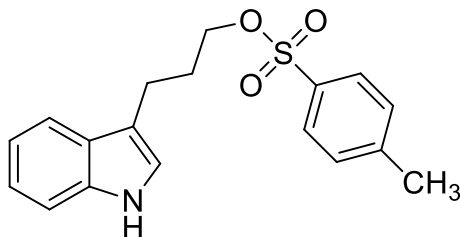


En un balón de 50 mL se disolvió 0,5 g (2,2 mmol) de clorhidrato de 4-bromofenilhidrazina en una mezcla conteniendo 5 mL N, N-dimetilacetamida (DMAc) y 5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 4%. La mezcla se calentó a 100 °C y se adicionaron 0,2 mL (2,2 mmol) de 3,4-dihidro-2H-dihidropirano (DHP), y se mantuvo a esta temperatura por un lapso de 2 horas tras lo cual se adicionaron 25 mL de H<sub>2</sub>O y extrayéndose con 50 mL de AcOEt (2 x 25 mL). La fase orgánica fue secada con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, posteriormente filtrada y el solvente evaporado a presión reducida, obteniéndose un producto oleoso el cual se purificó mediante una columna cromatográfica (gel de sílice) utilizando AcOEt como medio eluyente. Se obtuvieron 0,29 g (52% de rendimiento) de un producto oleoso de color café oscuro.

**<sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>):** δ 1,78 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-), 2,70 (t, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>-, J = 7,6 Hz), 3,47 (c, 2H, -CH<sub>2</sub>-OH, J = 5,9 Hz), 4,46 (t, 1H, OH), 7,15–7,18 (m, 2H, 2-H y 6-H), 7,31 (d, 1H, 7-H, J = 8,6 Hz), 7,68 (d, 1H, 4-H, J = 1,4 Hz) y 10,97 (s, 1H, N-H) ppm.

**<sup>13</sup>C-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>):** δ 20,2, 32,8, 59,8, 110,3, 112,8, 113,9, 120,1, 122,7, 123,4, 128,6 y 134,4 ppm.

3-(1H-3-Indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (IIa).

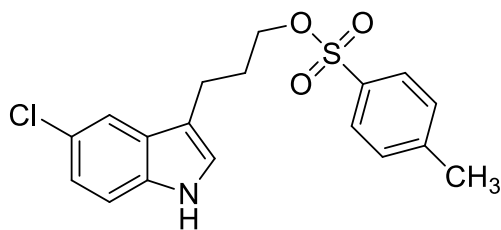


En un balón de 50 mL se disolvió 0,89 g (5,1 mmol) del compuesto 1a en 25 mL de diclorometano seco. Posteriormente fueron agregados 0,85 mL (6,1 mmol) de trietilamina (TEA), 1,17 g (6,1 mmol) de cloruro de tosilo y finalmente dimetilaminopiridina (DMAP) en concentración catalítica. La reacción se mantuvo en agitación por 18 h, transcurrido el tiempo, la mezcla fue concentrada a presión reducida y luego purificada mediante una columna cromatográfica (gel de sílice) utilizando una mezcla de AcOEt/n-Hex (1:2) como medio eluyente. Se obtuvieron 1,08 g (64,6 % de rendimiento) de un sólido de color café claro.

**<sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  2,05 (q, 2H, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-O-), 2,44 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2,82 (t, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 4,1 (t, 2H, -CH<sub>2</sub>-O-), 6,92 (s, 1H), 7,09 (t, 1H, J= 7,5 Hz), 7,19 (t, 1H, J= 7,5 Hz), 7,32 (d, 2H, J= 8,2 Hz), 7,35 (d, 1H, J= 9,5 Hz), 7,5 (d, 1H, J= 7,8 Hz), 7,78 (d, 2H, J = 8,2 Hz), y 7,97 (1H, sa, -NH-) ppm.

**<sup>13</sup>C-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  21,3, 22,0, 29,5, 70,5, 111,6, 114,8, 119,0, 119,7, 122,2, 122,4, 127,6, (2x)128,3, (2x)130,2, 133,6, 136,8 y 145,1 ppm.

3-(5-Cloro-1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (IIb)

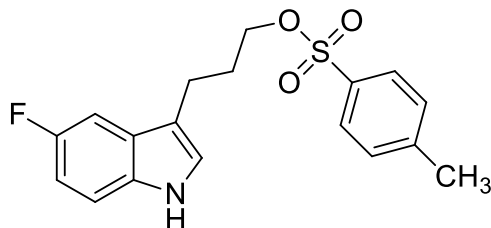


En un balón de 50 mL se disolvió 0.285 g (1,5 mmol) del compuesto 1b en 20 mL de diclorometano seco. Posteriormente fueron agregados 0,25 mL (1,77 mmol) de trietilamina (TEA), 0,34 g (1,77 mmol) de cloruro de tosilo y dimetilaminopiridina (DMAP) en concentración catalítica. La reacción se mantuvo en agitación por 48 h, transcurrido el tiempo fue concentrada y luego purificada mediante una columna cromatográfica (gel de sílice) utilizando una mezcla de AcOEt/n-Hex (1:2) como medio eluyente. Se obtuvieron 0,247 g (48% de rendimiento) de un sólido de color café claro.

$^1\text{H-RMN}$  (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  2,04 (q, 2H,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-O-}$ ), 2,41 (s, 3H,  $-\text{CH}_3$ ), 2,81 (t, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$ ), 4,07 (t, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-O-}$ ), 6,97 (d, 1H, 4-H J 1.96 Hz), 7,13 (dd, 1H, 6-H, J = 8,56 y 1.96 Hz), 7,22 (d, 1H, J = 8,56 7-H), 7,53 (d, 1H, 2-H J = 1,71 Hz), y 8,05 (sa, 1H,  $-\text{NH-}$ ) ppm.

$^{13}\text{CRMN}$  (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  21,6, 26,4, 30,3, 72,7, 109,6, 115,9, 116,3, 120,3, 123,1, 125,7, 127,8, 129,8, 131,6, 136,7, 144,6

3-(5-Fluoro-1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (IIc)



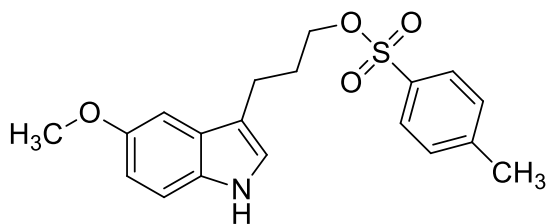
En un balón de 50 mL se disolvió 0.285 g (1,5 mmol) del compuesto 1c en 20 mL de diclorometano seco. Posteriormente fueron agregados 0,25 mL (1,77 mmol) de trietilamina (TEA), 0,34 g (1,77 mmol) de cloruro de tosilo y dimetilaminopiridina (DMAP) en concentración catalítica. La reacción se mantuvo en agitación por 48 h, transcurrido este tiempo fue concentrada y luego purificada mediante una columna cromatográfica (gel de sílice) utilizando una mezcla de AcOEt/n-Hex (1:2) como medio eluyente. Se obtuvo 0,247 g (48% de rendimiento) de un sólido de color café claro.

$^1\text{H-RMN}$  (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  2,02 (q, 2H,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-$ ), 2,47 (s, 3H,  $-\text{CH}_3$ ), 2,77 (t, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ), 4,09 (t, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{O}-$ ), 6,94 (m, 2H, 2-H y 6-H), 7,13 (dd, 1H, 4-H,  $J = 9,6$  y  $2,4$  Hz), 7,28 (dd, 1H,  $J = 8,7$  y  $4,4$  Hz, 7-H), 7,35 (d, 2H, 3-H y 5-H, Ts,  $J = 8,3$  Hz), 7,81 (d, 2H, 2-H y 6-H Ts,  $J = 8,3$  Hz) y 8,05 (sa, 1H,  $-\text{NH}-$ ) ppm.

$^{13}\text{CRMN}$  (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  21,2, 22,1, 29,3, 70,3, 103,9, 110,8, 112,2, 114,9, 124,0, 127,9 (2x) 128,3 (2x) ,130,3 , 133,2 , 133,4, 145,2 y 158,0 ppm



3-(5-Metoxi-1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (IIId)

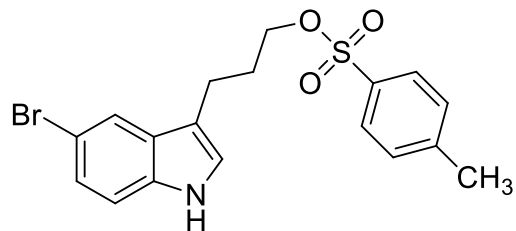


En un balón de 50 mL se disolvió 0,42 g (2 mmol) del compuesto 1d en 25 mL de diclorometano seco. Fueron agregados 0,34 mL (2,44 mmol) de trietilamina (TEA), 0,47 g (2,44 mmol) de cloruro de tosilo y dimetilaminopiridina (DMAP) en concentración catalítica. La reacción se amantuvo en agitación por 48 h, transcurrido este tiempo fue concentrada y posteriormente purificada mediante una columna cromatográfica (gel de sílice) utilizando una mezcla de AcOEt/n-Hex (1:2) como medio eluyente. De esta columna se obtuvieron 0,4 g (45,6% de rendimiento) de un producto oleoso de color café oscuro.

$^1\text{H-RMN}$  (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  2,02 (q, 2H,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-$ ), 2,43 (s, 1H,  $-\text{CH}_3$ ), 2,77 (t, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ), 3,85 (s, 3H,  $-\text{OCH}_3$ ), 4,08 (t, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{O}-$ ), 6,84 (dd, 1H, 6-H,  $J_o = 8,8$  Hz y  $J_m = 2,3$  Hz), 6,88 (d, 1H, 2-H,  $J = 1,2$  Hz), 6,94 (d, 1H, 4-H,  $J = 2,0$  Hz), 7,23 (d, 1H, 7-H,  $J = 8,8$  Hz), 7,30 (d, 2H, 3-H and 5-H, Ts,  $J = 8,1$  Hz), 7,77 (d, 2H, 2-H y 6-H, Ts,  $J = 8,2$  Hz) y 7,89 (sa, 1H,  $-\text{NH}-$ ) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$  (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  20,8, 21,6, 28,9, 55,9, 70,0, 100,5, 111,8, 112,1, 114,1, 122,5, 127,5, 127,8, 129,8, 131,4, 133,1, 144,7 y 153.8 ppm.

3-(5-Bromo-1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (Ile)

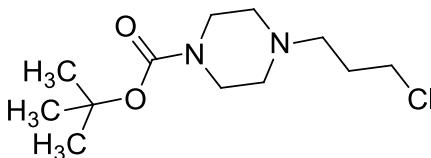


En un balón de 50 mL se disolvió 0,29 g (1,14 mmol) del compuesto 1e en 25 mL de diclorometano seco. Posteriormente fueron agregados 0,19 mL (1,4 mmol) de trietilamina (TEA), 0,26 g (1,4 mmol) de cloruro de tosilo y dimetilaminopiridina (DMAP) en concentración catalítica. La reacción se mantuvo en agitación por 18 h, transcurrido este tiempo fue concentrada y luego purificada mediante una columna cromatográfica (gel de sílice) utilizando una mezcla de AcOEt/n-Hex (1:2) como medio eluyente. De esta columna se obtuvo 0,19 g (42 % de rendimiento) de un producto oleoso de color café oscuro.

$^1\text{H-RMN}$  (DMSO- $d_6$ ): 1,91 (2H, q,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-O-}$ ), 2,41 (s, 3H,  $-\text{CH}_3$ ), 2,63 (t, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-CH}_2-$ ), 4,05 (t, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-O-}$ ), 7,08 (d, 1H, 2-H,  $J = 2,2$  Hz), 7,16 (dd, 1H, 6- H,  $J_o = 8,6$  Hz,  $J_m = 1,9$  Hz), 7,29 (d, 1H, 7-H,  $J = 8,6$  Hz), 7,45 (d, 2H, 3-H y 5- H,  $T_s$ ,  $J = 8,2$  Hz), 7,61 (d, 1H, 4-H,  $J = 1,7$  Hz), 7,77 (d, 2H, 2-H y 6-H  $T_s$ ,  $J = 8,2$  Hz) y 10,9 (1H, sa,  $-\text{NH-}$ ) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$  (DMSO- $d_6$ ): 19,7, 20,6, 28,4, 70,0, 110,4, 112,2, 112,8, 120,0, 122,8, 123,6, (2x) 127,0, 128,3, (2x)129,6, 132,0, 134,4 y 144,3 ppm.

### Tert-butil 4-(3-cloropropil) piperazina-1-carboxilato



En un balón de 50 mL se disolvió 1,00 g (5,37 mmol) del compuesto tert-butil piperazina -1-carboxilato en 25 mL de acetonitrilo seco. Posteriormente fueron agregados a la solución 2,00 g (13,4 mmol) de 1-bromo-3-cloropropano y 0,74 g (5,37 mmol) de carbonato de potasio. La reacción se mantuvo en agitación por 36 h a temperatura ambiente. Una vez confirmada la presencia del producto por TLC, se evaporó el solvente a sequedad y se adicionaron 25 mL de H<sub>2</sub>O, realizando extracciones 50 mL de AcOEt (2 x 25 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, y posteriormente la mezcla fue filtrada y concentrada a presión reducida. Se obtuvo un líquido viscoso de color amarillo, el que fue utilizado inmediatamente en la siguiente etapa sin purificación.

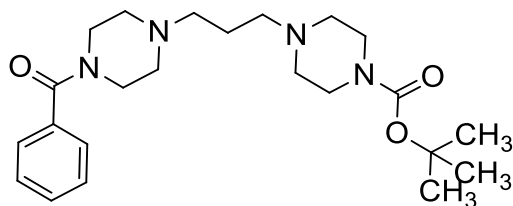
<sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>): 1,39 (9H, s, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1,58 (q, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 2,28 (m, 6H, CH<sub>2</sub>Pip y N-CH<sub>2</sub>), 3,29 (t, 2H, CH<sub>2</sub>Pip), 3,33 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Cl), 3,14 (bs, 2H, CH<sub>2</sub>Pip).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K) : δ = 154.7 (CO<sub>carbamato</sub>), 135.8 (C<sub>q</sub><sub>benc</sub>), 79.6 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 56.3, 56.2 (CH<sub>2</sub><sub>pip</sub>), 53.0 (CH<sub>2</sub>Cl), 28.4 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 24.1 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>).

### Procedimiento general para la obtención de los derivados **tert-butil 4-[3-(4-benzoilpiperazina-1-il) propil]piperazina-1-carboxilato**

A una solución de las correspondiente N-benzamidopiperazinas<sup>106-107</sup> en CH<sub>3</sub>CN seco, se añadieron *tert*-butil-4-(3-cloropropil) piperazina-1-carboxilato (1 Eq) y K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (4 Eq) y la suspensión resultante se agitó a temperatura de reflujo (82°) bajo N<sub>2</sub> durante 24 h. El disolvente se evaporó a presión reducida y se añadieron AcOEt (20 ml) y agua (20 ml). La fase orgánica se recogió, secó (MgSO<sub>4</sub>) y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice) utilizando una mezcla de AcOEt: MeOH 95:5 → 80:20. Se obtuvieron sólidos de color amarillo claro con rendimientos entre 70-75%.

#### **tert-butil 4-[3-(4-benzoilpiperazina-1-il) propil]piperazina-1-carboxilato (IIIa)**



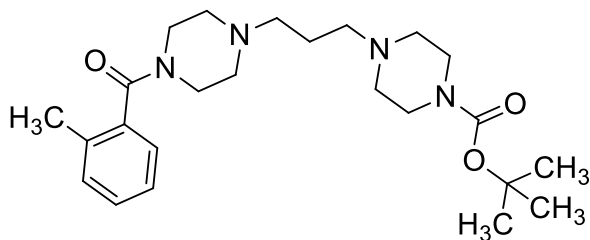
De 0,098 g (0,51 mmol) del compuesto 2a (H) fueron obtenidos 0,16 g (73%) del compuesto IIIa de aspecto sólido de color amarillo pálido. Pf: 76-78 °C

<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ = 7,23 (m, 5 H, Ar<sub>benz</sub>), 3,63 (bs, 2 H, CH<sub>2</sub>Pip), 3,26 (m, 5H, CH<sub>2</sub>Pip), 2,30 (bs, 2H CH<sub>2</sub>Pip), 2,21 (m, 10 H, CH<sub>2</sub>Pip, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 1,52 (q, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1,29 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ = 170,2 (NCOAr), 154,7 (CO<sub>carbamato</sub>), 135,8 (C<sub>q</sub>benz), 129,6, 128,4, 127,0 (CHAr<sub>benz</sub>), 79,6 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 56,5, 56,4 (CH<sub>2</sub><sub>pip</sub>), 53,0 (NCH<sub>2</sub>), 47,7,43,6, 42,0 (CH<sub>2</sub><sub>pip</sub>), 28,4 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 24,1 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>).

HRMS: (ESI-TOF) m/z calcd. Para C<sub>23</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>: 416,2787. Encontrado: 416,7

*tert*-butil 4-{3-[4-(2-metilbenzoi)piperazin-1-il]propil}piperazina-1-carboxilato (IIIb)



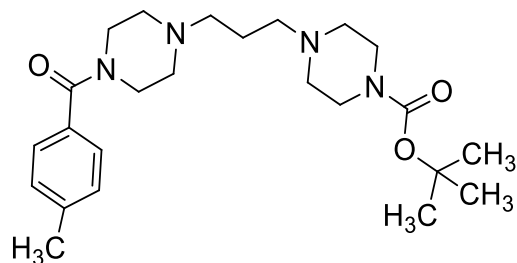
De 0,232 g (0,113 mmol) del compuesto 2b (2-CH<sub>3</sub>) fueron obtenidos 0,36g (75%) del compuesto IIIb con aspecto viscoso de color amarillo claro

<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ =7,28 (m, 1H, Ar<sub>benz</sub>), 7,21 (m, 2H, Ar<sub>benz</sub>), 7,15 (d, 1 H, JH,H = 7,34 Hz Ar<sub>benz</sub>), 3,83 (d, 2 H, JH,H = 4,16 Hz CH<sub>2</sub>Pip), 3,45 (m, 4 H, CH<sub>2</sub>Pip), 3,25 (bs, 2 H, CH<sub>2</sub>Pip), 2,52 (d, 2H, JH,H = 4.77 Hz CH<sub>2</sub>Pip, CH<sub>2</sub>Pip), 2,41 (m, 8H, CH<sub>2</sub>Pip, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 2,33 (m, 5 H, CH<sub>2</sub>Pip, CH<sub>3</sub>), 1,71 (q, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1,46 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ = 169,9 (NCOAr), 154,6 (CO<sub>carbamato</sub>), 136,1 (C<sub>q</sub>benz), 134,1 (CH<sub>3</sub>C<sub>q</sub>), 130,4, 128,8, 125,9 (CHAr<sub>benz</sub>), 79,6 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 56,7, 56,4, 56,4, 53,6, 46,7, 41,4 (CH<sub>2</sub>pip), 53,0 (NCH<sub>2</sub>), 28,4 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 24,0 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 19,0 (ArCH<sub>3</sub>).

HRMS: (ESI-TOF) m/z calcd. Para C<sub>24</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>: 430,2944. Encontrado: 431,2

*tert*-butil 4-{3-[4-(4-metilbenzoi) piperazin-1-il] propil} piperazina-1-carboxilato (IIIc)



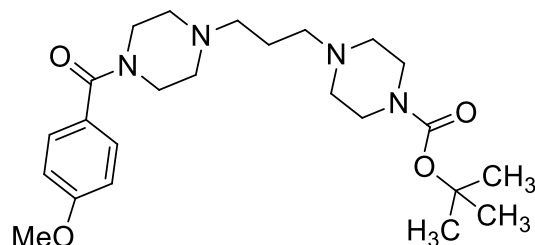
De 0,139 g (0,68 mmol) del compuesto 2c (4-CH<sub>3</sub>) fueron obtenidos 0,21g (70%) del compuesto IIIc de aspecto sólido de color amarillo pálido. Pf. 79-82 °C

<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ =7,29 (d, 2H, J<sub>H,H</sub> = 7,58 Hz Ar<sub>benz</sub>), 7,19 (d, 2H, J<sub>H,H</sub> = 7,09 Hz Ar<sub>benz</sub>), 7,15 (d, 1 H, J<sub>H,H</sub> = 7,34 Hz Ar<sub>benz</sub>), 3,77 (bs, 2 H, CH<sub>2</sub>Pip), 3,43 (m, 6 H, CH<sub>2</sub>Pip), 2,37 (m, 15 H, CH<sub>2</sub>Pip, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N, CH<sub>3</sub>), 1,69 (q, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1,46 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ = 170,4 (NCOAr), 154,7 (CO<sub>carbamato</sub>), 139,7(CH<sub>3</sub>Cq) , 132,8(CqAr<sub>benz</sub>), 129,3 , 127,1 (CHAr<sub>benz</sub>), 79,6 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 56,5 , 56,4, 47,7, 43,6, 42,1 (CH<sub>2</sub>pip), 53,0 (NCH<sub>2</sub>), 28,4 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 24,1 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 21,3 (ArCH<sub>3</sub>).

**HRMS:** (ESI-TOF) m/z calcd. Para C<sub>24</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>: 430,2944. Encontrado: 431,1

*tert*-butil 4-{3-[4-(4-metoxibenzoil) piperazin-1-yl] propil} piperazina-1-carboxilato (IIIId)



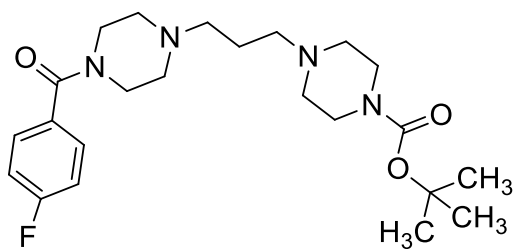
De 0,229 g (1,04 mmol) de compuesto 2d (4-OMe) fueron obtenidos 0,35 g (75%) del compuesto IIIId de aspecto sólido de color blanco. Pf: 85-87 °C

$^1\text{H-RMN}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 7,37 (ddd, 2H,  $J_{1\text{H,H}} = 9,11$  Hz  $J_{2\text{H,H}} = 2,69$  Hz  $J_{3\text{H,H}} = 2,38$  Hz,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 6,90 (ddd, 2H,  $J_{1\text{H,H}} = 9,17$  Hz  $J_{2\text{H,H}} = 2,69$  Hz  $J_{3\text{H,H}} = 2,28$  Hz  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 3,83 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,63 (bs, 4H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 3,42 (m, 4H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 2,44 (bs, 2H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 2,39 (m, 10H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 1,69 (q, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 1,46 (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 170,2 ( $\text{NCOAr}$ ), 160,4 ( $\text{CqOCH}_3$ ), 154,7 ( $\text{CO}_{\text{carbameto}}$ ), 129,1 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 127,9 ( $\text{CqAr}_{\text{benz}}$ ), 113,6 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 79,6 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 56,5, 56,4, ( $\text{CH}_{2\text{pip}}$ ), 55,3 ( $\text{CH}_3$ ), 53,0 ( $\text{NCH}_2$ ), 28,4 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 24,1 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ).

HRMS: (ESI-TOF)  $m/z$  calcd. Para  $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_4$ : 446,2893. Encontrado: 447,2

*tert*-butil 4-{3-[4-(4-fluorobenzoil) piperazin-1-yl] propil} piperazina-1-carboxilato (IIIe)



De 0,258 g (1,24 mmol) del compuesto 2e (4-F) fueron obtenidos 0.40g (75%) del compuesto IIIe de aspecto sólido de color amarillo pálido. Pf: 72-74 °C:

<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ = 7,41 (ddd, 2 H, J<sub>1H,H</sub> = 11,74, J<sub>2H,H</sub> = 5,14 J<sub>3H,H</sub> = 2,69 Ar<sub>benz</sub>), 7,09 (m, 2H, Ar<sub>benz</sub>), 3,79 (bs, 2 H, CH<sub>2</sub>Pip), 3,44 (m, 6 H, CH<sub>2</sub>Pip), 2,46 (bs, 2 H, CH<sub>2</sub>Pip), 2,39 (m, 10 H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N, CH<sub>2</sub>Pip), 1,69 (q, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1,46 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, 298 K): δ = 169,3 (CONH), 164,6, 162,1 (CqAr<sub>Benz-F</sub>), 154,7 (CqCO<sub>carbamato</sub>), 131,7 (COCq), (129,4, 129,3, 115,6, 115,4) (CHAr<sub>benz</sub>), 79,6 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 56,5, 56,3 (CH<sub>2</sub>pip), 53,0 (NCH<sub>2</sub>), 28,4 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 24,1 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N)

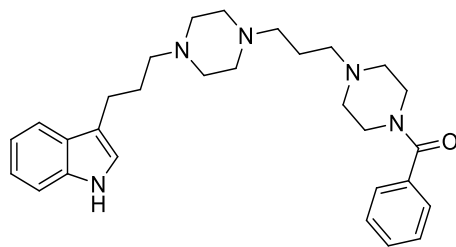
HRMS: (ESI-TOF) m/z calcd. Para C<sub>23</sub>H<sub>35</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>: 434,2693. Encontrado: 435,2



### Procedimiento general para la obtención de los productos finales 3-27

A una solución de IIIa-e en diclorometano (5 ml/mmol) se añadió ácido trifluoroacético en una proporción de 1:1. La solución se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Una vez completada la reacción por TLC, el solvente fue evaporado mediante un flujo de aire durante 30 min, hasta que el vapor tuviera un pH neutro. Después de eso, se añadieron CH<sub>3</sub>CN seco (20 mL/mmol) y K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (4 Eq), seguido de la adición del tosilato apropiado (2a-2e, 1,2 Eq). La suspensión se calentó a reflujo bajo N<sub>2</sub> y se agitó durante 16 h. Una vez transcurrido el tiempo de reacción, la mezcla fue concentrada y luego se añadieron EtOAc (20 ml) y agua (2 x 20 ml). Se realizaron 3 extracciones, posteriormente la fase orgánica se secó (MgSO<sub>4</sub> anhidro) y concentró a presión reducida. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice) con una mezcla de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH 95:5 → 8:2, obteniéndose productos puros de aspecto sólido y oleoso con rendimientos entre 75-88%.

3-(3-{4-[3-(4-benzoilpiperazin-1-il) propil]piperazin-1-il} propil)-1*H*-indol (**3**)



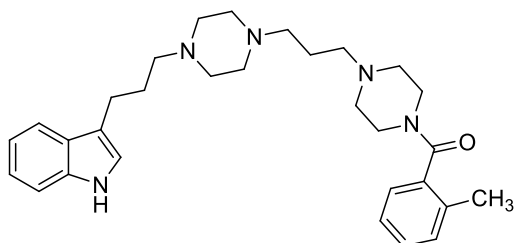
De 0,118 g (0,28 mmol) de compuesto IIIa y su reacción con el derivado 3-(1*H*-3-Indolil)-propil-4-metilbencensulfonatos (IIa) fueron obtenidos 0.105 g (78 %) del compuesto final **3** de aspecto sólido de color amarillo pálido. Pf: 79-81 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ = 8,06 (s, 1 H, NH<sub>Indol</sub>), 7,41 (d, 1 H, J<sub>H,H</sub> = 7,8 Hz, Ar<sub>Indol</sub>), 7,23 (m, 5 H, Ar<sub>benz</sub>), 7,17 (d, 1 H, J<sub>H,H</sub> = 8,07 Hz, Ar<sub>Indol</sub>), 7,00 (t, 1 H, J<sub>H,H</sub> = 7,09 Hz, Ar<sub>Indol</sub>) 6,92 (t, 1 H, J<sub>H,H</sub> = 7,09 Hz, Ar<sub>Indol</sub>), 6,80 (d, 1 H, Ar<sub>Indol</sub>), 3,61 (bs, 2 H, CH<sub>2Pip</sub>), 3,25 (bs, 2 H, CH<sub>2Pip</sub>) 2,82 (bs, 2 H, CH<sub>2Pip</sub>), 2,61 (t, 2 H, J<sub>H,H</sub> = 7.34 Hz, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 2,43 (bs, 4 H, CH<sub>2Pip</sub>), 2,35 (m, 4 H, CH<sub>2Pip</sub>), 2,28 (m, 4H, CH<sub>2Pip</sub>), 2,22 (m, 4H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N) 1,78 (q, 2 H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar<sub>Indol</sub>), 1.54 (q, 2H, N CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 170,3 (NCO<sub>Ar</sub>), 136,3 (C<sub>q</sub>CON), 135,8 (C<sub>q</sub>benz), 129,6, 128,4, 127,4 (CHAr<sub>benz</sub>), 127,0 (C<sub>q</sub>Ar<sub>Indol</sub>) 121,8, 121,2, 119,0, 118,8, 115,8, 111,1 (CHAr<sub>Indol</sub>), 58,1 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 56,3 (CH<sub>2</sub>Pip), 26,8 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 23,1 (ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N) 22,8 (ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N).

HRMS: (ESI-TOF) m/z calcd. Para C<sub>29</sub>H<sub>39</sub>N<sub>5</sub>O: 474,3227. Encontrado: 474,3241

3-[3-(4-{3-[4-(2-metilbenzoil) piperazin-1-il]propil} piperazin-1-il)propil]-1H-indol (**4**)



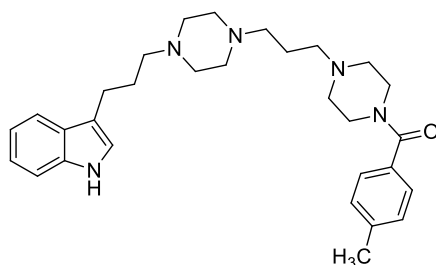
De 0,100 g (0,23 mmol) del compuesto IIIb y su reacción con el derivado 3-(1H-3-Indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (IIa) fueron obtenidos 0,093 g (84 %) del compuesto final **4**, de aspecto sólido de color amarillo pálido P.F: 82-84 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 8,18 (s, 1 H,  $\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 7,53 (d, 2 H, ,  $\text{J}_{\text{H,H}} = 7,83$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 7,30 (d, 2 H, ,  $\text{J}_{\text{H,H}} = 8,07$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ) 7,23 (m, 2 H,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ) 7,16 – 7,15 (m, 2 H,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 7,12 (m, 2 H  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 7,05 (m, 1 H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,93 (d, 1 H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 3,78 (d, 2 H,  $\text{J}_{\text{H,H}} = 4,89$  Hz,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 3,19 (dd, 2 H,  $\text{J}_{\text{H,H}} = 5,14$  Hz,  $\text{J}_{\text{H,H}} = 3,18$  Hz  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 2,74 (t, 2 H,  $\text{J}_{\text{H,H}} = 7,46$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,58 (bs, 4H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ) 2,45 (m, 6 H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ,  $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,34 (2H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 2,28 (m, 5H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ,  $\text{CH}_3$ ), 1,92 (q, 2 H,  $\text{J}_{\text{H,H}} = 7,67$  Hz,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$   $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 1,66 (q, 2 H,  $\text{J}_{\text{H,H}} = 7,37$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ) .

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 169,9 (NCOAr), 136,3 (COCq), 136,1 (CqNH $_{\text{Indol}}$ ), 134,1 (CqAr $\text{CH}_3$ ), 130,4, 128,8 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 127,4 (Cq $_{\text{Indol}}$ ), 125,8,125.9 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), (121,8, 121,3, 119,1, 111,8 ( $\text{CHAr}_{\text{Indol}}$ ), 115,7 (Cq $_{\text{Indol}}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 58,01 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 56,2, 53,1, 52,5, 46,7, 41,4 ( $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 52,5, 26,7 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 23,8 , 22,8 ( $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 19,04 ( $\text{CH}_3$ ).

HRMS: (ESI-TOF) m/z calcd. Para  $\text{C}_{30}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}$ : 488,3384. Encontrado: 488,3400

3-[3-(4-{3-[4-(4-metilbenzoil) piperazin-1-il]propil}piperazin-1-il)propil]-1*H*-indol (5)



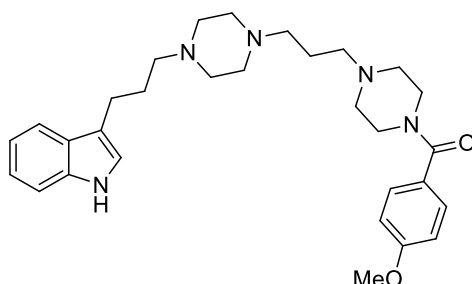
De 0,120 g (0,23 mmol) del compuesto IIIc y su reacción con el derivado 3-(1*H*-3-Indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (IIa) fueron obtenidos 0,100 g (74 %) del compuesto final 5, de aspecto sólido de color amarillo pálido. P.F: 113-115 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 8,16 (s, 1 H, NH<sub>Indol</sub>), 7,54 (d, 2 H, , J<sub>H,H</sub> = 7,83 Hz Ar<sub>Indol</sub>), 7,30 (d, 2 H, , J<sub>H,H</sub> = 8,07 Hz Ar<sub>Indol</sub>) 7,26 (m, 2 H, Ar<sub>benz</sub>) 7,16 (d, 2 H, , J<sub>H,H</sub> = 7,58 Hz Ar<sub>benz</sub>), 7,12 (m, 1 H Ar<sub>Indol</sub>), 7,06 (m, 1 H, Ar<sub>Indol</sub>), 6,94 (d, 1 H, Ar<sub>Indol</sub>), 3,72 (bs, 2 H, CH<sub>2</sub>Pip), 3,42 (bs, 2 H, CH<sub>2</sub>Pip), 2,74 (t, 2 H, J<sub>H,H</sub> = 7,46 Hz, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 2,58 (bs, 6H, CH<sub>2</sub>Pip, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N) 2,47 (m, 4 H, CH<sub>2</sub>Pip, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar), 2,40 (4H, CH<sub>2</sub>Pip), 2,35 (m, 4H, CH<sub>2</sub>Pip), 1,91 (q, 2 H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> Ar<sub>Indol</sub>), 1,67 (q, 2 H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N) .

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ = 170,4 (NCOAr), 139,8 (CqCH<sub>3</sub>benz), 136,1 (Cq<sub>Indol</sub>), 132,8 (CqCO), 129,0, 127,1 (CHAr<sub>benz</sub>), 127,4 (Cq<sub>Indol</sub>), 125,9 (CHNH<sub>Indol</sub>), (121,8, 121,3, 119,1, 111,1 (CHAr<sub>Indol</sub>), 115,7 (CqindolCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 58,04 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 56,26, 56,24 (CH<sub>2</sub>Pip), 52,5, 26,7 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N) 23,7, 22,8 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar<sub>Indol</sub>), 21,3 (CH<sub>3</sub>).

HRMS: (ESI-TOF) m/z calcd. Para C<sub>30</sub>H<sub>41</sub>N<sub>5</sub>O: 488,3384 Encontrado: 487,3405

3-[3-(4-{3-[4-(4-metoxilbenzoil) piperazin-1-il]propil}piperazin-1-il)propil]-1*H*-indol (**6**)



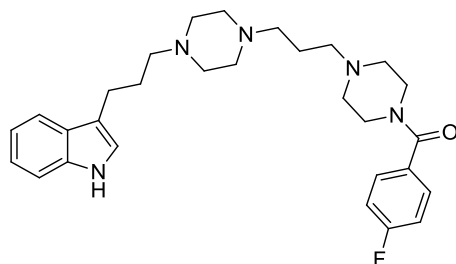
De 0,1016 g (0,23 mmol) del compuesto III d y su reacción con el derivado 3-(1*H*-3-Indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (II a) fueron obtenidos 0,108 g (94 %) del compuesto final **6**, de aspecto sólido de color amarillo pálido. P.f: 117-119 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ = 8,10 (s, 1 H, NH<sub>Indol</sub>), 7,55 (d, 1 H, J<sub>H,H</sub> = 7,83 Hz Ar<sub>Indol</sub>), 7,34 (m, 2 H, Ar<sub>benz</sub>), 7,30 (d, 1 H, J<sub>H,H</sub> = 8,07 Hz Ar<sub>Indol</sub>), 7,14 (td, 1 H, J<sub>H,H</sub> = 7,52 Hz Ar<sub>Indol</sub>), 7,06 (m, 1 H Ar<sub>Indol</sub>), 6,93 (d, 1H, Ar<sub>Indol</sub>), 6,87 (ddd, J<sub>1H,H</sub> = 9,17 Hz, J<sub>2H,H</sub> = 2,69 Hz, J<sub>3H,H</sub> = 2,32 Hz, Ar<sub>benz</sub>), 3,79 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,60 (bs, 4 H, CH<sub>2Pip</sub>), 2,74 (t, 2 H, J<sub>H,H</sub> = 7,46 Hz, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 2,58 (bs, 6H, CH<sub>2Pip</sub>, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 2,50 (m, 4 H, CH<sub>2Pip</sub>, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar), 2,43 (4H, CH<sub>2Pip</sub>), 2,33 (m, 7H, CH<sub>2Pip</sub>, CH<sub>3</sub>), 1,92 (m, 2 H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> Ar<sub>Indol</sub>), 1,67 (m, 2 H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K): δ = 170,3 (NCOAr), 160,7 (CqOMe<sub>benz</sub>), 136,4 (CqNH<sub>Indol</sub>), 131,4 (COCq), 129,1 (CHAr<sub>benz</sub>), 127,8 (Cq<sub>Indol</sub>), 125,9 (CHNH<sub>Indol</sub>), (121,8, 121,2, 119,1, 118,8, 111,1 (CHAr<sub>Indol</sub>), 113,02 (CHAr<sub>benz</sub>), 115,7 (Cq<sub>Indol</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 58,1 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 56,3 (CH<sub>2Pip</sub>), 55,4 (CH<sub>3</sub>), 51,3, 50,6 (CH<sub>2Pip</sub>), 52,5, 26,9 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 23,9, 22,8 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar<sub>Indol</sub>)

HRMS: (ESI-TOF) m/z calcd. Para C<sub>30</sub>H<sub>41</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>: 504,3333. Encontrado: 504,3329

3-[3-(4-{3-[4-(4-fluorobenzoyl) piperazin-1-il]propil} piperazin-1-il)propil]-1H-indol (7)



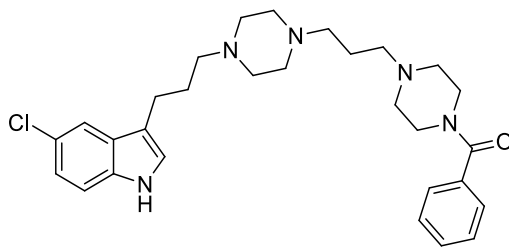
De 0,1029 g (0,24 mmol) del compuesto IIIe y su reacción con el derivado 3-(1H-3-Indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (IIa) fueron obtenidos 0,101 g (84 %) del compuesto final **7** de aspecto sólido de color amarillo oscuro. P.f: 130-132 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 8,14 (s, 1 H,  $\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 7,55 (d, 1 H, ,  $J_{\text{H,H}} = 7,83$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 7,37 (m, 2 H,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,30 (d, 1 H,  $J_{\text{H,H}} = 8,07$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 7,14 (td, 1 H, ,  $J_{1\text{H,H}} = 7,58$  Hz, ,  $J_{2\text{H,H}} = 0,98$  Hz,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 7,05 (m, 3 H,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,94 (d, 1H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 3,72(bs, 2H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 3,39 (bs, 2H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 2,74 (t, 2 H,  $J_{\text{H,H}} = 7,34$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,56 ( bs, 6H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ) 2,47 (m, 4 H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ), 2,40 (4H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 2,34 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 1,91 (m, 2 H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 1,67 (m, 2 H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ) .

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 169,3 ( $\text{NCOAr}$ ), 164,6, 162,1 ( $\text{C}_q\text{F}_{\text{benz}}$ ), 136,3 ( $\text{C}_q\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 131,8 ( $\text{COC}_q$ ), 129,4, 129,3 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 127,8 ( $\text{C}_q\text{Indol}$ ), 125,9 ( $\text{CHNH}_{\text{Indol}}$ ), (121,8, 121,2, 119,1, 118,8, 111,1 ( $\text{CHAr}_{\text{Indol}}$ ), 115,9( $\text{C}_q\text{IndolCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 115,6,115,4 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 58,1 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 56,32, 56,28 ( $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 52,7, 26,8 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ) 23,9, 22,8 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ),

HRMS: (ESI-TOF) m/z calcd. Para  $\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{FN}_5\text{O}$ : 492,3133 encontrado: 492,3157

3-(3-{4-[3-(4-benzoilpiperazin-1-yl)propil]piperazin-1-il}propil)-5-cloro-1H-indol (**8**)



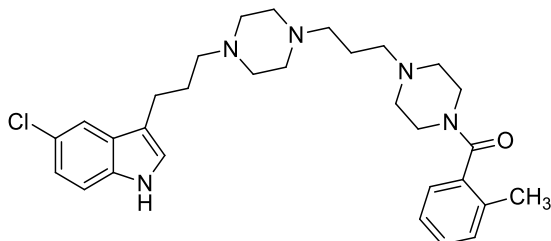
De 0,110 g (0,26 mmol) del compuesto IIIa y su reacción con el derivado 3-(5-cloro-1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (IIb) fueron obtenidos 0,105 g (78 %) del compuesto final **8**, de aspecto sólido de color amarillo pálido. P.F: 81-83 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  8,26 (s, 1 H,  $\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 7,37 (d, 1 H, ,  $J_{\text{H,H}} = 1,71$  Hz  $\text{Ar}_{\text{indol}}$ ), 7,23 ( m, 5H ,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$  ) , 7,07 ( d , 1 H, 8,56 Hz  $\text{Ar}_{\text{indol}}$ ), 6,93 ( dd, 1 H,  $J_{1\text{H,H}} = 8,56$  Hz,  $J_{2\text{H,H}} = 1,96$  Hz  $\text{Ar}_{\text{indol}}$  ) , 6,80 (d, 1H,  $\text{Ar}_{\text{indol}}$ ), 3,61(bs, 2H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$  ) , 3,25 (bs, 2H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 2,90 ( bs, 2 H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 2,54 (t, 2 H,  $J_{\text{H,H}} = 7,34$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,43 ( bs, 6H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ) 2,29 (m, 6H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 2,21 (4H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 1,72 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$   $\text{Ar}_{\text{indol}}$ ), 1,54 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ) .

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta = 170,3$  ( $\text{NCOAr}$ ), 135,7 ( $\text{C}_q\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 134,6 ( $\text{COC}_q$ ), 129,6 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 128,6 ( $\text{C}_q\text{Indol}$ ), 127,04 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), , 125,8 (  $\text{CHNH}_{\text{Indol}}$ ), 124,7 ( $\text{ArCl}$ ), (122,8, 122,0, 118,3, 112,1 ( $\text{CHAr}_{\text{indol}}$ ), 115,4 ( $\text{C}_q\text{IndolCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 57,8 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 56,32, 56,25, 52,65 ( $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 52,7, 26,8 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 23,8, 22,5 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{indol}}$ )

HRMS: (ESI-TOF) m/z calcd. Para  $\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{ClN}_5\text{O}$ : 508,2838 encontrado: 508,2857

5-cloro-3-[3-(4-{3-[4-(2-metilbenzoi)piperazin-1-il]propil}piperazin-1-il)propil]-1H-indol (**9**)



De 0,120 g (0,28 mmol) del compuesto IIIb y su reacción con el derivado 3-(5-cloro-1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (IIb) fueron obtenidos 0,12 g (80 %) del compuesto final **9**, de aspecto sólido de colo amarillo pálido. P.f: 88-90 °C.

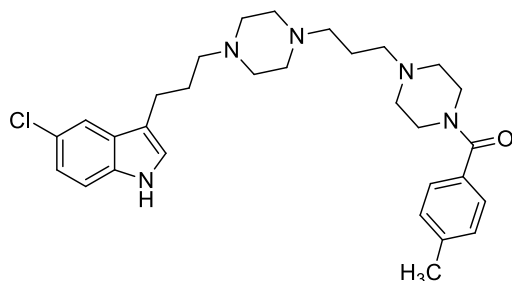
$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 8,33 (s, 1 H,  $\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 7,50 (d, 1 H,  $J_{\text{H,H}} = 1,96$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 7,23 (m, 2H,  $\text{Ar}_{\text{ind}}$ ,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,16 (m, 2H,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,10 (m, 1H,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,06 (dd, 1 H,  $J_{1\text{H,H}} = 8,56$  Hz,  $J_{2\text{H,H}} = 1,96$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,94 (d, 1H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 3,78 (d, 2H,  $J_{\text{H,H}} = 4,89$  Hz  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 3,19 (d, 2H,  $J_{\text{H,H}} = 1,96$  Hz  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 2,95 (bs, 2 H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 2,68 (t, 2 H,  $J_{\text{H,H}} = 7,34$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,8 (bs, 6H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,44 (m, 6H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 2,34 (t, 2H,  $J_{\text{H,H}} = 7,21$  Hz  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 2,27 (m, 5H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ,  $\text{CH}_3$ ), 1,86 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$   $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 1,67 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 169,9 (NCOAr), 136,0 ( $\text{C}_q\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 134,6 (CO $\text{C}_q$ ), 134,1 ( $\text{CH}_3$ ), 130,4 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 128,8 ( $\text{C}_q\text{Indol}$ ), 125,9 ( $\text{CHNH}_{\text{Indol}}$ ), 125,86, 125,80 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 124,8 ( $\text{ArCl}$ ), (122,8, 122,0, 118,3, 112,1 ( $\text{CHAr}_{\text{Indol}}$ ), 115,5 ( $\text{C}_q\text{IndolCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 57,7 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 56,2, 56,1 ( $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 53,5, 53,0 26,7 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 52,58, 52,51, 41,4 ( $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ) 23,7, 22,5 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 19,04 ( $\text{CH}_3$ )

HRMS: (ESI-TOF) m/z calcd. Para  $\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{ClN}_5\text{O}$ : 522,2994 .Encotrado: 522,3014



5-cloro-3-[3-(4-{3-[4-(4-metilbenzoil) piperazin-1-il]propil}piperazin-1-il)propil]-1H-indol  
(10)



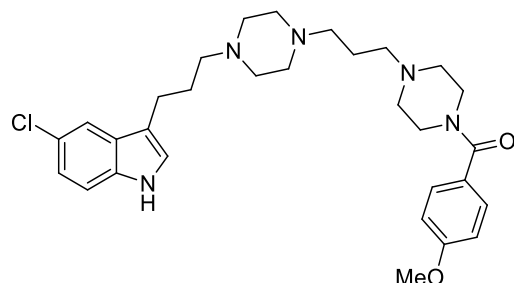
De 0,110 g (0,26 mmol) del compuesto IIIc y su reacción con el derivado 3-(5-cloro-1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (IIb) fueron obtenidos 0,105 g (80 %) del compuesto final **10**, de aspecto sólido de color café claro. P.f: 94-96 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 8,33 (s, 1 H,  $\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 7,49 (d, 1 H,  $J_{\text{H,H}} = 1,71$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 7,23 (m, 2H,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,18 (d, 1H,  $J_{\text{H,H}} = 8,56$  Hz  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,14 (d, 2H,  $J_{\text{H,H}} = 8,07$  Hz  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,04 (dd, 1 H,  $J_{1\text{H,H}} = 8,56$  Hz,  $J_{2\text{H,H}} = 1,96$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,93 (d, 1H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 3,70 (bs, 2H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 3,39 (d, 2H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 2,66 (t, 2 H,  $J_{\text{H,H}} = 7,34$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,54 (bs, 6H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,41 (m, 6H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 2,31 (m, 7H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ,  $\text{CH}_3$ ), 1,84 (q, 2H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$   $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 1,66 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 170,4 ( $\text{NCOAr}$ ), 139,8 ( $\text{C}_q\text{CH}_3\text{benz}$ ), 136,6 ( $\text{C}_q\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 132,8 ( $\text{COC}_q$ ), 129,0 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 128,6 ( $\text{C}_q\text{Indol}$ ), 127,1 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 125,8 ( $\text{CHNH}_{\text{Indol}}$ ), 124,8 ( $\text{ArCl}$ ), 122,8, 122,0, 118,3, 112,1 ( $\text{CHAr}_{\text{Indol}}$ ), 115,6 ( $\text{C}_q\text{IndolCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 57,8 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 56,3, 56,2 ( $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 52,69, 52,63 ( $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 29,6, 26,8 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 23,8, 22,5 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 21,3 ( $\text{CH}_3$ ).

HRMS: (ESI-TOF) m/z calcd. Para  $\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{ClN}_5\text{O}$ : 522,2994 Encontrado: 522,3010

5-cloro-3-[3-(4-{3-[4-(4-metoxibenzoil) piperazin-1-il]propil}piperazin-1-il)propil]-1H-indol  
(11)



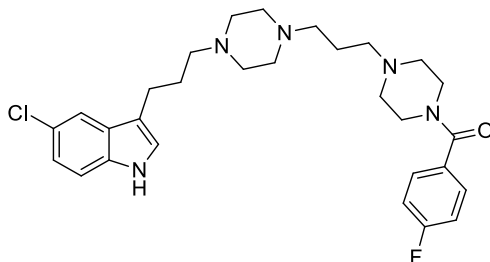
De 0,074 g (0,21 mmol) del compuesto IIIId y su reacción con el derivado 3-(5-cloro-1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (IbB) fueron obtenidos 0,100 g (87 %) del compuesto final **11** de aspecto sólido de color amarillo P.f: 106-107 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 8,43 (s, 1 H,  $\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 7,54 (d, 1 H,  $J_{\text{H,H}} = 8,80$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 7,37 (d, 1 H,  $J_{\text{H,H}} = 8,6$  Hz,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,1 (dd, 1 H,  $J_{\text{H,H}} = 8,6$  Hz,  $J_{\text{H,H}} = 1,7$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,99 (d, 1H,  $J_{\text{H,H}} = 1,7$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,9 (d, 1 H,  $J_{\text{H,H}} = 8.8$  Hz,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 3,83 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,66 (bs, 4H,  $\text{CH}_2_{\text{Pip}}$ ), 2,72 (t, 2 H,  $J_{\text{H,H}} = 7.34$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,62 (bs, 6H,  $\text{CH}_2_{\text{Pip}}$ ), 2,45 (m, 10H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}, \text{CH}_2_{\text{Pip}}$ ), 1,91 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 1,73 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 170,2 ( $\text{NCOAr}$ ), 160,7 ( $\text{C}_q\text{Ar}_{\text{benz}}\text{OCH}_3$ ), 134,6 ( $\text{C}_q\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 129,1 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 128,6 ( $\text{C}_q\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 127,8 ( $\text{COC}_q$ ), 124,8 ( $\text{ArCl}$ ), 122,8, 122,0, 118,3, 112,1 ( $\text{CHAr}_{\text{Indol}}$ ), 115,6 ( $\text{C}_q\text{IndolCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 113,7 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 57,8 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 56,27 ( $\text{CH}_2_{\text{Pip}}$ ), 55,3 ( $\text{CH}_3$ ), 52,6, 52,5 ( $\text{CH}_2_{\text{Pip}}$ ) 29,6, 26,7 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ) 23,7, 22,5 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ )

HRMS: (ESI-TOF)  $m/z$  calcd. Para  $\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{ClN}_5\text{O}$ : 538,2943. Encontrado: 538,2960

5-cloro-3-[3-(4-{3-[4-(4-fluorobenzoyl) piperazin-1-il]propil}piperazin-1-il)propil]-1H-indol  
(12)



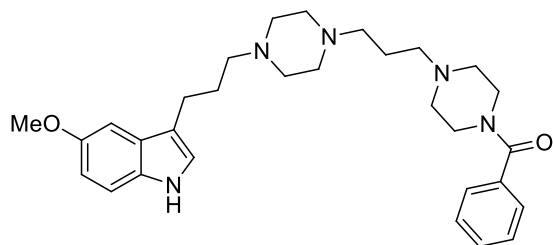
De 0,108 g (0,24 mmol) del compuesto IIIe y su reacción con el derivado 3-(5-cloro-1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (IIb) fueron obtenidos 0,112 g (86 %) del compuesto final **12**, de aspecto sólido de color amarillo. P.f: 89-80 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 8,26 (s, 1 H,  $\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 7,51 (d, 1 H,  $J_{\text{H,H}} = 1,96$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 7,36 (ddd, 2H,  $J_{1\text{H,H}} = 11,62$  Hz,  $J_{2\text{H,H}} = 5,01$  Hz,  $J_{3\text{H,H}} = 2,69$  Hz  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,21 (d, 1H,  $J_{\text{H,H}} = 8,80$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 7,06 (m, 2 H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 6,95 (d, 1H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 3,70 (bs, 2H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 3,40 (d, 2H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 2,68 (t, 2 H,  $J_{\text{H,H}} = 7.46$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,57 (bs, 6H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,44 (m, 6H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 2,34 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 1,86 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 1,68 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 169,3 ( $\text{NCOAr}$ ), 164,6, 162,1 ( $\text{C}_{\text{qbenzF}}$ ), 134,6 ( $\text{C}_{\text{qNH}_{\text{Indol}}}$ ), 131,7 ( $\text{COC}_{\text{q}}$ ), 129,42, 129,33 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 128,8 ( $\text{C}_{\text{qIndol}}$ ), 125,8 ( $\text{CHNH}_{\text{Indol}}$ ), 124,8 ( $\text{ArCl}$ ), 122,7, 122,1, 118,3, 115,7, 112,1 ( $\text{CHAr}_{\text{Indol}}$ ), 115,7 ( $\text{C}_{\text{qIndolCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2}$ ), 115,6, 115,6 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 57,8 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 56,3, 56,2 ( $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 52,73, 52,64 ( $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 29,6, 26,9 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 23,8, 22,5 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ )

HRMS: (ESI-TOF)  $m/z$  calcd. Para  $\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{ClFN}_5\text{O}$ : 526,2743. Encontrado: 526,2779

3-(3-{4-[3-(4-benzoilpiperazin-1-il)propil]piperazin-1-il}propil)-5-metoxi-1H-indol (**13**)



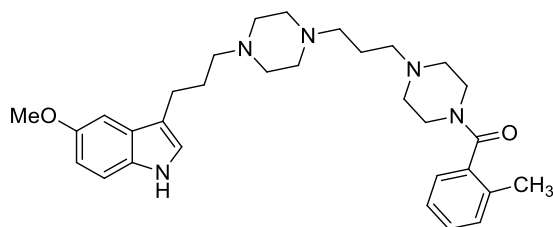
De 0,108 g (0,25 mmol) del compuesto IIIa y su reacción con el derivado 3-(5-metoxi-1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (IIc) fueron obtenidos 0,110 g (88 %) del compuesto final **13**, de aspecto oleoso de color café.

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 7,95 (s, 1 H,  $\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 7,23 (m, 5H,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,06 (d, 1H,  $J_{\text{H,H}} = 8,80$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,83 (d, 1H,  $J_{1\text{H,H}} = 2,45$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,78 (d, 1H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,67 (dd, 1H,  $J_{1\text{H,H}} = 8,80$ ,  $J_{2\text{H,H}} = 2,45$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 3,68 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,61 (bs, 2H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 3,25 (d, 2H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 2,56 (t, 2 H,  $J_{\text{H,H}} = 7.46$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,46 (bs, 6H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,44 (m, 4H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 2,30 (m, 4H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 2,21 (m, 4H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 1,77 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 1,54 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 170,3 ( $\text{NCOAr}$ ), 153,8 ( $\text{C}_{\text{qbenzOMe}}$ ), 135,7 ( $\text{COC}_{\text{q}}$ ), 131,5 ( $\text{C}_{\text{qNHIndol}}$ ), 129,6, 128,4, 127,0 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 127,8 ( $\text{C}_{\text{qIndol}}$ ), 125,8 ( $\text{CHNH}_{\text{Indol}}$ ), 115,4 ( $\text{C}_{\text{qCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}}$ ), 111,96, 111,84, 100,84 ( $\text{CHAr}_{\text{Indol}}$ ), 58,0 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 56,24, 56,21 ( $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 56,01 ( $\text{OCH}_3$ ), 52,57, 52,49 ( $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 30,9, 26,5 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 23,7, 22,8 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ )

HRMS: (ESI-TOF)  $m/z$  calcd. Para  $\text{C}_{30}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}_2$ : 504,3333. Encontrado: 504,3364

5-metoxi-3-[3-(4-{3-[4-(2-metilbenzoi)piperazin-1-il]propil}piperazin-1-il)propil]-1H-indol  
(14)



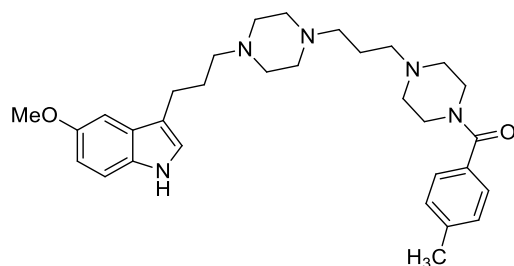
De 0,107 g (0,25 mmol) del compuesto IIIb y su reacción con el derivado 3-(5-metoxi-1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (IIc) fueron obtenidos 0.104 g (85 %) del compuesto final **14**, de aspecto sólido de color café oscuro. P.f: 106-108 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 8,05 (s, 1 H,  $\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 7,23 (m, 2H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,16 (m, 2H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,10 (m, 1H,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 6,96 (d, 1H,  $J_{\text{H,H}} = 2,45$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,91 (d, 1H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,80 (dd, 1H,  $J_{\text{H,H}} = 8,68$ ,  $J_{\text{H,H}} = 2,32$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 3,81 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,78 (bs, 2H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 3,19 (dd, 2H,  $J_{\text{H,H}} = 4,89$ ,  $J_{\text{H,H}} = 2,93$  Hz  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 2,70 (t, 2 H,  $J_{\text{H,H}} = 7,34$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,62 (bs, 4H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 2,53, 2,45 (m, 8H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 2,33 (t, 2H,  $J_{\text{H,H}} = 7,34$  Hz,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,28 (m, 5H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 1,92 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 1,67 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 169,3 ( $\text{NCOAr}$ ), 153,8 ( $\text{C}_{\text{qbenzOCH}_3}$ ), 136,0 ( $\text{C}_{\text{qbenzCH}_3}$ ), 134,1 ( $\text{COC}_{\text{q}}$ ), 131,5 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 130,4 ( $\text{C}_{\text{qNH}_{\text{Indol}}}$ ), 128,86 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 128,85 ( $\text{C}_{\text{qIndol}}$ ), 127,7 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 125,9 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 125,8 ( $\text{CHNH}_{\text{Indol}}$ ), 115,4 ( $\text{C}_{\text{qCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}}$ ), 111,98, 111,85, 100,83 ( $\text{CHAr}_{\text{Indol}}$ ), 57,4 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 56,13 ( $\text{CH}_3$ ), 56,02 ( $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 53,5, 53,0 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 52,40, 52,31 ( $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 46,7, 41,41 ( $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 30,9, 26,3 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 23,7, 22,8 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 19,04 ( $\text{CH}_3$ )

HRMS: (ESI-TOF) m/z calcd. Para  $\text{C}_{31}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_2$ : 518,3490. Encontrado: 518,3488

5-metoxi-3-[3-(4-{3-[4-(4-metilbenzoil)piperazin-1-il]propil}piperazin-1-il)propil]-1H-indol  
(15)



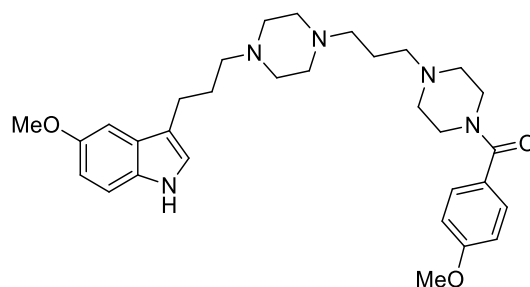
De 0,113 g (0,26 mmol) del compuesto IIIc y su reacción con el derivado 3-(5-metoxi-1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (IIc) fueron obtenidos 0,115 g (85 %) del compuesto final **15**. De aspecto sólido de color café oscuro. P.f: 105-107 °C

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 8,03 (s, 1 H,  $\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 7,25 (m, 2H,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,19 (d, 2H,  $J_{\text{H,H}} = 8,80$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 7,16 (d, 2H,  $J_{\text{H,H}} = 7,83$  Hz  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 6,97 (d, 1H,  $J_{\text{H,H}} = 2,45$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,91 (d, 1H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,80 (dd, 1H,  $J_{\text{H,H}} = 8,80$ ,  $J_{\text{H,H}} = 2,45$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 3,82 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,41 (bs, 2H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 2,70 (t, 2 H,  $J_{\text{H,H}} = 7,34$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,59 (bs, 6H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,51 (m, 4H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,43 (m, 4H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 2,33 (m, 7H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ,  $\text{CH}_3$ ), 1,91 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 1,67 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 170,4 ( $\text{NCOAr}$ ), 153,8 ( $\text{C}_{\text{qbenz}}\text{OMe}$ ), 139,8 ( $\text{C}_{\text{qbenz}}\text{CH}_3$ ), 132,8 ( $\text{COC}_{\text{q}}$ ), 131,5 ( $\text{C}_{\text{qNH}}\text{Indol}$ ), 129,0, 127,1 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 127,81 ( $\text{C}_{\text{qIndol}}$ ), 125,9 ( $\text{CHNH}_{\text{Indol}}$ ), 115,4 ( $\text{C}_{\text{q}}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 111,99, 111,83, 100,84 ( $\text{CHAr}_{\text{Indol}}$ ), 58,05 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 56,24 ( $\text{CH}_3$ ), 56,01 ( $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 52,9 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 52,57, 52,49 ( $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 46,7, 41, 41 ( $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 30,9, 26,5 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 23,7, 22,8 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 21,3 ( $\text{CH}_3$ )

HRMS: (ESI-TOF) m/z calcd. Para  $\text{C}_{31}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_2$ : 518,3490. Encontrado: 518,3505

5-metoxi-3-[3-(4-{3-[4-(4-metoxilbenzoil)piperazin-1-il]propil}piperazin-1-il)propil]-1H-indol  
(16)



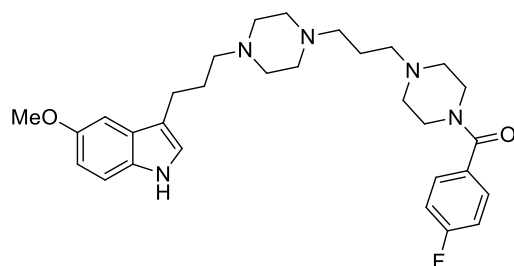
De 0,113 g (0,26 mmol) del compuesto III d su reacción con el derivado 3-(5-metoxi-1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (II c) fueron obtenidos 0,115 g (85 %) del compuesto final **16**, de aspecto sólido de color café oscuro. P.f: 106-108 °C

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 8,04 (s, 1 H,  $\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 7,33(ddd, 2H,  $J_{1\text{H,H}} = 9,11$  Hz,  $J_{2\text{H,H}} = 2,57$  Hz,  $J_{3\text{H,H}} = 2,26$  Hz  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,19 (d, 2H,  $J_{1\text{H,H}} = 8,80$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,97 (d, 1H,  $J_{1\text{H,H}} = 2.20$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,92 (d, 1H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,86 (m, 2H,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 6,80 (dd, 1H,  $J_{1\text{H,H}} = 8,68$ ,  $J_{2\text{H,H}} = 2.32$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 3,82 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,79 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,58 (bs, 4H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 2,70 (t, 2 H,  $J_{\text{H,H}} = 7,46$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,59 (bs, 6H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,51 (m, 4H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,38 (m, 8H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 1,91 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 1,67 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 170,2 ( $\text{NCOAr}$ ), 160,7 ( $\text{C}_{\text{qbenzOMe}}$ ), 153,8 ( $\text{C}_{\text{qbenzOMe}}$ ), 131,5 ( $\text{COC}_{\text{q}}$ ), 129,1( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 128,8 ( $\text{C}_{\text{qNH}_{\text{Indol}}}$ ), 127,8 ( $\text{C}_{\text{qI}_{\text{Indol}}}$ ), 125,9 ( $\text{CHNH}_{\text{Indol}}$ ), 115,4 ( $\text{C}_{\text{qCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 113,0 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 111,99, 111,83, 100,84 ( $\text{CHAr}_{\text{Indol}}$ ), 58,04 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 56,26 ( $\text{CH}_3$ ), 56,01 ( $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 55,3 ( $\text{CH}_3$ ), 53,22 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 52,61, 52.54 ( $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 26,5 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ) 23,8, 22,8 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ )

HRMS: (ESI-TOF) m/z calcd. Para  $\text{C}_{31}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_3$ : 534,3439 Encontrado: 534,3458.

5-metoxi-3-[3-(4-{3-[4-(4-fluorolbenzoil)piperazin-1-il]propil}piperazin-1-il)propil]-1H-indol  
(17)



De 0,120 g (0,28 mmol) del compuesto IIIe su reacción con el derivado 3-(5-metoxi-1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (II) fueron obtenidos 0,126 g (84 %) del compuesto final **17**, de aspecto sólido de color café oscuro. P.f: 108 – 110 °C.

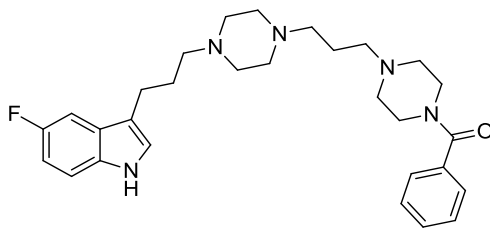
$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 8,08 (s, 1 H,  $\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 7,36(ddd, 2H, ,  $J_{1\text{H,H}} = 11,74$  Hz,  $J_{2\text{H,H}} = 5,14$  Hz,  $J_{3\text{H,H}} = 2,69$  Hz  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,19( d, 2H, ,  $J_{1\text{H,H}} = 8,80$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 7,05 (m, 2H,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 6,97 (d, 1H ,  $J_{1\text{H,H}} = 2,45$  Hz  $\text{Ar}_{\text{indol}}$ ), 6,91 (d, 1H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,80 (dd, 1H, ,  $J_{1\text{H,H}} = 8,68$ ,  $J_{2\text{H,H}} = 2,32$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$  ), 3,82 (s , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,71 (bs, 2H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 2,69 (t, 2 H,  $J_{\text{H,H}} = 7,34$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,59 (bs, 6H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ) , 2,51 (m, 4H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ) , 2,43 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 2,34 (m, 7H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ,  $\text{CH}_3$ ), 1,90 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 1,67 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ) .

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 169,3 ( $\text{NCOAr}$ ), 164,6 , 162,1 ( $\text{C}_{\text{qbenzF}}$ ) 153,8 ( $\text{C}_{\text{qbenzOCH}_3}$ ), 139,8 ( $\text{C}_{\text{qbenzCH}_3}$ ), 131,7 ( $\text{COC}_q$ ), 131,5( $\text{C}_q\text{NH}_{\text{Indol}}$ ) 129,42, 129,33 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 127,8 ( $\text{C}_{\text{qIndol}}$ ), 125,8 ( $\text{CHNH}_{\text{Indol}}$ ), 115,8, 115,46 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 115,42 ( $\text{C}_q\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 111,96 , 111,84, 100,84 ( $\text{CHAr}_{\text{Indol}}$ ), 58,04 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), , 56,21, 56,18 ( $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 56,01 ( $\text{CH}_3$ ) , 52,56, 52,49 ( $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 30,9, 26,5 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ) 23,7 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 22,8 (  $\text{CH}_3$ )

HRMS: (ESI-TOF) m/z calcd. Para  $\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{FN}_5\text{O}_2$ : 522,3239. Encontrado: 522,3264



3-(3-{4-[3-(4-benzoylpiperazin-1-il)propil]piperazin-1-il}propil)-5-fluoro-1H-indol (**18**)



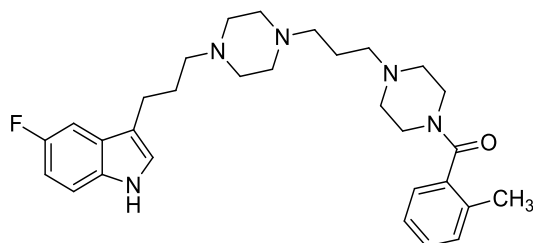
De 0,107 g (0,26 mmol) del compuesto IIIa su reacción con el derivado 3-(5-Fluor-1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (IIId) fueron obtenidos 0,113 g (88 %) del compuesto final **18**, de aspecto oleoso de color café pálido.

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 8,18 (s, 1 H,  $\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 7,22 (m, 5H,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,07 (dd, 1H,  $J_{\text{H,H}} = 8,80$  Hz,  $J_{\text{H,H}} = 4,40$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 7,03 (dd, 1H,  $J_{\text{H,H}} = 9,78$  Hz,  $J_{\text{H,H}} = 2,45$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 7,05 (m, 2H,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 6,83 (d, 1H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,37 (dd, 1H,  $J_{\text{H,H}} = 9,05$ ,  $J_{\text{H,H}} = 2,45$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 3,60 (bs, 2H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 3,25 (bs, 2H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 2,80 (bs, 2H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 2,54 (t, 2 H,  $J_{\text{H,H}} = 7,46$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,45 (bs, 6H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,31 (m, 6H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,20 (m, 2H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 1,74 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 1,54 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 170,3 ( $\text{NCOAr}$ ), 158,7, 156,4 ( $\text{C}_{\text{qIndol}}\text{F}$ ), 135,7 ( $\text{COC}_{\text{q}}$ ), 132,8 ( $\text{C}_{\text{qNHIndol}}$ ), 129,7 ( $\text{C}_{\text{qIndol}}$ ), 129,7 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 128,4 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 127,0 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 125,8 ( $\text{CHNH}_{\text{Indol}}$ ), 111,7 ( $\text{CHAr}_{\text{indol}}$ ), 110,2 ( $\text{CHAr}_{\text{Indol}}$ ), 110,0 ( $\text{C}_{\text{qCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 103,7, 103,5 ( $\text{CHAr}_{\text{Indol}}$ ), 57,8 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 56,21, ( $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 53,38 ( $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 52,57 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 50,7 ( $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 26,8 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 23,7, 22,7 ( $\text{Ar}_{\text{Indol}}\text{CH}_2\text{CH}_2$ )

HRMS: (ESI-TOF) m/z calcd. Para  $\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{FN}_5\text{O}_2$ : 492,3133 encontrada: 492,3154

5-fluoro-3-[3-(4-{3-[4-(2-metilbenzoil) piperazin-1-il] propil} piperazin-1-il) propil]-1H-indol  
(19)



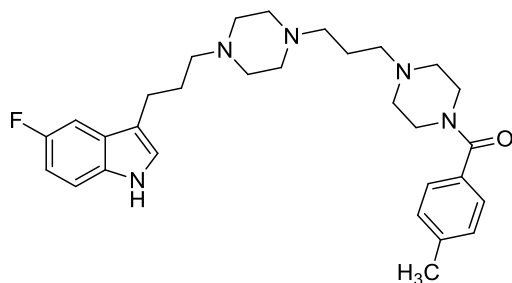
De 0,115 g (0,27 mmol) del compuesto IIIb su reacción con el derivado 3-(5-Fluor-1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (IIId) fueron obtenidos 0,121 g (88 %) del compuesto final 19, de aspecto sólido color café pálido. P.f: 107-109 °C

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K): ,  $\delta$  = 8,37 (s, 1 H,  $\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 7,30 ( m, 2H,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$  ), 7,18 (m, 2H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$  ,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,11( m, 2H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$  ,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 6,97 (d, 1H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,86 (td, 1H,  $J_{\text{H,H}} = 9,05$ ,  $J_{2\text{H,H}} = 2,45$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$  ), 3,77 (d, 2H, ,  $J_{\text{H,H}} = 4,89$   $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 3,18 (m, 2H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 2,80 (bs, 2H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 2,54 (m , 8H ,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$  ,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$  ) , 2,47 (m, 6H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$  ) , 2,33 (t, 2H,  $J_{\text{H,H}} = 7,34$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$  ) , 2,27 ( m, 7H,  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 1,88 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 1,67 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$  ) .

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K): 169,9 (NCOAr), 158,7, 156,4 ( $\text{C}_{\text{qIndol}}\text{F}$ ), 142,2 (COCq), 136,0 ( $\text{C}_{\text{qArIndol}}$ ), 134,1 ( $\text{C}_{\text{qCH}_3}$ ), 132,81( $\text{C}_{\text{qArIndol}}$ ), 130,4, 128,8, 125,0, 124,9 ( $\text{CHAR}_{\text{benz}}$ ), 125,9 ( $\text{CHNH}_{\text{indol}}$ ), 111,8,111,7,110,2, 103,7, 103,4 ( $\text{CHAR}_{\text{Indol}}$ ), 110,01 ( $\text{C}_{\text{qCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}}$ ), 57,9 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 56,3, 56,2 ( $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 52,3 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 50,7, 46,7, 41,42 ( $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 26,7 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 23,8, 22,6 ( $\text{Ar}_{\text{Indol}}\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 19,0 (  $\text{CH}_3$ )

HRMS: (ESI-TOF) m/z calcd. Para  $\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{FN}_5\text{O}$ : 506,3290 encontrado: 506,3385

5-fluoro-3-[3-(4-{3-[4-(4-metilbenzoil) piperazin-1-il]propil}piperazin-1-il)propil]-1H-indol  
(20)



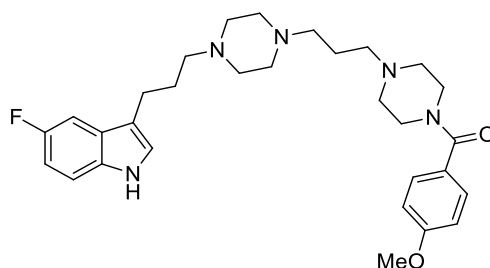
De 0,108 g (0,25 mmol) del compuesto IIIc y su reacción con el derivado 3-(5-Fluor-1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (IIId) fueron obtenidos 0,102 g (79 %) del compuesto final 20, de aspecto sólido de color café pálido. P.f: 87-89 °C

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 8,22 (s, 1 H,  $\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 7,23 (m, 2H,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,18 (dd, 1H,  $J_{1\text{H,H}} = 8,93$   $J_{2\text{H,H}} = 4,52$   $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 7,15 (m, 3H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 6,95 (d, 1H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,86 (td, 1H,  $J_{1\text{H,H}} = 8,93$ ,  $J_{2\text{H,H}} = 2,45$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 3,70 (bs, 2H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 3,39 (m, 2H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 2,66 (t, 2H,  $J_{1\text{H,H}} = 7,46$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,55 (bs, 6H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,43 (m, 6H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 2,31 (m, 7H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ,  $\text{CH}_3$ ), 1,85 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 1,65 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 170,4 ( $\text{NCOAr}$ ), 158,7, 156,4 ( $\text{C}_{\text{qIndol}}\text{F}$ ), 139,8 ( $\text{C}_{\text{q}}\text{CH}_3$ ), 132,84 ( $\text{COC}_{\text{q}}$ ), 132,81 ( $\text{C}_{\text{q}}\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 129,05, 127,1 ( $\text{CHAR}_{\text{benz}}$ ), 125,8 ( $\text{CHNH}_{\text{indol}}$ ), 111,7, 111,6, 110,2, 103,8, 103,5 ( $\text{CHAR}_{\text{Indol}}$ ), 110,03 ( $\text{C}_{\text{q}}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 57,9 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 56,3, 56,2 ( $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 52,3 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 50,7, 46,7, 41,42 ( $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 26,7 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 23,8, 22,6 ( $\text{Ar}_{\text{Indol}}\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 21,3 ( $\text{CH}_3$ )

HRMS: (ESI-TOF)  $m/z$  calcd. Para  $\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{FN}_5\text{O}$ : 506,3290. Encontrado: 506,3318

5-fluoro-3-[3-(4-{3-[4-(4-metoxibenzoil) piperazin-1-il]propil}piperazin-1-il)propil]-1H-indol  
(21)



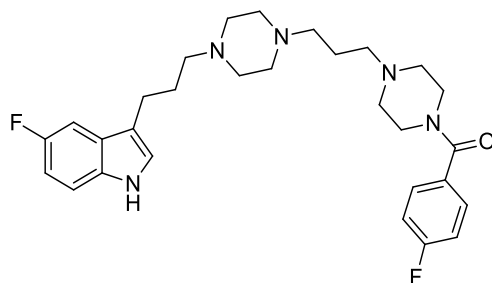
De 0,103 g (0.23 mmol) del compuesto III d y su reacción con el derivado 3-(5-Fluor-1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (II d) fueron obtenidos 0,104 g (85 %) de compuesto final **21**, de aspecto sólido de color café pálido. P.f: 111-113 °C

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 8,37 (s, 1 H,  $\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 7,24 (ddd, 2H,  $J_{1\text{H,H}} = 9,17$  Hz,  $J_{2\text{H,H}} = 2,69$  Hz,  $J_{3\text{H,H}} = 2,32$  Hz  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,10 (dd, 1H,  $J_{1\text{H,H}} = 8,80$  Hz,  $J_{2\text{H,H}} = 4,40$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 7,06 (dd, 1H,  $J_{1\text{H,H}} = 9,78$  Hz,  $J_{2\text{H,H}} = 2,45$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,86 (d, 1H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,76 (m, 3H,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 3,70 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,88 (bs, 2H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 3,50 (bs, 4H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 3,11 (bs, 2H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 2,57 (t, 2H,  $J_{1\text{H,H}} = 7,46$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,47 (bs, 6H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,29 (m, 10H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 1,77 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 1,57 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 170,29 ( $\text{NCOAr}$ ), 160,7 ( $\text{C}_q\text{Ar}_{\text{benz}}\text{OCH}_3$ ), 158,7, 156,4 ( $\text{C}_q\text{IndolF}$ ), 140,2 ( $\text{C}_q\text{ArNH}_{\text{Indol}}$ ), 132,8 ( $\text{C}_q\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 129,1 ( $\text{CHAR}_{\text{benz}}$ ), 128,8 ( $\text{C}_q\text{CO}$ ), 125,8 ( $\text{CHNH}_{\text{Indol}}$ ), 113,7 ( $\text{CHAR}_{\text{benz}}$ ), 111,7 ( $\text{CHAR}_{\text{Indol}}$ ), 110,8, 111,7, 110,2 ( $\text{CHAR}_{\text{Indol}}$ ), 109,9 ( $\text{C}_q\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 103,7, 103,5 ( $\text{CHAR}_{\text{Indol}}$ ), 57,9 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 56,27 ( $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 55,5 ( $\text{CH}_3$ ), 52,59 ( $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 26,7 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 23,7, 22,7 ( $\text{Ar}_{\text{Indol}}\text{CH}_2\text{CH}_2$ )

HRMS: (ESI-TOF)  $m/z$  calcd. Para  $\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{FN}_5\text{O}_2$  : 522,3239 encontrado: 522,3237

5-fluoro-3-[3-(4-{3-[4-(4-fluorobenzoyl) piperazin-1-il]propil} piperazin-1-il)propil]-1H-indol  
(22)



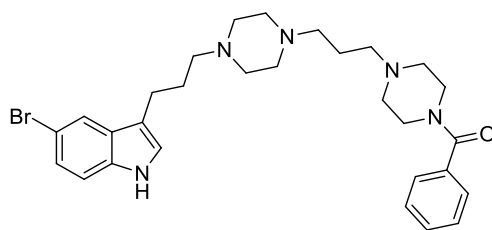
De 0,117 g (0,27 mmol) del compuesto IIIe y su reacción con el derivado 3-(5-Fluor-1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (IIId) fueron obtenidos 0,12 g (86 %) del compuesto final **22**, de aspecto sólido de color café pálido. P.f: 101 -103 °C

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 8,45 (s, 1 H,  $\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 7,54 (m, 2H,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,38 (dd, 1H,  $J_{\text{H,H}} = 8,80$  Hz,  $J_{2\text{H,H}} = 4,40$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 7,35 (dd, 1H,  $J_{\text{H,H}} = 10,27$  Hz,  $J_{2\text{H,H}} = 3,18$  Hz  $\text{Ar}_{\text{indol}}$ ), 7,22 (t, 2H,  $J_{\text{H,H}} = 8,68$  Hz  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,15 (d, 1H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,86 (td, 1H,  $J_{\text{H,H}} = 9,05$ ,  $J_{2\text{H,H}} = 2,45$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 3,88 (bs, 2H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 3,58 (bs, 2H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 3,08 (bs, 2H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 2,86 (t, 2H,  $J_{\text{H,H}} = 7,46$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,74 (bs, 6H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,61 (m, 6H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 2,53 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 2,05 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 1,85 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 169,3 ( $\text{NCOAr}$ ), 164,6, 162,1 ( $\text{C}_{\text{qbenzF}}$ ), 158,7, 156,4 ( $\text{C}_{\text{qArIndol}}$ ), 132,84 ( $\text{C}_{\text{qArIndol}}$ ), 131,77 ( $\text{C}_{\text{qCO}}$ ), 131,74 ( $\text{C}_{\text{qArIndol}}$ ), 129,42, 129,33 ( $\text{CHAR}_{\text{benz}}$ ), 125,8 ( $\text{CHNH}_{\text{Indol}}$ ), 115,68, 115,46 ( $\text{CHAR}_{\text{benz}}$ ), 111,7, 111,6 ( $\text{CHAR}_{\text{Indol}}$ ), 110,2 ( $\text{CHAR}_{\text{Indol}}$ ), 110,03 ( $\text{C}_{\text{qCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}}$ ), 103,8, 103,5 ( $\text{CHAR}_{\text{Indol}}$ ), 57,9 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 56,29, 56,24 ( $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 52,6 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 26,7 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 23,8, 22,7 ( $\text{Ar}_{\text{Indol}}\text{CH}_2\text{CH}_2$ )

HRMS: (ESI-TOF)  $m/z$  calcd. Para  $\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{F}_2\text{N}_5\text{O}$ : 510,3039. Encontrado: 510,3056

3-(3-{4-[3-(4-benzoilpiperazin-1-il)propil]piperazin-1-il}propil)-5-bromo-1H-indol (23)



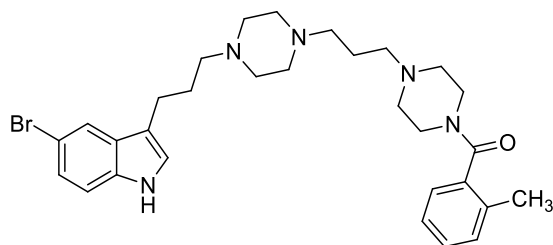
De 0,103 g (0,25 mmol) del compuesto IIIa y su reacción con el derivado 3-(5-Bromo-1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (IIe) fueron obtenidos 0,115 g (85 %) del compuesto final **23**, de aspecto sólido de color amarillo pálido. P.f: 106-108 °C

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 8,35 (s, 1 H,  $\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 7,52 (s, 1H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 7,23 (s, 5H,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,05 (m, 2H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,79 (s, 1H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 3,61 (bs, 2H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 3,25 (bs, 2H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 2,53 (t, 2 H,  $J_{\text{H,H}} = 7,34$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,46 (bs, 6H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,32 (m, 6H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,21 (m, 4H,  $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 1,72 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 1,55 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 170,3 ( $\text{NCOAr}$ ), 135,7 ( $\text{COC}_q$ ), 134,9 ( $\text{C}_q\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 129,6 ( $\text{CHAR}_{\text{benz}}$ ), 129,3 ( $\text{C}_q\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 128,4 ( $\text{CHAR}_{\text{benz}}$ ), 127,0 ( $\text{CHAR}_{\text{benz}}$ ), 125,8 ( $\text{CHNH}_{\text{Indol}}$ ), 124,5 ( $\text{CHAR}_{\text{indol}}$ ), 122,7 ( $\text{CHAR}_{\text{indol}}$ ), 115,4 ( $\text{C}_q\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 112,6 ( $\text{C}_q\text{Ar}_{\text{benz}}\text{Br}$ ), 112,3 ( $\text{CHAR}_{\text{Indol}}$ ), 57,7 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 56,25, 56,17 ( $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 52,5, 52,4 ( $\text{CH}_{2\text{Pip}}$ ), 52,57 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 26,7 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 23,6, 22,5 ( $\text{Ar}_{\text{Indol}}\text{CH}_2\text{CH}_2$ )

HRMS: (ESI-TOF) m/z calcd. Para  $\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{BrN}_5\text{O}$ : 552,2332 encontrado: 552,2328

5-bromo-3-[3-(4-{3-[4-(2-metilbenzoi) piperazin-1-il]propil}piperazin-1-il)propil]-1H-indol  
(24)



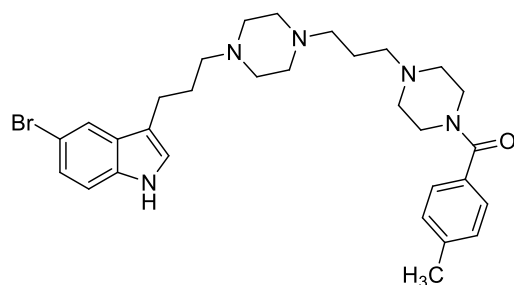
De 0,114 g (0,26 mmol) del compuesto IIIb y su reacción con el derivado 3-(5-Bromo-1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (IIe) fueron obtenidos 0,131 g (87 %) del compuestos finla **24**, de aspecto sólido de color amarillo pálido. P.f: 117-119 °C

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 8,62 (s, 1 H,  $\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 7,71 (s, 1H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 7,30 (m, 1H,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,24 (m, 4H,  $\text{Ar}_{\text{indol}}$ ,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,17 (d, 1H,  $J_{\text{H,H}} = 7,09$  Hz,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 6,97 (s, 1H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 3,84 (d, 2H,  $J_{\text{H,H}} = 4,65$  Hz  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 3,25 (bs, 2H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 2,73 (t, 2 H,  $J_{\text{H,H}} = 7,34$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,65 (bs, 6H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,50 (m, 6H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,40 (t, 2H,  $J_{\text{H,H}} = 7,43$  Hz  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,43 (m, 5H,  $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ,  $\text{CH}_3$ ), 1,92 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 1,74 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 169,9 ( $\text{NCOAr}$ ), 136,0 ( $\text{COC}_q$ ), 134,9 ( $\text{C}_q\text{Ar}_{\text{benz}}\text{CH}_3$ ), 134,1 ( $\text{C}_q\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 130,4 ( $\text{C}_q\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 129,3 ( $\text{CHAR}_{\text{benz}}$ ), 128,9 ( $\text{C}_q\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 125,9 ( $\text{CHNH}_{\text{Indol}}$ ), 125,8 ( $\text{CHAR}_{\text{benz}}$ ), 125,80 ( $\text{CHAR}_{\text{benz}}$ ), 124,53 ( $\text{CHAR}_{\text{Indol}}$ ) 122,7 ( $\text{CHAR}_{\text{indol}}$ ), 115,3 ( $\text{C}_q\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 112,6 ( $\text{C}_q\text{Ar}_{\text{benz}}\text{Br}$ ), 112,2 ( $\text{CHAR}_{\text{Indol}}$ ), 57,6 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 56,21, 56,14 ( $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 53,51, 52,99 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 51,4, 51,2 ( $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 46,7 2 ( $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 41,43 2 ( $\text{CH}_2^{\text{Pip}}$ ), 26,7 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 23,6, 22,5 ( $\text{Ar}_{\text{Indol}}\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 19,0 ( $\text{CH}_3$ ).

HRMS: (ESI-TOF) m/z calcd. Para  $\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{BrN}_5\text{O}$ : 566,2489 Encontrado: 566,2501

5-bromo-3-[3-(4-{3-[4-(4-metilbenzoi) piperazin-1-il]propil} piperazin-1-il)propil]-1*H*-indol  
(25)



De 0,108 g (0,25 mmol) del compuesto IIIc y su reacción con el derivado 3-(5-Bromo-1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (IIe) fueron obtenidos 0,119 g (84 %) del compuesto final **25**, de aspecto sólido de color amarillo pálido. P.f: 97-99 °C

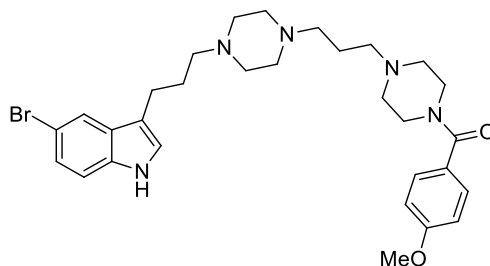
<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K):  $\delta$  = 8,54 (s, 1 H, NH<sub>Indol</sub>), 7,72 (d, 1H,  $J_{H,H}$  = 0,98 Hz Ar<sub>Indol</sub>), 7,31 (m, 2H, Ar<sub>benz</sub>), 7,24 (m, 4H, Ar<sub>indol</sub>, Ar<sub>benz</sub>), 6,98 (s, 1H, Ar<sub>Indol</sub>), 3,784 (bs, 2H, CH<sub>2</sub>Pip), 3,47 (bs, 2H, CH<sub>2</sub>Pip), 2,73 (t, 2 H,  $J_{H,H}$  = 7,46 Hz, ArCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 2,64 (bs, 6H, CH<sub>2</sub>Pip, Ar<sub>Indol</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 2,50 (m, 6H, CH<sub>2</sub>Pip, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 2,39 (m, 7H, CH<sub>2</sub>Pip, CH<sub>3</sub>), 1,91 (q, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar<sub>Indol</sub>), 1,74 (q, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K):  $\delta$  = 170,4 (NCOAr), 139,8 (C<sub>q</sub>Ar<sub>benz</sub>CH<sub>3</sub>) 134,9 (COC<sub>q</sub>), 132,8 (C<sub>q</sub>NH<sub>Indol</sub>), 129,3 (C<sub>q</sub>Ar<sub>indol</sub>), 129,0 (CHAR<sub>benz</sub>), 127,1 (CHAR<sub>benz</sub>), 125,8 (CHNH<sub>Indol</sub>), 124,5 (CHAR<sub>Indol</sub>), 122,7 (CHAR<sub>Indol</sub>), 115,4 (C<sub>q</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 112,6 (C<sub>q</sub>Ar<sub>benz</sub>Br), 112,3 (CHAR<sub>Indol</sub>), 57,7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 56,28, 56,21 (CH<sub>2</sub>Pip), 53,2 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 52,6, 52,53 (CH<sub>2</sub>Pip), 29,6 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 26,8 (Ar<sub>Indol</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 21,3 (CH<sub>3</sub>).

HRMS: (ESI-TOF) m/z calcd. Para C<sub>30</sub>H<sub>40</sub>BrN<sub>5</sub>O: 566,2489 encontrado: 566,2503



5-bromo-3-[3-(4-{3-[4-(4-metoxilbenzoil) piperazin-1-il]propil} piperazin-1-il)propil]-1H-indol (26)



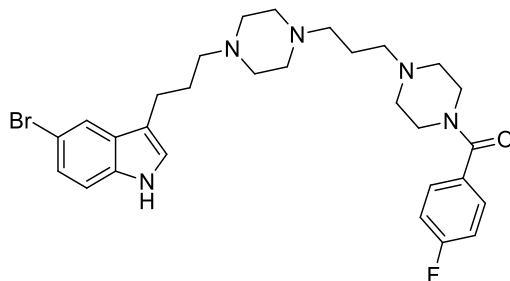
De 0,111 g (0,24 mmol) del compuesto III d y su reacción con el derivado 3-(5-Bromo-1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (II e) fueron obtenidos 0,125 g (86 %) del compuesto final **26**, de aspecto sólido de color amarillo pálido. P.f: 117-119 °C

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 8,40 (s, 1 H,  $\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 7,57 (s, 1H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 7,24 (d, 2H,  $J_{\text{H,H}} = 8,56$  Hz  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,06 (m, 2H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,82 (s, 1H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 6,76 (d, 2H,  $J_{\text{H,H}} = 8,56$  Hz  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 3,69 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,50 (bs, 4H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 2,57 (t, 2 H,  $J_{\text{H,H}} = 7,34$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,45 (bs, 6H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,27 (m, 10H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 1,74 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 1,56 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 170,2 ( $\text{NCOAr}$ ), 160,7 ( $\text{C}_q\text{Ar}_{\text{benz}}\text{OCH}_3$ ), 134,9 ( $\text{COC}_q$ ), 129,3 ( $\text{C}_q\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 129,1 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 127,8 ( $\text{CHAr}_{\text{Indol}}$ ), 124,5 ( $\text{CHNH}_{\text{Indol}}$ ), 122,7 ( $\text{CHAr}_{\text{Indol}}$ ), 115,4 ( $\text{C}_q\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 113,7 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 112,6 ( $\text{C}_q\text{Ar}_{\text{benz}}\text{Br}$ ), 112,3 ( $\text{CHAr}_{\text{Indol}}$ ), 57,8 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 56,34, 56,29 ( $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 55,3 ( $\text{CH}_3$ ), 53,2 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 52,7, 52,6 ( $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 29,6 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 26,9, 23,8 ( $\text{Ar}_{\text{Indol}}\text{CH}_2\text{CH}_2$ )

HRMS: (ESI-TOF) m/z calcd. Para  $\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{BrN}_5\text{O}_2$ : 582,2438 Encontrado: 582,2449

5-bromo-3-[3-(4-{3-[4-(4-fluorobenzoyl) piperazin-1-il] propil} piperazin-1-il)propil]-1H-indol  
(27)



De 0,115 g (0,26 mmol) del compuesto IIIe y su reacción con el derivado 3-(5-Bromo-1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (IIe) fueron obtenidos 0,133 g (88 %) del compuesto final **27**, de aspecto sólido de color amarillo pálido. P.f: 105- 107 °C

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 8,62 (s, 1 H,  $\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 7,84 (s, 1H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 7,54 (ddd, 2H,  $J_{\text{H,H}} = 11,68$  Hz,  $J_{\text{H,H}} = 5,07$  Hz,  $J_{\text{H,H}} = 2,81$  Hz  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 7,36 (m, 2H,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 7,22 (m, 2H,  $\text{Ar}_{\text{benz}}$ ), 6,82 (d, 1H,  $J_{\text{H,H}} = 1,96$  Hz  $\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 3,88 (bs, 2H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 3,58 (bs, 2H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 2,85 (t, 2 H,  $J_{\text{H,H}} = 7,34$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,77 (bs, 6H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ,  $\text{Ar}_{\text{Indol}}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,62 (m, 6H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2,52 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 2,03 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}_{\text{Indol}}$ ), 1,86 (q, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K):  $\delta$  = 169,3 ( $\text{NCOAr}$ ), 164,4, 162,1 ( $\text{C}_q\text{Ar}_{\text{benzF}}$ ), 134,9 ( $\text{COC}_q$ ), 131,7 ( $\text{C}_q\text{NH}_{\text{Indol}}$ ), 129,4, 129,3 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 128,8 ( $\text{C}_q\text{Ar}_{\text{indol}}$ ), 128,8 ( $\text{CHAr}_{\text{indol}}$ ), 125,8, 124,5, 122,7, 112,3 ( $\text{CHNH}_{\text{ind}}$ ), 121,4 ( $\text{C}_q\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 115,6, 115,4 ( $\text{CHAr}_{\text{benz}}$ ), 112,6 ( $\text{C}_q\text{Ar}_{\text{benzBr}}$ ), 57,7 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 56,23, 56,13 ( $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 53,1 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 52,7, 52,4 ( $\text{CH}_2\text{Pip}$ ), 29,6 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 26,8, 23,6 ( $\text{Ar}_{\text{Indol}}\text{CH}_2\text{CH}_2$ )

HRMS: (ESI-TOF) m/z calcd. Para  $\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{BrFN}_5\text{O}$ : 570,2238 encontrado: 570,2265

## 7. BIBLIOGRAFÍA

1. El mundo no está abordando el reto de la demencia, Organización mundial de a salud (OMS) 2021, <https://www.who.int/es/news/item/02-09-2021-world-failing-to-addresszx-dementiachallenge>.
2. Demencia, Organización mundial de la salud (OMS), 2020. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dementia>.
3. Leon, R.; Garcia, A. G.; Marco-Contelles, J. Recent advances in the multitarget-directedligands approach for the treatment of Alzheimer's disease. *Med Res Rev* 2013, 33, 139-89.
4. Alzheimer's Association, "Alzheimer's disease facts and figures." *Alzheimers. Dement* 2019.,vol. 10, no. 2, pp., 321–387,
5. ¿Que es el Alzheimer?, Alzheimer y demencia, Alzherimer`s Association, 2022. <https://www.alz.org/alzheimer-demencia/que-es-la-enfermedad-de-alzheimer>.
6. Latypova, X.; Martin, L.: which new directions for Alzheimer's disease? *Front Cell Neurosci* 2014, 8, 417.
7. G. D. Stanciu et al., "Alzheimer's Disease Pharmacotherapy in Relation to Cholinergic System Involvement," *Biomolecules* 2019, vol. 10, N°. 1, pp. 1–20,.
8. J. T. Jarrett, E. P. Berger, and P. T. Lansbury, "The C-Terminus of the  $\beta$  Protein is Critical in Amyloidogenesis," *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 695, no. 1, pp. 144–148, 1993.
9. J. L. Cummings, G. Tong, and C. Ballard, "Treatment Combinations for Alzheimer's Disease: Current and Future Pharmacotherapy Options," *J. Alzheimer's Dis.* 2019, vol. 67, no. 3, pp. 779–794,
10. S. K. Yusufzai, M. S. Khan, O. Sulaiman, H. Osman, and D. N. Lamjin, "Molecular dockingstudies of coumarin hybrids as potential acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, monoamine oxidase A/B and  $\beta$ -amyloid inhibitors for Alzheimer's disease," *Chem. Cent.J.* 2018, vol. 12, N°. 1, pp. 1–57,.
11. A. E. Estrada Rodríguez and V. C. Zomosa Signoret, "Papel de la agregación del péptido Beta amiloide en la enfermedad de Alzheimer," *Rev. Educ. Bioquímica*, 2017, vol. 36, N°.1, pp. 2–11, 2017.
12. H. O. Tayeb, H. D. Yang, B. H. Price, and F. I. Tarazi, "Pharmacotherapies for Alzheimer's disease: Beyond cholinesterase inhibitors," *Pharmacol. Ther.*, 2012, vol. 134, N°. 1, pp. 8–25,.
13. P. Scheltens et al., "Alzheimer's disease," *Lancet* 2016, vol. 388, no. 10043, pp. 505–517.
14. Contestabile, A. The history of the cholinergic hypothesis. *Behav Brain Res* 2011, 221, 334-40.

15. Bowen, D. M.; Smith, C. B.; White, P.; Davison, A. N. Neurotransmitter-related enzymes and indices of hypoxia in senile dementia and other abiotropies. *Brain*, 1976, 99, 459-496,.
16. Clarke, N. A.; Francis, P. T. Cholinergic and glutamatergic drugs in Alzheimer's disease. *Expert Rev. Neurother.* 2005, 5, 671-682,
17. Palmer, A. M.; Wilcock, G. K.; Erisi, M. M.; Francis, P. T.; Bowen, D. M. Monoaminergic innervation of the frontal and temporal lobes in Alzheimer's disease. *Brain Res.* 1987, 401, 231-238, 1987.
18. Palmer, A. M.; Francis, P. T.; Benton, J. S.; Sims, N. R.; Mann, D. M.; Neary, D.; Snowden, J. S.; Bowen, P. R. Presynaptic serotonergic dysfunction in patients with Alzheimer's disease. *J. Neurochem.* 1987, 48, 8-15,
19. Flores, M. E.; Segura, J. E. Estructura y función de los receptores acetilcolina de tipo muscarínico y nicotínico. *Rev Mex Neuroci* 2005, 6, 315-326,.
20. Greig, N. H.; Utsuki, T.; Yu, Q.; Zhu, X.; Holloway, H. W.; Perry, T.; Lee, B.; Ingram, D. K.; Lahiri, D. K. A new therapeutic target in Alzheimer's disease treatment: attention to butyrylcholinesterase. *Curr Med Res Opin.* 2001, 17, 159-65.
21. Inestrosa, N. C.; Dinamarca, M. C.; Alvarez, A. Amyloid-cholinesterase interactions. Implications for Alzheimer's disease. *FEBS J.* 2008, 275, 625-632.
22. Rees, T.; Hammond, P. I.; Soreq, H.; Younkin, S.; Brimijoin, S. Acetylcholinesterase promotes betaamyloid plaques in cerebral cortex. *Neurobiol. Aging* 2003, 24, 777-787
23. De Ferrari, G. V.; Canales, M. A.; Shin, I.; Weiner, L. M.; Silman, I.; Inestrosa, N. C. A structural motif of acetylcholinesterase that promotes amyloid beta-peptide fibril formation. *Biochemistry* 2001, 40, 10447-10457.
24. Bartolini, M.; Bertucci, C.; Cavrini, V.; Andrisano, V. beta-Amyloid aggregation induced by human acetylcholinesterase: inhibition studies. *Biochem. Pharmacol.* 2003, 65, 407-416.
25. Murakata, C.; Kaneko, M.; Gessner, G.; Angeles, T. S.; Ator, M. A.; O'Kane, T. M.; McKenna, B. A.; Thomas, B. A.; Mathiasen, J. R.; Saporito, M. S.; Bozyczko-Coyne, D.; Hudkins, R. L. Mixedlineage kinase activity of indolocarbazole analogues. *Bioorg Med Chem Lett* 2002, 12, 147-50
26. Goodfellow, V. S.; Loweth, C. J.; Ravula, S. B.; Wiemann, T.; Nguyen, T.; Xu, Y.; Todd, D. E.; Sheppard, D.; Pollack, S.; Polesskaya, O.; Marker, D. F.; Dewhurst, S.; Gelbard, H. A. Discovery, synthesis, and characterization of an orally bioavailable, brain penetrant inhibitor of mixed lineage kinase 3. *J Med Chem* 2013, 56, 8032-48.
27. Eggert, D.; Dash, P. K.; Gorantla, S.; Dou, H.; Schifitto, G.; Maggirwar, S. B.; Dewhurst, S.; Poluektova, L.; Gelbard, H. A.; Gendelman, H. E. Neuroprotective activities of CEP-1347 in models of neuroAIDS. *J Immunol* 2010, 184, 746-56.

28. Larkin, M. A.; Blackshields, G.; Brown, N. P.; Chenna, R.; McGettigan, P. A.; McWilliam, H.; Valentin, F.; Wallace, I. M.; Wilm, A.; Lopez, R.; Thompson, J. D.; Gibson, T. J.; Higgins, D. G. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 2007, 23, 2947-8.
29. Benkert, P.; Biasini, M.; Schwede, T. Toward the estimation of the absolute quality of individual protein structure models. *Bioinformatics* 2011, 27, 343-50.
30. Lovell, S. C.; Davis, I. W.; Arendall, W. B., 3rd; de Bakker, P. I.; Word, J. M.; Prisant, M. G.; Richardson, J. S.; Richardson, D. C. Structure validation by Calpha geometry: phi, psi and Cbeta deviation. *Proteins* 2003, 50, 437-50
31. Lovell, S. C.; Davis, I. W.; Arendall, W. B., 3rd; de Bakker, P. I.; Word, J. M.; Prisant, M. G.; Richardson, J. S.; Richardson, D. C. Structure validation by Calpha geometry: phi, psi and Cbeta deviation. *Proteins* 2003, 50, 437-50S.
32. Agatonovic-Kustrin, C. Kettle, and D. W. Morton, "A molecular approach in drug development for Alzheimer's disease," *Biomed. Pharmacother.* 2018, vol. 106, no. June, pp. 553–565
33. Birks, J.S., Melzer, D. Donepezil for mild and moderate Alzheimer's disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2, 2000, CD001190
34. Bowen, D.M., Smith, C.B., White, P., Davison, A.N. Neurotransmitter-related enzymes and indices of hypoxia in senile dementia and other abiotrophies. *Brain*, 1976 99, 459–496.
35. Fibiger, H.C. Cholinergic mechanisms in learning, memory and dementia: a review of recent evidence. *Trends in Neurosciences*, 1991, 14, 220–223
36. Dringenberg, H.C. Alzheimer's disease: more than a 'cholinergic disorder' –evidence that cholinergic-monoaminergic interactions contribute to EEG slowing and dementia. *Behavioural Brain Research* 2000, 115, 235–249.
37. Garcia-Alloza, M., Zaldua, N., Diez-Ariza, M., Marcos, B., Lasheras, B., Javier Gil-Bea, F., Ramirez, M.J. Effect of selective cholinergic denervation on the serotonergic system: implications for learning and memory. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 2006, 65, 1074–1081.
38. Grudzien, A., Shaw, P., Weintraub, S., Bigio, E., Mash, D.C., Mesulam, M.M. Locus coeruleus neurofibrillary degeneration in aging, mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging* 2007, 28, 327–335
39. Lai, M.K., Tsang, S.W., Francis, P.T., Keene, J., Hope, T., Esiri, M.M., Spence, I., Chen, C.P. Postmortem serotonergic correlates of cognitive decline in Alzheimer's disease. *Neuroreport* 2002, 13, 1175–1178.
40. Nazarali, A.J., Reynolds, G.P. Monoamine neurotransmitters and their metabolites in brain regions in Alzheimer's disease: a postmortem study. *Cellular and Molecular Neurobiology* 1992, 12, 581–587

41. Takeda, A., Loveman, E., Clegg, A., Kirby, J., Picot, J., Payne, E., Green, C. A systematic review of the clinical effectiveness of donepezil, rivastigmine and galantamine on cognition, quality of life and adverse events in Alzheimer's disease. *International Journal of Geriatric Psychiatry* 2006, 21, 17–28.
42. Vertes, R.P. A PHA-L analysis of ascending projections of the dorsal raphe nucleus in the rat. *The Journal of Comparative Neurology* 1991, 313, 643–668.
43. Vertes, R.P., Fortin, W.J., Crane, A.M. Projections of the median raphe nucleus in the rat. *The Journal of Comparative Neurology* 1999, 407, 555–582.
44. Tohgi, H., Abe, T., Takahashi, S., Kimura, M., Takahashi, J., Kikuchi, T. Concentrations of serotonin and its related substances in the cerebrospinal fluid in patients with Alzheimer type dementia. *Neuroscience Letters* 1992, 141, 9–12.
45. Tohgi, H., Abe, T., Takahashi, S., Saheki, M., Kimura, M. Indoleamine concentrations in cerebrospinal fluid from patients with Alzheimer type and Binswanger type dementias before and after administration of citalopram, a synthetic serotonin uptake inhibitor. *Journal of Neural Transmission. Parkinson's Disease and Dementia Section* 1995, 9, 121–131.
46. Mimica, N., Muck-Seler, D., Pivac, N., Mustapic, M., Dezeljin, M., Stipcevic, T., Presecki, P., Radonic, E., Folnegovic-Smalc, V. Platelet serotonin and monoamine oxidase in Alzheimer's disease with psychotic features. *Collegium Antropologicum* 2008,32 (Suppl. 1), 119–122.
47. Kepe, V., Barrio, J.R., Huang, S.C., Ercoli, L., Siddarth, P., Shoghi-Jadid, K., Cole, G.M., Satyamurthy, N., Cummings, J.L., Small, G.W., Phelps, M.E. Serotonin 1<sup>a</sup> receptors in the living brain of Alzheimer's disease patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2006, 103, 702–707
48. Meltzer, C.C., Price, J.C., Mathis, C.A., Greer, P.J., Cantwell, M.N., Houck, P.R., Mulsant, B.H., Ben-Eliezer, D., Lopresti, B., DeKosky, S.T., Reynolds 3rd, C.F. PET imaging of serotonin type 2A receptors in late-life neuropsychiatric disorders. *The American Journal of Psychiatry* 1999, 156, 1871–1878.
49. Lorke, D.E., Lu, G., Cho, E., Yew, D.T., 2006. Serotonin 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>6</sub> receptors in the prefrontal cortex of Alzheimer and normal aging patients. *BMC Neuroscience* 7, 36. Loubinoux, I., Pariente, J., Boulanouar, K., Carel, C., Manelfe, C., Rascol, O., Celsis, P., Chollet, F. A single dose of the serotonin neurotransmission agonist paroxetine enhances motor output: double-blind, placebo-controlled, fMRI study in healthy subjects. *NeuroImage* 2002, 15, 26–36
50. Middlemiss, D.N., Palmer, A.M., Edell, N., Bowen, D.M. Binding of the novel serotonin agonist 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin in normal and Alzheimer brain. *Journal of Neurochemistry* 1986, 46, 993–996.

51. Truchot, L., Costes, N., Zimmer, L., Laurent, B., Le Bars, D., Thomas-Anterion, C., Mercier, B., Hermier, M., Vighetto, A., Krolak-Salmon, P. A distinct [18F]MPPF PET profile in amnesic mild cognitive impairment compared to mild Alzheimer's disease. *NeuroImage* 2008, 40, 1251–1256.
52. Yamamoto, T., Hirano, A. Nucleus raphe dorsalis in Alzheimer's disease: neurofibrillary tangles and loss of large neurons. *Annals of Neurology* 1985 17, 573–577.
53. Marksteiner, J., Walch, T., Bodner, T., Gurka, P., Donnemiller, E. Fluoxetine in Alzheimer's disease with severe obsessive compulsive symptoms and a low density of serotonin transporter sites. *Pharmacopsychiatry* 2003, 36, 207–209.
54. Mossello, E., Boncinelli, M., Caleri, V., Cavallini, M.C., Palermo, E., Di Bari, M., Tilli, S., Sarcone, E., Simoni, D., Biagini, C.A., Masotti, G., Marchionni, N. Is antidepressant treatment associated with reduced cognitive decline in Alzheimer's disease? *Dementia and Geriatric Cognition Disorders* 2008, 25, 372–379.
55. Mowla, A., Mosavinasab, M., Haghshenas, H., Borhani Haghghi, A. Does serotonin augmentation have any effect on cognition and activities of daily living in Alzheimer's dementia? A double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Journal of Clinical Psychopharmacology* 2007, 27, 484–487.
56. Robert R. Luedtke, Yogesh Mishra, Qi Wang, Suzy A. Griffin, Cathy Bell-Horner, Michelle Taylor, Suwanna Vangveravong, Glenn H. Dillon, Ren-Qi Huang, David E. Reichert and Robert H. Mach. Comparison of the Binding and Functional Properties of Two Structurally Different D2 Dopamine Receptor Subtype Selective Compounds. *ACS Chem.* 2012; 3 (12): 1050-62. doi: 10.1021/cn300142q.
57. Suárez M. Zully (2021), Obtención de compuestos bioactivos a partir de subproductos agroalimentarios: extracción, caracterización química y evaluación de su actividad frente a alzheimer, Universidad autónoma de madrid facultad de ciencias.
58. Bond, M.; Rogers, G.; Peters, J.; Anderson, R.; Hoyle, M.; Miners, A.; Moxham, T.; Davis, S.; Thokala, P.; Wailoo, A.; Jeffreys, M.; Hyde, C. The effectiveness and cost-effectiveness of donepezil, galantamine, rivastigmine and memantine for the treatment of Alzheimer's disease (review of Technology Appraisal No. 111): a systematic review and economic model. *Health Technol. Assess.* 2012, 16, 1-470
59. Klafki, H. W.; Staufenbiel, M.; Kornhuber, J.; Wiltfang, J. Therapeutic approaches to Alzheimer's disease. *Brain* 2006, 129, 2840-55.
60. Coulthard, E.; Singh-Curry, V.; Husain, M. Treatment of attention deficits in neurological disorders. *Curr Opin Neurol* 2006, 19, 613-8.
61. Villarroya, M.; Garcia, A. G.; Marco-Contelles, J.; Lopez, M. G. An update on the pharmacology of galantamine. *Expert Opin Investig Drugs* 2007, 16, 1987-98.

62. Claassen, J. A.; Jansen, R. W. Cholinergically mediated augmentation of cerebral perfusion in Alzheimer's disease and related cognitive disorders: the cholinergic-vascular hypothesis. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2006, 61, 267-71.
63. Anand, P.; Singh, B. A review on cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Arch Pharm Res* 2013, 36, 375-99.
64. Chohan, M. O.; Iqbal, K. From tau to toxicity: emerging roles of NMDA receptor in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2006, 10, 81-7
65. Así funciona el nuevo medicamento contra el alzhéimer por el que la FDA estadounidense ha sido criticada | National Geographic. (2021) <https://www.nationalgeographic.es/ciencia/2021/06/asi-funciona-el-nuevo-medicamento-contra-el-alzheimer-por-el-que-la-fda-estadounidense-ha-sido-criticada> [Accessed August 14, 2021].
66. Aducanumab (marketed as Aduhelm) Information | FDA. Available at: <https://www.fda.gov/drugs/postmarket-drug-safety-information-patients-and-providers/aducanumab-marketed-aduhelm-information> [Accessed August 20, 2021]
67. Perez Natalia (2017), Ligandos multidiana, una estrategia alternativa para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID FACULTAD DE FARMACIA DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA Y FARMACEUTICA.
68. Morphy, R.; Rankovic, Z. Designed multiple ligands. An emerging drug discovery paradigm. *J. Med.Chem.* 2005, 48, 6523-6543. (b) Cavalli, A.; Bolognesi, M. L.; Minarini, A.; Rosini, M.; Tumiatti, V.; Recanatini, M.; Melchiorre, C. Multi-target directed ligands to combat neurodegenerative diseases. *J. Med. Chem.* 2008, 51, 347-372. (c) León, R.; García, A. G.; Marco-Contelles, J. Recent advances in the multitarget-directed ligands approach for the treatment of Alzheimer's disease. *Med. Res. Rev.* 2013, 33, 139-189.
69. Cavalli, A.; Bolognesi, M. L.; Capsoni, S.; Andrisano, V.; Bartolini, M.; Margotti, E.; Cattaneo, A.; Recanatini, M.; Melchiorre, C. A small molecule targeting the multifactorial nature of Alzheimer's disease. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2007, 46, 3689-3692. (b) Capurro, V.; Busquet, P.; Lopes, J. P.; Bertorelli, R.; Tarozzo, G.; Bolognesi, M. L.; Piomelli, D.; Reggiani, A.; Cavalli, A. Pharmacological characterization of memoquin, a multi-target compound for the treatment of Alzheimer's disease. *PLoS One* 2013, 8, e56870.
70. Weinreb, O.; Amit, T.; Bar-Am, O.; Youdim, M. B. Ladostigil: a novel multimodal neuroprotective drug with cholinesterase and brain-selective monoamine oxidase inhibitory activities for Alzheimer's disease treatment. *Curr. Drug Targets* 2012, 13, 483-494.



71. Viayna, E.; Gómez, T.; Galdeano, C.; Ramírez, L.; Ratia, M.; Badía, A.; Clos, M. V.; Verdaguer, E.; Junyent, F.; Camins, A.; Pallas, M.; Bartolini, M.; Mancini, F.; Andrisano, V.; Arce, M. P.; Rodríguez-Franco, M. I.; Bidon-Chanal, A.; Luque, F. J.; Camps, P.; Muñoz-Torrero, D. Novel huprine derivatives with inhibitory activity toward beta-amyloid aggregation and formation as disease-modifying antiAlzheimer drug candidates. *ChemMedChem* 2010, 5, 1855-1870. (b) Ratia, M.; Giménez-Llort, L.; Camps, P.; Muñoz-Torrero, D.; Pérez, B.; Clos, M. V.; Badía, A. Huprine X and huperzine A improve cognition and regulate some neurochemical processes related with Alzheimer's disease in triple transgenic mice (3xTg-AD). *Neurodegener. Dis.* 2013, 11, 129-140
72. Arce, M. P.; Rodríguez-Franco, M. I.; González-Muñoz, G. C.; Pérez, C.; López, B.; Villarroya, M.; López, M. G.; García, A. G.; Conde, S., Neuroprotective and cholinergic properties of multifunctional glutamic acid derivatives for the treatment of Alzheimer's disease. *J. Med. Chem.* 2009, 52 (22), 7249-7257.
73. Rodríguez-Franco, M. I.; Fernández-Bachiller, M. I.; Pérez, C.; Hernández-Ledesma, B.; Bartolomé, B. Novel tacrine-melatonin hybrids as dual-acting drugs for Alzheimer disease, with improved acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant properties. *J. Med. Chem.* 2006, 49, 459-462.
74. Fernández-Bachiller, M. I.; Pérez, C.; Campillo, N. E.; Páez, J. A.; González-Muñoz, G. C.; Usán, P.; García-Palomero, E.; López, M. G.; Villarroya, M.; García, A. G.; Martínez, A.; Rodríguez-Franco, M. I. Tacrine-melatonin hybrids as multifunctional agents for Alzheimer's disease, with cholinergic, antioxidant, and neuroprotective properties. *ChemMedChem* 2009, 4, 828-841.
75. Fernández-Bachiller, M. I.; Pérez, C.; González-Muñoz, G. C.; Conde, S.; López, M. G.; Villarroya, M.; García, A. G.; Rodríguez-Franco, M. I., Novel tacrine-8-hydroxyquinoline hybrids as multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease, with neuroprotective, cholinergic, antioxidant, and copper-complexing properties. *J. Med. Chem.* 2010, 53 (13), 4927-4937.
76. Fernández-Bachiller, M. I.; Pérez, C.; Monjas, L.; Rademann, J.; Rodríguez-Franco, M. I. New tacrine--4-oxo-4H-chromene hybrids as multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease, with cholinergic, antioxidant, and beta-amyloid-reducing properties. *J. Med. Chem.* 2012, 55, 1303-1311
77. Maroto, M.; de Diego, A. M.; Albinana, E.; Fernández-Morales, J. C.; Caricati-Neto, A.; Jurkiewicz, A.; Yáñez, M.; Rodríguez-Franco, M. I.; Conde, S.; Arce, M. P.; Hernández-Guijo, J. M.; García, A. G., Multi-target novel neuroprotective compound ITH33/IQM9.21 inhibits calcium entry, calcium signals and exocytosis. *Cell Calcium* 2011, 50 (4), 359-369.

78. Monjas, L.; Arce, M. P.; León, R.; Egea, J.; Pérez, C.; Villarroja, M.; López, M. G.; Gil, C.; Conde, S.; Rodríguez-Franco, M. I., Enzymatic and solid-phase synthesis of new donepezil-based L- and Dglutamic acid derivatives and their pharmacological evaluation in models related to Alzheimer's disease and cerebral ischemia. *Eur. J. Med. Chem.* 2017, 130, 60-72.
79. Spuch, C.; Antequera, D.; Fernández-Bachiller, M. I.; Rodríguez-Franco, M. I.; Carro, E., A new tacrinemelatonin hybrid reduces amyloid burden and behavioral deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurotox. Res.* 2010, 17 (4), 421-431.
80. Antequera, D.; Bolos, M.; Spuch, C.; Pascual, C.; Ferrer, I.; Fernández-Bachiller, M. I.; Rodríguez-Franco, M. I.; Carro, E., Effects of a tacrine-8-hydroxyquinoline hybrid (IQM-622) on Abeta accumulation and cell death: involvement in hippocampal neuronal loss in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Dis.* 2012, 46 (3), 682-691
81. Kanwal, KM Khan, S. Chigurupati, F. Ali, M. Younus, M. Aldubayan, A. Wadood, H. Khan, M. Taha, S. Perveen Indol-3-acetamidas: como posibles agentes antihiperoglucemiantes y antioxidantes; síntesis, actividad inhibidora de la  $\alpha$ -amilasa in vitro, relación estructura-actividad y estudios in silico ACSOmega, 6 (2021), págs. 2264 - 2275, 10.1021/acsomega.0c05581
82. TV Sravanthi, SL Manju Indoles: un andamio prometedor para el desarrollo de fármacos EUR. J. Pharm 2016. ciencia, 91, págs. 1 - 10, 10.1016/j.ejps.2016.05.025
83. Abdel-Rahman, A.H. Farghaly Synthesis, reactions and antimicrobial activity of some new indolyl-1,3,4-oxadiazole, triazole and pyrazole derivatives J. Chin. Chem. Soc., 51 (2004), pp. 147-156, 10.1002/jccs.200400023.
84. T.N. Akhaja, J.P. Raval 1,3-dihydro-2H-indol-2-ones derivatives: Design, Synthesis, in vitro antibacterial, antifungal and antitubercular study Eur. J. Med. Chem 2011, 46, pp. 5573-5579, 10.1016/j.ejmech.2011.09.023
85. M. Giampieri, A. Balbi, M. Mazzei, P. la Colla, C. Ibba, R. Loddo Antiviral activity of indole derivatives Antivir. Res 2009. 83, pp. 179-185, 10.1016/j.antiviral.2009.05.001
86. P. Rani, V.K. Srivastava, A. Kumar Synthesis and antiinflammatory activity of heterocyclic indole derivatives Eur. J. Med. Chem 2004. 39, pp. 449-452, 10.1016/j.ejmech.2003.11.002
87. M.Z. Wróbel, A. Chodkowski, F. Herold, M. Marciniak, M. Dawidowski, A. Siwek, G. Starowicz, K. Stachowicz, B. Szewczyk, G. Nowak, M. Belka, T. Bączek, G. Satała, A.J. Bojarski, J. Turło Synthesis and biological evaluation of new multi-target 3-(1H-indol-3-yl) pyrrolidine-2,5-dione derivatives with potential antidepressant effect Eur. J. Med. Chem 2019., 183, Article 111736, 10.1016/j.ejmech.2019.111736
88. M.S. Chambers, L.J. Street, S. Goodacre, S.C. Hobbs, P. Hunt, R.A. Jelley, V.G. Matassa, A.J. Reeve, F. Sternfeld, M.S. Beer, J.A. Stanton, D. Rathbone, A.P. Watt, A.M. MacLeod 3-(piperazinylpropyl)indoles: Selective, orally bioavailable h5-HT(1D)

- receptor agonists as potential antimigraine agents *J. Med. Chem* 1999., 42, pp. 691-705, [10.1021/jm980569z](https://doi.org/10.1021/jm980569z)
89. A.A. Ei-Gendy, H.A. Ei-Banna Synthesis and antihypertensive activity of certain mannich bases of 2-Ethoxycarbonylindoles and 5H-Pyridazino[4,5-b]indoles *Arch Pharm. Res.*, 24, pp. 21-26, [10.1007/BF02976488](https://doi.org/10.1007/BF02976488)
90. B.B. Aggarwal, H. Ichikawa Molecular targets and anticancer potential of indole-3-carbinol and its derivatives, *Cell Cycle* 2005, 4, pp. 1201-1215, [10.4161/cc.4.9.1993](https://doi.org/10.4161/cc.4.9.1993)
91. M. Alomari, M. Taha, F. Rahim, M. Selvaraj, N. Iqbal, S. Chigurupati, S. Hussain, N. Uddin, N.B. Almandil, M. Nawaz, R.K. Farooq, K.M. Khan Synthesis of indole-based-thiadiazole derivatives as a potent inhibitor of  $\alpha$ -glucosidase enzyme along with in silico study *Bioorg. Chem* 2021., 108, Article 104638, [10.1016/j.bioorg.2021.104638](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.104638).
92. M. Taha, H. Ullah, L.M.R. Al Muqarrabun, M.N. Khan, F. Rahim, N. Ahmat, M. Ali, S. Perveen Synthesis of bis-indolylmethanes as new potential inhibitors of  $\beta$ -glucuronidase and their molecular docking studies *Eur. J. Med. Chem* 2018., 143, pp. 1757-1767, [10.1016/j.ejmech.2017.10.071](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.10.071)
93. M. Taha, H. Ullah, L.M.R. Al Muqarrabun, M.N. Khan, F. Rahim, N. Ahmat, M.T. Javid, M. Ali, K.M. Khan Bisindolylmethane thiosemicarbazides as potential inhibitors of urease: Synthesis and molecular docking studies *Bioorg. Med. Chem* 2018., 26, pp. 152-160, [10.1016/j.bmc.2017.11.028](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.11.028).
94. M. Taha, M.S. Baharudin, N.H. Ismail, S. Imran, M.N. Khan, F. Rahim, M. Selvaraj, S. Chigurupati, M. Nawaz, F. Qureshi, S. Vijayabalan Synthesis,  $\alpha$ -amylase inhibitory potential and molecular docking study of indole derivatives *Bioorg 2018. Chem.*, 80 , pp. 36-42, [10.1016/j.bioorg.2018.05.021](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.05.021).
95. M. Taha, F.J. Alshamrani, F. Rahim, E.H. Anouar, N. Uddin, S. Chigurupati, N.B. Almandil, R.K. Farooq, N. Iqbal, M. Aldubayan, V. Venugopal, K.M. Khan Synthesis, characterization, biological evaluation, and kinetic study of indole base sulfonamide derivatives as acetylcholinesterase inhibitors in search of potent anti-Alzheimer agent *J. King Saud Univ. Sci* 2021., 33, Article 101401, [10.1016/j.jksus.2021.101401](https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101401)
96. M. Bingul, M.F. Saglam, H. Kandemir, M. Boga, I.F. Sengul Synthesis of indole-2-carbohydrazides and 2-(indol-2-yl)-1,3,4-oxadiazoles as antioxidants and their acetylcholinesterase inhibition properties *Monat. für Chem. Chem. Mon.*, 150 (2019), pp. 1553-1560, [10.1007/s00706-019-02462-y](https://doi.org/10.1007/s00706-019-02462-y) M. Bingul, S. Ercan, M. Boga The design of novel 4,6-dimethoxyindole based hydrazide-hydrazones: molecular modeling, synthesis and anticholinesterase activity *J. Mol. Struct* 2020., 1213, Article 128202, [10.1016/j.molstruc.2020.128202](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128202)
97. M.F. Saglam, M. Bingul, E. Şenkuytu, M. Boga, Y. Zorlu, H. Kandemir, I.F. Sengul Synthesis, characterization, UV-Vis absorption and cholinesterase inhibition

- properties of bis-indolyl imine ligand system *J. Mol. Struct.* 2020. , 1215, Article 128308, 10.1016/j.molstruc.2020.128308
98. M. Bingul, M.F. Saglam, H. Kandemir, M. Boga, I.F. Sengul Synthesis of indole-2-carbohydrazides and 2-(indol-2-yl)-1,3,4-oxadiazoles as antioxidants and their acetylcholinesterase inhibition properties *Monat. für Chem. Chem. Mon* 2019, 150, pp. 1553-1560, 10.1007/s00706-019-02462-y
99. M. Bingul, S. Ercan, M. Boga The design of novel 4,6-dimethoxyindole based hydrazide-hydrazones: molecular modeling, synthesis and anticholinesterase activity *J. Mol. Struct.* 2020, 1213, Article 128202, 10.1016/j.molstruc.2020.128202
100. M.F. Saglam, M. Bingul, E. Şenkuytu, M. Boga, Y. Zorlu, H. Kandemir, I.F. Sengul Synthesis, characterization, UV-Vis absorption and cholinesterase inhibition properties of bis-indolyl imine ligand system *J. Mol. Struct.* 2020, 1215, Article 128308, 10.1016/j.molstruc.2020.128308.
101. Hernán Pessoa-Mahana, Christian González-Lira, Angélica Fierro, Gerald Zapata-Torres, C. David Pessoa-Mahana, Javiera Ortiz-Severin, Patricio Iturriaga-Vásquez, Miguel Reyes-Parada, Paul Silva-Matus, Claudio Saitz-Barría, Ramiro Araya-Maturana. Synthesis, docking and pharmacological evaluation of novel homo- and hetero-bis 3-piperazinylpropylindole derivatives at SERT and 5-HT1A receptor. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2013, 21 7604–7611.
102. T. Heinrich, H. Böttcher, R. Gericke, G.D. Bartoszyk, S. Anzali, C.A. Seyfried, H.E. Greiner, C. Van Amsterdam, Synthesis and structure-activity relationship in a class of indolebutylpiperazines as dual 5-HT1A receptor agonists and serotonin reuptake inhibitors, *J. Med. Chem.* 2004, 47 4684–4692. <https://doi.org/10.1021/jm040793q>.
103. M.N. Modica, S. Intagliata, V. Pittalà, L. Salerno, M.A. Siracusa, A. Cagnotto, M. Salmona, G. Romeo, Synthesis and binding properties of new long-chain 4 substituted piperazine derivatives as 5-HT1A and 5-HT7 receptor ligands, *Bioorganic Med. Chem. Lett.* 2015, 25 1427–1430. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.02.042>.
104. J. Rodríguez-Lavado, C. Gallardo-Garrido, M. Mallea, V. Bustos, R. Osorio, Martí. Hödar-Salazar, H. Chung, R. Araya-Maturana, M. Lorca, C.D. Pessoa-Mahana, J. Mella-Raipán, C. Saitz, P. Jaque, M. Reyes-Parada, P. Iturriaga-Vásquez, Hernán. Pessoa-Mahana, Synthesis, in vitro evaluation and molecular docking of a new class of indolylpropyl benzamidopiperazines as dual AChE and SERT ligands for Alzheimer's disease, *European Journal of Medicinal Chemistry* 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112368>.
105. J. Jiang, C.J. Seel, A. Temirak, V. Namasivayam, A. Arridu, J. Schabikowski, Y. Baqi, S. Hinz, J. Hockemeyer, C.E. Müller, A 2B Adenosine Receptor Antagonists with

- Picomolar Potency, *J. Med. Chem.* 2019, 62 4032–4055. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b00071>.
106. Y. Shan, J. Dong, X. Pan, L. Zhang, J. Zhang, Y. Dong, M. Wang, Expanding the structural diversity of Bcr-Abl inhibitors: Dibenzoylpiperazin incorporated with 1 H -indazol-3-amine, *Eur. J. Med. Chem.* 2015, 104 139–147. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.09.034>
107. Melnyk, P. (2014) New N<sub>a</sub>-substituted carboline compounds usable for the treatment of neurodegenerative diseases. (Fr/Lille. Patent WO2014/207241) Universite de Lille 2 Droit Et Sante [Fr/Fr] 42, rue paul duez, f-59800 lille (Fr). Inserm (Institut National de la Sante et de la Recherche medicale) [Fr/Fr]; 101, rue de Tolbiac, f-75013 paris (Fr). <https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2014207241>
108. Ellman, G. L.; Courtney, K. D.; Andres, V. Jr., Feather-Stone, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 1961, 7, 88.
109. Froede, H. C.; Wilson, I. B. Direct determination of acetyl-enzyme intermediate in the acetylcholinesterase-catalyzed hydrolysis of acetylcholine and acetylthiocholine. *J. Biol. Chem.* 1984, 259, 11010.
110. Coleman, J. A., Green, E. M. & Gouaux, E. X-ray structures and mechanism of the human serotonin transporter. *Nature* 2016, 532, 334–339 .
111. Ogilvie AD, Battersby S, Bubb VJ, Fink G, Harmar AJ, Goodwin GM, Smith CA. Polymorphism in serotonin transporter gene associated with susceptibility to major depression. *Lancet.* 1996, 347(9003), 731-3.
112. Bossy-Wetzel, E.; Schwarzenbacher, R.; Lipton, S. A. Molecular pathways to neurodegeneration. *Nat. Med.* 2004, 10 Suppl, S2.
113. Oddo, S.; Caccamo, A.; Smith, I. F.; Green, K. N.; LaFerla, F. M. A dynamic relationship between intracellular and extracellular pools of A $\beta$ . *Am. J. Pathol.* 2006, 168, 184
114. Gherman, B. F.; Goldberg, S. D.; Cornish, V. W.; Friesner, R. A. Mixed quantum mechanical/molecular mechanical (QM/MM) study of the deacylation reaction in a penicillin binding protein (PBP) versus in a class C beta-lactamase. *J Am Chem Soc* 2004, 126, 7652-64.
115. H. Pessoa-Mahana, P. Silva-Matus, C.D. Pessoa-Mahana, H. Chung, P. Iturriaga-Vásquez, G. Quiroz, P. Möller-Acuña, G. Zapata-Torres, C. Saitz-Barría, R. Araya Maturana, M. Reyes-Parada, Synthesis and Docking of Novel 3-Indolylpropyl Derivatives as New Polypharmacological Agents Displaying Affinity for 5-HT 1A R/SERT, *Arch. Pharm. (Weinheim).* 2017, 350 1–15. <https://doi.org/10.1002/ardp.201600271>

116. Bossy-Wetzels, E.; Schwarzenbacher, R.; Lipton, S. A. Molecular pathways to neurodegeneration. *Nat. Med.* 2004, 10 Suppl, S2.
117. Oddo, S.; Caccamo, A.; Smith, I. F.; Green, K. N.; LaFerla, F. M. A dynamic relationship between intracellular and extracellular pools of A $\beta$ . *Am. J. Pathol.* 2006, 168, 184
118. Bustos, Victor, Maria V. Pulinaa, Yildiz Kelahmetoglua,, Subhash . Sinhaa, Fred S. Gorelickb,, Marc Flajoleta, and Paul Greengarda. "Bidirectional regulation of A $\beta$  levels by Presenilin 1." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2017, 114.27: 7142-7147