



Universidad de Chile  
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas  
Departamento de Química Orgánica y Físicoquímica

**ESTUDIO DE DOCKING, SÍNTESIS Y ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA DE  
NUEVOS DERIVADOS BENZO[*b*]TIOFÉN CARBONIL PIPERAZINAS EN LA  
BÚSQUEDA DE POTENCIALES AGENTES ANTIDEPRESIVOS.**

PROFESOR PATROCINANTE:

**Dr. HERNÁN ARMANDO PESSOA MAHANA**

DIRECTORES DE MEMORIA:

**Dr. HERNÁN ARMANDO PESSOA MAHANA**

**Dr. CLAUDIO ANTONIO SAITZ BARRÍA**

Departamento de Química Orgánica y Físicoquímica.

**MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO.**

**JOHANN ALBERT KOSCHE CÁRCAMO**

**SANTIAGO-CHILE**

**2007**

## CALIFICACIÓN



Universidad de Chile  
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas  
Departamento de Química Orgánica y Físicoquímica

### **ESTUDIO DE DOCKING, SÍNTESIS Y ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA DE NUEVOS DERIVADOS BENZO[b]TIOFÉN CARBONIL PIPERAZINAS EN LA BÚSQUEDA DE POTENCIALES AGENTES ANTIDEPRESIVOS.**

PROFESOR PATROCINANTE:

**Dr. HERNÁN ARMANDO PESSOA MAHANA.....**

DIRECTORES DE MEMORIA:

**Dr. HERNÁN ARMANDO PESSOA MAHANA.....**

**Dr. CLAUDIO ANTONIO SAITZ BARRÍA.....**

**SANTIAGO-CHILE**

**2007**

## AGRADECIMIENTOS.

Dedico esta tesis a las personas más importantes de mi vida, mi madre María Isabel Cárcamo y a mi padre Rolando Kosche Pannier por apoyarme, acompañarme, guiarme, y entregarme todo el amor que puede necesitar un hijo, sin ellos nada de esto hubiera sido posible.

Quisiera además agradecer a mis hermanos Roland, Richard y Franz por todo el cariño que siempre me entregan y por su preocupación ante cualquier necesidad que tuve en este tiempo. A mi amada Loreto por haberme dedicado incondicionalmente todo su tiempo, su cariño y su constante preocupación por cualquier acontecimiento de mi vida, entregándome además toda su alegría y amor.

En el plano universitario quiero dar las gracias, más que a cualquiera, a mi director de tesis el Dr. Hernán Pessoa Mahana por su confianza en mí desde un comienzo invitándome a trabajar a su laboratorio, enseñando siempre generosamente todos sus conocimientos, destacando su transparencia, alegría y muy buen humor haciendo siempre que el trabajo fuera ante todo algo agradable además de enriquecedor.

Quisiera además agradecer al Dr. Claudio Saitz y al Dr. Ramiro Araya por su constante apoyo en el laboratorio siendo siempre ejemplos de humildad y por su sabia actitud de desdramatizar y solucionar los conflictos que se presentan en todo trabajo. También quisiera agradecer por el apoyo y siempre buena disposición a mis compañeros y amigos Gonzalo, Cristián, Oney, Jorge, Marcos, Rigo e Ignacio, quienes en forma sincera demostraron preocupación por los problemas laborales y personales. Además agradecer el aporte en las correcciones y revisión del presente trabajo al Dr. Fernando Castañeda Magliona y al Dr. David Pessoa Mahana. Agradezco además la gran ayuda entregada por el Dr. Gerald Zapata Torres en los estudios de Docking.

Finalmente agradezco a los **PROYECTOS FONDECYT 1050289** (Dr. Hernán Pessoa M) y al Proyecto **MECESUP UCH 0116** de la Red Nacional de Doctorado en Química, por el apoyo financiero que permitieron el desarrollo de esta tesis.

## TABLA DE CONTENIDOS

	<b>Pág.</b>
CALIFICACIÓN .....	ii
AGRADECIMIENTOS .....	iii
TABLA DE CONTENIDOS.....	iv
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS.....	v
RESUMEN.....	vii
SUMMARY.....	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
MATERIALES.....	12
DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	14
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
CONCLUSIONES.....	53
REFERENCIAS.....	55
ANEXOS.....	59

## INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

## Página

Fig. 1.- Neurotransmisores monoaminérgicos.....	2
Fig. 2.- Iproniazida, Clorpromazina, Imipramina.....	3
Fig. 3.- Neurotransmisión.....	4
Fig. 4.- Fluoxetina, Paroxetina.....	5
Fig. 5.- Receptor 5-HT <sub>1A</sub> .....	6
Fig. 6.- Buspirona.....	7
Fig. 7.- Generaciones de antidepresivos.....	7
Fig. 8.- Moléculas Monge y col.....	8
Fig. 9.- Familias 1 y 2.....	9
Fig. 10.- Esquema de interacción entre serotonina y receptor 5-HT <sub>1A</sub> .....	10
Fig. 11.- Esquema de interacción entre 1(a) y receptor 5-HT <sub>1A</sub> .....	10
Fig. 12.- Esquema de interacción entre 1(b) y receptor 5-HT <sub>1A</sub> .....	10
Fig. 13.- Esquema de interacción entre 2(b) y receptor 5-HT <sub>1A</sub> .....	10
Fig. 14.- Familias 1 y 2.....	33
Fig. 15.-Adición de Michael familia 1.....	34
Fig. 16.-Formación de Benzotiofén-carbonil-piperazina.....	34
Fig. 17.-Formación de haluro de ácido.....	35
Fig. 18.-Probable mecanismo formación benzotiofeno.....	35
Fig. 19.- Hidrólisis éster.....	35
Fig. 20.-Adición con N-boc piperazina.....	36
Fig. 21.-Hidrólisis N-boc piperazina.....	36
Fig. 22.-Benzotiofen enonas.....	37
Fig. 23.-Alcohol alílico y enonas.....	37
Fig. 24.-Esquema formación enona.....	38
Fig. 25.-Numeración alcohol alílico.....	39
Fig. 26.-Numeración enona.....	39
Fig. 27.-Rendimientos formación de Benzotiofén éster.....	39
Fig. 28.-Síntesis de 1-(4,7- Dimetoxi- benzo[ <i>b</i> ]tiofen-2-il)- 3-[4-(5-nitrobenzo benzo[ <i>b</i> ]tiofeno-2-carbonil)-piperazin-1-il]-1-propanona. <b>1(a)</b> .....	40
Fig. 29.-Síntesis de 1-Benzo[ <i>b</i> ]tiofen-2-il-3-[4-(5-nitrobenzo-benzo[ <i>b</i> ]tiofen-2-carbonil)-piperazin-1-il]-1-propanona. <b>1(b)</b> .....	41

Fig. 30.-Síntesis de (4-{3-[4-(5-Nitro-benzo [b] tiofén-2-carbonil)-piperazin-1-il]-propil}-piperazin-1-il)-(5-nitro-benzo [b] tiofén-2-il)-metanona <b>(2(a))</b> . y (4-{3-[4-(Benzo [b] tiofén-2-carbonil)-piperazin-1-il]-propil}-piperazin-1-il)-benzo [b] tiofén-2-il-metanona <b>(2(b))</b> .....	42
Fig. 31.-Síntesis de (4-{3-[4-(Benzo [b] tiofén-2-carbonil)-piperazin-1-il]-propil}-piperazin-1-il)-(5-nitro-benzo [b] tiofén-2-il)-metanona <b>(2(c))</b> .....	42
Fig. 32.-Esquema formación Benzotiofén-carbonil-piperazina.....	43
Fig. 33.-Compuesto 2 (a).....	43
Fig. 34.-Compuesto 2 (b).....	44
Fig. 35.-Formación de 2 (b).....	44
Fig. 36.-Compuesto 2 (c).....	45
Fig. 37.-Formación de 2 (c) método 1.....	45
Fig. 38.- Formación de 2 (c) método 2.....	46
Fig. 39.- 8-OH-Dipropilamino-tetralina.....	47
Fig. 40.-Curva de competencia.....	50
Fig. 41.-Gráfico % de desplazamiento 8-OH-DPAT.....	51
Fig. 42.-% de unión de 8-OH-DPAT.....	52

## RESUMEN

La depresión es un trastorno del estado anímico, que se manifiesta con pérdida de interés o del placer por vivir, sentimientos de culpa o baja autoestima, alteraciones del sueño, del apetito y baja capacidad de concentración atribuidas fundamentalmente a una disminución en la neurotransmisión monoaminérgica.

La presente tesis informa los ensayos obtenidos por un estudio teórico de docking, síntesis y evaluación farmacológica de dos nuevas familias las 1-Benzo[b]tiofen-2-il-3-[4-(benzo[b]tiofen-2-carbonil)-piperazin-1-il]-1-propanonas **1(a, b)** y la familia **2 (a-c)** correspondiente a una serie de tres (4-{3-[4-(Benzo [b] tiofén-2-carbonil)-piperazin-1-il]-propil}-piperazin-1-il)-benzo [b] tiofén-2-il-metanonas diseñadas como potenciales agentes serotoninérgicos.

Las estrategias sintéticas utilizadas para la formación de la **familia 1(a, b)** involucran la reacción de adición de Michael de la Benzo[b]tiofén-carbonil-piperazina **20** sobre las Benzo[b]tiofén-2-il-propenonas **10** y **15** realizada con microondas obteniéndose con rendimientos de 64-75 % respectivamente.

La obtención de la **familia 2 (a-c)** se llevó a cabo por reacción de las Benzo[b]tiofén-carbonil-piperazinas **20** y **25** con 1-Bromo-3-cloropropano generándose los correspondientes dímeros **2 (a-c)**, con rendimientos de 77%, 78% y 90% respectivamente.

Los estudios teóricos de docking fueron realizados con los programas de modelamiento molecular Spartan 2 y para simulación de afinidad receptorial 5-HT<sub>1A</sub> se utilizó el programa Autodock 4, entregando una buena afinidad al receptor mencionado.

Los ensayos farmacológicos comprendieron estudios de competencia de los compuestos sintetizados frente al ligando tritiado 8-Hidroxi-dipropilamino tetralina (8-OH-DPAT), ligando de reconocida afinidad por el receptor estudiado. Los compuestos sintetizados exhibieron un incremento de la unión del ligando marcado 8-OH-DPAT lo cual puede ser producido por una probable interacción cooperativa de tipo positiva.

## SUMMARY

Depression is a common mental disorder consisting in depressed mood, with lack of interest and pleasure for living, with guiltiness feelings, sleeping, appetite disorders, and low capacity to keep concentrated in an activity, mainly attributed to a diminished monoaminergic neurotransmission.

In this thesis, a theoretical, synthetic and pharmacological study of new series of 1-Benzo[b]thiophen-2-yl-3-[4-(benzo[b]thiophen-2-carbonyl)-piperazin-1-yl]-1-propanones (**Family 1**), and (4-{3-[4-(Benzo [b] thiophen-2-carbonyl)-piperazin-1-yl]-propyl}-piperazin-1-yl)-benzo [b] thiophen-2-yl-methanones (**Family 2**) as potencial serotonergic agents is described.

The synthetic strategy for the preparation of family **1(a, b)** involved Michael addition reactions between Benzo[b]thiophen-carbonyl-piperazines **20** and Benzo[b]thiophen-2-yl-propenones **10, 15**, supported by microwave irradiation under free solvent conditions, yielding 64%-75% respectively.

The preparation of family **2(a-c)** was carried out by reaction between the Benzo[b]thiophen-carbonyl-piperazines **20** and **25** with 1-Bromo-3-cloropropane to afford the corresponding dimers **2 (a-c)** in 77%, 78% y 90% yield respectively.

Molecular modelling and docking studies of the proposed molecules and the 5-HT<sub>1A</sub> receptor were carried out by using Spartan 2 and AUTODOCK 4.0.

Pharmacologic assays encompassed binding affinities of the ligands with 5-HT<sub>1A</sub> receptor using 8-OH-DPAT as standard radioligand. The ligands showed an increased affinity of the 8-OH-DPAT for the receptor, these results may be considered as a positive cooperation phenomena, which may arise by an allosteric modulation. Further studies will be carried out in advance.

## INTRODUCCIÓN

**Depresión** viene del latín *depressio* o “hundimiento”, también *depressus*, que significa “abatido”, “derribado”. La Organización Panamericana de la Salud (2006) definió depresión como “un desorden mental común que se manifiesta como estados de ánimo deprimido, con pérdidas de interés o del placer por vivir, sentimientos de culpa o baja autoestima, alteraciones del sueño o del apetito y baja capacidad de concentración”. Todos estos síntomas pueden llegar a ser crónicos o recurrentes conllevando a alteraciones sustanciales en la habilidad del individuo para cumplir con las responsabilidades de la vida cotidiana. Además en algunos casos, esta patología puede llevar al suicidio, una fatalidad trágica asociada a la pérdida de alrededor de 850. 000 vidas cada año. El número de muertes por suicidio supera las causadas conjuntamente por guerras, terrorismo y asesinatos.<sup>1</sup>

La depresión es la principal causa de incapacidad medido como YLD (years lived with disability) o años vividos con incapacidad, y la cuarta causa de “carga” por enfermedad medido como DALYs = (Disability Adjusted Life Years) o “tasa de incapacidad en años de vida” que corresponde a la suma de potencial pérdida de años por muerte prematura y pérdida, por incapacidad, de años de vida productivos en el 2000, además se proyecta como la segunda causa para el año 2020, calculado para todas las edades, y géneros. Hoy la depresión es la segunda causa de DALYs entre los 15-44 años de edad considerando ambos géneros.<sup>1</sup>

Entre las enfermedades depresivas se reconocen distintos cuadros, en el caso de ser unipolar encontraremos la distimia (depresión crónica), depresión mayor, depresión menor, desórdenes afectivos estacionarios, desórdenes disfóricos premenstruales, depresión post parto, depresión atípica. Según la Organización Mundial de la Salud (2003), la depresión es padecida por personas de todas las edades, géneros, y estratos socioeconómicos, afectando a alrededor de 121 millones de personas en el mundo. Puede ser detectada, diagnosticada y tratada en centros de cuidado primario. Menos del 25% (y en algunos casos menos del 10%) de los afectados tienen acceso a tratamientos efectivos, sin embargo el uso de medicamentos

antidepresivos, sesiones cortas y estructuradas de psicoterapia son efectivas entre un 60 - 80 % de los casos los cuales pueden ser manejados en centros primarios de salud. Entre los impedimentos para que esto se pueda realizar están, la falta de recursos, falta de personal calificado, y el estigma social asociado a los desórdenes mentales incluyendo el de la depresión.<sup>1</sup> Las enfermedades depresivas adquieren día a día más importancia en Chile, afectando alrededor de un 22% de la población y a un 9% con depresión mayor.<sup>2-3</sup>

Existen diversos mecanismos por los cuales se puede aumentar la disponibilidad de las monoaminas cerebrales, ya sea con el bloqueo de la recaptación de monoaminas en la sinapsis, inhibiendo el metabolismo intraneuronal de las monoaminas o bloqueando los heterorreceptores o autorreceptores inhibitorios presinápticos (figura 3, [www.chemistryexplained.com](http://www.chemistryexplained.com)).

### B) Arilpiperazinas de cadena larga:

Conjuntamente con lo anterior se ha observado clínicamente la eficacia que posee la buspirona (figura 6), un agonista parcial de receptores post-sinápticos 5-HT<sub>1A</sub>, cumpliendo un importante rol en el control del estado de ánimo y posiblemente en el manejo de los estados ansioso-depresivos.<sup>16-19</sup> Además se ha observado a través de numerosos estudios, efectos antidepresivos importantes de los agonistas 5-HT<sub>1A</sub> en modelos de comportamiento, además de promover la neurogénesis en el hipocampo.<sup>20-21</sup> En la misma línea de las observaciones anteriores se observó similares efectos con la azaspirona tanto en ratas como en humanos. Sin embargo a pesar de las exhaustivas investigaciones,<sup>22-23</sup> ni la buspirona ni algún otro agonista de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> ha alcanzado llegar al mercado como monoterapia de la depresión debido a que las dosis necesarias para una eficacia terapéutica producen vértigo, mareos, insomnio y otros efectos secundarios inaceptables.<sup>24-30</sup>

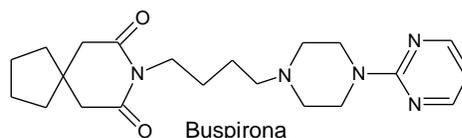


Figura 6

Artigas y col. describieron que pindolol, un antagonista mixto (receptores 5-HT<sub>1A</sub> y  $\beta$  adrenérgico), aceleraban los efectos de los ISRS al ser administrados conjuntamente en pacientes con depresión mayor.<sup>31</sup>

### Efecto asociado antagonista 5-HT<sub>1A</sub>/ISRS:

Esto condujo a que Pérez y col. propusiera un novedoso diseño de moléculas híbridas que porten el esqueleto farmacóforo, con el concepto de híbrido molecular con bioactividad dual, es decir el diseño de una estructura simple que contenga las unidades farmacofóricas asociadas a ambos efectos es decir gama-ariloxipropilaminas (ISRS) y alquiarilpiperazinas (Afinidad 5-HT<sub>1A</sub>).<sup>32</sup>

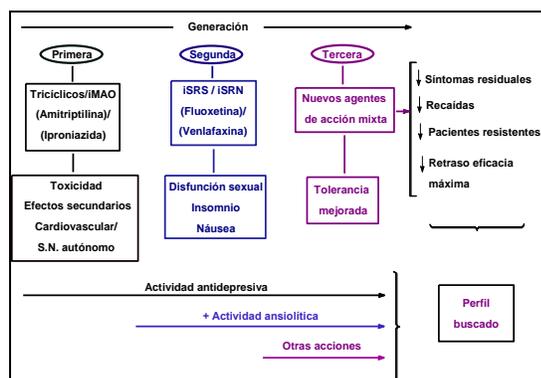


Figura 7

En este mismo ámbito Monge y colaboradores estudiaron la funcionalización de benzotiofenos en C-3 conectadas a cadenas propil arilpiperazínicas (figura 8), de modo de conectar porciones moleculares que respondieran a ambos efectos ISRS y antagonista de receptores 5-HT<sub>1A</sub>.<sup>33</sup> (figura 7)

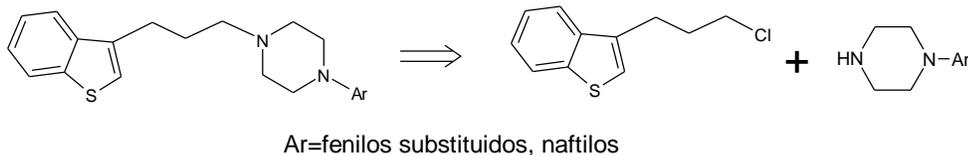
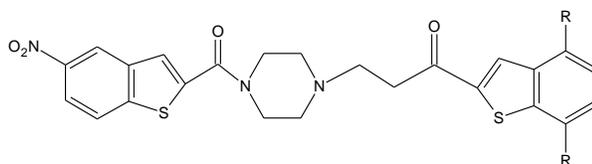


Figura 8, Familia de benzotiofenos bioactivos.

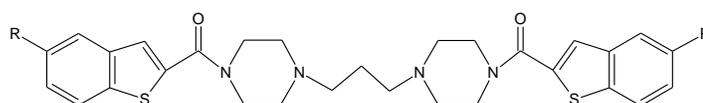
**Bis-farmacóforos como homo y heteroligandos bivalentes:**

El concepto de bis-farmacóforo constituye una interesante opción en la búsqueda de nuevos fármacos con un efecto farmacológico mejorado, lo cual estructuralmente se basaría en conectar dos porciones farmacofóricas <sup>34-35</sup> por cadenas o puentes polimetilénicos, los cuales interaccionan con el receptor, que en un contexto general conlleva a un aumento de la afinidad y la actividad llegando a presentar afinidad nanomolar y subnanomolar.<sup>36-37</sup>

Dado nuestro interés en el estudio de sistemas heterocíclicos bioactivos en el Sistema Nervioso Central nos surgió la idea de desarrollar compuestos homo y hétero bis-ligandos. En este sentido nos interesó el diseño nuevos anillos benzotiofénicos conectados a un anillo piperazínico como homo y hetero bis-ligandos (figura 9), lo que en el contexto de esta tesis se estudiará respecto de la afinidad al receptor 5-HT<sub>1A</sub>.<sup>38</sup>



Donde R=H o CH<sub>3</sub>



Donde R=H y / o NO<sub>2</sub>

Figura 9

**Hipótesis:**

El receptor serotoninérgico 5-HT<sub>1A</sub> (422 aminoácidos) es considerado actualmente como el principal receptor involucrado en las patologías depresivas y es ampliamente estudiado en la búsqueda de nuevos compuestos antidepresivos de

mayor eficacia en un menor lapso de tiempo. Además es conocido el hecho que la estrategia sintética homo y heterodimérica en el diseño de nuevos fármacos está estrechamente relacionado con la potencia y la selectividad de su acción farmacológica respecto de su relativo monomérico. En relación a estos antecedentes hemos diseñado nuevos derivados diméricos formados por benzotiofén carbonil piperazinas unidos por una cadena de 2 o 3 carbonos como homo y heteroligandos bivalentes. Estos nuevos ligandos actuarían como estructuras bis-farmacofóricas (dos grupos farmacóforos en una misma molécula) reforzando las principales interacciones esenciales entre el receptor 5-HT<sub>1A</sub> y el ligando, especialmente a nivel de los grupos Asp 116 (73 en las figuras 10, 12 y 13) y la piperazina protonada o la amina primaria en la serotonina protonada (pH fisiológico), las porciones aromáticas según lo detectado, probablemente interaccionen con residuos de (ver figuras 10-13 y anexos) Phe 112, Phe 361, Phe 362, Phe 370, Ala 379, Leu 380, Asn 385 y Trp 387 (correspondientes a los residuos aminoacídicos F69, F169, F362, F177, A178, L179, D185 y W186 en esquemas de AUTODOCK 4.0) donde el espaciador polimetilénico podría exhibir interacciones de tipo Van Der Waals con residuos apolares de las hélices 3 y 5 según se ha demostrado en estudios preliminares de docking.<sup>39</sup> (Figuras 10-13).

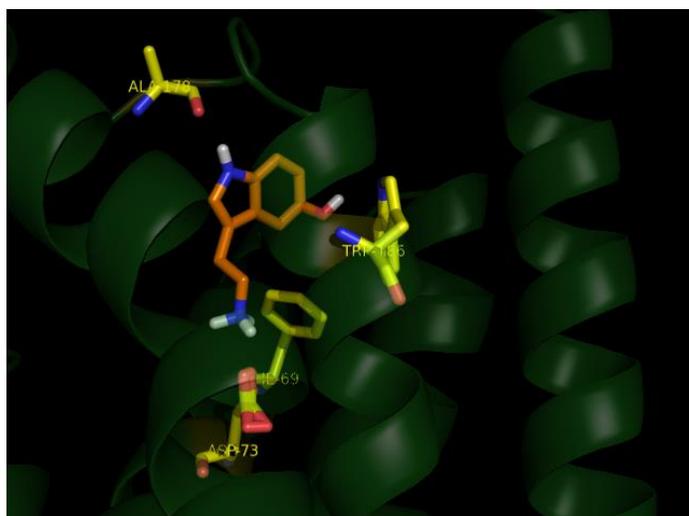


Figura 10

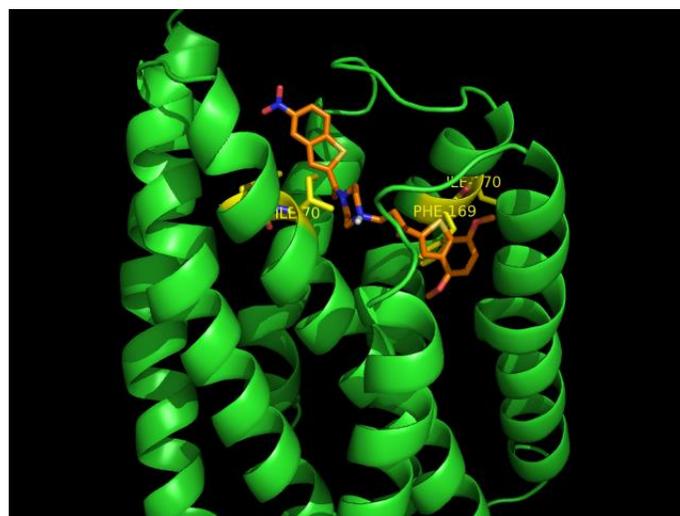


Figura 11

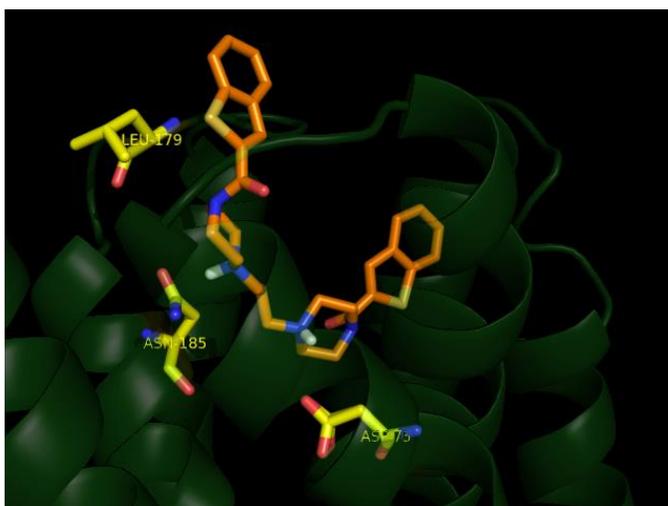
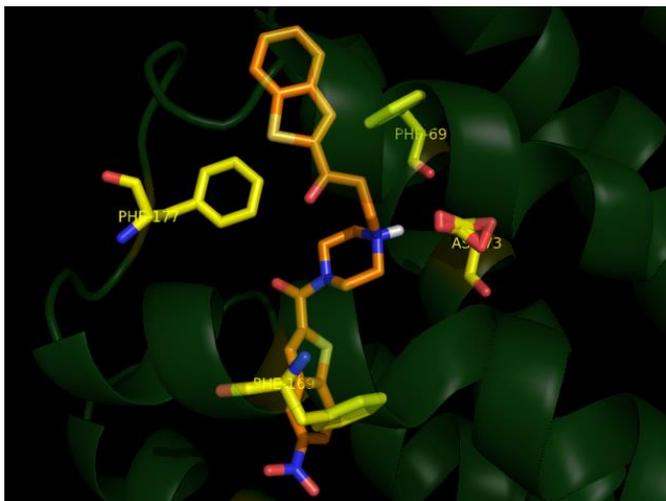


Figura 12

Figura 13

**Objetivo general:**

El principal objetivo de esta tesis es ser un aporte al conocimiento en el campo de la química medicinal y la neuroquímica, abarcando estudios de docking, síntesis, y su evaluación de una serie de compuestos benzotiofén carbonil piperazínicos y su evaluación farmacológica a través de la afinidad por el receptor 5-HT<sub>1A</sub>.

**Objetivos específicos:**

i) Estudiar la afinidad de los ligandos por el receptor 5-HT<sub>1A</sub>, por modelación computacional (Docking), utilizando los programas Spartan 2, para cálculos de mínima

energía y Autodock 4 para cálculos de unión entre el ligando y los residuos aminoacídicos del receptor.

ii) Sintetizar las 1-Benzo[*b*]tiofen-2-il-3-[4-(benzo[*b*]tiofen-2-carbonil)-piperazin-1-il]-1-propanonas (**familia 1**), y (4-{3-[4-(Benzo [*b*] tiofén-2-carbonil)-piperazin-1-il]-propil}-piperazin-1-il)-benzo [*b*] tiofén-2-il-metanonas (**familia 2**).

iii) Realizar ensayos farmacológicos de evaluación de la afinidad receptorial 5-HT<sub>1A</sub>, a las familias **1** y **2** utilizando el agonista selectivo 8-OH-DPAT (8-hidroxi-dipropilamino-tetralina) como estándar tritiado.

iv) Relacionar los resultados de estudios teóricos preliminares de docking realizados a las moléculas sintetizadas, con los resultados de los ensayos farmacológicos de afinidad receptorial 5HT<sub>1A</sub>.

## MATERIALES

### **Solventes:**

Los solventes utilizados en esta tesis fueron de calidad Sigma-Aldrich, Merck y de grado técnico purificados por destilación y posterior secado con sulfato de sodio anhidro, en el Laboratorio de Mecanismos de Reacción.

Cloroformo, etanol, acetonitrilo, dimetilformamida (Merck), metanol, tetrahidrofurano (calidad Merck p.a.) para cromatografías y cristalizaciones. Se utilizó diclorometano, acetato de etilo y hexano destilado y secado con sulfato de sodio anhidro para placas cromatográficas.

### **Reactivos:** Calidad Sigma-Aldrich y/o Merck :

2,5-dimetoxi-benzaldehído (99% Aldrich), 2-Cl-5-nitro-benzaldehído (99% Aldrich), 2-nitro-benzaldehído (99% Aldrich), tioglicolato de metilo (95% Aldrich), hidróxido de potasio (95% Synth), carbonato de potasio anhidro (99.99% Acs) , cloruro de tionilo (100% Merck), terbutil-1-piperazincarboxilato (97% Aldrich), 1-Bromo-3-cloro propano (99% Aldrich), trietilamina, ácido acético glacial (100% Merck) y ácido nítrico (69% d=1,41Merck).

### **Equipos:**

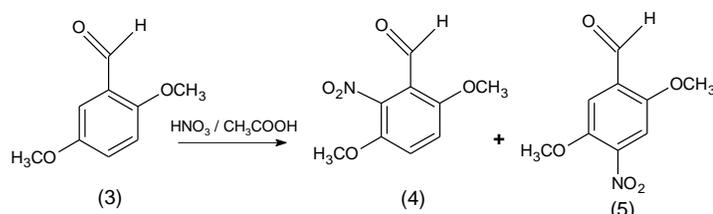
Los puntos de fusión fueron determinados en una placa calefactora Reichert 2102 y no han sido corregidos. La radiación de microondas fue realizada por un equipo MILESTONE MEGA 240. Los espectros de infrarrojo (IR) fueron realizados y grabados en un espectrofotómetro FT-IR Brüker IFS 55 en discos de KBr y las señales medidas fueron expresadas en  $\text{cm}^{-1}$ . Los espectros de  $^1\text{H}$  RMN y  $^{13}\text{C}$  RMN fueron realizados por un espectrómetro Bruker DRX-300 (300 and 75 MHz) con cloroformo deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) o dimetilsulfóxido deuterado ( $\text{DMSO-d}_6$ ). Los desplazamientos químicos fueron expresados en ppm ( $\delta$ ) relativo a tetrametilsilano (TMS) como estándar interno. Los valores de las constantes de acoplamiento (J) están expresados en Hz. Los análisis de espectrometría de masa fueron realizados con un espectrómetro de masas Modelo MAT 95XP, Thermo Finnigan. Analizador de doble enfoque, sector magnético y eléctrico. Referencia utilizado: Perfluoro Kerosene high boiling, PFK Ionización por Impacto de electrones, EI. Método de determinación:

Scan m/z. La determinación de los microanálisis fueron llevados a cabo en un analizador Fisons EA 1108. Los puntos de fusión fueron medidos en una placa calefactora Reichert 2102 y no fueron corregidos.

**Otros:**

Papel filtro whatman nº 43 velocidad de filtrado medio-rápida. Diámetro 15 cm. Para las cromatografías en columnas (CC) se utilizó sílica gel Merck 60 (70-230mesh), mientras que para las cromatografías en capa fina (TLC) se utilizó DC- alufolien 60 F<sub>254</sub>.

## DESARROLLO EXPERIMENTAL.

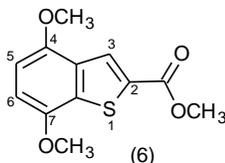
**3,6-Dimetoxi-2-nitro-benzaldehído (4).**

Una solución de 2,5-dimetoxibenzaldehído **3** (1g, 6.02 mmol) en ácido acético glacial (50 mL) y ácido nítrico (10 mL, 0.15 moles), se deja reaccionar a temperatura ambiente durante 4 horas.<sup>40</sup> Posteriormente se adiciona agua (50 mL), y se neutraliza con NaHCO<sub>3</sub> sólido hasta pH neutro. El producto es extraído con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 50mL) y las fases orgánicas son reunidas y secadas con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, anhidro. La fase orgánica se filtra y se concentra a por evaporación rotatoria obteniéndose una mezcla de los nitrobenzaldehídos isoméricos **4** y **5** (1,22 grs., 96%), El isómero 3,6-dimetoxi-2-nitro-benzaldehído **4** es aislado por cristalización fraccionada en etanol, obteniéndose 523 mg, (41 %) de producto puro.

pf: 170-171° C IR: 2980 (C-H Alifático), 2860 y 2840 (C-H Aldehído), 1680 (C=O), 1520 (NO<sub>2</sub>) Asimétrica, 1360 (NO<sub>2</sub>) Simétrica.

<sup>1</sup>H-RMN<sub>(ppm)</sub> (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 3.85 (s,3H,C-6 OMe), 3.94 (s,3H,C-3 OMe), 7.10 (d, 1H, C-5H, J = 8.3 Hz), 7.28 (d,1H, C-4 H, J = 8.3 Hz), 10.35 (s,1H,CHO).

<sup>13</sup>C-RMN<sub>(ppm)</sub> (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 56.8 (C-6 OMe), 57.2 (C-4 OMe), 114.2 (C-5 o C-6), 116.2 (C-2), 121.0 (C-3), 144.5 (C-4), 155.3 (C-1), 186.1 (CHO).

**4,7-Dimetoxi-2-metoxicarbonil-benzo [b] tiofeno (6).**<sup>41</sup>

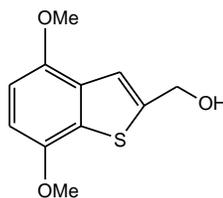
A una mezcla de nitrobenzaldehído **4** (600 mg, 2.84 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> anhidro (380 mg, 2.84 mmol) y DMF como solvente (10 mL), se le agrega tioglicolato de metilo (0.26

mL, 2.84 mmol) a temperatura ambiente. Una vez terminada la adición, la mezcla se calienta a 70<sup>o</sup>-75<sup>o</sup> C, con agitación por 4 horas. Transcurrido este tiempo la mezcla se vierte sobre un vaso de agua-hielo con agitación, hasta aparición de un precipitado color pardo-amarillento. El sólido es filtrado al vacío, lavado con agua (3 X 25 mL) y posteriormente secado, obteniéndose 537 mg (75 %) de producto crudo. El producto es purificado por cromatografía en columna de sílica gel, utilizando CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> como eluyente, generando 440mg (61%) de producto **6** puro.

pf: 124-125 °C, Análisis Elemental: Teórico = C (57.43%), H (4.79%), S (12.71%).

(C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>S) Experimental = C (56.78%), H (4.90%), S (12.42%). 252.29 g/mol. IR<sub>(KBr)</sub>: 3010 (C-H, Aromáticos), 1702 (C=O), 1260 (C-O) (cm<sup>-1</sup>). <sup>1</sup>H-RMN<sub>(ppm)</sub> (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 3,91 (s,3H,COOCH<sub>3</sub>), 3,93 (s,3H, Ar- OCH<sub>3</sub>), 3,94 (s,3H, Ar- OCH<sub>3</sub>), 6,66 (d,1H, 5-H, J =8.5 Hz), 6,76 (d,1H, 6-H, J = 8.5 Hz), 8,20 (s,1H, 3-H). <sup>13</sup>C-RMN<sub>(ppm)</sub> (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 52,4(COOCH<sub>3</sub>), 55,8(OCH<sub>3</sub>-Ar), 56,0 (OCH<sub>3</sub>-Ar), 104.6 (C-5), 106,8 (C-6), 128,0(C-3), 131,1 (C-7a), 132,4 (C-2), 132,9 (C-3a), 148,4 (C-7 o C-4), 150,5 (C-4 o C-7), 163,2 (COOCH<sub>3</sub>).

#### (4,7-dimetoxi-1-benzotiofen-il) metanol (**7**).



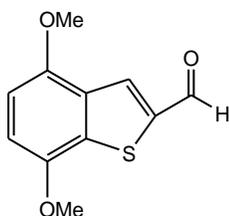
(**7**)

A una solución de benzotiofén éster **6** (500 mg, 2.23 mmoles) en THF anhidro (50 mL) a 0° C se añade LiAlH<sub>4</sub> (325 mg, 8.6 mmoles) bajo atmósfera de nitrógeno, la solución se agita por 3 horas.

Una vez que la reacción se completa (detección cromatográfica) la suspensión resultante es enfriada colocando el matraz sobre un baño de hielo, y se comienza a eliminar el exceso de LiAlH<sub>4</sub> agregando con precaución una mezcla de solución de AcOEt / H<sub>2</sub>O (3:1), una vez terminada esta operación, la suspensión de color blanco se filtra al vacío y se lava el precipitado en el filtro con AcOEt. Al filtrado se le adiciona 50 mL de agua y se extrae con AcOEt (3x50 mL), se seca con sulfato de sodio anhidro y se concentra por evaporación rotatoria formándose 430 mg, (86 %) de alcohol crudo.

La posterior purificación por cromatografía en columna de sílica gel ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{AcOEt} = 1:1$ ), genera 325mg (65%) del benzotiofen alcohol **7** puro. pf. 125-126 °C ( $\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$ ). Anal Elemental:  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_3\text{S}$ . Teórico: C (58.91%, H, 5.39%, S, 14.30%. Experimental: C, 58.23, H, 5.68, S, 14.74. IR (KBr) : 3356 (O-H). 3017 (C-H Aromático), 1262 (C-O)  $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.35(t,1H,OH), 3.92 (s,3H,Ar-OMe), 3.95(s,3H,ArOMe), 4.87(s,2H,- $\text{CH}_2$ -OH),6.68 (s,2H,5-H y 6-H), 7.38 (s,1H,3-H).  $^{13}\text{C-RMN}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  55.8, 55.9, 66.6, 104.3, 104.6, 116.8, 130.3, 131.6, 144.0, 148.7,149.3.

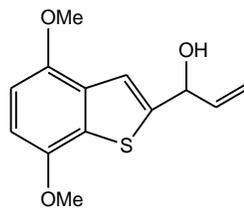
#### 4,7-Dimetoxibenzo[*b*]tiofen-2-carboxaldehído (**8**).



(8)

A una solución del alcohol **7** (500 mg, 2.23 mmoles) en 50 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  se adiciona Clorocromato de Piridinio (PCC (2.6gr de mg, 12.1 mmoles), y la solución se agita a temperatura ambiente por 4 horas. Posteriormente la solución se filtra y el filtrado es lavado con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (30 mL). Finalmente la solución resultante es concentrada al vacío obteniéndose un crudo cuantitativo que es inmediatamente purificado por cromatografía en columna de sílica gel, eluída en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  formándose 460 mg (92%) de aldehído **8** puro. pf. 109-110° C. Anal. Calcd. para  $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_3\text{S}$  : C, 59.44; H, 4.53; S,14.43. Encontrado : C, 59.65; H, 4.68; S, 14.43. (EtOH) IR (KBr): 2910 y 2840 (C-H, CHO), 1667 (C=O), 1603 y 1526 (C=C)  $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.86 (s, 3H, Ar-OMe), 3.88 (s, 3H, Ar-OMe), 6.61(d,1H, 5-H J =8.4 Hz), 6.75 (d,1H,6-H, J=8.4 Hz), 8.10 (s,1H, 3-H), 9.98 (s, 1H, CHO).  $^{13}\text{C-RMN}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  55.8 (ArOMe C-4 o C-7), 56.0 (ArOMe C-7 o C-4), 104.8(C-5), 108.2 (C-6), 131.1 (C-7a), 132.0 (C-3), 133.6 (C-4a), 142.5 (C-4), 148.6 (C-2), 151.0(C-7), 184.6 (CHO).

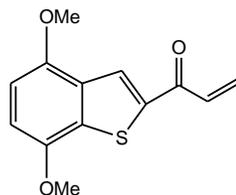
#### 1-(4,7-Dimetoxi benzo[*b*]tiofen-2-il)-2-propen-1-ol (**9**).



(9)

A una solución de aldehído **8** (400 mg, 1.8 mmol) disuelto en THF anhidro (30 mL) se le añade bromuro de vinil magnesio (2 mL, 2 mmol, solución 1M en THF) y se irradia por 6 minutos a 600 W en un equipo de microondas y atmósfera inerte (N<sub>2</sub>), hasta que por cromatografía en capa fina se aprecia que el producto de partida ha desaparecido. La mezcla resultante es vertida sobre agua (50mL), acidificada con 50mL de HCl diluido (0.5N) y extraída con AcOEt (4x 50 mL). Los extractos orgánicos reunidos son secados con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y evaporados a sequedad. El residuo crudo (rendimiento cuantitativo), se purifica por cromatografía en columna de sílica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) proporcionando 279 mg (62%) del alcohol alílico **9** como un aceite amarillo pálido, que solidifica por adición de éter de petróleo. pf 105-106 ° C IR (KBr) : 3183 (O-H), 2966(C-H Alif.), 1600(C=C), 1485(Ar C=C). cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>): 2.21(d,1H,OH,J =3.2 Hz), 3.93 (s, 3H, Ar-OMe), 3.95 (s, 3H, Ar-OMe), 5.28(d,1H, 3-H, J = 10.3 Hz), 5.45(d,2H, 3-H y 1-H, J = 17.2 Hz), 6.16 (m,1H, 2-H), 6.65(s,2H, 5'-H<sub>BT</sub>, y 6'-H<sub>BT</sub>), 7.35 (s, 1H, 3'-H<sub>BT</sub>). <sup>13</sup>C-RMN ( 75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 55.9 (ArOMe C-4' o C-7'), 56.0(ArOMe C-7' o C-4'), 71.7 (C-1), 104.4(C-5'), 104.7 (C-6'), 118.0 (C-3'), 116.3 (C-3), 130.1 (C-7a), 131.6 (C-4a), 138.9 (C-2), 146.6 (C-2'), 148.7(C-4'), 149.3 (C-7'). EMAR (IE) calculado para C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>S 250.06637 , encontrado :250.06437.

#### 1-(4, 7-Dimetoxi benzo[b]tiofen-2-il)-2-propen-1-ona (10).



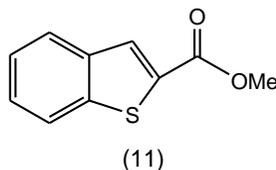
(10)

A una solución del alcohol **9** (300 mg, 1.2 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 mL) se añade MnO<sub>2</sub> anhidro (274mg 2.28 mmol) y MgSO<sub>4</sub>, se agita la mezcla a temperatura ambiente por 5 horas. La mezcla de reacción es filtrada y el solvente eliminado por evaporación

rotatoria obteniéndose (224 mg, 75%). El crudo es purificado por cromatografía en columna de sílica gel ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) formándose 173mg (58 %) de la enona (10) como un sólido amarillo.

pf. 99-100°C. IR (KBr): 3054 (C-H Ar), 2968 (C-H Alif.), 1665 (C=O), 1556 (C=C)  $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 3.94 (s, 3H, Ar-OMe), 3.96 (s, 3H, Ar-OMe), 5.92 (dd, 1H, 3-H,  $J = 10.4$  Hz y  $J = 1.6$  Hz), 6.55 (dd, 1H, 3-H,  $J = 17$  Hz y  $J = 1.6$  Hz), 6.67 (d, 1H, 5'- $\text{H}_{\text{BT}}$ ,  $J = 8.5$  Hz), 6.80 (d, 1H, 6'- $\text{H}_{\text{BT}}$ ,  $J = 8.5$  Hz), 7.22 (dd, 1H, 2-H,  $J = 17$  Hz y  $J = 10.4$  Hz), 8.16 (s, 1H, 3'- $\text{H}_{\text{BT}}$ ).  $^{13}\text{C-RMN}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  55.8 (ArOMe C-4' o C-7'), 56.0 (ArOMe C-7' o C-4'), 104.6 (C-5'), 107.6 (C-6'), 127.0 (C-3), 129.6 (C-2), 131.4 (C-3'), 131.6 (C-7a), 133.7 (C-4a), 143.6 (C-2'), 148.6 (C-4'), 150.8 (C-7'), 183.83 (C=O). EMAR (IE) calculado para  $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{O}_3\text{S}$  248.05072, encontrado: 248.05001.

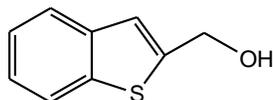
#### 1-Benzo[b]tíofen-2-il-2-metoxi carbonilo (11).<sup>41</sup>



A una mezcla de 2-nitro benzaldehído comercial (755 mg, 5.0 mmol), en DMF (9.0 mL) se adiciona tioglicolato de metilo (530 mg, 5.0 mmol) y  $\text{K}_2\text{CO}_3$  anhidro (690 mg, 5 mmol) se calienta con agitación a 70° C durante 4h. Después de este tiempo la mezcla de reacción es vertida en un recipiente con una mezcla de agua-hielo, obteniéndose un precipitado se cual es filtrado al vacío formando 706mg (74%) de éster crudo. La mezcla es purificada por cromatografía en columna ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) formándose 500mg (52%) de éster 11.

pf 62-63°C. IR  $\nu_{\text{max}}$ : 1725 (C=O), 1522 (C=C), 1252 (C-O).  $^1\text{H-RMN}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.97 (s, 3H, COOMe), 7.46 (q, 2H, 5-H y 6-H,  $J = 8.9$  Hz), 7.91 (d, 1H, 4-H o 7-H,  $J = 4.5$  Hz), 7.88 (d, 1H, 7-H o 4-H,  $J = 4.3$  Hz), 8.10 (s, 1H, 3-H).  $^{13}\text{C-RMN}$  (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 52.5, 122.8, 124.9, 125.6, 126.9, 130.7, 133.3, 138.7, 142.2, 163.3. EMAR (IE) calculado para  $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_2\text{S}$  192.02450, encontrado: 192.02343.

#### 1-Benzo[b]tíofen-2-il-2-metanol (12).

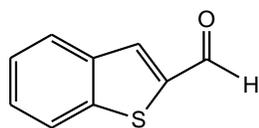


(12)

A una solución de éster **11** (500mg, 2.6 mmol) en THF anhidro, se adiciona  $\text{LiAlH}_4$  (706 mg, 18.6mmoles) en frío y se agita a temperatura ambiente por 3 horas. Una vez completada la reacción se adiciona una mezcla de  $\text{H}_2\text{O}:\text{AcOEt} = 1:3$ , obteniéndose un precipitado blanco que es filtrado al vacío. El sobrenadante es extraído con AcOEt (3x50 mL), secado con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y concentrado al vacío formándose 397 mg (93%) del alcohol crudo, el cual es purificado por cromatografía en columna de sílica gel ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) formándose 286 mg (67%) del alcohol **12** puro.

pf: 97-98° C. IR  $\nu_{\text{max}}$ : 3580-3250 (O-H), 1456 (C=C), 1034 (C-O).  $^1\text{H-RMN}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.04 (t, 1H, OH, J = 5.8 Hz), 4.92 (d, 2H,  $-\text{CH}_2-$  J = 5.62 Hz), 7.21 (s, 1H, 3-H), 7.26-7.36 (m, 2H, 5-H y 6-H), 7.72 (dd, 1H, 4-H o 7-H,  $J_o=6.5$  Hz,  $J_m=2.1$  Hz), 7.82 (dd, 1H, 7-H o 4-H,  $J_o=7.6$  Hz,  $J_m=2.1$  Hz).  $^{13}\text{C-RMN}$  (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 60.9, 121.5, 122.5, 123.6, 124.3 (2C), 139.5, 139.9, 144.8. EMAR (IE) calculado para  $\text{C}_9\text{H}_8\text{OS}$ , 164.02959 encontrado: 164.02929.

### 1-Benzo[b]tíofen-2-il-2-carboxaldehído (13).



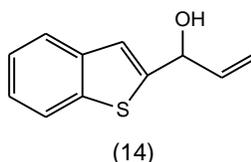
(13)

A una solución del alcohol **12** (794 mg, 4.84mmol) en ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 50 mL), se le adiciona 2.60 g. (12.1 mmol) de PCC (clorocromato de piridinio) se agita la solución por 4 horas, la mezcla se purifica por columna cromatográfica de sílica gel ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) formándose 682mg (87%) de un líquido rosado con agradable olor que corresponde al aldehído **13**.

pf: 26°-27° C. IR: 1673 (CHO), 1589 (C=C), 1515(C=C).  $^1\text{H-RMN}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  : 7.32 (td, 1H, 5-H o 6-H,  $J_o = 7.4$  Hz;  $J_m = 1.3$  Hz), 7.39 (td, 1H, 6-H o 5-H,  $J_o = 7.1$  Hz ;  $J_m = 1.3$  Hz), 7.77 (dd, 1H, 7-H o 4-H,  $J_o = 8.3$  Hz ;  $J_m = 0.6$  Hz), 7.82 (dd, 1H, 4-H o 7-H,  $J_o = 7.9$ ;  $J_m = 0.6$  Hz), 7.90 (s, 1H, 3-H), 9.98 (s, 1H, CHO).  $^{13}\text{C-RMN}$  (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 123.3, 125.3,

126.3, 128.2, 134.6, 138.6, 142.7, 143.3, 184.8. EMAR (IE) calculado para C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>OS, 162.01394, encontrado: 162.01468.

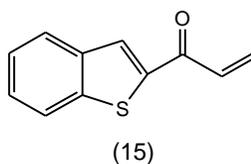
**1-Benzo[*b*]tiofen-2-il-2-propen-1-ol (14).**



Se masa benzotiofenaldehído **13** (500 mg, 3.1 mmol) en THF anhidro, y se le adiciona bromuro de vinil magnesio (407 mg, 3.1 mL de THF 1.0 M, 3.1 mmol), se irradia en un equipo de microondas por 6 minutos a 600 W. Una vez finalizada la reacción se agrega agua (50mL), se adiciona 50mL de HCl diluido (0.5N) y se extrae con AcOEt (3x50 mL). Los extractos orgánicos reunidos son concentrados al vacío formándose 537 mg (92%) de producto crudo. La mezcla se purifica por cromatografía en columna (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) generándose (274 mg, 47 %) del alcohol alílico **14** puro.

pf: 60-61° C. IR  $\nu_{\max}$ : 3240 (O-H), 2917 (C-H alif.), 1655 (C=C). <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 2.10-2.20 (s.ancho, 1H, OH), 5.29 (d, 1H, 3'-H<sub>cis</sub>, J= 10.0 Hz), 5.42 -5.5 (m, 2H, 3'-H<sub>trans</sub> and 1'-H), 6.16 (m, 1H, 2'-H), 7.19 (s, 1H, 3-H), 7.26-7.36 (m, 2H, 5-H y 6-H), 7.70 (dd, 1H, 4-H, J.=6.6 Hz, J<sub>m</sub> =1.92 Hz), 7.77-7.82 (m, 1H, 7-H). <sup>13</sup>C-RMN (75MHz, CDCl<sub>3</sub>): 72.2, 116.9, 121.3, 123.0, 124.1, 124.8(2C), 139.3, 140.0, 140.2, 147.7. EMAR (IE) calculado para C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>OS 190.04523, encontrado: 190.04538.

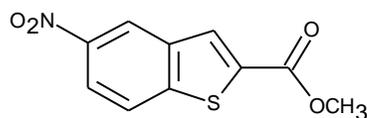
**1-Benzo[*b*]tiofen-2-il-propenona (15).**



A una solución de alcohol **14** (430 mg, 2.28 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 mL) se le adiciona MnO<sub>2</sub> (991 mg, 11.4 mmol), y MgSO<sub>4</sub> anhidro (274mg 2.28 mmol), la mezcla se agita a temperatura ambiente por 6 horas, luego se filtra y se concentra por evaporación rotatoria obteniéndose 321mg (75%). El producto crudo se purifica por columna cromatográfica (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) formando 265 mg (62%) de la enona **15** pura.

pf: 45-46° C. IR  $\nu_{\max}$ : 3032 (C-H Arom), 1661 (C=O), 1601 (C=C).  $^1\text{H-RMN}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  : 5.92 (dd, 1H, 3'-H<sub>cis</sub>,  $J_{\text{cis}} = 10.4$  Hz ;  $J_{\text{gem}} = 1.5$  Hz), 6.54 (dd, 1H, 3'-H<sub>trans</sub>,  $J_{\text{trans}} = 17.0$  Hz ;  $J_{\text{gem}} = 1.5$  Hz), 7.18 (dd, 1H, 2'-H,  $J_{\text{trans}} = 17.0$  Hz ;  $J_{\text{cis}} = 10.4$  Hz), 7.41 (td, 1H, 6-H o 5-H,  $J_o = 7.5$  Hz ;  $J_m = 1.25$  Hz), 7.47 (td, 1H, 5-H o 6-H,  $J_o = 7.5$  Hz ;  $J_m = 1.15$  Hz), 7.87 (t, 2H, 4-H y 7-H,  $J_o = 7.1$  Hz), 8.0 (s, 1H, 3-H).  $^{13}\text{C-RMN}$  (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 123.0, 125.3, 126.1, 127.6, 128.7, 128.8, 131.4, 139.2, 142.8, 144.2, 183.9. EMAR (IE) calculado para  $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{OS}$  188.02959, encontrado: 188.02904.

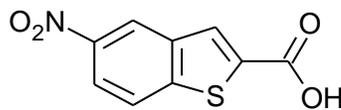
#### 5-nitro-2-metoxycarbonil-benzo [*b*] tiofeno (16).<sup>41</sup>



(16)

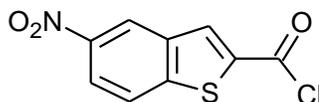
A una mezcla de 2-cloro-5-nitro-benzaldehído (700 mg, 3.8 mmol),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  anhidro (507 mg, 3.8 mmol) y DMF como solvente (10 mL), se le agrega tioglicolato de metilo (0.34 mL, 3.8 mmol) a temperatura ambiente. Una vez terminada la adición, la mezcla se calienta a 68°-73° C, con agitación por 4 horas. Transcurrido este tiempo la mezcla es vertida sobre un vaso de agua-hielo con agitación, hasta aparición de un precipitado color pardo-amarillento. El sólido es filtrado al vacío, lavado con agua (3 X 25 mL) y posteriormente secado obteniéndose 670 mg (75 %) del éster **16** crudo. El producto es purificado por cromatografía en columna de sílica gel, usando  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  como eluyente, generando 650 mg (73%) de 5-nitro-2-metoxycarbonil-benzo [*b*] tiofeno **16** puro.

pf: 199-200 °C. IR  $\nu_{\max}$ : 1703 (COOMe), 1529 ( $\text{NO}_2$ ), 1346 ( $\text{NO}_2$ ).  $^1\text{H-RMN}$ : 3.99 (s, 3H, COOMe), 8.00 (d, 1H, 7-H,  $J=9.0$  Hz), 8.19 (s, 1H, 3-H), 8.31 (dd, 1H, 6-H,  $J_o = 9.0$  Hz,  $J_m = 2.2$  Hz), 8.78 (d, 1H, 4-H,  $J_m = 2.1$  Hz).  $^{13}\text{C-RMN}$  (75MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ): 53.0, 121, 121.2, 123.6, 130.7, 137.2, 138.3, 145.9, 147.4, 162.3. HRMS (IE) calculado para  $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NO}_4\text{S}$ , 237.00958, encontrado: 237.00841.

**Ácido-5-nitro-benzo[*b*]tiofen-2-carboxílico (17).**

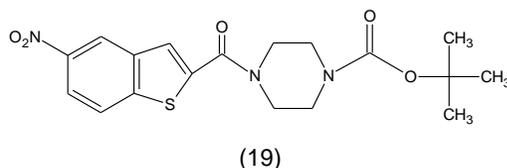
(17)

Se disuelven a temperatura ambiente 800 mg (3.38 mmoles) de benzotiofen éster **16**, en 80 mL CH<sub>3</sub>OH, luego se adiciona una mezcla de 8g (0.2 moles) de NaOH solubilizado en 20 mL de agua, se agita a 40° C por tres horas luego se adicionan 20 mL de agua hasta obtener solución transparente. Se acidifica con ácido clorhídrico diluido hasta pH 3-4. Posteriormente se extrae con acetato de etilo y se concentra. Finalmente es purificado por cromatografía de columna en gel de sílice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: CH<sub>3</sub>OH=1:1 como eluyente) obteniéndose 750mg (99.6%) del benzotiofen ácido **17**.  
 pf: 212-213° C. IR  $\nu_{\max}$  :3610-3300 (O-H), 1695(CO), 1536 (NO<sub>2</sub>), 1350 (NO<sub>2</sub>). <sup>1</sup>H-RMN (300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  : 4.98 (bs, 1H, COOH), 8.23 (m,3H, 4-H, 6-H y 7-H), 8.92 (s,1H, 3-H). <sup>13</sup>C-RMN (75MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 121.0, 121.9, 124.9, 131.3, 138.9, 139.1, 145.8, 147.5, 163.4. HRMS (IE) calculado para C<sub>9</sub>H<sub>5</sub>NO<sub>4</sub>S, 222.99393 , encontrado : 222.99474.

**Cloruro de 5-nitro-benzo [*b*] tiofen-2-carboxilato (18).**

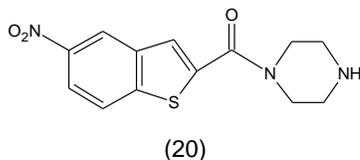
(18)

Una solución anhidra del ácido 5-nitro-2-benzo[*b*]tiofen-2-carboxílico **17** (600 mg, 2.69 mmoles) en cloruro de tionilo (50 mL), es calentada a reflujo durante 4 horas. Una vez terminada la reacción, la mezcla se concentra a presión reducida obteniéndose 649 mg de un sólido pardo-amarillento (rendimiento cuantitativo) correspondiente al haluro de ácido **18**, el cual resultó ser inestable en el tiempo.  
 pf: 159°-160°. IR: 1768 (COCl), 1525 (NO<sub>2</sub>), 1392 (NO<sub>2</sub>) (cm<sup>-1</sup>). HRMS (IE) calculado para C<sub>9</sub>H<sub>4</sub>ClNO<sub>3</sub>S, 240.96004, encontrado: 240.96102.

**ter-Butil-4-[(5-nitro-1-benzotiofen-2-il) carbonil] piperazin-1-carboxilato (19).**<sup>42</sup>

Se disuelven temperatura ambiente 649 mg (2.69 mmoles) del benzotiofen haluro de ácido **18**, en 25 mL de THF anhidro, y paralelamente se disuelven 500.5 mg (2.69 mmoles) de tert-butil-1-piperazincarboxilato; y 0.4 mL (292 mg 2.89 mmoles) de trimetil amina seca en 25 mL de THF anhidro. Se adiciona lentamente, en un ambiente de N<sub>2</sub> gaseoso y en baño de hielo, el haluro de ácido sobre la solución de N-boc-piperazina, se agita a temperatura ambiente por 6 horas. Posteriormente se extrae con acetato de etilo y se recristaliza en etanol obteniéndose 743mg (71%) del terbutil-4-[(5-nitro-1-benzotiofen-2-il) carbonil] piperazin-1-carboxilato **19** puro.

pf: 170-171° C. IR  $v_{\max}$ : 1704 (NCOO-ter-Bu), 1612 (NC=O), 1532 (NO<sub>2</sub>), 1347 (NO<sub>2</sub>) (cm<sup>-1</sup>). <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ : 1.41 (s,9H,(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>-), 3.44 (bs,4H, 2'-H y 6'-H), 3.33 (bs, 4H, 3'-H y 5'-H), 7.98 (s,1H, 3-H), 8.23 (bd, 1H, 6-H, J = 9.0 Hz), 8.30 (d, 1H, 7-H, J= 9.0 Hz), 8.84 (s,1H, 4-H). <sup>13</sup>C-RMN (75MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  27.0 (3C), 42.0 (2C), 46.2 (2C), 78.2, 118.7, 119.5,122.9, 125.3, 137.5, 139.3, 144.2, 144.3, 152.7, 160.8. HRMS (IE) calculado para C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S, 391.12019, encontrado: 391.12002.

**1-[(5-Nitro-1-benzo[*b*]tiofen-2-il-) carbonil] piperazina (20).**<sup>42</sup>

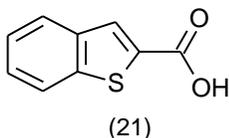
Se disuelven 400 mg (1.37 mmoles) del terbutil-4-[(5-nitro-1-benzotiofen-2-il) carbonil] piperazin-1-carboxilato **19**, se solubilizan en 20 mL de THF y luego se adicionan 20 mL de etanol agitándose a temperatura ambiente hasta obtener una solución transparente, luego se adicionan 6 mL de HCl conc. (12N) y se agita a

temperatura ambiente por 12 horas. La solución es llevada a pH 8 con una solución de NaOH acuoso, para luego ser extraído en acetato de etilo.

Posteriormente el producto es purificado por cromatografía en columna en gel de sílice utilizando como fase móvil  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :  $\text{CH}_3\text{OH}$  =1:1, obteniéndose 200 mg de *terbutil-4-[(5-nitro-1-benzotiofen-2-il) carbonil] piperazin-1-carboxilato 19* sin hidrolizar (el enlace N-carbámico), y 190 mg (63.9%) de *1-[(5-nitro-1-benzo[b]tiofen-2-il) carbonil] piperazina 20* respectivamente. La primera fracción obtenida por la columna cromatográfica corresponde a *terbutil-4-[(5-nitro-1-benzotiofen-2-il) carbonil] piperazin-1-carboxilato 19* sin hidrolizar (el enlace N-carbámico), el cual puede ser recolectado nuevamente e hidrolizado tal como se acaba de indicar.

pf: 172-173 °C. IR  $\nu_{\text{max}}$ : 3300 (N-H), 1626(NC=O), 1513 ( $\text{NO}_2$ ), 1344 ( $\text{NO}_2$ ) ( $\text{cm}^{-1}$ ).  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz, DMSO-d6)  $\delta$ : 2.74 (bs, 4H, 3'-H y 5'-H), 3.31 (s.ancho, 1H, NH), 3.59 (bs, 4H, 2'-H y 6'-H), 7.96 (s, 1H, 3-H), 8.23 (bd, 1H, 6-H, J= 9.0 Hz), 8.31 (d, 1H, 7-H, J= 9.1 Hz), 8.86 (s, 1H, 4-H).  $^{13}\text{C}$ -RMN (75MHz, DMSO-d6):  $\delta$  44.8 (2C), 53.5 (2C), 118.6, 119.5, 122.9, 124.8, 137.6, 139.7, 144.1, 144.2, 160.4. HRMS (IE) calculado para  $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$ , 291.06776, encontrado: 291,06699.

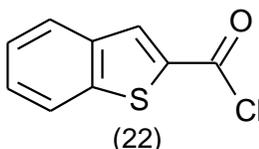
#### Ácido-benzo[b]tiofen-2-carboxílico (21).



Se disuelven a temperatura ambiente 800 mg (4.17 mmoles) de benzotiofenéster **11**, en 80 mL  $\text{CH}_3\text{OH}$ , luego se adiciona una mezcla de 8.0g (0.2 moles) de NaOH solubilizado en 20 mL de agua, se agita a 40° C por tres horas se adicionan luego 20 mL de agua hasta obtener solución transparente. Se acidifica con ácido clorhídrico diluido hasta pH 3-4. Posteriormente se extrae en acetato de etilo y se concentra. Luego el crudo es purificado por cromatografía de columna en gel de sílice ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :Metanol=1:1 como eluyente) obteniéndose 739 mg (99.6%) del benzotiofen ácido **21**. pf: 224-225° C. IR  $\nu_{\text{max}}$ : 3220-2574 (O-H), 1664 (COOH), 1520(C=C).  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz, DMSO-d6)  $\delta$ : 3.50 (s, 1H, COOH + agua), 7.38-7.46 (m, 2H, 5-H y 6-H), 7.94 (d, 1H, 4-H o 7-H, J= 7.6 Hz), 7.98 (d, 1H, 7-H o 4-H, J= 8.0

Hz), 8.10 (s,1H,3-H).  $^{13}\text{C}$ -RMN (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 123.4, 125.5, 126.2, 127.5, 130.7, 135.2, 139.2, 141.8, 164.0 HRMS (IE) calculado para  $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_2\text{S}$ : 178.00885, encontrado: 178.00877.

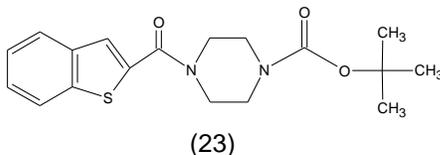
#### Cloruro de-1-benzo[*b*]tiofen-2-carbonilo (**22**).



Una solución de ácido-benzo[*b*]tiofen-2-carboxílico **21** (600 mg, 3.37 mmoles) en cloruro de tionilo (50 mL), es calentada a reflujo durante 4 horas. Una vez terminada la reacción, la mezcla se concentra con evaporación rotatoria obteniéndose 662 mg (3.37 mmoles) de un sólido pardo-amarillento (rendimiento cuantitativo) que corresponderá al haluro de ácido **22**.

Pf: 76-77° C. IR  $\nu_{\text{max}}$ : 1744(COCl), 1509 and 1497 (C=C).  $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H}$ -NMR (DMSO- $d_6$ ): 7.39 (t,1H, 5-H or 6-H, J = 7.2 Hz), 7.44 (t,1H, 6-H or 5-H, J = 7.2 Hz), 7.94 (d,1H, 4-H or 7-H, J = 8.0 Hz), 7.97 (d,1H, 7-H or 4-H, J= 8.0 Hz), 8.1 (s,1H, 3-H).  $^{13}\text{C}$ -NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 123.4, 125.5, 126.2, 127.4, 130.6, 135.2, 139.2, 141.8,163.9. HRMS (IE) calculado para  $\text{C}_9\text{H}_5\text{ClOS}$ : 195.97496, encontrado: 195.97458.

#### Terbutil 4(1-benzo[*b*]tiofen-2-carbonil) piperazin-1-carboxilato (**23**).<sup>42</sup>

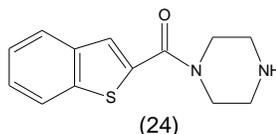


Se disuelven en atmósfera inerte ( $\text{N}_2$ ) y a temperatura ambiente 662 mg (3.37 mmoles) del benzotiofen haluro de ácido **22**, en 25 mL de THF anhidro, y paralelamente se disuelven 627 mg (3.37 mmoles) de ter-Butil-1-piperazincarboxilato y 0.46 mL (340 mg 3.37 mmoles) de trimetil amina seca en 25 mL de THF anhidro. Se adiciona lentamente, en un ambiente de  $\text{N}_2$  gaseoso y en baño de hielo, el haluro de ácido sobre la solución de N-boc-piperazina, agitándose a temperatura ambiente por 6

horas. Se extrae con acetato de etilo, y se recristaliza en etanol obteniéndose 851mg (73%) de producto **23** puro.

Pf:140-141°C.(EtOH) IR  $\nu_{\max}$  : 1689 (NCOOR), 1618 (NCO).  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  :1.37 (s,9H,(-CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 3.38 (broad s. 4H, -CH<sub>2</sub>-Piper-NCO), 3.62 (broad s., 4H,-CH<sub>2</sub>-Piper -NCOO.), 7.36-7.43 (m, 2H, 4-H, 7-H), 7.70 (s,1H,3-H), 7.86 (m,1H, 5H or 6-H), 7.97 (m,1H, 6H or 5-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 28.1(3C), 43.6(2C), 45.8(2C), 80.0, 123.0, 125.4, 126.4, 126.6, 137.1, 138.1, 139.1, 140.1, 154.2, 163.1. HRMS (IE) calculated for C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S, M<sup>+</sup> : 346.13511, Found : 346.13245.

### 1-(1-benzo[*b*]tiofen-2-il-carbonil) piperazina (**24**).<sup>42</sup>

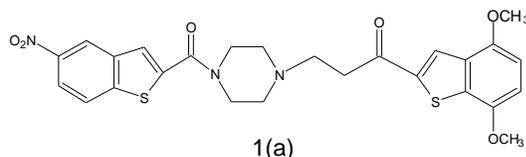


Se solubilizan 400 mg (1.26 mmoles) de terbutil 4(1-benzo[*b*]tiofen-2-carbonil) piperazin-1-carboxilato **23** en 20mL de THF y luego se adicionan 20 mL de etanol agitándose a temperatura ambiente hasta obtener solución transparente, luego se adiciona 6mL de HCl concentrado (12N) y se agita a temperatura ambiente por 12 horas. La solución es llevada a pH 8 con una solución de NaOH acuoso, para luego ser extraído en acetato de etilo.

Posteriormente el producto es purificado por cromatografía en columna en gel de sílice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: CH<sub>3</sub>OH =1:1 como eluyente) obteniéndose 205 mg de terbutil 4-(1-benzo[*b*]tiofen-2-carbonil)-piperazin-1-carboxilato **23** sin hidrolizar (el enlace N-carbámico), y 190 mg (0.77 mmoles, 61%) de 1-(1-benzo[*b*]tiofen-2-ilcarbonil) piperazina **24** respectivamente. La primera fracción obtenida por la columna cromatográfica corresponderá a terbutil 4-(1-benzo[*b*]tiofen-2-carbonil) piperazin-1-carboxilato **23** sin hidrolizar (el enlace N-carbámico), el cual puede ser recolectado y nuevamente hidrolizado tal como se acaba de indicar.

pf: líquido viscoso. IR  $\nu_{\max}$ : 3475 (N-H), 1620 (NHCO) cm<sup>-1</sup>.  $^1\text{H-RMN}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 1.98 (s,1H,NH), 2.75 (s.ancho, 4H, -CH<sub>2</sub>-Pip), 3.60 (s.ancho, 4H, -CH<sub>2</sub>-Pip-CO), 7.44 (m,2H, 4H y 7-H), 7.70 (s,1H, 3-H), 7.91 (m,1H, 5-H o 6-H), 8.00 (m,1H, 6-H o 5-H).  $^{13}\text{C-RMN}$   $\delta$ : 44.5 (2C), 48.5 (2C), 122.5, 124.9 (2C), 125.1, 125.8, 137.0, 138.6, 139.2, 162.4, HRMS (IE) calculado para C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>OS: 246.08268, encontrado : 246.08060.

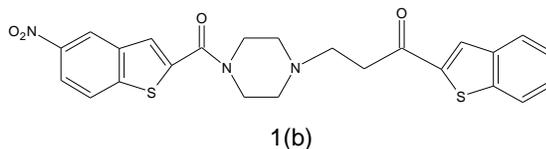
**1-(4,7-Dimetoxi-benzo[*b*]tiofen-2-il)-3-[4-(5-nitrobenzo benzo[*b*]tiofeno-2-carbonil)-piperazin-1-il]-1-propanona (1(a)).**



A una solución de 1-(4,7-Dimetoxi benzo[*b*]tiofen-2-il)-2-propen-1-ona **10** (253 mg, 1.02mmol) y 1-[(5-nitro-1-benzo[*b*]tiofen-2-il)- carbonil] piperazina **20** (300mg ,1.03 mmol), disuelta en diclorometano (20 mL) se le añade una mezcla de SiO<sub>2</sub>-MnO<sub>2</sub> (5.0g. 4:1) como soporte inorgánico, la mezcla es homogenizada en diclorometano y agitada vigorosamente por 15 minutos a temperatura ambiente. El solvente es eliminado por evaporación rotatoria hasta obtener una mezcla sólida libre de solvente. La mezcla es irradiada por microondas a 600 W por 6 minutos, hasta observar por TLC la desaparición del producto de partida. El sólido luego es lavado y filtrado con tres partes 3 x 50 mL THF tibio, obteniéndose 403mg (73%) como producto crudo. Luego se purifica por cromatografía en columna (AcOEt:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 4:1) para luego ser recristalizado en THF obteniéndose 353 mg, (64%) de **1(a)**.

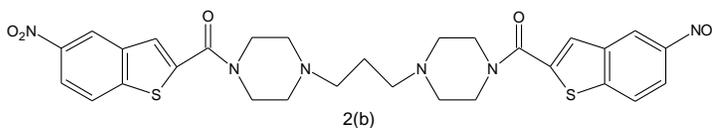
pf. 163-164 °C. IR  $\nu_{\max}$  : 3032 (Ar C-H), 1676 (C=O), 1623 (NC=O),1524 (NO<sub>2</sub>),1340 (NO<sub>2</sub>). <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz,CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 2.60 (bs, 4H, Piper. 3"-H y 5"-H ), 2.93 (t, 2H, 3"-H, J= 7.0 Hz), 3.22 (t, 2H, 2"-H, J= 7.0 Hz), 3.77 (bs,4H, Piper. 2"-H and 6"-H), 3.92 (s, 3H, Ar-OMe,C-7 o C-4), 3.93 (s, 3H, Ar-OMe,C-4 o C-7), 6.66 (d,1H,5-H, J= 8.5 Hz), 6.77 (d,1H,6-H, J= 8.5 Hz), 7.58 (s,1H,3-H), 7.98 (d,1H, 7'-H, J=8.91 Hz), 8.10 (s,1H, 3'-H), 8.22 (dd,1H,6'-H, Jo =8.91, Jm =2.2 Hz), 8.68 (d,1H,4'-H, J=2.1Hz). <sup>13</sup>C-RMN (75MHz,CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  36.5, 46.3(2C), 53.2 (3C), 55.7, 56.0, 104.6, 117.4, 119.9, 120.2, 123.1, 125.2, 126.5, 131.3, 133.2, 138.3, 140.5,142.7, 145.6, 145.7, 148.5, 150.6, 162.4, 193.0. HRMS (EI) calculado para C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub> 539.11848, encontrado : 539.11513.

**1-Benzo[*b*]tiofen-2-il-3-[4-(5-nitrobenzo-benzo[*b*]tiofen-2-carbonil)-piperazin-1-il]-1-propanona (1(b)).**



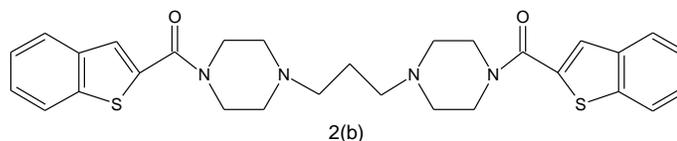
A una solución de 1-(benzo[*b*]tiofen-2-il)-2-propen-1-ona **15** (60 mg, 0.32mmol) y 1-[(5-nitro-1-benzo[*b*]tiofen-2-il) carbonil] piperazina **20** (93mg, 0.32mmol), disuelta en diclorometano (20 mL) se le añade una mezcla de SiO<sub>2</sub>-MnO<sub>2</sub> (5.0g. 4:1) como soporte inorgánico, la mezcla es homogeneizada en diclorometano y agitada vigorosamente por 15 minutos a temperatura ambiente. El solvente es eliminado con evaporación rotatoria hasta obtener una mezcla sólida libre de solvente. La mezcla es irradiada por microondas a 600 W por 6 minutos, hasta observar por TLC la desaparición del producto de partida. El sólido luego es lavado y filtrado con tres partes 3 x 50 mL THF a 30° C, obteniéndose 130mg (85%) de **1(b)** como producto crudo. Purificándose por cromatografía en columna (AcOEt:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 4:1) para luego ser recristalizado en THF obteniéndose 114 mg (75%) del producto **1(b)**. pf: 160-161° C (THF). IR  $\nu_{\max}$ : 3030 (Ar C-H), 1660 (C=O), 1612 (NC=O), 1526 (NO<sub>2</sub>), 1350 (NO<sub>2</sub>). <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  : 2.62 (bs, 4H, Piper. 3''-H y 5''-H ), 2.96 (t, 2H, 3'''-H, J= 7.0 Hz), 3.24 (t, 2H, 2''-H, J= 7.0 Hz), 3.76 (bs, 4H, Piper. 2''-H y 6''-H), 7.39-7.49 (m, 2H, 4-H y 7-H), 7.59 (s, 1H, 3-H), 7.89 (t, 2H, 5-H y 6-H, J = 7.1 Hz), 7.97 (d, 1H, 7'-H, J=9.0 Hz), 8.0 (s, 1H, 3'-H), 8.25 (dd, 1H, 6'-H, J<sub>o</sub> =8.91, J<sub>m</sub> =2.1 Hz), 8.71(d, 1H, 4'-H, J=1.9Hz). <sup>13</sup>C-RMN (75MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  36.7, 46.3 (2C), 53.1(3C), 120.1, 120.3, 123.1, 123.3, 125.3, 125.3, 126.1, 127.8, 129.2, 138.5, 139.2, 140.7, 142.6, 143.6, 145.8, 146, 163.6, 193.2. HRMS (EI) calculado para C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub> 479.09735 , encontrado: 479.09803.

**(4-{3-[4-(5-Nitro-benzo [*b*] tiofén-2-carbonil)-piperazin-1-il]-propil}-piperazin-1-il)-(5-nitro-benzo [*b*] tiofén-2-il)-metanona. (2(a).**



A una solución de 400 mg (1.37 mmoles) de 1-[(5-nitro-1-benzo[*b*]tiofen-2-il-) carbonil] piperazina **20**, 0.05 mL (80 mg, 0.51 mmoles) de 1-Bromo-3-cloropropano, 30 mL de acetonitrilo se le agrega 190 mg (1.37 mmoles) de carbonato de potasio y, se agita a 45° C por 12 horas. El producto obtenido se extrae con acetato de etilo, se concentra y se purifica por cromatografía de columna en gel de sílice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: CH<sub>3</sub>OH =3:1 como eluyente) obteniéndose 350 mg (77%) del homodímero **2(a)** y 107 mg de 1-(3-cloropropil)-4- [(5-nitro-1-benzotiofen-2-il) carbonil] piperazina **25**, la cual puede utilizarse para una nueva adición con 1-[(5-nitro-1-benzo[*b*]tiofen-2-il-) carbonil] piperazina **20**. pf: 96°-97°C. IR: 1623 (CO), 1599 (CO), 1533 (NO<sub>2</sub>), 1348 (NO<sub>2</sub>) cm<sup>-1</sup> <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>): 1.73(m,2H, -CH<sub>2</sub>-), 2.46 (t,4H,-CH<sub>2</sub>-,J=7.5 Hz), 2.54 (s.ancho, 8H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N), 3.80 (s.ancho,8H,-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N), 7.61(s,2H,3-H), 7.99 (d,2H, 7-H), 8.26(dd,2H, 6-H, J<sub>o</sub>= 8.9 ; J<sub>m</sub>=2.2 Hz), 8.72 (d,2H, 4-H, J<sub>m</sub>= 2.1 Hz). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>): 24.7, 43.5(2C), 47.4(2C), 53.7(4C), 56.8 (2C), 120.5(2C), 120.8(2C), 123.7(2C), 125.7(2C), 138.9(2C), 141.1(2C), 146.2(2C), 146.4(2C), 163.0 (2C). HRMS (EI) calculado para C<sub>29</sub>H<sub>30</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub> M<sup>+</sup>: 622.16682, encontrado: 622.16556.

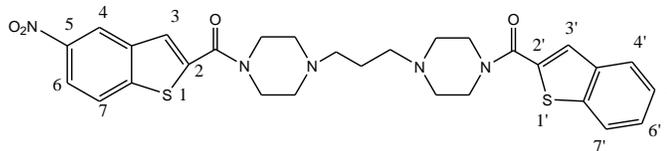
**4-{3-[4-(Benzo [*b*] tiofén-2-carbonil)-piperazin-1-il]-propil}-piperazin-1-il)-benzo [*b*] tiofén-2-il-metanona. (2(b))**



Se disuelven 400 mg (1.63 mmoles) de 1-(1-benzo[*b*]tiofen-2-il-carbonil) piperazina **24**, 0.05 mL 80 mg (0.51 mmoles) de 1-Bromo-3-cloropropano en 30 mL de acetonitrilo y se agrega 224 mg (1.63 mmoles) de carbonato de potasio, se agita a 45° C por 12 horas. El producto obtenido se extrae con acetato de etilo, se concentra y se purifica por cromatografía de columna en gel de sílice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: CH<sub>3</sub>OH = 3:1 como eluyente) obteniéndose 366 mg (78%) del homodímero **2(b)** y 102 mg de 1-(1-benzotiofen-2-il-carbonil)-4-(3-cloropropil) piperazina **26**, la cual puede utilizarse para una nueva adición con 1-(1-benzo[*b*]tiofen-2-il-carbonil) piperazina **24**. pf: 52-53° C. IR : 3056 (C-H Arom), 1621 (CO),1523 (C=C arom.). <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>): 1.59 (2H,m,-CH<sub>2</sub>-

), 2.31 (t,4H,-CH<sub>2</sub>-,J=7.4 Hz), 2.38 (s.ancho, 8H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N), 3.67 (s.ancho,8H,-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N), 7.25-7.29 (m,4H, 4-H y 7-H), 7.36(s,2H,3-H), 7.68 - 7.74 (m,4H, 5-H y 6-H). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>) :23.0, 42.9(2C) , 46.3(2C), 52.1 (4C), 55.2(2C), 121.3, (2C),123.6 (2C), 123.8 (2C), 124.1 (2C),124.7(2C), 135.6 (2C), 137.6(2C), 139.0(2C), 162.6 (2C). HRMS (EI) calculado para C<sub>29</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub> M<sup>+</sup> : 532.19667. encontrado 532.19414.

**(4-{3-[4-(Benzo [b] tiofén-2-carbonil)-piperazin-1-il]-propil}-piperazin-1-il)-(5-nitrobenzo [b] tiofén-2-il)-metanona. 2(c).**

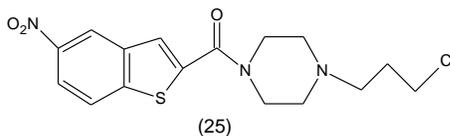


2(c)

pf: 53-54<sup>o</sup> C. IR  $\nu_{\max}$ : 1621(CO),1529 (NO<sub>2</sub>asim.),1344 (NO<sub>2</sub>sim.)cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>): 1.64(m,2H,-CH<sub>2</sub>-), 2.37 (t,4H,-CH<sub>2</sub>-,J= 6.0 Hz), 2.43 (s.ancho, 8H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N), 3.71 (s.ancho,8H,-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N), 7.30-7.33 (m,2H, 4-H' y 7-H'), 7.39(s,1H,3-H), 7.52 (s,1H,3-H'), 7.71-7.78 (m,2H, 5-H' y 6-H'), 7.88 (d,1H,7-H, J<sub>o</sub>= 8.9 Hz), 8.21 (dd,1H, 6-H, J<sub>o</sub>=8.9 Hz, J<sub>m</sub>=2.2 Hz), 8.62 (d,1H, 4-H, J<sub>m</sub>=2.1 Hz). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>) : 23.6, 42.2 (2C), 46.7(2C), 52.6(4C), 55.7(2C), 119.4, 119.6, 121.8,122.6,124.0, 124.3,124.6 (2C), 125.2, 140.0, 137.8, 138.0, 139.6, 140.1, 145.1, 145.3, 161.8, 163.2. HRMS (EI) calculado para C<sub>29</sub>H<sub>31</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub> M<sup>+</sup> : 577.18174. encontrado 577.18077.

**Método 1:**

**Formación de 1-(3-cloropropil)-4-[(5-nitro-1-benzotiofen-2-il)-carbonil]-piperazina. (25).**<sup>44-45-46</sup>



Se disuelven 400 mg (1.37 mmoles) de 1-[(5-nitro-1-benzo[b]tiofen-2-il)-carbonil] piperazina **20**, 1 mL (1600 mg, 10.16 mmoles) de 1-Bromo-3-cloropropano en 50 mL de acetonitrilo y se agrega 300 mg (2.17 mmoles) de carbonato de potasio, se agita a temperatura ambiente por 72 horas. El producto obtenido se extrae con

acetato de etilo, se concentra y se purifica por cromatografía de columna en gel de sílice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: CH<sub>3</sub>OH=3:1 como eluyente) obteniéndose 453 mg (90%) de 1-(3-cloropropil)-4- [(5-nitro-1-benzotiofen-2-il) carbonil] piperazina **25** y 50.1 mg (0.08 mmoles) del homodímero dinitrado **2(a)**.

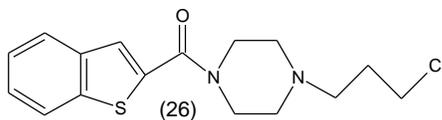
pf: 46-47° C IR: 1625 (CO), 1531(NO<sub>2</sub>) y 1345 (NO<sub>2</sub>)cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) : 1.98 (q,2H, -CH<sub>2</sub>-, J=6.8 Hz), 2.54-2.60 (m,6H, -CH<sub>2</sub>-N- y (-CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N-Pip), 3.63 (t,2H,-CH<sub>2</sub>-Cl, J= 6.4 Hz), 3.80 (singlete ancho, 4H, (-CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-NCO), 7.61 (s,1H,3-H), 7.99( d,1H, 7-H, Jo=8.9 Hz), 8.25 (dd,1H, 6-H, Jo=8.9 Hz y Jm=2.2 Hz), 8.72 (d,1H, 4-H, Jm=1.5Hz). HRMS (EI) calculado para C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S M<sup>+</sup> : 367.07557 encontrado 367.07404

Posteriormente se disuelven los 453 mg (1.23 mmoles) de 1-(3-cloropropil)-4- [(5-nitro-1-benzotiofen-2-il)-carbonil]-piperazina **25** obtenidos en el paso anterior, 367 mg (1.49 mmoles) de 1-(1-benzo[*b*]tiofen-2-il-carbonil)-piperazina **24** en 30 mL de acetonitrilo, se agrega 206 mg (1.49 mmoles) de carbonato de potasio y se agita a 45° C por 12 horas. El producto obtenido se extrae con acetato de etilo, se concentra con evaporación rotatoria y se purifica por cromatografía de columna en gel de sílice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: CH<sub>3</sub>OH = 3:1 como eluyente) obteniéndose 812 mg (99.0%) del homodímero asimétrico **2(c)**.

### Método 2:

#### **Formación de 1-(1-benzotiofen-2-il-carbonil)-4-(3-cloropropil)-piperazina (26).**<sup>44-45-</sup>

46



Se disuelven 400 mg (1.63 mmoles) de 1-(1-benzo[*b*]tiofen-2-il-carbonil) piperazina **24**, 1 mL (1600 mg, 10.16 mmoles) de 1-bromo-3-cloropropano en 50 mL de acetonitrilo y se agrega 300 mg (2.17 mmoles) de carbonato de potasio, se agita a temperatura ambiente por 72 horas. El producto obtenido se extrae con acetato de etilo, se concentra y se purifica por cromatografía de columna en gel de sílice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH = 3:1 como eluyente) obteniéndose 482.3 mg (92%) de 1-(1-

benzotiofen-2-il-carbonil)-4-(3-cloropropil) piperazina **26** y 42 mg del homodímero **2(b)**. Líquido pardo viscoso. IR: 2919-2814 (C-H alifático), 1625 (CO), 1524(C=C)  $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ): 1.84 (m,2H,- $\text{CH}_2$ -), 2.37-2.45(m,6H, - $\text{CH}_2$ - y  $-(\text{CH}_2)_2\text{-N-}$ ), 3.51 (t,2H, - $\text{CH}_2\text{-Cl}$ ,  $J=6.5$  Hz), 3.65 (4H,  $-(\text{CH}_2)_2\text{-NCO}$ ), 7.25-7.31 (m,2H, 4-H y 7-H), 7.37(s,1H,3-H), 7.68-7.76 (m,2H, 5-H y 6-H).  $^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ): 29.1, 31.2, 42.4, 46.9, 52.6(2C), 54.5, 121.9, 123.9, 124.2, 124.6, 125.2, 136.0, 138.0, 139.5, 163.1. HRMS (EI) calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{ClN}_2\text{OS}$   $\text{M}^+$ : 322.09066. encontrado 322.09044.

Posteriormente se disuelven los 482.3 mg (1.49 mmoles) de 1-(1-benzotiofen-2-il-carbonil)-4-(3-cloropropil) piperazina **26** obtenidos en el paso anterior, 206 mg (1.49 mmoles) de carbonato de potasio y 433.6 mg (1.49 mmoles) de 1-[(5-nitro-1-benzo[*b*]tiofen-2-il-) carbonil] piperazina **20** en 30 mL de acetonitrilo, se agita a  $45^\circ\text{C}$  por 12 horas. El producto obtenido se extrae con acetato de etilo, se concentra por evaporación rotatoria y se purifica por cromatografía de columna en gel de sílice ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :  $\text{CH}_3\text{OH}$  = 3:1 como eluyente) obteniéndose 910 mg (99%) del homodímero asimétrico **2(c)**.

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN:**

En relación a lo expuesto en la sección anterior, y considerando que nuestro objetivo central está vinculado a la obtención de compuestos heterocíclicos con potencial actividad sobre los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, nos propusimos abordar la síntesis de nuevos homo y hétero bis-ligandos de benzotiofén-alkil piperazinas representadas por las familias 1 y 2. (Fig.10)

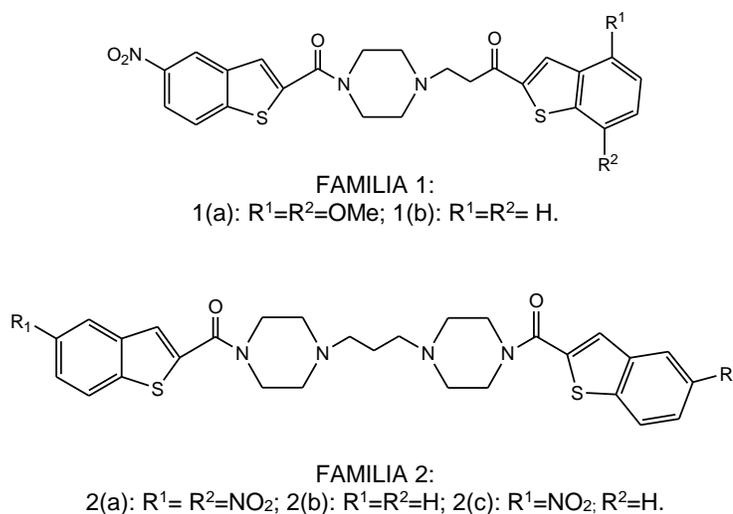


Figura 14

**Estudios de Docking:**

Se efectuaron estudios de modelación molecular y docking dirigidos por el Dr. Gerald Zapata Torres que fundamentaron teóricamente nuestro estudio sintético. El modelo homólogo del receptor 5-HT<sub>1A</sub> fue construido usando el alineamiento secuencial helicoidal de las porciones de 5-HT<sub>1A</sub> en un modelo de cristalografía en rayos X de rodopsina de bovino según la numeración de Ballesteros-Weinstein (código PDB=1HZX), (PDB = Protein Data Bank) como templado estructural. Los ligandos estudiados fueron validados con estudios de docking en moléculas de afinidad conocida (serotonina y el producto comercial Vilazodona) realizados con el programa AUTODOCK 4.0. En tal estudio se apreció interacciones entre el Asp116 y la piperazina protonada (pH 7,4), Phe112, Phe 361, Phe 370, Ala 379 y Asp 385 con zonas aromáticas. Tales interacciones reforzarían el complejo ligando receptor.<sup>39</sup>

**Síntesis familia 1:**

La estrategia utilizada para la obtención de la Familia 1, se representa en la siguiente desconexión retrosintética:

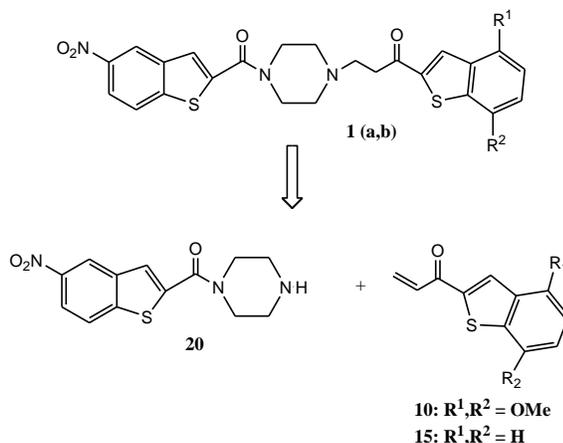


Figura 15

En relación al esquema planteado, la familia **1** se estructurará básicamente por reacción de la 5-nitrobenzotiofén-carbonil-piperazina **20** sobre las enonas **10** y **15** en adición de Michael 1,4.

**Síntesis de la 5-nitro-benzotiofén-carbonil-piperazina 20.**

La estrategia sintética para la obtención de la nitrobenzotiofén-carbonil-piperazina **20** se basó asimismo en la siguiente desconexión retrosintética: <sup>42</sup>

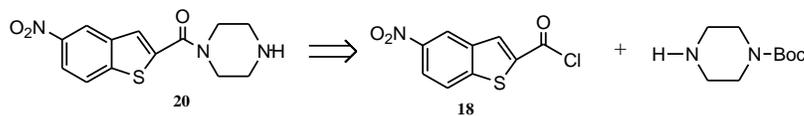
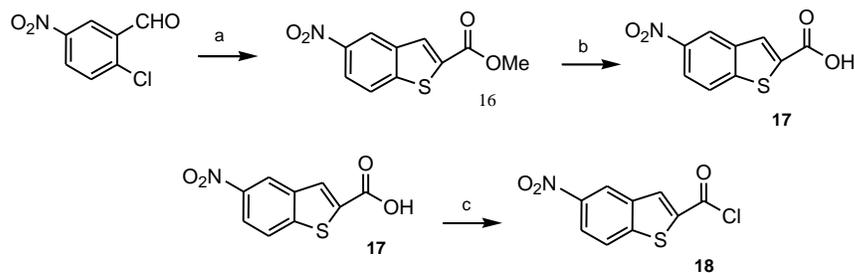


Figura 16

Esta segunda desconexión nos conduce a la reacción entre un derivado de ácido de benzotiofeno y N-Boc-piperazina. La obtención del derivado benzotiofénico se llevó a cabo a través de la secuencia sintética siguiente:

Por reacción del producto comercial 2-cloro-5-nitrobenzaldehído con tioglicolato de metilo se obtuvo el 5-nitrobenzotiofén éster **14** en un 75% como un sólido pardo-amarillento, su espectro de <sup>1</sup>H- RMN presentaba un singulete a δ: 3.99 ppm para el grupo metoxilo y señales aromáticas a δ: 8.19, 8.31 y 8.78 ppm para los hidrógenos del

anillo benzotiofénico (3-H, 6-H, 4-H) respectivamente en  $^{13}\text{C}$ -RMN se observó entre otras señales una señal a  $\delta$ : 162.3 ppm asignable al carbono carbonílico.



**Reactivos:** a)  $\text{HSCH}_2\text{COOMe} / \text{K}_2\text{CO}_3 / \text{N,N-DMF} / 70^\circ\text{C}$  b)  $\text{KOH} / \text{MeOH}, \text{H}_3\text{O}^+$ , c)  $\text{SOCl}_2$  reflujo.  
Figura 17

El mecanismo de esta reacción se conduciría probablemente a través de una sustitución nucleofílica aromática del anión tioglicolato, generando un intermediario que se estabilizaría por un ataque intramolecular al aldehído aromático en una reacción aldólica catalizada por una base, según el esquema planteado (Figura 14). El producto fue purificado por cromatografía en columna eluída en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

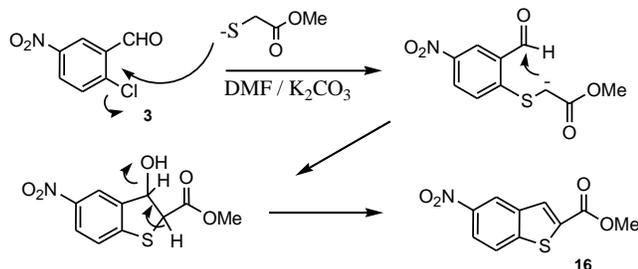


Figura 18

No obstante no es posible descartar una reacción vía mecanismo radicalario, dada la facilidad del azufre de participar en esta calidad. El segundo paso contempla la hidrólisis de **16** al correspondiente ácido carboxílico **17**, llevada a cabo en medio básico a temperatura ambiente según se indica a continuación:

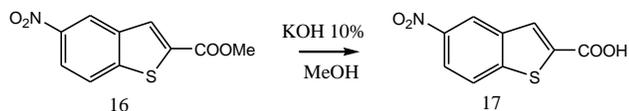


Figura 19

El ácido **17** fue caracterizado básicamente por espectroscopia de H-RMN, desapareciendo el singulete a  $\delta$ : 3.99 ppm y aparece una señal ancha a  $\delta$ : 4.98 ppm

para el protón ácido, en espectroscopia Infrarroja se observa una señal ancha a 3610-3300  $\text{cm}^{-1}$  para la tensión O-H debido a un puente de hidrógeno intramolecular.

El ácido **17** fue tratado posteriormente con cloruro de tionilo a reflujo para dar el haluro de acilo **18** en rendimiento cuantitativo. Este producto descompone fácilmente en el tiempo y debe ser usado inmediatamente, no obstante fue posible medir una muestra en espectroscopia IR exhibiendo una banda fuerte a 1768  $\text{cm}^{-1}$  asignable al grupo carbonilo y que concuerda con el producto esperado.

Como reacción posterior y final de este objetivo, se efectuó la reacción entre el haluro de acilo **18** y la N-Boc piperazina de acuerdo a la Figura 7, obteniéndose la benzotiofén amida **19** como escamas blancas.

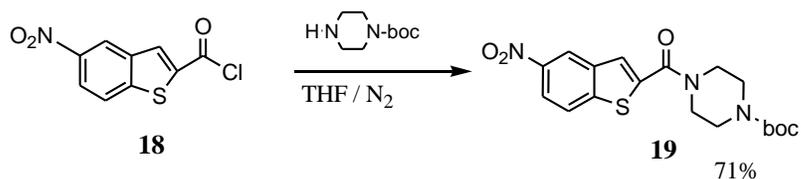


Figura 20

Este producto exhibió en  $^1\text{H}$ -RMN un singulete a  $\delta$ : 1.41 ppm que integra para 9H, además de las señales aromáticas características entre  $\delta$ : 7.98 y 8.84 ppm para los protones aromáticos. En IR se aprecian dos absorciones carbonílicas a 1704 y 1612  $\text{cm}^{-1}$  para el carbonilo carbámico y amídico respectivamente. En espectroscopia de  $^{13}\text{C}$ -RMN se aprecia una señal a  $\delta$ : 27.0 ppm para el grupo ter-butilo y dos señales carbonílicas a  $\delta$ : 152.7 y 168.0 ppm. El espectro de masas de alta resolución confirmó plenamente la estructura al detectarse un ión molecular a 391.12002, el teórico informa a: 391.12019.

La amida obtenida fue selectivamente hidrolizada en su porción N-Boc por tratamiento con HCl concentrado en THF / EtOH a temperatura ambiente por 24 horas para dar **20** en un 64%, se aprecia la desaparición del singulete a  $\delta$ : 1.41 ppm, asimismo en IR se observa una banda mediana para la tensión N-H aromático. <sup>42</sup>

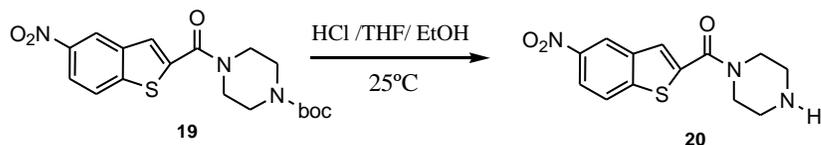


Figura 21

### Síntesis de las benzotiofén-propenonas **10** y **15**.

En este apartado abordaremos la síntesis de la porción aceptora de Michael (enona), conectada al anillo benzotiofénico caracterizadas por las estructuras **10** y **15**.

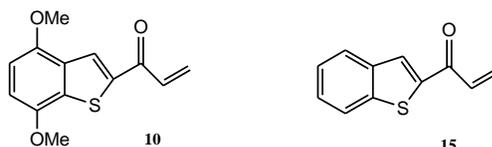


Figura 22

Al igual que en el caso anterior este compuesto puede ser desconectado en sus derivados aldehídicos y el correspondiente bromuro de vinil magnesio como reactivo de Grignard. Esta desconexión genera el correspondiente alcohol alílico, precursor de la especie oxidada **10** y **15**.

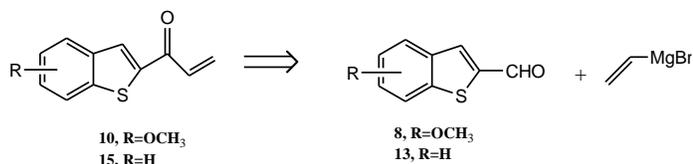
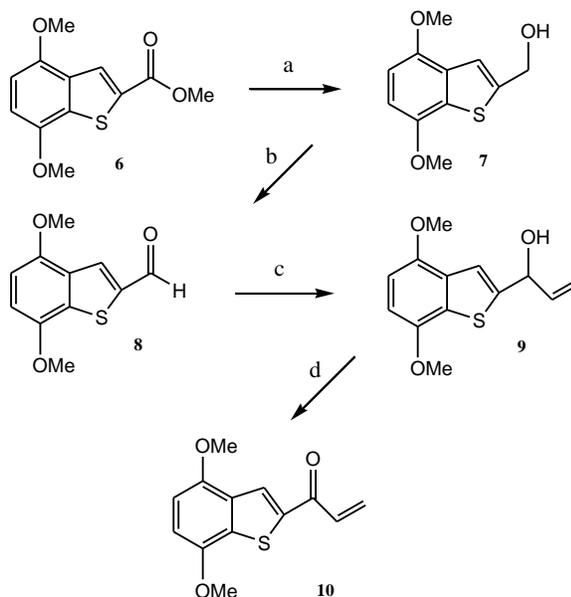


Figura 23

Se sintetizaron dos derivados benzotiofén propenonas **10** y **15**, la metodología es la misma, por lo que tomaremos como modelo, la estructura **10**.

Para acceder a los benzotiofén carboxaldehídos **8** y **13**, se utilizan los benzotiofén ésteres **6** y **11** como producto de partida. Para esto, el éster **6** se trata con  $\text{LiAlH}_4$  en medio inerte ( $\text{N}_2$ ) para dar el correspondiente alcohol primario **7** en un 86% de rendimiento este compuesto es un sólido blanco que exhibe al IR una banda ancha a  $3356\text{ cm}^{-1}$  (O-H), y banda  $1262\text{ cm}^{-1}$  (C-O). En  $^1\text{H-RMN}$  se aprecia un singulete a  $\delta$ : 4.87 ppm para la agrupación metilénica y una señal a  $\delta$ : 1.35 ppm para el grupo OH.



**Reactivos** : a)  $\text{LiAlH}_4/\text{THF}$  anhidro/ $\text{N}_2/40^\circ \text{C}$ ; b)  $\text{PCC}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; c) Bromuro de vinil magnesio/ $\text{THF}/\text{N}_2$ ; c)  $\text{MnO}_2/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

Figura 24

El alcohol **7** fue oxidado controladamente a su derivado aldehídico **8** por tratamiento con clorocromato de piridinio (PCC), con un rendimiento del 92% siendo recristalizado de etanol. Al análisis espectral IR exhibe una banda carbonílica a  $1667 \text{ cm}^{-1}$ , en  $^1\text{H-RMN}$  se visualiza un singulete a  $\delta$ : 9.98 ppm para el grupo aldehído, junto con su absorción a  $\delta$ : 184.6 ppm en  $^{13}\text{C-RMN}$ .

Con el aldehído **8** se ensayó su reactividad con bromuro de vinil magnesio bajo condiciones de temperatura ambiente y de reflujo, recuperándose los productos de partida.

Al estudiar esta reacción bajo condiciones de irradiación con microondas, esta tomó lugar en aproximadamente 6 minutos a 600 W, como se comprobó con cromatografía de capa fina. El producto resultante se hidroliza y el crudo se purifica por cromatografía de sílica gel en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  para dar el esperado alcohol alílico **9** en un 62%.

En el espectro de  $^1\text{H-RMN}$  se aprecian la desaparición del singulete a  $\delta$ : 9.98 ppm y la presencia de una nueva señal singulete a  $\delta$ : 6.65 ppm para los protones aromáticos de C-5 y C-6, y un multiplete de 7 señales para el hidrógeno vinílico de C-2' (Hc), una señal doblete a  $\delta$ : 5.28 ppm para el protón vinílico terminal de C-3'(H<sub>B</sub>) y un

multiplete para dos hidrógenos a  $\delta$ : 5.42-5.47 ppm asignables al protón metínico de C-1'(H<sub>D</sub>) y al segundo protón vinílico de C-3'(H<sub>A</sub>).

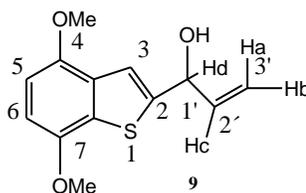


Figura 25

El posterior ensayo de oxidación con MnO<sub>2</sub> a temperatura ambiente genera la propenona **10** en un 58% como un sólido amarillo. Se aprecia en IR una banda a 1665 cm<sup>-1</sup> correspondiente a la tensión de un carbonilo conjugado, en <sup>1</sup>H-RMN exhibe entre otras bandas, un doble doblete a  $\delta$ : 5.92 para el protón H<sub>B</sub>, un doblete de doblete  $\delta$ : 6.55 ppm para el protón H<sub>A</sub>, un doblete de doblete a  $\delta$ : 7.23 ppm para H<sub>C</sub> y dos dobletes para los protones de C-5 y C-6.

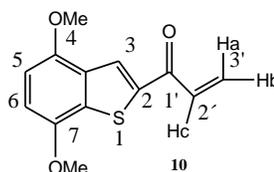
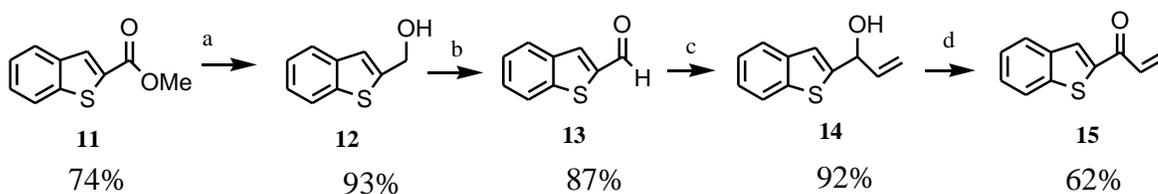


Figura 26

Con respecto al derivado **15**, se sintetizó considerando la misma secuencia de reacciones. El éster **11** utilizó como sustrato de partida para su formación el reactivo comercial 2-nitrobenzaldehído, obteniéndose en un 74%.



**Reactivos** :a) LiAlH<sub>4</sub> /THF anhidro/N<sub>2</sub>/40° C; b) PCC/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; c) Bromuro de vinil magnesio/THF/N<sub>2</sub>; c) MnO<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

Figura 27

**Síntesis de los heterodímeros .Familia 1. 1(a), 1(b).****Derivado 1(a):**

Disponiendo de la pareja donador-aceptor Michael, se ensayó su adición inicialmente bajo condiciones de reflujo, comprobándose que existían indicios de reacción entre los sustratos disueltos en diclorometano, hecho detectado por cromatografía en capa fina.

La reacción se llevó a término por irradiación con microondas en fase sólida, disolviendo ambos reactantes en una solución de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , a la que se agregó el soporte sólido constituido por una mezcla de  $\text{MnO}_2\text{-SiO}_2$ , (4:1) con posterior concentrado de la suspensión.

El residuo sólido se irradió a 600 W por 6 minutos tiempo después del cual se constató la completa desaparición del producto de partida, con la formación de un solo producto.

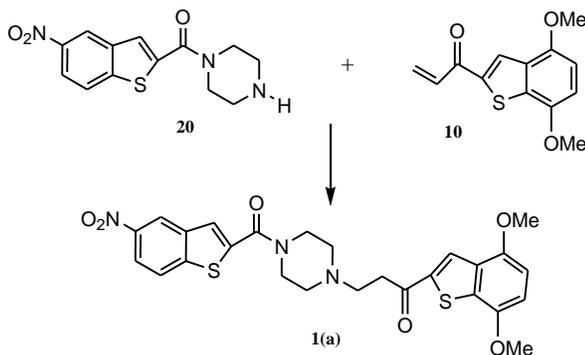


Figura 28

El compuesto obtenido fue filtrado y purificado por cromatografía en columna cromatográfica eluída en  $\text{AcOEt} / \text{CH}_2\text{Cl}_2$  (4:1), con posterior recristalización en THF. Este compuesto fue caracterizado por  $^1\text{H-RMN}$  exhibiendo entre otras bandas dos tripletes en  $\delta$ : 2.93 y  $\delta$ : 3.22 ppm para la cadena metilénica formada que sería lo esperado al conectar ambas porciones estructurales. En espectroscopia IR se observó la presencia de dos bandas carbonílicas a  $1676$  y  $1623\text{cm}^{-1}$  para las funciones cetoaromática y amida respectivamente. En  $^{13}\text{C-RMN}$  se detectaron asimismo las dos absorciones carbonílicas a  $\delta$ : 161.4 y 192.0 ppm. El espectro de masas de alta

resolución mostró un valor teórico de ion molecular de: 539.11848 y el experimental de 539.11513, confirmándose la estructura obtenida.

### Derivado 1(b):

Para la obtención del compuesto **1(b)**, se consideró la misma estrategia. La reacción se condujo por irradiación con microondas en fase sólida, disolviendo ambos reactantes en una solución de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , adicionándose el soporte sólido (mezcla de  $\text{MnO}_2\text{-SiO}_2$ ), (4:1) con posterior concentrado de la suspensión.

El residuo sólido se irradió al igual que en el caso anterior, a 600 W por 6 minutos tiempo después del cual se constató por cromatografía en capa fina, la completa desaparición del producto de partida, con la formación de un solo compuesto final.

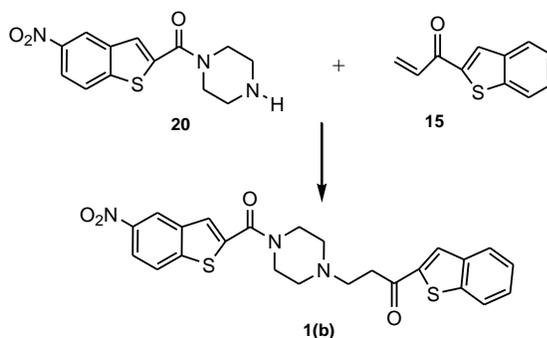


Figura 29

Este producto exhibió en IR absorciones carbonílicas a  $1659$  y  $1604\text{ cm}^{-1}$  para los carbonilos cetona y amida respectivamente. El espectro de  $^1\text{H-RMN}$  mostró dos señales triplete a  $\delta$ :  $2.96$  y  $3.24$  ppm características para la cadena conectora de etilo, el anillo piperazínico exhibió dos señales multipletes a  $\delta$ :  $2.96$  y  $3.24$  ppm. El espectro de  $^{13}\text{C-RMN}$  presentó las absorciones carbonílicas a  $\delta$ :  $162.4$  y  $193.0$  ppm. El espectro de masas de alta resolución mostró un ion molecular teórico de:  $479.09735$  y el experimental de  $479.09803$ , confirmándose la estructura obtenida.

### Síntesis familia 2:

La estrategia utilizada para la obtención de la Familia **2**, se llevó a cabo bajo dos procedimientos de desconexión, como se representa en los esquemas de desconexión retrosintéticos **17** y **18**.

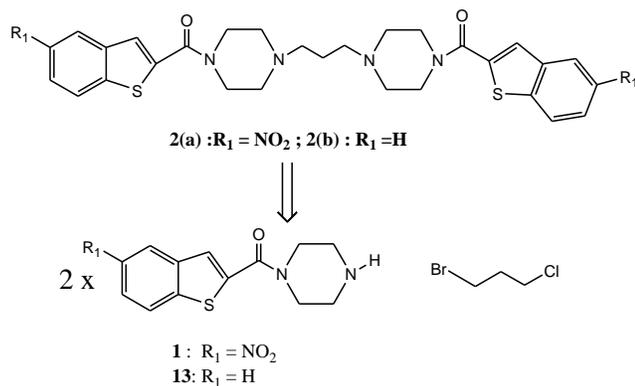


Figura 30

Los compuestos pertenecientes a las familias **2(a)** y **2(b)** fueron sintetizados a partir de un doble desplazamiento nucleofílico por parte de las benzotiofenamido piperazinas **20** y **24** sobre el 1-Bromo-3-cloropropano.<sup>44-45-46</sup>

Con respecto al compuesto **2(c)**, la estrategia empleada consistió en una desconexión similar, considerando ahora un proceso más controlado a través de la obtención y aislamiento de los productos de monosustitución **25** y **26**.

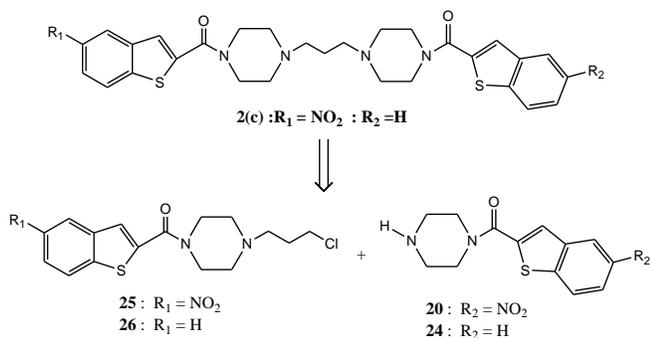
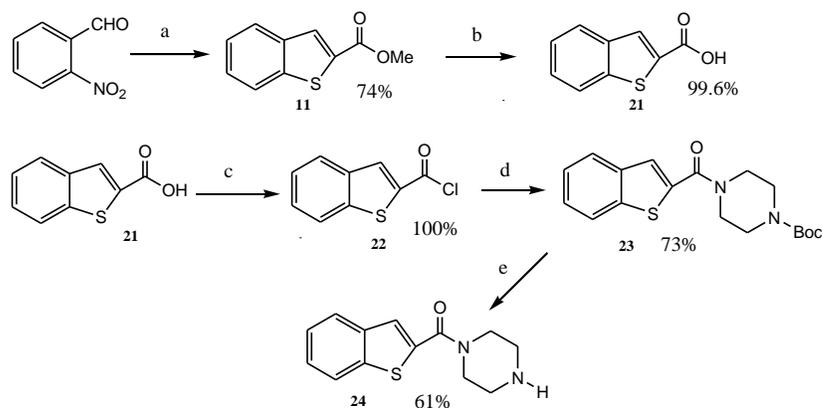


Figura 31

**Síntesis de las (4-{3-[4-(Benzo [b] tiofén-2-carbonil)-piperazin-1-il]-propil}-piperazin-1-il)-benzo [b] tiofén-2-il-metanonas (2-a y 2-b):**

Como se expuso anteriormente, estos productos requieren de la obtención de las correspondientes benzotiofencarbonil piperazinas **20** (Compuesto **2(a)**) y **24** (Compuesto **2(b)**).

Para la piperazina **20** ya fue descrita su obtención, en lo que respecta a la piperazina **24**, el procedimiento es el mismo, la diferencia está al comienzo en el cual el sustrato de partida es el producto comercial 2-nitro-benzaldehído. Figura 32.



Reactivos: a) Tioglicolato de metilo- $K_2CO_3$ -DMF /  $70^\circ C$ ; b) KOH-MeOH 10% p/v /  $25^\circ C$ , 3h.; c)  $SOCl_2$ -reflujo-3h. d) N-Boc-piperazina / THF /  $N_2$  / trietilamina anhidra. e) HCl (c) / EtOH / THF- $25^\circ C$ -12h.

Figura 32

**(4-{3-[4-(5-Nitro-benzo [b] tiofén-2-carbonil)-piperazin-1-il]-propil}-piperazin-1-il)-(5-nitro-benzo [b] tiofén-2-il)-metanona. (2(a)).**

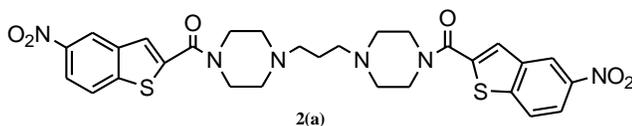


Figura 33

Como ensayo inicial se hizo reaccionar la 5-nitrobenzotiofencarbonil piperazina **20** con 1-Bromo-3-cloropropano a  $45^\circ C$  en  $CH_3CN$ , generándose en las primeras 3 horas el producto de monosustitución (**25**), que fue caracterizado por  $^1H$ -RMN exhibiendo a  $\delta$ : 1.98 ppm un quintuplete para el metileno central de la cadena alifática, un triplete a  $\delta$ : 3.63 ppm, un singulete ancho a  $\delta$ : 3.80 ppm para cuatro hidrógenos

piperazínicos, y un multiplete a  $\delta$ : 2.57 ppm responsable de las absorciones de 6 hidrógenos metilenos, cuatro piperazínicos y dos metilénicos.

Este compuesto al ser sometido a un 45° C en forma continua (12 horas) se transformó finalmente en el producto de bis-substitución **2(a)**. Esta reacción fue posteriormente repetida, adecuando las condiciones experimentales para la obtención exclusiva del bis-substituido.

El compuesto **2(a)** fue purificado por cromatografía en columna de silica gel  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  / MeOH (3:1) obteniéndose 76.5% de **2(a)** puro.

Este producto fue caracterizado por IR detectándose dos absorciones carbonílicas a 1623 y 1599  $\text{cm}^{-1}$  para los carbonilos amídicos probablemente por un problema de conformación. El grupo nitro exhibió dos bandas de absorción a 1533 (asim.) y 1348 (sim.)  $\text{cm}^{-1}$ .

En  $^1\text{H}$ -RMN se aprecian además de las señales aromáticas dos absorciones a  $\delta$ : 3.80 y 2.54 ppm para los hidrógenos piperazínicos y un triplete a  $\delta$ : 2.46 ppm para los dos grupos metilénicos equivalentes del dímero.

En  $^{13}\text{C}$ -RMN se apreció una señal a  $\delta$ : 162.0 ppm para los carbonilos amídicos químicamente equivalentes. En el espectro de masas de alta resolución se obtuvo un valor de ion molecular calculado ( $M^+$ ) de: 622.16682 que se aviene bien con el valor experimental encontrado de: 622.16556.

**(4-{3-[4-(Benzo [b] tiofén-2-carbonil)-piperazin-1-il]-propil}-piperazin-1-il)-benzo [b] tiofén-2-il-metanona. (2(b)).**

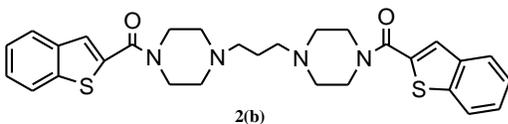


Figura 34

Respecto del homodímero **2(b)**, la reacción es análoga a la descrita para **2(a)**. Se hace reaccionar la benzotiofen carbonil piperazina **24** con 1-bromo-3-cloropropano a 45° C en  $\text{CH}_3\text{CN}$ , generándose en primeras 3 horas el producto de monosubstitución **26**. (Figura 35),

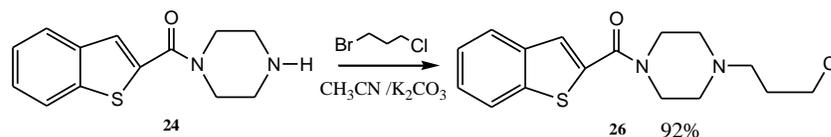


Figura 35

apreciándose en IR una fuerte absorción carbonílica a  $1625\text{ cm}^{-1}$  y un espectro de protones  $^1\text{H-RMN}$  con señales a  $\delta$ : 2.37 y 3.65 ppm para las señales de protones del anillo piperazínico, y un multiplete a  $\delta$ : 1.84 ppm para el grupo  $-\text{CH}_2-$  beta respecto al nitrógeno. La reacción se completa finalmente al producto disustituído **2(b)** luego de 12 horas de reacción.<sup>44-45-46</sup>

En  $^1\text{H-RMN}$  se destacan para **2(b)** las absorciones piperazínicas a  $\delta$ : 3.67 y 2.38 ppm, un triplete a  $\delta$ : 2.31 ppm y un multiplete a  $\delta$ : 1.59 ppm para la señal metilénica central de la cadena. En  $^{13}\text{C-RMN}$  se observa una señal a  $\delta$ : 162.6 ppm para los carbonilos amídicos equivalentes. En el espectro de masas de alta resolución se obtuvo un valor de ion molecular calculado ( $M^+$ ) de: 532.19667 y un valor experimental encontrado de: 532.19414.

#### Síntesis de la 4-{3-[4-(Benzo[*b*]tiofen-2-carbonil)-piperazin-1-il]-propil}-piperazin-1-il)-(5-nitro benzo[*b*]tiofen-2-il)-metanona. **2(c)**.

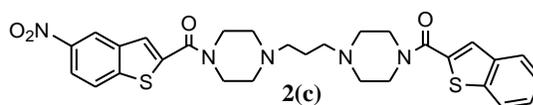


Figura 36

Esta estructura se sintetizó por dos rutas distintas:

**Método 1:** La obtención del hétero bis ligando **2(c)** considera la reacción entre la 3-cloropropil-5-nitro-benzotiofencarbonil piperazina **25** y la benzotiofen carbonil piperazina **24** ambos reactantes previamente descritos.

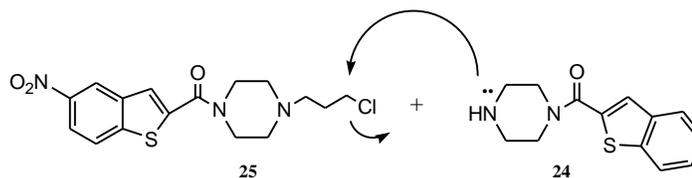


Figura 37

El producto final **2(c)** se obtuvo con un 90% y exhibió en IR una banda a 1621  $\text{cm}^{-1}$  para el grupo carbonilo y dos bandas a 1529 y 1344  $\text{cm}^{-1}$  para las absorciones del grupo nitro. En  $^1\text{H-RMN}$  se aprecia el patrón de absorciones aromáticas para los dos núcleos benzotiofénicos a  $\delta$ : 7.30-8.62 ppm, asimismo en la zona alifática se hallan las absorciones piperazínicas a  $\delta$ : 2.43 y 3.71 ppm un triplete a  $\delta$ : 2.37 ppm y un multiplete a  $\delta$ : 1.64 ppm.

El espectro de masas de alta resolución entregó los valores siguientes ion molecular calculado ( $M^+$ ): 577.18174 y un valor experimental de: 577.18077.

#### Método 2:

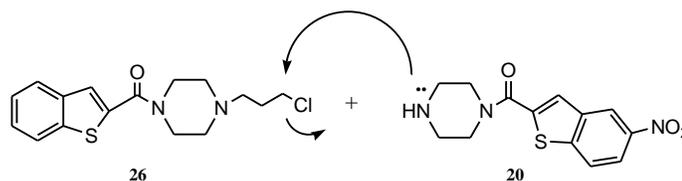


Figura 38

La obtención del hétero bis ligando **2(c)** fue de 92% y considera la reacción inversa entre la 3-cloropropil-benzotiofencarbonil piperazina **26** y la 5-nitro-benzotiofen carbonil piperazina **20** ambos reactantes previamente descritos.

Al comparar ambas estrategias de síntesis estas resultaron ser equivalentes en reactividad y rendimiento.

#### Resultados pruebas biológicas.

Los ensayos biológicos realizados tienen por objetivo medir la potencial afinidad de nuestros compuestos por el receptor serotoninérgico 5-HT<sub>1A</sub> presente en estructuras del SNC. El grado de afinidad molécula-receptor se determinara por la capacidad de nuestros compuestos de desplazar un ligando marcado de reconocida selectividad y afinidad por estos receptores como es la 8-hidroxi-dipropilamino-tetralina (8-OH-DPAT), el cuál fue descrito por Arvidsson en 1981.

Esta parte del trabajo se realizó en el laboratorio de Neurobioquímica, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas bajo la supervisión del Dr©. Gonzalo Recabarren Gajardo.

### Adquisición del radioligando estándar.

Se adquirió el agonista serotoninérgico 5-HT<sub>1A</sub> tritiado 8-Hidroxi-2-(di-n-propilamino) tetralina [<sup>3</sup>H]-8-OH-DPAT) junto a su correspondiente compuesto no marcado. (8-OH-DPAT). Figura 39.

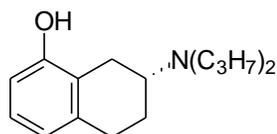


Figura 39

### 1.- Tratamiento inicial del material biológico para la obtención de membranas.

#### Preparación de las membranas:

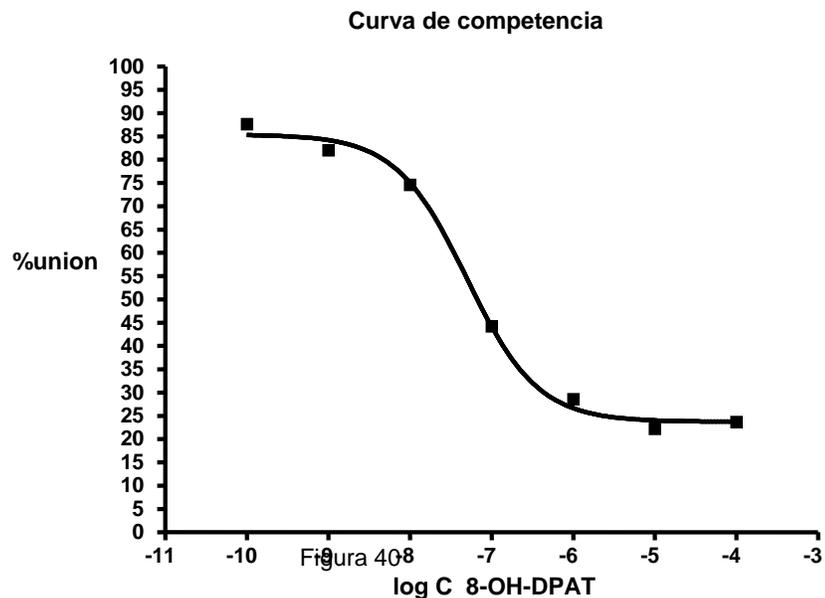
El objetivo de esta etapa es obtener una fracción enriquecida en receptores 5-HT<sub>1A</sub> a partir de tejido cerebral completo de ratas macho de raza y peso estandarizado a través de una secuencia de homogenizaciones y centrifugaciones sucesivas.

#### Metodología.

Se procedió a la decapitación de las ratas Sprague-Dawley (Machos, de 200 a 250 grs. de peso) y la disección posterior de la corteza en hielo. El tejido cerebral se pesó y se homogenizó en una relación 1:10 (P/V) en tampón tris-HCl 50 mM a pH 7,4 en un equipo ultraturrax 5x 30 seg.

Posteriormente el homogenizado fue centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos obteniéndose un sedimento constituido por núcleos y restos celulares no disgregados que fue descartado. El sobrenadante fue centrifugado a 15.000 r.p.m. por 30 min, el pellet así obtenido se resuspende en 20 volúmenes de tampón frío y se centrifugó a 15.000 rpm por 30 min.

Este proceso de resuspensión y centrifugación se repitió a lo menos 3 veces con el objeto de eliminar todo el ligando endógeno (serotonina) unido a sus receptores. Finalmente el sedimento fue parcelado y congelado a  $-80^{\circ}$  C para su posterior utilización. El día del ensayo el sedimento se resuspendió en tampón Tris-HCl 50mM a pH 7,4 en un equipo ultraturax 5 x 30 seg. De esta resuspensión se tomó una alícuota para determinar la concentración de proteínas mediante el ensayo de ácido bicinónico.



**Ensayo de competencia de los ligandos de la familia 1 (a,b), y familia 2 (a-c) frente a [ $^3$ H]-8-OH-DPAT.**

Los ligandos de las familias 1 y 2 se ensayaron a una concentración fija de 1 uM (esperando una inhibición a esta concentración  $\geq 50\%$ , en cuyo caso se realiza la curva de competición completa para cada ligando), en triplicado, en presencia de una concentración de ligando marcado de 2 nM en un volumen total de 200uL.

Se utilizó como control en paralelo y en triplicado un ensayo con 1uM de 8-OH-DPAT no marcado (dato no mostrado en el gráfico) y a la misma concentración final de ligando marcado.

La temperatura de incubación fue, al igual que en los ensayos previos, de 37° C. Las membranas previamente tratadas y almacenadas fueron resuspendidas en 1,6 mL de buffer Tris-HCl frío y una alícuota de 50uL, ésta suspensión fue adicionada para dar inicio al ensayo.

El tratamiento de los filtros para la medición de radioactividad y el procesamiento de los datos se realizó de la misma forma descrita anteriormente.

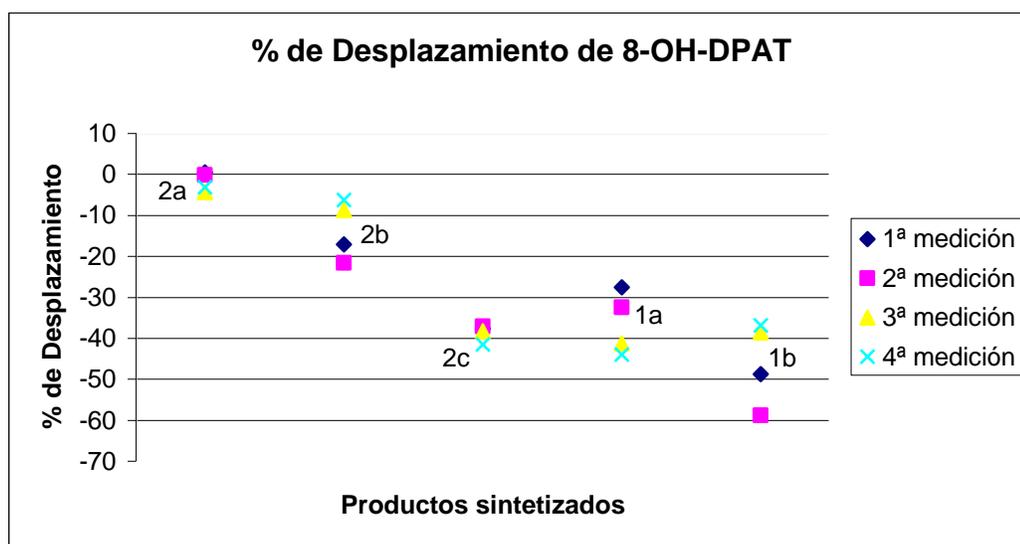


Figura 41

Todos los estudiados desplazaron menos del 0% (-64 a 0%) de la unión a la concentración establecida de 1uM, en comparación con el 71% de desplazamiento de la unión que exhibió el ligando 8-OH-DPAT a la misma concentración. (Figura 41)

En consecuencia para los ligandos de esta familia no se realizó la curva de competencia a distintas concentraciones para determinar su  $K_i$ , dado que el valor de  $K_i$  esperado es superior 1000nM, lo que no representa un valor útil para este tipo de receptor.

Si bien la intención de realizar un ensayo de competencia entre los ligandos sintetizados y el ligando marcado  $[^3\text{H}]\text{-8-OH-DPAT}$ , pretende como objetivo comparar la afinidad de ambos ligandos por el receptor  $5\text{-HT}_{1A}$ , de manera que en caso desplazar al ligando radioactivo probablemente estaríamos en presencia de una mayor afinidad por el receptor estudiado.

**RESULTADOS DE AFINIDAD:**

Sin embargo una vez agregado el ligando en estudio, en vez de apreciar una disminución en la cantidad de ligando marcado unido al receptor, pudimos apreciar claramente un aumento en la unión de ligando marcado unido al receptor, descartando de antemano un potencial desplazamiento del ligando marcado por parte de los ligandos en estudio. Figura 42.

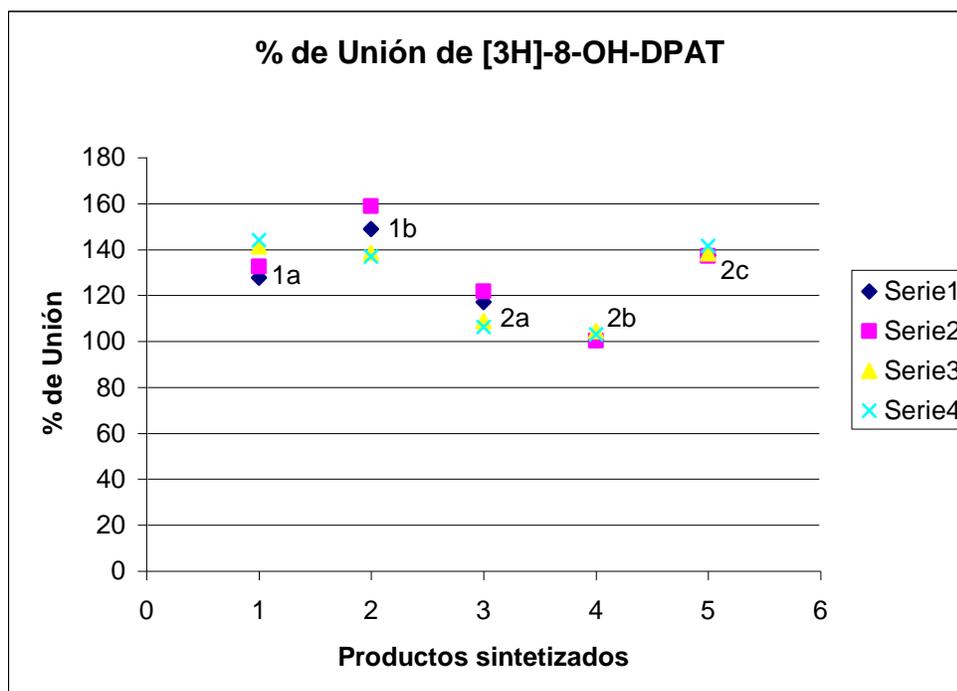


Figura 42

Es probable que los ligandos en estudio presenten una baja afinidad a los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, sin embargo resulta interesante el comportamiento exhibido en este experimento. Una de las explicaciones probables para este fenómeno consistiría en una probable unión del ligando estudiado a un sitio alostérico del receptor el cual proporcionaría un cambio conformacional en la proteína, o bien en la conformación del receptor 5-HT<sub>1A</sub> (u otro similar), proporcionando una mayor capacidad de unión por parte del ligando [3H]-8-OH-DPAT respecto de la ausencia de nuestro ligando.

## CONCLUSIONES

El desarrollo de la presente tesis, permitió realizar un trabajo orientado al ámbito de la química medicinal, a través de un estudio interdisciplinario que se detalla a continuación:

- A las familias sintetizadas se les realizó un estudio de docking analizando su potencial afinidad receptorial 5-HT<sub>1A</sub> con el programa AUTODOCK 4.0 basándose en el alineamiento secuencial helicoidal de las porciones de 5-HT<sub>1A</sub> y rodopsina de bovino según la numeración de Ballesteros-Weinstein. Previamente fue calculado en forma teórica su configuración de mínima energía, utilizando el programa SPARTAN 2. En tales ensayos se apreció interacciones entre el Asp116 y la piperazina protonada (pH 7,4) además de probables interacciones entre los residuos Phe112, Phe 361, Phe 370 y Asp385 con zonas aromáticas.
- Se sintetizaron en buen rendimiento dos familias de compuestos heterocíclicos benzotiofénicos, la primera de ellas corresponde a 1-Benzo[*b*]tiofen-2-il-3-[4-(5-nitrobenzo-benzo[*b*]tiofen-2-carbonil)-piperazin-1-il]-1-propanona (1, a,b) y su nitro derivado en la posición 5. La segunda familia corresponde a las (4-{3-[4-(Benzo [*b*] tiofén-2-carbonil)-piperazin-1-il]-propil}-piperazin-1-il)-benzo [*b*] tiofén-2-il-metanonas, y sus variaciones con y sin grupo nitro en las posiciones 5 respecto del anillo benzotiofénico (2 a-c).
- Es interesante el buen rendimiento y la velocidad de reacción en la adición de Michael libre de solvente realizada en microondas, resultaría interesante investigar respecto de otros sustratos nucleofílicos adicionándose sobre haluros de alquilo, formando una nueva variedad de productos probablemente activos sobre el receptor 5-HT<sub>1A</sub>.
- Los ensayos farmacológicos con los ligandos se les realizó pruebas in-vitro respecto de la afinidad por los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, en comparación con el ligando marcado estándar <sup>3</sup>[H]-8-OH-DPAT, para determinar su capacidad de desplazar al ligando tritiado, observándose que el ligando marcado, no es desplazado, se produjo un aumento en la cantidad de ligando unido al receptores entre 0 y 60%, observación catalogada como un cooperativismo positivo.

## REFERENCIAS

- 1.- [http://www.who.int/mental\\_health/management/depression/definition/en/](http://www.who.int/mental_health/management/depression/definition/en/)
- 2.- B. Vicente, R. Kohn, P. Rioseco, S. Saldivia, I. Levav, S. Torres. A lifetime and 12-month prevalence of DSM-III-R disorders in the Chile psychiatric prevalence study". *Am. J. Psych.* **2006**; 163 (1362–1370)
- 3.- Seeman. Dopamine receptors and the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Synap.* **1987**; 1: 133-152.
- 4.- G.K. Aghajanian, F.E. Kupfer. Electrophysiology of serotonin receptor subtypes and signal transduction pathways. *Psychopharm.* **1994** ; pp. 451-460.
- 5.- Delay, Lainé B., Buisson et al. Note concernant l' action de l' isonicotinyldiazid dans le traitement des états dépressifs. *Ann. Med. Psychol.* **1952**; 110: 689-692.
- 6.- Kühn. The treatment of depressive states with G22355 (imipramine hydrochloride). *Am. J. Psych.* **1958**; 115: 459-464.
- 7.- Leonard. Some effects of mianserin monoamine metabolism in the rat brain. *Br. Clin. J. pharmacol.* 5 (suppl 1), **1978**; S11-S12.
- 8.- Fuller. Serotonin uptake inhibitors: uses in clinical therapy and in laboratory research. *Prog. Drug. Res.* **1995**; 45, 167-204.
- 9.- Dencker. The need for new and better antidepressants: reboxetine a new option. *Acta Psychiatr. Scand.* **2000**; 101 (Suppl. 402), S6-S11.
- 10.- Baldessarini. Current status of antidepressants: clinical pharmacology and therapy. *J. clin. Psych.* **1989**; 50, 117-126.
- 11.- Piñeyro and Blier. Autoregulation of serotonin neurons: role in antidepressant drug action. *Pharmacol. Rev.* **1999**; Vol. 51, 533-591.
- 12.- Blier and Ward. Is there a role for 5-HT<sub>1A</sub> agonists in the treatment of depression? *Biol. Psychiatry.* **2003**; 53 (3), 193-203.
- 13.- Shen. Repeated treatment with antidepressants differentially alters 5-HT<sub>1A</sub> agonist stimulated ((35)S) GTP gamma S binding y rat brain regions. *Neuropharm.* **2002**; 42 (8), 1031-1038.
- 14.- Hensler.. Differential regulation of 5-HT<sub>1A</sub> receptor G protein interactions in brain in following chronic antidepressant administration. *Neuropsychopharm.* **2002**; 26 (5), 565-573.

- 15.-** Elena Castro. Chronic fluoxetine induces opposite changes in G protein coupled at pre and post synaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors in rat brain. *Neuropharm.* **2003**; 44 (1), 93-101.
- 16.-** M. J. Millan, F. Lejeune, A. Gobert. Reciprocal autoreceptor and heteroreceptor control of serotonergic, dopaminergic and adrenergic transmission in frontal cortex: a review, and relevance to the actions of antidepressant agents. *J Psychopharm.* **2000**; 14, 114–138.
- 17.-** P. Blier, N. Ward. Is there a role for 5-HT<sub>1A</sub> agonists in the treatment of depression?. *Biol. Psych.* **2003**; (53) 193– 203.
- 18.-** Z. Bhagwagar, E. Rabiner, P. Sargent, P. Grasby, P. Cowen, J. Persistent reduction in brain serotonin<sub>1A</sub> receptor binding in recovered depressed men measured by positron emission tomography with [<sup>11</sup>C]WAY-100635. *Mol. Psych.* **2004**; (9), 386–392.
- 19.-** P. Celada, V. Puig, M. Amargos-Bosch, A. Adell, F. Artigas. The therapeutic role of 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> receptors in depression. *J. Psychiatry Neurosci* **2004**; (29), 252– 265.
- 20.-** D. H. Overstreet, R. C. Commissaris, R. De La Garza, S. E. File, D. J. Knapp, L. S. Seiden. Involvement of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in animal tests of anxiety and depression: evidence from genetic models. *Stress* **2003**; 6, 101– 110.
- 21.-** M. Banasr, M. Hery, R. Printemps, A. Daszuta. Serotonin-induced increases in adult cell proliferation and neurogenesis are mediated through different and common 5-HT receptor subtypes in the dentate gyrus and the subventricular zone. *Neuropsychopharm.* **2004**; (29), 450–460.
- 22.-** H. Pessoa-Mahana, G. Recabarren, R. Araya-Maturana, J. Kosche Cárcamo, C. D. Pessoa-Mahana. Synthesis of 4-Arylpiperazine derivative of moclobemide. Potential antidepressants with a dual mode of action. *Synth. Commun.* **2004**; 34,14, 2513-2521.
- 23.-** H. Pessoa-Mahana, R. Araya-Maturana, C. Saitz, C. D. Pessoa-Mahana. A synthetic overview of antidepressants with 5-HT<sub>1A</sub> binding affinities. *Minirev. Med. Chem.* **2003**; 3,77-93.
- 24.-** Y. D. Lapierre, P. Silverstone, R. T. Reesal, B. Saxena, P. Turner, D. Bakish. A Canadian multicenter study of three fixed doses of controlled-release ipsapirone in outpatients with moderate to severe major depression. *J. Clin. Psychopharm.* **1998**; 18, 268–273.
- 25.-** P. Blier, N. Ward.. Is there a role for 5-HT<sub>1A</sub> agonists in the treatment of depression? *Biol. Psych.* **2003**; (53), 193–203.
- 26.-** R. Bantick, E. Rabiner, E. Hirani, M. de Vries, S. Hume, P. Grasby. Occupancy of agonist drugs at the 5-HT<sub>1A</sub> receptor. *Neuropsychopharm.* **2004**; 29, 847–859.

- 27.-** E. Dimitriou, C. Dimitriou.. Buspirone augmentation of antidepressant therapy. *J. Clin. Psychopharm.* **1999**; 18, 465– 469.
- 28.-** B. Appelberg, E. Syvalahti, T. Koskinen, O. Mehtonen, T. Muhonen, H. Naukkarinen.. Patients with severe depression may benefit from buspirone augmentation of selective serotonin reuptake inhibitors: results from a placebo-controlled, randomised, doubleblind, placebo wash-in study. *J. Clin. Psych.* **2001**; 62, 448–452.
- 29.-** A. Gobert, J. Rivet, L. Cistarelli, M. Millan. Buspirone enhances duloxetine- and fluoxetine-induced increases in dialysate levels of dopamine and noradrenaline, but not serotonin, in the frontal cortex of freely moving rats. *J. Neurochem.* **1997**; (68), 1326–1329.
- 30.-** A. Gobert, J. Rivet, L. Cistarelli, C. Melon, M. Millan. Buspirone modulates basal and fluoxetine-stimulated dialysate levels of dopamine, noradrenaline and serotonin in the frontal cortex of freely moving rats: activation of 5-HT<sub>1A</sub> receptors and blockade of alpha<sub>2</sub>-adrenergic receptors underlie its actions. *Neurosci.* **1999**; (93), 1251–1262.
- 31.-** F. Artigas, L. Romero, C. de Montigny, P. Blier. Acceleration of the effect of selected antidepressant drugs in major depression by 5-HT<sub>1A</sub> antagonists. *Trends Neurosci.* **1996**; 19, 378-383.
- 32.-** M. Pérez, P. Pauwels, I. Pallard-Sigogneau, C. Fourrier, P. Chopin, C. Palmier. Design and synthesis of new potent, silent 5-HT<sub>1A</sub> antagonists by covalent coupling of aminopropanol derivatives with selective serotonin reuptake inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**; 8, 3423–3428.
- 33.-** A. Monge, L. Orus, S. Perez-Silanes, A. Oficialdegui, J. Martinez-Esparza, J. Del Castillo, M. Mourelle, T. Langer, S. Guccione, G. Donzella, E. Krovat. Synthesis and molecular modeling of new 1-aryl-3-[4-arylpiperazin-1-yl]-1-propane derivatives with high affinity at the serotonin transporter and at 5-HT<sub>1A</sub> receptors. *J. Med. Chem.* **2002**; 45 (19): 4128-4139.
- 34.-** S. Feng, Z. Wang, X. He, S. Zheng, Y. Xia, H. Jiang, X. Tang, and D. Bai. Bis-huperzine B: Highly Potent and Selective Acetylcholinesterase Inhibitors. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 3, 655-657.
- 35.-** M. Decker, J. Lehmann. Agonistic and antagonistic bivalent ligands of Serotonin and dopamine receptors including their transporters. *Curr. Top Med. Chem.* **2007**; 74, 347-353.
- 36.-** M. Decker. Homobivalent quinazolinimines as novel nanomolar inhibitors of cholinesterases with dirigible selectivity towards butyrylcholinesterase. *J. Med. Chem.* **2006**; 49, 5411-5413.

- 37.-** T. Hill, L. Odell, J. Edwards, M. Graham, A. McGeachie, J. Rusak, A. Quan, R. Abagyan, J. Scott. Small Molecule Inhibitors of Dynamin I GTPase Activity: Development of Dimeric Tyrphostins. *J. Med. Chem.* **2005**; 48, 7781-7788.
- 38.-** D. Barbas, L. Des-Groseillers, V. Castellucci, T. Carew and S. Marinesco. Multiple Serotonergic Mechanisms Contributing to Sensitization in Aplysia: Evidence of Diverse Serotonin Receptor Subtypes. *Learn. Mem.* **2003**; 10, 373-386.
- 39.-** M. Nowak, M. Kołaczkowski, M. Pawłowski and A. Bojarski. Homology Modeling of the Serotonin 5-HT<sub>1A</sub> Receptor Using Automated Docking of Bioactive. Compounds with Defined Geometry, *J. Med. Chem.* **2006**, 49, 205-214.
- 40.-** R. Andreozzi, V. Caprio, R. Castagnani, R. Marotta and R. Sanchirico. (S)-Nitroxycarnitine nitrate production from (S)-carnitine by using acetic anhydride/nitric acid/acetic acid mixtures: safety assessment. *J. Hazard. Mat.* **2004** Vol 113, Issues 1-3, 10, Pages 1-10.
- 41.-** R. A. Zambias and M.L. Hammond, The síntesis of 5-hydroxy-2,3 – dihydrobenzo(B)thiophene (1) via an efficient one step preparation of 5-Nitro benzo(B)thiophene-2-carboxilate (3A).*Synth Comm.*
- 42.-** S.E. Ward, F.P. Harrington, L.J. Gordon, S.C. Hopley. Discovery of the first potent, selective 5-HT<sub>1D</sub> receptor antagonist. *J. Med. Chem.* **2005**, 48 (10), pp 3478-3480.
- 43.-** M. T. Barros; A. M. Faisca Phillips. Chiral Piperazines as Efficient Catalysts for the Asymmetric Michael Addition of Aldehydes to Nitroalkenes". *Eur. J. Org. Chem.*, 178-185, **2007**.
- 44.-**S. Imamura, T. Ichikawa, Y. Nishikawa, N. Kanzaki, K.Takashima. Discovery of a Piperidine-4-carboxamide CCR5 antagonist (TAK-220) with highly potent anti-HIV-1 activity. *J. Med. Chem.* **2006**, 49 (9), 2784 -2793.
- 45.-** P. J. Murria, L. A. Harrison, M.R. Johnson, G. M. Robertson. A novel series of arylpiperazines with high affinity and selectivity for the dopamine D<sub>3</sub> receptor. *Bioorg. & Med. Chem.* **1995** Vol. 5 No. 3, pp 219-222.
- 46.-** S. A. Glase, H. C. Akunne, T.G. Heffner, S. J. Johnson, S. R. Kesten. 4-Bromo-1-Methoxy-N-[2-(4-aryl-1-piperazinyl) ethyl]- 2-naphthalenecarboxamides: selective dopamine D<sub>3</sub> receptor partial agonists. *Bioorg. & Med. Chem.* **1996** Vol. 6 No. 12, pp. 1361-1366.