



**Universidad de Chile**

**Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas**

**SÍNTESIS Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE POSIBLES MODULADORES DEL  
RECEPTOR NICOTÍNICO DE ACETILCOLINA**

**Tesis entregada a la Universidad de Chile como requisito parcial para optar al título  
de Doctor en Química**

**EDWIN GREGORIO PÉREZ HERNÁNDEZ**

**Director de Tesis : Dr. Bruce K. Cassels Niven**

**Santiago - Chile**

**2008**

Gracias a la vida, que me ha dado tanto.

**UNIVERSIDAD DE CHILE**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS**

**ESCUELA DE POSTGRADO**

**INFORME DE APROBACIÓN DE TESIS DE DOCTORADO**

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

**EDWIN GREGORIO PÉREZ HERNÁNDEZ**

**Ha sido aprobada por la comisión de evaluación de tesis como requisito para optar al grado de Doctor en Química en el examen público \_\_\_\_\_**

**Director de Tesis:**

**Dr. Bruce K. Cassels N. \_\_\_\_\_**

**Comisión evaluadora de Tesis:**

**Dra. María Cecilia Rojas \_\_\_\_\_**

**Dr. Ricardo Tapia \_\_\_\_\_**

**Dr. Hernán Pessoa \_\_\_\_\_**

**Dr. Tomás Pérez-Acle \_\_\_\_\_**

## ÍNDICE

Índice.....	i
Índice de figuras .....	vi
Glosario de términos y abreviaturas usadas .....	viii
Resumen.....	xi
Summary.....	xiii
<b>1. Introducción.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Receptores nicotínicos de acetilcolina.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1.1. Estructura y composición de los RnACo.....</b>	<b>2</b>
<b>1.1.2. Clasificación de los RnACo.....</b>	<b>5</b>
<b>1.1.2.1. RnACo musculares.....</b>	<b>5</b>
<b>1.1.2.2. RnACo neuronales.....</b>	<b>5</b>
<b>1.1.3. Aspectos funcionales de los RnACo.....</b>	<b>6</b>
<b>1.1.3.1. Sitio de unión de agonistas.....</b>	<b>6</b>
<b>1.1.4. Importancia fisiopatológica de los RnACo.....</b>	<b>7</b>
<b>1.1.5. Agonistas de RnACo.....</b>	<b>8</b>
<b>1.1.5.1. Agonistas naturales de RnACo.....</b>	<b>8</b>
<b>1.1.5.2. Agonistas sintéticos de RnACo.....</b>	<b>9</b>

<b>1.1.6. Antagonistas de RnACo.....</b>	<b>10</b>
<b>1.1.6.1. Antagonistas competitivos no peptídicos de RnACo.....</b>	<b>10</b>
<b>1.1.6.2. Antagonistas competitivos peptídicos de RnACo.....</b>	<b>14</b>
<b>1.1.6.3. Antagonistas no competitivos de RnACo.....</b>	<b>14</b>
<b>1.2. Alcaloides de <i>Flustra foliacea</i>.....</b>	<b>16</b>
<b>1.3. Actividad biológica de alcaloides de <i>Flustra foliacea</i>.....</b>	<b>16</b>
<b>1.4. Ensayos de actividad biológica frente a RnACo.....</b>	<b>19</b>
<b>1.4.1. Ensayos de afinidad por desplazamiento de un radioligando.....</b>	<b>19</b>
<b>1.4.1.1. Conceptos básicos en estudios de afinidad. ....</b>	<b>20</b>
<b>1.4.1.2. Estudios de saturación. ....</b>	<b>22</b>
<b>1.4.1.3. Ensayos de desplazamiento de un radioligando.....</b>	<b>24</b>
<b>1.4.2. Ensayos electrofisiológicos frente al RnACo.....</b>	<b>24</b>
<b>1.4.2.1. Técnica de voltaje fijo con dos electrodos.....</b>	<b>25</b>
<b>1.5. Modelamiento molecular de RnACo.....</b>	<b>27</b>
<b>1.5.1. Modelamiento molecular de RnACo, subtipo <math>\alpha 9\alpha 10</math>.....</b>	<b>27</b>
<b>1.6. Hipótesis.....</b>	<b>28</b>
<b>1.7. Objetivos.....</b>	<b>29</b>
<b>2. Parte Experimental. ....</b>	<b>29</b>
<b>2.1. Síntesis y datos espectroscópicos de los compuestos.....</b>	<b>29</b>

<b>2.2. Ensayos de afinidad por desplazamiento de un radioligando.....</b>	<b>80</b>
<b>2.2.1. Preparación de los cerebros de rata.....</b>	<b>81</b>
<b>2.2.2. Ensayos de saturación usando (<math>\pm</math>)-[<math>^3\text{H}</math>]epibatidina y cerebros de rata (fracción P2).....</b>	<b>82</b>
<b>2.2.3. Estudios de desplazamiento de (<math>\pm</math>)-[<math>^3\text{H}</math>]epibatidina para el RnACo subtipo <math>\alpha 4\beta 2</math>.....</b>	<b>82</b>
<b>2.2.4. Análisis de los datos.....</b>	<b>82</b>
<b>2.3. Ensayos electrofisiológicos frente a RnACo, subtipo <math>\alpha 9\alpha 10</math>.....</b>	<b>83</b>
<b>2.3.1. Expresión del receptor <math>\alpha 9\alpha 10</math> en oocitos de <i>Xenopus laevis</i>.....</b>	<b>83</b>
<b>2.3.2. Registros electrofisiológicos. ....</b>	<b>83</b>
<b>2.4. Modelamiento molecular de RnACo, subtipo <math>\alpha 4\beta 2</math> y los compuestos sintetizados.....</b>	<b>83</b>
<b>2.4.1. Alineamiento de secuencias.....</b>	<b>84</b>
<b>2.4.2. Construcción de los modelos.....</b>	<b>84</b>
<b>2.4.3. Estructura de los ligandos.....</b>	<b>84</b>
<b>2.5. Modelamiento molecular de RnACo, subtipo <math>\alpha 9\alpha 10</math> y sus ligandos.....</b>	<b>84</b>
<b>2.5.1. Simulaciones de dinámica molecular.....</b>	<b>85</b>
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>88</b>
<b>3.1. Síntesis de Compuestos.....</b>	<b>86</b>

3.1.1. Síntesis de los derivados desbromados de dos alcaloides de <i>Flustra foliacea</i>	86
3.1.2. Síntesis de alcaloides de <i>Flustra foliacea</i> .....	87
3.1.3. Síntesis de triptaminas $N^1$ -alquiladas, $N^{10}$ -mono-, di- y trimetiladas. ....	90
3.1.4. Síntesis de graminas y yoduros de graminios $N^1$ -alquilados. ....	92
3.1.5. Síntesis de $N^{11},N^{11}$ -dimetilhomotriptaminas y yoduros de $N^{11},N^{11}$ -dimetilhomotriptaminios $N^1$ -alquilados. ....	94
3.1.6. Síntesis de $N^1$ -octil- $C^2$ -isogramina y el yoduro de $N^1$ -octil- $C^2$ -isograminio.....	95
3.2. Evaluación de la actividad de los compuestos frente a RnACo.....	96
3.2.1. Afinidad de los compuestos frente a RnACo.....	96
3.2.2. Relación entre la estructura de los compuestos sintetizados y la afinidad frente al RnACo, subtipo $\alpha 4\beta 2$ .....	103
3.3. Ensayos funcionales de los compuestos frente a RnACo, subtipo $\alpha 9\alpha 10$ .....	104
3.4. Posible sitio de unión de las moléculas activas en el RnACo, subtipo $\alpha 4\beta 2$ ...	105
3.4.1. Alineamiento de secuencias.....	105
3.4.2. Construcción de los modelos.....	106
3.4.3. Acomodamiento molecular de los yodometilatos frente al RnACo, subtipo $\alpha 4\beta 2$ .....	106
3.5. Desarrollo cualitativo de un farmacóforo para antagonistas del RnACo.....	110
3.6. Modelamiento molecular de RnACo subtipo $\alpha 9\alpha 10$ .....	111

<b>3.6.1. Estructura de los ligandos.....</b>	<b>111</b>
<b>3.6.2. Simulaciones de Dinámica Molecular.....</b>	<b>111</b>
<b>4. Conclusiones.....</b>	<b>116</b>
<b>5. Referencias.....</b>	<b>118</b>
<b>6. Anexos.....</b>	<b>136</b>



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Acetilcolina, ligando endógeno de los receptores colinérgicos, S-(-)nicotina, agonista de los RnACo y muscarina, agonista de los RmACo.....	1
<b>Figura 2.</b> Estructura de un RnACo inserto en la membrana.....	2
<b>Figura 3.</b> Estructura del RnACo aislado de <i>Torpedo marmorata</i> . ....	4
<b>Figura 4.</b> Agonistas naturales del RnACo.....	8
<b>Figura 5.</b> Agonistas sintéticos de RnACo, selectivos por el subtipo $\alpha 4\beta 2$ .....	11
<b>Figura 6.</b> Agonistas sintéticos de RnACo, selectivos por el subtipo $\alpha 7$ .....	12
<b>Figura 7.</b> Antagonistas naturales y sintéticos de RnACo.....	15
<b>Figura 8.</b> Alcaloides aislados de <i>Flustra foliacea</i> .....	17 y 18
<b>Figura 9.</b> Ecuación química en el equilibrio.....	20
<b>Figura 10.</b> Pasos básicos para los estudios de afinidad.....	21
<b>Figura 11.</b> Gráfica típica para la hipérbola de saturación.....	23
<b>Figura 12.</b> Evaluación de un experimento de saturación con una gráfica de Rosenthal...	23
<b>Figura 13.</b> Comportamiento y análisis de ligandos del RnACo.....	26
<b>Figura 14.</b> Graficas obtenidas en los experimentos de saturación. E = cantidad de radioligando enlazado y L = radioligando libre.....	97
<b>Figura 15.</b> Graficas obtenidas en el experimento de desplazamiento de ( $\pm$ )-[ $^3$ H]epibatidina por parte del compuesto <b>80</b> . L se refiere a la cantidad de radioligando libre medido en cuentas por minuto.....	98
<b>Figura 16.</b> Relaciones cualitativas de estructura-actividad mostradas por los compuestos sintetizados frente al RnACo subtipo $\alpha 4\beta 2$ .....	104
<b>Figura 17.</b> Aplicación de acetilcolina y <b>92</b> a ovocitos de <i>Xenopus</i> .....	105
<b>Figura 18.</b> Alineamientos para los diferentes subtipos del RnACo humanos y las AChBP.....	107

<b>Figura 19.</b> Posible sitio de unión del RnACo, subtipo $\alpha 4\beta 2$ .....	108
<b>Figura 20.</b> Acomodamiento molecular de los compuestos <b>92</b> y <b>102</b> .....	110
<b>Figura 21.</b> Simulaciones de dinámica molecular con ACo y Nic.....	114
<b>Figura 22.</b> Principales interacciones del complejo RgIA- $\alpha 9\alpha 10$ después de la simulación de dinámica molecular.....	115

## GLOSARIO DE TÉRMINOS Y ABREVIATURAS USADAS

AChBP: proteína que enlaza acetilcolina

ACo : Acetilcolina

AcOH: Ácido acético

atm: Atmósfera

BAPTA-AM: Ácido 1,2-bis(2-aminofenoxi)etano-*N,N,N',N'*-tetraacético

$B_{\max}$ :

Boc<sub>2</sub>O: Carbonato de di-*tert*-butilo

Boc: *tert*-butoxicarbonilo

CCD: Cromatografía en capa delgada

CIAL: Canales iónicos activados por ligando

CIIV: Canales iónicos activados por voltaje

CDI: Carbonil diimidazol

DCM: Diclorometano

DMAP: Dimetilamino piridina

DMA<sub>ac</sub>: Dimetil amina acuosa

DMANE: *N,N*-Dimetilamino-2-nitroetileno

DMF: *N,N*-dimetilformamida

DMA-DMF: Dimetilacetal de la *N,N*-dimetilformamida

DMSO-*d*<sub>6</sub>: Dimetilsulfóxido deuterado

Eq: Equivalentes

h: Horas

Hz: Hertz

IC<sub>50</sub>: Concentración que inhibe el 50% de la unión.

kDa: Kilo Daltons

K<sub>D</sub>: Constante de equilibrio para la interacción radioligando-receptor

K<sub>i</sub>: Constante de equilibrio para la interacción compuesto-receptor

k<sub>1</sub>: Constante de velocidad para la asociación de un complejo.

k<sub>-1</sub>: Constante de velocidad para la disociación de un complejo.

M: Molar

MeI: Yoduro de metilo

MeOH: Metanol

MHz: Megahertz

min: Minutos

mL: Mililitros

mRNA: Ácido ribonucleico mensajero.

MΩ: Megaohms

ng: Nanogramo

Nic: Nicotina

nM: Nanomolar

NsCl: Cloruro de 4-nitrobencenosulfonamida

Ns: 4-nitrobencenosulfonamida

RMN-<sup>1</sup>H: Resonancia magnética nuclear de hidrógeno

RMN-<sup>13</sup>C: Resonancia magnética nuclear de carbono 13

R<sub>L</sub>: Radioligando

R<sub>L</sub>R: Complejo radioligando-receptor

R: Receptor

RAPG: Receptores acoplados a proteína G

RmAco: receptores muscarínicos de acetilcolina

RnAco: Receptores nicotínicos de acetilcolina

SNC: Sistema nervioso central

SNP: Sistema nervioso periférico

t.a: Temperatura ambiente

*t*-BuOCl: Hipoclorito de *tert*-butóxido

TEA: Trietilamina

TFA: Ácido trifluoroacético

THF: Tetrahidrofurano

(±)-[<sup>3</sup>H]epibatidina: Epibatidina tritiada

μg: Microgramo

μM: Micromolar

μL: Microlitro

α-BTX: α-bungarotoxina

α-RgIA: α-Conotoxina RgIA

[R<sub>L</sub>R]: Concentración del complejo radioligando-receptor

[DR]: Concentración del complejo droga-receptor

[R<sub>L</sub>]: Concentración de radioligando

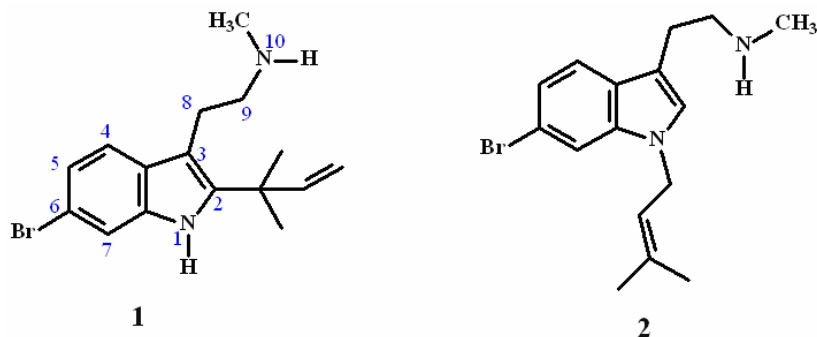
Å: Ångstrom

°C: Grado centígrado

## Resumen

Los receptores nicotínicos de acetilcolina (RnACo) están distribuidos a través del sistema nervioso central (SNC) y el sistema nervioso periférico (SNP), siendo los mejor estudiados los de la placa neuromuscular. Además de su localización en neuronas, los RnACo son encontrados en células endocrinas y en células clásicamente no excitables.

En 2004 se reportó que los alcaloides desformilflustrabromina (**1**) y N<sup>1</sup>-prenildesformilflustrabromina (**2**) aislados del briozoo *Flustra foliacea* presentaron afinidad por el RnACo en ensayos de desplazamiento de radioligando. Lo más interesante de este estudio fue la selectividad de estos compuestos frente a los subtipos  $\alpha 4\beta 2$  y  $\alpha 7$ , ya que **1** fue activo frente al primer subtipo pero inactivo frente al segundo, mientras que **2** fue inactivo frente al primer subtipo y activo frente al segundo. En trabajos más recientes se demostró que **1** actúa como modulador alostérico positivo frente al subtipo  $\alpha 4\beta 2$ , y actúa como antagonista frente al subtipo  $\alpha 7$ , mientras que **2** actúa como antagonista del subtipo  $\alpha 4\beta 2$  y es un modulador alostérico positivo del subtipo  $\alpha 7$ .



En este trabajo se presenta la síntesis de estos alcaloides así como sus derivados desbromados, una serie de graminas, triptaminas y homotriptaminas relacionadas con ellos y sus yodometilatos. Los compuestos sintetizados fueron ensayados por la metodología de desplazamiento del radioligando ( $\pm$ )-[<sup>3</sup>H]epibatidina para determinar su afinidad por el RnACo, subtipo  $\alpha 4\beta 2$ .

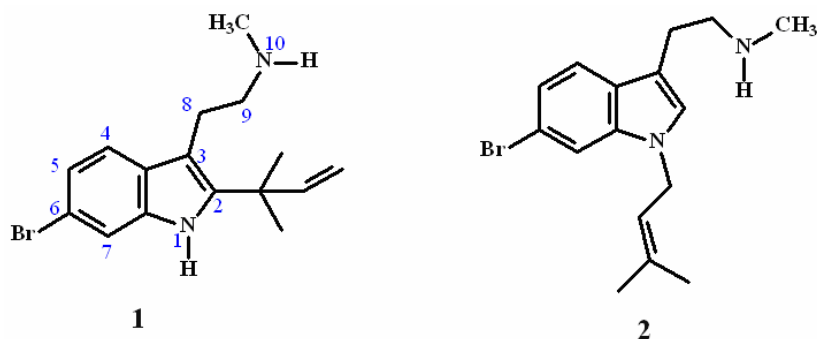
Los compuestos que presentaron mayor afinidad por el RnACo, subtipo  $\alpha 4\beta 2$  fueron los yodometilatos que en su mayoría exhibieron valores de  $K_i$  submicromolares. Los más activos fueron ensayados en células que expresan el RnACo, subtipo  $\alpha 9\alpha 10$  utilizando la metodología de fijación de voltaje con dos electrodos, la que permitió establecer que éstos actúan como antagonistas de este receptor.

Se realizaron también estudios de modelamiento molecular por medio de “docking” para establecer el posible sitio de unión de los compuestos activos en el RnACo, subtipo  $\alpha 4\beta 2$  de los cuales se puede inferir que el sitio de unión sería similar al reportado en la literatura para carbamilcolina y nicotina. Simulaciones de dinámica molecular del RnACo, subtipo  $\alpha 9\alpha 10$  con acetilcolina, nicotina y  $\alpha$ -conotoxina RgIA arrojaron resultados que permiten postular la identidad de los residuos aminoacídicos importantes en la interacción de estos ligandos con el receptor.

## Summary

Nicotinic acetylcholine receptors (nAChR) are distributed throughout the central nervous system (CNS) and the peripheral nervous system (PNS), while those in the neuromuscular junction have been studied the most. Besides neuronal cells, these receptors are found in endocrine cells and in classically nonexcitable cells.

In 2004 it was reported that the alkaloids desformylflustrabromine (**1**) and N<sup>1</sup>-prenyldesformylflustrabromine (**2**) isolated from bryozoan *Flustra foliacea* showed affinity for nAChRs in radioligand binding assays. The most interesting result of this study was the selectivity of these compounds for the  $\alpha 4\beta 2$  and  $\alpha 7$  subtypes, as **1** bound to the former subtype but was inactive at the latter, whilst **2** was inactive at the first and active at the second. More recently it was shown that **1** is a positive allosteric modulator of the  $\alpha 4\beta 2$  subtype and an antagonist of the  $\alpha 7$  subtype, whilst **2** is an antagonist of the  $\alpha 4\beta 2$  subtype and a positive allosteric modulator of the  $\alpha 7$  subtype.



The syntheses of these alkaloids and their debrominated derivatives are described here, as well as related gramines, tryptamines and homotryptamines and their methiodides. The synthesized compounds were assayed for ( $\pm$ )-[<sup>3</sup>H]epibatidine displacement in order to determine their affinities for the  $\alpha 4\beta 2$  nAChR.

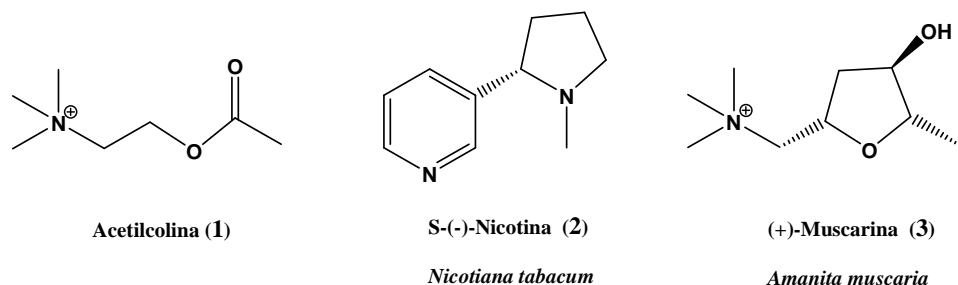
The compounds that showed the highest  $\alpha 4\beta 2$  nAChRs affinities were the methiodides, most of which have  $K_i$  values in the submicromolar range. The most active compounds were assayed using the two-electrode voltage clamp technique with cells expressing the  $\alpha 9\alpha 10$  nAChR, which established that they are antagonists of this receptor. A molecular modelling study was also done, using docking to establish a possible binding site for our compounds in the nAChRs  $\alpha 4\beta 2$  subtype, with results suggesting that their binding site



should be similar to that reported in the literature for carbamylcholine and nicotine. Molecular dynamics simulations of the  $\alpha 9\alpha 10$  nAChRs with acetylcholine, nicotine and  $\alpha$ -conotoxin RgIA yielded results allowing us to postulate the identity of the important aminoacid residues for interaction of these ligands with the receptor.

## 1. Introducción

Existen dos tipos de canales iónicos presentes en la membrana plasmática: los que son activados por voltaje (CIAV), para cuya activación se necesita un cambio en el potencial de la membrana celular, y los que son activados por ligando (CIAL) que se activan por unión de un agonista a la proteína. Este ligando usualmente es considerado como un mensajero extracelular, y puede ser por ejemplo un neurotransmisor. Frecuentemente el mismo transmisor actúa sobre un número de distintos receptores acoplados a proteína G (RAPG) así como sobre CIAL. Un ejemplo de esto es la acetilcolina (1) que actúa sobre los receptores muscarínicos (RmAco), que son RAPG, y sobre los receptores nicotínicos (RnAco), que son CIAL. La diferencia farmacológica que permitió diferenciar los RnAco y los RmAco es que los primeros son activados por nicotina (2), aislada originalmente de *Nicotiana tabacum*, y los segundos son activados por muscarina (3), aislada de *Amanita muscaria*; ver Figura 1.<sup>1-4</sup>



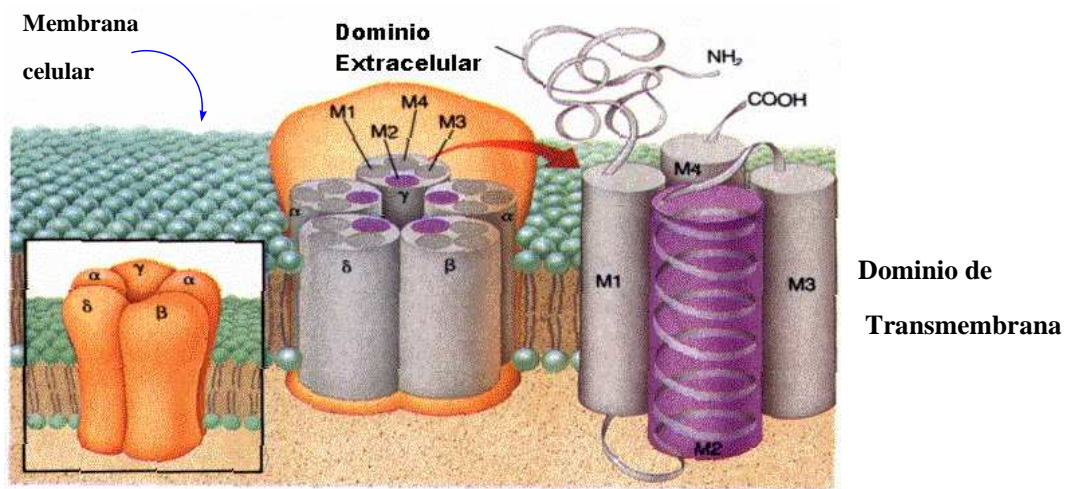
**Figura 1.** Acetilcolina, ligando endógeno de los receptores colinérgicos, S-(-)nicotina, agonista de los RnAco y muscarina, agonista de los RmAco.

### 1.1. Receptores nicotínicos de acetilcolina.

Los RnAco, miembros de la superfamilia denominada Cys-loop debido al bucle de 13 aminoácidos formado por un enlace S-S de cisteínas, están distribuidos a través del sistema nervioso central (SNC) y el sistema nervioso periférico (SNP).<sup>5, 6</sup> Además de su localización en neuronas, los RnAco son encontrados en células endocrinas y en células clásicamente no excitables como en el epitelio intestinal, en el epitelio y endotelio pulmonar, en el tejido adiposo, en el sistema inmune, en la piel, en el epitelio oral y en el endotelio vascular.<sup>5, 7-11</sup>

### 1.1.1. Estructura y composición de los RnACo.

Los RnACo son glicoproteínas de transmembrana de 290 kDa formados por la unión de cinco subunidades que se sitúan de manera simétrica insertadas en la membrana lipídica en torno a un poro que constituye el canal iónico. A su vez, cada una de estas subunidades presenta cuatro segmentos de carácter lipofílico denominados M1, M2, M3 y M4, formados principalmente por hélices  $\alpha$  que atraviesan la membrana plasmática.<sup>12-14</sup> Estas subunidades se asocian entre sí con diferentes estequiometrías para dar lugar a receptores funcionales; ver Figura 2.



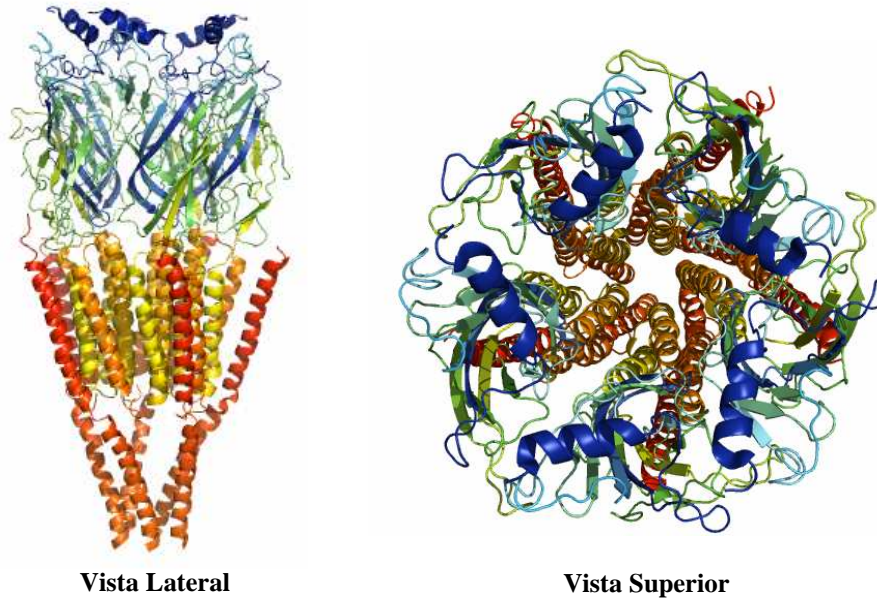
**Figura 2.** Estructura de un RnACo inserto en la membrana, formado por cinco subunidades, cada una de las cuales presenta un segmento extracelular, cuatro segmentos hidrofóbicos que se disponen atravesando la membrana y un segmento intracelular.

En los RnACo el extremo N-terminal se encuentra en el dominio extracelular y está formado por unos 200 aminoácidos. Los siguientes 90 aminoácidos, de carácter predominantemente hidrofóbico, forman los dominios de transmembrana M1-M3 que están separados entre sí por unos pocos aminoácidos. Tras el segmento M3 se encuentra un largo dominio citoplasmático donde se sitúan los sitios de fosforilación del receptor y que condicionan la modulación de éste. Esta es la región más variable entre las diferentes subunidades que conforman los RnACo. Tras este dominio se encuentra el

cuarto segmento de transmembrana M4 que da paso a 10-30 aminoácidos que constituyen el dominio C-terminal, que también es extracelular.<sup>15, 16</sup>

El análisis por microscopía electrónica del RnACo aislado del pez eléctrico *Torpedo marmorata* ha confirmado su estructura pentagonal pseudosimétrica, formada por la unión de cinco subunidades dispuestas a modo de cono en torno a un poro central. Este poro estaría formado por los segmentos de transmembrana M2 y por el extremo N-terminal del segmento de transmembrana M1 de cada una de las subunidades que forman el receptor.<sup>17, 18</sup>

La unión de estas subunidades para formar un receptor funcional confiere al receptor un aspecto cónico de unos 65 Å de diámetro en su parte media y 120 Å de longitud. Esta estructura sobresale de la membrana unos 65 Å por su lado extracelular y 20 Å hacia el interior de la célula. Además sufre un estrechamiento del poro en su región central, de tal manera que de los 22 Å de ancho en la boca del canal hacia el lado sináptico, se estrecha hasta la mitad de la anchura inicial (10 Å en la zona media del poro) para volver a ensancharse en la zona interna del poro, situada en el interior de la célula (20 Å). Debido a esta distribución existen en el receptor tres dominios bien definidos: uno extracelular, uno que atraviesa la membrana en torno a un poro estrecho, y uno citoplasmático. Este estrechamiento se produce por una rotación de las hélices  $\alpha$  de los segmentos de la transmembrana M2, que actúa como un mecanismo de compuerta donde se ha implicado a un anillo de leucinas del segmento M2 en la posición 251.<sup>18, 19</sup> Los sitios de unión del agonista se sitúan hacia en el dominio extracelular, entre pares de subunidades contiguas; ver Figura 3.



**Figura 3.** Estructura del RnACo aislado de *Torpedo marmorata*. Vistas lateral y superior.

Cada una de las diferentes subunidades que forman parte de los RnACo presentan una función determinada en el receptor, y atendiendo a esta función, se pueden clasificar en:

- **Subunidades de unión al agonista o subunidades  $\alpha$ :** Una de las características comunes a cada una de las subunidades  $\alpha$  descritas es la presencia de dos residuos de cisteína contiguos en las posiciones 192 y 193, situados en el dominio N-terminal. Se han descrito 10 subunidades  $\alpha$ , una muscular  $\alpha 1$  y nueve del sistema nervioso central y periférico,  $\alpha 2$ - $\alpha 10$ .<sup>6</sup>
- **Subunidades estructurales no  $\alpha$ :** Incluyen a las subunidades  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  y  $\epsilon$  del RnACo muscular y las diferentes subunidades  $\beta$  descritas para los RnACo de tipo neuronal. No presentan las dos cisteínas adyacentes características de las subunidades  $\alpha$ , y su función principal es estructural, aunque, en los últimos años se les está otorgando un papel importante en el proceso de unión del agonista, descrito por algunos autores.<sup>20-22</sup>

### **1.1.2. Clasificación de los RnACo.**

Clásicamente se han dividido los RnACo, atendiendo a su composición en subunidades y a su localización celular, en musculares y neuronales. Además, el descubrimiento y síntesis de toxinas específicas que se unen a determinados subtipos de receptores también ha sido la base para poder hacer una clasificación de los mismos. Así, una de las muchas neurotoxinas utilizadas en la actualidad es la  $\alpha$ -bungarotoxina, aislada del veneno de la serpiente *Bungarus multicinctus*.<sup>23</sup> Se trata de una pequeña proteína básica que se une específicamente y con gran afinidad a ciertos subtipos de receptores, permitiendo esta clasificación. A continuación se describen brevemente alguna de las características más importantes de cada subgrupo.

#### **1.1.2.1. RnACo musculares.**

Su nombre se deriva de su principal localización: el músculo esquelético; aunque este tipo de receptor también está presente en el órgano eléctrico del pez *Torpedo marmorata*. Es el receptor mejor estudiado gracias a la gran densidad que presenta en las placas electrogénicas del citado pez. Raftery y colaboradores demostraron, mediante secuenciación de la estructura proteica de cada una de las subunidades, que estos receptores están formados por cuatro tipos de subunidades denominadas  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$  asociadas en una estequiometría 2:1:1:1.<sup>24</sup>

Además de las subunidades descritas, se ha descrito otra subunidad presente en el RnACo muscular en vertebrados, presente sólo durante el desarrollo postnatal y que es sustituida en el adulto por la subunidad  $\gamma$ . Esta subunidad  $\epsilon$  se caracteriza por tener una mayor conductancia y un menor tiempo medio de apertura que su semejante en adultos.<sup>25</sup>

#### **1.1.2.2. RnACo neuronales.**

Como su propio nombre lo indica, estos receptores aparecen localizados en células del sistema nervioso. Al igual que en el caso de los musculares, se trata de pentámeros transmembranales que resultan de la agrupación, tanto de subunidades  $\alpha$  como también

de la combinación de éstas con subunidades  $\beta$ . A su vez, se han clasificado según su capacidad de unión a  $\alpha$ -bungarotoxina.

- **RnACo neuronales que unen  $\alpha$ -bungarotoxina.** Aunque en un principio no se identificaron como RnACo, sino simplemente como “proteínas que unen  $\alpha$ -bungarotoxina”,<sup>26</sup> en la actualidad engloban a los RnACo formados por las subunidades  $\alpha 7$ ,  $\alpha 8$ ,  $\alpha 9$  y  $\alpha 10$  que tienen la capacidad de formar receptores funcionales por ellos mismos (homómeros) cuando se expresan heterológicamente, aunque también pueden formar parte de receptores constituidos por distintos tipos de subunidades.<sup>27-32</sup>
- **RnACo neuronales incapaces de unir  $\alpha$ -bungarotoxina.** Únicamente son capaces de formar receptores funcionales cuando se unen dos o más subunidades diferentes. Así, tanto subunidades de tipo  $\alpha$  ( $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$ ,  $\alpha 4$  y  $\alpha 5$ ) como subunidades de tipo  $\beta$  ( $\beta 2$ ,  $\beta 3$  y  $\beta 4$ ), que por si mismas son incapaces de formar receptores funcionales, adquieren esta capacidad al formar RnACo heteroméricos tales como  $\alpha 3\alpha 6\beta 2$  o  $\alpha 4\beta 2$ .

La asociación de diferentes subunidades puede conferir distintas propiedades estructurales y funcionales a los RnACo, incluyendo afinidad por agonistas, cinéticas de activación, cierre, desensibilización y resensibilización.<sup>33-38</sup>

Los subtipos más prevalentes en el SNC son  $\alpha 7$  y  $\alpha 4\beta 2$  y son fuertemente expresados durante el desarrollo del cerebro.<sup>39-41</sup>

### **1.1.3. Aspectos funcionales de los RnACo.**

#### **1.1.3.1. Sitio de unión de agonistas.**

La activación del receptor tiene lugar cuando un ligando (agonista) es capaz de reconocer una secuencia concreta dentro de la estructura del receptor, se une específicamente a esa estructura y da origen a un cambio conformacional que se traduce en la apertura del poro, permitiendo el flujo de iones. Diferentes autores han demostrado que el sitio de reconocimiento del ligando se localiza entre la subunidad  $\alpha$  del receptor y un sitio complementario de otra subunidad, y en concreto implica a una serie de

aminoácidos dentro de la cadena polipeptídica (Tyr93, Trp149, Tyr190, Cys192-193 y Tyr198).<sup>42-44</sup> Sin embargo, para que tenga lugar la unión del grupo amino cuaternario de la ACo es necesaria la presencia de grupos ricos en electrones en la zona de reconocimiento con los que establecer uniones.

Estudios de difracción de rayos X de monocristales de proteínas que enlazan ACo aisladas de los caracoles *Lymnaea stagnalis* y *Bulinus truncatus* y de la babosa de mar (molusco nudibranchio) *Aplysia californica* revelaron que el grupo amonio cuaternario de la carbamilcolina (un ligando relacionado estructuralmente a ACo) y el nitrógeno pirrolidínico de la nicotina se unen el mismo sitio. La interacción es de tipo catión- $\pi$  con una “caja” aromática formada por los cuatro residuos aromáticos mencionados anteriormente y uno más de la segunda subunidad complementaria (Trp53). En estas tres estructuras cristalinas, el grupo carbamato de la carbamilcolina y el anillo piridínico de la nicotina están orientados hacia los residuos de la segunda subunidad complementaria que es la sección que varía en los diferentes subtipos de RnACo.<sup>45</sup>

#### **1.1.4. Importancia fisiopatológica de los RnACo.**

Las neuronas expresan gran diversidad de RnACo que, junto a los RmACo, son capaces de elevar la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  citosólica por su activación con el agonista endógeno ACo. La localización subcelular de estos receptores, así como su sensibilidad al ligando y sus características cinéticas, condicionan el incremento de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico y su posible función dentro de la célula. Sin embargo, queda mucho por conocer acerca de por qué la célula es capaz de expresar en su membrana de manera tan selectiva gran diversidad de RnACo.

Los RnACo están involucrados en diversas funciones cognitivas del SNC como el aprendizaje y la memoria, la atención, el control de la actividad motora, percepción sensorial y del dolor y la regulación corporal de la temperatura.<sup>46-48</sup> Generalmente estos efectos son debidos a la existencia de RnACo (que suelen contener la subunidad  $\alpha 7$ ) en la terminal presináptica, que actúan modulando la secreción de neurotransmisores.<sup>49</sup> Sin embargo, no hay que olvidar el papel de estos receptores a un nivel postsináptico en el control de la transmisión en ganglios periféricos, hipocampo y corteza sensorial.<sup>50</sup>



Una implicación que ha tomado importancia recientemente es la acción neuroprotectora ejercida por los RnACo, mediada principalmente por el subtipo  $\alpha 7$ , al inducir la síntesis de factores de crecimiento nervioso o reducir la citotoxicidad mediada por glutamato.<sup>51, 52</sup>

La importancia de los RnACo queda demostrada en diversas enfermedades e incluso en procesos de dependencia al tabaco o a drogas, ya que se ha demostrado un incremento del número de RnACo en individuos fumadores.<sup>53</sup>

También se ha demostrado la implicación de los RnACo en enfermedades neurodegenerativas como las enfermedades de Alzheimer o de Parkinson, e incluso en disfunciones cerebrales como el autismo o la esquizofrenia, la ansiedad o analgesia.<sup>54</sup>

### 1.1.5. Agonistas de RnACo

#### 1.1.5.1. Agonistas naturales de RnACo

Los primeros agonistas conocidos actuando sobre RnACo fueron moléculas aisladas de origen natural. Entre ellos podemos mencionar la (-)-nicotina (2), anabaseína (4), (+)-anatoxina-a (5), (-)-citisina (6) y más recientemente (-)-epibatidina (7). A pesar de la potencia de estos agonistas naturales, su utilización terapéutica está limitada por su alta toxicidad, vinculada a su falta de selectividad, y problemas de dependencia, aunque esta última dependería fuertemente de la vía de administración;<sup>55, 56</sup> ver Figura 4.

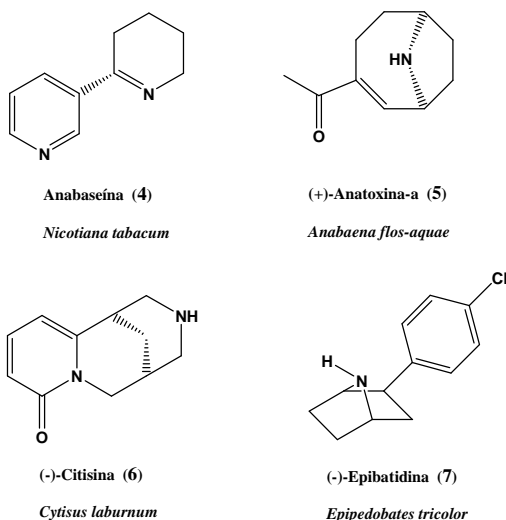


Figura 4. Agonistas naturales del RnACo.

No obstante, la citisina (con el nombre de fantasía Tabex<sup>®</sup>) se utiliza desde hace más de 40 años en Europa Oriental y Central en tratamientos para superar la adicción a la nicotina.<sup>57</sup>

### 1.1.5.2. Agonistas sintéticos de RnACo

Los agonistas de origen sintético están basados principalmente en los de origen natural. La mayoría de los agonistas más potentes y con alta selectividad conocidos hasta ahora son para el subtipo  $\alpha 4\beta 2$  y últimamente para el subtipo  $\alpha 7$ .

Entre los agonistas sintéticos más selectivos al subtipo  $\alpha 4\beta 2$  podemos mencionar los compuestos de la empresa Targacept TC-2403 (**8**) y TC-1734 (**9**), para el tratamiento de la colitis ulcerosa y de la enfermedad de Alzheimer respectivamente; los compuestos desarrollados por la empresa SIBIA SIB-1508Y (**10**) y SIB-1553A (**11**), para las enfermedades de Parkinson y Alzheimer respectivamente; los compuestos de la empresa Abbott ABT-089 (**12**), ABT-418 (**13**) y ABT-594 (**14**), como analgésicos; finalmente, vareniclina (**15**, Champix<sup>®</sup>), un agonista parcial producido por la empresa Pfizer y desarrollado a partir de la (-)-citisina (**6**) que es el único compuesto aprobado por la administración de drogas y alimentos de U.S.A (FDA, siglas por el nombre en inglés) que actúa sobre los RnACo y se comercializa actualmente para tratar la adicción a nicotina.

Por otro lado, la investigación universitaria ha producido compuestos como el DBO-83 (**16**), de la Universidad de Milán, el cual mostró actividad analgésica en modelos animales y UB-165 (**17**) de la Universidad de Bristol y que es un híbrido de (+)-anatoxina-a (**5**) y (-)-epibatidina (**7**), mostrando selectividad y potencia comparable a esta última;<sup>58, 59</sup> ver Figura 5.

En lo que respecta al subtipo  $\alpha 7$ , los primeros compuestos en mostrar selectividad fueron los agonistas parciales GTS-21 (**18**) y 4-OH-GTS-21 (**19**), desarrollados en la Universidad de La Florida y que están basados en anabaseína (**4**), aunque posteriormente se demostró que también son antagonistas para el subtipo  $\alpha 4\beta 2$ . Posteriormente la empresa Targacept desarrolló el agonista selectivo al subtipo  $\alpha 7$  TC-5619 (**20**) con varias aplicaciones potenciales. El anillo bicíclico de quinuclidina se transformó entonces en una parte fundamental en el diseño de nuevas moléculas

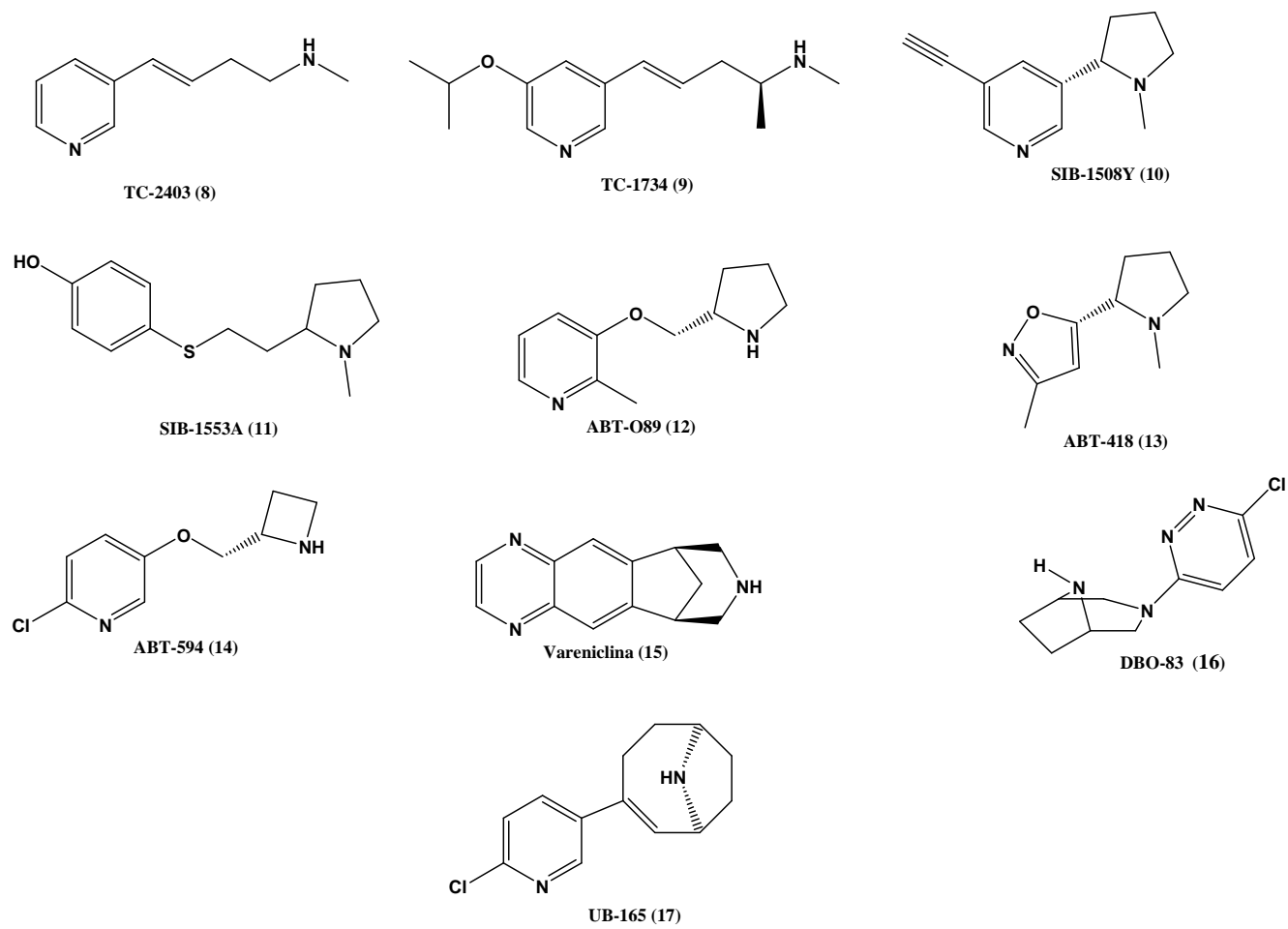
selectivas para este subtipo. De esta forma, las empresas AstraZeneca y Mitsubishi Pharma desarrollaron una serie de agonistas selectivos entre los que podemos mencionar AR-R-17779 (**21**), (+)-3-[2-(benzo[*b*]tiofen-2-il)-2-oxoetil]-1-azabicyclo-[2.2.2]octano (**22**), PNU-282987 (**23**) y (*R*)-3'-(5-clorotiofen-2-il)espiro-1-azabicyclo-[2.2.2]octano-3,5'-[1',3']oxazolidina-2'-ona (**24**);<sup>58, 59</sup> ver Figura 6.

#### **1.1.6. Antagonistas de RnACo.**

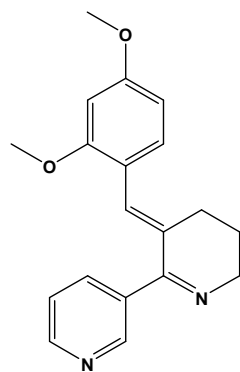
Actualmente existe un gran interés en determinar la estructura y diversidad funcional de los RnACo y en desarrollar agonistas selectivos a subtipos que tengan potencial como agentes terapéuticos para algunas neuropatologías y enfermedades. Sin embargo, se ha prestado poca atención al desarrollo de antagonistas del RnACo selectivos a subtipos. Estos antagonistas podrían ser eficaces para establecer el papel de cada subtipo específico del receptor en su función fisiológica y para el tratamiento de algunas patologías a las cuales se les asocia.

##### **1.1.6.1. Antagonistas competitivos no peptídicos de RnACo.**

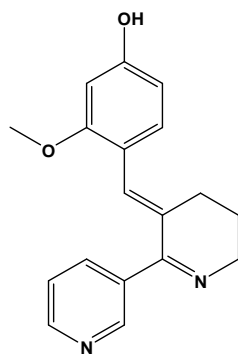
Los antagonistas competitivos conocidos hasta la fecha son principalmente de origen natural como algunos alcaloides eritrinoides aislados de especies del género *Erythrina*. Entre ellos, dihidro-β-eritroidina (**25**) y erisodina (**26**) han sido ampliamente estudiados y se ha demostrado que tienen afinidad nanomolar para los subtipos α4β2 y α3β2 y afinidad micromolar por el subtipo α7.<sup>60, 61</sup> Ambos compuestos inhiben la liberación de dopamina inducida por nicotina con IC<sub>50</sub> de 370 y 100 nM para dihidro-β-eritroidina y erisodina respectivamente, pero se demostró que el primero precipita el síndrome de abstinencia a la nicotina en ratas.<sup>62, 63</sup>



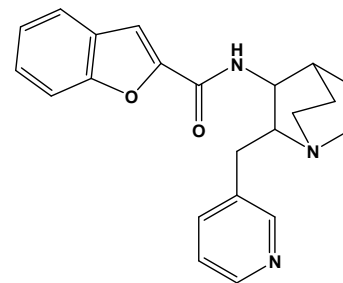
**Figura 5.** Agonistas sintéticos de RnACo, selectivos por el subtipo  $\alpha 4\beta 2$ .



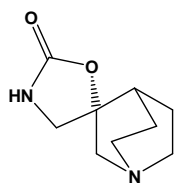
GTS-21 (18)



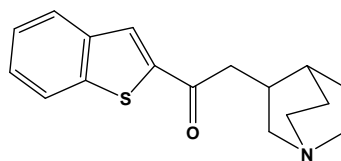
4-OH-GTS-21 (19)



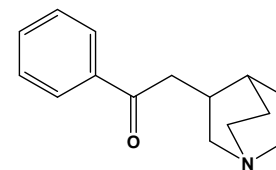
TC-5619 (20)



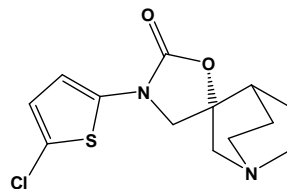
AR-R-17779 (21)



(22)



PNU-282987 (23)



(24)

**Figura 6.** Agonistas sintéticos de RnACo, selectivos por el subtipo  $\alpha 7$ .

Otro ejemplo es metillicaconitina (**27**), un alcaloide diterpénico aislado de *Delphinium brownii*, el cual es uno de los más potentes, ( $K_i = 1 \text{ nM}$ ), selectivos y competitivos antagonistas no peptídicos del RnACo para el subtipo  $\alpha 7$ .<sup>64, 65</sup> Estudios de relación estructura-actividad revelaron que la porción metilsuccinimidobenzoilo de la molécula es necesaria para la interacción de alta afinidad con el subtipo  $\alpha 7$ , y la remoción del grupo metilo, el metilsuccinilo o el benzoilo produce una reducción de la actividad de 20, 1000 o 2000 veces respectivamente.<sup>66</sup> La metillicaconitina tiene poca actividad inhibitoria de la liberación de dopamina inducida por nicotina,<sup>67</sup> disminuye el efecto proliferativo de la nicotina en células cancerosas de pulmón<sup>68</sup> y, tritizada, es usada como radioligando para ensayos de afinidad por el subtipo  $\alpha 7$ .<sup>69</sup>

Alcaloides cuaternarios como (+)-tubocurarina (**28**) y toxiferina (**29**) aislados de especies de *Chondodendron* y *Strychnos*, respectivamente, son antagonistas parcialmente competitivos de RnACo, pero son relativamente poco selectivos.<sup>56</sup> El antagonismo de (+)-tubocurarina presenta componentes de competitivo y no competitivo y en receptores aislados de *Torpedo californica* parece tener dos sitios de enlace.<sup>70</sup>

Los diferentes subtipos de RnACo están involucrados en distinto grado en la liberación de dopamina inducida por nicotina. Esto sugiere que antagonistas selectivos a subtipos pueden ser desarrollados como fármacos para dejar de fumar.

Crooks y col. han modificado la molécula de nicotina para obtener antagonistas selectivos de RnACo. Ellos demostraron que la alquilación del nitrógeno piridínico de la nicotina convierte a esta molécula en un antagonista competitivo potente y selectivo a subtipos<sup>62, 71-73</sup> y esto llevó al descubrimiento de una nueva clase de antagonistas de RnACo, los cuales exhiben potente inhibición de la liberación de dopamina inducida por nicotina. Entre estos compuestos, el dibromuro de 1,12-bis-3-picoliniododecano (**30**) y el dibromuro de 1-(3-picolinio)-12-trimetilamoniododecano (**31**) tendrían un gran potencial como agentes contra la adicción a la nicotina.<sup>74-88</sup>

### 1.1.6.2. Antagonistas competitivos peptídicos de RnACo.

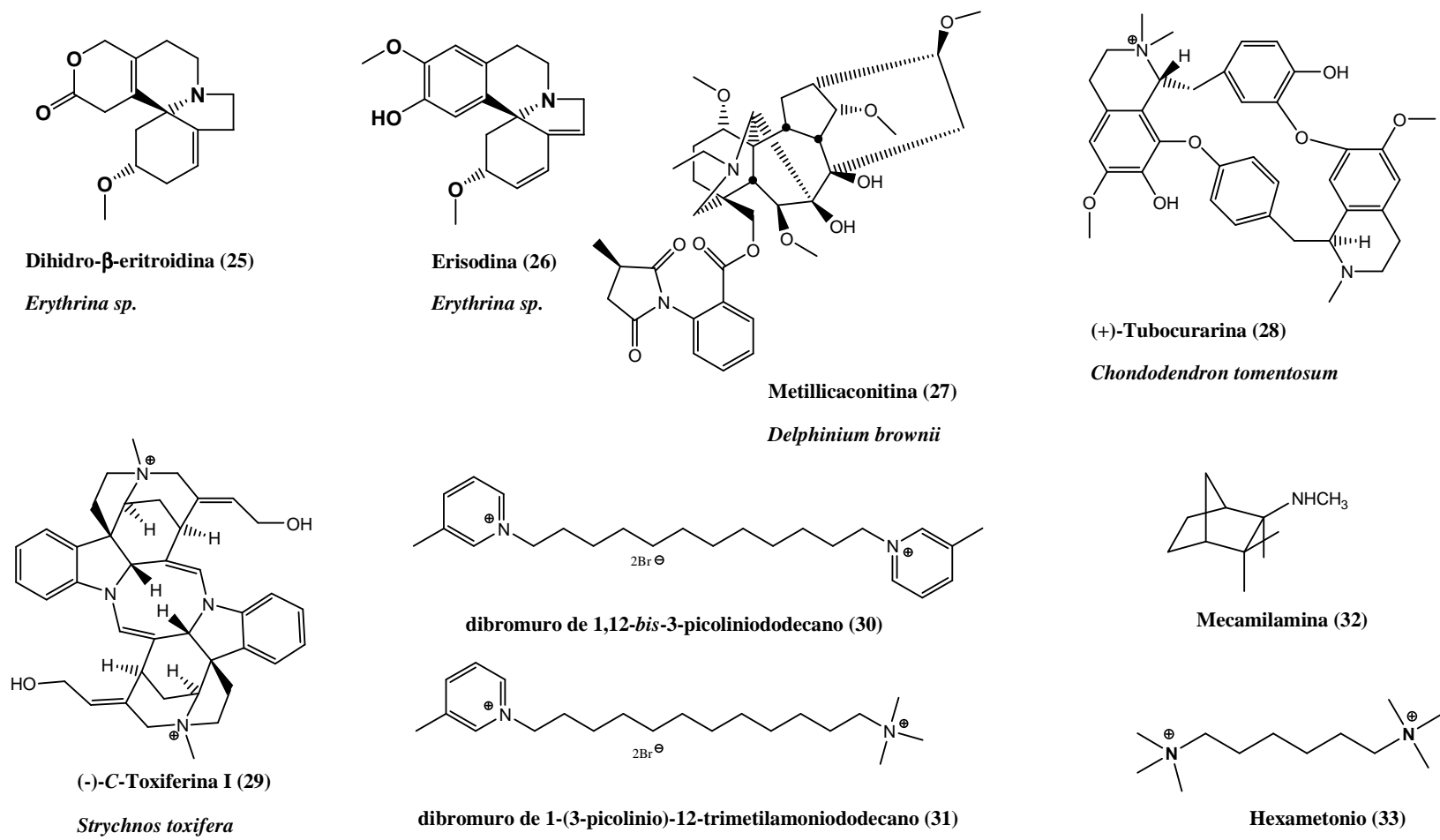
La  $\alpha$ -bungarotoxina, mencionada anteriormente y la  $\eta$ -bungarotoxina ( $\alpha$ -BTX y  $\eta$ -BTX) son dos potentes y selectivos antagonistas que han sido aislados del veneno de la serpiente *Bungarus multicinctus*.  $\alpha$ -BTX inhibe selectivamente los RnACo de los subtipos homoméricos  $\alpha 7$ ,  $\alpha 8$  y  $\alpha 9$ , pero no los subtipos heteroméricos.<sup>89</sup> Recientemente se reportó que  $\alpha$ -BTX inhibe la proliferación celular y la angiogénesis inducida por nicotina en varias líneas celulares.<sup>68, 90-92</sup>

De especies de caracoles marinos del género *Conus* se han aislado una serie de péptidos denominados  $\alpha$ -conotoxinas. Su longitud varía de 12 a 17 residuos y son neurotoxinas que actúan sobre los RnACo,<sup>93-95</sup> algunos con gran afinidad y selectividad como  $\alpha$ -RgIA aislado de *Conus regius* que inhibe al subtipo  $\alpha 9\alpha 10$ ,<sup>96</sup> y Vc1.1 aislado de *Conus victoriae*, también selectivo al subtipo  $\alpha 9\alpha 10$  y que se encuentra en etapa de desarrollo para la terapia del dolor neuropático.<sup>93, 97, 98</sup>

### 1.1.6.3. Antagonistas no competitivos de RnACo.

Mecamilamina (**32**), un compuesto sintético, es un antagonista nicotínico potente pero poco selectivo a los subtipos de RnACo. Este compuesto disminuye la autoadministración de nicotina en ratas.<sup>99</sup> Además, recientemente se ha demostrado que inhibe la angiogénesis inducida por nicotina,<sup>92, 100</sup> inhibe la proliferación del cáncer pulmonar de células pequeñas y disminuye el efecto patobiológico de nitrosaminas derivadas del tabaco sobre células pulmonares BEP2D.<sup>101</sup>

Hexametonio (**33**) es un antagonista de RnACo con poca selectividad que actúa bloqueando el canal del receptor.<sup>102</sup> El hexametonio también inhibe la angiogénesis inducida por nicotina;<sup>100</sup> ver Figura 7.



**Figura 7.** Antagonistas naturales y sintéticos de RnACo.



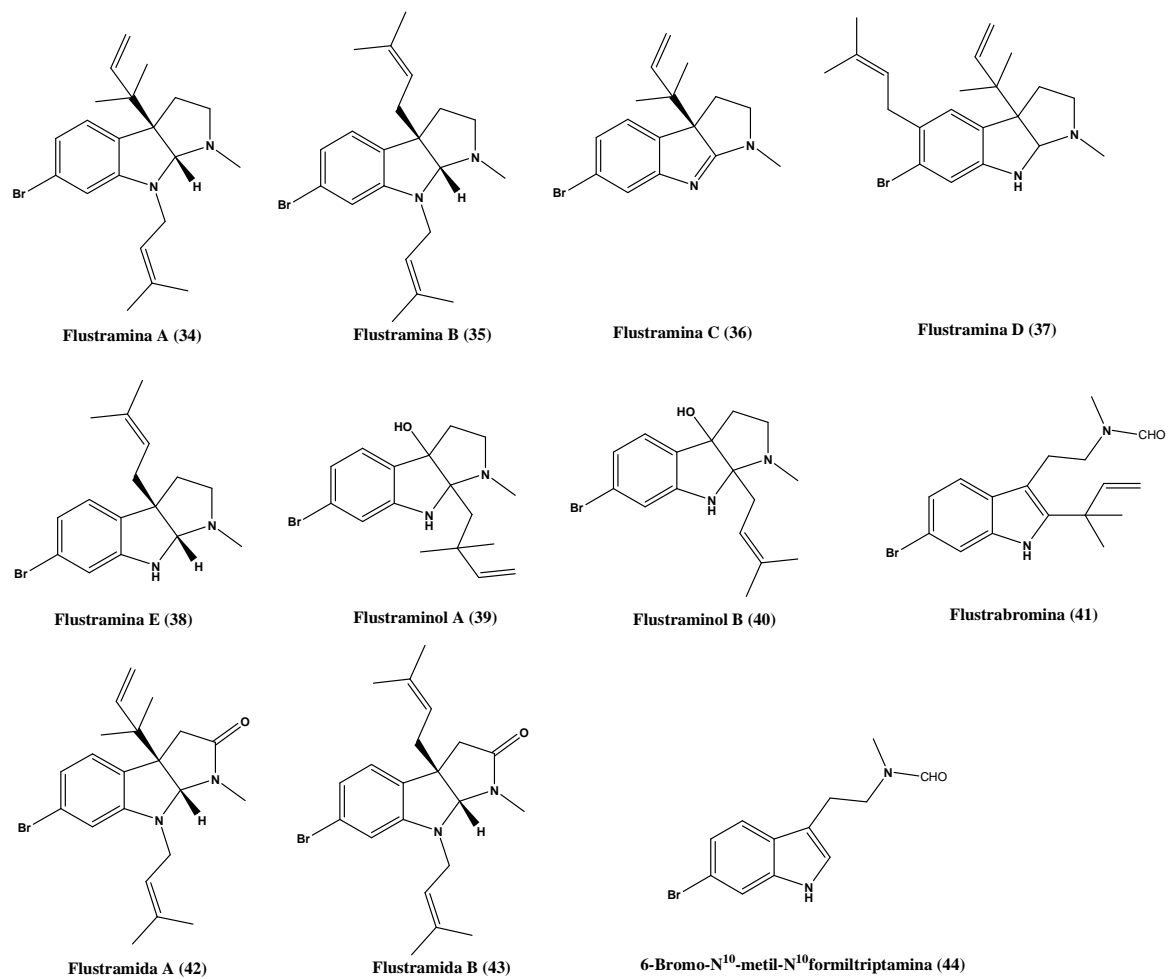
## 1.2. Alcaloides de *Flustra foliacea*.

*Flustra foliacea* es un briozoo extensamente estudiado en términos de los productos naturales que contiene, considerando el número de metabolitos aislados y los estudios realizados. De este organismo marino se ha reportado el aislamiento de terpenos y principalmente alcaloides con núcleos indólicos, pirrolindolínicos y en menor cantidad quinolínicos. Los alcaloides reportados en la literatura son los siguientes: flustraminas A–E (**34-38**), flustraminoles A (**39**) y B (**40**), flustrabromina (**41**), flustramidas A (**42**) y B (**43**), 6-bromo-*N*<sup>10</sup>-metil-*N*<sup>10</sup>-formiltryptamina (**44**), 7-bromo-4-(2-etoxietil)quinolina (**45**), dihidroflustramina C (**46**) y su *N*-óxido (**47**), isoflustramina D (**48**), *N*-óxido de flustramina D (**49**), flustrarina B (**50**), desbromoflustramina B (**51**), 6-bromo-2-(1,1-dimetil-2-propenil)-1*H*-indol-3-carbaldehído (**52**), desformilflustrabromina (**53**), *N*<sup>10</sup>-metanosulfonamida de desformilflustrabromina (**54**) y *N*<sup>1</sup>-prenil-desformilflustrabromina (**55**);<sup>103-105</sup> ver Figura 8.

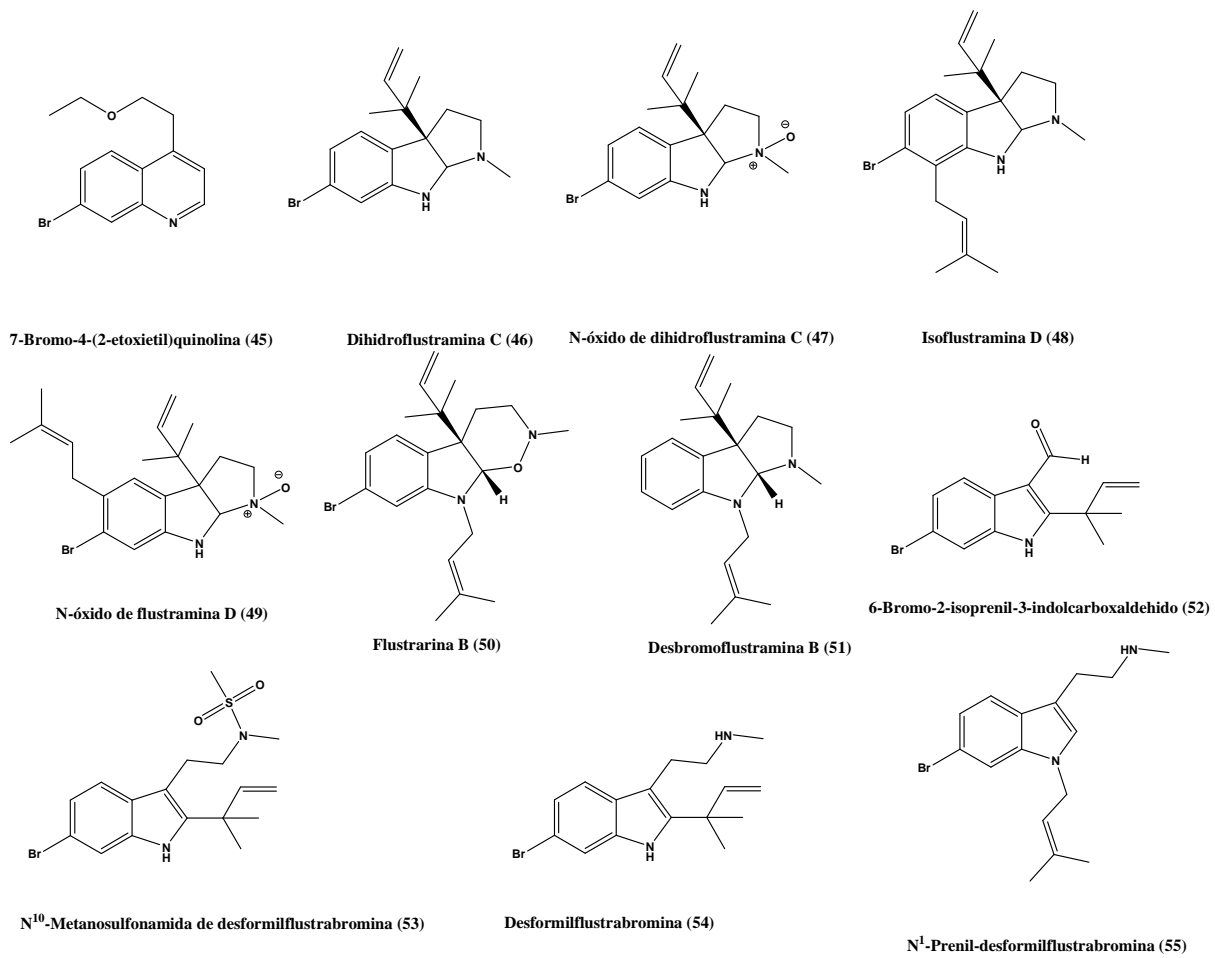
## 1.3. Actividad biológica de alcaloides de *Flustra foliacea*.

Trabajos iniciales con extractos de *F. foliacea* demostraron su actividad biocida frente a *Staphylococcus aureus*.<sup>106</sup> Trabajos posteriores con compuestos puros demostraron que flustramina E (**38**) presentaba actividad antibiótica frente a la bacteria *Bacillus subtilis* y los hongos *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Botrytis cinerea*.<sup>107</sup> Se reportó también que flustramina A (**34**) actúa como un relajante de la musculatura lisa y estriada.<sup>108</sup>

Los alcaloides desformilflustrabromina (**53**) y *N*<sup>1</sup>-prenildesformilflustrabromina (**55**), presentaron afinidad por RnACo en ensayos de desplazamiento de radioligando. Lo más interesante de este estudio fue la selectividad de estos compuestos frente a los subtipos  $\alpha 4\beta 2$  y  $\alpha 7$  de RnACo, ya que **54** fue activo frente al primer subtipo con un  $K_i = 3,4 \mu\text{M}$  pero inactivo frente al segundo subtipo, mientras que **56** fue inactivo frente al primer subtipo y activo frente al segundo con un  $K_i = 17,0 \mu\text{M}$ .<sup>109</sup> En trabajos más recientes se demostró que **54** actúa como modulador alostérico positivo frente al subtipo  $\alpha 4\beta 2$ ,<sup>110</sup> y actúa como antagonista frente al subtipo  $\alpha 7$ , mientras que **56** actúa como antagonista del subtipo  $\alpha 4\beta 2$  y es un modulador alostérico positivo del subtipo  $\alpha 7$ .<sup>111</sup>



**Figura 8.** Alcaloides aislados de *Flustra foliacea*.



**Figura 8.** Continuación. Alcaloides aislados de *Flustra foliacea*.

#### **1.4. Ensayos de actividad biológica frente a RnACo.**

Para determinar la actividad de compuestos frente a RnACo se realizan principalmente dos ensayos: el desplazamiento de un radioligando, por el cual se determina la afinidad de un compuesto por el RnACo y el electrofisiológico, que permite establecer la funcionalidad de un compuesto frente a RnACo, es decir se puede determinar si es agonista, agonista parcial, agonista inverso, modulador alostérico positivo, antagonista competitivo o antagonista no competitivo.

##### **1.4.1. Ensayos de afinidad por desplazamiento de un radioligando.**

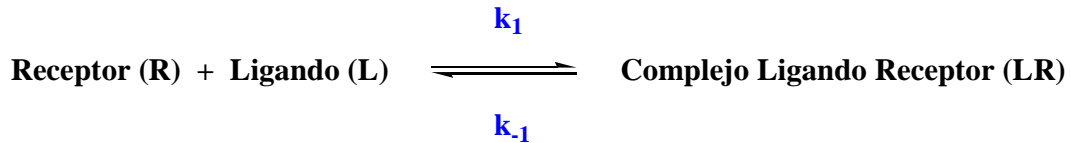
La técnica de desplazamiento de radioligando es una herramienta muy importante en farmacología y es usada para obtener información sobre un receptor (por ejemplo, distribución, concentración, estructura y función) y evaluar agentes potenciales cuando estos impiden la interacción de un radioligando con su receptor. El radioligando es una droga con un marcaje radioactivo que se enlaza con el receptor de interés. Hay dos tipos de experimentos: saturación y desplazamiento.<sup>112, 113</sup>

Los estudios de saturación son usados para determinar la afinidad de un ligando radioactivo por un receptor. Con estos experimentos se puede conocer la  $K_D$  y la  $B_{max}$  del receptor en una muestra o un tejido específico.  $K_D$  es la constante de equilibrio de la disociación del complejo radioligando-receptor  $[R_LR]$  y  $B_{max}$  es la densidad de sitios de unión en los receptores presentes en una preparación particular.

Los estudios de desplazamiento son usados para determinar la afinidad de ligandos no marcados por un receptor definido. El valor de  $K_i$ , la constante de equilibrio de la disociación del complejo droga-receptor  $[DR]$  para un inhibidor competitivo del receptor es una medida de la fuerza de unión de la droga a ese receptor. Las afinidades más altas (valores de  $K_i$  más bajos) denotan uniones más fuertes.

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

Los estudios de afinidad por desplazamiento de un radioligando están basados en procesos de equilibrio químico, que están definidos por la ley de acción de masas; ver Figura 9.



**Figura 9.** Ecuación química en el equilibrio.

El enlace de un radioligando ( $R_L$ ) a un receptor (R) para formar el complejo radioligando-receptor ( $R_LR$ ) no es un proceso estático, sino que éste es visto como un proceso cinético del radioligando entrando y saliendo del receptor. La conformación de equilibrio es un punto de energía libre mínima dentro del campo de fuerza del receptor. Este punto se alcanza cuando la velocidad de asociación es igual a la velocidad de disociación.

En bioquímica este equilibrio es expresado en términos de la reacción de disociación ( $K_D$ ) más que la reacción de asociación ( $K_a$ ). La  $K_D$  es obtenida al reordenar la ecuación de la ley de acción de masas; ver Ecuación 1.

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

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

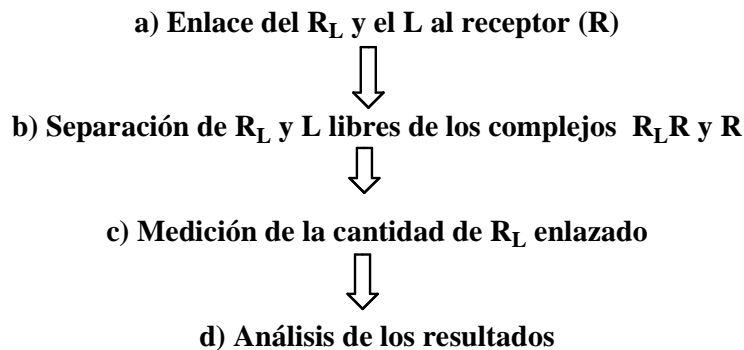
**Ecuación 1.** La ley de acción de masas, donde  $K_D$  es la constante de equilibrio de la disociación.

$K_D$  es una medida de la afinidad del radioligando por el receptor y es igual a  $k_{-1}/k_1$ , donde  $k_1$  es la constante de velocidad para la asociación y  $k_{-1}$  es la constante de velocidad para la disociación.  $[R_L]$  es la concentración del radioligando no enlazado,  $[R]$  es la concentración del receptor no enlazado y  $[R_LR]$  es la concentración del complejo radioligando-receptor. Cuando la concentración del radioligando es igual a

$K_D$ , la mitad de los receptores en equilibrio estarán ocupados. Si el receptor tiene una alta afinidad por el radioligando,  $K_D$  será baja ya que se necesitará una baja  $[R_L]$  para ocupar la mitad de los receptores. La ley de acción de masas no es útil en todas las situaciones, sino solamente cuando:

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

Los pasos básicos para los estudios de afinidad se muestran en la Figura 10.



**Figura 10.** Pasos básicos para los estudios de afinidad.

Para una buena aproximación del enlace del  $R_L$  y el  $L$  al  $R$  se debe tener en cuenta el isótopo, la actividad específica y la estabilidad del  $R_L$ , la concentración de la proteína, la composición del buffer y su pH y finalmente, la duración y la temperatura de incubación.

Una vez alcanzado el equilibrio, el  $R_L$  y el  $L$  libres son separados de los complejos  $R_L R$  y  $R_L$  usando filtración (cuando  $K_D$  es aproximadamente  $10^{-8}$  M o menos) o centrifugación (cuando  $K_D$  es aproximadamente  $10^{-8}$  M o más).

La cantidad de complejo  $R_L R$  formado puede ser estimada midiendo la cantidad de radioactividad sobre el filtro o la pastilla (dependiendo el método de separación) usando un contador  $\beta$  o un contador  $\gamma$ , dependiendo del isótopo utilizado.

La cantidad de  $R_L R$  formado puede ser analizada usando diferentes programas de computación comerciales.<sup>114, 115</sup>

#### 1.4.1.2. Estudios de saturación.

Los experimentos de saturación de enlace del  $R_L$  miden la interacción específica de éste con el R en el equilibrio a varias concentraciones del  $R_L$ . Estos experimentos están basados en varias presunciones:

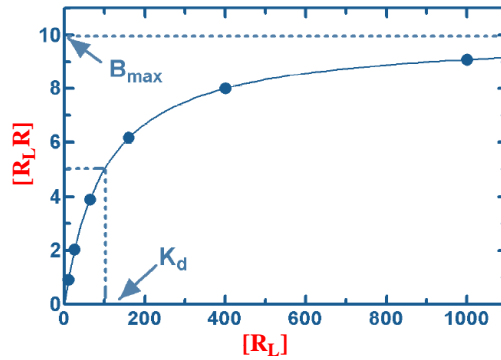
- No hay cooperatividad.
- Los experimentos han alcanzado el equilibrio.
- El enlace es reversible y cumple la ley de acción de masas.
- Solo una pequeña fracción del  $R_L$  se enlaza. La concentración del  $R_L$  libre es casi idéntica a la concentración adicionada.

Tales experimentos están basados en la Ecuación 2, donde  $R_L R$  es la concentración del complejo radioligando-receptor, L es el ligando libre,  $B_{max}$  (meseta de la curva) es una medida de la densidad del receptor en la preparación membranal y  $K_D$  es la concentración de  $R_L$  requerida para ocupar el 50% de los receptores.

$$R_L R = (R_L * B_{max}) / (K_D + R_L)$$

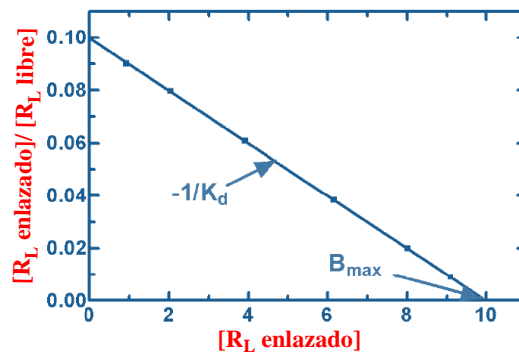
**Ecuación 2.** Ecuación de enlace para un sitio.

Estos experimentos son llamados experimentos de saturación ya que a las concentraciones más altas de  $R_L$ , todos los posibles sitios de enlace están ocupados (saturados) por un  $R_L$ . Una gráfica típica para un experimento de saturación se muestra en la Figura 11.



**Figura 11.** Gráfica típica para la hipérbola de saturación.

El análisis de los resultados de los experimentos de saturación se realiza graficando las concentraciones de L enlazado vs. L libre, como lo muestra la Figura 11 arriba. El resultado es una hipérbola. Debido a que la ecuación 2 no es lineal, los parámetros de enlace no pueden ser fácilmente determinados por análisis gráfico. Sin embargo, existen varias transformaciones lineales para linealizar los datos de enlace, entre los que podemos mencionar los métodos de Lineweaver-Burk, Eadie-Hofstee (para cinéticas enzimáticas), Scatchard y Rosenthal. El prototipo de una gráfica de Rosenthal, posiblemente la transformación lineal más utilizada, se ilustra en la Figura 12. En esta gráfica, el eje X representa el enlace específico y el eje Y el enlace específico dividido por la concentración del  $R_L$  libre. La pendiente de esta línea es igual a  $-1/K_D$ , mientras que el valor de  $B_{max}$  es el intercepto en el eje X.<sup>116, 117</sup>



**Figura 12.** Evaluación de un experimento de saturación con una gráfica de Rosenthal.



### 1.4.1.3. Ensayos de desplazamiento de un radioligando.

Los ensayos de desplazamiento de un  $R_L$  se realizan para determinar la afinidad de un ligando no marcado por un receptor. La afinidad es definida como la habilidad de un ligando para competir con un ligando radioactivo conocido por la unión con un receptor y de esta forma inhibir la unión de éste último. En estos experimentos, conocidos también como de competición, la concentración del  $R_L$  es fija, mientras la concentración del ligando no marcado es variada para evaluar la competencia por el enlace con el receptor. El parámetro de enlace obtenido a partir de este experimento es la concentración del ligando no marcado que desplaza el 50 % del enlace de  $R_L$ , lo que se denomina el valor de  $IC_{50}$ . La  $IC_{50}$  es influenciada por la concentración y la afinidad del radioligando por el receptor. Si la concentración del  $R_L$  es muy alta, se necesitarán concentraciones más altas del ligando no marcado para competir con él. Al mismo tiempo, la concentración no puede ser muy baja ya que los datos obtenidos podrían no ser suficientes para obtener datos confiables. El valor de  $IC_{50}$  puede ser convertido a  $K_i$  usando la ecuación de Cheng y Prusoff; ver Ecuación 3.

$$K_i = IC_{50} / (1 + [R_L] / K_D)$$

**Ecuación 3.** Ecuación de Cheng y Prusoff donde  $IC_{50}$  es la concentración del ligando no marcado que inhibe el 50% de la unión del radioligando,  $[R_L]$ , es la concentración del radioligando usado y  $K_D$  es la afinidad del radioligando por el receptor.

El valor de  $K_i$  es definido como la constante de equilibrio de la disociación para un inhibidor competitivo (agonista o antagonista) del receptor. En otras palabras, el valor de  $K_i$  para un ligando no marcado debería ser el mismo que el valor de  $K_D$  obtenido usando la misma droga marcada. Si el valor de  $K_i$  es bajo, la afinidad del receptor por el inhibidor es alta.<sup>118</sup>

### 1.4.2. Ensayos electrofisiológicos frente al RnACo.

Existen varios métodos electrofisiológicos para determinar el efecto producido por ligandos sobre células excitables. Se pueden mencionar entonces las técnicas de voltaje

fijo con un solo electrodo y de voltaje fijo con dos electrodos (conocida como voltage-clamp) en células enteras, y la de voltaje fijo por succión de un fragmento de membrana celular (conocida como patch-clamp).

En este trabajo nos vamos referir a la técnica de fijación de voltaje con dos electrodos.

#### **1.4.2.1. Técnica de voltaje fijo con dos electrodos.**

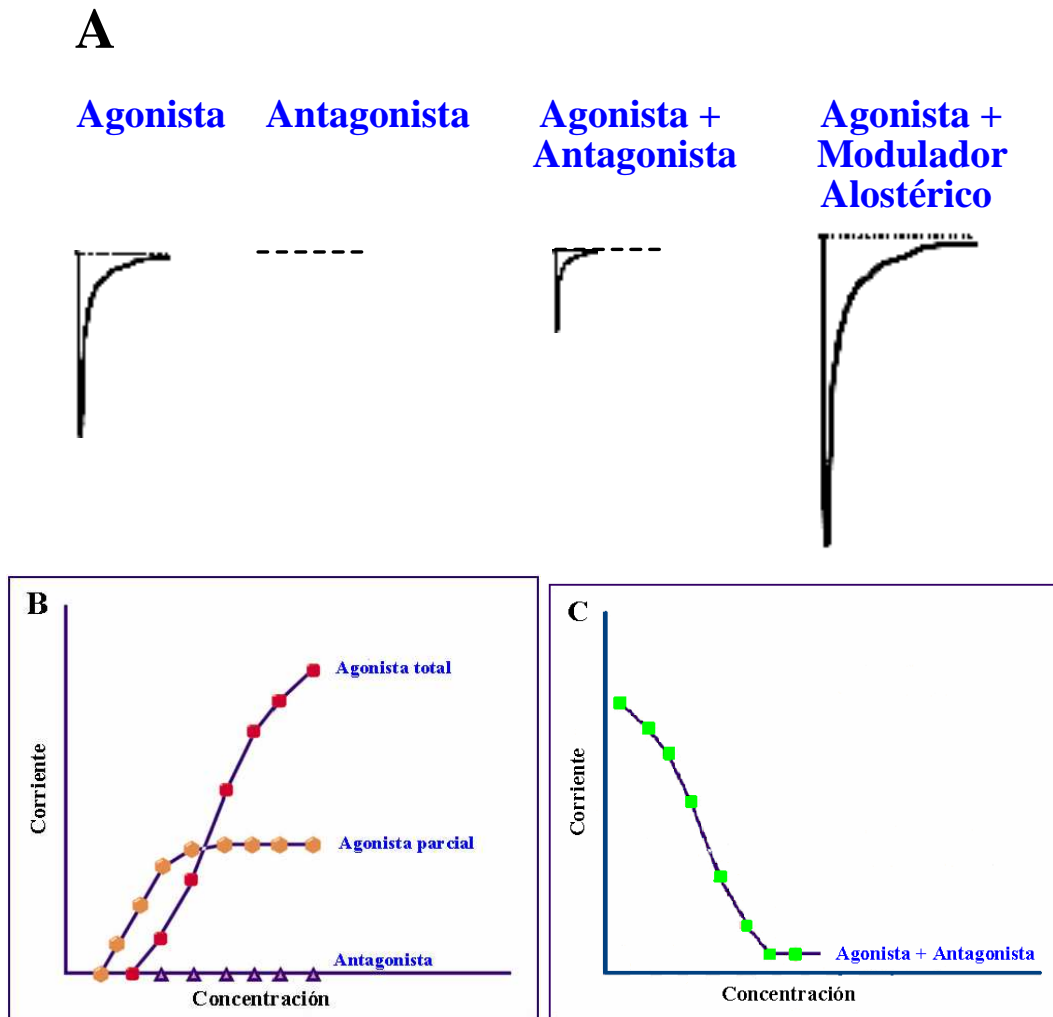
A principios de la década de los 70's se descubrió que los oocitos de la rana *Xenopus laevis* podían expresar proteínas de membrana cuando se les inyectaba mRNA exógeno.<sup>119</sup> Después se utilizó esta técnica para expresar canales iónicos, receptores y transportadores en estas células.<sup>120-123</sup>

Los canales iónicos expresados en los oocitos pueden ser investigados electrofisiológicamente por la técnica de voltaje fijo conocida desde finales de la década de los 40's.<sup>124-126</sup> Esto convirtió a la técnica de voltaje fijo con dos electrodos en la técnica electrofisiológica más usada para medir las corrientes celulares que pasan a través de canales iónicos o transportadores electrogénicos expresados en los oocitos de *Xenopus laevis*.<sup>127-129</sup>

Desde 1986 esta técnica ha sido aplicada también para expresar RnACo y estudiar sus características funcionales frente a diferentes ligandos reportados así como los nuevos ligandos sintéticos que se han desarrollado desde entonces.<sup>130</sup>

Esta técnica permite el control (fijación) del potencial de membrana para medir las corrientes que fluyen a través de los canales, los transportadores electrogénicos o bombas iónicas. En el proceso se implantan dos microelectrodos de vidrio dentro del oocito, uno para el potencial de membrana, que fija el voltaje, y el otro para medir la corriente. El primer electrodo está conectado a un amplificador de retroalimentación donde la señal es comparada al valor de voltaje suministrado por un generador. La diferencia amplificada de esta señal es aplicada como una corriente por medio del electrodo a través de la membrana. Cuando los canales se abren y ocurre el flujo de iones hacia el interior del oocito, el cambio se mide como una deflexión de la línea base de la corriente.

Los compuestos que por si mismos abren el canal del RnACo se denominan agonistas. Los que no alcanzan una respuesta máxima a concentraciones altas se denominan agonistas parciales, los que bloquean las corrientes producidas por los agonistas se denominan antagonistas y los que aumentan la corriente producida por un agonista se denominan moduladores alostéricos positivos; ver Figura 13.



**Figura 13.** Comportamiento y análisis de ligandos del RnACo. **A.** Corrientes producidas por un agonista solo, agonista más antagonista y agonista más modulador alostérico positivo. **B.** Análisis gráfico de las corrientes producidas por un agonista, un agonista parcial y un antagonista. **C.** Análisis gráfico de la inhibición producida por concentraciones crecientes de un antagonista coaplicado con un agonista.

## 1.5. Modelamiento molecular de RnACo.

La determinación de la estructura cristalina de una proteína que enlaza ACo (AChBP) aislada del caracol *Lymnaea stagnalis* permitió la construcción de varios modelos del dominio extracelular de RnACo de distintas especies.<sup>131, 132</sup> Posteriormente se reportaron las estructuras cristalinas de la misma proteína así como de otras AChBP de la babosa de mar (molusco nudibranchio) *Aplysia californica*<sup>133, 134</sup> y del caracol *Bulinus truncatus*<sup>135</sup> enlazadas a diferentes ligandos.<sup>45, 136-139</sup>

Los modelos generados han permitido varios estudios de acomodamiento (docking) y dinámica molecular que han generado el desarrollo de nuevos ligandos para el RnACo con selectividad por subtipos así como la determinación de las formas de interacción más probables de estos ligandos con el receptor.<sup>132, 140-146</sup>

### 1.5.1. Modelamiento molecular de RnACo, subtipo $\alpha 9\alpha 10$ .

El RnACo  $\alpha 9\alpha 10$  se descubrió en las células ciliadas del oído interno y es único en su estructura ya que está formado por dos subunidades  $\alpha$  diferentes. Este subtipo posee características farmacológicas mixtas de los receptores muscarínicos y nicotínicos y además es sensible a un amplio número de ligandos aunque muy pocos son agonistas.<sup>28, 147</sup> Los estudios sobre este subtipo han ampliado nuestro conocimiento sobre la función, el paso eferente olivococlear, y el funcionamiento y desarrollo de las células ciliadas auditivas.<sup>148, 149</sup> Recientemente se reportó que el oído interno requiere el RnACo subtipo  $\alpha 9\alpha 10$  para permitir la modulación de la mecánica coclear por el sistema nervioso central.<sup>150</sup> Además, este subtipo posee otras funciones adicionales a las del sistema auditivo ya que se ha detectado en otros órganos y tejidos del cuerpo, pero su importancia no ha sido determinada. Se ha planteado que este subtipo representa un componente importante en enfermedades humanas y es un blanco farmacológico potencial para la terapia de una variedad de desórdenes auditivos, incluyendo la prevención y/o tratamiento de la pérdida de la audición causada por ruido u otros desórdenes como vértigo o tinnitus.<sup>151</sup>

A pesar de lo anterior, no se han realizado estudios de modelamiento molecular con el RnACo subtipo  $\alpha 9\alpha 10$ .

## 1.6. Hipótesis.

En la serie de las indolilaminas con afinidad por receptores nicotínicos de acetilcolina la potencia frente a receptores del subtipo  $\alpha 9\alpha 10$  o del  $\alpha 4\beta 2$  depende del tamaño del sustituyente lipofílico unido al N-1 y se puede modular modificando la distancia entre el anillo indólico y el nitrógeno básico, introduciendo sustituyentes sobre este último y variando el patrón de sustitución del anillo bencénico.

## 1.7. Objetivos.

El objetivo general de este proyecto es sintetizar y evaluar la actividad como moduladores del RnACo de una serie de moléculas basadas en alcaloides de origen marino, para aumentar la potencia de los productos naturales.

Para lograr este objetivo general se llevarán a cabo los siguientes objetivos específicos:

1. Sintetizar los alcaloides de origen natural aislados del briozoo *Flustra foliacea*.
2. Modificar los alcaloides de *Flustra foliacea* para establecer características importantes para la afinidad frente al RnACo.
3. Sintetizar moléculas con diferente grado de sustitución y complejidad que produzcan aumento en la afinidad de éstas frente al RnACo.
4. Caracterizar el efecto de los compuestos sintetizados sobre el RnACo nativos de rata (subtipo  $\alpha 4\beta 2$ ) usando la técnica de desplazamiento de un radioligando y en oocitos de *Xenopus* (subtipo  $\alpha 9\alpha 10$ ) usando técnicas de medición de voltaje con dos electrodos.

## 2. Parte Experimental.

Los espectros de RMN-<sup>1</sup>H fueron registrados usando los espectrómetros Bruker AMX 300 a 300 MHz, Bruker Avance 400 a 400 MHz, Bruker Avance 500 a 500 MHz y los de RMN-<sup>13</sup>C en los mismos equipos a 75, 100 y 125 MHz respectivamente. Los valores de punto de fusión (no corregidos) fueron obtenidos con un aparato con platina de Kofler. Las placas de CCD fueron visualizadas con luz ultravioleta y el reactivo de Dragendorff.

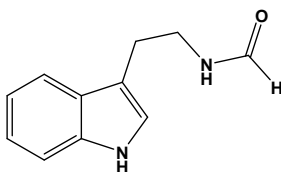
Se utilizaron los siguientes reactivos y solventes, los que fueron adquiridos comercialmente:

Triptamina, indol, *p*-toluidina, ácido sulfúrico 96%, ácido nítrico 65%, bromuro de cobre(I), ácido bromhídrico 48%, nitrito de sodio, dimetilacetal de la dimetilformamida, zinc metálico, hidroxilamina, ácido acético, cloruro de oxalilo, ácido fórmico 98%, anhídrido acético, ditertbutil dicarbonato, hidruro de litio y aluminio, hidruro de sodio, bromuro de prenilo, ácido trifluoroacético, 4-dimetilaminopiridina, cloruro de 4-nitrobenzenosulfonilo, hipoclorito de *tert*-butilo, metilamina, dimetilamina, complejo borano-dimetilsulfuro, borohidruro de sodio, yoduro de metilo, pirrolidina, oxicloruro de fósforo, bromuro de tetrametilamonio, formaldehido 37%, hidróxido de sodio, ácido acrílico, carbonildiimidazol, trietilamina, cloruro de tionilo y ácido indol-2-metanoico.

Tetrahidrofurano, diclorometano, etanol, metanol, dimetilformamida, tolueno, éter etílico, acetona, acetato de etilo y hexano.

### 2.1. Síntesis y datos espectroscópicos de los compuestos.

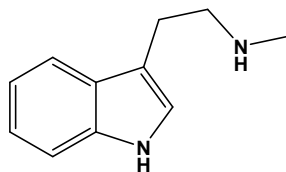
#### *N*<sup>10</sup>-Formiltriptamina (59)



El anhídrido fórmico acético fue generado en un balón de 2 bocas de 50 mL enfriado con un baño de hielo-agua conectado a un condensador de reflujo y con atmósfera de nitrógeno, adicionando gota a gota ácido fórmico 98 % (1.17 g, 25 mmol) a 2.08 g (20 mmol) de anhídrido acético. La solución transparente fue sometida a reflujo (50-60 °C) por 2 h. El anhídrido fórmico acético generado se enfrió a temperatura ambiente y se llevó de nuevo a un baño de hielo-agua y se agregaron 10 mL de tetrahidrofurano mediante una jeringa. A la solución resultante se le adicionó triptamina (3.2 g, 20 mmol) disuelta en tetrahidrofurano. La solución se agitó por 30 min y los volátiles se eliminaron en un evaporador rotatorio. La *N*-formiltriptamina se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano-metanol 9:1) obteniéndose 3.61 g (96 %) de un líquido viscoso de color café.

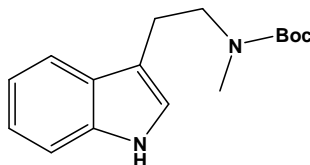
RMN-<sup>1</sup>H (500 Mz, CDCl<sub>3</sub>), rotámero mayoritario, δ 10.80 (s, 1H, NH-1), 7.81 (d, 1H, *J* = 8.6 Hz, H-7), 7.75 (d, 1H, *J* = 8.6 Hz, H-4), 7.06 (t, 1H, *J* = 8.6 Hz, H-5), 7.03 (t, 1H, *J* = 8.6 Hz, H-6), 6.05 (s, 1H, H-2), 2.89 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz, 2H-2'), 2.60 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz, 2H-1').

#### ***N*<sup>10</sup>-Metiltriptamina.**



A una suspensión de hidruro de litio y aluminio (2.5 g, 65.8 mmol) en tetrahidrofurano seco (100 mL) a 0 °C se agregó gota a gota y con agitación constante *N*<sup>10</sup>-formiltriptamina (**59**, 3.5 g, 18.6 mmol) en tetrahidrofurano seco. La suspensión se calentó a reflujo por 1 h, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y luego se colocó en un baño de hielo-agua y se agregó cuidadosamente tetrahidrofurano-agua 1:1 (10 mL). La mezcla fue filtrada al vacío y concentrada al vacío. El producto resultante se usó sin purificación en la reacción siguiente.

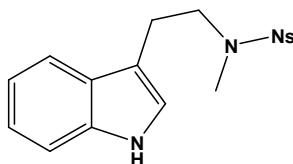
***N*<sup>10</sup>-Metil-*N*<sup>10</sup>-Boc-triptamina (60).**



El producto sin purificar de la reacción anterior se disolvió en metanol-trietilamina 4:1 (120 mL) y se agregó carbonato de di-*tert*-butilo ( $\text{Boc}_2\text{O}$ , 4.87 g, 22.3 mmol) y la mezcla se agitó por 1 h. Los volátiles se evaporaron a presión reducida y el líquido resultante se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano:acetato de etilo 9:1) obteniéndose 3.96 g (72 % los dos pasos) de un líquido viscoso incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (500 Mz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  8.11 (s, 1H, NH), 7.61 (d, 1H  $J = 7.5$  Hz, H-7), 7.34 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz, H-4), 7.17 (t, 1H,  $J = 7.0$  Hz, H-5), 7.10 (t, 1H,  $J = 7.0$  Hz, H-6), 6.98 (m, 1H, H-2), 3.49 (t, 2H,  $J = 7.5$  Hz, 2H-2'), 2.95 (t, 2H,  $J = 7.5$  Hz, 2H-1'), 2.85 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ), 1.33 (s, 9H, Boc).

***N*<sup>10</sup>-Metil-*N*<sup>10</sup>-nosil-triptamina (61).**



La *N*<sup>10</sup>-metiltriptamina fue sintetizada como se mencionó anteriormente reduciendo la *N*<sup>10</sup>-formiltriptamina (3.2 g, 13.2 mmol) con hidruro de litio y aluminio (1.8 g, 47.4 mmol) en tetrahidrofurano seco y la *N*-nosilación se llevó a cabo sin purificación del precursor.

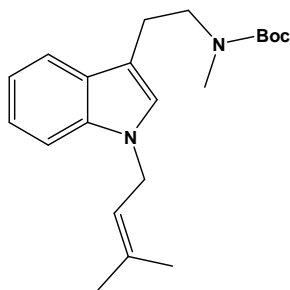
El producto de la reacción anterior se disolvió en diclorometano (60 mL), la mezcla se colocó en un baño de hielo-agua y se agregó con agitación constante trietilamina (2.76 mL, 19.8 mmol), 4-dimetilaminopiridina (0.16 g, 1.3 mmol) y cloruro de 4-nitrobenzenosulfonilo (3.2 g, 14 mmol). La mezcla se dejó llegar a t.a. y se mantuvo a esa temperatura por 2 h. Pasado ese tiempo los volátiles se evaporaron a presión reducida y al sólido resultante se le agregó acetato de etilo (100 mL) y se agitó por media h. El sólido fue filtrado y lavado con el mismo solvente (3 x 20 mL). Las fases



orgánicas reunidas fueron concentradas a presión reducida y el producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano) obteniéndose 5.8 g (95 %) de un sólido amarillo.

RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 10.80 (s, 1H, NH), 8.30 (d, 2H, *J* = 9.0 Hz, H-2,6 Ns), 7.93 (d, 2H, *J* = 9.0 Hz, H-3,5 Ns), 7.47 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-7), 7.30 (d, 1H, *J* = 2.0 Hz, H-2), 7.14 (d, 1H, *J* = 8.0, H-4), 7.04 (t, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-5), 6.96 (t, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-6), 3.33 (t, 2H, *J* = 7.0 Hz, H-2'), 2.92 (t, 2H, *J* = 7.0 Hz, H-1'), 2.83 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>). RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 149.7, (C=O, Boc), 143.3 (C-7<sup>a</sup>), 136.3 (C-3<sup>a</sup>), 128.5 (x 2, C-2,6 Ns), 127.1 (C-2), 124.6 (x 2, C-3,5 Ns), 123.3 (C-3), 121.1 (C-3), 118.5 (C-5), 118.2 (C-6), 111.5 (C-7), 110.6 (C-4), 50.47 (N-CH<sub>3</sub>), 34.36 (C-2'), 23.69 (C-1').

***N*<sup>1</sup>-Prenil-*N*<sup>10</sup>-metil-*N*<sup>10</sup>-Boc-triptamina (62).**

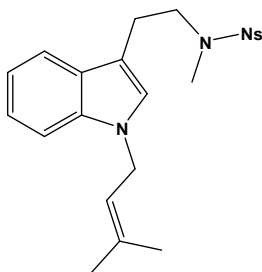


A una suspensión de hidruro de sodio (0.044 g, 1.7 mmol) en tetrahidrofurano seco (10 mL) en un balón de dos bocas a -78 °C equipado con una barra de agitación magnética y atmósfera de nitrógeno, se adicionó gota a gota una solución de *N*<sup>10</sup>-metil-*N*<sup>10</sup>-Boc-triptamina (**60**, 0.398 g, 1.4 mmol) en tetrahidrofurano seco (10 mL). La mezcla se mantuvo con agitación constante por 1 h y posteriormente se adicionó bromuro de prenilo (0.378 g, 1.8 mmol). La mezcla se dejó reaccionar a t.a. durante 16 h y se agregó 1 mL de agua. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano:acetato de etilo 9:1) obteniéndose 0.40 g (81 % los dos pasos) de un líquido incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.61 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, H-7), 7.30 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, H-4), 7.20 (t, 1H, *J* = 8.5, H-5), 7.09 (t, 1H, *J* = 8.5 Hz, H-6), 6.91 (s, 1H, H-2), 5.35 (1H, m, H-2'), 4.63 (2H, d, *J* = 6.6 Hz, 2H-1'), 3.49 (t, 2H, *J* = 7.5 Hz, H-2'), 2.95 (t, 2H, *J* = 7.5 Hz, H-1'), 2.86 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 1.81 (3H, s, CH<sub>3</sub>-4'), 1.76 (3H, s, CH<sub>3</sub>-5'),

1.35 (9H, s, 9H-Boc). RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 155.8 (C=O Boc), 136.3 (C-7<sup>a</sup>), 136.0 (C-3<sup>a</sup>), 128.2 (C-2), 125.4 (C-3), 121.4 (C-7), 120.1 (C-4), 118.9 (C-2''), 118.7 (C-3''), 119.49 (C-5), 109.5 (C-6), 79.17 (C-O Boc), 49.82 (C-1''), 43.97 (C-2'), 34.31 (C-1'), 28.41 (3C, Boc), 25.62 (C-5''), 18.00 (C-6'').

***N*<sup>1</sup>-Prenil-*N*<sup>10</sup>-metil-*N*<sup>10</sup>-nosil-triptamina (63).**



Este compuesto se sintetizó de la misma manera que el anterior con hidruro de sodio (0.045 g, 1.9 mmol) en tetrahidrofurano seco (10 mL), *N*<sup>10</sup>-metil-*N*<sup>10</sup>-nosiltriptamina (61, 0.525 g, 1.46 mmol) en tetrahidrofurano seco (15 mL) y posterior adición de bromuro de prenilo (0.283 g, 1.90 mmol). La purificación produjo 0.15 g (24 %) de un líquido amarillo.

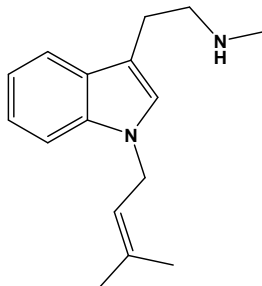
RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.17 (d, 2H, *J* = 9.0 Hz, 2H-2,6 Ns), 7.80 (d, 2H, *J* = 9.0 Hz, 2H-3,5 Ns), 7.47 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-7), 7.24 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-4), 7.16 (t, 1H, *J* = 8.0, H-5), 7.06 (t, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-6), 6.89 (s, 1H, H-2), 5.31 (m, 1H, H-2''), 4.60 (d, 2H, *J* = 7.0 Hz, H-1'), 3.50 (d, 2H, *J* = 7.5 Hz, H-2'), 3.40 (t, 2H, *J* = 7.0 Hz, H-1'), 2.88 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 1.81 (s, 3H, H-5''), 1.75 (s, 3H, H-6''). RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 149.7 (x 2, C-2,6 Ns), 144.2 (x 2, C-3,5 Ns), 136.4 (C-7<sup>a</sup>), 136.2 (C-3<sup>a</sup>), 128.1 (C-2), 127.8 (C-3), 127.6 (C-7), 125.5 (C-4), 124.0 (C-5), 123.9 (C-6), 121.7, 119.8 (C-2''), 119.0 (C-3''), 118.5, 110.3, 109.7, 50.85 (C-1''), 43.92 (C-2'), 34.97 (C-1'), 25.64 (C-5''), 24.30 (C-6'').

**Desprotección del producto *N*<sup>10</sup>-nosilado.**

Para la remoción del grupo nosilo se ensayaron varias estrategias reportadas. Las reacciones con hidróxido de litio/ácido 2-mercaptoacético/*N,N*-dimetil formamida, metóxido de sodio/ácido 2-mercaptoacético/*N,N*-dimetil formamida y carbonato de sodio/tiofenol/*N,N*-dimetil formamida no tuvieron efecto y el material de partida se recuperó intacto. La reacción de desprotección con carbonato de cesio/tiofenol/*N,N*-

dimetil formamida removi6 el grupo nosilo pero gener6 muchos subproductos lo cual imposibilit6 la purificaci6n de los productos finales.

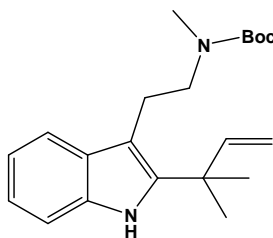
**Desbromo-*N*<sup>1</sup>-prenildesformilflustrabromina (57).**



A una soluci6n de *N*<sup>1</sup>-prenil-*N*<sup>10</sup>-metil-*N*<sup>10</sup>-Boc-triptamina (0.3 g, 0.9 mmol) en diclorometano (2 mL) se le adicion6 6cido trifluoroac6tico (0.2 mL) y la soluci6n roja resultante se agit6 a temperatura ambiente por 2 h. A la mezcla de reacci6n se le agreg6 una soluci6n acuosa saturada de bicarbonato de sodio (2 mL) y la fase org6nica se extrajo con diclorometano (3 x 5 mL), se sec6 con sulfato de magnesio anhidro y se concentr6 a presi6n reducida. El producto fue purificado por cromatograf6a en columna (gel de s6lice, diclorometano/metanol/trietilamina 9:0.5:0.5) y se obtuvo 0.20 g (94 %) de un l6quido incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.60 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-7), 7.28 (t, 1H, *J* = 8.5 Hz, H-4), 7.18 (t, 1H, *J* = 7.0, H-5), 7.08 (t, 1H, *J* = 7.0, H-6), 6.92 (s, 1H, H-2), 5.35 (1H, m, H-2''), 4.63 (2H, d, *J* = 7.0 Hz, H-1'), 2.96 (t, 2H, *J* = 7.0 Hz, 2H-2'), 2.89 (t, 2H, *J* = 7.0 Hz, 2H-1'), 2.42 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 1.80 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-4'), 1.74 (3H, s, CH<sub>3</sub>-5').  
RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 136.3 (C-7<sup>a</sup>), 136.0 (C-3<sup>a</sup>), 128.0 (C-2), 125.3 (C-3), 121.4 (C-7), 120.0 (C-4), 119.0 (C-5), 118.7 (C-6), 112.3 (C-4'), 109.5 (C-5'), 52.12 (NCH<sub>3</sub>) 43.91 (C-2'), 36.25 (C-1'), 25.62 (C-4'), 25.53 (C-5').

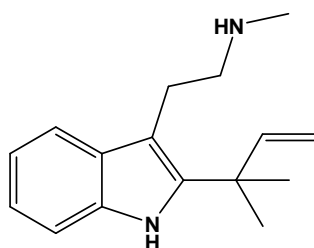
***N*<sup>1</sup>-Boc-desbromodesformilflustrabromina (64).**



A una solución de  $N^{10}$ -metil- $N^{10}$ -Boc-triptamina (**62**, 0.5 g, 1.8 mmol) en THF seco (20 mL) enfriado a  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  se adicionó hipoclorito de *tert*-butilo (*t*-BuOCl, 0.21 g, 2.0 mmol) y trietilamina (0.20 g, 2.0 mmol), y la mezcla se mantuvo en agitación por 30 min. Pasado este tiempo se adicionó triprenil borano (1.66 g, 8 mmol) en tetrahidrofurano seco (10 mL). La mezcla de reacción se dejó llegar a temperatura ambiente y se agitó por 16 horas. Después se adicionó una solución de hidróxido de sodio 3 M (10 mL) y peróxido de hidrógeno al 30 % (10 mL) y la mezcla se agitó por 1 h. La solución resultante se extrajo con éter etílico (3 x 30 mL) y la fase orgánica se secó con sulfato de magnesio anhidro. El producto se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, acetato de etilo:éter de petróleo 25:75) produciendo 0.53 g (85 %) de un líquido incoloro.

RMN- $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.93 (s, 1H, NH), 7.56 (d, 1H,  $J = 7.0$  Hz, H-7), 7.28 (d, 1H,  $J = 7.0$  Hz, H-4), 7.13 (t, 1H,  $J = 7.0$  Hz, H-5), 7.07 (t, 1H,  $J = 7.0$  Hz, H-6), 6.12 (dd, 1H,  $J = 10.7, 17$  Hz, H-3'') 5.17 (dd, 1H,  $J = 1.2, 17.0$  Hz, H-3'), 5.15 (dd, 1H,  $J = 1.0, 10.7$  Hz, H-2''), 3.43 (t, 2H,  $J = 7.8$  Hz, 2H-2'), 3.03 (t, 2H,  $J = 7.8$  Hz, 2H-1'), 2.94 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ), 1.49 (s, 9H, 9H Boc). RMN- $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  156.1 (C=O Boc), 146.3 (C-7<sup>a</sup>), 140.1 (C-3<sup>a</sup>), 134.6 (C-2), 130.1 (C-7), 121.8 (C-3''), 119.6 (C-2''), 118.4 (C-3), 112.4 (C-4), 110.9 (C-5), 79.90 (C-O Boc), 50.07 ( $\text{NCH}_3$ ), 39.35 (C-2'), 34.75 (C-1'), 29.00 (x 3, Boc), 24.27 (x 2, C-4''-5'').

#### Desbromodesformilflustrabromina (**56**).



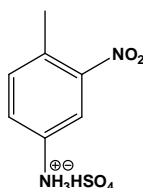
La desprotección fue realizada de la misma forma que la mencionada anteriormente. El producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano/metanol/trietilamina 9:0.5:0.5) y se obtuvo 0.11 g (78 %) de un líquido incoloro.

RMN- $^1\text{H}$  (Sal oxálica, 500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  8.34 (s, 1H, NH-1), 7.51 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz, H-7), 7.32 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz, H-4), 7.02 (t, 1H,  $J = 7.0$  Hz, H-5), 6.95 (t, 1H,  $J =$

7.0 Hz, H-6), 6.13 (dd, 1H,  $J = 10.7, 17.0$  Hz, H-3'') 5.09 (dd, 1H,  $J = 1.2, 17.0$  Hz, H-3'), 5.06 (dd, 1H,  $J = 1.0, 10.7$  Hz, H-2''), 3.08 (t, 2H,  $J = 7.5$  Hz, H-2'), 2.96 (t, 2H,  $J = 7.5$  Hz, H-1'), 2.60 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 1.48 (s, 6H, 6H-4''-5''). RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ146.1 (C-7<sup>a</sup>), 140.8 (C-3<sup>a</sup>), 134.8 (C-2), 128.7 (C-3), 120.7 (C-7), 118.6 (C-4), 117.5 (C-5), 111.5 (C-6), 111.2 (C-2''), 104.6 (C-3'), 59.86 (NCH<sub>3</sub>) 48.82 (C-2'), 32.45 (C-1'), 27.85 (C-4''), 21.57 (C-5''), 14.21 (C-1'').

### 6-Bromoindol (67).

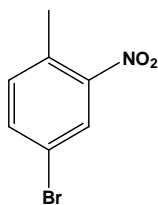
#### Sulfato ácido de 3-nitro-4-metilfenilamonio.



A una solución de *p*-toluidina (27 g, 0.25 mol) en ácido sulfúrico 96% (135 g) a -5 °C se adicionó con agitación una solución de ácido nítrico concentrado (25.2 g, 0.26 mol) en ácido sulfúrico 96% (90 g) durante 2 h. La temperatura se mantuvo por 2 h y la mezcla resultante se dejó a temperatura ambiente toda la noche. La mezcla oscura resultante se agregó a 300 g de hielo y un sólido amarillo se formó en un período de 30 min. El sólido se filtró, se lavó con agua fría, se secó al aire y se recrystalizó en metanol produciendo placas casi transparentes y en agua produciendo agujas (52 g, 64 % de rendimiento) P.f. > 250 °C (descomposición).

RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.22 (d, 1H,  $J = 2.5$  Hz, H-1), 7.02 (d, 1H,  $J = 8.7$  Hz, H-4), 6.74 (dd, 1H,  $J = 2.7, 8.0$  Hz, H-5), 2.40 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

#### 4-Bromo-2-nitrotolueno.

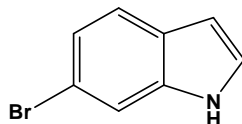


Sulfato ácido de 3-nitro-4-metilfenilamonio (35.8 g, 0.14 mol) fue suspendido en ácido bromhídrico 12% (200 mL) y enfriado a 0 °C con un baño de agua-hielo. Una solución

fría de nitrito de sodio (18 g, 0.26 mol) en agua (45 mL) fue adicionada lentamente a la suspensión con agitación constante, manteniendo la temperatura a 0 °C. En un balón aparte, fue preparada una solución de bromuro de cobre(I) (20.25 g, 0.14 mol) en ácido bromhídrico 48% (27 mL), y se calentó a reflujo. Porciones frías de la sal de diazonio fueron adicionadas a esta última solución en un periodo de 1 h. La mezcla se mantuvo a reflujo hasta que dejaron de salir los gases y se enfrió a temperatura ambiente. La solución se colocó en un baño de hielo, al cabo de 3 h se filtró el sólido resultante y se lavó con agua fría. El producto se recristalizó en etanol produciendo 23.3 g (77 %) de agujas amarillas, P.f. 45-47 °C.

RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 8.04 (d, 1H, *J* = 2.1 Hz, H-3), 7.54 (dd, 1H, *J* = 1.8, 8.3 Hz, H-6), 7.16 (dd, 1H, *J* = 0.5, 8.3 Hz, H-5), 2.48 (d, 3H, *J* = 0.5 Hz, CH<sub>3</sub>).

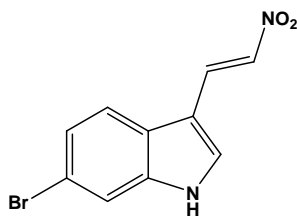
### 6-Bromoindol.



Una solución de 4-bromo-2-nitrotolueno (10 g, 46 mmol), dimetilacetal de dimetilformamida (7.9 mL, 56 mmol) y pirrolidina (4.6 mL, 56 mmol) en dimetilformamida (100 mL) se calentó a 110 °C por 4 h en atmósfera de nitrógeno y con agitación constante, después de lo cual se concentró a presión reducida y la mezcla resultante se colocó en un baño de hielo. La mezcla fue redisuelta en metanol/tetrahidrofurano 1:1 (100 mL), se adicionó catalizador de Níquel/Raney y a la mezcla bien agitada se adicionó hidrazina monohidratada gota a gota durante 1 h manteniendo la temperatura por debajo de 10 °C. Al finalizar la adición se retiró el baño de hielo y la mezcla se dejó reaccionar por 16 h a temperatura ambiente. La mezcla resultante fue filtrada con Celite® y el filtrado fue concentrado a presión reducida. El producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, hexano/diclorometano 1:1) produciendo un sólido blanco (7 g, 77% los dos pasos). P.f. 91-92 °C.

RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 6.54 (m, 1H, H-2), 7.18 (t, 1H, *J* = 2.5 Hz, H-3), 7.23 (dd, 1H, *J* = 2.0, 9.1 Hz, H-5), 7.51 (d, 1H, *J* = 9.1 Hz, H-4), 7.55 (d, 1H, *J* = 2.0 Hz, H-7), 8.14 (s, 1H, NH).

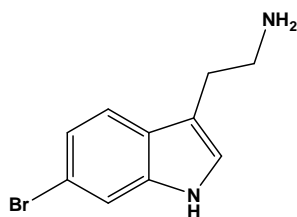
### 3-(2-Nitroetenil)-6-bromoindol (68):



A una mezcla de 6-bromoindol (2.00 g, 10.3 mmol) y 1-dimetilamino-2-nitroeteno (1.20 g, 10.3 mmol) en atmósfera de nitrógeno fue adicionado ácido trifluoroacético (10 mL) y la mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente por 10 min. La solución roja resultante fue adicionada a una solución saturada de bicarbonato de sodio y extraída con acetato de etilo (3 x 30 mL). Las fases orgánicas combinadas fueron secadas con sulfato de sodio anhidro y el solvente fue evaporado a presión reducida. El producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano) obteniéndose 2.61 g (96 %) del producto como un sólido amarillo amorfo. P.f. 156-158 ° C.

RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 12.28 (s, 1H, NH), 8.38 (d, 1H, *J* = 13.5 Hz, H-2'), 8.25 (s, 1H, H-2), 8.02 (d, 1H, *J* = 13.5 Hz, H-1'), 7.93 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz H-5), 7.71 (d, 1H, *J* = 0.1 Hz, H-4), 7.33 (dd, 1H, *J* = 8.4, 0.1 Hz, H-7)

### 6-Bromotriptamina (69):



A una suspensión agitada de borohidruro de sodio (1.35 g, 40 mmol) en tetrahidrofurano (100 mL) a 0 °C fue adicionado trifluoruro de boro eterato (BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O) (5.6 mL, 44 mmol) gota a gota durante un período de 30 min. La mezcla se agitó a temperatura ambiente por 30 min más. Una solución de 3-(2-nitroetenil)-6-bromoindol (2.0 g, 7.5 mmol) en tetrahidrofurano (20 mL) fue entonces adicionada gota a gota a la suspensión inicial y la mezcla se calentó a reflujo por 2 h. Después de enfriar la mezcla a temperatura ambiente, la reacción fue detenida por la adición cuidadosa de hielo. La

mezcla fue acidificada con ácido clorhídrico 1 N y calentada a 80-85 °C por otras 2 h. La solución resultante se enfrió a temperatura ambiente, se extrajo con éter etílico (2 x 20 mL) y se hizo básica con hidróxido de sodio acuoso 4 N para liberar la amina. Cloruro de sodio sólido fue adicionado a la solución y se extrajo con éter etílico (3 x 50 mL). La fase orgánica fue secada con sulfato de sodio anhidro y concentrada a presión reducida y el producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano:metanol:amoníaco acuoso 8:2:0.1) obteniéndose 1.2 g (62 %) de un sólido blanco 105-107 °C .

RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.67 (s, 1H, NH), 7.48 (d, 1H, *J* = 1.5 Hz, H-7), 7.46 (d, 1H, *J* = 8.6 Hz, H-4), 7.21 (dd, 1H, *J* = 8.4, 1.5 Hz, H-5), 6.98 (s, 1H, H-2) 3.02 (t, 2H, *J* = 6.4 Hz, 2H-1'), 2.88 (t, 2H, *J* = 6.4 Hz, 2H-2').

#### **2-[6-Bromo-1*H*-indol-3-il]-*N*-metil-2-oxoacetamida (70).**

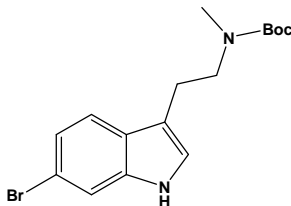
A una solución de 6-bromoindol (1.50 g, 7.65 mmol) en Et<sub>2</sub>O seco (20 mL) a 0 °C se agregó gota a gota cloruro de oxalilo (0.8 mL, 9.20 mmol, 1.2 eq.) y la mezcla se agitó por 3 h a esa temperatura. La suspensión amarilla resultante se dejó llegar a temperatura ambiente en el transcurso de 1 h y el sólido amarillo se filtró y se lavó con éter etílico frío. El sólido amarillo se usó directamente en la siguiente reacción.

El sólido amarillo se colocó en un balón de dos bocas de 500 mL, se agregó diclorometano seco (200 mL) y a la suspensión resultante se le burbujeó metilamina con agitación constante por 15 min. Se detuvo el burbujeo de metilamina y la suspensión se agitó por 15 min más, período durante el cual la suspensión pasó de color amarillo a blanco. El solvente se evaporó a presión reducida y a la mezcla resultante se le agregó agua (200 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 150 mL), la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se recristalizó en etanol produciendo 1.83 g (85 % los dos pasos) de agujas incoloras.

RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 12.24 (s, 1H, NH-2'), 8.77 (s, 1H, NH-1), 8.66 (d, 1H, *J* = 4.5 Hz, 2-H), 8.14 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, 4-H), 7.72 (d, 1H, *J* = 1.5 Hz, 7-H), 7.38 (dd, 1H, *J* = 8.5, 1.5 Hz, 5-H), 2.74 (d, 3H, *J* = 5.0 Hz, N-CH<sub>3</sub>). RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 182.3 (C-2'), 163.9 (C-1'), 139.4 (C-7<sup>a</sup>), 137.4 (C-3<sup>a</sup>), 125.5 (C-4), 125.4 (C-7), 123.1 (C-2), 116.0 (C-3), 115.4 (C-6), 112.2 (C-5), 25.67 (N-CH<sub>3</sub>).



**6-Bromo-*N*<sup>10</sup>-metiltriptamina (56) a partir de 2-[6-bromo-1*H*-indol-3-il]-*N*-metil-2-oxoacetamida (70).**



En un balón de 3 bocas equipado con una barra de agitación magnética y en atmósfera de nitrógeno, se colocó 2-[6-bromo-1*H*-indol-3-il]-*N*-metil-2-oxoacetamida (**70**, 1.57 g, 5.56 mmol) en tetrahidrofurano seco (10 mL), se calentó a reflujo y se agregó el complejo borano-sulfuro de dimetilo (9.3 mL de una solución 3M en tetrahidrofurano, 19 mmol) permitiendo la destilación del sulfuro de dimetilo. La mezcla se mantuvo a esa temperatura por 15 min. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y después se colocó en un baño de hielo-agua manteniendo la temperatura por debajo de 5 °C. A la solución fría se agregó metanol (5 mL) y se burbujeó cloruro de hidrógeno hasta pH 2. La mezcla ácida se calentó a reflujo por 1 h, se enfrió y se alcalinizó con hidróxido de sodio 2M hasta pH 9 y se extrajo con diclorometano (3 x 10 mL). El producto no se purificó y se utilizó directamente en el paso siguiente.

La protección con Boc se realizó de igual forma como se mencionó anteriormente. El producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano:acetato de etilo 9:1) obteniéndose 1.2 g (68 % los dos pasos) de un líquido incoloro.

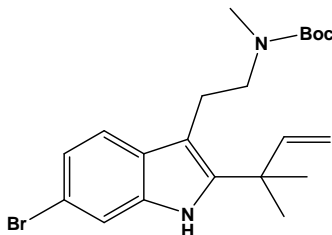
RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.44 (s, 1H, NH), 7.48 (d, 1H, *J* = 1.5 Hz, H-7), 7.44 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, H-4), 7.18 (dd, 1H, *J* = 8.5, 1.5 Hz, H-5), 6.92 (s, 1H, H-2), 3.47 (t, 2H, *J* = 7.5 Hz, 2H-2'), 2.91 (t, 2H, *J* = 7.5 Hz, 2H-1'), 2.82 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 0.9 (s, 9H, Boc). RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 155.8 (C=O Boc), 137.1 (C-7<sup>a</sup>), 126.4 (C-2), 122.6 (C-5), 122.4 (C-6), 119.9 (C-3<sup>a</sup>), 115.4 (C-7), 114.1 (C-3), 113.3 (C-4), 79.32 (C-O Boc), 49.44 (C-2'), 34.21 (C-1'), 28.28, (C-Boc) 23.82, (C-Boc) 28.41 (C-Boc).

**6-Bromo-*N*<sup>10</sup>-metiltriptamina (56) a partir de 6-bromotriptamina (69):**

La formilación en *N*<sup>10</sup>, la reducción de la amida con borano-sulfuro de dimetilo y la protección con Boc se realizaron como se ha mencionado. El producto fue purificado

por cromatografía en columna (gel de sílice, acetato de etilo:hexano 75:25) obteniéndose 1.2 g (32 % los tres pasos) de un líquido incoloro.

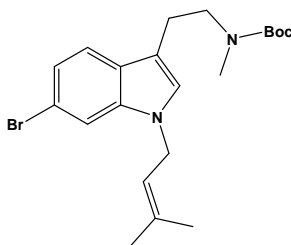
**N<sup>1</sup>-Boc-desformilflustrabromina (71).**



Sintetizado a partir de **56** utilizando el procedimiento mencionado anteriormente para **64**. El producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice acetato de etilo:hexano 25:75): 70 % de rendimiento.

RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.13 (s, 1H, NH), 7.49 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-7), 7.45 (d, 1H, *J* = 2.0 Hz, H-4), 7.20 (dd, 1H, *J* = 8.0, 2.0 Hz, H-5), 6.10 (dd, 1H, *J* = 10.7, 17.0 Hz, H-2'') 5.10 (dd, 1H, *J* = 1.2, 17.0 Hz, H-3''), 5.07 (dd, 1H, *J* = 1.0, 10.7 Hz, H-3'), 3.39 (t, 2H, *J* = 7.8 Hz, 2H-2'), 3.13 (t, 2H, *J* = 7.8 Hz, 2H-1'), 2.65 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 1.45 (s, 3H, 3H-4'), 1.46 (s, 3H, 3H-5'), 1.49 (s, 9H, Boc). RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 156.1 (C=O Boc), 148.8 (C-7<sup>a</sup>), 146.5 (C-3<sup>a</sup>), 136.0 (C-2), 128.3 (C-3), 121.6 (C-7), 119.9 (C-4), 113.9 (C-2''), 113.6 (C-3''), 111.7 (C-5), 79.95 (C-O Boc), 49.92 (NCH<sub>3</sub>), 39.43 (C-2'), 34.67 (C-1'), 29.05 (x 3, Boc), 24.63 (x 2 C-4', 5').

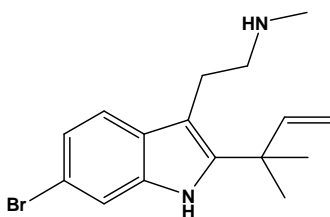
**N<sup>1</sup>-Prenil- N<sup>10</sup>-Boc-desformilflustrabromina (72).**



Sintetizado a partir de **56** utilizando el procedimiento mencionado anteriormente para **62**. El producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice acetato de etilo:hexano 25:75) 77 % de rendimiento.

RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.43 (d, 1H, *J* = 1.5 Hz, H-7), 7.41 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, H-4), 7.17 (dd, 1H, *J* = 8.5, 1.5 Hz, H-5), 6.83 (s, 1H, H-2), 5.30 (m, 1H, H-2'), 4.55 (d, 2H, *J* = 6.6 Hz, 2H-1'), 3.44 (t, 2H, *J* = 7.5 Hz, 2H-2'), 2.89 (t, 2H, *J* = 7.5 Hz, 2H-1'), 2.83 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 1.79 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-4'), 1.75 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-5'), 1.33 (s, 9H, Boc). RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 155.7 (C=O Boc), 137.1 (C-7<sup>a</sup>), 136.6 (C-3<sup>a</sup>), 127.0 (C-2), 125.8 (C-3), 121.9 (C-7), 120.1 (C-4), 119.5 (C-2'), 115.1 (C-3'), 112.49 (C-5), 112.46 (C-6), 79.17 (C-O Boc), 49.68 (NCH<sub>3</sub>), 43.99 (C-2'), 34.21 (C-1'), 28.33 (3 C, Boc), 25.62 (C-4'), 18.00 (C-5').

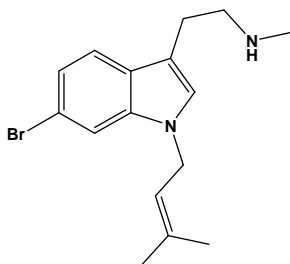
#### Desformilflustrabromina (54).



La desprotección fue realizada de la misma forma que la mencionada anteriormente. El producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano/metanol/trietilamina 9:0.5:0.5). 90 % de rendimiento de un líquido incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 9.21 (s, 1H, NH-1), 7.49 (d, 2H, *J* = 8.0 Hz, H-7, H-5), 7.08 (d, 1H, *J* = 8.0, Hz, H-4), 6.11 (dd, 1H, *J* = 10.7, 17.0 Hz, H-3') 5.10 (d, 1H, *J* = 17.0 Hz, H-3'), 5.06 (d, 1H, *J* = 10.7 Hz, H-2'), 3.06 (t, 2H, *J* = 7.8 Hz, H-2'), 2.93 (t, 2H, *J* = 7.8 Hz, H-1'), 2.59 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>). RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 145.5 (C-7<sup>a</sup>), 141.8 (C-3<sup>a</sup>), 135.4 (C-2), 127.6 (C-3), 121.3 (C-7), 119.3 (C-4), 113.5 (C-3'), 111.6 (C-2'), 105.0 (C-6), 48.56 (NCH<sub>3</sub>), 32.30 (C-2'), 27.58(2C, C-4', C-5'), 21.27 (C-1').

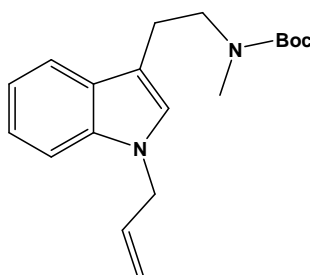
### **N<sup>1</sup>-Prenildesformilflustrabromina (55).**



La desprotección fue realizada de la misma forma que la mencionada anteriormente. El producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano/metanol/trietilamina 9:0.5:0.5). 92 % de rendimiento de un líquido incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.43 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, H-7), 7.39 (d, 1H, *J* = 1.5 Hz, H-4), 7.14 (dd, 1H, *J* = 8.5, 1.5 Hz, H-5), 6.89 (s, 1H, H-2), 5.29 (m, 1H, H-1'), 4.54 (d, 2H, *J* = 7.0 Hz, 2H-2'), 3.01 (t, 2H, *J* = 7.0 Hz, 2H-2'), 2.93 (t, 2H, *J* = 7.0 Hz, 2H-1'), 2.45 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 1.77 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-4'), 1.74 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-5'). RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 137.1 (C-7<sup>a</sup>), 136.7 (C-3<sup>a</sup>), 126.7 (C-2), 126.0 (C-3), 122.0 (C-7), 120.1 (C-4), 119.3 (C-5), 115.2 (C-6), 112.5 (C-2'), 111.5 (C-3'), 51.19 (NCH<sub>3</sub>), 44.00 (C-1'), 35.00 (C-2'), 25.59 (C-1'), 24.19 (C-4'), 17.98 (C-5').

### **N<sup>1</sup>-Alil-N<sup>10</sup>-metil-N<sup>10</sup>-Boc-triptamina (73).**

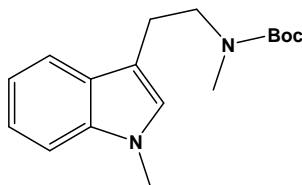


La alilación en N<sup>1</sup> se realizó de igual forma que en la preparación de **62** a partir de **60**, con la diferencia que la temperatura de reacción fue 0 °C. Rendimiento 87 % de un líquido incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.61 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz, H-7), 7.27 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, H-4), 7.19 (t, 1H, *J* = 7.5 Hz, H-5), 7.10 (t, 1H, *J* = 7.0 Hz, H-6), 6.88 (s, 1H, H-2), 5.96 (m, 1H, H-2'), 5.17 (d, 1H, *J* = 10.5 Hz, H-3'), 5.07 (d, 1H, *J* = 17.0 Hz, H-3'), 4.60

(d, 2H,  $J = 5.5$  Hz, H-1'), 3.49 (t, 2H,  $J = 7.5$  Hz, 2H-2'), 2.95 (t, 2H,  $J = 7.5$  Hz, 2H-1'), 2.85 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 1.37 (s, 9H, Boc). RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  155.7 (C=O Boc), 136.4 (C-7<sup>a</sup>), 133.5 (C-3<sup>a</sup>), 128.1 (C-2), 125.6 (C-3), 121.5 (C-7), 118.8 (x 2, C-5, C-6), 117.1 (C-4), 112.2 (C-2'), 109.5 (C-3'), 79.10 (C-O Boc), 49.70, (NCH<sub>3</sub>), 48.59 (C-1'), 34.30 (C-2'), 28.36 (3 C, Boc), 23.91 (C-1').

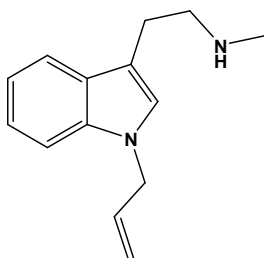
***N*<sup>1</sup>,*N*<sup>10</sup>-Dimetil-*N*<sup>10</sup>-Boc-triptamina (74).**



La metilación en N<sup>1</sup> se realizó de igual forma que en la preparación de **62** a partir de **60**, con la diferencia que la temperatura de reacción fue 0 °C. Rendimiento 85 % de un líquido incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.60 (d, 1H,  $J = 5.5$  Hz, H-7), 7.27 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz, H-4), 7.20 (t, 1H,  $J = 7.5$  Hz, H-5), 7.09 (t, 1H,  $J = 7.0$  Hz, H-6), 6.82 (s, 1H, C-2), 3.72 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>-1), 3.47 (t, 2H,  $J = 7.5$  Hz, 2H-2'), 2.94 (t, 2H,  $J = 7.5$  Hz, 2H-1'), 2.86 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>-10), 1.33 (s, 9H, Boc). RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  155.7 (C=O, Boc, 137.0 (C-7<sup>a</sup>), 127.8 (C-3<sup>a</sup>), 126.6 (C-2), 121.5 (C-3), 118.76 (C-7) 118.70 (C-4), 111.7 (C-5), 109.1 (C-6), 79.10 (C-O, Boc), 49.76 (NCH<sub>3</sub>-10), 34.18 (NCH<sub>3</sub>-1), 32.53 (C-2'), 28.28 (3 C, Boc), 23.83 (C-1').

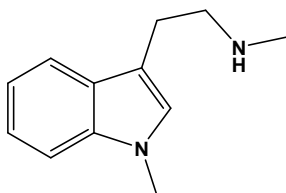
***N*<sup>1</sup>-Alil-*N*<sup>10</sup>-metiltriptamina (75).**



La desprotección del grupo Boc en N<sup>10</sup> se realizó de igual forma que en la preparación de **57** a partir de **73**. Rendimiento 88 % de un líquido incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.64 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz, H-7), 7.30 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, H-4), 7.22 (t, 1H, *J* = 7.5 Hz, H-5), 7.12 (t, 1H, *J* = 7.0 Hz, H-6), 6.95 (s, 1H, H-2), 6.00 (m, 1H, H-2'), 5.20 (d, 1H, *J* = 10.5 Hz, H-3'), 5.11 (d, 1H, *J* = 17.0 Hz H-3'), 4.69 (d, 2H, *J* = 5.5 Hz, H-1'), 2.99 (t, 2H, *J* = 7.5 Hz, 2H-2'), 2.93 (t, 2H, *J* = 7.5 Hz, 2H-1'), 2.46 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>). RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 133.56 (C-7<sup>a</sup>), 133.50 (C-3<sup>a</sup>), 128.0 (C-2), 125.7 (C-3), 121.6 (C-7), 119.0 (C-4), 118.85 (C-2'), 117.2 (C-3'), 112.8 (C-5), 109.5 (C-6), 52.08 (NCH<sub>3</sub>), 48.64 (C-1'), 36.26 (C-2'), 25.46 (C-1').

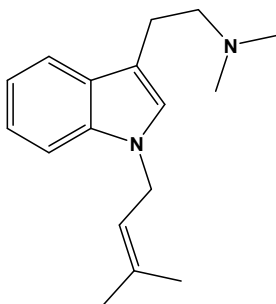
***N*<sup>1</sup>,*N*<sup>10</sup>-Dimetiltriptamina (76).**



La desprotección del grupo Boc en *N*<sup>10</sup> se realizó de igual forma que en la preparación de **57** a partir de **74**. Rendimiento 88 % de un líquido incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (Sal oxálica, 500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8.85 (s, 1H, NH-1), 7.58 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-7), 7.39 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-4), 7.19 (s, 1H, H-2), 7.15 (t, 1H, *J* = 7.0 Hz, H-5), 7.03 (t, 1H, *J* = 7.0 Hz, H-6), 3.72 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>-1), 3.13 (t, 2H, *J* = 7.5 Hz, 2H-2'), 3.02 (t, 2H, *J* = 7.5 Hz, 2H-1'), 2.28 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>-10). RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 136.8 (C-7<sup>a</sup>), 127.8 (C-3<sup>a</sup>), 127.2 (C-2), 121.5 (C-3), 118.7 (C-7), 118.6 (C-4), 109.8 (C-5), 108.8 (C-6), 54.5 (NCH<sub>3</sub>-1) 48.8 (NCH<sub>3</sub>-10), 32.6 (C-2'), 32.4 (C-1').

***N*<sup>1</sup>-Prenil-*N*<sup>10</sup>,*N*<sup>10</sup>-dimetiltriptamina (77).**

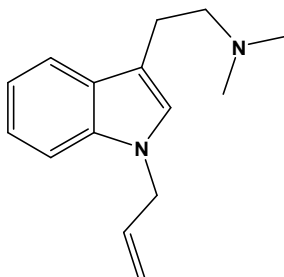


A una suspensión de paraformaldehído (0.045 g, 1.5 mmol) en metanol (10 mL) se adicionó *N*<sup>1</sup>-prenil-*N*<sup>10</sup>-metiltriptamina (**55**, 0.07 g, 0.3 mmol) y la suspensión resultante

se agitó por 30 min. Pasado este tiempo se adicionó borohidruro de sodio (0.06 g, 1.5 mmol) y la mezcla de reacción se dejó reaccionar por 2 h. La reacción se detuvo adicionando una solución saturada de bicarbonato de sodio (5 mL) y la mezcla se agitó por 1 h más. El solvente se evaporó y a la mezcla resultante se le adicionó agua (10 mL) y se extrajo con diclorometano (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó con sulfato de magnesio anhidro, se evaporó a presión reducida y el producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano/metanol/trietilamina 9:0.5:0.5) y se obtuvo 0.06 g (81 %) de un líquido viscoso blanco.

RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.58 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-7), 7.28 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, H-4), 7.17 (t, 1H, *J* = 7.0, H-5), 7.08 (t, 1H, *J* = 8.0, H-6), 6.91 (s, 1H, H-2), 5.34 (1H, m, H-2'), 4.62 (2H, d, *J* = 7.0 Hz, 2H-1'), 2.96 (t, 2H, *J* = 8.0 Hz, 2H-2'), 2.68 (m, 2H, 2H-1'), 2.38 (s, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.80 (3H, s, CH<sub>3</sub>-4'), 1.74 (3H, s, CH<sub>3</sub>-5'). RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 136.2 (C-7<sup>a</sup>), 135.9 (C-3<sup>a</sup>), 128.0 (C-2), 124.9 (C-3), 121.3 (C-4), 120.1 (C-4), 118.8 (C-2'), 110.6 (C-3'), 112.3 (C-5), 109.5 (C-6), 60.34 (x 2, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) 45.21 (C-2'), 43.91 (C-1') 25.61 (C-1'), 23.42 (CH<sub>3</sub>-4'), 17.97 CH<sub>3</sub>-5').

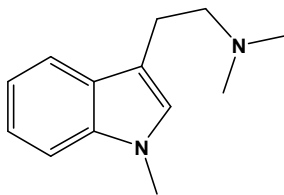
***N*<sup>1</sup>-Alil-*N*<sup>10</sup>,*N*<sup>10</sup>-dimetilriptamina (78).**



La aminación reductiva en el N<sup>10</sup> se realizó de igual forma que en la preparación de **77** a partir de **75**. Rendimiento 67 % de un líquido incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.58 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-7), 7.26 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-4), 7.18 (t, 1H, *J* = 8.5 Hz, H-5), 7.09 (t, 1H, *J* = 7.0 Hz, H-6), 6.93 (s, 1H, H-2), 5.95 (m, 1H, H-2'), 5.16 (d, 1H, *J* = 10.0 Hz, H-3'), 5.07 (d, 1H, *J* = 17.0 Hz, H-3'), 4.65 (d, 2H, *J* = 5.5 Hz, 2H-1'), 3.04 (t, 2H, *J* = 7.0 Hz, 2H-2'), 2.80 (t, 2H, *J* = 7.5 Hz, 2H-1'), 2.46 (s, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>). RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 136.4 (C-7<sup>a</sup>), 133.5 (C-3<sup>a</sup>), 127.8 (C-2), 125.5 (C-3), 121.7 (C-7), 118.97 (C-4) 118.78 (C-2'), 117.2 (C-3'), 111.9 (C-5), 109.6 (C-6), 59.85 (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 48.64 (C-1'), 44.74 (C-2'), 22.82 (C-1').

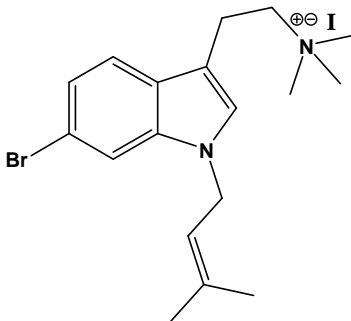
***N*<sup>1</sup>,*N*<sup>10</sup>,*N*<sup>10</sup>-Trimetiltriptamina (79).**



La aminación reductiva en el *N*<sup>10</sup> se realizó de igual forma que en la preparación de **77** a partir de **76**. Rendimiento 76 % de un sólido blanco, p.f: 156-158 °C.

RMN-<sup>1</sup>H (Sal oxálica, 500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.61 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-7), 7.39 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-4), 7.19 (s, 1H, H-2), 7.16 (t, 1H, *J* = 7.0 Hz, H-5), 7.03 (t, 1H, *J* = 7.0 Hz, H-6), 3.73 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>-1), 3.24 (t, 2H, *J* = 7.5 Hz, 2H-2'), 3.07 (t, 2H, *J* = 7.5 Hz, 2H-1'), 2.80 (s, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>). RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 136.8 (C-7<sup>a</sup>), 127.7 (C-3<sup>a</sup>), 127.2 (C-2), 121.5 (C-3), 118.71 (C-7), 118.65 (C-4), 118.6 (C-5), 109.8 (c-6), 57.00 (NCH<sub>3</sub>-1), 42.32 (x 2, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-10), 32.43 (c-2'), 20.16 (C-1').

**Yoduro de 6-bromo-*N*<sup>1</sup>-prenil-*N*<sup>10</sup>,*N*<sup>10</sup>,*N*<sup>10</sup>-trimetiltriptaminio (80).**



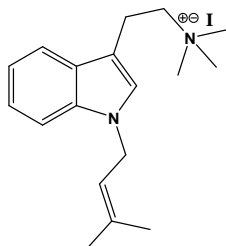
A *N*<sup>1</sup>-prenildesformilflustrabromina (**57**, 0.05 g, 0.11 mmol) disuelta en acetona (5 mL) se adicionó yoduro de metilo (0.5 g, 3.5 mmol) gota a gota y la mezcla de reacción se dejó con agitación constante por 16 h. A la suspensión resultante se le adicionó éter etílico (5 mL) y el sólido se filtró al vacío produciendo 0.065 g (90 %) de un sólido blanco.

RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.67 (d, 1H, *J* = 1.5 Hz, H-7), 7.60 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, H-4), 7.18 (s, 1H, H-2), 7.14 (dd, 1H, *J* = 8.5, 1.5 Hz, H-5), 5.30 (m, 1H, H-2'), 4.72 (d, 2H, *J* = 7.0 Hz, 2H-2'), 3.55 (t, 2H, *J* = 7.0 Hz, 2H-2'), 3.14 (t, 2H, *J* = 7.0 Hz, 2H-1'), 3.16 (s, 9H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.79 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>-4'), 1.71 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>-5'). RMN-



$^{13}\text{C}$  (125 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  136.8 (C-7<sup>a</sup>), 136.2 (C-3<sup>a</sup>), 127.3 (C-2), 126.3 (C-3), 121.6 (C-7), 120.6 (C-4), 120.0 (C-2'), 114.6 (C-3'), 112.9 (C-5), 108.7 (C-6), 52.38 (C-1'), 52.22 (x 3, N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 43.52 (C-2'), 25.49 (C-1'), 18.50 (CH<sub>3</sub>-4'), 17.98 (CH<sub>3</sub>-5').

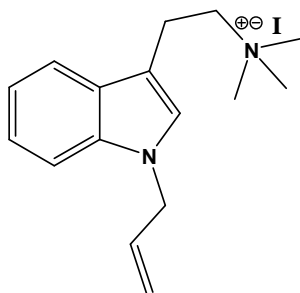
**Yoduro de  $N^1$ -prenil-  $N^{10}$ ,  $N^{10}$ ,  $N^{10}$ -trimetiltriptaminio (81).**



La formación de este yodometilato se realizó de igual forma que para **80** a partir de **55**. Rendimiento 91% de un sólido blanco.

RMN- $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  7.63 (d, 1H,  $J$  = 8.0 Hz, H-7), 7.41 (d, 1H,  $J$  = 8.5 Hz, H-4), 7.24 (s, 1H, H-2), 7.15 (t, 1H,  $J$  = 8.0, H-5), 7.05 (t, 1H,  $J$  = 8.0, H-6), 5.30 (1H, m, H-2'), 4.72 (2H, d,  $J$  = 7.0 Hz, 2H-1'), 3.56 (t, 2H,  $J$  = 8.0 Hz, 2H-2'), 3.18 (s, 9H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 3.16 (m, 2H, 2H-1'), 1.81 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-4'), 1.71 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-5'). RMN- $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  136.0 (C-7), 135.6 (C-3<sup>a</sup>), 127.3 (C-2), 126.4 (C-3), 121.5 (C-7), 120.4 (C-4), 118.78 (C-2'), 118.76 (C-3'), 110.1 (C-5), 108.8 (C-6), 65.31 (C-1'), 52.37 (x 3, N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 43.46 (C-2'), 25.50 (C-1'), 18.68 (CH<sub>3</sub>-4'), 17.96 (CH<sub>3</sub>-5').

**Yoduro de  $N^1$ -alil-  $N^{10}$ ,  $N^{10}$ ,  $N^{10}$ -trimetiltriptaminio (82).**

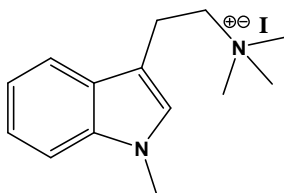


La formación de este yodometilato se realizó de igual forma que para **80** a partir de **75**. Rendimiento 64 % de un sólido blanco.

RMN- $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  7.65 (d, 1H,  $J$  = 7.5 Hz, H-7), 7.41 (d, 1H,  $J$  = 8.5 Hz, H-4), 7.26 (s, 1H, H-2), 7.14 (t, 1H,  $J$  = 7.0 Hz, H-5), 7.05 (t, 1H,  $J$  = 7.0 Hz, H-6),

6.97 (m, 1H, H-2'), 5.13 (d, 1H,  $J = 10.0$  Hz, H-3'), 5.01 (d, 1H,  $J = 17.0$  Hz, H-3'), 4.78 (d, 2H,  $J = 5.0$  Hz, H-1'), 3.57 (t, 2H,  $J = 7.0$  Hz, 2H-2'), 3.18 (s, 9H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 3.17 (t, 2H,  $J = 7.0$  Hz, 2H-1'), RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  136.1 (C-7<sup>a</sup>), 134.5 (C-3<sup>a</sup>), 127.2 (C-2), 126.8 (C-3), 121.6 (C-7), 118.88 (C-2'), 118.80 (C-3'), 116.9 (C-4), 110.2 (C-5), 108.3 (C-6), 65.25 (C-1'), 55.11 (NCH<sub>3</sub>), 55.09 (NCH<sub>3</sub>), 55.07 (NCH<sub>3</sub>), 45.94 (C-2'), 18.67 (C-1').

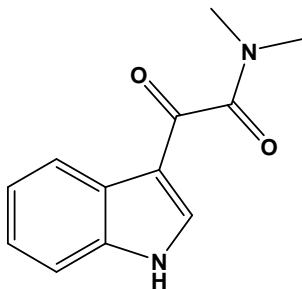
**Yoduro de *N*<sup>1</sup>, *N*<sup>10</sup>, *N*<sup>10</sup>, *N*<sup>10</sup>-tetrametiltriptaminio (83).**



La formación de este yodometilato se realizó de igual forma que para **80** a partir de **76**. Rendimiento 88 % de un sólido blanco.

RMN-<sup>1</sup>H ( 500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  7.58 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz, H-7), 7.40 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz, H-4), 7.22 (s, 1H, H-2), 7.16 (t, 1H,  $J = 7.0$  Hz, H-5), 7.05 (t, 1H,  $J = 7.0$  Hz, H-6), 3.74 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>-1), 3.17 (t, 2H,  $J = 7.5$  Hz, 2H-2'), 3.01 (t, 2H,  $J = 7.5$  Hz, 2H-1'), 2.61 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>-10). RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  136.9 (C-7<sup>a</sup>), 127.9 (C-3<sup>a</sup>), 127.2 (C-2), 121.5 (C-3), 118.7 (C-7), 118.5 (C-4), 109.9 (C-5), 108.4 (C-6), 48.78 (x 3, N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>-10), 42.72 NCH<sub>3</sub>-1), 32.49 (C-2'), 21.62 (C-1').

**2-(1*H*-Indol-3-il)-*N,N*-dimetil-2-oxoacetamida (85):**

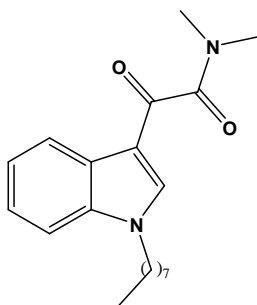


Este compuesto se sintetizó de la misma manera que 1-(1*H*-indol-3-il)-2-(pirrolidin-1-il)etan-1,2-diona (**70**), pero partiendo de indol (**84**, 6.00 g, 51.2 mmoles), el cual, en éter etílico anhidro (50 mL) a 0 °C se trató con cloruro de oxalilo (7.80 g, 61.9 mmol, 1.20

eq). El sólido amarillo resultante se filtró, se lavó con éter etílico frío, se suspendió en diclorometano seco (250 ml) y se le burbujeó dimetilamina gaseosa seca por 10 min. La mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente y agitación constante por 3 h. El solvente se evaporó a presión reducida y a la mezcla resultante se le agregó agua (200 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 150 mL), la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida. El producto fue recristalizado en etanol produciendo 8.37 g (80 % los dos pasos) de un sólido blanco.

RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 12.25 (s, 1H, NH), 8.10 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-7), 8.09 (s, 1H, H-2), 7.52 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 1.5 Hz, *J*<sub>2</sub> = 6.5 Hz, H-4), 7.25 (m, 2H, H-5, H-6), 2.98 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 2.90 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>). RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 186.8 (C-2'), 167.5 (C-1'), 137.04 (C-7<sup>a</sup>), 137.01 (C-3<sup>a</sup>), 125.0 (C-2), 123.6 (C-3), 122.6 (C-7), 121.0 (C-4), 113.1 (C-5), 112.7 (C-6), 36.90 (NCH<sub>3</sub>), 33.54 (NCH<sub>3</sub>).

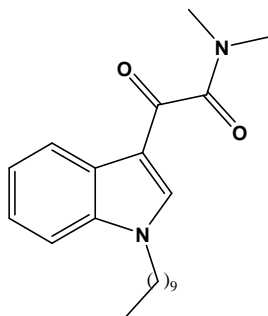
***N,N*-Dimetil-2-(1-octil-1*H*-indol-3-il)-2-oxoacetamida (86):**



A una suspensión de hidruro de sodio (0.183 g, 7.3 mmol) en tetrahidrofurano seco (25 mL) en un balón de dos bocas a 0 °C equipado con una barra de agitación magnética y bajo atmósfera de nitrógeno, se adicionó gota a gota una solución de 2-(1*H*-indol-3-il)-*N,N*-dimetil-2-oxoacetamida (**85**, 2.00 g, 6.08 mmol) en tetrahidrofurano seco (10 mL). La mezcla se dejó reaccionar por 30 min y se adicionó gota a gota una solución de bromuro de octilo (1.4 g, 7.3 mmol) en tetrahidrofurano seco (10 mL). La mezcla se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 16 h, después se agregaron 5 mL de agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida. El producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, acetato de etilo) obteniéndose 2.48 g (77 %) de un líquido viscoso incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.38 (t, 1H, *J* = 5.6 Hz, H-7), 7.93 (s, 1H, H-2), 7.61 (m, 3H, H-4, H-5, H-6), 4.16 (t, 2H, *J* = 7.6 Hz, H-1'), 3.14 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 3.10 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 1.91 (m, 2H, 2H-2''), 1.31 (m, 10H, 2H-3'' hasta 2H-7''), 0.90 (t, 3H, *J* = 6.4 Hz, 3H-8'). RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 185.5 (C-2'), 167.7 (C-1'), 138.2 (C-7<sup>a</sup>), 137.0 (C-3<sup>a</sup>), 126.5 (C-2), 123.8 (C-3), 123.1 (C-7), 122.5 (C-4), 113.3 (C-5), 110.2 (C-6), 47.44 (x 2, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) 37.53 (C-1''), 34.48 (C-2''), 31.73 (C-3''), 29.80 (C-4''), 29.09 (C-5''), 26.88 (C-6''), 22.59 (C-7''), 14.06 (C-8'').

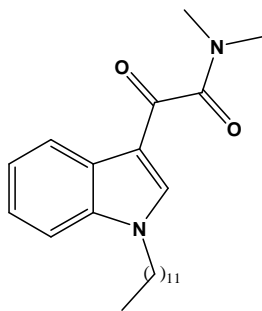
**2-(1-Decil-1H-indol-3-il)-N,N-dimetil-2-oxoacetamida (87):**



La formación de esta oxoetanamida se realizó de igual forma que la de **86** a partir de **85**. Rendimiento 74 % de un líquido incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.38 (t, 1H, *J* = 5.6 Hz, H-7), 7.93 (s, 1H, H-2), 7.36 (m, 3H, H-4, H-5, H-6), 4.16 (t, 2H, *J* = 7.6 Hz, 2H-1''), 3.14 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 3.10 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 1.91 (m, 2H, 2H-2''), 1.31 (m, 14H, 2H-3'' hasta 2H-9''), 0.91 (t, 3H, *J* = 6.4 Hz, 2H-9'). RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 185.5 (C-2'), 167.7 (C-1'), 138.2 (C-7<sup>a</sup>), 137.0 (C-3<sup>a</sup>), 126.5 (C-2), 123.8 (C-3), 123.1 (C-7), 122.5 (C-4), 113.3 (C-5), 110.2 (C-6), 47.45 (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) 37.53 (C-1''), 34.48 (C-2''), 31.85 (C-3''), 29.81 (C-4''), 29.48 (C-5''), 29.42 (C-6''), 29.25 (C-7''), 29.13 (C-8), 22.66 (C-9''), 14.10 (C-10'').

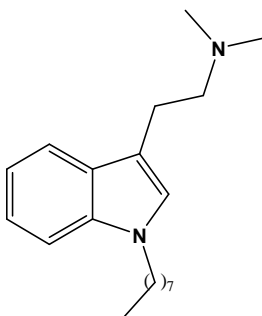
**2-(1-Dodecil-1*H*-indol-3-il)-*N,N*-dimetil-2-oxoacetamida (88):**



La formación de esta oxoetanamida se realizó de igual forma que la de **86** a partir de **85**. Rendimiento 81% de un líquido incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.38 (t, 1H, *J* = 5.6 Hz, H-7), 7.93 (s, 1H, H-2), 7.36 (m, 3H, H-4, H-5, H-6), 4.16 (t, 2H, *J* = 7.6 Hz, H-1'), 3.14 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 3.10 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 1.91 (m, 2H, 2H-2''), 1.31 (m, 18H, 2H-3'' hasta 2H-11), 0.91 (t, 3H, *J* = 6.4 Hz, 2H-12''). RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 185.5 (C-2'), 167.7 (C-1'), 138.2 (C-7<sup>a</sup>), 137.0 (C-3<sup>a</sup>), 126.5 (C-2), 123.8 (C-3), 123.1 (C-7), 122.5 (C-4), 113.3 (C-5), 110.2 (C-6), 47.45 (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 37.53 (C-1'), 34.48 (C-2''), 31.85 (C-3''), 29.81 (C-4''), 29.48 (C-5''), 29.44 (C-6''), 29.42 (C-7''), 29.34 (C-8''), 29.25 (C-9''), 29.13 (C-10''), 26.88 (C-11'') 14.10 (C-12'').

***N,N*-Dimetil-2-(1-octil-1*H*-indol-3-il)etanamina (N<sup>1</sup>-octil-*N,N*-dimetiltriptamina, 89):**

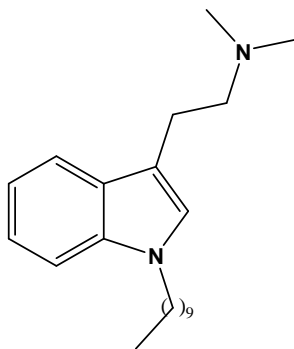


A una suspensión de hidruro de litio y aluminio (2.00 g, 52.6 mmol) en tetrahidrofurano seco (200 mL) a 0 °C se agregó gota a gota y con agitación constante una solución de *N,N*-dimetil-2-(1-octil-1*H*-indol-3-il)-2-oxoacetamida (**86**, 2.00 g, 6.07 mmol) en

tetrahidrofurano seco. La suspensión se calentó a reflujo por 4 h, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y luego se colocó en un baño de hielo-agua y se agregó cuidadosamente tetrahidrofurano-agua 1:1 (10 mL). La mezcla fue filtrada y concentrada al vacío. El producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano:metanol 9:1) produciendo 1.17 g (64 %) de un líquido viscoso incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (Oxalato, 300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.76 (d, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-7), 7.47 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, H-4), 7.41 (s, 1H, H-2), 7.16 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, H-5), 7.06 (t, 1H, *J* = 7.2, H-6), 5.86 (d, 1H, *J* = 3.6 Hz, H-2'a), 5.48 (d, 1H, *J* = 10.4 Hz, H-2'b), 4.14 (t, 2H, *J* = 9.0 Hz, 2H-1''), 3.81 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 10.4 Hz *J*<sub>2</sub> = 13.6 Hz, H-1'a), 3.51 (d, 1H, *J* = 13.2 Hz, H-1'b), 3.25 (s, 6H, (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)), 1.72 (t, 2H, *J* = 6.4 Hz, 2H-2''), 1.24 (m, 10H, 2H-3'' hasta 2H-7''), 0.84 (t, 3H, *J* = 4.8 Hz, 3H-7''). RMN-<sup>13</sup>C (Oxalato, 75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 136.6 (C-7<sup>a</sup>), 126.8 (C-3<sup>a</sup>), 125.8 (C-2), 121.9 (C-3), 120.1 (C-7), 119.3 (C-4), 115.0 (C-5), 110.5 (C-6), 70.33 (C-1''), 62.46 (C-2'), 53.95 (2C, (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)), 45.94, (C-1'), 31.67 (C-2''), 30.37 (C-3''), 29.08 (2C, C-4'' y C-5''), 26.75 (C-6''), 22.50 (C-7''), 14.39 (C-8'').

***N,N*-Dimetil-2-(1-decil-1*H*-indol-3-il)etanamina** (*N*<sup>1</sup>-decil-*N,N*-dimetiltriptamina, **90**):



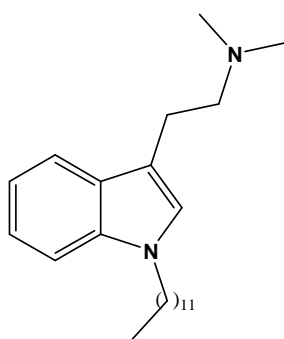
La formación de esta triptamina se realizó de igual forma que la de **89**, a partir de **87**. Rendimiento 53 % de un líquido incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (Oxalato, 300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.75 (d, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-7), 7.47 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, H-4), 7.42 (s, 1H, H-2), 7.17 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, H-5), 7.05 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, H-6), 5.85 (d, 1H, *J* = 3.6 Hz, H-2'a), 5.46 (d, 1H, *J* = 10.4 Hz, H-2'b), 4.13 (t, 2H,

$J = 9.0$  Hz, 2H-1''), 3.80 (dd, 1H,  $J_1 = 10.4$  Hz  $J_2 = 13.6$  Hz, H-1'a), 3.50 (d, 1H,  $J = 13.2$  Hz, H-1'b), 3.26 (s, 6H, (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.72 (t, 2H,  $J = 6.4$  Hz, 2H-9''), 1.23 (m, 14H, 2H-2'' hasta 2H-8''), 0.84 (t, 3H,  $J = 4.8$  Hz, 3H-10''). RMN-<sup>13</sup>C (Oxalato, 75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  136.8 (C-7<sup>a</sup>), 126.7 (C-3<sup>a</sup>), 125.6 (C-2), 121.9 (C-3), 120.0 (C-7), 119.4 (C-4), 115.0 (C-5), 110.7 (C-6), 70.34 (C-1''), 62.43 (C-2'), 53.95 (NCH<sub>3</sub>), 53.87 (NCH<sub>3</sub>), 45.94 (C-1'), 31.67 (C-2''), 30.37 (C-3''), 29.98 (C-4''), 29.78 (C-5''), 29.56 (C-6''), 29.08 (C-7''), 26.75 (C-8''), 22.50 (C-9''), 14.39 (C-10'').

***N,N*-Dimetil-2-(1-dodecil-1*H*-indol-3-il)etanamina**  
**dimetiltriptamina, 91):**

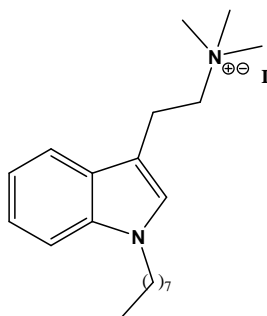
(*N*<sup>1</sup>-dodecil-*N,N*-



La formación de esta triptamina se realizó de igual forma que la de **89**, a partir de **88**. Rendimiento 67 % de un líquido incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (Oxalato, 300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  7.76 (d, 1H,  $J = 7.6$  Hz, H-7), 7.47 (d, 1H,  $J = 8.4$  Hz, H-4), 7.41 (s, 1H, H-2), 7.16 (t, 1H,  $J = 7.2$  Hz, H-5), 7.06 (t, 1H,  $J = 7.2$ , H-6), 5.86 (d, 1H,  $J = 3.6$  Hz, H-2'a), 5.48 (d, 1H,  $J = 10.4$  Hz, H-2'b), 4.14 (t, 2H,  $J = 9.0$  Hz, 2H-1''), 3.81 (dd, 1H,  $J_1 = 10.4$  Hz  $J_2 = 13.6$  Hz, H-1'a), 3.51 (d, 1H,  $J = 13.2$  Hz, H-1'b), 3.25 (s, 6H, (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.72 (t, 2H,  $J = 6.4$  Hz, 2H-11''), 1.24 (m, 18H, 2H-2'' hasta 2H-10''), 0.84 (t, 3H,  $J = 4.8$  Hz, 3H-12''). RMN-<sup>13</sup>C (Oxalato, 75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  136.7 (C-7<sup>a</sup>), 126.5 (C-3<sup>a</sup>), 125.6 (C-7), 121.4 (C-2), 120.0 (C-3), 119.1 (C-4), 115.1 (C-5), 110.4 (C-6), 70.32 (C-1''), 62.43 (C-2'), 53.91 ((NCH<sub>3</sub>), 53.56 (NCH<sub>3</sub>), 45.92 (C-1'), 31.64 (C-2''), 30.34 (C-3''), 29.90 (C-4''), 28.76 (C-5''), 29.54 (C-6''), 29.32 (C-7''), 29.16 (C-8''), 29.08 (C-9''), 26.74 (C-10''), 22.52 (C-11''), 14.33 (C-12'').

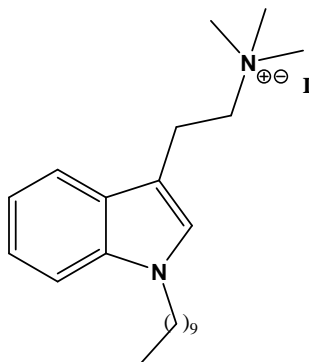
**Yoduro de *N,N,N*-trimetil-2-(1-octil-1*H*-indol-3-il)etanaminio (yoduro de *N*<sup>1</sup>-octil-*N,N,N*-trimetiltriptaminio, 92):**



La formación de este yodometilato se realizó de igual forma que la de **80**, a partir de **89**. Rendimiento 89 % de un sólido blanco.

RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.76 (d, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-7), 7.47 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, H-4), 7.41 (s, 1H, H-2), 7.16 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, H-5), 7.06 (t, 1H, *J* = 7.2, H-6), 5.86 (d, 1H, *J* = 3.6 Hz, H-2'a), 5.48 (d, 1H, *J* = 10.4 Hz, H-2'b), 4.14 (t, 2H, *J* = 9.0 Hz, 2H-1'), 3.81 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 10.4 Hz *J*<sub>2</sub> = 13.6 Hz, H-1'a), 3.51 (d, 1H, *J* = 13.2 Hz, H-1'b), 3.27 (s, 9H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.72 (t, 2H, *J* = 6.4 Hz, 2H-7'), 1.24 (m, 10H, 2H-2'' hasta 2H-6''), 0.84 (t, 3H, *J* = 4.8 Hz, 3H-8'). RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 136.6 (C-7<sup>a</sup>), 126.8 (C-3<sup>a</sup>), 125.8 (C-2), 121.9 (C-3), 120.1 (C-7), 119.3 (C-4), 115.0 (C-5), 110.5 (C-6), 70.33 (C-2'), 62.46 (C-1'), 53.95 (3C, N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 45.94 (C-1'), 31.67 (C-2''), 30.37 (C-3''), 29.08 (2C, C-4'', C-5''), 26.75 (C-6''), 22.50 (C-7''), 14.39 (C-8').

**Yoduro de *N,N,N*-trimetil-2-(1-decil-1*H*-indol-3-il)etanaminio (yoduro de *N*<sup>1</sup>-decil-*N,N,N*-trimetiltriptaminio, 93):**

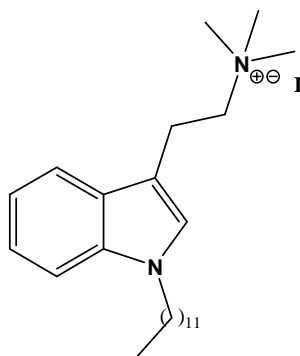


La formación de este yodometilato se realizó de igual forma que la de **80** a partir de **90**. Rendimiento 91% de un sólido blanco.



RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.74 (d, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-7), 7.46 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, H-4), 7.39 (s, 1H, H-2), 7.16 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, H-5), 7.06 (t, 1H, *J* = 7.2, H-6), 5.85 (d, 1H, *J* = 3.6 Hz, H-2'a), 5.47 (d, 1H, *J* = 10.4 Hz, H-2'b), 4.14 (t, 2H, *J* = 9.0 Hz, 2H-1'), 3.79 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 10.4 Hz *J*<sub>2</sub> = 13.6 Hz, H-1'a), 3.49 (d, 1H, *J* = 13.2 Hz, H-1'b), 3.26 (s, 9H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.72 (t, 2H, *J* = 6.4 Hz, 2H-9''), 1.24 (m, 14H, 2H-2'' hasta 2H-8''), 0.84 (t, 3H, *J* = 4.8 Hz, 3H-10''). RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 136.6 (C-7<sup>a</sup>), 126.8 (C-3<sup>a</sup>), 125.8 (C-2), 121.9 (C-3), 120.1 (C-7), 119.3 (C-4), 115.0 (C-5), 110.5 (C-6), 70.33 (C-2'), 62.46 (C-1'), 53.91 (3C, N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 45.92 (C-1'), 31.73 (C-2''), 30.38 (C-3''), 29.44 (C-4''), 29.40 (C-5''), 29.13 (2C, C-6'', C-7''), 26.75 (C-8''), 22.54 (C-9''), 14.41 (C-10'').

**Yoduro de *N,N,N*-trimetil-2-(1-dodecil-1*H*-indol-3-il)etanaminio (yoduro de *N*<sup>1</sup>-dodecil-*N,N,N*-trimetiltriptaminio, 94):**

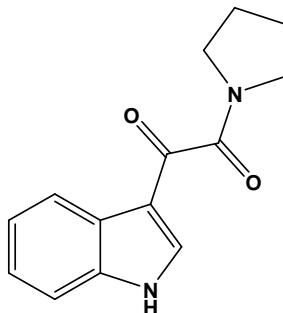


La formación de este yodometilato se realizó de igual forma que la de **80** a partir de **91**. Rendimiento 84 % de un sólido blanco.

RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.74 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz, H-7), 7.47 (d, 1H, *J* = 8.1 Hz, H-4), 7.39 (s, 1H, H-2), 7.17 (t, 1H, *J* = 7.3 Hz, H-5), 7.06 (t, 1H, *J* = 7.2, H-6), 5.86 (d, 1H, *J* = 3.6 Hz, H-2'a), 5.47 (d, 1H, *J* = 10.5 Hz, H-2'b), 4.14 (t, 2H, *J* = 7.2 Hz, 2H-1'), 3.79 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 10.5 Hz *J*<sub>2</sub> = 13.5 Hz, H-1'a), 3.49 (d, 1H, *J* = 13.2 Hz, H-1'b), 3.25 (s, 9H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.72 (t, 2H, *J* = 6.4 Hz, 2H-11''), 1.24 (m, 18H, 2H-2'' hasta 2H-10''), 0.85 (t, 3H, *J* = 4.8 Hz, 3H-12''). RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 137.7 (C-7<sup>a</sup>), 127.1 (C-3<sup>a</sup>), 126.1 (C-2), 122.3 (C-3), 120.5 (C-7), 119.7 (C-4), 115.4 (C-5), 110.8 (C-6), 70.67 (C-2'), 62.85 (C-1'), 54.25 (3C, N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 46.29 (C-1'), 32.15

(C-2''), 30.78 (C-3'), 29.85 (2C, C-4'', C-5'', C-6''), 29.56 (3C, C-7'', C-8'', C-9''), 27.15 (C-10'), 22.95 (C-11'), 14.82 (C-12').

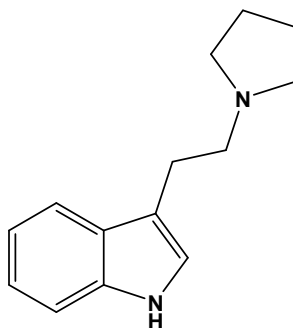
**(1*H*-Indol-3-il)-2-(pirrolidin-1-il)etano-1,2-diona (96):**



La formación de esta oxoetanamida se realizó de igual forma que la de **85**, a partir de **84** pero usando pirrolidina. Rendimiento 85 % los dos pasos, dando un sólido blanco.

RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 12.22 (s, 1H, NH), 8.16 (s, 1H, H-2), 8.11 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, H-7), 7.52 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 1.5 Hz, *J*<sub>2</sub> = 6.5 Hz, H-4), 7.25 (m, 2H, H-5, H-6), 3.47 (t, 2H, *J* = 7.0 Hz, 2H-1'), 3.38 (t, 2H, *J* = 7.0 Hz, 2H-4'), 1.84 (m, 4H, 2H-3'', 2H-4''). RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 186.5 (C-2'), 165.4 (C-1'), 137.4 (C-7<sup>a</sup>), 137.0 (C-3<sup>a</sup>), 125.3 (C-2), 123.6 (C-3), 122.6 (C-7), 121.1 (C-4), 112.8 (C-5), 112.7 (C-6), 46.65 (C-1'), 45.06 (C-4''), 25.66 (C-2''), 23.65 (C-3'').

**3-(2-(Pirrolidin-1-il)etil)-1*H*-indol (97):**

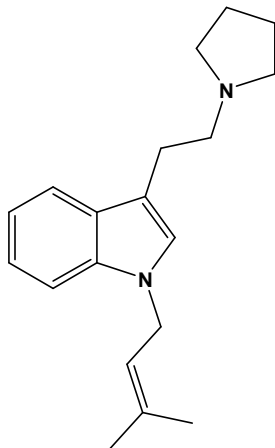


La formación de esta triptamina se realizó de igual forma que la de **89**, a partir de **96**, Rendimiento 79 % de un líquido incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.25 (s, 1H, NH) 7.61 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz, H-7), 7.31 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz, H-4), 7.16 (t, 1H, *J* = 8.5 Hz, H-5), 7.09 (t, 1H, *J* = 8.5 Hz, H-6), 6.98

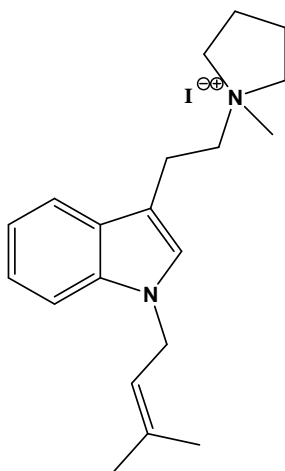
(d, 1H,  $J = 2.0$  Hz, H-2), 3.00 (m, 2H, 2H-2'), 2.81 (m, 2H, 2H-1'), 2.63 (m, 4H, 2H-1'', 2H-4''), 1.82 (m, 4H, 2H-2'', 2H-3'').

**1-(3-Metilbut-2-enil)-3-(2-(pirrolidin-1-il)etil)-1H-indol (46):**



La prenilación en N<sup>1</sup> se realizó de de igual forma que la de **62**, a partir de **96**. Este compuesto se usó directamente en la reacción siguiente.

**Yoduro de 1-metil-1-(2-(1-(3-metilbut-2-enil)-1H-indol-3-il)etil)pirrolidinio (47):**

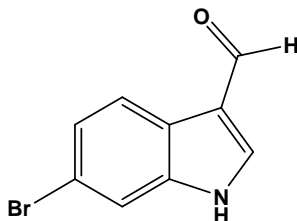


La formación de este yodometilato se realizó de igual forma que **80** a partir del compuesto anterior. Rendimiento 80 % los dos pasos para producir un líquido incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  7.65 (d, 1H,  $J = 7.6$  Hz, H-7), 7.42 (d, 1H,  $J = 7.5$  Hz, H-4), 7.27 (s, 1H, H-2), 7.16 (t, 1H,  $J = 7.6$ , H-5), 7.06 (t, 1H,  $J = 7.6$ , H-6), 5.31 (1H, m, H-2'), 4.73 (2H, d,  $J = 7.0$  Hz, 2H-1''), 3.60 (m, 6H, 2H-1''', 2H-4''', 2H-

3'''), 3.19 (m, 2H, 2H-2'''), 3.16 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 1.82 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-4'), 1.72 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-5''). RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 136.2 (C-7<sup>a</sup>), 136.0 (C-3<sup>a</sup>), 127.6 (C-2), 126.8 (C-3), 121.9 (C-7), 120.8 (4), 119.1 (2C, C-5, C-6), 110.4 (C-2''), 108.6 (C-3''), 63.97 (N(CH<sub>3</sub>), 63.92 (C-1'''), 62.48 (C-4'''), 48.04 (C-2'), 43.81 (C-1'), 25.95 (C-2''), 25.87 (C-3''), 21.60 (C-4'), 19.81 (C-5').

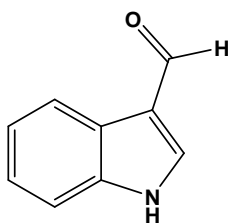
### 6-Bromo-3-indolilcarboxaldehido (98):



Oxícloruro de fósforo (1.3 g, 8.4 mmol) se adicionó a dimetilformamida (30 mL) a 0 °C con agitación constante. La mezcla de reacción se mantuvo a esa temperatura por 1 h y se permitió que llegara a temperatura ambiente. A esa temperatura se adicionó una solución de 6-bromoindol (67, 1.50 g, 7.65 mmol) en dimetilformamida (10 mL) y la solución resultante se agitó durante 3 h luego de las cuales la mezcla se adicionó a una mezcla de hielo-agua. A la solución roja resultante se le adicionó hidróxido de sodio 5N (10 mL). Después de 4 horas el precipitado fue filtrado, lavado con agua y secado al aire para producir 1.51g (88 %) de un sólido blanco.

RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 9.94 (s, 1H, CHO), 8.31 (s, 1H, NH), 8.22 (d, 1H, *J* = 2.4 Hz, H-7), 8.03 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, H-4), 7.71 (s, 1H, H-2), 7.36 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, H-5). RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 185.9 (CHO), 140.0 (C-3), 138.8 (C-7a), 125.9 (C-3a), 124.0 (C-2), 123.3 (C-7), 118.8 (C-4), 116.7 (C-5), 116.0 (C-6).

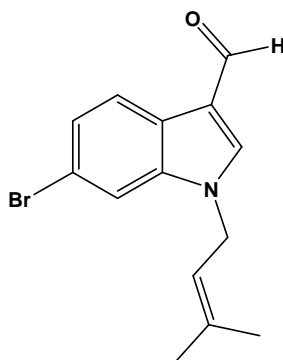
### 3-Indolilcarboxaldehido (99):



Este compuesto se sintetizó de la misma manera que el 6-bromo-3-indolilcarboxaldehído (**48**). Resumiendo, oxiclорuro de fósforo (7.4 g, 48 mmol) se adicionó a dimetilformamida (60 mL). A esta mezcla se adicionó una solución de indol (**84**, 5.15 g, 44 mmol) en dimetilformamida (20 mL) y la solución resultante se agitó durante 3 h luego de las cuales la mezcla se adicionó a una mezcla de hielo-agua. A la solución roja resultante se le adicionó hidróxido de sodio 5N (25 mL) y el sólido filtrado se secó al aire produciendo 6.2 g (97 %) de un sólido amarillo.

RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 12.14 (s, 1H, CHO), 9.94 (s, 1H, NH), 8.28 (s, 1H, H-2), 8.11 (d, 1H, *J* = 5.7 Hz, H-4), 7.51 (d, 1H, *J* = 5.7 Hz, H-7), 7.24 (m, 2H, H-5, H-6).

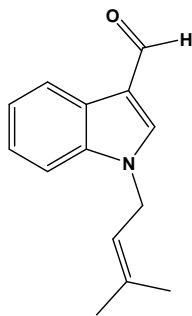
**6-Bromo-*N*<sup>1</sup>-prenil-3-indolilcarboxaldehído (**100**):**



La prenilación en N<sup>1</sup> se realizó de de igual forma que la de **62**, a partir de **98**. El producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano) obteniéndose un sólido amarillo claro con un rendimiento de 83 %.

RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 12-11 (s, 1H, CHO), 7.89 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, H-7), 7.45 (s, 1H, H-2), 7.23 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, H-4), 6.98 (s, 1H, H-2), 6.92 (m, 2H, H-5, H-2), 5.31 (m, 1H, H-2'), 4.77 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz, 2H-1'), 1.79 (s, 3H, 3H-4'), 1.72 (s, 3H, 3H-5').

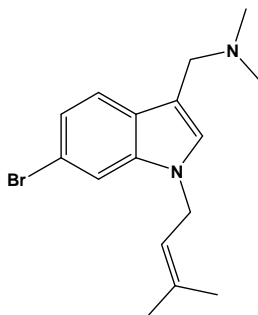
### **N<sup>1</sup>-Prenil-3-indolilcarboxaldehido (101):**



La prenilación en N<sup>1</sup> se realizó de de igual forma que la de **62**, a partir de **99**. El producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano) obteniéndose 0.90 g (83 %) de un sólido amarillo claro. El producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano) obteniéndose 4.1 g (92 %) de un sólido amarillo, p.f: 80-82 °C.

RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 12.11 (sa, 1H, CHO), 7.98 (s, 1H, H-2), 7.81 (d, 1H, *J* = 5.7 Hz, H-7), 7.21 (d, 1H, *J* = 5.7 Hz, H-4), 6.94 (m, 2H, H-5, H-6), 5.33 (m, 1H, H-2'), 4.79 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz, 2H-1'), 1.78 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-4'), 1.73 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-5').

### **(6-Bromo-1-(3-metilbut-2-enil)-1*H*-indol-3-il)-*N,N*-dimetilmetanamina (6-bromo-N<sup>1</sup>-prenilgramina, 96):**

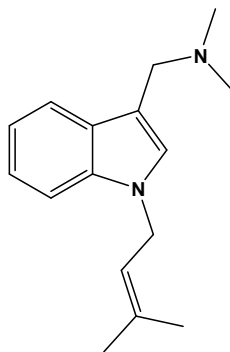


A una solución de 6-bromo-N<sup>1</sup>-prenil-3-indolilcarboxaldehido (**100**, 0.60 g, 2.1 mmol) en metanol (25 mL) se le burbujeó dimetilamina seca por 10 min y después la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 1 h. A la solución clara resultante se le adicionó borohidruro de sodio (0.60 g, 16 mmol) en pequeñas porciones. Al finalizar la adición del borohidruro de sodio la mezcla se mantuvo en agitación por 3 h, luego de las cuales la mezcla se concentró a presión reducida y el producto se purificó por cromatografía en

columna (gel de sílice, diclorometano:metanol 9:1) obteniéndose 0.43 g (65 %) de un líquido amarillo claro.

RMN-<sup>1</sup>H (Oxalato, 300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.74 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, H-4), 7.53 (d, 1H, *J* = 1.6 Hz, H-7), 7.56 (s, 1H, H-2), 7.25 (dd, 1H, *J* = 8.6, 1.6 Hz, H-5), 5.34 (m, 1H, H-2''), 4.78 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz, 2H-1'), 4.35 (s, 2H, 2H-1'), 2.66 (s, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.79 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-4''), 1.72 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-5''). RMN-<sup>13</sup>C (Oxalato, 75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 137.5 (C-7<sup>a</sup>), 137.4 (C-3<sup>a</sup>), 132.8 (C-2), 127.8 (C-3), 123.5 (C-7), 121.6 (C-4), 120.3 (C-2''), 115.5 (C-5), 114.0 (C-6), 104.3 (C-3''), 51.35 (2C, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 44.53 (C-1'), 42.04 (C-1''), 26.21 (C-4''), 18.73 (C-5'').

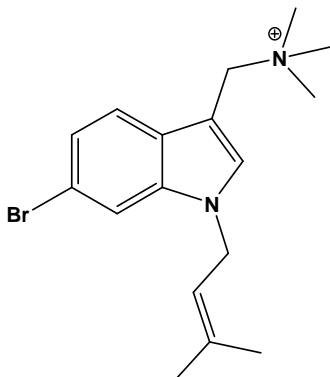
***N,N*-Dimetil(1-(3-metilbut-2-enil)-1*H*-indol-3-il)metanamina** (*N*<sup>1</sup>-prenilgramina, **97**):



La aminación reductiva se hizo de igual forma que para producir **102**, a partir de **101**. El producto se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano:metanol 9:1) obteniéndose un líquido incoloro con un rendimiento de 62 %.

RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.66 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz, H-7), 7.31 (d, 1H, *J* = 8.1 Hz, H-4), 7.20 (t, 1H, *J* = 7.5 Hz, H-5), 7.11 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, H-6), 7.10 (s, 1H, H-2), 5.36 (m, 1H, H-2''), 4.66 (d, 2H, *J* = 6.9 Hz, 2H-1'), 3.67 (s, 2H, 2H-1'), 2.30 (s, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.81 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>-4''), 1.76 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>-5''). RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 136.3 (C-7<sup>a</sup>), 136.1 (C-3<sup>a</sup>), 128.6 (C-2), 127.4 (C-3), 121.4 (C-7), 119.9 (C-4), 119.2 (2C, C-5, C-6), 110.6, (C-2''), 109.6 (C-3''), 54.14 (C-1'), 44.97 (2C, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 44.08 (C-1''), 25.75 (C-4''), 18.08 (C-5'').

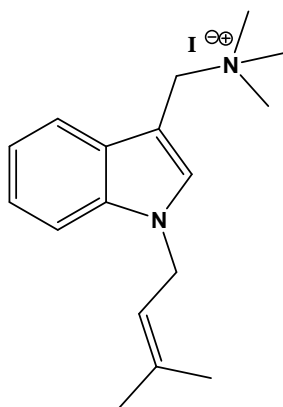
**(6-Bromo-1-(3-metilbut-2-enil)-1*H*-indol-3-il)-*N,N,N*-trimetilmetanaminio (yoduro de 6-bromo-*N*-metil-*N*<sup>1</sup>-prenilgraminio, 102):**



La formación de este yodometilato se realizó de igual forma que la de **80**, a partir de **96**. Rendimiento 90 % de un sólido blanco.

RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.80 (m, 2H, H-7, H-4), 7.70 (s, 1H, H-2), 7.31 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 2.7, 12.6 Hz, H-5), 5.36 (m, 1H, H-2'), 4.83 (d, 2H, *J*<sub>2</sub> = 6.9 Hz, 2H-1'), 4.66 (s, 2H, 2H-1'), 3.02 (s, 9H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.81 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-4'), 1.72 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-5').  
RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 136.6 (C-7<sup>a</sup>), 136.5 (C-3<sup>a</sup>), 133.5 (C-2), 127.2 (C-3), 123.1 (C-7), 120.6 (C-4), 119.4 (C-5), 114.5 (C-6), 113.4 (C-2'), 101.6 (C-3'9), 55.93 (C-1'), 51.22 (NCH<sub>3</sub>), 51.15 (NCH<sub>3</sub>), 51.06 (NCH<sub>3</sub>), 25.28 (CH<sub>3</sub>-4'), 17.86 (CH<sub>3</sub>-5').

**Yoduro de *N,N,N*-trimetil(1-(3-metilbut-2-enil)-1*H*-indol-3-il)metanaminio (yoduro de *N*-metil-*N*<sup>1</sup>-prenilgraminio, 103):**

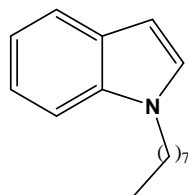


La formación de este yodometilato se realizó de igual forma que la de **80**, a partir de **97**. Rendimiento 87 % de un sólido blanco.



RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.84 (d, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-7), 7.69 (s, 1H, H-2), 7.50 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-4), 7.23 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, H-5), 7.17 (t, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-6), 5.36 (m, 1H, *J* = 6.8 Hz, H-2'), 4.83 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz, 2H-1'), 4.68 (s, 2H, 2H-1'), 3.04 (s, 9H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.83 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-4'), 1.72 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-5'). RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 136.6 (C-7a), 136.3 (C-3a), 133.2 (C-2), 128.7 (C-3), 122.4 (C-7), 120.8 (C-4), 120.3 (C-5), 119.3 (C-6), 111.1 (C-2'), 101.6 (C-3'), 60.89 (C-1'), 51.72 (NCH<sub>3</sub>), 51.68 (2C, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 44.36 (C-1'), 25.84 (CH<sub>3</sub>-4'), 18.40 (CH<sub>3</sub>-5').

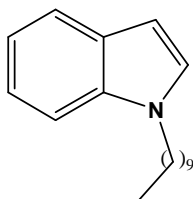
**1-Octil-1H-indol (104):**



A una solución de indol (**84**, 3.00 g, 25.3 mmol) en tolueno (50 mL) se adicionó una solución acuosa de hidróxido de sodio al 50 % (50 mL) y agua (50 mL). La mezcla se agitó y se adicionó bromuro de octilo (9.5 g, 50 mmol) y bromuro de tetrabutilamonio (7.5 g, 2.5 mmol). La mezcla se calentó a reflujo por 24 h y se extrajo con diclorometano (3 x 50 mL). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se concentró a presión reducida y el producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano:hexano 1:1) obteniéndose 5.00 g (85 %) de un líquido incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.62 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-7), 7.34 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-4), 7.19 (t, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-5), 7.09 (m, 2H, H-2, H-6), 6.47 (d, 1H, *J* = 2.8 Hz, H-3), 4.10 (t, 2H, *J* = 7.2 Hz, 2H-1'), 1.82 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz, 2H-2'), 1.27 (m, 10H, 2H-3' hasta 2H-7'), 0.86 (t, 3H, *J* = 6.8 Hz, CH<sub>3</sub>-8').

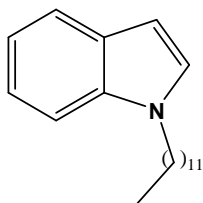
**1-Decil-1H-indol (105):**



La alquilación del indol en N<sup>1</sup> se hizo de igual forma que para producir **104** a partir de **84**. El producto se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano:hexano 1:1) obteniéndose 8.70 g (79 %) de un líquido incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.62 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-7), 7.33 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-4), 7.19 (t, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-5), 7.09 (m, 2H, H-6, H-2), 6.47 (d, 1H, *J* = 2.8 Hz, H-3), 4.10 (t, 2H, *J* = 7.2 Hz, 2H-1'), 1.82 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz, 2H-2'), 1.27 (m, 14H, 2H-3' hasta 2H-9'), 0.87 (t, 3H, *J* = 6.8 Hz, CH<sub>3</sub>-10').

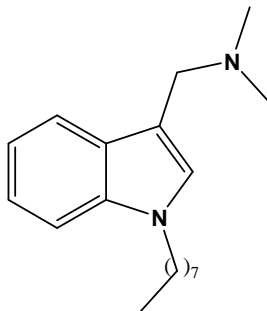
**1-Dodecil-1H-indol (106):**



La alquilación del indol en N<sup>1</sup> se hizo de igual forma que para producir **104** a partir de **84**. El producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano:hexano 1:1) obteniéndose 10.2 g (84 %) de un líquido incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.62 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-7), 7.33 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-4), 7.19 (t, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-5), 7.09 (m, 2H, H-6, H-2), 6.47 (d, 1H, *J* = 2.8 Hz, H-3), 4.10 (t, 2H, *J* = 7.2 Hz, 2H-1'), 1.82 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz, 2H-2'), 1.27 (m, 18H, 2H-3' hasta 2H-11'), 0.87 (t, 3H, *J* = 6.8 Hz, CH<sub>3</sub>-12').

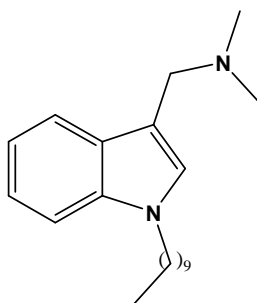
***N,N*-Dimetil(1-octil-1H-indol-3-il)metanamina (*N*<sup>1</sup>-octilgramina, 107):**



En un balón de fondo redondo de 100 mL equipado con una barra de agitación se colocó 1-octil-1*H*-indol (**69**, 3.00 g, 13.1 mmol), dimetilamina acuosa al 40% (5.0 g, 45 mmol) y formaldehído acuoso al 37 % (1.1 g, 14 mmol) en ácido acético (15 mL) con agitación constante por 24 h. Pasado este tiempo a la mezcla de reacción se le agregó agua (50 mL) y una solución acuosa de bicarbonato de potasio hasta que no se desprendió más dióxido de carbono. A la mezcla entonces se le adicionó hidróxido de potasio hasta pH 12. La suspensión resultante se extrajo con diclorometano, se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida. El producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano:metanol 9:1) obteniéndose 2.85 g (76 %) de un líquido incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (Oxalato, 400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.73 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-7), 7.57 (s, 1H, H-2), 7.49 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, H-4), 7.20 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, H-5), 7.12 (t, 1H, *J* = 8.4 Hz, H-6), 4.38 (s, 2H, 2H-1'), 4.16 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz, 2H-1''), 2.71 (s, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.74 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz, 2H-2''), 1.19 (m, 10H, 2H-3'' hasta 2H-7''), 0.80 (t, 3H, *J* = 6.8 Hz, CH<sub>3</sub>-8'). RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 136.3 (C-7a), 132.1 (C-3a), 128.0 (C-2), 122.4 (C-3), 120.3 (C-7), 119.2 (C-4), 110.8 (C-5), 102.7 (C-6), 51.51 (2C, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 46.01 (C-1'), 41.61 (C-1''), 31.52 (2C, C-2''), 29.98 (C-3''), 29.40 (C-4''), 28.80 (C-5''), 26.53 (C-6''), 22.42 (C-7''), 14.33 (C-8').

***N,N*-Dimetil(1-decil-1*H*-indol-3-il)metanamina (*N*<sup>1</sup>-decilgramina, **108**):**

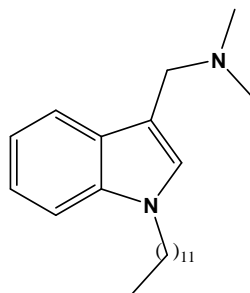


Este compuesto se sintetizó de la misma manera que **107**, a partir de **105**. El producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano:metanol 9:1) obteniéndose 3.00 g (82 %) de un líquido incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (Oxalato, 400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.75 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-7), 7.57 (s, 1H, H-2), 7.50 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, H-4), 7.19 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, H-5), 7.10 (t, 1H, *J* = 8.4

Hz, H-6), 4.38 (s, 2H, 2H-1'), 4.17 (t, 2H,  $J = 6.8$  Hz, 2H-1''), 2.68 (s, 6H,  $N(CH_3)_2$ ), 1.73 (t, 2H,  $J = 6.8$  Hz, 2H-2''), 1.18 (m, 14H, 2H-3'' hasta 2H-9''), 0.82 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz,  $CH_3-10''$ ). RMN- $^{13}C$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  141.0 (C-7<sup>a</sup>), 136.8 (C-3<sup>a</sup>), 132.9 (C-2), 127.0 (C-3), 125.0 (C-7), 124.1 (C-4), 115.5 (C-5), 107.6 (C-6), 56.16 (2C,  $N(CH_3)_2$ ), 50.86 (C-1'), 46.36 (C-1''), 36.47 (C-2''), 34.83 (C-3''), 34.13 (C-4''), 34.08 (C-5''), 33.84 (C-6''), 33.77 (C-7''), 31.37 (C-8''), 27.28 (C-9''), 19.16 (C-10'').

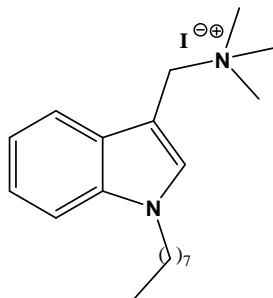
***N,N*-Dimetil(1-dodecil-1*H*-indol-3-il)metanamina (*N*<sup>1</sup>-dodecilgramina, **109**):**



Este compuesto se sintetizó de la misma manera que **107**, a partir de **106**. El producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano:metanol 9:1) obteniéndose 2.60 g (72 %) de un líquido incoloro.

RMN- $^1H$  (Oxalato, 400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  7.77 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz, H-7), 7.58 (s, 1H, H-2), 7.51 (d, 1H,  $J = 8.4$  Hz, H-4), 7.21 (t, 1H,  $J = 7.2$  Hz, H-5), 7.12 (t, 1H,  $J = 8.4$  Hz, H-6), 4.37 (s, 2H, 2H-1'), 4.19 (t, 2H,  $J = 6.8$  Hz, 2H-1''), 2.69 (s, 6H,  $N(CH_3)_2$ ), 1.77 (t, 2H,  $J = 6.8$  Hz, 2H-2''), 1.22 (m, 18H, 2H-3'' hasta 2H-11), 0.86 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz,  $CH_3-12''$ ). RMN- $^{13}C$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  136.3, (C-7a), 133.6 (C-3a), 128.6 (C-2), 122.3 (C-2), 120.7 (C-3), 119.4 (C-7), 119.3 (C-4), 111.0 (C-5), 101.4 (C-6), 60.90 (C-1'), 51.68 ( $NCH_3$ ), 51.65 ( $NCH_3$ ), 46.24 (C-1''), 31.73 (C-2''), 30.03 (C-3''), 29.44 (2C, C-4'', C-5''), 29.38 (2C, C-6'', C-7''), 29.13 (C-8''), 29.02 (C-9''), 26.64 (C-10''), 22.53 (C-11''), 14.39 (C-12'').

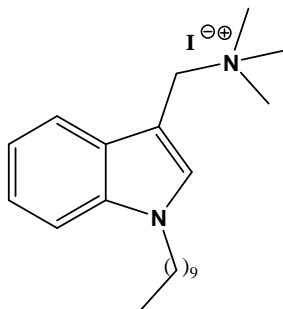
**Yoduro de *N,N,N*-trimetil(1-octil-1*H*-indol-3-il)metanaminio (yoduro de *N*-metil-*N*<sup>1</sup>-octilgraminio, 110):**



La formación de este yodometilato se realizó de igual forma que la de **80**, a partir de **107**. Rendimiento 86 % de un sólido blanco .

RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.85 (d, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-7), 7.74 (s, 1H, H-2), 7.57 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-4), 7.23 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, H-5), 7.17 (t, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-6), 4.70 (s, 2H, 2H-1'), 4.24 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz, 2H-1''), 3.05 (s, 9H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.78 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz, 2H-2''), 1.22 (m, 10H, 2H-4'' hasta 2H-7''), 0.83 (t, 3H, *J* = 6.4 Hz, 2H-8''). RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 136.3 (C-7<sup>a</sup>), 133.6 (C-3<sup>a</sup>), 128.6 (C-2), 122.4 (C-3), 120.7 (C-7), 119.3 (C-4), 111.0 (C-5), 101.4 (C-6), 60.84 (C-1'), 51.65 (2C, (NCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 51.61 (NCH<sub>3</sub>), 46.23 (C-1''), 31.62 (C-2''), 30.03 (C-3''), 29.05 (C-4''), 28.98 (C-5''), 26.64 (C-6''), 22.49 (C-7''), 14.40 (C-8'').

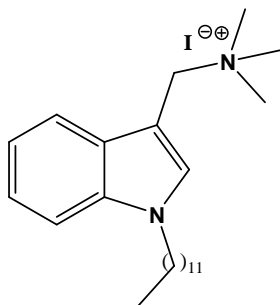
**Yoduro de *N,N,N*-trimetil(1-decil-1*H*-indol-3-il)metanaminio (yoduro de *N*-metil-*N*<sup>1</sup>-decilgraminio, 111):**



La formación de este yodometilato se realizó de igual forma que la de **80**, a partir de **107**. Rendimiento 82 % de un sólido blanco.

RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.83 (d, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-7), 7.72 (s, 1H, H-2), 7.56 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-4), 7.23 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, H-5), 7.16 (t, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-6), 4.68 (s, 2H, 2H-1'), 4.23 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz, 2H-1''), 3.04 (s, 9H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.77 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz, 2H-2''), 1.23 (m, 14H, 2H-3'' hasta 2H-9''), 0.84 (t, 3H, *J* = 6.4 Hz, CH<sub>3</sub>-10''). RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 136.3 (C-7<sup>a</sup>), 133.6 (C-3<sup>a</sup>), 128.6 (C-2), 122.4 (C-3), 120.7 (C-7), 119.3 (C-4), 111.0 (C-5), 101.4 (C-6), 60.88 (C-1'), 51.71 (NCH<sub>3</sub>), 51.67 (NCH<sub>3</sub>), 51.64 (NCH<sub>3</sub>), 46.23 (C-1''), 31.71 (C-2''), 30.02 (C-3''), 29.38 (C-4''), 29.32 (C-5''), 29.08 (C-6''), 29.01 (C-7''), 26.63 (C-8''), 22.51 (C-9''), 14.39 (C-10'').

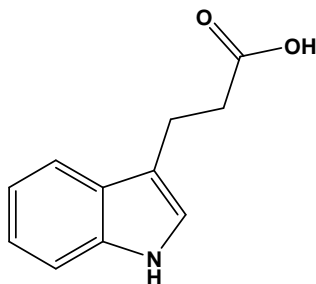
**Yoduro de *N,N,N*-trimetil(1-dodecil-1*H*-indol-3-il)metanaminio (yoduro de *N*-metil-*N*<sup>1</sup>-dodecilgraminio, 112):**



La formación de este yodometilato se realizó de igual forma que la de **80**, a partir de **107**. Rendimiento 85 % de un sólido blanco.

RMN-<sup>1</sup>H 400 MHz, (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.85 (d, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-7), 7.73 (s, 1H, H-2), 7.57 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-4), 7.23 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, H-5), 7.16 (t, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-6), 4.70 (s, 2H, 2H-1'), 4.23 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz, 2H-1''), 3.05 (s, 9H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.78 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz, 2H-2''), 1.22 (m, 18H, 2H-3'' hasta 2H-11''), 0.85 (t, 3H, *J* = 6.4 Hz, CH<sub>3</sub>-12''). RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 136.3 (C-7<sup>a</sup>), 133.6 (C-3<sup>a</sup>), 128.6 (C-2), 122.4 (C-3), 120.7 (C-7), 119.3 (C-4), 111.0 (C-5), 101.4 (C-6), 60.90 (C-1'), 51.68 (2C, (NCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 51.65 (NCH<sub>3</sub>), 46.24 (C-2''), 31.34 (C-3''), 30.05 (C-4''), 29.44 (2C, C-5'', C-6''), 29.38 (2C, C-7'', C-8''), 29.13 (C-9''), 26.64 (C-10''), 22.53 (C-11''), 14.39 (C-12'').

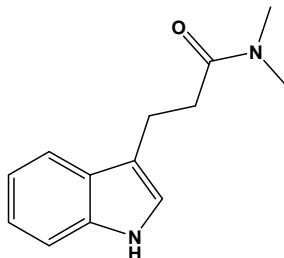
**Ácido 3-(1*H*-indol-3-il)-propanoico (ácido 3-indolpropiónico, 113):**



Un balón de fondo redondo de 500 mL fue cargado con una barra de agitación, una solución de indol (**43**, 12.0 g, 103 mmol) en ácido acético (50 mL), anhídrido acético (20.4 g, 220 mmol) y ácido acrílico (16 g, 220 mmol) y la mezcla fue calentada a 90 °C por 3 h con agitación constante. Pasado este tiempo la mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente, los compuestos volátiles fueron evaporados a presión reducida y al líquido viscoso resultante se le agregó hidróxido de sodio 3 N (100 mL) sin enfriamiento externo. La mezcla resultante se dejó enfriar a temperatura ambiente, los sólidos fueron filtrados y la solución fue acidificada con ácido clorhídrico concentrado. El producto fue recolectado por filtración y fue recrystalizado en metanol obteniéndose 8.7 g (45%) de un sólido blanco, p.f. 134-136 °C.

RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 12.06 (s a, 1H, OH), 10.71 (s, 1H, NH), 7.51 (d, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-7), 7.33 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-4), 7.11 (s, 1H, H-2), 7.06 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, H-5), 6.97 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, H-6), 2.93 (t, 2H, *J* = 7.6 Hz, 2H-2'), 2.59 (t, 2H, *J* = 8.0 Hz, 2H-1'). RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 174.6 (C-3'), 136.7 (C-7<sup>a</sup>), 127.4 (C-3<sup>a</sup>), 122.7 (C-2), 122.5 (C-3), 121.4 (C-7), 118.7 (C-4), 113.9 (C-5), 111.7 (C-6), 35.06 (C-2'), 20.77 (C-1').

**3-(1*H*-Indol-3-il)-*N,N*-dimetilpropanamida (*N,N*-dimetil- 3-indolpropionamida, 114):**

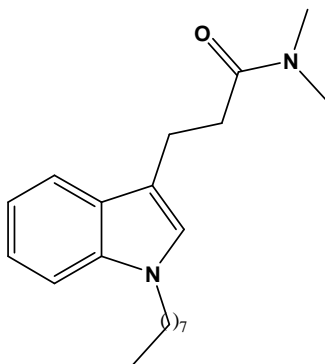


Un balón de fondo redondo de 1000 mL equipado con una barra de agitación y atmósfera de nitrógeno fue cargado con una solución de ácido 3-indolpropiónico (4.00 g, 21.2 mmol) en tetrahidrofurano seco (500 mL) y *N,N'*-carbonildiimidazol (3.56 g, 22 mmol). Después de 30 min la producción de gas terminó y la agitación se mantuvo por 1 h más. Pasado este tiempo se burbujeó en la solución dimetilamina seca por 10 min. y la mezcla de reacción se mantuvo con agitación por 16 h. La mezcla fue diluida con agua y extraída con acetato de etilo (4 x 200 mL). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y el solvente se evaporó a sequedad. El producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, acetato de etilo:metanol 95:5) obteniéndose 4.20 g (92 %) de un sólido blanco.

RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8.41 (s a, 1H, NH), 7.61 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-7), 7.35 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-4), 7.18 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, H-5), 7.11 (t, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-6), 7.01 (s, 1H, H-2), 3.14 (t, 2H, *J* = 7.6 Hz, 2H-2'), 2.96 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 2.90 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 2.71 (t, 2H, *J* = 8.0 Hz, 2H-1'). RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 172.9 (C-3'), 136.4 (C-7<sup>a</sup>), 127.3 (C-3<sup>a</sup>), 121.9 (C-2), 121.8 (C-3), 119.2 (C-7), 118.7 (C-4), 115.4 (C-5), 111.3 (C-6), 37.24 (NCH<sub>3</sub>), 35.47 (NCH<sub>3</sub>), 34.25 (C-2'), 20.96 (C-3').

***N,N*-Dimetil-3-(1-octil-1*H*-indol-3-il)propanamida**  
**indolpropionamida, 115):**

**(*N*<sup>1</sup>-Octil-*N,N*-dimetil-3-**



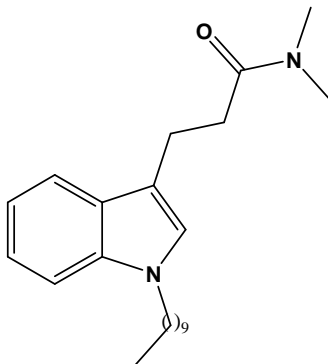
A una suspensión de hidruro de sodio (0.133 g, 5.55 mmol) en dimetilformamida (10 mL) fue adicionada con agitación constante y a temperatura ambiente una solución de *N,N*-dimetil-3-indolpropionamida (**79**, 1.00 g, 4.63 mmol) en dimetilformamida (10 mL). La mezcla se mantuvo en las mismas condiciones por 1 h. Pasado ese tiempo fue adicionada gota a gota una solución de bromuro de octilo (1.07 g, 5.55 mmol) en dimetilformamida (10 mL) y la mezcla de reacción se mantuvo por 16 h, luego de las



cuales se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL), la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se llevó a sequedad a presión reducida. El producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, acetato de etilo) obteniéndose 1.32 g (87 %) de un líquido ligeramente amarillo.

RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.59 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-7), 7.30 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-4), 7.19 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, H-5), 7.09 (t, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-6), 6.94 (s, 1H, H-2), 4.05, (t, 2H, *J* = 7.2 Hz, 2H-1'), 3.11 (t, 2H, *J* = 7.6 Hz, 2H-2'), 2.95 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 2.90 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 2.69 (t, 2H, *J* = 8.4 Hz, 2H-1'), 1.80 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz, 2H-7'), 1.28 (m, 10H, 2H-2'' hasta 2H-6''), 0.87 (t, 2H, *J* = 6.4 Hz, NCH<sub>3</sub>-8). RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 172.9 (C-3'), 136.3 (C-7<sup>a</sup>), 127.7 (C-3<sup>a</sup>), 125.5 (C-2), 121.3 (C-3), 118.9 (C-7), 118.6 (C-4), 114.0 (C-5), 109.4 (C-6), 46.21 (C-1'), 37.24 (NCH<sub>3</sub>), 35.43 (NCH<sub>3</sub>), 34.49 (C-2'), 31.81 (C-1'), 30.35 (C-2''), 29.26 (C-3''), 29.20 (C-4''), 27.07 (C-5''), 22.64 (C-6''), 20.89 (C-7''), 14.05 (C-8'').

***N*<sup>1</sup>-Decil-*N,N*-dimetil- 3-indolpropionamida (116):**

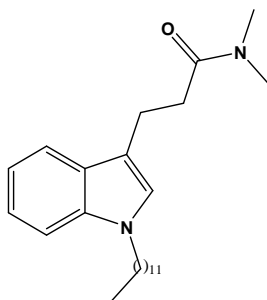


Este compuesto se sintetizó de la misma manera que **115** a partir de **114**. El producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, acetato de etilo) obteniéndose 1.0 g (64 %) de un líquido ligeramente amarillo.

RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.58 (d, 1H, *J* = 8.2 Hz, H-7), 7.32 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, H-4), 7.21 (t, 1H, *J* = 7.4 Hz, H-5), 7.11 (t, 1H, *J* = 7.4 Hz, H-6), 6.90 (s, 1H, H-2), 4.03, (t, 2H, *J* = 7.2 Hz, 2H-1'), 3.10 (t, 2H, *J* = 7.6 Hz, 2H-2'), 2.93 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 2.88 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 2.69 (t, 2H, *J* = 8.4 Hz, 2H-1'), 1.80 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz, 2H-9'), 1.27 (m, 14H, 2H-2'' hasta 2H-8''), 0.87 (t, 2H, *J* = 6.4 Hz, CH<sub>3</sub>-10). RMN-<sup>13</sup>C (75

MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 172.5 (C-3'), 136.4 (C-7<sup>a</sup>), 127.7 (C-3<sup>a</sup>), 125.5 (C-2), 121.3 (C-3), 118.9 (C-7), 118.6 (C-4), 114.0 (C-5), 109.4 (C-6), 46.21 (C-1'), 37.24 (C-2'), 35.43 (NCH<sub>3</sub>), 34.49 (NCH<sub>3</sub>) 31.81 (C-2'), 30.35 (C-3'), 29.98 (C-4'), 29.56 (C-5'), 29.26 (C-6'), 29.20 (C-7'), 27.07 (C-8'), 20.78 (C-9'), 14.01 (C-10').

**N<sup>1</sup>-Dodecil-N,N-dimetil-3-indolpropionamida (117):**

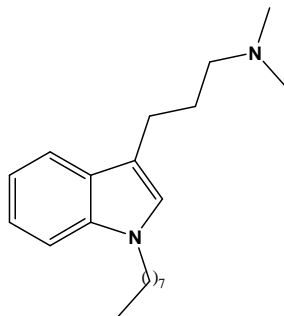


Este compuesto se sintetizó de la misma manera que **115** a partir de **114**. El producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, acetato de etilo) produciendo 1.1 g (75 %) de un líquido ligeramente amarillo.

RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.59 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-7), 7.32 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-4), 7.20 (t, 1H, *J* = 7.4 Hz, H-5), 7.11 (t, 1H, *J* = 7.4 Hz, H-6), 6.88 (s, 1H, H-2), 4.03, (t, 2H, *J* = 7.2 Hz, 2H-1'), 3.10 (t, 2H, *J* = 7.6 Hz, 2H-2'), 2.93 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 2.88 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 2.69 (t, 2H, *J* = 8.4 Hz, 2H-1'), 1.80 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz, 2H-11'), 1.27 (m, 18H, 2H-2'' hasta 2H-10'), 0.87 (t, 2H, *J* = 6.4 Hz, NCH<sub>3</sub>-12'). RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 172.4 (C-3'), 136.4 (C-7<sup>a</sup>), 127.7 (C-3<sup>a</sup>), 125.5 (C-2), 121.3 (C-3), 118.9 (C-7), 118.6 (C-4), 114.0 (C-5), 109.4 (C-6), 46.21 (C-1'), 37.24 (C-2'), 35.43 (NCH<sub>3</sub>), 34.49 (NCH<sub>3</sub>), 31.81 (C-1'), 30.35 (C-2'), 29.98 (C-3'), 29.77 (C-4'), 29.56 (C-5'), 29.26 (2C, C-6', C-7'), 29.20 (C-8'), 27.07 (C-9'), 22.64 (C-10'), 20.70 (C-11'), 14.05 (C-12').

***N,N*-Dimetil-3-(1-octil-1*H*-indol-3-il)propan-1-amina dimetilhomotriptamina, 118):**

**(*N*<sup>1</sup>-Octil-*N,N*-**

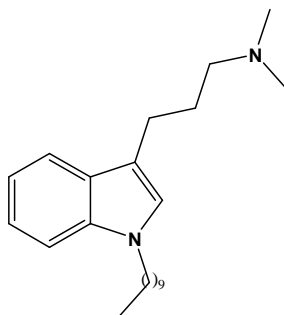


La formación de esta homotriptamina se realizó de igual forma que **89** a partir de **118**. Rendimiento 73 % de un líquido incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (Oxalato, 300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8.51 (d, 1H, *J* = 7.4 Hz, H-7), 7.33 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz, H-4), 7.15 (s, 1H, H-2), 7.05 (t, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-5), 6.94 (t, 1H, *J* = 7.4 Hz, H-6), 4.05 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz, 2H-1'), 3.01 (t, 2H, *J* = 7.6 Hz, 2H-3'), 2.67 (s, 6H, (NCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.98 (t, 2H, *J* = 8.0 Hz, 2H-2'), 1.68 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz, 2H-1''), 1.18 (m, 10H, 2H-2'' hasta 2H-6''), 0.80 (t, 3H, *J* = 6.4 Hz, CH<sub>3</sub>-8''). RMN-<sup>13</sup>C (Oxalato, 75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 136.6 (C-7<sup>a</sup>), 127.7 (C-3<sup>a</sup>), 126.3 (C-2), 121.5 (C-3), 119.0 (C-7), 118.7 (C-4), 112.8 (C-5), 110.1 (C-6), 57.01 (2C, (NCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 45.74 (C-1'), 42.55 (C-3'), 31.72 (C-2'), 30.32 (C-1''), 29.42 (C-2''), 29.10 (C-3''), 26.77 (C-4''), 24.93 (C-5''), 22.53 (C-6''), 22.17 (C-7''), 14.41 (C-8'').

***N,N*-Dimetil-3-(1-decil-1*H*-indol-3-il)propan-1-amina dimetilhomotriptamina, 119):**

**(*N*<sup>1</sup>-decil-*N,N*-**

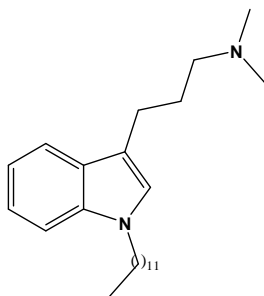


La formación de esta homotriptamina se realizó de igual forma que **89** a partir de **119**. Rendimiento 80 % de un líquido incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (Oxalato, 400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8.49 (d, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-7), 7.35 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-4), 7.15 (s, 1H, H-2), 7.07 (t, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-5), 6.96 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, H-6), 4.05 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz, 2H-1'), 3.02 (t, 2H, *J* = 7.6 Hz, 2H-3'), 2.69 (s, 6H, (NCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.96 (t, 2H, *J* = 8.0 Hz, 2H-2'), 1.68 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz, 2H-1'), 1.18 (m, 14H, 2H-2'' hasta 2H-9''), 0.80 (t, 3H, *J* = 6.4 Hz, NCH<sub>3</sub>-10'). RMN-<sup>13</sup>C (Oxalato, 100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 136.5 (C-7<sup>a</sup>), 127.8 (C-3<sup>a</sup>), 126.3 (C-2), 121.5 (C-3), 119.0 (C-7), 118.7 (C-4), 112.8 (C-5), 110.1 (C-6), 57.01 ((NCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 45.74 (C-1'), 42.55 (C-3'), 31.72 (C-2'), 30.32 (C-1'), 29.42 (C-2''), 29.36 (C-3''), 29.10 (2C, C-4'', C-5''), 26.77 (C-6''), 24.97 (C-7''), 22.53 (C-8''), 22.15 (C-9''), 14.39 (C-10').

***N,N*-Dimetil-3-(1-dodecil-1*H*-indol-3-il)propan-1-amina dimetilhomotriptamina, 120):**

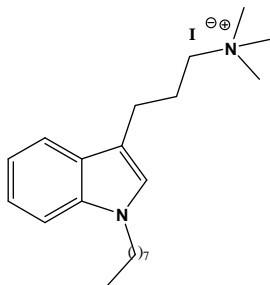
**(*N*<sup>1</sup>-dodecil-*N,N*-**



La formación de esta homotriptamina se realizó de igual forma que **89** a partir de **120**. Rendimiento 73 % de un líquido incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (Clorhidrato, 300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>/CDCl<sub>3</sub>): δ 7.47 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz, H-7), 7.24 (d, 1H, *J* = 8.1 Hz, H-4), 7.11 (s, 1H, H-2), 7.08 (t, 1H, *J* = 8.1 Hz, H-5), 6.97 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, H-6), 4.00 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz, 2H-1'), 3.02 (t, 2H, *J* = 7.6 Hz, 2H-3'), 2.79 (t, 2H, *J* = 6.9 Hz, 2H-1'), 2.73 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 2.72 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 2.16 (m, 2H, 2H-2'), 1.20 (m, 18H, 2H-2'' hasta 2H-11''), 0.81 (t, 3H, *J* = 6.4 Hz, CH<sub>3</sub>-12''). RMN-<sup>13</sup>C (Clorhidrato, 75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>/CDCl<sub>3</sub>): δ 136.7 (C-7<sup>a</sup>), 127.9 (C-3<sup>a</sup>), 126.2 (C-2), 121.9 (C-3), 119.1 (C-7), 112.51 (C-4), 112.47 (C-5), 109.9 (C-6), 57.63 (NCH<sub>3</sub>), 56.19 (NCH<sub>3</sub>), 46.52 (C-1'), 43.02 (C-3'), 32.20 (C-2'), 30.67 (C-1'), 29.90 (C-2''), 29.83 (C-3''), 29.62 (2C, C-4'', C-5''), 29.58 (2C, C-6'', C-7''), 27.31 (C-8''), 25.16 (C-9''), 22.99 (C-10''), 22.50 (C-11''), 14.61 (C-12'').

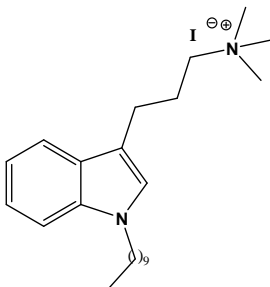
**Yoduro de *N,N,N*-trimetil-3-(1-octil-1*H*-indol-3-il)propan-1-aminio (yoduro de *N*<sup>1</sup>-octil-*N,N,N*-trimetilhomotriptaminio, 121):**



La formación de este yodometilato se realizó de igual forma que **80** a partir de **118**. Rendimiento 88 % de un sólido blanco .

RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.51 (d, 1H, *J* = 6.0 Hz), 7.34 (d, 1H, *J* = 6.3 Hz), 7.19 (s, 1H), 7.08 (t, 1H, *J* = 5.4 Hz), 6.96 (t, 1H, *J* = 7.2), 4.06 (t, 2H, *J* = 5.1 Hz), 3.35 (m, 2H), 3.03 (s, 9H), 2.68 (t, 2H, *J* = 5.7 Hz), 2.03 (m, 2H), 1.68 (t, 2H, *J* = 5.1 Hz), 1.20 (m, 10H), 0.78 (t, 3H, *J* = 4.8 Hz). RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 136.5, 127.7, 126.4, 121.5, 119.0, 118.8, 112.5, 110.1, 52.77 (2C), 52.73, 45.78, 31.72, 30.36, 29.78, 29.66, 29.56, 29.42, 29.37, 29.13, 26.78, 23.60, 22.53, 21.96, 14.39.

**Yoduro de *N,N,N*-trimetil-3-(1-decil-1*H*-indol-3-il)propan-1-aminio (yoduro de *N*<sup>1</sup>-decil-*N,N,N*-trimetilhomotriptaminio, 122):**

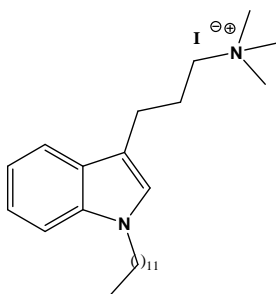


La formación de este yodometilato se realizó de igual forma que **80** a partir de **119**. Rendimiento 89 % de un sólido blanco .

RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.52 (d, 1H, *J* = 6.0 Hz, H-7), 7.37 (d, 1H, *J* = 6.3 Hz, H-4), 7.20 (s, 1H, H-2), 7.08 (t, 1H, *J* = 5.4 Hz, H-5), 6.97 (t, 1H, *J* = 7.2, H-6),

4.06 (t, 2H,  $J = 5.1$  Hz, 2H-1'), 3.35 (m, 2H, 2H-2'), 3.03 (s, 9H, (NCH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.68 (t, 2H,  $J = 5.7$  Hz, 2H-1'), 2.03 (m, 2H, 2H-2''), 1.68 (t, 2H,  $J = 5.1$  Hz, 2H-9''), 1.20 (m, 18H, 2H-3'' hasta 2H-6''), 0.81 (t, 3H,  $J = 4.8$  Hz, CH<sub>3</sub>-8''). RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  136.5 (C-7<sup>a</sup>), 127.7 (C-3<sup>a</sup>), 126.4 (C-2), 121.5 (C-3), 119.0 (C-7), 118.8 (C-4), 112.5 (C-5), 110.1 (C-6), 52.77 (2C, (NCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 52.73 (NCH<sub>3</sub>), 45.78 (C-3'), 31.72 (C-1'), 30.36 (C-2'), 29.42 (C-1'), 29.37 (C-2''), 29.11 (2C, C-3'', C-4'), 26.78 (2C, C-5'', C-6''), 23.60 (C-8''), 22.53 (C-9''), 14.40 (C-10'').

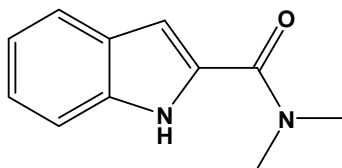
**Yoduro de *N,N,N*-trimetil-3-(1-dodecil-1*H*-indol-3-il)propan-1-aminio (yoduro de *N*<sup>1</sup>-dodecil-*N,N,N*-trimetilhomotriptaminio, 123):**



La formación de este yodometilato se realizó de igual forma que **80** a partir de **120**. Rendimiento 75 % de un sólido blanco.

RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  7.56 (d, 1H,  $J = 7.8$  Hz, H-7), 7.41 (d, 1H,  $J = 8.4$  Hz, H-4), 7.24 (s, 1H, H-2), 7.12 (t, 1H,  $J = 7.2$  Hz, H-5), 7.01 (t, 1H,  $J = 7.2$ , H-6), 4.10 (t, 2H,  $J = 6.9$  Hz, 2H-3'), 3.41 (m, 2H, 2H-2'), 3.07 (s, 9H, (NCH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.72 (t, 2H,  $J = 7.5$  Hz, 2H-1'), 2.07 (m, 2H, 2H-2''), 1.72 (t, 2H,  $J = 6.6$  Hz, 2H-1'), 1.21 (m, 18H, 2H-3' hasta 2H-11'), 0.85 (t, 3H,  $J = 6.3$  Hz, CH<sub>3</sub>-12'). RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  136.9 (C-7<sup>a</sup>), 128.1 (C-3<sup>a</sup>), 126.8 (C-2), 121.9 (C-3), 119.45 (C-7), 119.17 (C-4), 112.9 (C-5), 110.5 (C-6), 66.25 (C-1'), 53.17 (NCH<sub>3</sub>), 53.12 (NCH<sub>3</sub>), 53.07 (NCH<sub>3</sub>), 46.16 (C-3'), 32.15 (C-2'), 30.77 (C-1'), 29.86 (2C, C-2'', C-3''), 29.56 (2C, C-4'', C-5''), 29.53 (C-7'), 27.18 (C-8), 23.99 (C-9''), 22.95 (C-10''), 22.34 (C-11'), 14.82 (C-12')

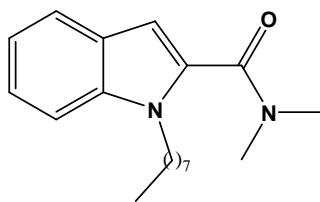
***N,N*-Dimetil-1*H*-indol-2-carboxamida (125):**



En un balón de fondo redondo equipado con una barra de agitación y a temperatura ambiente se puso a reaccionar una solución de ácido indol-2-carboxílico (**124**, 2.00 g, 12.4 mmol) en tetrahidrofurano seco (20 mL) y la mezcla se mantuvo en agitación por 16 h. Transcurrido este tiempo, los volátiles fueron evaporados a presión reducida y el líquido viscoso resultante se disolvió en diclorometano (20 mL) y a la solución se le agregó gota a gota y con agitación una solución acuosa al 40 % de dimetilamina (5.6 g, 50 mmol). La mezcla fue diluida con agua y extraída con diclorometano (4 x 25 mL), la fase orgánica fue secada sobre sulfato de sodio y concentrada hasta sequedad y el producto fue recristalizado en metanol produciendo 1.86 g (80 %) de unos cristales color café.

RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 11.46 (s a, 1H, NH), 7.55 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-7), 7.38 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-4), 7.13 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, H-5), 6.98 (t, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-6), 6.81 (s, 1H, H-3), 3.20 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 3.05 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>). RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 163.1 (C-1'), 136.2 (C-7<sup>a</sup>), 130.7 (C-3<sup>a</sup>), 127.53 (C-2), 127.5 (C-3), 123.7 (C-7), 121.8 (C-5), 120.1 (C-6), 112.53 (C-4), 112.48 (NCH<sub>3</sub>), 105.0 (NCH<sub>3</sub>).

***N,N*-Dimetil-1-octil-1*H*-indol-2-carboxamida (126):**

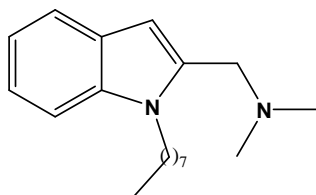


Este compuesto se sintetizó de la misma manera que la *N,N*-dimetil-3-(1-octil-1*H*-indol-3-il)propanamida (**115**). Resumiendo, a hidruro de sodio (0.153 g, 6.38 mmol) en dimetilformamida (10 mL) se le añadió *N,N*-dimetil-1*H*-indol-2-carboxamida (**125**, 1.00 g, 5.32 mmol) en dimetilformamida (10 mL). La mezcla se mantuvo a temperatura ambiente y agitación constante por 1 h. Pasado ese tiempo fue adicionada gota a gota

una solución de bromuro de octilo (1.23 g, 6.38 mmol) en dimetilformamida (10 mL) y la mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente por 16 h. Después de la extracción el producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, acetato de etilo) produciendo 1.17 g (73 %) de un líquido incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.68 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-7), 7.42 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-4), 7.32 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, H-5), 7.17 (t, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-6), 6.65 (s, 1H, H-3), 4.35 (t, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-1''), 3.22 (s, 6H, (NCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.81, (m, 2H, 2H-2''), 1.31 (t, 1H, *J* = 4.4 Hz, 2H-7'), 0.92 (t, 1H, *J* = 6.8 Hz, CH<sub>3</sub>-8). RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 164.7 (C-1'), 137.1 (C-7<sup>a</sup>), 131.6 (C-3<sup>a</sup>), 126.6 (C-2), 123.0 (C-3), 121.6 (C-7), 120.0 (C-4), 110.2 (C-5), 103.9 (C-6), 44.33 (2C, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 31.81 (C-1''), 30.45 (C-2''), 29.25 (2C, C-3'', C-4''), 26.98 (2C, C-5'', C-6''), 22.65 (C-7''), 14.10 (C-8'').

***N,N*-Dimetil(1-octil-1*H*-indol-2-il)metanamina (127):**



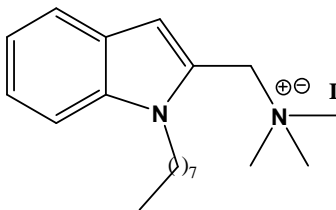
Este compuesto se sintetizó de la misma manera que 3-(2-(pirrolidin-1-il)etil)-1*H*-indol (97). Resumiendo, a hidruro de litio y aluminio (1.0 g, 26 mmol) en tetrahidrofurano seco (100 mL) a 0 °C se le añadió *N,N*-dimetil-1-octil-1*H*-indol-2-carboxamida (126, 1.00 g, 3.33 mmol) en tetrahidrofurano seco. La reacción se detuvo de la manera habitual una vez transcurridas 4 h y el producto fue purificado por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano:metanol 9:1) produciendo 0.90 g (95 %) de un líquido viscoso incoloro.

RMN-<sup>1</sup>H (Oxalato, 400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.51 (d, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-7), 7.43 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, H-4), 7.13 (t, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-5), 7.00 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, H-6), 6.60 (s, 1H, H-3), 4.23 (m, 4H, 2H-1', 2H-1''), 2.60 (s, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.58, (m, 2H, 2H-7''), 1.19 (m, 10H, 2H-3'' hasta 2H-6''), 0.79 (t, 1H, *J* = 6.4 Hz, CH<sub>3</sub>-2H-8'). RMN-<sup>13</sup>C (Oxalato, 100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 138.1 (C-7<sup>a</sup>), 137.2 (C-3<sup>a</sup>), 127.3 (C-2), 122.3 (C-3), 120.9 (C-7), 119.9 (C-4), 110.8 (C-5), 104.9 (C-6), 43.37 (C-1'), 42.91 (NCH<sub>3</sub>), 42.83



(NCH<sub>3</sub>), 31.63 (C-2''), 30.30 (C-3''), 29.17 (C-4''), 29.06 (C-5''), 26.65 (C-6''), 22.49 (C-7''), 14.37 (C-8'').

### Yoduro de *N,N,N*-trimetil(1-octil-1*H*-indol-2-il)metanamínio (128):



Este compuesto se sintetizó de la misma manera que **80**. Resumiendo, *N,N*-dimetil(1-octil-1*H*-indol-2-il)metanamina (**92**, 0.5 g, 1.7 mmol) disuelta en acetona (5 mL) se trató con yoduro de metilo (2.1 g, 15.0 mmol). A la suspensión resultante, después de 24 h, se le adicionó éter etílico (20 mL) y el precipitado se filtró al vacío produciendo 0.65 g (87 %) de un sólido blanco.

RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.60 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-7), 7.52 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, H-4), 7.21 (t, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-5), 7.06 (t, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-6), 6.80 (s, 1H, H-3), 4.78 (s, 2H, 2H-1'), 4.30 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, 2H-1''), 3.08 (s, 9H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.55 (m, 2H, 2H-7''), 1.15 (m, 10H, 2H-3'' hasta 2H-6''), 0.78 (t, 1H, *J* = 6.4 Hz, CH<sub>3</sub>-8'').  
RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 138.1 (C-7<sup>a</sup>), 137.6 (C-3<sup>a</sup>), 127.2 (C-2), 123.3 (C-3), 121.5 (C-7), 120.5 (C-4), 111.6 (C-5), 109.0 (C-6), 59.43 (C-1'), 52.18 (3C, (NCH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 43.56 (C-1''), 31.59 (C-2''), 30.11 (C-3''), 29.18 (C-4''), 29.03 (C-5''), 26.45 (C-6''), 22.47 (C-7''), 14.37 (C-8'').

### 2.2. Ensayos de afinidad por desplazamiento de un radioligando.

Los ensayos para determinar la afinidad de los compuestos sintetizados frente al RnA<sub>Co</sub>, subtipo α4β2, fueron realizados en una fracción de membranas de cerebros de rata utilizando (±)-[<sup>3</sup>H]epibatidina como radioligando.

### **2.2.1. Preparación de los cerebros de rata.**

Los cerebros congelados fueron descongelados y colocados en un baño de hielo por 30 a 60 min y después en un plato de material plástico. Por medio de un corte en la parte trasera del cerebro se extrajeron el cerebelo y la médula. Se determinó el peso húmedo de los cerebros y se homogenizaron en buffer de sacarosa con un homogenizador de teflón por 10 segundos. El tejido fue centrifugado (1000 x 10 g, 20 min, 4 °C) para obtener el sobrenadante S1 y la pastilla P1. El sobrenadante se extrajo con una pipeta Pasteur y se colocó en un recipiente enfriado por un baño de hielo. La pastilla P1 (enriquecida en núcleos, células intactas y vasos capilares cerebrales) fue re-suspendida en buffer de sacarosa y centrifugada nuevamente (1000 x g, 20 min, 4 °C) para producir S1' y P1'. Los dos sobrenadantes (S1 + S1') fueron combinados y centrifugados (25000 x g, 20 min, 4 °C) para producir la pastilla P2 y el sobrenadante S2. La fracción P2 obtenida está enriquecida en sinaptosomas. El volumen de buffer adicionado se calculó con base en el peso húmedo en una relación 1:2. La pastilla final fue resuspendida en el buffer para el ensayo y almacenada en alícuotas a -80°C. El día del ensayo, las pastillas fueron descongeladas, re-suspendidas en buffer HSS fresco y usadas en el ensayo.

### **2.2.2. Ensayos de saturación usando ( $\pm$ )-[<sup>3</sup>H]epibatidina y cerebros de rata (fracción P2).**

Las preparaciones de membrana (60-90  $\mu$ g de proteína) fueron incubadas en presencia de 1-500 pM de ( $\pm$ )-[<sup>3</sup>H]epibatidina en tubos de polipropileno conteniendo buffer HSS. Las membranas fueron incubadas a 22 °C por 4 h en un volumen total de 4 mL. Se preparó una serie de 11 concentraciones del radioligando ( $\pm$ )-[<sup>3</sup>H]epibatidina. El enlace no específico fue determinado en presencia de 300  $\mu$ M de tartrato de (-)-nicotinio y los experimentos fueron llevados a cabo por cuadruplicado. La incubación fue detenida por filtración al vacío usando filtros de fibra de vidrio Whatman GF/B remojados en polietilénimina utilizando un cosechador celular Brandel de 48 canales. Los viales fueron enjuagados 3 veces con alícuotas de 4 mL de buffer de Tris (25 mM, pH 7.4) enfriado en un baño de hielo. Con este procedimiento se separaron el radioligando libre y el enlazado. Los filtros se retiraron del cosechador, se transfirieron a viales de centelleo de 4 mL y fueron llenados con 2.5 mL del Cocktail Ultima Gold<sup>®</sup>. Las muestras se incubaron por más de 9 h para que el radioligando se liberase del filtro e

interaccionase con el líquido de centelleo. La radioactividad fue medida, 1 min por muestra, usando un contador de centelleo (Tri-Carb 2100 TR, Packard, Dreieich, Alemania).

### **2.2.3. Estudios de desplazamiento de ( $\pm$ )-[ $^3\text{H}$ ]epibatidina para el RnACo subtipo $\alpha 4\beta 2$ .**

Los ensayos fueron llevados a cabo en buffer HSS a 22 °C. Cada ensayo fue realizado por duplicado. Las sustancias ensayadas fueron disueltas en etanol, dimetilsulfóxido o acetonitrilo dependiendo de la estabilidad y la solubilidad de cada una de ellas. Se prepararon una serie de 7-9 diluciones para cada uno de los compuestos ensayados. El enlace no específico fue determinado en presencia de 300  $\mu\text{M}$  de tartrato de (-)-nicotinio. Cada muestra del experimento, con un volumen total de 0.5 mL contenía: 100  $\mu\text{L}$  de preparación de membranas (60  $\mu\text{g}$ ), 100  $\mu\text{L}$  de ( $\pm$ )-[ $^3\text{H}$ ]epibatidina (0.5 nM), 100  $\mu\text{L}$  de buffer HSS y 200  $\mu\text{L}$  del compuesto que se ensayó. La preparación de membranas fue adicionada al final y todos los componentes fueron mezclados rigurosamente con un agitador de vórtice. Las muestras fueron incubadas por 90 min y la incubación, el enjuague, la adición del cocktail de centelleo y la medida de la radioactividad se realizaron como se mencionó anteriormente.

### **2.2.4. Análisis de los datos.**

Los datos obtenidos en los experimentos de saturación fueron analizados usando la gráfica de Scatchard y Rosenthal (análisis de regresión lineal). Los valores de  $K_D$  fueron obtenidos de los experimentos realizados por cuadruplicado usando la preparación de membranas que también se usó en los ensayos de desplazamiento del radioligando.

Los ensayos de desplazamiento del radioligando fueron analizados usando un análisis de regresión no lineal. Los valores de  $K_i$  fueron derivados utilizando las mediciones de  $\text{IC}_{50}$  y  $K_D$  aplicando la ecuación de Cheng y Prusoff. El valor de  $K_D$  fue 0.01 nM para el enlace de ( $\pm$ )-[ $^3\text{H}$ ]epibatidina al RnACo subtipo  $\alpha 4\beta 2$ .

### **2.3. Ensayos electrofisiológicos frente a RnACo, subtipo $\alpha 9\alpha 10$ .**

Los ensayos electrofisiológicos fueron realizados por la técnica de voltaje fijo con dos electrodos.

#### **2.3.1. Expresión del receptor $\alpha 9\alpha 10$ en oocitos de *Xenopus laevis*.**

Los oocitos fueron extraídos quirúrgicamente de ranas adultas de la especie *Xenopus laevis*. Fueron posteriormente sometidos a un proceso de limpieza por 30 minutos con la enzima colagenasa II, separados manualmente (estadios V y VI) y mantenidos a 17 °C en un medio de Barth. Los oocitos fueron inyectados con 50 nL de agua libre de ARNasa conteniendo 0.1-1.0 ng de cARNs (relación molar de 1:1 de  $\alpha 9$  y  $\alpha 10$ ) y mantenidos a la misma temperatura por 3 días antes de los registros electrofisiológicos.

#### **2.3.2. Registros electrofisiológicos.**

Los registros electrofisiológicos fueron realizados por la técnica de dos electrodos utilizando un sistema OC-725B oocyte clamp (Warner Instruments, Hamden, CT). Ambos electrodos, de voltaje y corriente, fueron fijados con KCl 3M y tuvieron resistencias de ~ 1-2 M $\Omega$ . Los datos almacenados fueron analizados usando el módulo Clampfit del programa pClamp (Axon Instruments Corp., Union City, CA).

Los experimentos fueron realizados con los oocitos incubados con el quelante de Ca<sup>2+</sup> acetoximetil éster del ácido 1,2-bis(2-aminofenoxi)etano-N,N,N',N'-tetraacético (BAPTA-AM, 100  $\mu$ M) por 3-4 horas antes de los registros electrofisiológicos.

Durante los registros, los oocitos fueron sometidos a un flujo constante (~ 10 mL/min) con una solución que contenía (mM) NaCl 115, KCl 2.5, CaCl<sub>2</sub> 1.8 y buffer HEPES 10, a pH 7.2, con un voltaje fijado a -70 mV. Para determinar la presencia de los receptores en los oocitos y como control positivo se utilizó acetilcolina 10 mM. Los oocitos con corrientes superiores a 100 mA fueron seleccionados para los registros.

### **2.4. Modelamiento molecular de RnACo, subtipo $\alpha 4\beta 2$ y los compuestos sintetizados.**

Con el fin de determinar el posible sitio de unión de las moléculas sintetizadas que presentaron afinidad por el RnACo del subtipo  $\alpha 4\beta 2$ , se realizó el acomodamiento

molecular inducido (docking) de estas moléculas en un modelo por homología del receptor, usando el programa AutoDock3.0.5.<sup>152</sup>

#### **2.4.1. Alineamiento de secuencias.**

Para la construcción de los modelos por homología del dominio extracelular del RnACo, subtipo  $\alpha 4\beta 2$ , se realizó el alineamiento múltiple entre las AChBP aisladas de *Lymnaea stagnalis* y de *Aplysia californica* con los dominios amino-terminales de los subtipos humanos  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$ ,  $\alpha 4$ ,  $\alpha 5$ ,  $\alpha 6$ ,  $\alpha 7$ ,  $\alpha 9$ ,  $\alpha 10$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 3$  y  $\beta 4$  por medio del programa para alineamiento de secuencias CLUSTALW.<sup>153</sup>

#### **2.4.2. Construcción de los modelos.**

Los modelos de los dominios extracelulares del RnACo, subtipo  $\alpha 4\beta 2$  humanos fueron construidos basados en las estructuras cristalinas de las AChBP mencionadas anteriormente. Se utilizó el programa MODELLER versión 9v3<sup>154</sup> para la construcción de los modelos con la secuencia  $\alpha 4\beta 2\alpha 4\beta 2\beta 2$  para el subtipo  $\alpha 4\beta 2$ .

#### **2.4.3. Estructura de los ligandos.**

Las estructuras de las moléculas fueron construidas usando el programa GaussView y optimizadas usando Gaussian03, todas con carga +1 a un nivel *ab initio* Hartree-Fock 3-21G. Después de la optimización, se hizo un refinamiento en la distribución de las cargas atómicas usando el programa Spartan02 al mismo nivel de teoría.

### **2.5. Modelamiento molecular de RnACo, subtipo $\alpha 9\alpha 10$ y sus ligandos.**

Con el fin de determinar los posibles sitios y modos de unión de acetilcolina, nicotina y la  $\alpha$ -conotoxina RgIA, se realizaron los siguientes estudios:

- Modelado por homología del RnACo humano, subtipo  $\alpha 9\alpha 10$ .
- Acomodamiento molecular inducido (docking) de acetilcolina, nicotina y la  $\alpha$ -conotoxina RgIA en los modelos por homología del RnACo, subtipo  $\alpha 9\alpha 10$ , usando el programa AutoDock3.0.5.
- Dinámica molecular de los tres sistemas (ACo- $\alpha 9\alpha 10$ , Nic- $\alpha 9\alpha 10$  y  $\alpha$ -RgIA- $\alpha 9\alpha 10$ ) por separado usando el módulo Sander del programa AMBER9.<sup>155</sup>

Los modelos por homología se elaboraron usando la estructura cristalina de la AChBP aislada de *Lymnaea stagnalis*<sup>131</sup> (resolución de 2.20 Å, código PDB 1UW6) para los estudios del receptor con acetilcolina y nicotina y la estructura cristalina de la proteína AChBP aislada de *Aplysia californica*<sup>133</sup> (resolución de 2.07 Å, código PDB 2BYP) para los estudios del receptor con la conotoxina  $\alpha$ -RgIA. Las secuencias aminoacídicas extraídas de estas estructuras cristalinas fueron alineadas como se mencionó anteriormente.

El programa MODELLER versión 9v3<sup>154</sup> fue usado para construir los modelos. Para mantener la complementariedad entre las subunidades y sus interfaces, las cinco subunidades fueron modeladas simultáneamente con la estequiometría  $\alpha 9\alpha 10\alpha 9\alpha 10\alpha 10$  que ha sido reportada previamente.<sup>156</sup>

### **2.5.1. Simulaciones de dinámica molecular.**

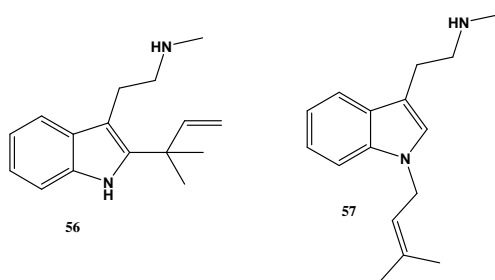
Con el objetivo de determinar la estabilidad de los modelos del dominio extracelular del RnACo subtipo  $\alpha 9\alpha 10$ , se realizaron simulaciones de dinámica molecular usando el módulo Sander del programa AMBER9 siguiendo un procedimiento reportado para sistemas parecidos.<sup>157</sup>

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

#### 3.1. Síntesis de Compuestos.

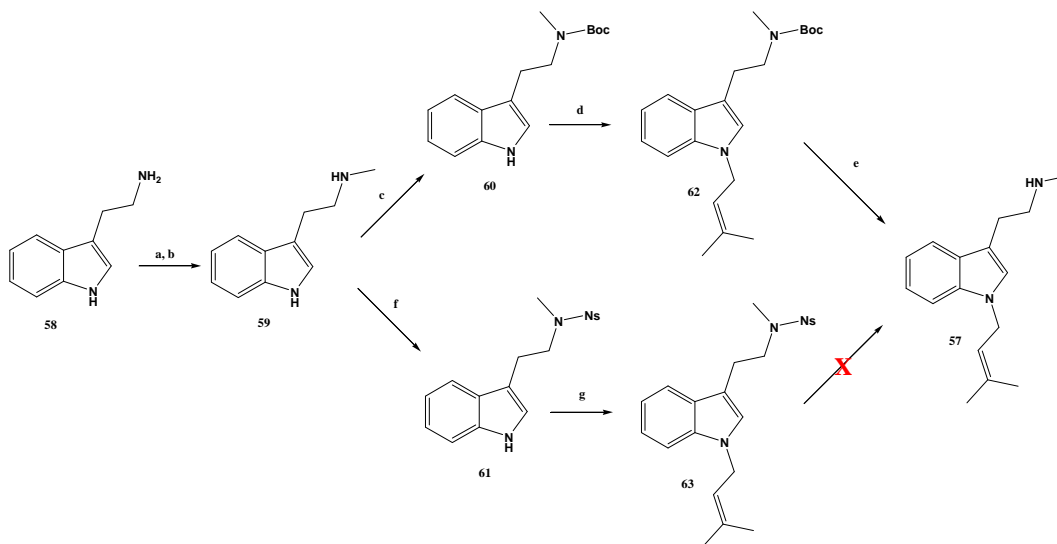
##### 3.1.1. Síntesis de los derivados desbromados de dos alcaloides de *Flustra foliacea*.

Antes de iniciar la síntesis de los alcaloides de *F. foliacea* decidimos sintetizar los derivados desbromados desbromodesformilflustrabromina (**56**) y desbromo-*N*<sup>1</sup>-prenil-desformilflustrabromina (**57**) con el fin de optimizar los pasos sintéticos.



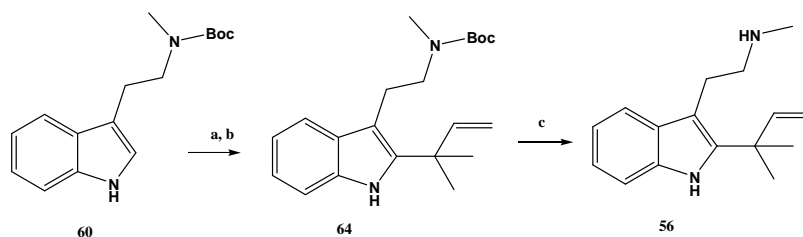
La síntesis se inició con triptamina (**58**), la cual fue *N*<sup>10</sup>-formilada con anhídrido fórmico-acético con posterior reducción con LiAlH<sub>4</sub> para producir la *N*<sup>10</sup>-metiltriptamina (**59**). Con **59** sintetizada exploramos la utilización de grupos protectores para la amina secundaria de *N*<sup>10</sup>. Con este fin seleccionamos dos grupos: *tert*-butoxicarbonilo (Boc) y 2- o 4-nitrobenzenosulfonamida (Nosilo, Ns), el primero debido a su amplia utilización en síntesis orgánica<sup>158</sup> y el segundo por su utilización en moléculas relacionadas.<sup>159</sup>

El compuesto **59** fue entonces protegido con ambos grupos para producir *N*<sup>10</sup>-Boc-*N*<sup>10</sup>-metiltriptamina (**60**)<sup>160, 161</sup> y *N*<sup>10</sup>-Ns-*N*<sup>10</sup>-metiltriptamina (**61**) con buenos rendimientos. Para la síntesis del derivado desbromado **57**, los compuestos **60** y **61** se prenilaron en el nitrógeno indólico usando el sistema NaH - bromuro de prenilo para producir *N*<sup>10</sup>-Boc-*N*<sup>10</sup>-metil-*N*<sup>1</sup>-preniltriptamina (**62**)<sup>161</sup> y *N*<sup>10</sup>-Ns-*N*<sup>10</sup>-metil-*N*<sup>1</sup>-preniltriptamina (**63**). El paso final consistía en la remoción del grupo protector del *N*<sup>10</sup>, pero este paso solo fue posible para el Boc y no para el Ns, ver Esquema 1.



Esquema 1.- Condiciones: a. Anhídrido fórmico-acético, THF, 0 °C, 2 h, 96%; b. LiAlH<sub>4</sub>, THF, reflujo 1 h, 73%; c. Boc<sub>2</sub>O, MeOH:TEA 4:1, 10 min. 72%; d. NaH, THF, 0 °C hasta t.a., 30 min, bromuro de prenilo, 1.2 eq. t.a. 16 h, 82%; e. TFA, DCM, 2 h, 95%; f. NsCl, DMAP, TEA, DCM, 2 h, 95%; g. NaH, THF, -78 °C, 30 min, bromuro de prenilo, 1.2 eq. -78 °C - t.a. 16 h 84%.

El intermediario **60** fue el compuesto de partida para la síntesis de **56**. La introducción del grupo prenilo invertido en C-2 es un proceso para el cual se han reportado dos métodos en la literatura.<sup>162, 163</sup> Nosotros usamos una combinación de ellos utilizando *t*-BuOCl, trietilamina y triprenilborano preparado recientemente.<sup>164</sup> La reacción produjo el compuesto 2-(1,1-dimetilalil)-*N*<sup>10</sup>-Boc-*N*<sup>10</sup>-metil-*N*<sup>1</sup>-preniltriptamina (**64**) el cual fue convertido en **56** por la remoción del grupo Boc en las condiciones mencionadas anteriormente, ver Esquema 2.



Esquema 2.- Condiciones: a. *t*-BuOCl, TEA, THF, -78 °C, 30 min.; b. (Prenil)<sub>3</sub>B, THF, -78 °C, t.a. 16 h 65% los dos pasos; c. TFA, DCM, 2 h, 93%.

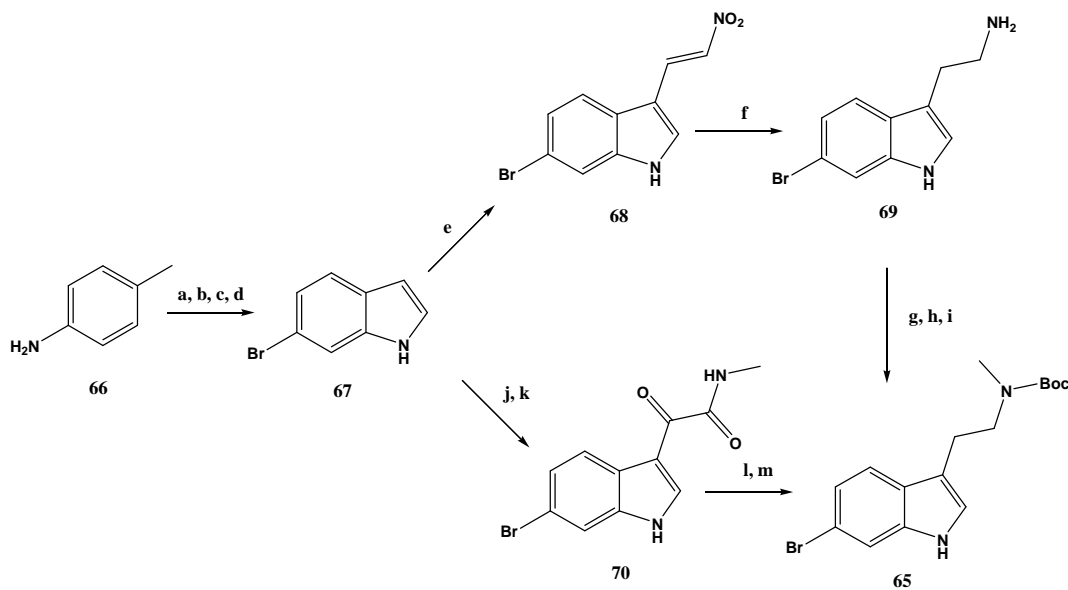


### 3.1.2. Síntesis de alcaloides de *Flustra foliacea*.

La síntesis de los alcaloides desformilflustrabromina (**54**) y *N*<sup>1</sup>-prenil-desformilflustrabromina (**55**) fue planteada utilizando la 6-bromo-*N*<sup>10</sup>-Boc-*N*<sup>10</sup>-metiltriptamina (**65**) como intermediario clave, para lo cual se ensayaron dos rutas de síntesis, ambas iniciadas a partir de *p*-toluidina (**66**) para producir 6-bromoindol (**67**) en un proceso de cuatro pasos por el método de Batcho-Leimgruber.<sup>165</sup>

Para la primera aproximación, se hizo reaccionar **67** y 1-dimetilamino-2-nitroetileno (DMANE)<sup>166</sup> en ácido trifluoroacético para producir 6-bromo-3-(2-nitrovinil)indol (**68**), el cual fue reducido con BH<sub>3</sub> generado *in situ*<sup>167, 168</sup> para obtener 6-bromotriptamina (**69**). Este compuesto fue convertido en **65** por el método mencionado anteriormente para obtener **60**, con la diferencia que la formilamida fue reducida con BH<sub>3</sub>·SMe<sub>2</sub>,<sup>169</sup> ya que se ha reportado que las reducciones con LiAlH<sub>4</sub> pueden causar la sustitución de átomos de bromo presentes en anillos aromáticos.<sup>167</sup>

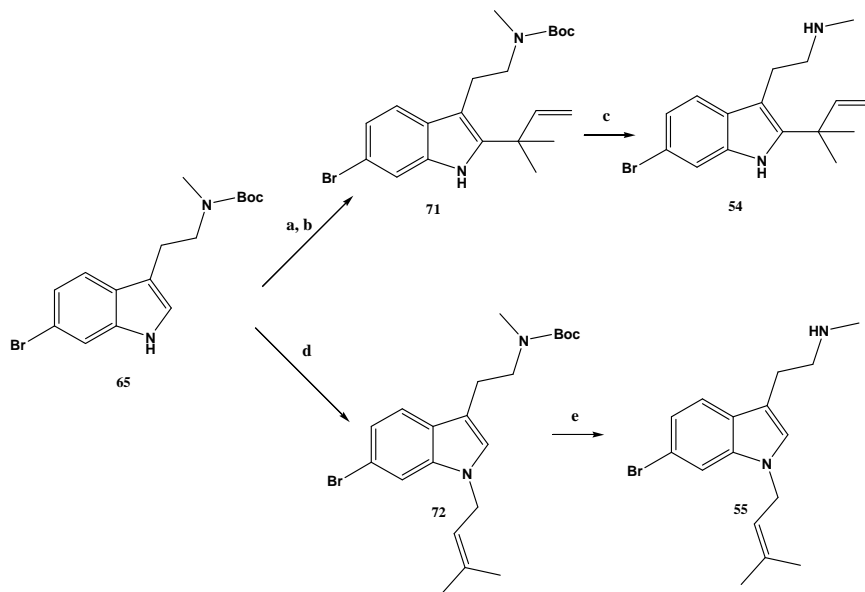
En la segunda aproximación,<sup>170</sup> un método más clásico, **67** se hizo reaccionar con cloruro de oxalilo y a la cloromida producida se le adicionó metilamina para obtener 2-[6-bromo-1*H*-indol-3-il]-*N*-metil-2-oxo-etanamida (**70**), la cual fue reducida con BH<sub>3</sub>·SMe<sub>2</sub> y protegida con Boc para generar **65**, ver Esquema 3.



Esquema 3.- Condiciones: a. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HNO<sub>3</sub>, 0 °C, 16 h 64%; b. HBr 48%, NaNO<sub>2</sub>, 0 °C, CuBr, reflujo, 2 h 77%; c. DMF-DMA, pirrolidina, DMF, 110 °C, 3 h 90%; d. NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>•H<sub>2</sub>O Ra/Ni 65%; e. DMANE, TFA, t.a. 10 min 96%; f. BF<sub>3</sub>•Et<sub>2</sub>O, NaBH<sub>4</sub>, reflujo 2 h, 62%; g. Anhídrido fórmico-acético, THF, 0 °C, 2h; h. BH<sub>3</sub>•SMe<sub>2</sub>, THF, 15 min.; i. Boc<sub>2</sub>O, MeOH:TEA 4:1, 10 min. 32% los tres pasos; j. (CO)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, Et<sub>2</sub>O, 0 °C.; k. MeNH<sub>2</sub>, DCM, t.a., 85%; l. BH<sub>3</sub>•SMe<sub>2</sub>, THF, reflujo, 1 h; m. Boc<sub>2</sub>O, MeOH-TEA, 4-1, 1 h, 68% los 2 pasos.

A la luz de los resultados en cuanto al número de pasos y rendimiento global la segunda vía presentó mejores resultados, con rendimientos globales de 11 y 65% para la primera y segunda aproximación respectivamente.

La síntesis de los alcaloides **54** y **55** fue realizada de igual forma que la de los análogos desbromados **56** y **57** produciéndose los intermediarios 6-bromo-2-(1,1-dimetilalil)-N<sup>10</sup>-Boc-N<sup>10</sup>-metil-N<sup>1</sup>-preniltriptamina (**71**) y 6-bromo-N<sup>10</sup>-Boc-N<sup>10</sup>-metil-N<sup>1</sup>-preniltriptamina (**72**) los cuales fueron tratados con ácido trifluoroacético en DCM para producir los alcaloides **54** y **55**, ver Esquema 4.



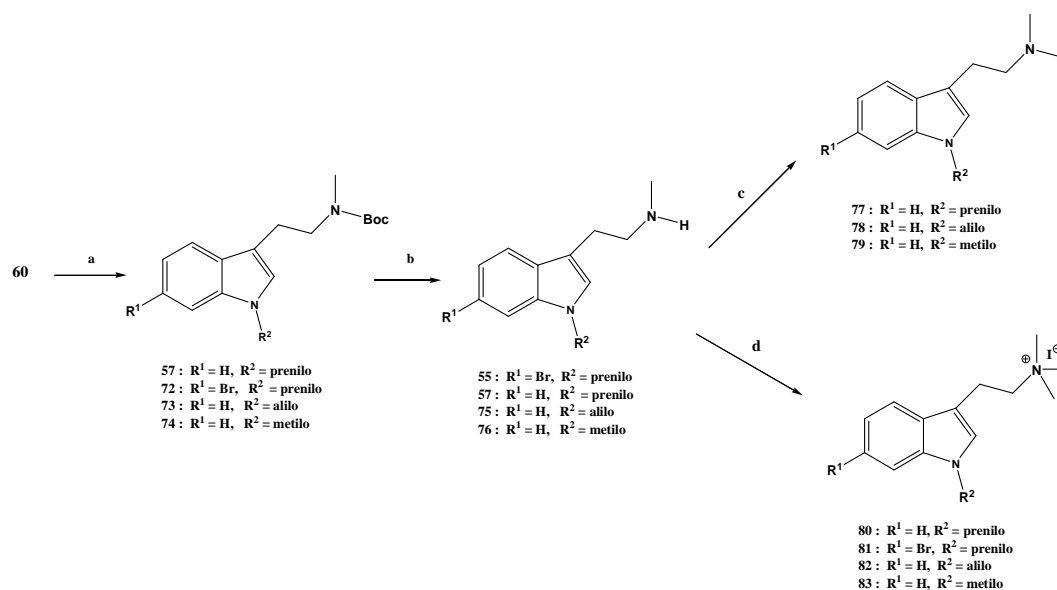
Esquema 4. - Condiciones: a. *t*-BuOCl, TEA, THF, -78 °C, 30 min; b. (Prenil)<sub>3</sub>B, THF, -78 °C, t.a. 16 h 56% los dos pasos; c. TFA, DCM, 2 h, 90%; d. NaH, THF, 0 °C t.a., 30 min, bromuro de prenilo, 1.2 eq. t.a. 16 h, 77%; e. TFA, DCM, 2 h, 92%.

### 3.1.3. Síntesis de triptaminas $N^1$ -alquiladas, $N^{10}$ -mono-, di- y trimetiladas.

La  $N^{10}$ -Boc- $N^{10}$ -metiltriptamina (**60**) fue sometida a procesos de alquilación en el nitrógeno indólico utilizando NaH-halogenuro de alquilo para producir  $N^1$ -metil- $N^{10}$ -Boc- $N^{10}$ -metiltriptamina (**73**) y  $N^1$ -alil- $N^{10}$ -Boc- $N^{10}$ -metiltriptamina (**74**), a las cuales les fue removido el grupo Boc para producir las  $N^1$ -metil- $N^{10}$ -metiltriptamina (**75**) y  $N^1$ -alil- $N^{10}$ -metiltriptamina (**76**).

Para variar el grado de sustitución en  $N^{10}$ , las aminas secundarias **57**, **75** y **76** fueron convertidas en sus derivados  $N,N$ -dimetilados por medio de la aminación reductiva con el sistema  $(\text{CHO})_n\text{-NaBH}_4$ ,<sup>171</sup> para obtener  $N^1$ -prenil- $N^{10},N^{10}$ -dimetiltriptamina (**77**),  $N^1$ -alil- $N^{10},N^{10}$ -dimetiltriptamina (**78**) y  $N^1,N^{10},N^{10}$ -trimetiltriptamina (**79**).

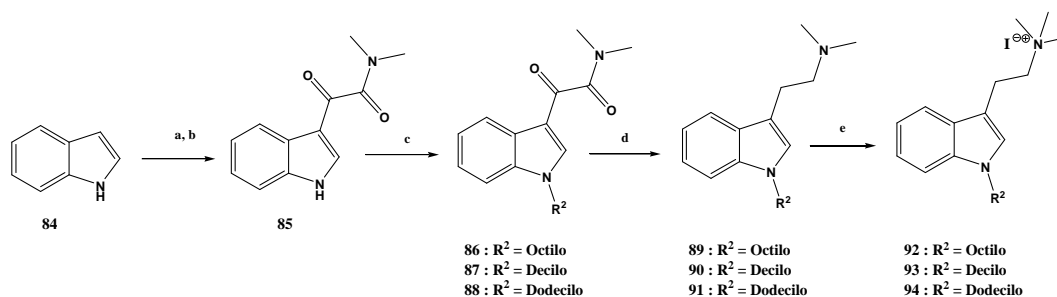
Para producir las aminas cuaternarias, las aminas secundarias **55**, **57**, **75** y **76** fueron tratadas con yoduro de metilo. Se obtuvieron los yoduros de  $N^1$ -prenil- $N^{10},N^{10},N^{10}$ -trimetiltriptaminio (**80**), 6-bromo- $N^1$ -prenil- $N^{10},N^{10},N^{10}$ -trimetiltriptaminio (**81**),  $N^1$ -alil- $N^{10},N^{10},N^{10}$ -trimetiltriptaminio (**82**) y  $N^1,N^{10},N^{10},N^{10}$ -tetrametiltriptaminio (**83**); ver Esquema 5.



Esquema 5.- Condiciones: a. NaH, THF, 0 °C t.a., 30 min, bromuro de alquilo, 1.2 eq. t.a. 16 h; b. TFA, DCM, 2 h; c.  $(\text{CHO})_n$ ,  $\text{NaBH}_4$ , MeOH, 2 h; c. MeI, acetona, 16 h.

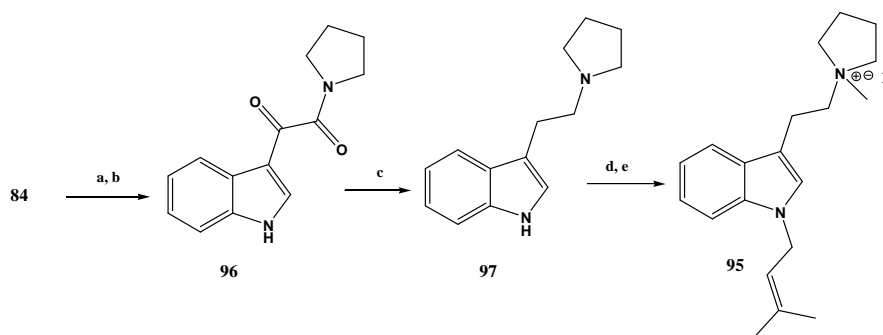
Los resultados de las determinaciones de afinidad frente al subtipo  $\alpha 4\beta 2$  del RnACo de las moléculas sintetizadas hasta este punto, datos que se muestran y se discuten más adelante, permitieron sugerir la síntesis de triptaminas terciarias y cuaternarias con grupos alquilo más grandes en el nitrógeno indólico y sin el átomo de bromo en la posición 6.

Para la síntesis de estos compuestos se procedió de la misma forma que para la segunda aproximación en la síntesis de **65**, con las diferencias que en esta oportunidad se inició con indol (**84**) y que la cloroamida intermediaria se hizo reaccionar con dimetilamina para producir 1*H*-indol-3-il-*N,N*-dimetil-2-oxoetanamida (**85**), la cual fue alquilada separadamente en el nitrógeno indólico de la misma manera mencionada anteriormente para generar *N,N*-dimetil-2-(1-octil-1*H*-indol-3-il)-2-oxoacetamida (**86**), *N,N*-dimetil-2-(1-decil-1*H*-indol-3-il)-2-oxoacetamida (**87**) y *N,N*-dimetil-2-(1-dodecil-1*H*-indol-3-il)-2-oxoacetamida (**88**). Las tres oxoamidas fueron entonces reducidas con LiAlH<sub>4</sub> produciendo *N*<sup>1</sup>-octil-*N*<sup>10</sup>,*N*<sup>10</sup>-dimetiltriptamina (**89**), *N*<sup>1</sup>-decil-*N*<sup>10</sup>,*N*<sup>10</sup>-dimetiltriptamina (**90**) y *N*<sup>1</sup>-dodecil-*N*<sup>10</sup>,*N*<sup>10</sup>-dimetiltriptamina (**91**). Las triptaminas generadas fueron tratadas con yoduro de metilo con lo que se generaron los yoduros de *N*<sup>1</sup>-octil-*N*<sup>10</sup>,*N*<sup>10</sup>,*N*<sup>10</sup>-trimetiltriptaminio (**92**), *N*<sup>1</sup>-decil-*N*<sup>10</sup>,*N*<sup>10</sup>,*N*<sup>10</sup>-trimetiltriptaminio (**93**) y *N*<sup>1</sup>-dodecil-*N*<sup>10</sup>,*N*<sup>10</sup>,*N*<sup>10</sup>-trimetiltriptaminio (**94**), ver Esquema 6.



Esquema 6.- Condiciones: a. (CO)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, Et<sub>2</sub>O. 0 °C; b. dimetilamina, DCM, t.a., 80 % los 2 pasos; c. NaH, THF, 0 °C t.a., 30 min; bromuro de alquilo, 1.2 eq. t.a. 16 h; d. LiAlH<sub>4</sub>, THF, reflujo, 4 h; e. MeI, acetona, 16 h.

Debido a que, en las triptaminas sintetizadas hasta este punto, el átomo de nitrógeno N<sup>10</sup> demostró ser importante para la interacción con el subtipo  $\alpha 4\beta 2$  del RnACo y que en la literatura se reportan muchos ligandos en los cuales los átomos de nitrógeno hacen parte de un ciclo, decidimos sintetizar el yoduro de 1-metil-1-(2-(N<sup>1</sup>-prenil-1*H*-indol-3-il)etil)pirrolidinio (**95**) en el cual el nitrógeno básico de la triptamina está incluido en un anillo de cinco miembros. Para la síntesis de este compuesto, la cloroamida intermediaria mencionada anteriormente se hizo reaccionar con pirrolidina para producir 1-(1*H*-indol-3-il)-2-(pirrolidin-1-il)etan-1,2-diona (**96**), la cual fue reducida con LiAlH<sub>4</sub> generando 3-(2-(pirrolidin-1-il)etil)-1*H*-indol (**97**). El compuesto anterior fue prenilado en el N<sup>1</sup> y tratado con yoduro de metilo para generar **95**; ver esquema 7.

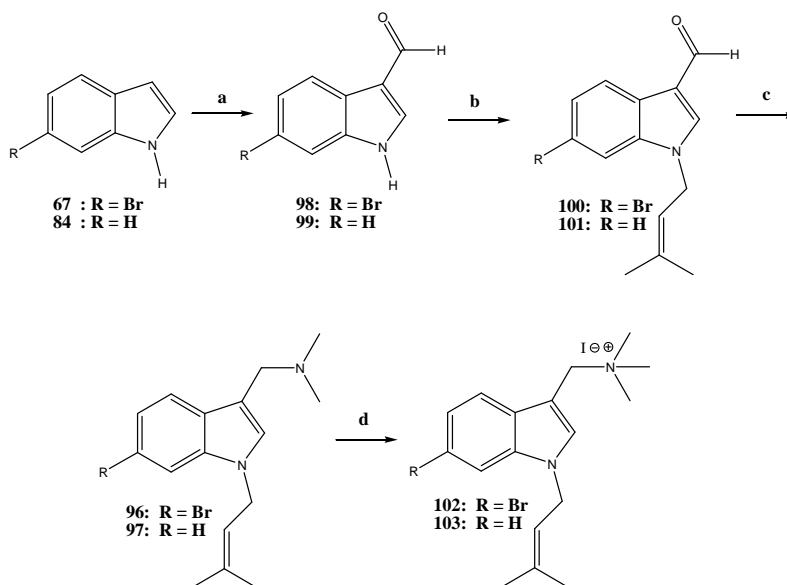


Esquema 7.- Condiciones: a. (CO)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, Et<sub>2</sub>O, 0 °C; b. pirrolidina, DCM, t.a., 85 % los 2 pasos; c. LiAlH<sub>4</sub>, THF, reflujo, 4 h, 79 %; d. NaH, THF, 0 °C t.a., 30 min; bromuro de prenilo, 1.2 eq. t.a. 16 h; e. MeI, acetona, 16 h, 80 % los dos pasos.

### 3.1.4. Síntesis de graminas y yoduros de graminios N<sup>1</sup>-alquilados.

Con el objetivo de comparar la actividad de las moléculas con diferente número de átomos de carbono que conectan al anillo indólico con el átomo de nitrógeno básico (2 átomos de carbono en el caso de las triptaminas) decidimos sintetizar la N<sup>1</sup>-prenilgramina (**96**) y la 6-bromo-N<sup>1</sup>-prenilgramina (**97**), en las cuales un solo átomo de carbono conecta el anillo indólico con el nitrógeno básico. Aunque el método más usado para la síntesis de graminas N<sup>1</sup>-alquiladas es a partir de los correspondientes indoles N<sup>1</sup>-alquilados,<sup>172</sup> se ha reportado que la alquilación de indol en N<sup>1</sup> con prenilo produce una mezcla de compuestos alquilados en las posiciones 1 y 3 del anillo<sup>173</sup> por lo

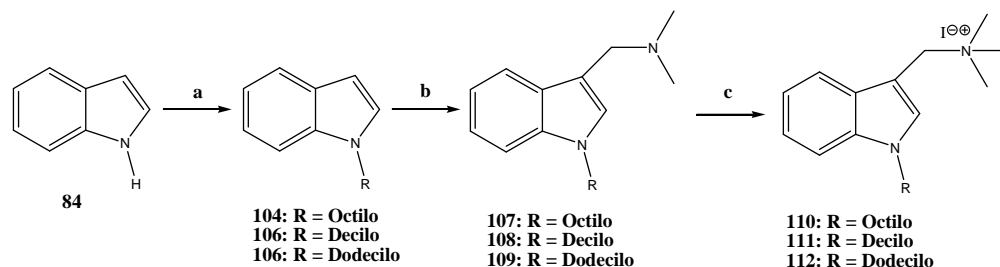
que para la síntesis de **96** y **97** partimos de **67** y **84**. Estos indoles fueron convertidos en los correspondientes 6-bromoindol-3-carboxaldehído (**98**) e indol-3-carboxaldehído (**99**) por el proceso de Vilsmeier-Haack.<sup>174</sup> **98** y **99** fueron prenilados en N<sup>1</sup> con NaOH como base y Bu<sub>4</sub>NBr como catalizador de transferencia de fase generando N<sup>1</sup>-prenil-6-bromoindol-3-carboxaldehído (**100**) y N<sup>1</sup>-prenilindol-3-carboxaldehído (**101**). La síntesis de **96** y **97** se finalizó con una aminación reductiva utilizando el sistema Me<sub>2</sub>NH – NaBH<sub>4</sub>. Las graminas **96** y **97** fueron tratadas con yoduro de metilo para producir los yoduros de N<sup>1</sup>-prenil-6-bromograminio (**102**) y N<sup>1</sup>-prenilgraminio (**103**), ver Esquema 8.



Esquema 8.- Condiciones: a. POCl<sub>3</sub>, DMF, H<sub>2</sub>O, NaOH; b. Bu<sub>4</sub>NBr, NaOH, H<sub>2</sub>O, tolueno, bromuro de prenilo; c. Me<sub>2</sub>NH, NaBH<sub>4</sub>, MeOH; d. MeI, acetona, 16 h.

Con el fin de variar los sustituyentes en N<sup>1</sup>, **84** fue alquilado con el método mencionado recientemente con grupos *n*-octilo, *n*-decilo y *n*-dodecilo, lo que produjo N<sup>1</sup>-octilindol (**104**), N<sup>1</sup>-decilindol (**105**) y N<sup>1</sup>-dodecilindol (**106**). Con los tres alquilindoles mencionados anteriormente se procedió a sintetizar las graminas correspondientes por el método clásico de Me<sub>2</sub>NH – formalina en ácido acético acuoso para producir N<sup>1</sup>-octilgramina (**107**), N<sup>1</sup>-decilgramina (**108**) y N<sup>1</sup>-dodecilgramina (**109**), las que fueron

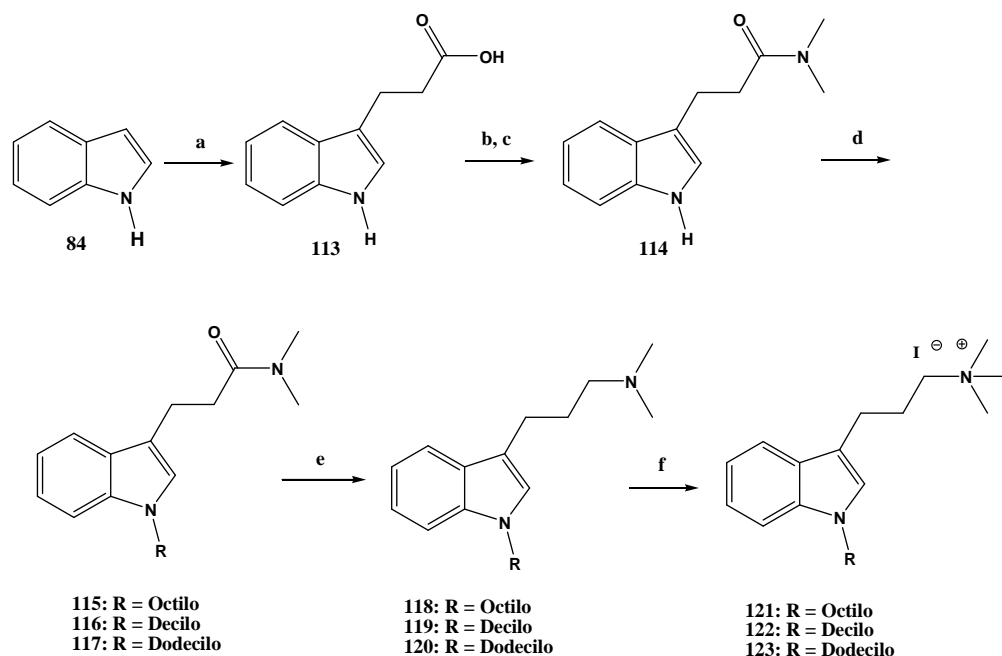
convertidas en sus yodometilatos para producir los yoduros de  $N^1$ -octilgraminio (**110**),  $N^1$ -decilgraminio (**111**) y  $N^1$ -dodecilgraminio (**112**); ver Esquema 9.



Esquema 9.- Condiciones: a.  $\text{Bu}_4\text{NBr}$ ,  $\text{NaOH}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , tolueno, bromuro de alquilo. b.  $\text{Me}_2\text{NH}$ ,  $\text{HCHO}$ ,  $\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O}$ . c.  $\text{MeI}$ , acetona.

### 3.1.5. Síntesis de $N^{11},N^{11}$ -dimetilhomotriptaminas y yoduros de $N^{11},N^{11}$ -dimetilhomotriptaminios $N^1$ -alquilados.

Continuando con el objetivo de investigar la influencia de la longitud de la cadena que une el átomo de nitrógeno básico con el anillo indólico, decidimos sintetizar  $N^{11},N^{11}$ -dimetilhomotriptaminas alquiladas en  $N^1$  (número de átomos de carbono conectores = 3) para lo cual **43** fue convertido en el ácido 3-indolilpropiónico (**113**) utilizando anhídrido acrílico-acético preparado recientemente.<sup>175</sup> El ácido (**113**) fue tratado con carbonildiimidazol y al intermediario formado se le adicionó dimetilamina gaseosa para producir la  $N^{11},N^{11}$ -dimetil-3-indolilpropionamida (**114**).<sup>176</sup> La amida **114** fue entonces alquilada separadamente en  $N^1$  para generar  $N^{11},N^{11}$ -dimetil- $N^1$ -octil-3-indolilpropionamida (**115**),  $N^{11},N^{11}$ -dimetil- $N^1$ -decil-3-indolilpropionamida (**116**) y  $N^{11},N^{11}$ -dimetil- $N^1$ -dodecil-3-indolilpropionamida (**117**). Las amidas alquiladas en  $N^1$  fueron reducidas produciendo  $N^{11},N^{11}$ -dimetil- $N^1$ -octilhomotriptamina (**118**),  $N^{11},N^{11}$ -dimetil- $N^1$ -decilhomotriptamina (**119**) y  $N^{11},N^{11}$ -dimetil- $N^1$ -dodecilhomotriptamina (**120**), las que fueron tratadas con yoduro de metilo para formar los yoduros de  $N^{11},N^{11}$ -dimetil- $N^1$ -octilhomotriptaminio (**121**),  $N^{11},N^{11}$ -dimetil- $N^1$ -decilhomotriptaminio (**122**) y  $N^{11},N^{11}$ -dimetil- $N^1$ -dodecilhomotriptaminio (**123**); ver esquema 10.

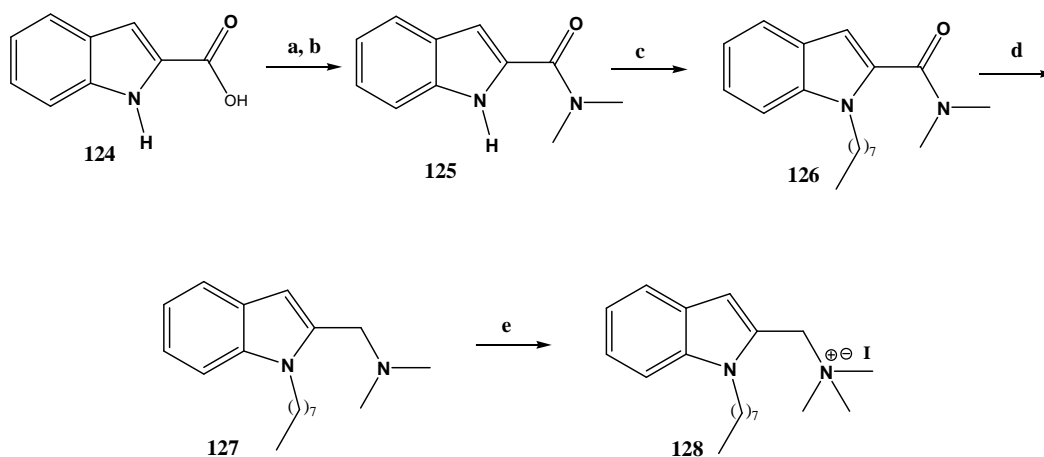


Esquema 10.- Condiciones: a. Ácido acrílico, Ac<sub>2</sub>O, AcOH, 90 °C 3 h, 70%; b. Carbonil diimidazol, DMF, 1 h; c. Dimetilamina (g), DMF, 2 h, 86%; d. NaH, THF, 0 °C hasta t.a., 30 min; bromuro de alquilo, 1.2 eq. t.a. 16 h; e. LiAlH<sub>4</sub>, THF, reflujo, 4 h; f. MeI, acetona, 16 h.

### 3.1.6. Síntesis de *N*<sup>1</sup>-octil-*C*<sup>2</sup>-isogramina y el yoduro de *N*<sup>1</sup>-octil-*C*<sup>2</sup>-isograminio.

Finalmente decidimos sintetizar la *N*<sup>1</sup>-octil-*C*<sup>2</sup>-isogramina (**127**) y su yodometilato (**128**) para lo cual se hizo reaccionar el ácido indol-2-carboxílico (**124**) con cloruro de tionilo con el fin de preparar el cloruro de ácido el cual fue tratado con dimetilamina para generar la *N,N*-dimetilindol-2-metanamida (**125**). Este compuesto fue alquilado en el nitrógeno indólico con un grupo octilo para generar la *N*<sup>1</sup>-octil-*N,N*-dimetilindol-2-metanamida (**126**) la cual fue reducida con LiAlH<sub>4</sub> para producir **127** y ésta fue tratada posteriormente con yoduro de metilo para formar **128**, ver Esquema 11.



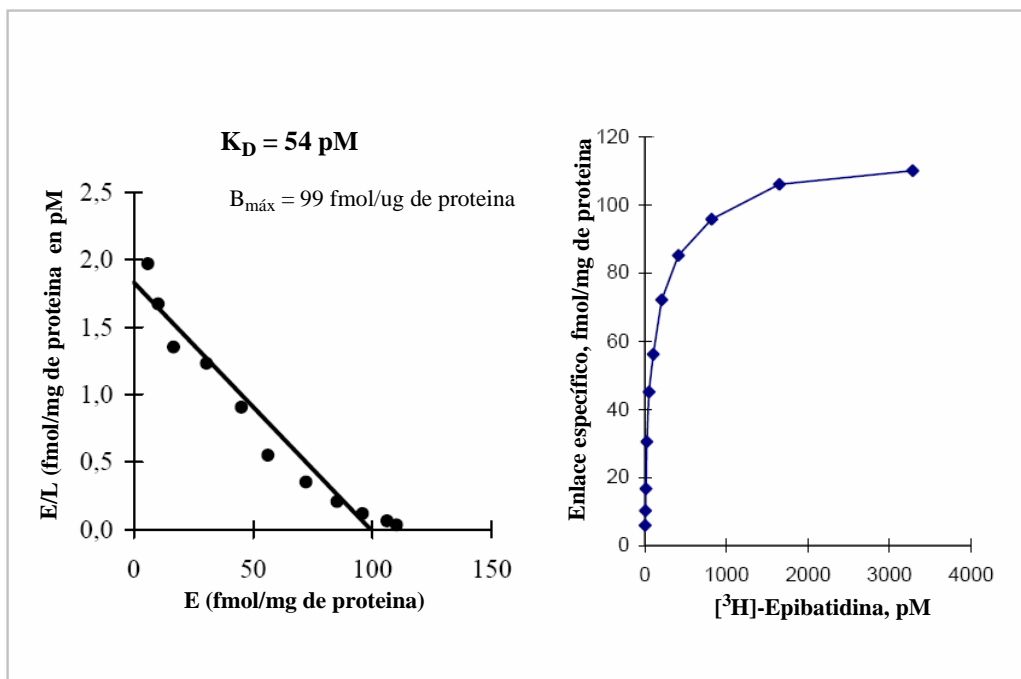


Esquema 14. Condiciones de reacción: a.  $\text{SOCl}_2$ , THF, 16 h; b.  $\text{DMA}_{\text{ac}}$ , 40 %, 10 min.; c. NaH, THF, 0 °C t.a., 30 min; bromuro de octilo, 1.2 eq. t.a. 16 h; d.  $\text{LiAlH}_4$ , THF, reflujo, 4 h; e. MeI, acetona, 16 h, 87 %.

### 3.2. Evaluación de la actividad de los compuestos frente a RnACo.

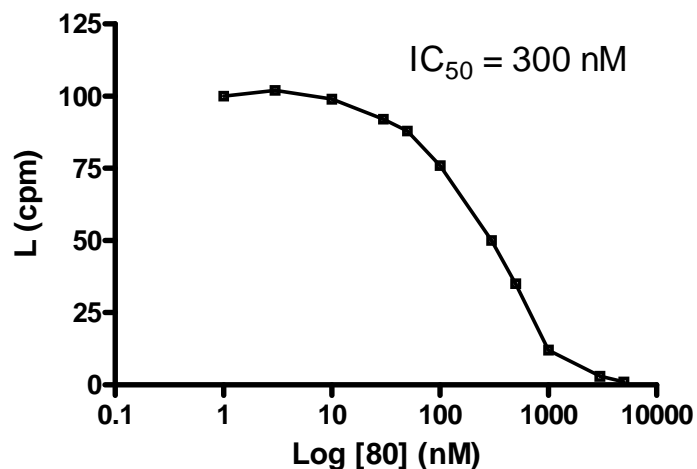
#### 3.2.1. Afinidad de los compuestos frente a RnACo.

Los experimentos de saturación fueron llevados a cabo incubando 60-90  $\mu\text{g}$  de homogenizado de cerebros de rata a 22 °C 4 h en un volumen total de 2.2 mL de buffer HSS a concentraciones de [ $^3\text{H}$ ]-epibatidina en el rango comprendido entre 2 y 2400 pM. Los resultados de estos estudios de saturación se muestran en la Figura 14. Los parámetros de enlace obtenidos de cuatro experimentos independientes fueron:  $K_D = 54$  4.6 pM y  $B_{\text{máx}} = 99$  11 fmol/mg de proteína.



**Figura 14.** Graficas obtenidas en los experimentos de saturación. E = cantidad de radioligando enlazado y L = radioligando libre.

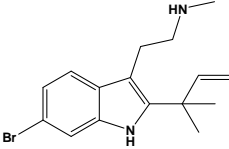
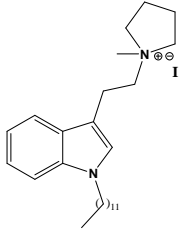
Para ilustrar los resultados de desplazamiento de ( $\pm$ )-[<sup>3</sup>H]epibatidina por parte de los compuestos ensayados mostramos la Figura 15, en esta gráfica se ejemplifica la competencia entre el compuesto **80** y el radioligando mencionado a una concentración fija de 43 pM. El valor de la IC<sub>50</sub> encontrado fue de 300 nM, el cual con el valor de K<sub>D</sub> mencionado anteriormente, y utilizando la ecuación de Cheng y Prusoff obtuvimos un valor de K<sub>i</sub> = 168 nM.

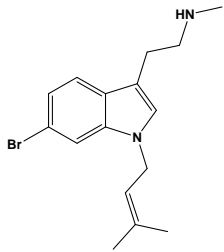
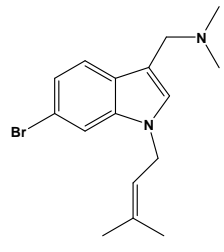
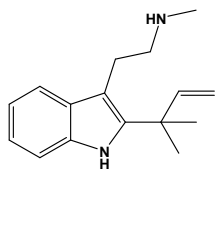
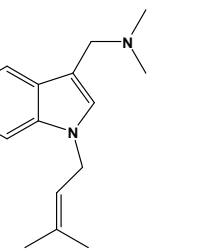
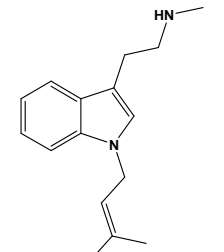
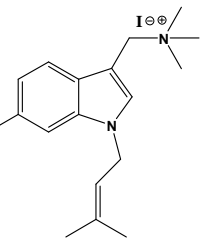
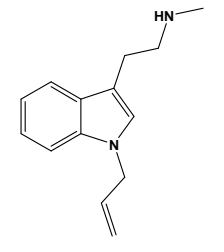
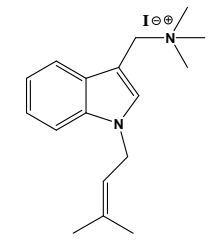
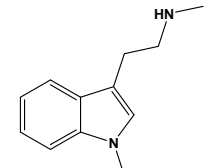
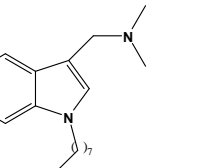


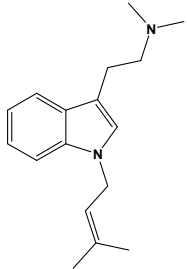
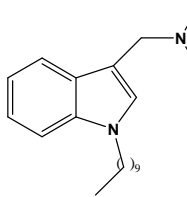
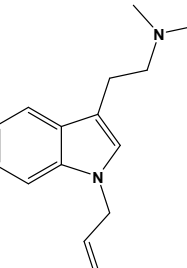
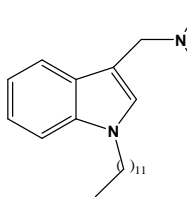
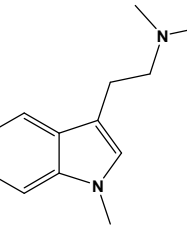
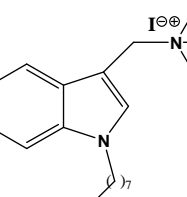
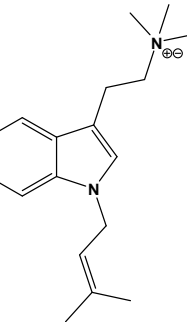
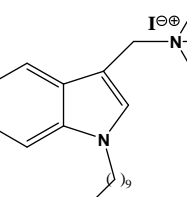
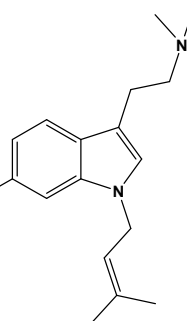
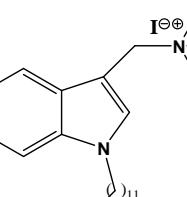
**Figura 15.** Graficas obtenidas en el experimento de desplazamiento de (±)-[<sup>3</sup>H]epibatidina por parte del compuesto **80**. L se refiere a la cantidad de radioligando libre medido en cuentas por minuto.

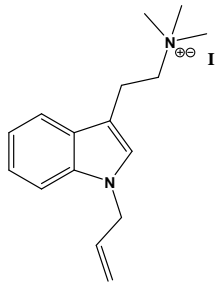
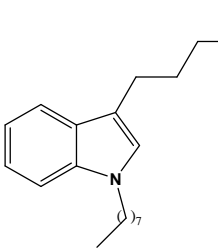
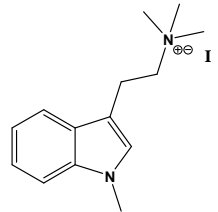
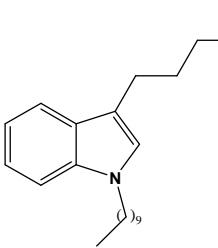
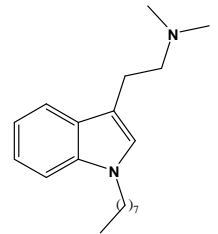
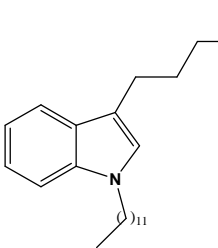
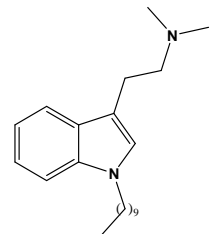
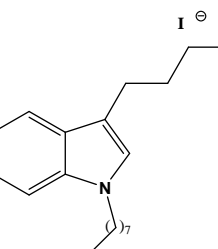
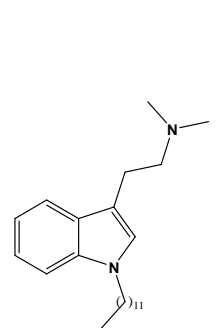
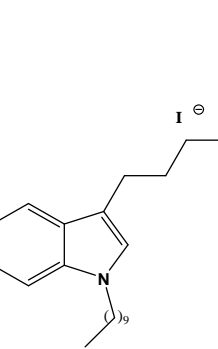
Utilizando la misma metodología mencionada en el ejemplo anterior, se logró evaluar y determinar los valores de  $K_i$  de los 37 compuestos restantes frente al RnACo subtipo  $\alpha 4\beta 2$ , cuyos resultados se resumen en la Tabla 1.

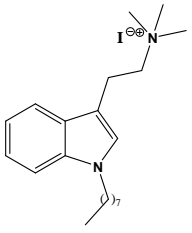
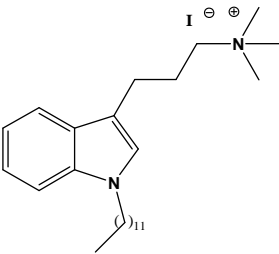
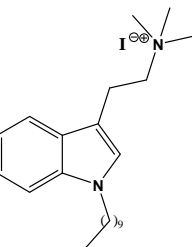
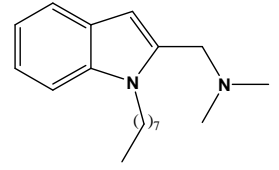
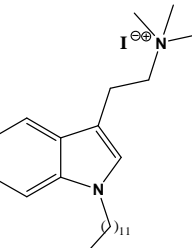
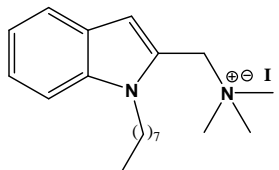
Tabla 1. Valores de  $K_i$  (nM) para la afinidad de los compuestos sintetizados frente al RnACo subtipo  $\alpha 4\beta 2$ .

Compuesto	$K_i$ (nM) $\alpha 4\beta 2$ [ <sup>3</sup> H]epibatidina (nM)	Compuesto	$K_i$ (nM) $\alpha 4\beta 2$ [ <sup>3</sup> H]epibatidina (nM)
<b>54</b> 	<b>3400*</b>	<b>95</b> 	<b>&gt; 10000</b>

<b>55</b> 	<b>17000*</b>	<b>96</b> 	<b>2000</b>
<b>56</b> 	<b>&gt; 10000</b>	<b>97</b> 	<b>&gt; 10000</b>
<b>57</b> 	<b>&gt; 10000</b>	<b>102</b> 	<b>130</b>
<b>75</b> 	<b>&gt; 10000</b>	<b>103</b> 	<b>210</b>
<b>76</b> 	<b>&gt; 10000</b>	<b>107</b> 	<b>&gt; 10000</b>

<p>77</p> 	<p>&gt; 10000</p>	<p>108</p> 	<p>&gt; 10000</p>
<p>78</p> 	<p>&gt; 10000</p>	<p>109</p> 	<p>&gt; 10000</p>
<p>79</p> 	<p>&gt; 10000</p>	<p>110</p> 	<p>422</p>
<p>80</p> 	<p>168</p>	<p>111</p> 	<p>701</p>
<p>81</p> 	<p>207</p>	<p>112</p> 	<p>867</p>

<p><b>82</b></p> 	<p><b>462</b></p>	<p><b>118</b></p> 	<p><b>&gt; 10000</b></p>
<p><b>83</b></p> 	<p><b>500</b></p>	<p><b>119</b></p> 	<p><b>&gt; 10000</b></p>
<p><b>89</b></p> 	<p><b>&gt; 10000</b></p>	<p><b>120</b></p> 	<p><b>&gt; 10000</b></p>
<p><b>90</b></p> 	<p><b>&gt; 10000</b></p>	<p><b>121</b></p> 	<p><b>823</b></p>
<p><b>91</b></p> 	<p><b>&gt; 10000</b></p>	<p><b>122</b></p> 	<p><b>&gt; 10000</b></p>

<b>92</b> 	<b>226</b>	<b>123</b> 	<b>&gt; 10000</b>
<b>93</b> 	<b>430</b>	<b>124</b> 	<b>&gt; 10000</b>
<b>94</b> 	<b>567</b>	<b>125</b> 	<b>543</b>

\* Valores reportados en la literatura y confirmados en este estudio.

En la tabla anterior se observa que los compuestos con grupos aminas secundarias y terciarias presentes en su estructura no presentaron afinidad por el RnACo subtipo  $\alpha 4\beta 2$  a concentraciones de 10000 nM con la única excepción del compuesto **96** que presentó un  $K_i$  de 2000 nM.

De los yodometilatos sintetizados, únicamente los compuestos **95**, **122** y **123** no presentaron afinidad ( $K_i > 10000$  nM) frente al RnACo subtipo  $\alpha 4\beta 2$ .

El resto de los yodometilatos sintetizados presentaron afinidad por el RnACo subtipo  $\alpha 4\beta 2$  con valores de  $K_i$  entre 130 y 823 nM.

El compuesto que presentó más afinidad por el RnACo subtipo  $\alpha 4\beta 2$  fue **102** con un  $K_i$  de 130 nM.

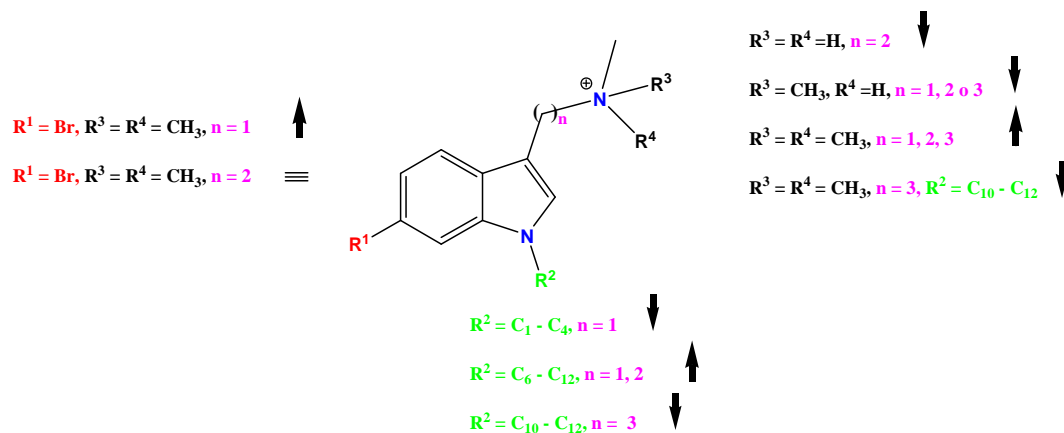
### 3.2.2. Relación cualitativas entre la estructura de los compuestos sintetizados y la afinidad frente al RnACo, subtipo $\alpha 4\beta 2$ .

Al comparar los resultados de afinidad obtenidos por el método de desplazamiento del radioligando ( $\pm$ )-[ $^3\text{H}$ ]epibatidina, podemos observar algunas características estructurales que favorecen o desfavorecen la interacción de los compuestos sintetizados con el RnACo subtipo  $\alpha 4\beta 2$ . Entre éstas podemos mencionar:

- Los compuestos con mayor afinidad frente al RnACo subtipo  $\alpha 4\beta 2$  son yoduros de trimetilamonio. Este grupo está presente en el agonista endógeno del RnACo, la acetilcolina y en otros ligandos que interactúan con este receptor.<sup>6</sup>
- Entre los compuestos que presentaron afinidad por el RnACo subtipo  $\alpha 4\beta 2$ , se encontró que al aumentar la longitud de la cadena alquílica unida al nitrógeno indólico, aumenta la afinidad hasta los 8 carbonos.
- Entre los compuestos que presentaron afinidad por el RnACo subtipo  $\alpha 4\beta 2$ , se encontró que cuando la longitud de la cadena alquílica unida al nitrógeno indólico es mayor de 8 carbonos, disminuye la afinidad.
- Cuando la cadena alquílica que une el anillo indólico con el nitrógeno básico es de un solo átomo de carbono (graminas), la presencia de un átomo de bromo en la posición 6 del anillo indólico favorece la afinidad de los compuestos frente al RnACo subtipo  $\alpha 4\beta 2$ .
- Cuando la cadena alquílica que une al anillo indólico con el nitrógeno básico es de dos átomos de carbono (triptaminas), la presencia de un átomo de bromo en la posición 6 del anillo indólico no influye en la afinidad de los compuestos frente al RnACo subtipo  $\alpha 4\beta 2$ .
- Cuando la cadena alquílica que une al anillo indólico con el nitrógeno básico es de tres átomos de carbono (homotriptaminas), la presencia de cadenas alquílicas de 10 o más átomos de carbono unidas al nitrógeno indólico disminuye la afinidad de estos compuestos por el RnACo, subtipo  $\alpha 4\beta 2$ .

Un resumen de lo mencionado anteriormente se muestra en la Figura 16.

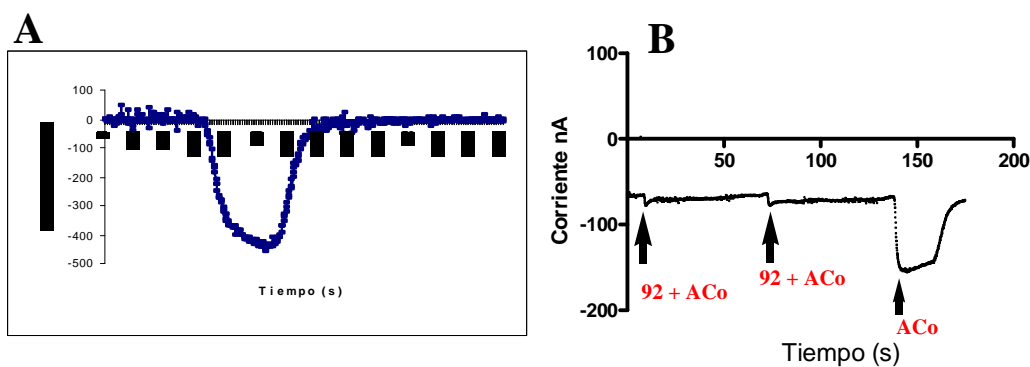




**Figura 16.** Relaciones cualitativas de estructura-actividad mostradas por los compuestos sintetizados frente al RnACo subtipo  $\alpha 4\beta 2$ . El símbolo ↑ significa que aumenta la afinidad, ↓ que disminuye la afinidad y ≡ que no afecta la afinidad.

### 3.3. Ensayos funcionales de los compuestos frente a RnACo, subtipo $\alpha 9\alpha 10$ .

Se realizaron mediciones a concentraciones desde 0.5 hasta 10 nM de los compuestos **92** y **102**. Los compuestos **92** y **102** no produjeron corrientes cuando se aplicaron solos, lo que indica que no son agonistas del receptor nicotínico de acetilcolina, subtipo  $\alpha 9\alpha 10$ , por lo cual se procedió a aplicarlos en combinación con acetilcolina para ver el efecto sobre la corriente producida por ésta. Al coaplicar cada uno de los compuestos con acetilcolina fue evidente que la amplitud de la corriente fue menor que cuando se aplica acetilcolina sola, de lo que se deduce que los compuestos son antagonistas de este subtipo del receptor. La actividad bloqueadora fue dependiente de la concentración. En la figura 17 se muestra una secuencia de las corrientes producidas por acetilcolina 10  $\mu\text{M}$  y dos aplicaciones de **92** a 5 nM + acetilcolina 10  $\mu\text{M}$  y una aplicación de acetilcolina 10  $\mu\text{M}$ .



**Figura 17.** A. Aplicación de acetilcolina (10  $\mu$ M) sola. B. Coaplicaciones de **92** (5 nM) + ACo (10  $\mu$ M) y aplicación de acetilcolina (10  $\mu$ M) sola, la inhibición corresponde a un 88 %.

### 3.4. Posible sitio de unión de las moléculas activas en el RnACo, subtipo $\alpha 4\beta 2$ .

#### 3.4.1. Alineamiento de secuencias.

Aunque los porcentajes de identidad entre las secuencias aminoacídicas de las proteínas AChBP y los dominios N-terminales de los subtipos humanos son bajas, entre 17% y 27%, la presencia de la gran mayoría de los mismos residuos en el sitio de unión y la farmacología de la AChBP sugieren que los modelos por homología de los dominios extracelulares de los RnACo creados usando la estructura cristalina de la AChBP son muy apropiados.

El requerimiento más importante en el modelado por homología es el buen alineamiento de las secuencias que van a ser modeladas con la secuencia de la estructura que va a servir como plantilla, siendo las inserciones en la secuencia uno de los problemas más frecuentes. Sin embargo, en nuestros alineamientos, son pocas las inserciones presentes en las secuencias de los subtipos humanos y éstas no afectan los sitios de unión de los ligandos.

La Figura 18 muestra los alineamientos de secuencias, y revela que los residuos que conforman el sitio activo son conservados o de características químicas similares. Los residuos que forman la típica “caja” aromática que conforman el sitio activo, incluyen Trp147, Tyr91, Tyr188, Tyr193 y el puente disulfuro en las posiciones 190 y 191 están

bien conservados. Por otra parte, el residuo Trp53 ubicado en la interface complementaria(-) y que hace parte de la mencionada “caja” también está bien conservado. La principal diferencia entre los diferentes subtipos está en el residuo ubicado en la posición 117 (numeración correspondiente a AChBP de *Ls*). Se ha sugerido que este residuo podría ser importante para la selectividad de los ligandos frente a los diferentes subtipos.<sup>157</sup>

### **3.4.2. Construcción de los modelos.**

Los modelos de los dominios N-terminales extracelulares de los subtipos  $\alpha 4\beta 2$  y  $\alpha 9\alpha 10$  fueron construidos utilizando el programa MODELLER versión 9v3.<sup>154</sup> Se construyeron 200 modelos para cada receptor y se seleccionaron los mejores 5 de cada uno para el trabajo posterior. Para el subtipo  $\alpha 4\beta 2$  la secuencia de subunidades fue  $\alpha 4\beta 2\alpha 4\beta 2\beta 2$ , mientras que para el subtipo  $\alpha 9\alpha 10$  la secuencia fue  $\alpha 9\alpha 10\alpha 9\alpha 10\alpha 10$ . Los modelos fueron evaluados con los programas PROSA<sup>177</sup> y VERIFY3D<sup>178</sup> para verificar que no contenían factores estructurales defectuosos.

### **3.4.3. Acomodamiento molecular de los yodometilatos frente al RnACo, subtipo $\alpha 4\beta 2$ .**

El acomodamiento molecular inducido de las moléculas en las interfaces de las subunidades  $\alpha 4\beta 2$  fué realizado usando el programa AutoDock 3.0.5. Todas las torsiones posibles fueron permitidas usando *Autotors*. Los parámetros de solvatación fueron asignados con *Addsol* y las cuadrículas de afinidad fueron creadas con *Autogrid*. Todas estas herramientas forman parte de AutoDock 3.0.5.

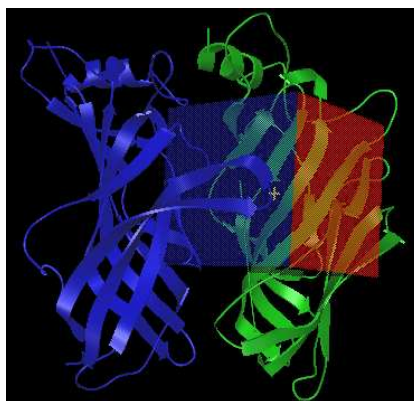
Los parámetros usados fueron los que contiene el programa excepto para las coordenadas que ubican el centro de las cuadrículas (que son propias para cada subtipo), población de las moléculas (150) y número de corridas (256).

$\alpha$ 3 EHRLEFERLFED--YNEIIRP---VANVSDPVI IHFEVSMSQLVKVDEVNQIMETNLWLKQI WNDYKLRWNPSPDYGGAEFMRVPAQKIWKPDIVL YNNAVGFQVDDKTKALLKY 142  
 $\alpha$ 6 EERLFHKLFSH--YQFIRP---VENVSDPVTVHFVAVITQLANVDEVNQIMETNLWLRHI WNDYKLRWDPMEYDGIETLRVPADKIWKPDIVL YNNAVGFQVEGKTKALLKY 142  
 $\beta$ 3 EDALLRHLFQG--YQKWVRP---VLHSDNTIKVYFGLKISQLVDVDEKNQMLTNTNVWLKQEWTDHKLWRWNPDDYGGIHSIKVPSSESLWLPDIVL FENADGRFEGSLMTKVIKVS 137  
 $\alpha$ 5 EDSLLKDLFQD--YERWVRP---VEHLNDKIKIKFGLAISQLVDVDEKNQMLTNTNVWLKQEWIDVKLRWNPDDYGGIKVIRVPSDSVWTPDIVL FDNADGRFEG-TSTKTIVIRY 145  
 $\alpha$ 2 EDRLFHKLFRG--YNRWARP---VPNTSDVIVRVFGLSIAQLIDVDEKNQMMTNTNVWLKQEWSDYKLRWNPADFGNITSLRVPSEMIWIPDIVL YNNADGEFAVTHMTKAHLFS 167  
 $\alpha$ 4 EERLLKDLFSG--YNKWSRP---VANISDVVLRVRFGLSIAQLIDVDEKNQMMTNTNVWLKQEWHDYKLRWNPADYENVTSIRIPSELIWRPDIVL YNNADGEFAVTHLTKAHLFH 145  
 $\beta$ 2 EERLVEHLLDPSRYNKLIRP---ATNGSELVTVQLMVSLAQLISVHEREQIMTNTNVWLTQEWEDYRLTWKPEEFDNMKKVRLPSKHIWLPDVVL YNNADGMYEVSFYSNAVVSY 139  
 $\beta$ 4 EEKLMDDLNLKTRYNNLIRP---ATSSSQLISIKLQLSLAQLISVNEREQIMTNTNVWLKQEWTDYRLTWNSRYEGVNILRIPAKRIWLPDIVL YNNADGTYESVYTNLIVRS 137  
 $\alpha$ 9 AQKLFNDLFED--YSNALRP---VEDTDKVLNVTLQITLSQIKDMDERNQILTAYLWIRQI WHDAYLTWDRQYDGLDSIRIPSDLVWRPDIVL YNKADDESSEPVNTNVVLRV 139  
 $\alpha$ 10 ALKLFRLDFAN--YTSALRP---VADTDQTLNVTLLEVTLISQIIDMERNQVLTLYLWIRQEWTDAYLRWNPAYGGDLDAIRIPSSLVWRPDIVL YNKADAQPPGSASTNVVLRH 138  
 $\alpha$ 7 QRKLYKELVKN--YNPLERP---VANDSQPLTVYFSLSLQIMDVDEKNQVLTNTNIWLQMSWTDHYLQWNVSEYPGVKTVRFDPDQIWKPDILL YNSADERFDATFHTNVLVNS 134  
*Ls* LSLDRADILYN--IRQTSRPDVIPTQRDRPVAVSVSLKFINILEVNEITNEVDVVFQQTT WSDRTLAWNSSHSP--DQVSVPISSLWVPDLAA YN-AISKPEVLT PQLARVVS 127  
*Ac* LMRLKSDLFNR--SPMYPGP----TKDDPLTVTLGFTLQDIVKADSSSTNEVDLVVYEQQRWKLNSLMWDPNEYGNITDFRTSADIWTPDITAYS-STRPVQVLS PQIAVVTH 118  
: . \* . : : . . : : : \* \* \* . . : \* \* : : . :

$\alpha$ 3 TGEV TWIPPAIFKSSCKIDVTFYFPFDYQNCMTMKFGS WSYDKAKIDLVLIGSSMNLKDYWES-GEWAIKAPGYKHDIK YNCCEEI YPDITYSLYIRRLP 240  
 $\alpha$ 6 NGMI TWTPPAIFKSSCPMDITFFPFDRQNCSLKFGS WTYDKAEIDLLIIGSKVDMNDFWEN-SEWEIIDASGYKHDIK YNCCEEI YTDITYSFYIRRLP 240  
 $\beta$ 3 NGTV VWTTPPASYKSSCTMDVTFPPDRQNCMSKFGS WTYDGTVMVDLILINENVDRKDFFDN-GEWEILNAKGMKGNRRDGVYS--YPFITYSFVLRRLP 235  
 $\alpha$ 5 NGTV TWTPPANYKSSCTIDVTFPPFDLQNCMSKFGS WTYDGSQVDIILEDQVDVDRKDFFDN-GEWEIVSATGSKGNRTDSCCW--YPYVTYSFVIKRLP 252  
 $\alpha$ 2 TGTV HWVPPAIYKSSCSIDVTFPPFDQNCCKMKFGS WTYDKAKIDLEQMEQTVDLKDYWES-GEWAIVNATGTYNSSK YDCCAEI YPDVITYAFVIRRLP 265  
 $\alpha$ 4 DGRV QWTPPAIYKSSCSIDVTFPPFDQNCMTMKFGS WTYDKAKIDLVMHRSRVDQLDFWES-GEWVIVDAVGTYNTRK YDCCAEI YPDITYAFVIRRLP 243  
 $\beta$ 2 DGSIF WLPPAIYKSACKIEVKHFPPDQNCMTMKFRS WTYDRTEIDLVLKSEVASLDDFTPS-GEWDIVALPGRRENENPD--DST YVDITYDFIIRKRP 237  
 $\beta$ 4 NGSV L WLPPAIYKSACKIEVKYFPFDQNCNTLKFRS WTYDHTEDMVLMTPTASMDDFTPS-GEWDIVALPGRRTVNPQ--DPS YVDITYDFIIRKRP 235  
 $\alpha$ 9 DGLI TWDAPAITKSSCVVDVTFYFPFDNQCNLTFGS WTYNGNQVDIFNALDSGDLSDFIED-VEWEVHGMPAVKNVIS YGCCSEPYPDVTF TLLLRRS 237  
 $\alpha$ 10 DGAV RWDAPAITRSSCRVDVAFFPDAQHCGLTFGS WTHGGHQLDVRPRGAAASLADFVEN-VEWRVLGMPARRRVLTYGCCSEPYPDVTF TLLLRRA 236  
 $\alpha$ 7 SGHC QYLPPGIFKSSCYIDVRWFPFDVQHCKLKFGS WSYGGWSLDL--QMQEADISGYIPN-GEWDLVGPGRSERF YDCCKEPYPDVTFVTMRRRT 230  
*Ls* DGEV LYMPDIRQRFSCDVSVDTEG-ATCRIKIGS WTHHSREISVDPTTENSDDSEYFSQYSRFEILDVTQKNSVT YSCCPEAYEDVEVSLNFRKKG 219  
*Ac* DGSV MFIPAQRSLFMCDPTGVDSEEG-ATCAVKFGS WVYSGFEIDLKTDTDQVLDSSYYAS-SKYEILSATQTRQVQH YSCCPEPYIDVNLVVKFRERR 214  
\* : . . \* . \* : : \* \* : : : . : . : : \* : : . : :

**Figura 18.** Alineamientos para los diferentes subtipos del RnAcO humanos y las AChBP de *Aplysia californica* y *Lymnaea stagnalis*. Los residuos coloreados en rojo corresponden a residuos del sitio activo de la primera subunidad principal(+), igual para todos y se denomina “nido” aromática. Los residuos coloreados en azul corresponden a residuos del sitio activo en la segunda subunidad complementaria(-) perteneciente también a la “nido” aromática. Los residuos coloreados en verde corresponden a residuos del sitio activo en la segunda subunidad complementaria(-) que son diferentes para los diferentes subtipos por lo cual son importantes para la selectividad

Como posible sitio de unión se usó una caja cúbica de 60 Å de arista con puntos separados por 0.375 Å centrada en uno de los azufres del puente bisulfuro del sitio activo (bucle C), en las coordenadas 84.484, 61.796 y -10.908 en los ejes X, Y, Z. Ver Figura 19.



**Figura 19.** Posible sitio de unión del RnACo, subtipo  $\alpha 4\beta 2$ . La caja cúbica está centrada en el puente de cisteínas (CYS190-191 del bucle C), la cruz representa el centro de la caja.

Los estudios de acomodamiento molecular se realizaron únicamente con los yodometilatos ya que fueron los compuestos más activos en los ensayos de afinidad frente al RnACo, subtipo  $\alpha 4\beta 2$ .

Los resultados obtenidos usando AutoDock muestran que la orientación energéticamente más favorable para todas las moléculas empleadas en el acomodamiento molecular es similar. En esta orientación el grupo trimetilamonio de los compuestos sintetizados se aloja en el espacio generado por la “caja” aromática. Más aún, la orientación de este grupo coincide con la reportada en la estructura de rayos X de la AChBP de *Aplysia californica* con carbamilcolina.<sup>45</sup>

Por otro lado, la parte bencénica del anillo indólico se ubica hacia las hojas plegadas  $\beta 5$  y  $\beta 6$  de la subunidad complementaria (-)  $\beta 2$ . Los residuos más cercanos a esta parte de las moléculas son Asn316 y Phe326 y se ha sugerido que esta región del receptor es determinante en la selectividad de los ligandos frente a diferentes subtipos.<sup>157</sup>

El grupo alquilo unido al nitrógeno indólico se orienta entre las dos subunidades en una región dominada por residuos apolares o poco polares, entre los que podemos mencionar Ala193, Thr149, Tyr158 en la subunidad principal (+)  $\alpha$  y Met284, Lys286, Val318 en la subunidad complementaria (-)  $\beta$ 2. El plegamiento de este grupo es proporcional a su longitud y puede estar completamente extendido cuando la longitud de la cadena alquílica está entre C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o plegado cuando esta longitud está entre C<sub>8</sub>-C<sub>12</sub>.

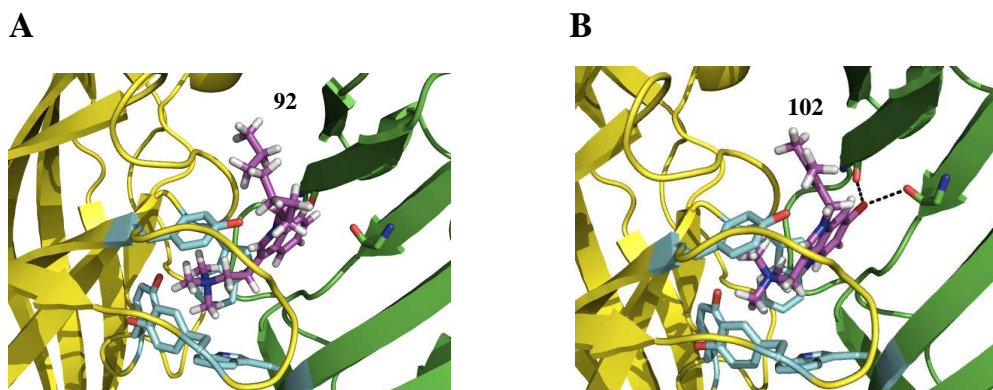
La longitud de la cadena alquílica que une al anillo indólico con el grupo trimetilamonio (n = 1, 2 ó 3) origina lo siguiente: cuando n = 1, el grupo trimetilamonio no penetra tan profundamente en la “caja” aromática y la parte bencénica se observa más distante de la subunidad complementaria (-)  $\beta$ 2, cuando n = 3, los grupos mencionados presentan interacciones más próximas en longitud y cuando n = 2, es el punto intermedio.

Lo anterior sugiere una explicación a lo observado en la actividad biológica de los yodometilatos que presentan átomos de bromo en su estructura y sus isómeros con átomos de hidrógeno en la misma posición. Los compuestos **80** y **81** se diferencian en que el primero posee en su estructura un átomo de bromo en la posición 6, mientras que el segundo posee un átomo de hidrógeno en la misma posición, pero frente al RnACo subtipo  $\alpha$ 4 $\beta$ 2, el compuesto desbromado (**80**) demostró más afinidad ya que sus valores de IC<sub>50</sub> fueron 168 y 207 nM respectivamente.

Por otra parte, la pareja de gramíneas **102** y **103**, en la que la primera posee el átomo de bromo los resultados de afinidad fueron diferentes. Entre estos dos compuestos, el más activo fue el compuesto bromado (**102**) con una IC<sub>50</sub> de 130 nM, mientras que para el desbromado (**103**) fue de 210 nM.

La principal razón para este comportamiento podría ser la presencia de una interacción del tipo puente de halógeno. Este tipo de asociación se ha reportado en varios sistemas biológicos.<sup>179-181</sup> Las diferencias en las afinidades entre las parejas de compuestos mencionadas anteriormente se podrían explicar por el puente de halógeno ya que en éste la distancia entre los átomos y el ángulo entre ellos son los factores fundamentales para que se produzca. Al parecer, las condiciones óptimas se presentan en la interacción entre el compuesto **102** y la subunidad complementaria (-)  $\beta$ 2, lo que justificaría su afinidad más alta por el receptor.

En la Figura 20 se muestran los compuestos **92** y **102** en el sitio de unión más probable en el RnACo, subtipo  $\alpha 4\beta 2$ , según los resultados arrojados por AutoDock.



**Figura 20.** Acomodamiento molecular de los compuestos **92** (A) y **102** (B). La subunidad principal (+)  $\alpha$  se muestra en color amarillo, la subunidad complementaria (-)  $\beta$  en color verde, los residuos que conforman la “caja” aromática se muestran en celeste y los ligandos en magenta.

### 3.5. Desarrollo cualitativo de un farmacóforo para antagonistas del RnACo.

Desde 1970 muchas investigaciones han sido realizadas un modelo farmacofórico para agonistas del RnACo pero ninguna para los antagonistas de este receptor.<sup>3</sup>

Analizando los componentes estructurales de nuestras moléculas activas y las reportadas por el grupo de Dwoskin y Crooks podríamos mencionar las siguientes características como elementos importantes para la actividad antagonista frente al RnACo:

- Grupo amonio cuaternario presente en un extremo de la molécula, el volumen de este ayudaría a la selectividad como se ha reportado para los agonistas. Este grupo estaría interaccionando con la caja aromática de la subunidad principal(+).
- Un grupo hidrofóbico de gran tamaño, de forma lineal preferiblemente, aunque se podría inferir que anillos aromáticos sustituidos podría ayudar a la selectividad en forma parecida a los agonistas ya que esta sección de la molécula interactúa con la subunidad complementaria(-).
- La ausencia de un grupo aceptor de puente de hidrógeno necesario para la actividad agonista.

### **3.6. Modelamiento molecular de RnACo, subtipo $\alpha 9\alpha 10$ .**

Debido a que los experimentos funcionales se realizaron en el subtipo  $\alpha 9\alpha 10$  y a la poca información conocida sobre aspectos estructurales de éste, se decidió realizar estudios de modelamiento molecular del modelo por homología del dominio extracelular con sus ligandos más conocidos: ACo, Nic y la  $\alpha$ -conotoxina RgIA.

#### **3.6.1. Estructura de los ligandos.**

Las estructuras de Nic y ACo fueron construidas como se mencionó en la sección 2.4.3, mientras que la estructura de la  $\alpha$ -conotoxina RgIA fue generada con el programa MODELLER a partir de la estructura cristalina de la  $\alpha$ -conotoxina IMI en complejo con AChBP de *Aplysia californica*.<sup>133</sup>

#### **3.6.2. Simulaciones de dinámica molecular.**

Con el objetivo de determinar la estabilidad de nuestros modelos del dominio extracelular del RnACo subtipo  $\alpha 9\alpha 10$ , se realizaron simulaciones de dinámica molecular. Las estructuras fueron solvatadas en una caja octahédrica de aguas según el formato TIP3P<sup>182</sup> con una distancia mínima de 10 Å entre el soluto y las moléculas de agua. Se adicionaron al azar 39 iones Na<sup>+</sup>, 59 iones Cl<sup>-</sup> para los sistemas con ACo y Nic y 50 iones Na<sup>+</sup>, 30 iones Cl<sup>-</sup> para el sistema con el péptido RgIA. Estas concentraciones de iones, en combinación con las diferentes cargas netas, producen sistemas neutros que simulan las condiciones fisiológicas de Na<sup>+</sup> 0.10 M y Cl<sup>-</sup> 0.05 M. El número total de átomos de los sistemas simulados fue de 57014 (incluyendo 3578 moléculas de agua) para los complejos receptor-ligandos pequeños y 63.915 (incluyendo 5486 moléculas de agua) para el complejo receptor-RgIA.

Los estudios de dinámica molecular fueron realizados utilizando el módulo Sander del programa Amber9<sup>183</sup> de acuerdo a procedimientos usados para modelar otros sistemas ligando-proteína.<sup>157</sup> El sistema solvatado fue minimizado energéticamente antes de las simulaciones como sigue: Los primeros 6000 pasos de minimización de energía fueron realizados sobre las moléculas de agua y los iones Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup>, manteniendo fija la



proteína en su posición inicial. La segunda minimización de 6000 pasos fue realizada sobre todo el sistema, es decir, los átomos de la proteína, moléculas de solvente y los contraiones. Para evitar posibles agregaciones de burbujas de vacío y/o pequeñas brechas debidas al empaquetamiento del solvente, se realizó una dinámica molecular de 1.2 ps usando el ensamble *NVT*. Posteriormente, todo el sistema fue minimizado energéticamente por 6000 pasos manteniendo fijo el esqueleto de la proteína. El sistema resultante fue calentado gradualmente a desde 0 a 300 K y equilibrado por 37 ps. Finalmente, cada simulación de dinámica molecular se corrió por 5 ns usando el ensamble *NTP* a  $T = 300$  K y  $P = 1$  atm.

Los resultados de las simulaciones de dinámica molecular para los complejos de ACo- $\alpha 9\alpha 10$  y Nic- $\alpha 9\alpha 10$  fueron diferentes. Éstos confirman las diferencias en el perfil farmacológico presentadas por ACo y Nic frente a este subtipo del RnACo. Se ha reportado que ACo actúa como agonista mientras que Nic lo hace como antagonista.<sup>27, 28, 149</sup> Al final de las corridas de dinámica molecular, ACo mostró la interacción catión- $\pi$  reportada para agonistas del RnACo<sup>45, 184</sup> mientras que Nic fue removida del sitio de unión.

De la simulación de dinámica molecular del complejo ACo- $\alpha 9\alpha 10$ , se puede mencionar que los residuos de la “caja” aromática se mantuvieron en posiciones similares a las iniciales mientras que el residuo de Arg112 de la subunidad complementaria (-)  $\alpha 10$  forma un puente de hidrógeno (2.9 Å) con el átomo de oxígeno del grupo carbonilo de la ACo. La distancia entre el átomo de nitrógeno del grupo trimetilamonio de ACo y el anillo aromático del Trp143 que forman la interacción catión- $\pi$  es de 4.8 Å, en completo acuerdo con lo reportado en la literatura.<sup>45</sup> Otra característica importante de este sistema es la presencia de dos pares de moléculas de agua en el sitio de enlace del agonista, las cuales forman puentes de hidrógeno con las cadenas polares de los residuos Asp114 y Arg52 de la subunidad complementaria (-)  $\alpha 10$ . Ver figura 21 A.

Contrariamente, la estructura del complejo Nic- $\alpha 9\alpha 10$  después de la simulación por dinámica molecular muestra que Nic fue removida desde su posición inicial, debido a que la cadena lateral de la Arg112 de la subunidad complementaria (-)  $\alpha 10$  forma un puente de hidrógeno con una molécula de agua, la que a su vez interacciona con el átomo de oxígeno del grupo carbonilo del Trp143 de la subunidad principal (+)  $\alpha 9$ . Estas interacciones hacen que el anillo aromático del mencionado Trp143 se mueva

hacia en centro de la “caja” aromática sacando a Nic del sitio de enlace inicial. Ver Figura 21 B.

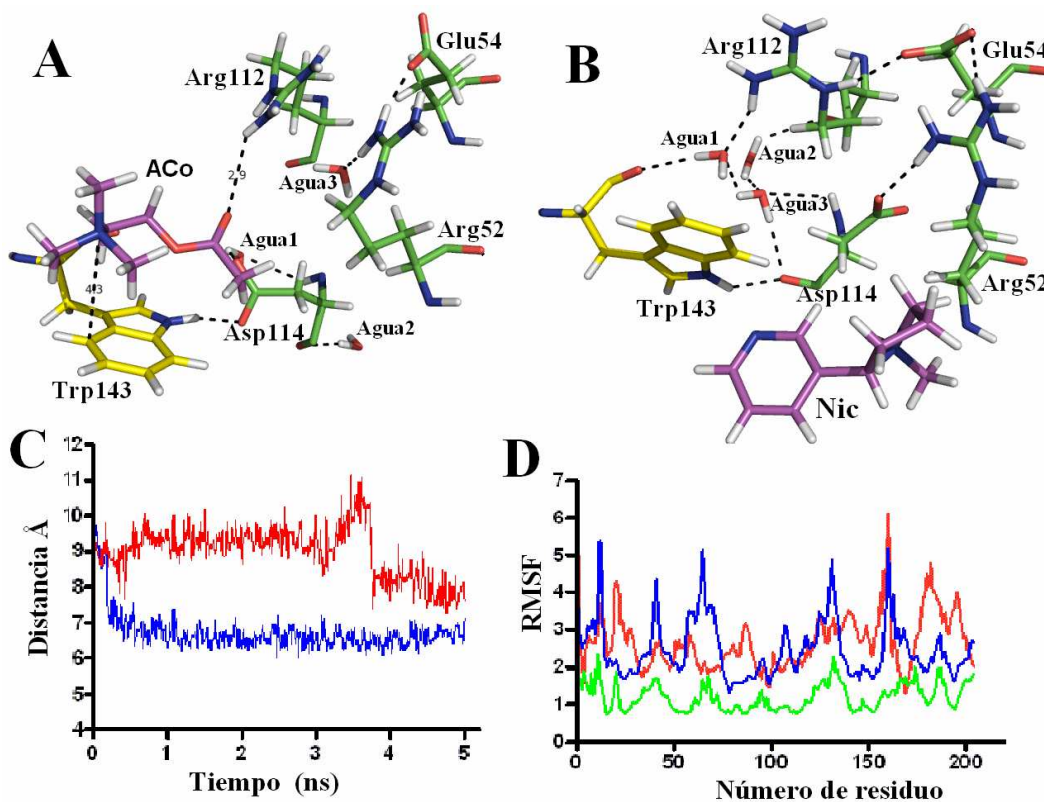
La Figura 21 C grafica la variación en la distancia entre los átomos NE de la Arg112 en la subunidad complementaria (-)  $\alpha 10$  y el átomo O del Trp143 de la subunidad principal (+)  $\alpha 9$  durante las simulaciones de dinámica molecular para ambos complejos ACo- $\alpha 9\alpha 10$  y Nic- $\alpha 9\alpha 10$ . De estas gráficas se puede deducir que para el complejo ACo- $\alpha 9\alpha 10$  el átomo NE de la Arg112 que inicialmente se encuentra a una distancia cercana a los 9 Å, requiere casi 5 ns para lograr el contacto directo con ACo. Sin embargo, en el complejo Nic- $\alpha 9\alpha 10$ , la misma distancia inicial cae a cerca de 6.5 Å después de 0.25 ns y se mantiene constante por los restantes 4.75 ns de simulación.

La simulación de dinámica molecular del complejo RgIA- $\alpha 9\alpha 10$  mostró que la RgIA se acopla en la interfase entre dos subunidades del receptor interaccionando con ambas. En lo concerniente a la subunidad principal (+)  $\alpha 9$ , el grupo guanidinio de la Arg7 de RgIA establece un puente salino con Asp198 y un puente de hidrógeno con el grupo carbonilo de Pro197. La Arg7 de RgIA forma también un puente salino intramolecular con Asp5 lo que le podría conferir estabilidad conformacional. Estas interacciones se observan en las estructuras cristalinas de la AChBP de *Aplysia californica* en complejo con las  $\alpha$ -conotoxinas IMI y TxIA.<sup>133, 137, 185</sup> Finalmente, la Arg11 de RgIA forma un puente salino con Glu194, interacción observada en las estructuras cristalinas mencionadas anteriormente.

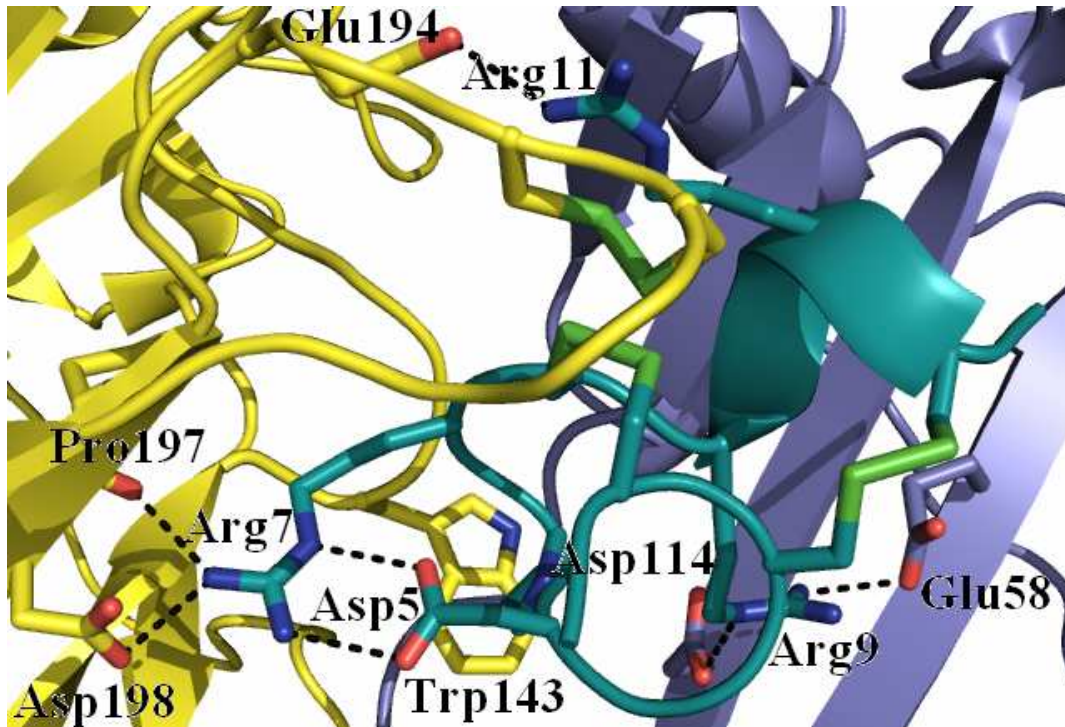
En la Figura 22 se observa que las interacciones más importantes entre RgIA y la subunidad complementaria (-)  $\alpha 10$  se establecen entre la Arg9 de la  $\alpha$ -conotoxina con Glu58 y Asp114. Estas interacciones explicarían la selectividad de RgIA frente al subtipo  $\alpha 9\alpha 10$  del RnACo ya que el residuo Asp114 está presente únicamente en las subunidades  $\alpha 9$  y  $\alpha 10$ , tal como fue mencionado en los alineamientos de secuencias. Lo anterior está en completo acuerdo con lo reportado por Ellison *et al.* quienes encontraron que al mutar Arg9 en RgIA se pierde la selectividad de esta  $\alpha$ -conotoxina frente a este subtipo del RnACo.<sup>186</sup>

Al analizar el comportamiento de la desviación cuadrática media de la fluctuación (RMSF, siglas del inglés Root Mean Square Fluctuation) para la subunidad principal (+)

$\alpha 9$  en las tres simulaciones de dinámica molecular se observa que la tendencia de los complejos Nic- $\alpha 9\alpha 10$  y RgIA- $\alpha 9\alpha 10$  son similares aunque con valores diferentes. Esto confirma el carácter antagonista de Nic y la poca movilidad del receptor cuando está unido a RgIA. Ver Figura 21 D.



**Figura 21.** A. Interacciones de ACo en el sitio de unión después de la simulación de dinámica molecular. El residuo de la subunidad principal (+)  $\alpha 9$  está coloreado en amarillo, los residuos de la subunidad complementaria (-)  $\alpha 10$  en verde y ACo en magenta. B. Interacciones de Nic en el sitio de unión después de la simulación de dinámica molecular. El residuo de la subunidad principal (+)  $\alpha 9$  está coloreado en amarillo, los residuos de la subunidad complementaria (-)  $\alpha 10$  en verde y Nic en magenta. C. Evolución de la distancia entre el átomo NE de Arg112 y O de Trp143: rojo para ACo- $\alpha 9\alpha 10$  y azul para Nic- $\alpha 9\alpha 10$ . D. RMSF (para la subunidad principal (+)  $\alpha 9$ ) donde se muestran las regiones con mayores movimientos después de la simulación por dinámica molecular: ACo- $\alpha 9\alpha 10$  en rojo, Nic- $\alpha 9\alpha 10$  en azul y RgIA- $\alpha 9\alpha 10$  en verde.



**Figura 22.** Principales interacciones del complejo RgIA- $\alpha 9\alpha 10$  después de la simulación de dinámica molecular. La subunidad principal (+)  $\alpha 9$  está coloreada en amarillo, la subunidad complementaria (-)  $\alpha 10$  en púrpura y la  $\alpha$ -conotoxina RgIA en verde.

#### 4. Conclusiones.

Analizando los resultados obtenidos en esta tesis podemos concluir que:

1. Los yodometilatos de las graminas, triptaminas y homotriptaminas sintetizadas presentan mayor afinidad por el RnACo, subtipo  $\alpha 4\beta 2$  que las aminas secundarias o terciarias correspondientes. El compuesto que presentó más afinidad por el RnACo, subtipo  $\alpha 4\beta 2$  fue el yoduro de 6-bromo-*N*-metil-*N*<sup>1</sup>-prenilgraminio (**102**) con una  $K_i = 130$  nM, aunque este valor difiere en menos de un factor de 2 de los que se determinaron para su análogo desbromado (**103**) y los correspondientes yoduros de *N*-metil-*N*<sup>1</sup>-preniltriptaminio (**81** y **80**) y de *N*-metil-*N*<sup>1</sup>-octilgraminio y -triptaminio (**110** y **92**).
2. En las series de compuestos sintetizados con uno y dos átomos de carbono entre el C-3 del anillo indólico y el nitrógeno básico (graminas y triptaminas respectivamente, al aumentar la cadena unida al nitrógeno indólico de metilo a alilo, dimetilalilo, octilo, decilo y dodecilo, aumenta la afinidad por el RnACo subtipo  $\alpha 4\beta 2$  hasta alcanzar los 8 carbonos y después disminuye. En las *N*<sup>1</sup>-prenilgraminas y sus yodometilatos la presencia de un átomo de bromo en la posición 6 del anillo indólico favorece la afinidad de los compuestos frente al RnACo subtipo  $\alpha 4\beta 2$ ; en los *N,N,N*-trimetil-*N*<sup>1</sup>-preniltriptaminios la presencia de un átomo de bromo en la misma posición parece influir menos en la afinidad de los compuestos frente dicho receptor. Los compuestos en los cuales la cadena alquímica que une el anillo indólico con el nitrógeno básico es de tres átomos de carbono (homotriptaminas), cuando llevan cadenas alquímicas de 8, 10 ó 12 átomos de carbono unidas al nitrógeno indólico, sus afinidades por el RnACo, subtipo  $\alpha 4\beta 2$  son menores que las de los yodometilatos de graminas y *N,N*-dimetiltriptaminas.
3. Comparando los *N,N,N*-trimetiltriptaminios y *N*-metilgraminios, ambas series no sustituidas en el anillo indólico, los primeros tienen mayor afinidad por el RnACo, subtipo  $\alpha 4\beta 2$ .
4. Los compuestos **92** y **102**, son los que mostraron mayor afinidad por los RnACo, subtipo  $\alpha 4\beta 2$ , son antagonistas del RnACo, subtipo  $\alpha 9\alpha 10$ .

5. Por medio del acomodamiento molecular se pudo proponer el posible sitio de unión de los compuestos activos en el RnACo, subtipo  $\alpha 4\beta 2$ , que sería similar al reportado en la literatura para carbamilcolina y nicotina. Este sitio se encuentra ubicado entre las subunidades principal(+)  $\alpha 4$  y complementaria(-)  $\beta 2$  y los yodometilatos se orientarían con el grupo trimetilamonio dentro de la “caja” aromática, el anillo indólico se colocaría hacia la subunidad complementaria(-)  $\beta 2$  y el grupo alquilo de N-1 interaccionaría con ambas subunidades en la interface.
6. Simulaciones de dinámica molecular del RnACo, subtipo  $\alpha 9\alpha 10$  con ACo y Nic permitieron postular la identidad de los residuos aminoacídicos importantes en la interacción de estos ligandos con el receptor. De esta forma, Arg112 de la subunidad complementaria(-)  $\alpha 10$  sería el residuo más importante para el comportamiento agonista y antagonista de ACo y Nic respectivamente.
7. Estudios similares de dinámica molecular de la interacción de la  $\alpha$ -conotoxina RgIA con el RnACo, subtipo  $\alpha 9\alpha 10$  permitieron establecer que Arg7 de RgIA interacciona con Asp198 y Pro197 de la subunidad principal(+)  $\alpha 9$  lo que le conferiría la potencia y la interacción entre Arg9 de RgIA con Glu58 y Asp114 de la subunidad complementaria(-)  $\alpha 10$  le conferiría la selectividad frente a este subtipo.

## 5. Referencias.

1. Dani, J. A., Overview of nicotinic receptors and their roles in the central nervous system. *Biological Psychiatry* **2001**, 49, (3), 166-174.
2. Barry, P. H.; Lynch, J. W., Ligand-gated channels. *IEEE Transactions on Nanobioscience* **2005**, 4, (1), 70-80.
3. Dani, J. A.; Bertrand, D., Nicotinic acetylcholine receptors and nicotinic cholinergic mechanisms of the central nervous system. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **2007**, 47, 699-729.
4. Dajas-Bailador, F.; Wonnacott, S., Nicotinic acetylcholine receptors and the regulation of neuronal signalling. *Trends in Pharmacological Sciences* **2004**, 25, (6), 317-324.
5. Gahring, L. C.; Rogers, S. W., Neuronal nicotinic acetylcholine receptor expression and function on nonneuronal cells. *AAPS Journal* **2005**, 7, (4), E885-E894.
6. Hogg, R. C.; Raggenbass, M.; Bertrand, D., Nicotinic acetylcholine receptors: from structure to brain function. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology, Vol 147 2003* **2003**, 147, 1-46.
7. Bschiepfer, T.; Schukowski, K.; Weidner, W.; Grando, S. A.; Schwantes, U.; Kummer, W.; Lips, K. S., The non neuronal cholinergic system of the human urothelium - Is there a contribution to the pathogenesis of detrusor overactivity? *European Urology Supplements* **2008**, 7, (3), 184-184.
8. Fujii, T.; Takada-Takatori, Y.; Kawashima, K., Basic and clinical aspects of non-neuronal acetylcholine: Expression of an independent, non-neuronal cholinergic system in lymphocytes and its clinical significance in immunotherapy. *Journal of Pharmacological Sciences* **2008**, 106, (2), 186-192.
9. Grando, S. A., Basic and clinical aspects of non-neuronal acetylcholine: Biological and clinical significance of non-canonical ligands of epithelial nicotinic acetylcholine receptors. *Journal of Pharmacological Sciences* **2008**, 106, (2), 174-179.
10. Kawashima, K.; Fujii, T., Basic and clinical aspects of non-neuronal acetylcholine: Overview of non-neuronal cholinergic systems and their biological significance. *Journal of Pharmacological Sciences* **2008**, 106, (2), 167-173.

11. Song, P.; Spindel, E. R., Basic and clinical aspects of non-neuronal acetylcholine: Expression of non-neuronal acetylcholine in lung cancer provides a new target for cancer therapy. *Journal of Pharmacological Sciences* **2008**, 106, (2), 180-185.
12. Blanton, M. P.; Cohen, J. B., Mapping the lipid-exposed regions in the *Torpedo-californica* nicotinic acetylcholine-receptor. *Biochemistry* **1992**, 31, (15), 3738-3750.
13. Blanton, M. P.; Cohen, J. B., Identifying the lipid-protein interface of the *Torpedo* nicotinic acetylcholine-receptor - secondary structure implications. *Biochemistry* **1994**, 33, (10), 2859-2872.
14. Corbin, J.; Methot, N.; Wang, H. H.; Baenziger, J. E.; Blanton, M. P., Secondary structure analysis of individual transmembrane segments of the nicotinic acetylcholine receptor by circular dichroism and Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of Biological Chemistry* **1998**, 273, (2), 771-777.
15. Sargent, P. B., The diversity of neuronal nicotinic acetylcholine-receptors. *Annual Review of Neuroscience* **1993**, 16, 403-443.
16. Lindstrom, J.; Anand, R.; Peng, X.; Gerzanich, V.; Wang, F.; Li, Y. B., Neuronal nicotinic receptor subtypes. *Diversity of Interacting Receptors* **1995**, 757, 100-116.
17. Zhang, H.; Karlin, A., Identification of acetylcholine receptor channel-lining residues in the M1 segment of the beta-subunit. *Biochemistry* **1997**, 36, (50), 15856-15864.
18. Unwin, N., Refined structure of the nicotinic acetylcholine receptor at 4 angstrom resolution. *Journal of Molecular Biology* **2005**, 346, (4), 967-989.
19. Unwin, N., Nicotinic acetylcholine-receptor at 9-angstrom resolution. *Journal of Molecular Biology* **1993**, 229, (4), 1101-1124.
20. Pedersen, S. E.; Cohen, J. B., Dextro tubocurarine binding sites are located at alpha-gamma and alpha-delta subunit interfaces of the nicotinic acetylcholine receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1990**, 87, (7), 2785-2789.
21. Czajkowski, C.; Kaufmann, C.; Karlin, A., Negatively charged amino-acid-residues in the nicotinic receptor delta-subunit that contribute to the binding of acetylcholine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1993**, 90, (13), 6285-6289.
22. Sine, S. M., Molecular dissection of subunit interfaces in the acetylcholine-receptor - identification of residues that determine curare selectivity. *Proceedings of the*



*National Academy of Sciences of the United States of America* **1993**, 90, (20), 9436-9440.

23. Ravdin, P. M.; Berg, D. K., Inhibition of neuronal acetylcholine sensitivity by alpha-toxins from *Bungarus-multicinctus* venom. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1979**, 76, (4), 2072-2076.

24. Raftery, M. A.; Hunkapiller, M. W.; Strader, C. D.; Hood, L. E., acetylcholine-receptor - complex of homologous subunits. *Science* **1980**, 208, (4451), 1454-1457.

25. Mishina, M.; Tobimatsu, T.; Imoto, K.; Tanaka, K.; Fujita, Y.; Fukuda, K.; Kurasaki, M.; Takahashi, H.; Morimoto, Y.; Hirose, T.; Inayama, S.; Takahashi, T.; Kuno, M.; Numa, S., Location of functional regions of acetylcholine-receptor alpha-subunit by site-directed mutagenesis. *Nature* **1985**, 313, (6001), 364-369.

26. Hunt, S.; Schmidt, J., Some observations on binding patterns of alpha-bungarotoxin in central nervous-system of rat. *Brain Research* **1978**, 157, (2), 213-232.

27. Elgoyhen, A. B.; Johnson, D. S.; Boulter, J.; Vetter, D. E.; Heinemann, S., alpha-9 - an acetylcholine-receptor with novel pharmacological properties expressed in rat cochlear hair-cells. *Cell* **1994**, 79, (4), 705-715.

28. Elgoyhen, A. B.; Vetter, D. E.; Katz, E.; Rothlin, C. V.; Heinemann, S. F.; Boulter, J., alpha 10: A determinant of nicotinic cholinergic receptor function in mammalian vestibular and cochlear mechanosensory hair cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2001**, 98, (6), 3501-3506.

29. Cooper, E.; Couturier, S.; Ballivet, M., Pentameric structure and subunit stoichiometry of a neuronal nicotinic acetylcholine-receptor. *Nature* **1991**, 350, (6315), 235-238.

30. Anand, R.; Conroy, W. G.; Schoepfer, R.; Whiting, P.; Lindstrom, J., Neuronal nicotinic acetylcholine-receptors expressed in *Xenopus* oocytes have a pentameric quaternary structure. *Journal of Biological Chemistry* **1991**, 266, (17), 11192-11198.

31. Lindstrom, J.; Schoepfer, R.; Conroy, W.; Whiting, P.; Das, M.; Saedi, M.; Anand, R., The nicotinic acetylcholine receptor gene family: structure of nicotinic receptors from muscle and neurons and neuronal alpha-bungarotoxin-binding proteins. *Advances in Experimental Medicine and Biology* **1991**, 287, 255-78.

32. Schoepfer, R.; Conroy, W. G.; Whiting, P.; Gore, M.; Lindstrom, J., Brain alpha-bungarotoxin binding-protein cdnas and mabs reveal subtypes of this branch of the ligand-gated ion channel gene superfamily. *Neuron* **1990**, 5, (1), 35-48.

33. RamirezLatorre, J.; Yu, C. R.; Qu, X.; Perin, F.; Karlin, A.; Role, L., Functional contributions of alpha 5 subunit to neuronal acetylcholine receptor channels. *Nature* **1996**, 380, (6572), 347-351.
34. ChavezNoriega, L. E.; Crona, J. H.; Washburn, M. S.; Urrutia, A.; Elliott, K. J.; Johnson, E. C., Pharmacological characterization of recombinant human neuronal nicotinic acetylcholine receptors h alpha 2 beta 2, h alpha 2 beta 4, h alpha 3 beta 2, h alpha 3 beta 4, h alpha 4 beta 2, h alpha 4 beta 4 and h alpha 7 expressed in *Xenopus* oocytes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **1997**, 280, (1), 346-356.
35. Fenster, C. P.; Rains, M. F.; Noerager, B.; Quick, M. W.; Lester, R. A. J., Influence of subunit composition on desensitization of neuronal acetylcholine receptors at low concentrations of nicotine. *Journal of Neuroscience* **1997**, 17, (15), 5747-5759.
36. Quick, M. W.; Lester, R. A. J., Desensitization of neuronal nicotinic receptors. *Journal of Neurobiology* **2002**, 53, (4), 457-478.
37. Giniatullin, R.; Nistri, A.; Yakel, J. L., Desensitization of nicotinic ACh receptors: shaping cholinergic signaling. *Trends in Neurosciences* **2005**, 28, (7), 371-378.
38. Nashmi, R.; Lester, H. A., CNS localization of neuronal nicotinic receptors. *Journal of Molecular Neuroscience* **2006**, 30, (1-2), 181-184.
39. Court, J. A.; Perry, E. K.; Spurden, D.; Griffiths, M.; Kerwin, J. M.; Morris, C. M.; Johnson, M.; Oakley, A. E.; Birdsall, N. J. M.; Clementi, F.; Perry, R. H., The role of the cholinergic system in the development of the human cerebellum. *Developmental Brain Research* **1995**, 90, (1-2), 159-167.
40. Court, J. A.; Lloyd, S.; Johnson, M.; Griffiths, M.; Birdsall, N. J. M.; Piggott, M. A.; Oakley, A. E.; Ince, P. G.; Perry, E. K.; Perry, R. H., Nicotinic and muscarinic cholinergic receptor binding in the human hippocampal formation during development and aging. *Developmental Brain Research* **1997**, 101, (1-2), 93-105.
41. Hellstrom-Lindahl, E.; Mousavi, M.; Zhang, X.; Ravid, R.; Nordberg, A., Regional distribution of nicotinic receptor subunit mRNAs in human brain: comparison between Alzheimer and normal brain. *Molecular Brain Research* **1999**, 66, (1-2), 94-103.
42. Dennis, M.; Giraudat, J.; Kotzybahibert, F.; Goeldner, M.; Hirth, C.; Chang, J. Y.; Lazure, C.; Chretien, M.; Changeux, J. P., Amino-acids of the *Torpedo-marmorata*

- acetylcholine-receptor alpha-subunit labeled by a photoaffinity ligand for the acetylcholine binding-site. *Biochemistry* **1988**, 27, (7), 2346-2357.
43. Galzi, J. L.; Revah, F.; Black, D.; Goeldner, M.; Hirth, C.; Changeux, J. P., Identification of a novel amino-acid alpha-tyrosine-93 within the cholinergic ligands-binding sites of the acetylcholine-receptor by photoaffinity-labeling - additional evidence for a 3-loop model of the cholinergic ligands-binding sites. *Journal of Biological Chemistry* **1990**, 265, (18), 10430-10437.
44. Middleton, R. E.; Cohen, J. B., Mapping of the acetylcholine binding-site of the nicotinic acetylcholine-receptor - [h-3] nicotine as an agonist photoaffinity label. *Biochemistry* **1991**, 30, (28), 6987-6997.
45. Celie, P. H. N.; van Rossum-Fikkert, S. E.; van Dijk, W. J.; Brejc, K.; Smit, A. B.; Sixma, T. K., Nicotine and carbamylcholine binding to nicotinic acetylcholine receptors as studied in AChBP crystal structures. *Neuron* **2004**, 41, (6), 907-914.
46. Giacobini, E., Cholinergic receptors in human brain - effects of aging and Alzheimer-disease. *Journal of Neuroscience Research* **1990**, 27, (4), 548-560.
47. Selkoe, D. J., Biochemistry of altered brain proteins in Alzheimers-disease. *Annual Review of Neuroscience* **1989**, 12, 463-490.
48. Gotti, C.; Fornasari, D.; Clementi, F., Human neuronal nicotinic receptors. *Progress in Neurobiology* **1997**, 53, (2), 199-237.
49. Wonnacott, S., Presynaptic nicotinic ACh receptors. *Trends in Neurosciences* **1997**, 20, (2), 92-98.
50. Jones, S.; Sudweeks, S.; Yakel, J. L., Nicotinic receptors in the brain: correlating physiology with function. *Trends in Neurosciences* **1999**, 22, (12), 555-561.
51. Shimohama, S.; Akaike, A.; Kimura, J., Nicotine-induced protection against glutamate cytotoxicity - Nicotinic cholinergic receptor-mediated inhibition of nitric oxide formation. *Neurobiology of Alzheimer's Disease* **1996**, 777, 356-361.
52. Kaneko, S.; Maeda, T.; Kume, T.; Kochiyama, H.; Akaike, A.; Shimohama, S.; Kimura, J., Nicotine protects cultured cortical neurons against glutamate-induced cytotoxicity via alpha(7)-neuronal receptors and neuronal CNS receptors. *Brain Research* **1997**, 765, (1), 135-140.
53. Flores, C. M.; Rogers, S. W.; Pabreza, L. A.; Wolfe, B. B.; Kellar, K. J., A subtype of nicotinic cholinergic receptor in rat-brain is composed of alpha-4-subunit and beta-2-subunit and is up-regulated by chronic nicotine treatment. *Molecular Pharmacology* **1992**, 41, (1), 31-37.

54. Court, J. A.; Martin-Ruiz, C.; Graham, A.; Perry, E., Nicotinic receptors in human brain: topography and pathology. *Journal of Chemical Neuroanatomy* **2000**, *20*, (3-4), 281-298.
55. Cassels, B. K.; Bermudez, I.; Dajas, F.; Abin-Carriquiry, J. A.; Wonnacott, S., From ligand design to therapeutic efficacy: the challenge for nicotinic receptor research. *Drug Discovery Today* **2005**, *10*, (23-24), 1657-1665.
56. Daly, J. W., Nicotinic agonists, antagonists, and modulators from natural sources. *Cellular and Molecular Neurobiology* **2005**, *25*, (3-4), 513-552.
57. Etter, J. F.; Lukas, R. J.; Benowitz, N. L.; West, R.; Dresler, C. M., Cytisine for smoking cessation: A research agenda. *Drug and Alcohol Dependence* **2008**, *92*, (1-3), 3-8.
58. Arneric, S. P.; Holladay, M.; Williams, M., Neuronal nicotinic receptors: A perspective on two decades of drug discovery research. *Biochemical Pharmacology* **2007**, *74*, (8), 1092-1101.
59. Mazurov, A.; Hauser, T.; Miller, C. H., Selective alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor ligands. *Current Medicinal Chemistry* **2006**, *13*, (13), 1567-1584.
60. Williams, M.; Robinson, J. L., Binding of the nicotinic cholinergic antagonist, dihydro-beta-erythroidine, to rat-brain tissue. *Journal of Neuroscience* **1984**, *4*, (12), 2906-2911.
61. Decker, M. W.; Anderson, D. J.; Brioni, J. D.; Donnellyroberts, D. L.; Kang, C. H.; O'Neill, A. B.; Piattonikaplan, M.; Swanson, S.; Sullivan, J. P., Erysodine, a competitive antagonist at neuronal nicotinic acetylcholine-receptors. *European Journal of Pharmacology* **1995**, *280*, (1), 79-89.
62. Dwoskin, L. P.; Crooks, P. A., Competitive neuronal nicotinic receptor antagonists: A new direction for drug discovery. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **2001**, *298*, (2), 395-402.
63. Malin, D. H.; Lake, J. R.; Upchurch, T. P.; Shenoi, M.; Rajan, N.; Schweinle, W. E., Nicotine abstinence syndrome precipitated by the competitive nicotinic antagonist dihydro-beta-erythroidine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **1998**, *60*, (3), 609-613.
64. Jennings, K. R.; Brown, D. G.; Wright, D. P., Methyllycaconitine, a naturally-occurring insecticide with a high-affinity for the insect cholinergic receptor. *Experientia* **1986**, *42*, (6), 611-613.

65. Macallan, D. R. E.; Lunt, G. G.; Wonnacott, S.; Swanson, K. L.; Rapoport, H.; Albuquerque, E. X., Methyllycaconitine and (+)-anatoxin-a differentiate between nicotinic receptors in vertebrate and invertebrate nervous systems. *FEBS Letters* **1988**, 226, (2), 357-363.
66. Bergmeier, S. C.; Lapinsky, D. J.; Free, R. B.; McKay, D. B., Ring E analogs of methyllycaconitine (MLA) as novel nicotinic antagonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **1999**, 9, (15), 2263-2266.
67. Drasdo, A.; Caulfield, M.; Bertrand, D.; Bertrand, S.; Wonnacott, S., Methyllycaconitine - a novel nicotinic antagonist. *Molecular and Cellular Neuroscience* **1992**, 3, (3), 237-243.
68. Dasgupta, P.; Rastogi, S.; Pillai, S.; Ordonez-Ercan, D.; Morris, M.; Haura, E.; Chellappan, S., Nicotine induces cell proliferation by beta-arrestin-mediated activation of Src and Rb-Raf-1 pathways. *Journal of Clinical Investigation* **2006**, 116, (8), 2208-2217.
69. Davies, A. R. L.; Hardick, D. J.; Blagbrough, I. S.; Potter, B. V. L.; Wolstenholme, A. J.; Wonnacott, S., Characterisation of the binding of [<sup>3</sup>H]methyllycaconitine: a new radioligand for labelling alpha 7-type neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Neuropharmacology* **1999**, 38, (5), 679-690.
70. Oleary, M. E.; Filatov, G. N.; White, M. M., Characterization of d-tubocurarine binding-site of torpedo acetylcholine-receptor. *American Journal of Physiology* **1994**, 266, (3), C648-C653.
71. Crooks, P. A.; Ravard, A.; Wilkins, L. H.; Teng, L. H.; Buxton, S. T.; Dwoskin, L. P., Inhibition of nicotine-evoked [h-3] dopamine release by pyridino n-substituted nicotine analogs - a new class of nicotinic antagonist. *Drug Development Research* **1995**, 36, (2), 91-102.
72. Dwoskin, L. P.; Xu, R.; Ayers, J. T.; Crooks, P. A., Recent developments in neuronal nicotinic acetylcholine receptor antagonists. *Expert Opinion on Therapeutic Patents* **2000**, 10, (10), 1561-1581.
73. Dwoskin, L. P.; Wilkins, L. H.; Pauly, J. R.; Crooks, P. A., Development of a novel class of subtype-selective nicotinic receptor antagonist: Pyridine-N-substituted nicotine analogs. *Molecular and Functional Diversity of Ion Channels and Receptors* **1999**, 868, 617-619.
74. Xu, R.; Dwoskin, L. P.; Grinevich, V.; Sumithran, S. P.; Crooks, P. A., Synthesis and evaluation of conformationally restricted pyridino N-alkylated nicotine

analogs as nicotinic acetylcholine receptor antagonists. *Drug Development Research* **2002**, 55, (3), 173-186.

75. Wilkins, L. H.; Haubner, A.; Ayers, J. T.; Crooks, P. A.; Dwoskin, L. P., N-n-alkylnicotinium analogs, a novel class of nicotinic receptor antagonist: Inhibition of S(-)-nicotine-evoked [H-3]dopamine overflow from superfused rat striatal slices. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **2002**, 301, (3), 1088-1096.

76. Ayers, J. T.; Dwoskin, L. P.; Deaciuc, A. G.; Grinevich, V. P.; Zhu, J.; Crooks, P. A., bis-azaaromatic quaternary ammonium analogues: Ligands for alpha 4 beta 2\* and alpha 7\* subtypes of neuronal nicotinic receptors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2002**, 12, (21), 3067-3071.

77. Wilkins, L. H.; Grinevich, V. P.; Ayers, J. T.; Crooks, P. A.; Dwoskin, L. P., N-n-alkylnicotinium analogs, a novel class of nicotinic receptor antagonists: Interaction with alpha 4 beta 2\* and alpha 7\* neuronal nicotinic receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **2003**, 304, (1), 400-410.

78. Sumithran, S. P.; Crooks, P. A.; Deaciuc, G. A.; Ayers, J. T.; Dwoskin, L. P., Development of a pharmacotherapy for tobacco use cessation: bPiDDB, a potent and selective alpha 3 alpha 6 beta 2\* nicotinic, receptor antagonist. *FASEB Journal* **2003**, 17, (4), A626-A626.

79. Grinevich, V. P.; Crooks, P. A.; Sumithran, S. P.; Haubner, A. J.; Ayers, J. T.; Dwoskin, L. P., N-n-alkylpyridinium analogs, a novel class of nicotinic receptor antagonists: Selective inhibition of nicotine-evoked [H-3]dopamine overflow from superfused rat striatal slices. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **2003**, 306, (3), 1011-1020.

80. Zhu, J.; Crooks, P. A.; Ayers, J. T.; Sumithran, S. P.; Dwoskin, L. P., N-n-alkylnicotinium and N-n-alkylpyridinium analogs inhibit the dopamine transporter: Selectivity as nicotinic receptor antagonists. *Drug Development Research* **2003**, 60, (4), 270-284.

81. Dwoskin, L. P.; Sumithran, S. P.; Zhu, J.; Deaciuc, A. G.; Ayers, J. T.; Crooks, P. A., Subtype-selective nicotinic receptor antagonists: potential as tobacco use cessation agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2004**, 14, (8), 1863-1867.

82. Wilkins, L. H.; Miller, D. K.; Ayers, J. T.; Crooks, P. A.; Dwoskin, L. P., N-n-alkylnicotinium analogs, a novel class of antagonists at alpha 4 beta 2\* nicotinic acetylcholine receptors: Inhibition of S(-)-nicotine-evoked <sup>86</sup>Rb<sup>+</sup> efflux from rat thalamic synaptosomes. *AAPS Journal* **2005**, 7, (4), E922-E930.

83. Sumithran, S. P.; Crooks, P. A.; Xu, R.; Zhu, J.; Deaciuc, A. G.; Wilkins, L. H.; Dwoskin, L. P., Introduction of unsaturation into the N-n-alkyl chain of the nicotinic receptor antagonists, NONI and NDNI: Effect on affinity and selectivity. *AAPS Journal* **2005**, *7*, (1), E201-E217.
84. Neugebauer, N. M.; Zhang, Z.; Crooks, P. A.; Dwoskin, L. P.; Bardo, M. T., Effect of a novel nicotinic receptor antagonist, N,N'-dodecane-1,12-diyl-bis-3-picolinium dibromide, on nicotine self-administration and hyperactivity in rats. *Psychopharmacology* **2006**, *184*, (3-4), 426-434.
85. Rahman, S.; Neugebauer, N. M.; Zhang, Z.; Crooks, P. A.; Dwoskin, L. P.; Bardo, M. T., The effects of a novel nicotinic receptor antagonist N,N-dodecane-1, 12-diyl-bis-3-picolinium dibromide (bPiDDB) on acute and repeated nicotine-induced increases in extracellular dopamine in rat nucleus accumbens. *Neuropharmacology* **2007**, *52*, (3), 755-763.
86. Dwoskin, L. P.; Joyce, B. M.; Zheng, G.; Neugebauer, N. M.; Manda, V. K.; Lockman, P.; Papke, R. L.; Bardo, M. T.; Crooks, P. A., Discovery of a novel nicotinic receptor antagonist for the treatment of nicotine addiction: 1-(3-Picolinium)-12-triethylammonium-dodecane dibromide (TMPD). *Biochemical Pharmacology* **2007**, *74*, 1271-1282.
87. Zheng, G. R.; Zhang, Z. F.; Pivavarchyk, M.; Deaciuc, A. G.; Dwoskin, L. P.; Crooks, P. A., Bis-azaaromatic quaternary ammonium salts as antagonists at nicotinic receptors mediating nicotine-evoked dopamine release: An investigation of binding conformation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2007**, *17*, (24), 6734-6738.
88. Zheng, G. R.; Sumithran, S. P.; Deaciuc, A. G.; Dwoskin, L. P.; Crooks, P. A., tris-Azaaromatic quaternary ammonium salts: Novel templates as antagonists at nicotinic receptors mediating nicotine-evoked dopamine release. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2007**, *17*, (24), 6701-6706.
89. McGehee, D. S.; Role, L. W., Physiological diversity of nicotinic acetylcholine-receptors expressed by vertebrate neurons. *Annual Review of Physiology* **1995**, *57*, 521-546.
90. Trombino, S.; Cesario, A.; Margaritora, S.; Granone, P.; Motta, G.; Falugi, C.; Russo, P., alpha 7-nicotinic acetylcholine receptors affect growth regulation of human mesothelioma cells: Role of mitogen-activated protein kinase pathway. *Cancer Research* **2004**, *64*, (1), 135-145.

91. Dasgupta, P.; Chellappan, S. P., Nicotine-mediated cell proliferation and angiogenesis - New twists to an old story. *Cell Cycle* **2006**, 5, (20), 2324-2328.
92. Heeschen, C.; Weis, M.; Aicher, A.; Dimmeler, S.; Cooke, J. P., A novel angiogenic pathway mediated by non-neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Journal of Clinical Investigation* **2002**, 110, (4), 527-536.
93. Olivera, B. M., Conus peptides: Biodiversity-based discovery and exogenomics. *Journal of Biological Chemistry* **2006**, 281, (42), 31173-31177.
94. Ellison, M.; Olivera, B. M., alpha 4/3 conotoxins: Phylogenetic distribution, functional properties, and structure-function insights. *Chemical Record* **2007**, 7, 341-353.
95. Olivera, B. M.; Teichert, R. W., Diversity of the neurotoxic Conus peptides: A model for concerted pharmacological discovery. *Molecular Interventions* **2007**, 7, (5), 251-260.
96. Ellison, M.; Haberlandt, C.; Gomez-Casati, M. E.; Watkins, M.; Elgoyhen, A. B.; McIntosh, J. M.; Olivera, B. M., alpha-RgIA: A novel conotoxin that specifically and potently blocks the alpha 9 alpha 10 nAChR. *Biochemistry* **2006**, 45, (5), 1511-1517.
97. Sandall, D. W.; Satkunanathan, N.; Keays, D. A.; Polidano, M. A.; Liping, X.; Pham, V.; Down, J. G.; Khalil, Z.; Livett, B. G.; Gayler, K. R., A novel alpha-conotoxin identified by gene sequencing is active in suppressing the vascular response to selective stimulation of sensory nerves in vivo. *Biochemistry* **2003**, 42, (22), 6904-6911.
98. Livett, B. G.; Sandall, D. W.; Keays, D.; Down, J.; Gayler, K. R.; Satkunanathan, N.; Khalil, Z., Therapeutic applications of conotoxins that target the neuronal nicotinic acetylcholine receptor. *Toxicon* **2006**, 48, (7), 810-829.
99. Benowitz, N. L.; Peng, M. W., Non-nicotine pharmacotherapy for smoking cessation - Mechanisms and prospects. *CNS Drugs* **2000**, 13, (4), 265-285.
100. Heeschen, C.; Jang, J. J.; Weis, M.; Pathak, A.; Kaji, S.; Hu, R. S.; Tsao, P. S.; Johnson, F. L.; Cooke, J. P., Nicotine stimulates angiogenesis and promotes tumor growth and atherosclerosis. *Nature Medicine* **2001**, 7, (7), 833-839.
101. Song, P. F.; Sekhon, H. S.; Jia, Y. B.; Keller, J. A.; Blusztajn, J. K.; Mark, G. P.; Spindel, E. R., Acetylcholine is synthesized by and acts as an autocrine growth factor for small cell lung carcinoma. *Cancer Research* **2003**, 63, (1), 214-221.



102. Arias, H. R., Binding sites for exogenous and endogenous non-competitive inhibitors of the nicotinic acetylcholine receptor. *Biochimica Et Biophysica Acta-Reviews on Biomembranes* **1998**, 1376, (2), 173-220.
103. Sharp, J. H.; Winson, M. K.; Porter, J. S., Bryozoan metabolites: an ecological perspective. *Natural Product Reports* **2007**, 24, (4), 659-673.
104. Lebar, M. D.; Heimbegner, J. L.; Baker, B. J., Cold-water marine natural products. *Natural Product Reports* **2007**, 24, (4), 774-797.
105. Gul, W.; Hamann, M. T., Indole alkaloid marine natural products: An established source of cancer drug leads with considerable promise for the control of parasitic, neurological and other diseases. *Life Sciences* **2005**, 78, (5), 442-453.
106. Alogily, S. M.; Knightjones, E. W., Anti-fouling role of antibiotics produced by marine-algae and bryozoans. *Nature* **1977**, 265, (5596), 728-729.
107. Holst, P. B.; Anthoni, U.; Christophersen, C.; Nielsen, P. H., Marine alkaloids .15. 2 alkaloids, flustramine-e and debromoflustramine-b, from the marine bryozoan *Flustra-foliacea*. *Journal of Natural Products* **1994**, 57, (7), 997-1000.
108. Sjoblom, T.; Bohlin, L.; Christophersen, C., Marine alkaloids .8. studies of swedish marine organisms .2. muscle-relaxant alkaloids from the marine bryozoan *Flustra-foliacea*. *Acta Pharmaceutica Suecica* **1983**, 20, (6), 415-419.
109. Peters, L.; Wright, A. D.; Kehraus, S.; Gundisch, D.; Tilotta, M. C.; Konig, G. M., Prenylated indole alkaloids from *Flustra foliacea* with subtype specific binding on NAChRs. *Planta Medica* **2004**, 70, (10), 883-886.
110. Sala, F.; Mulet, J.; Reddy, K. P.; Bernal, J. A.; Wikman, P.; Valor, L. M.; Peters, L.; Konig, G. M.; Criado, M.; Sala, S., Potentiation of human alpha 4 beta 2 neuronal nicotinic receptors by a *Flustra foliacea* metabolite. *Neuroscience Letters* **2005**, 373, (2), 144-149.
111. Kim, J. S.; Padnya, A.; Weltzin, M.; Edmonds, B. W.; Schulte, M. K.; Glennon, R. A., Synthesis of desformylflustrabromine and its evaluation as an alpha 4 beta 2 and alpha 7 nACh receptor modulator. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2007**, 17, (17), 4855-4860.
112. Bylund, D. B., Graphic presentation and analysis of inhibition data from ligand-binding experiments. *Analytical Biochemistry* **1986**, 159, (1), 50-57.
113. Bylund, D. B.; Murrin, L. C., Radioligand saturation binding experiments over large concentration ranges. *Life Sciences* **2000**, 67, (24), 2897-2911.

114. Chen, Q. H.; Bylund, D. B., Mathematical theory of competitive binding assays - An exact and practical model. *Receptors & Signal Transduction* **1997**, 7, (2), 73-84.
115. Bylund, D. B.; Toews, M. L., Radioligand binding methods - practical guide and tips. *American Journal of Physiology* **1993**, 265, (5), L421-L429.
116. Borea, P. A.; Dalpiaz, A.; Varani, K.; Gilli, P.; Gilli, G., Can thermodynamic measurements of receptor binding yield information on drug affinity and efficacy? *Biochemical Pharmacology* **2000**, 60, (11), 1549-1556.
117. Rosenthal, H., A graphic method for determination and presentation of binding parameters in a complex system. *Analytical Biochemistry* **1967**, 20, (3), 525-&.
118. Cheng, Y.; Prusoff, W. H., Relationship between inhibition constant ( $K_i$ ) and concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition ( $I_{50}$ ) of an enzymatic-reaction. *Biochemical Pharmacology* **1973**, 22, (23), 3099-3108.
119. Gurdon, J. B.; Lane, C. D.; Woodland, H. R.; Marbaix, G., Use of frog eggs and oocytes for study of messenger rna and its translation in living cells. *Nature* **1971**, 233, (5316), 177-&.
120. Gundersen, C. B.; Miledi, R.; Parker, I., Serotonin receptors induced by exogenous messenger-rna in *Xenopus* oocytes. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* **1983**, 219, (1214), 103-109.
121. Gundersen, C. B.; Miledi, R.; Parker, I., Voltage-operated channels induced by foreign messenger-rna in *Xenopus* oocytes. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* **1983**, 220, (1218), 131-140.
122. Miledi, R.; Parker, I.; Sumikawa, J., Recording of single gamma amino butyrate activated acetyl choline activated receptor channels translated by exogenous messenger rna in *Xenopus* oocytes. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* **1983**, 218, (1213), 479-480.
123. Miledi, R.; Parker, I.; Sumikawa, K., Recording of single gamma amino butyrate and acetyl choline activated receptor channels translated by exogenous messenger rna in *Xenopus* oocytes. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* **1983**, 218, (1211), 259-262.
124. Marmont, G., Studies on the axon membrane .1. a new method. *Journal of Cellular and Comparative Physiology* **1949**, 34, (3), 351-382.
125. Cole, K. S., Dynamic electrical characteristics of the squid axon membrane. *Archives Des Sciences Physiologiques* **1949**, 3, (2), 253-258.

126. Hodgkin, A. L.; Huxley, A. F.; Katz, B., Ionic currents underlying activity in the giant axon of the squid. *Archives Des Sciences Physiologiques* **1949**, 3, (2), 129-150.
127. Baumgartner, W.; Islas, L.; Sigworth, F. J., Two-microelectrode voltage clamp of *Xenopus* oocytes: Voltage errors and compensation for local current flow. *Biophysical Journal* **1999**, 77, (4), 1980-1991.
128. Baumgartner, W.; Islas, L.; Sigworth, F. J., Improved two-electrode voltage clamp for *Xenopus* Oocytes. *Biophysical Journal* **1999**, 76, (1), A205-A205.
129. Wagner, C. A.; Friedrich, B.; Setiawan, I.; Lang, F.; Broer, S., The use of *Xenopus laevis* oocytes for the functional characterization of heterologously expressed membrane proteins. *Cellular Physiology and Biochemistry* **2000**, 10, (1-2), 1-12.
130. Methfessel, C.; Witzemann, V.; Takahashi, T.; Mishina, M.; Numa, S.; Sakmann, B., Patch clamp measurements on *Xenopus-laevis* oocytes - currents through endogenous channels and implanted acetylcholine-receptor and sodium-channels. *Pflugers Archiv-European Journal of Physiology* **1986**, 407, (6), 577-588.
131. Brejc, K.; van Dijk, W. J.; Klaassen, R. V.; Schuurmans, M.; van der Oost, J.; Smit, A. B.; Sixma, T. K., Crystal structure of an ACh-binding protein reveals the ligand-binding domain of nicotinic receptors. *Nature* **2001**, 411, (6835), 269-276.
132. Le Novere, N.; Grutter, T.; Changeux, J. P., Models of the extracellular domain of the nicotinic receptors and of agonist- and Ca<sup>2+</sup>-binding sites. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2002**, 99, (5), 3210-3215.
133. Hansen, S. B.; Sulzenbacher, G.; Huxford, T.; Marchot, P.; Taylor, P.; Bourne, Y., Structures of *Aplysia* AChBP complexes with nicotinic agonists and antagonists reveal distinctive binding interfaces and conformations. *EMBO Journal* **2005**, 24, (20), 3635-3646.
134. Hansen, S. B.; Taylor, P., Structure and function of the acetylcholine binding protein from *Aplysia californica*. *FASEB Journal* **2005**, 19, (4), A518-A518.
135. Celie, P. H. N.; Klaassen, R. V.; van Rossum-Fikkert, S. E.; van Elk, R.; van Nierop, P.; Smit, A. B.; Sixma, T. K., Crystal structure of acetylcholine-binding protein from *Bulinus truncatus* reveals the conserved structural scaffold and sites of variation in nicotinic acetylcholine receptors. *Journal of Biological Chemistry* **2005**, 280, (28), 26457-26466.
136. Bourne, Y.; Talley, T. T.; Hansen, S. B.; Taylor, P.; Marchot, P., Crystal structure of a Cbtx-AChBP complex reveals essential interactions between snake alpha-neurotoxins and nicotinic receptors. *EMBO Journal* **2005**, 24, (8), 1512-1522.

137. Dutertre, S.; Ulens, C.; Buttner, R.; Fish, A.; van Elk, R.; Kendel, Y.; Hopping, G.; Alewood, P. F.; Schroeder, C.; Nicke, A.; Smit, A. B.; Sixma, T. K.; Lewis, R. J., AChBP-targeted alpha-conotoxin correlates distinct binding orientations with nAChR subtype selectivity. *EMBO Journal* **2007**, 26, (16), 3858-3867.
138. Ihara, M.; Okajima, T.; Yamashita, A.; Oda, T.; Hirata, K.; Nishiwaki, H.; Morimoto, T.; Akamatsu, M.; Ashikawa, Y.; Kuroda, S. i.; Mega, R.; Kuramitsu, S.; Sattelle, D. B.; Matsuda, K., Crystal structures of *Lymnaea stagnalis* AChBP in complex with neonicotinoid insecticides imidacloprid and clothianidin. *Invertebrate Neuroscience* **2008**, 8, (2), 71-81.
139. Hansen, S. B.; Taylor, P., Galanthamine and non-competitive inhibitor binding to ACh-binding protein: Evidence for a binding site on non-alpha-subunit interfaces of heteromeric neuronal nicotinic receptors. *Journal of Molecular Biology* **2007**, 369, (4), 895-901.
140. Artali, R.; Bombieri, G.; Meneghetti, F., Docking of 6-chloropyridazin-3-yl derivatives active on nicotinic acetylcholine receptors into molluscan Acetylcholine Binding Protein (AChBP). *Farmaco (Lausanne)* **2005**, 60, (4), 313-320.
141. Dutertre, S.; Lewis, R. J., Toxin insights into nicotinic acetylcholine receptors. *Biochemical Pharmacology* **2006**, 72, (6), 661-670.
142. Dutertre, S.; Nicke, A.; Tyndall, J. D. A.; Lewis, R. J., Determination of alpha-conotoxin binding modes on neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Journal of Molecular Recognition* **2004**, 17, (4), 339-347.
143. Grutter, T.; Le Novere, N.; Changeux, J. P., Rational understanding of nicotinic receptors drug binding. *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2004**, 4, (6), 645-650.
144. Mordvintsev, D. Y.; Polyak, Y. L.; Levtsova, O. V.; Tourleigh, Y. V.; Kasheverov, I. E.; Shaitan, K. V.; Utkin, Y. N.; Tsetlin, V. I., A model for short alpha-neurotoxin bound to nicotinic acetylcholine receptor from *Torpedo californica*: Comparison with long-chain alpha-neurotoxins and alpha-conotoxins. *Computational Biology and Chemistry* **2005**, 29, (6), 398-411.
145. Costa, V.; Nistri, A.; Cavalli, A.; Carloni, P., A structural model of agonist binding to the alpha 3 beta 4 neuronal nicotinic receptor. *British Journal of Pharmacology* **2003**, 140, (5), 921-931.
146. Konstantakaki, M.; Changeux, J. P.; Taly, A., Docking of alpha-cobratoxin suggests a basal conformation of the nicotinic receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2007**, 359, 413-418.

147. Rothlin, C. V.; Lioudyno, M. I.; Silbering, A. F.; Plazas, P. V.; Casati, M.; Katz, E.; Guth, P. S.; Elgoyhen, A. B., Direct interaction of serotonin type 3 receptor ligands with recombinant and native alpha 9 alpha 10-containing nicotinic cholinergic receptors. *Molecular Pharmacology* **2003**, 63, (5), 1067-1074.
148. Baker, E. R.; Zwart, R.; Sher, E.; Millar, N. S., Pharmacological properties of alpha 9 alpha 10 nicotinic acetylcholine receptors revealed by heterologous expression of subunit chimeras. *Molecular Pharmacology* **2004**, 65, (2), 453-460.
149. Gomez-Casati, M. E.; Fuchs, P. A.; Elgoyhen, A. B.; Katz, E., Biophysical and pharmacological characterization of nicotinic cholinergic receptors in rat cochlear inner hair cells. *Journal of Physiology-London* **2005**, 566, (1), 103-118.
150. Vetter, D. E.; Katz, E.; Maison, S. F.; Taranda, J.; Turcan, S.; Ballesterro, J.; Liberman, M. C.; Elgoyhen, B.; Boulter, J., The alpha 10 nicotinic acetylcholine receptor subunit is required for normal synaptic function and integrity of the olivocochlear system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2007**, 104, 20594-20599.
151. Lustig, L. R., Nicotinic acetylcholine receptor structure and function in the efferent auditory system. *Anatomical Record Part a-Discoveries in Molecular Cellular and Evolutionary Biology* **2006**, 288A, (4), 424-434.
152. Morris, G. M.; Goodsell, D. S.; Halliday, R. S.; Huey, R.; Hart, W. E.; Belew, R. K.; Olson, A. J., Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *Journal of Computational Chemistry* **1998**, 19, (14), 1639-1662.
153. Larkin, M. A.; Blackshields, G.; Brown, N. P.; Chenna, R.; McGettigan, P. A.; McWilliam, H.; Valentin, F.; Wallace, I. M.; Wilm, A.; Lopez, R.; Thompson, J. D.; Gibson, T. J.; Higgins, D. G., Clustal W and clustal X version 2.0. *Bioinformatics* **2007**, 23, 2947-2948.
154. Sali, A.; Blundell, T. L., Comparative protein modeling by satisfaction of spatial restraints. *Journal of Molecular Biology* **1993**, 234, (3), 779-815.
155. Case, D. A.; Cheatham, T. E.; Darden, T.; Gohlke, H.; Luo, R.; Merz, K. M.; Onufriev, A.; Simmerling, C.; Wang, B.; Woods, R. J., The Amber biomolecular simulation programs. *Journal of Computational Chemistry* **2005**, 26, (16), 1668-1688.
156. Plazas, P. V.; Katz, E.; Gomez-Casati, M. E.; Bouzat, C.; Elgoyhen, A. B., Stoichiometry of the alpha 9 alpha 10 nicotinic cholinergic receptor. *Journal of Neuroscience* **2005**, 25, (47), 10905-10912.

157. Huang, X. Q.; Zheng, F.; Chen, X.; Crooks, P. A.; Dwoskin, L. P.; Zhan, C. G., Modeling subtype-selective agonists binding with alpha 4 beta 2 and alpha 7 nicotinic acetylcholine receptors: Effects of local binding and long-range electrostatic interactions. *Journal of Medicinal Chemistry* **2006**, 49, (26), 7661-7674.
158. Tarbell, D. S.; Yamamoto, Y.; Pope, B. M., New method to prepare n tert butoxycarbonyl derivatives and corresponding sulfur analogs from di tert butyl dicarbonate or di tert butyl dithiol dicarbonates and amino-acids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1972**, 69, (3), 730-&.
159. Fuchs, J. R.; Funk, R. L., Indol-2-one intermediates: Mechanistic evidence and synthetic utility. Total syntheses of (+/-)-flustramines A and C. *Organic Letters* **2005**, 7, (4), 677-680.
160. Benson, S. C.; Lee, L.; Yang, L.; Snyder, J. K., Intramolecular inverse electron demand Diels-Alder reactions of tryptamine with tethered heteroaromatic azadienes. *Tetrahedron* **2000**, 56, (9), 1165-1180.
161. Austin, J. F.; Kim, S. G.; Sinz, C. J.; Xiao, W. J.; MacMillan, D. W. C., Enantioselective organocatalytic construction of pyrroloindolines by a cascade addition-cyclization strategy: Synthesis of (-)-flustramine B. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2004**, 101, (15), 5482-5487.
162. Schkeryantz, J. M.; Woo, J. C. G.; Siliphaivanh, P.; Depew, K. M.; Danishefsky, S. J., Total synthesis of gypsetin, deoxybrevianamide E, brevianamide E, and tryprostatin B: Novel constructions of 2,3-disubstituted indoles. *Journal of the American Chemical Society* **1999**, 121, (51), 11964-11975.
163. Zhun, I. V.; Ignatenko, A. V., Use of allylic boranes in organic syntheses. Synthesis of an analog of the alkaloid flustrabromine. *Russian Chemical Bulletin* **2004**, 53, (10), 2221-2223.
164. Brown, H. C.; Racherla, U. S., Organoboranes .43. a convenient, highly efficient synthesis of triorganylboranes via a modified organometallic route. *Journal of Organic Chemistry* **1986**, 51, (4), 427-432.
165. Humphrey, G. R.; Kuethe, J. T., Practical methodologies for the synthesis of indoles. *Chemical Reviews* **2006**, 106, (7), 2875-2911.
166. Buchi, G.; Mak, C. P., Nitro olefination of indoles and some substituted benzenes with 1-dimethylamino-2-nitroethylene. *Journal of Organic Chemistry* **1977**, 42, (10), 1784-1786.

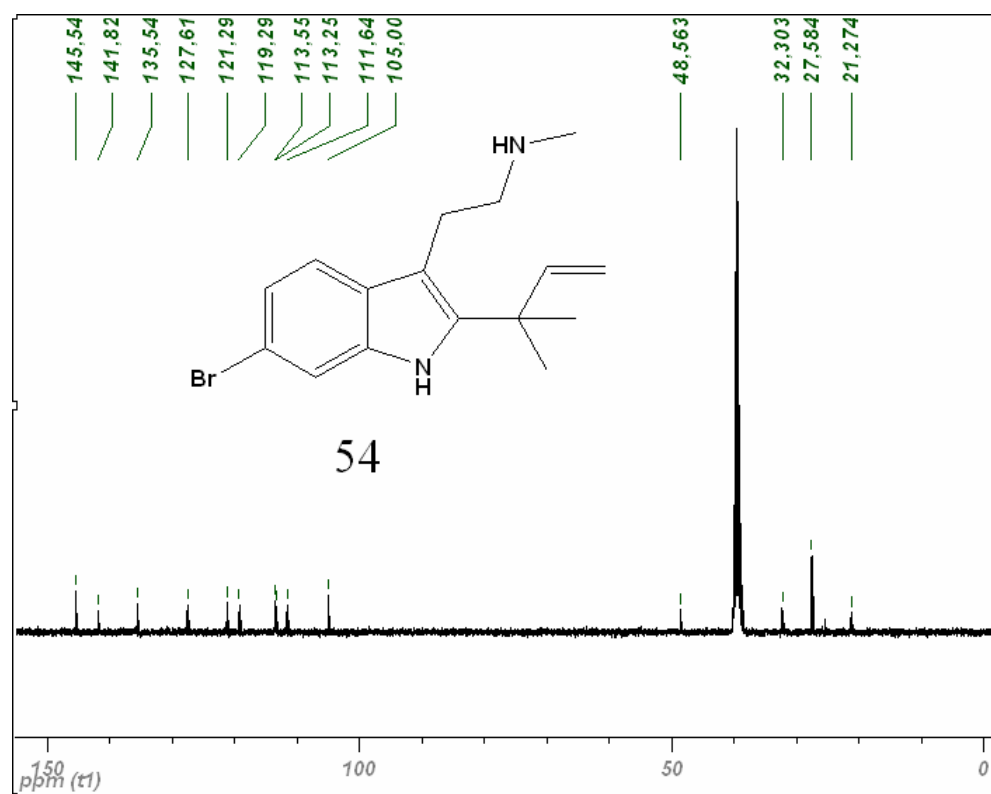
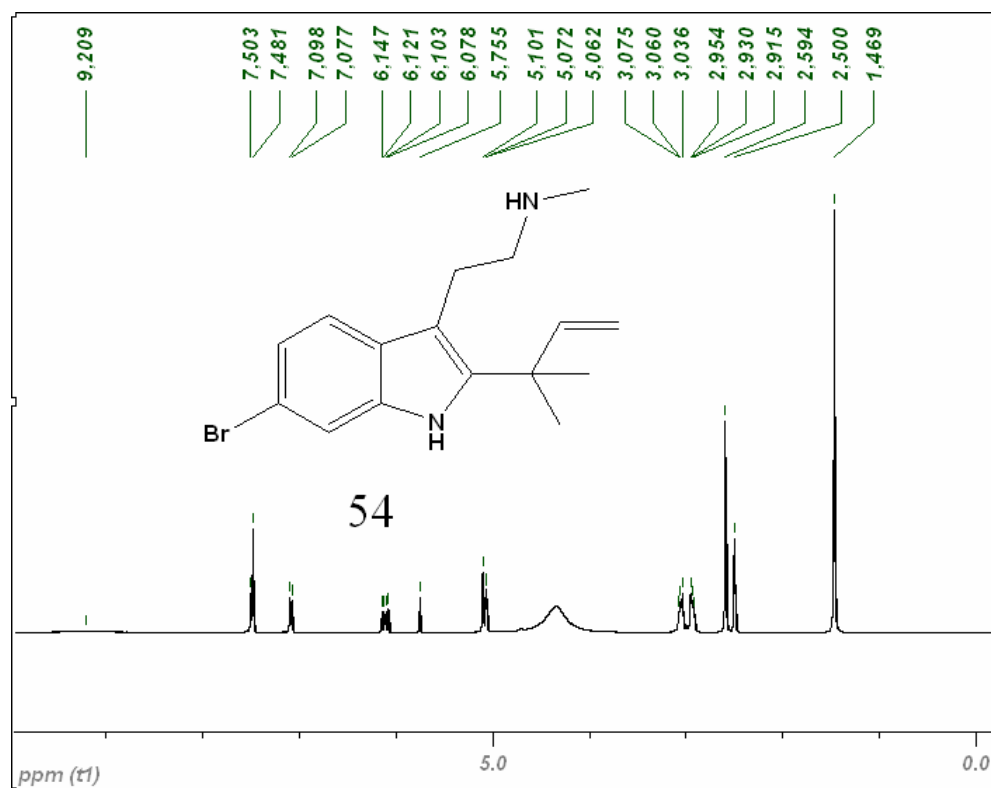
167. Santos, L. S.; Pilli, R. A.; Rawal, V. H., Enantioselective total syntheses of (+)-arborescidine A, (-)-arborescidine B, and (-)-arborescidine C. *Journal of Organic Chemistry* **2004**, 69, (4), 1283-1289.
168. Schumacher, R. W.; Davidson, B. S., Synthesis of didemnolines A-D, N9-substituted beta-carboline alkaloids from the marine ascidian *Didemnum sp.* *Tetrahedron* **1999**, 55, (4), 935-942.
169. Krishnamurthy, S., A Highly efficient and general n-monomethylation of functionalized primary amines via formylation borane methyl sulfide reduction. *Tetrahedron Letters* **1982**, 23, (33), 3315-3318.
170. Speeter, M. E.; Anthony, W. C., The action of oxalyl chloride on indoles - a new approach to tryptamines. *Journal of the American Chemical Society* **1954**, 76, (23), 6208-6210.
171. AbdelMagid, A. F.; Carson, K. G.; Harris, B. D.; Maryanoff, C. A.; Shah, R. D., Reductive amination of aldehydes and ketones with sodium triacetoxyborohydride. Studies on direct and indirect reductive amination procedures. *Journal of Organic Chemistry* **1996**, 61, (11), 3849-3862.
172. Semenov, B. B.; Granik, V. G., Chemistry of N-(1H-indol-3-ylmethyl)-N,N-dimethylamine (gramine): A review. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal* **2004**, 38, (6), 3-26,CP1.
173. Wenkert, E.; Angell, E. C.; Ferreira, V. F.; Michelotti, E. L.; Piettre, S. R.; Sheu, J. H.; Swindell, C. S., Synthesis of prenylated indoles. *Journal of Organic Chemistry* **1986**, 51, (12), 2343-2351.
174. Jiang, B.; Smallheer, J. M.; Amarally, C.; Wuonola, M. A., Total synthesis of (+/-)-dragmacidin - a cytotoxic bis(indole)alkaloid of marine origin. *Journal of Organic Chemistry* **1994**, 59, (22), 6823-6827.
175. Johnson, H. E.; Crosby, D. G., 3-Indolepropionic acid. *Journal of Organic Chemistry* **1960**, 25, (4), 569-570.
176. Sharma, R. K., 1,1'-carbonyldiimidazole (CDI). *Synlett* **2007**, 3073-3074.
177. Sippl, M. J., Recognition of errors in 3-dimensional structures of proteins. *Proteins-Structure Function and Genetics* **1993**, 17, (4), 355-362.
178. Eisenberg, D.; Luthy, R.; Bowie, J. U., VERIFY3D: Assessment of protein models with three-dimensional profiles. *Macromolecular Crystallography, Pt B* **1997**, 277, 396-404.

179. Auffinger, P.; Hays, F. A.; Westhof, E.; Ho, P. S., Halogen bonds in biological molecules. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2004**, 101, (48), 16789-16794.
180. Metrangolo, P.; Meyer, F.; Pilati, T.; Resnati, G.; Terraneo, G., Halogen bonding in supramolecular chemistry. *Angewandte Chemie-International Edition* **2008**, 47, (33), 6114-6127.
181. Metrangolo, P.; Resnati, G., Chemistry - Halogen versus hydrogen. *Science* **2008**, 321, (5891), 918-919.
182. Jorgensen, W. L.; Chandrasekhar, J.; Madura, J. D.; Impey, R. W.; Klein, M. L., Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *Journal of Chemical Physics* **1983**, 79, (2), 926-935.
183. Ponder, J. W.; Case, D. A., Force fields for protein simulations. *Protein Simulations* **2003**, 66, 27-+.
184. Cashin, A. L.; Petersson, E. J.; Lester, H. A.; Dougherty, D. A., Using physical chemistry to differentiate nicotinic from cholinergic agonists at the nicotinic acetylcholine receptor. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, 127, (1), 350-356.
185. Ulens, C.; Hogg, R. C.; Celie, P. H.; Bertrand, D.; Tsetlin, V.; Smit, A. B.; Sixma, T. K., Structural determinants of selective alpha-conotoxin binding to a nicotinic acetylcholine receptor homolog AChBP. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2006**, 103, (10), 3615-3620.
186. Ellison, M.; Feng, Z. P.; Park, A. J.; Zhang, X.; Olivera, B. M.; McIntosh, J. M.; Norton, R. S., alpha-RgIA, a novel conotoxin that blocks the alpha 9 alpha 10 nAChR: Structure and identification of key receptor-binding residues. *Journal of Molecular Biology* **2008**, 377, (4), 1216-1227.

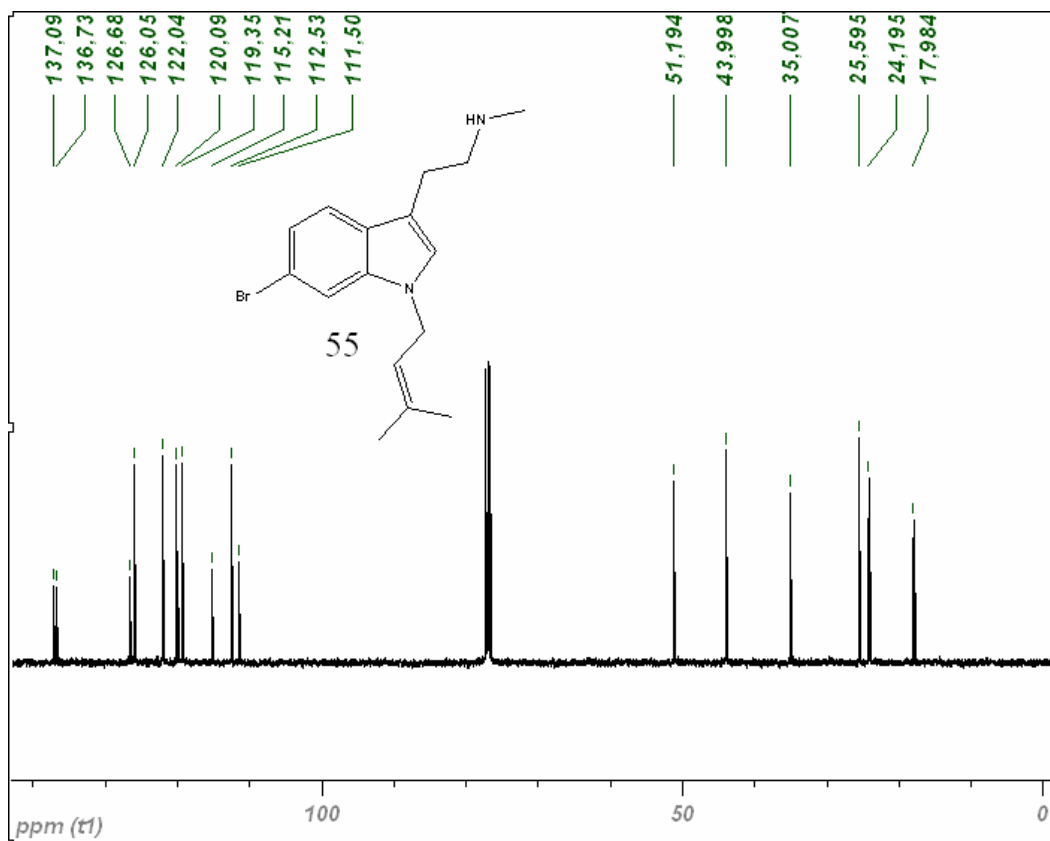
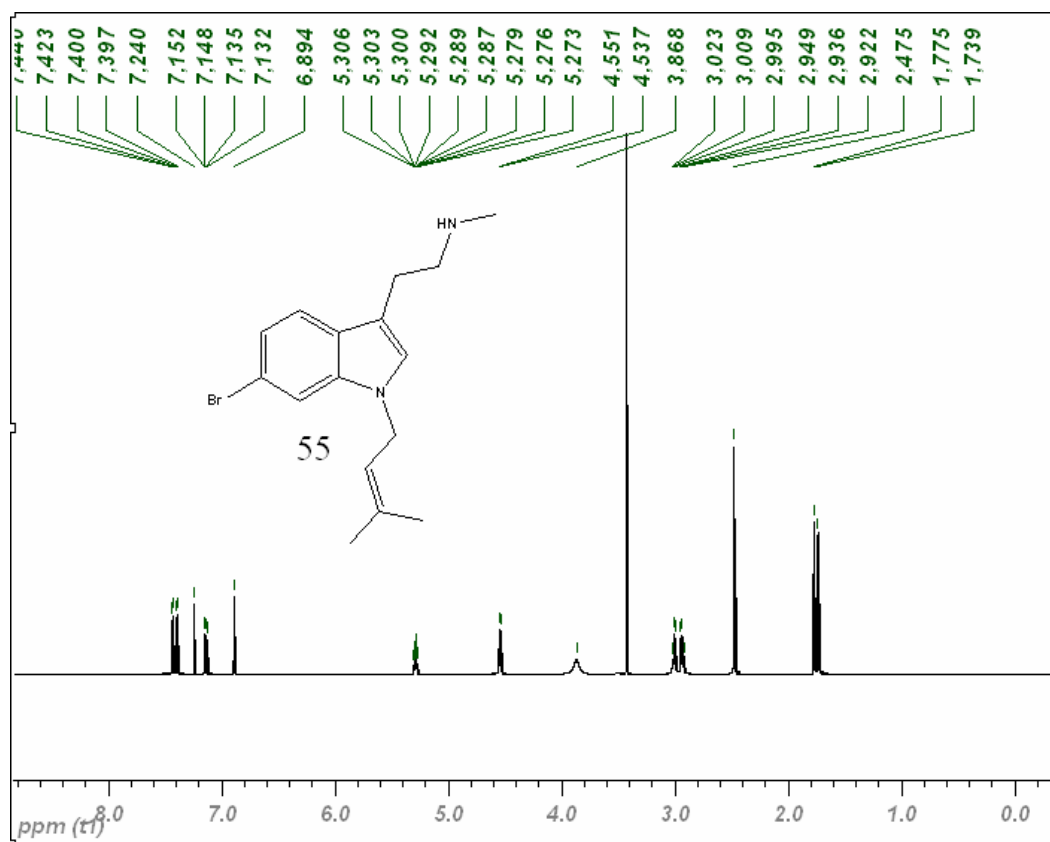


## **6. Anexos.**

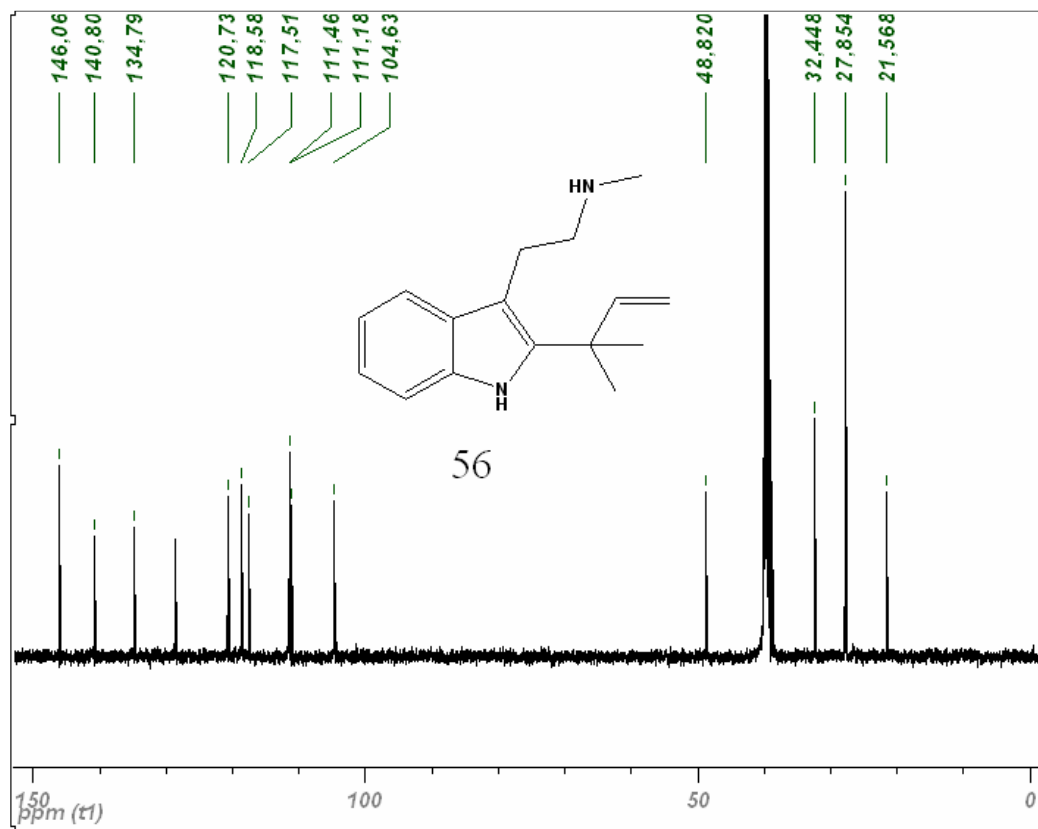
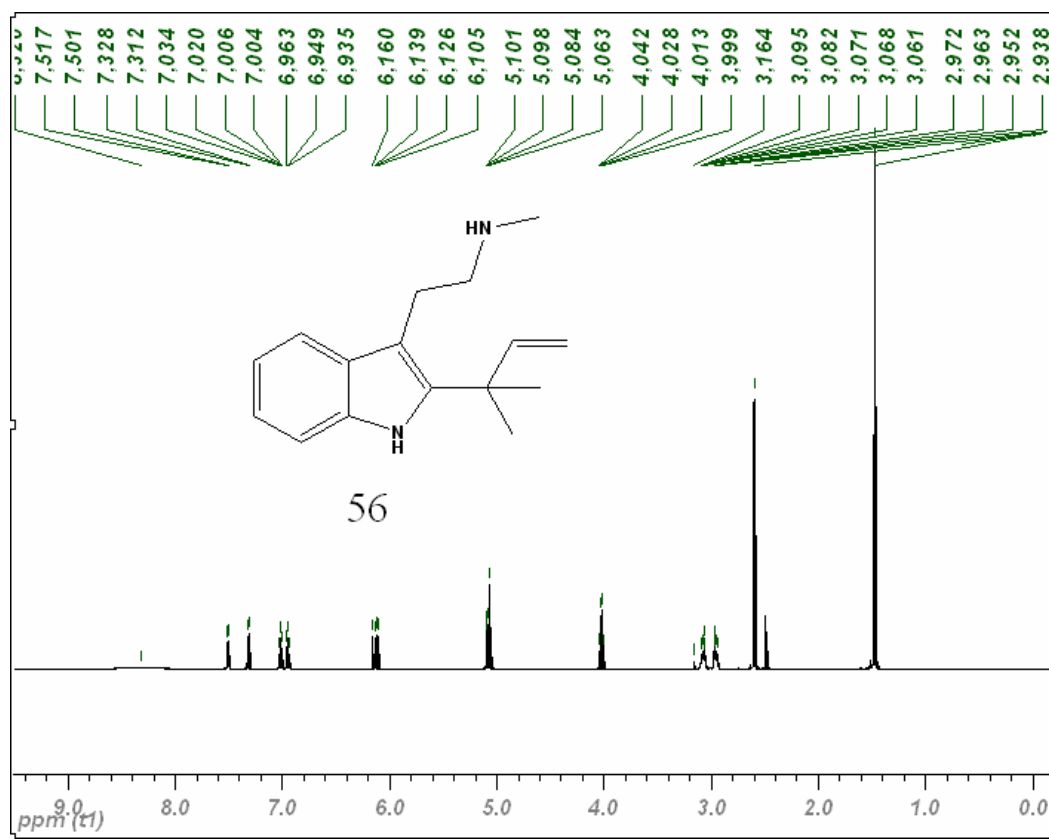
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 54



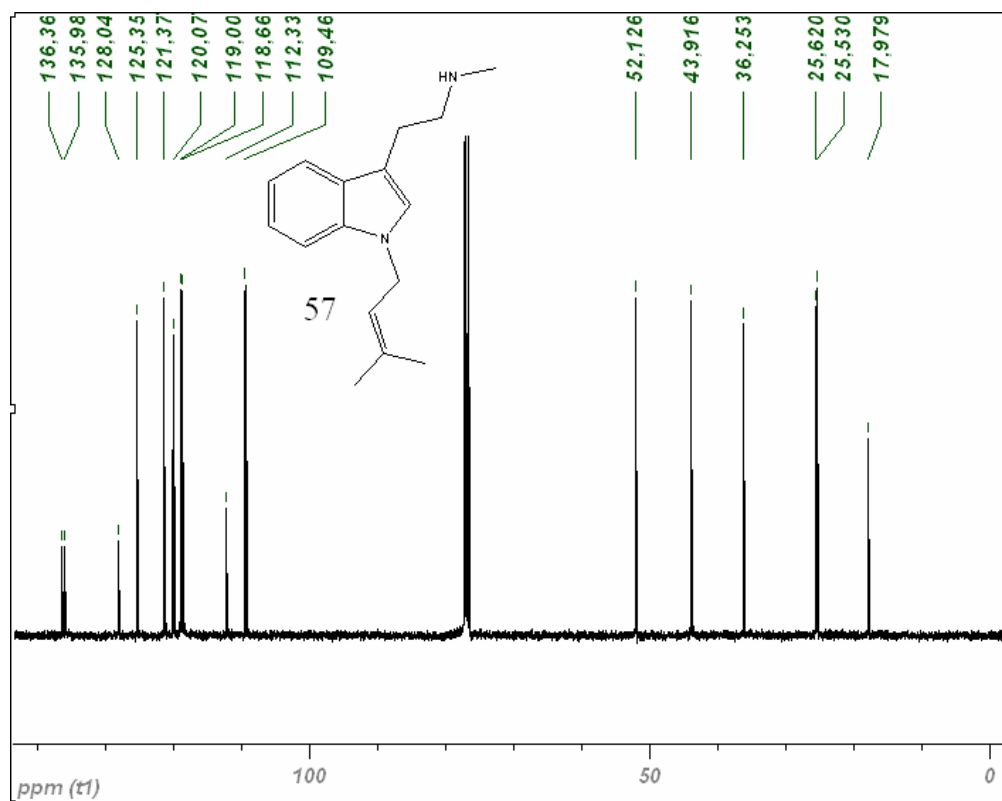
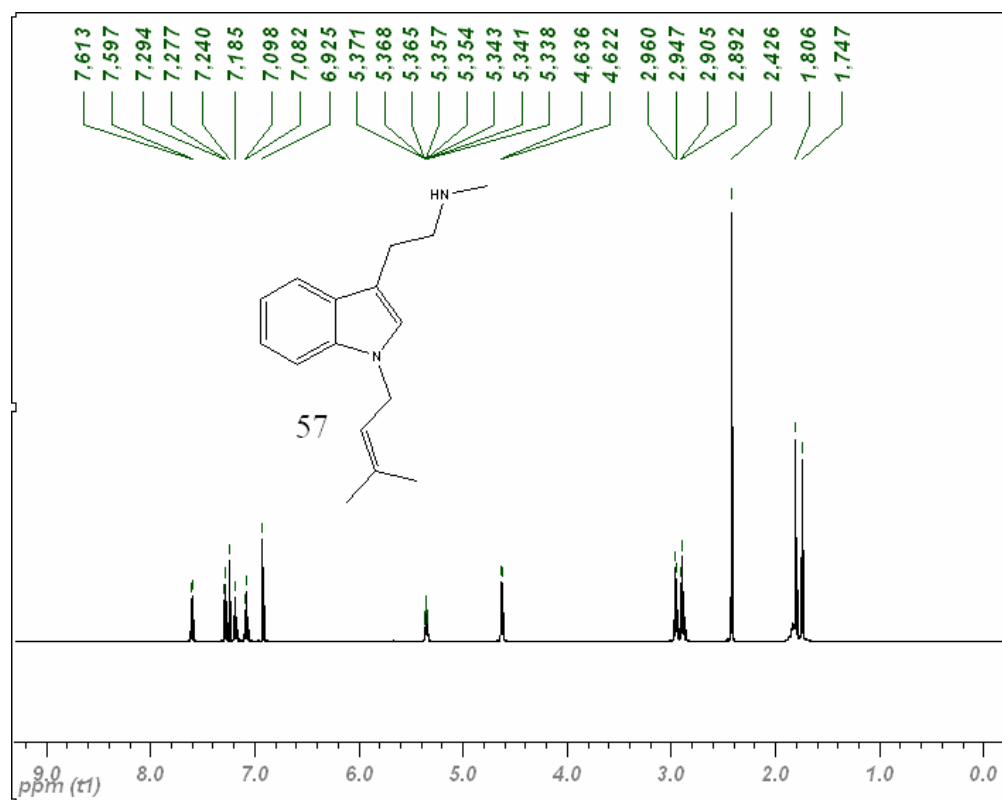
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en CDCl<sub>3</sub> del compuesto 55



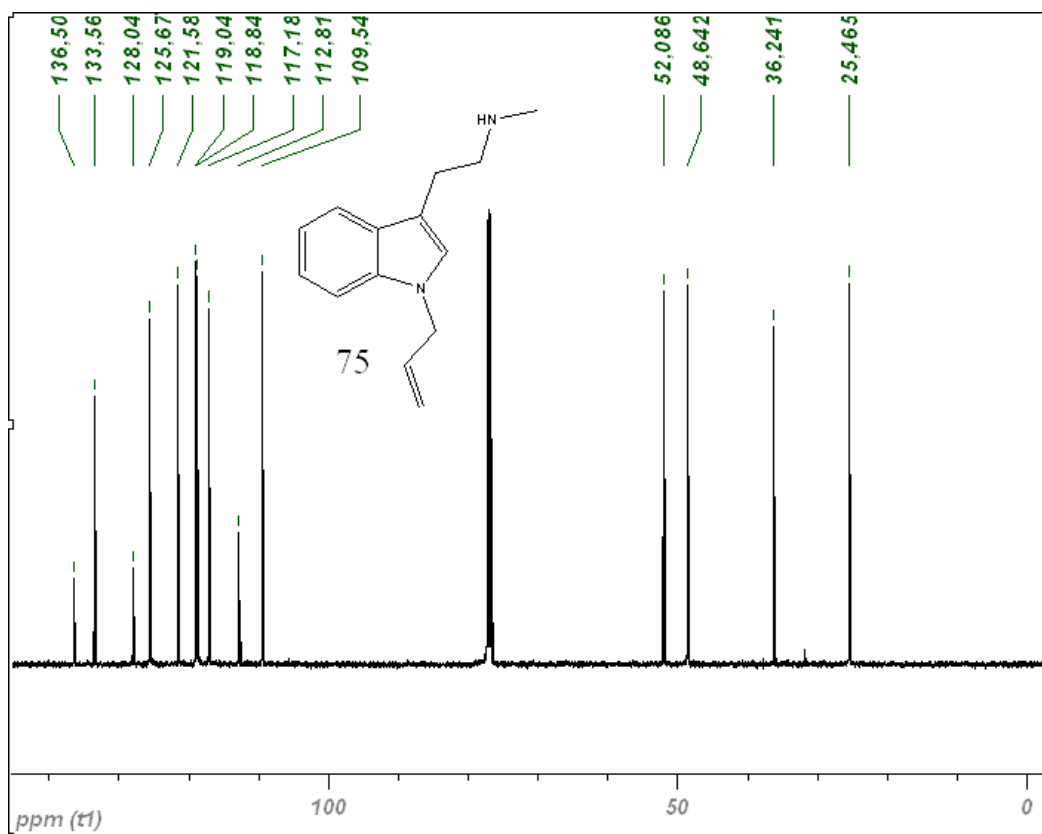
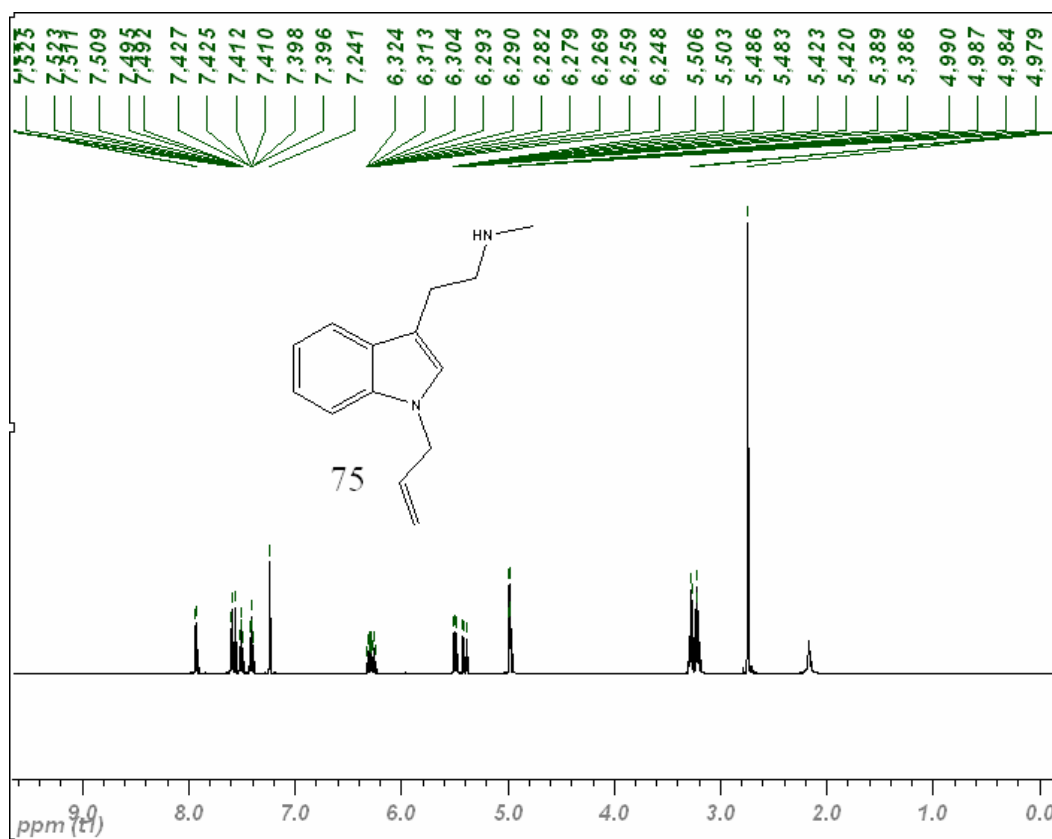
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 56



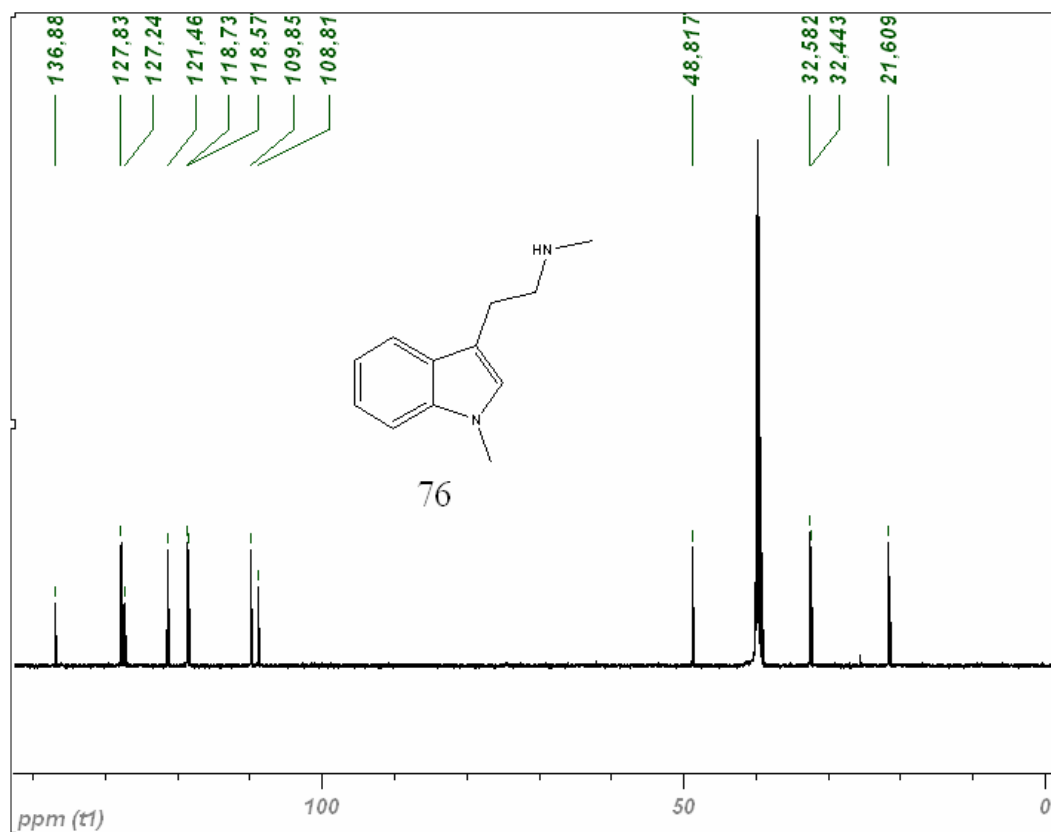
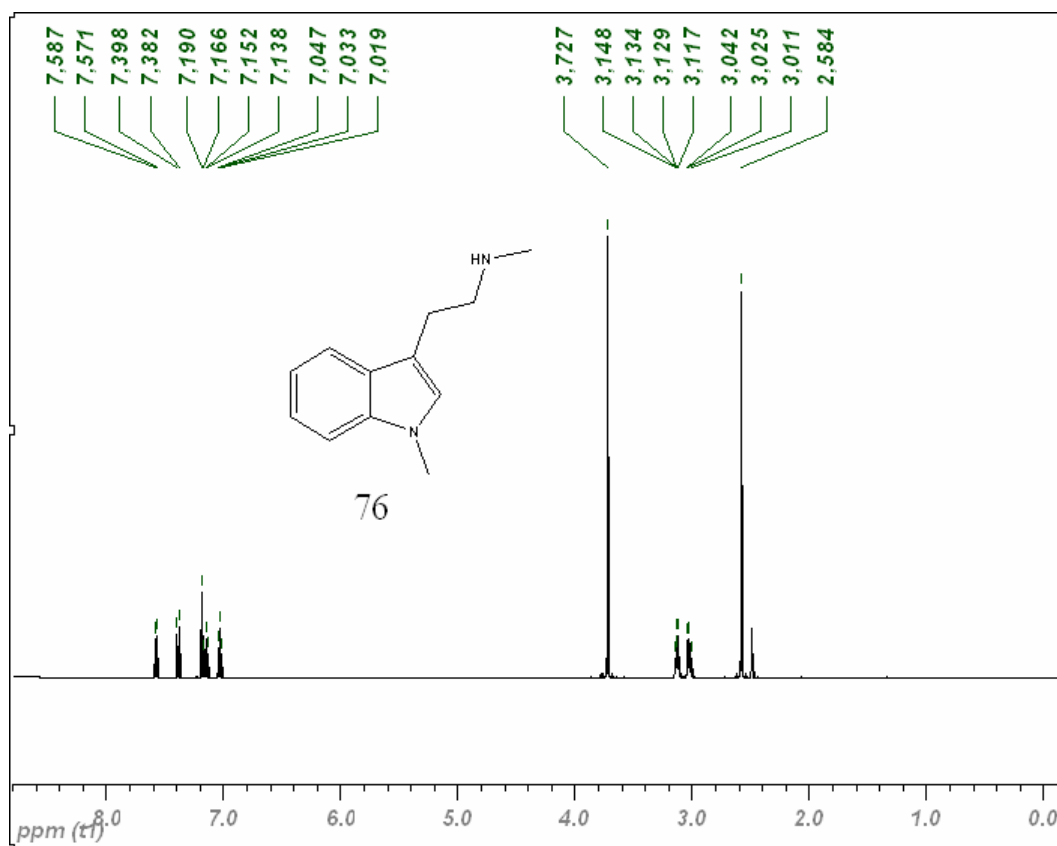
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en CDCl<sub>3</sub> del compuesto 57



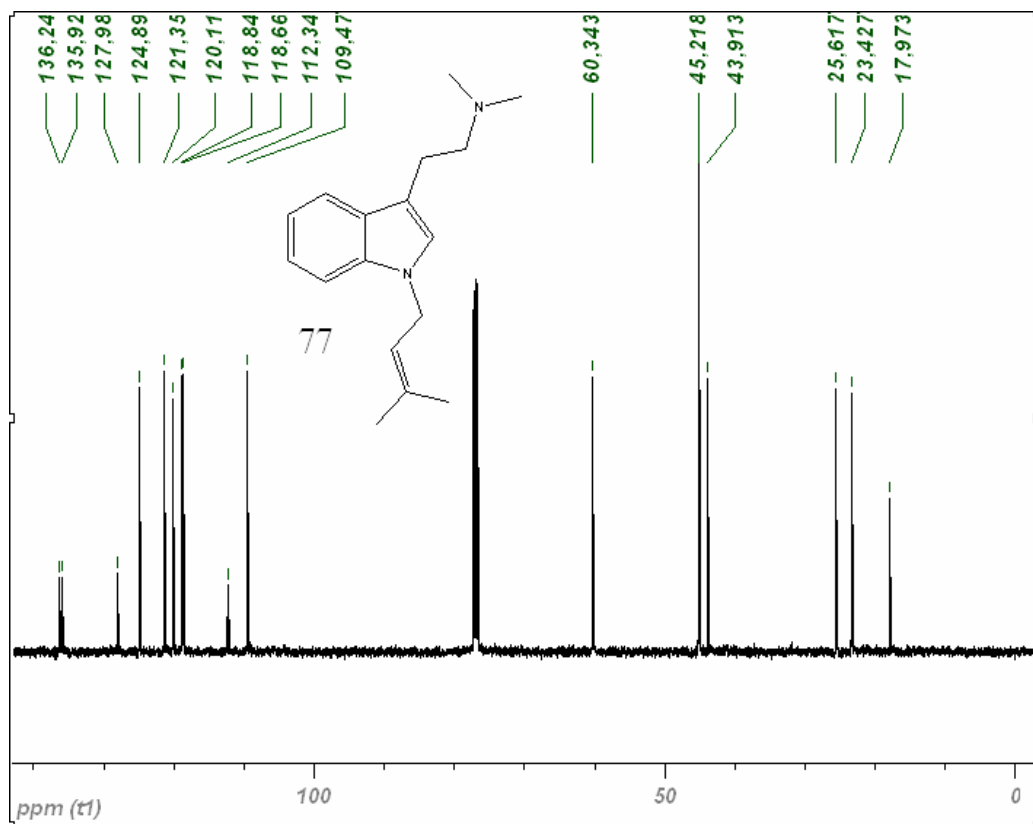
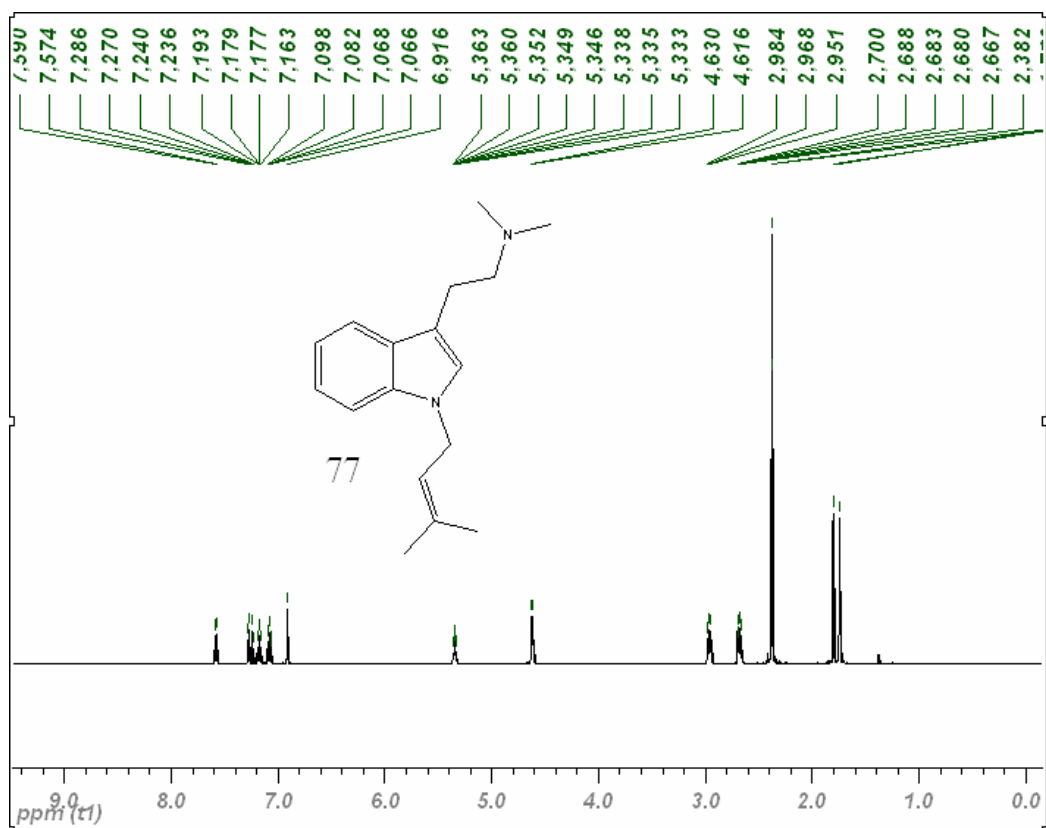
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en CDCl<sub>3</sub> del compuesto 75



Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 76

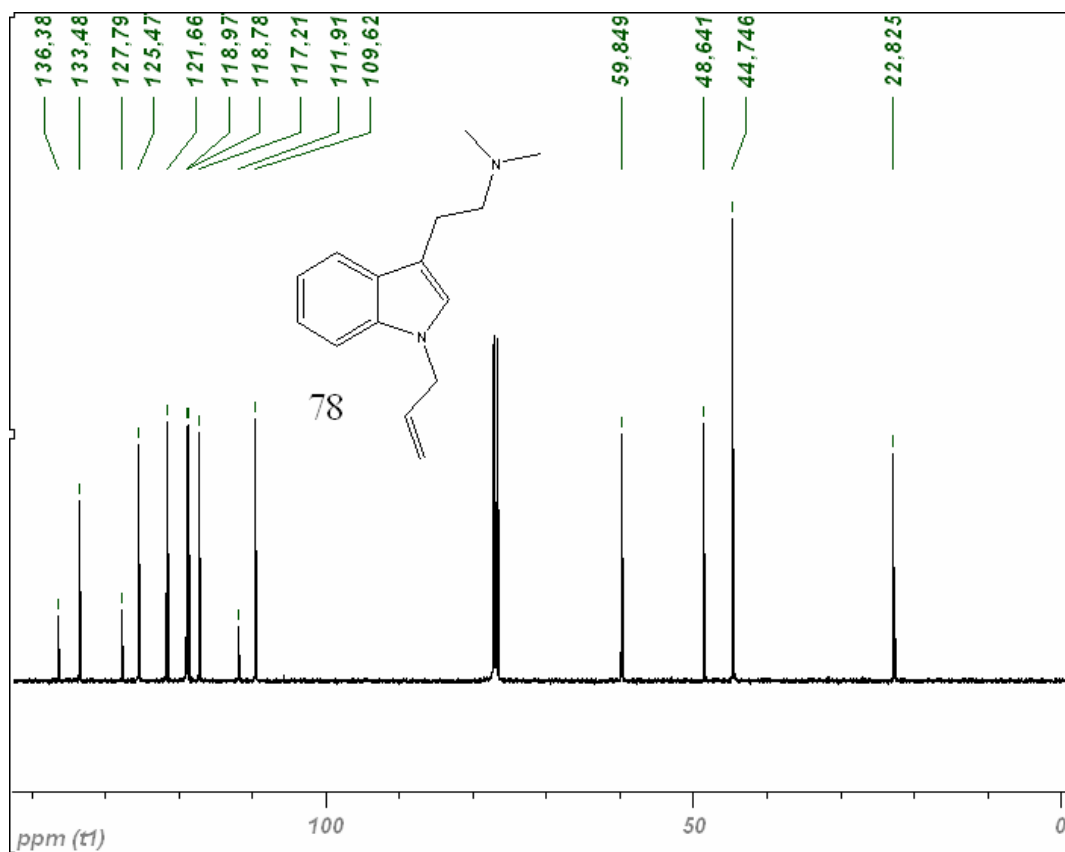
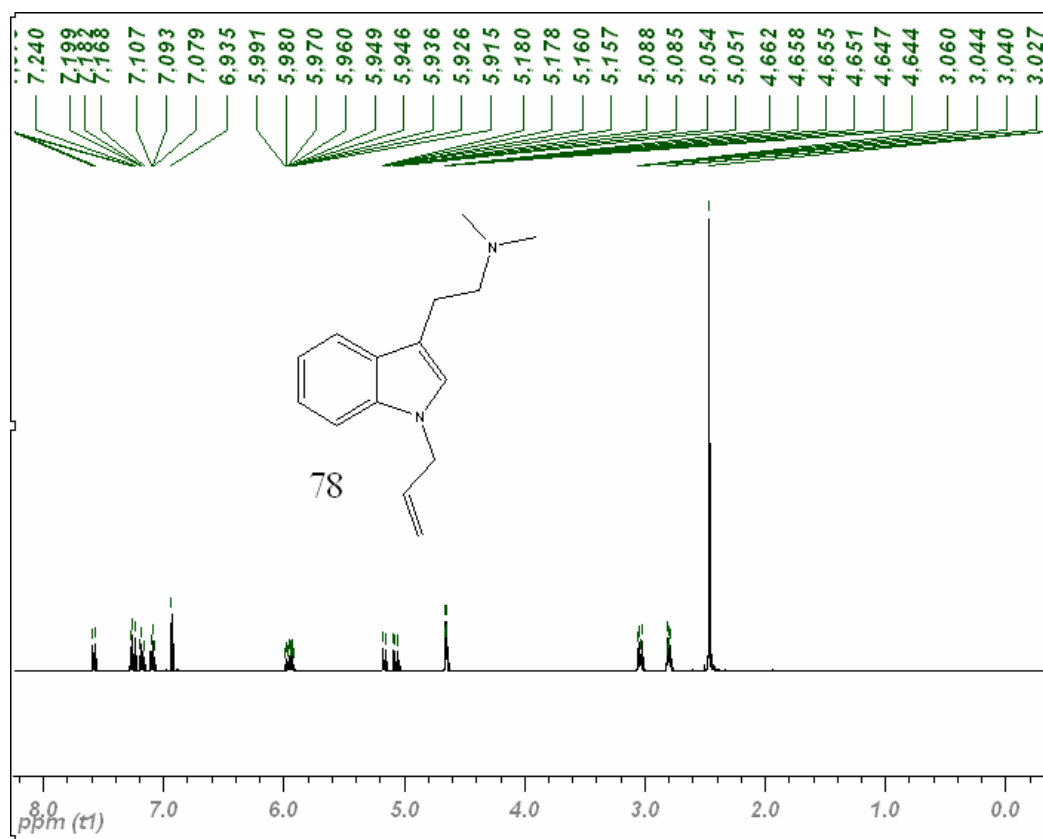


Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en CDCl<sub>3</sub> del compuesto 77

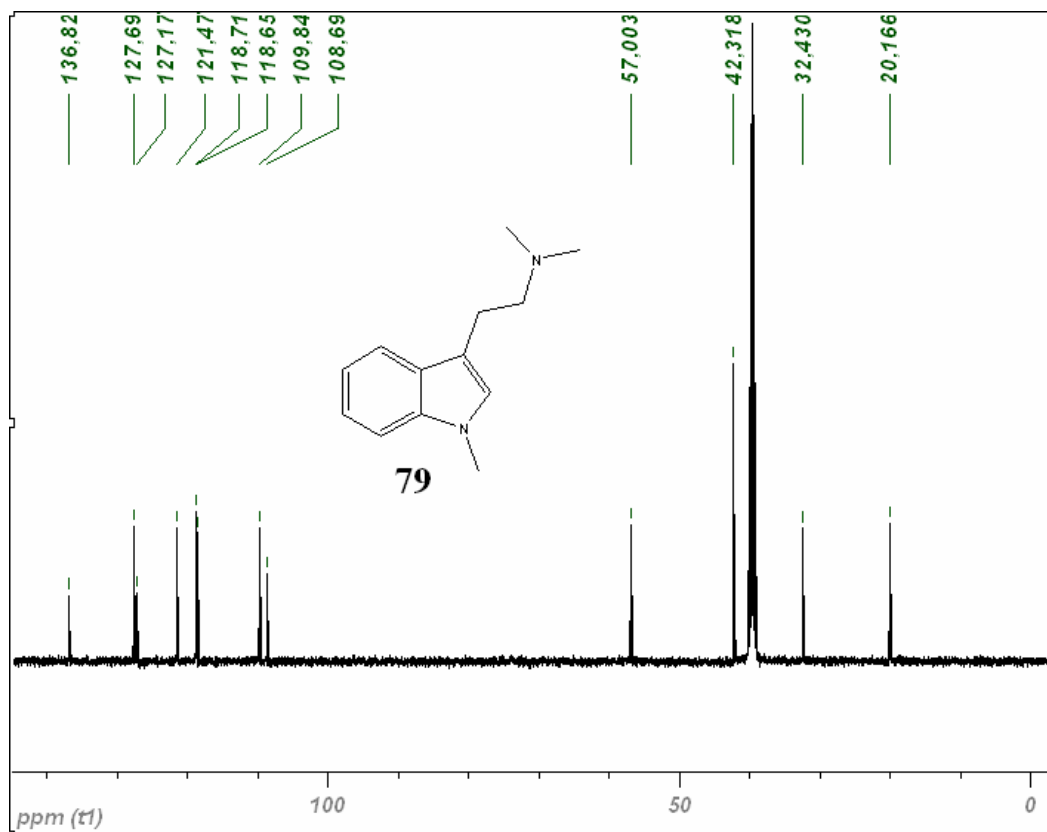
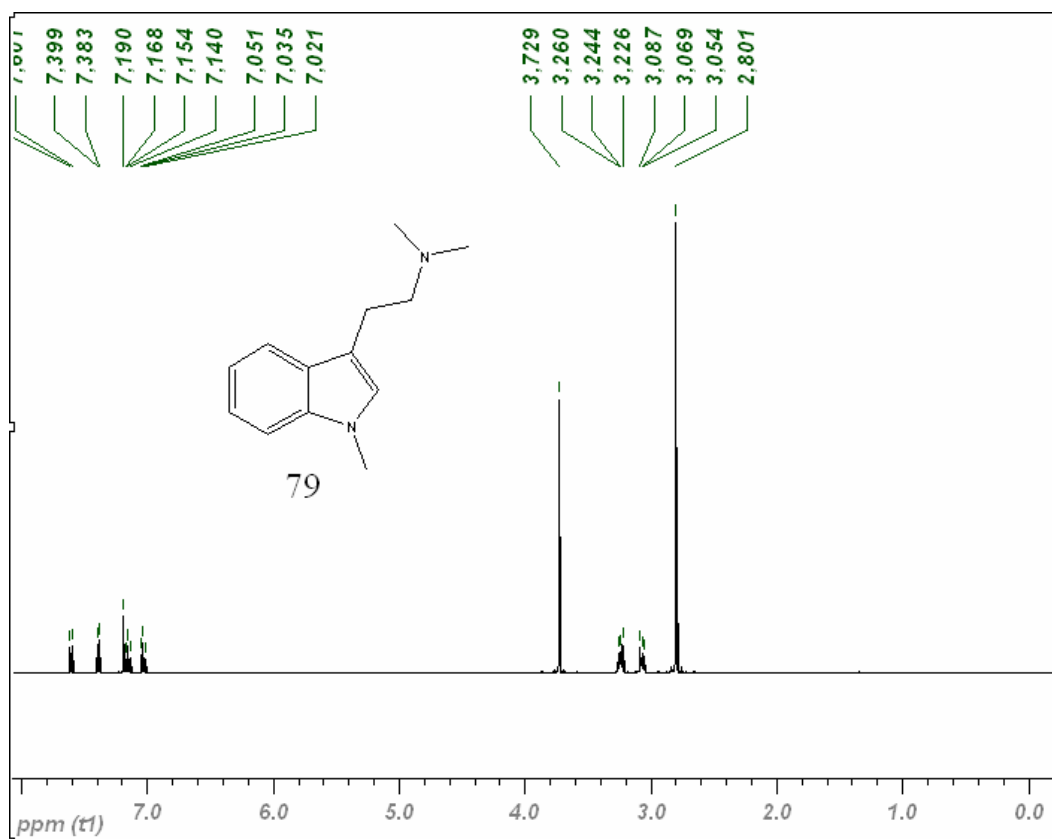




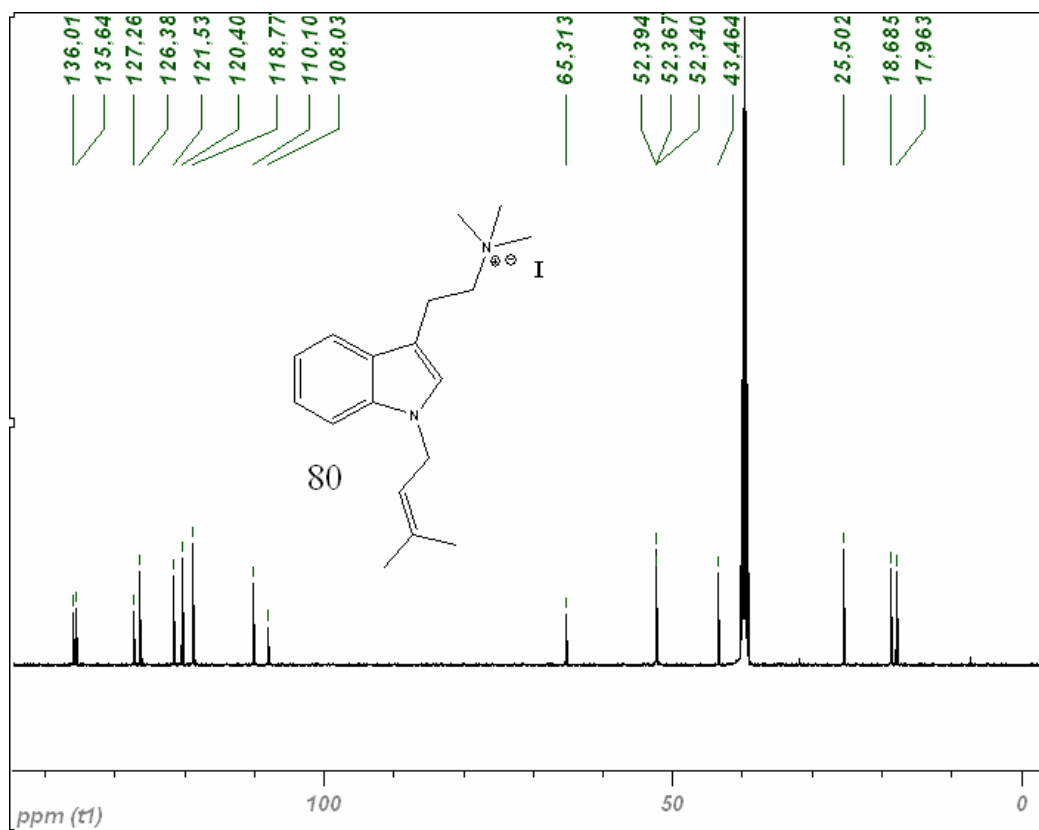
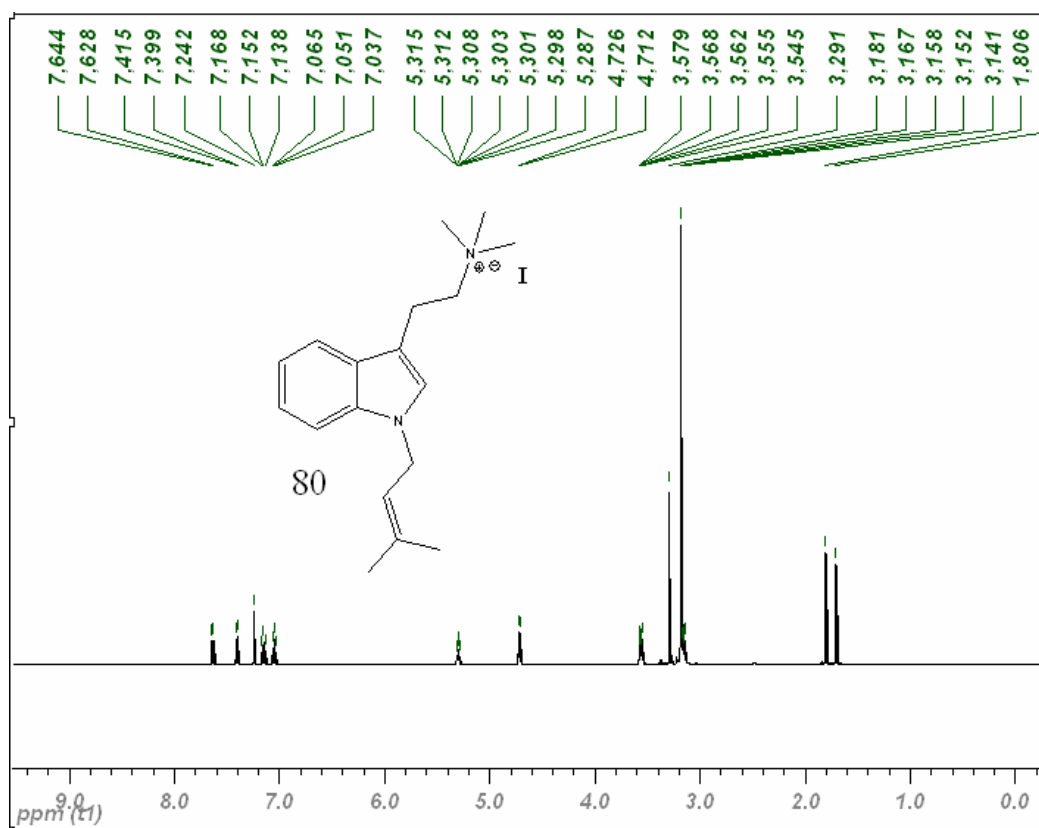
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en CDCl<sub>3</sub> del compuesto 78



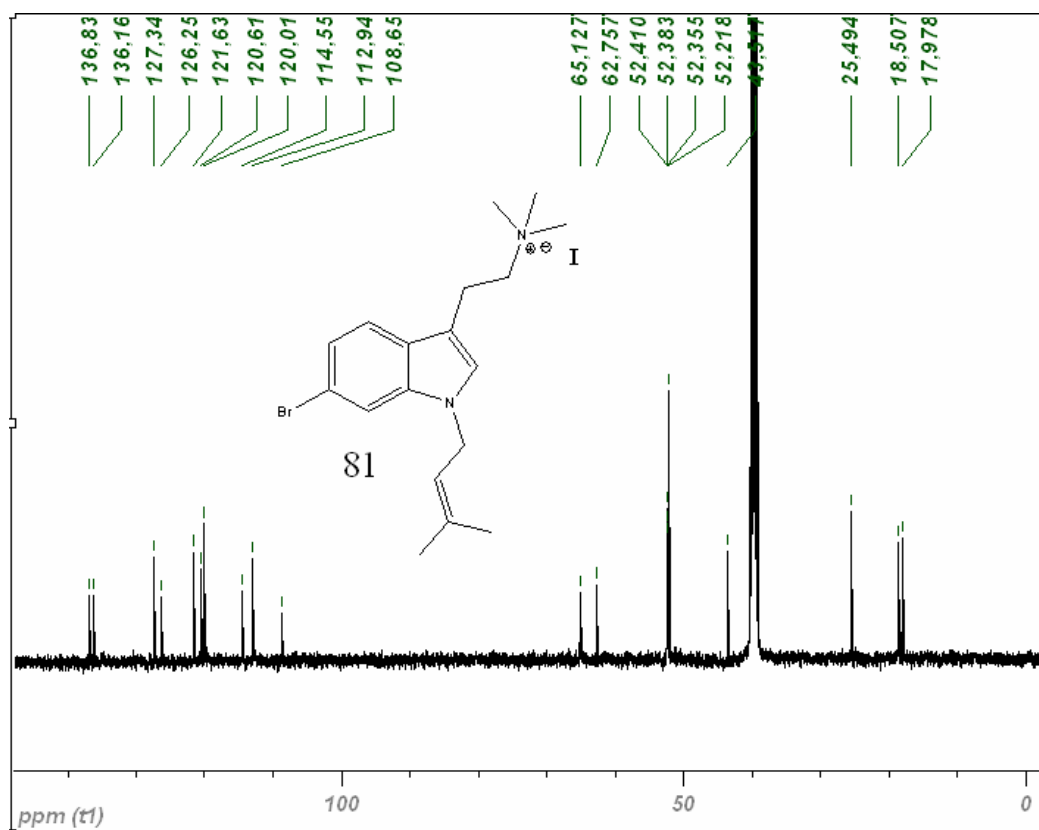
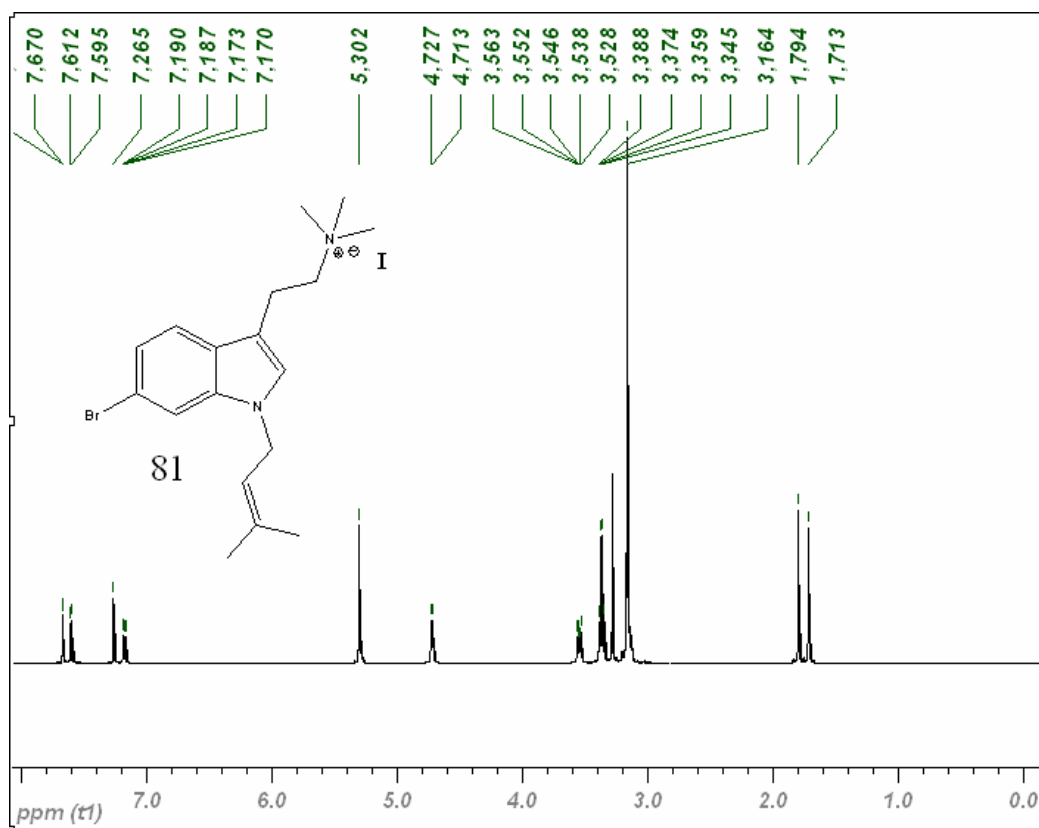
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 79



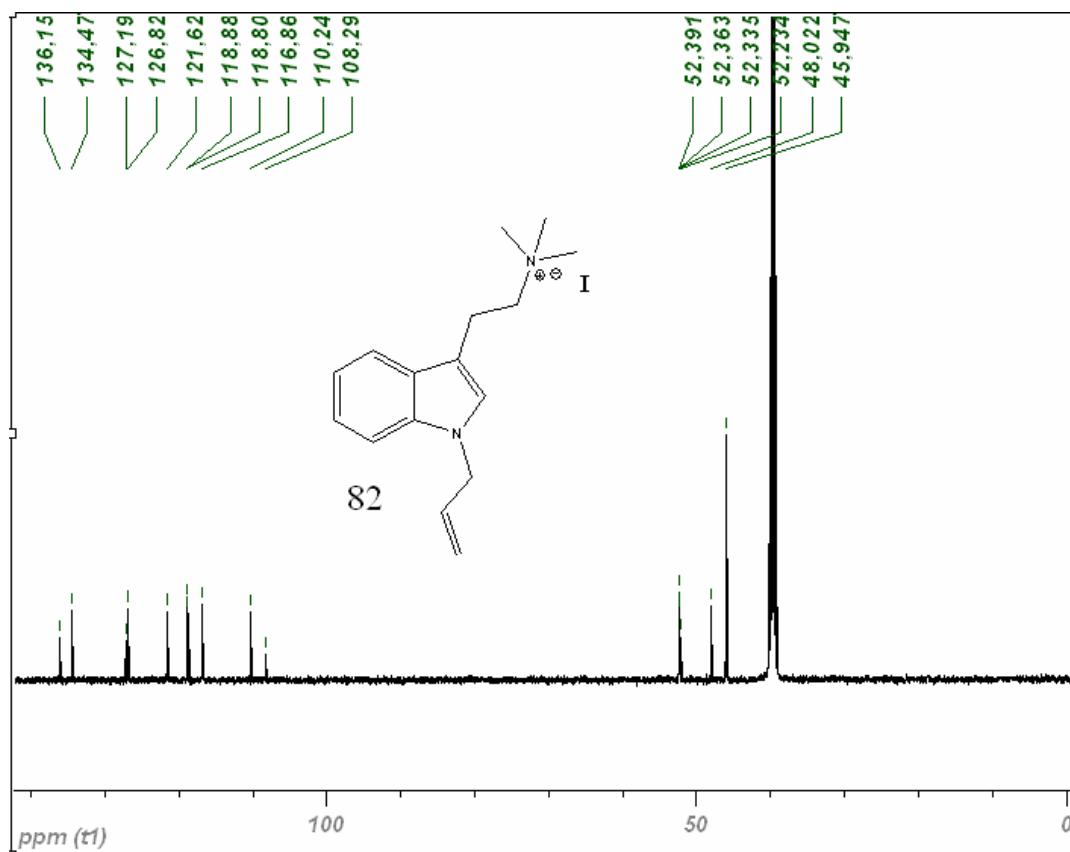
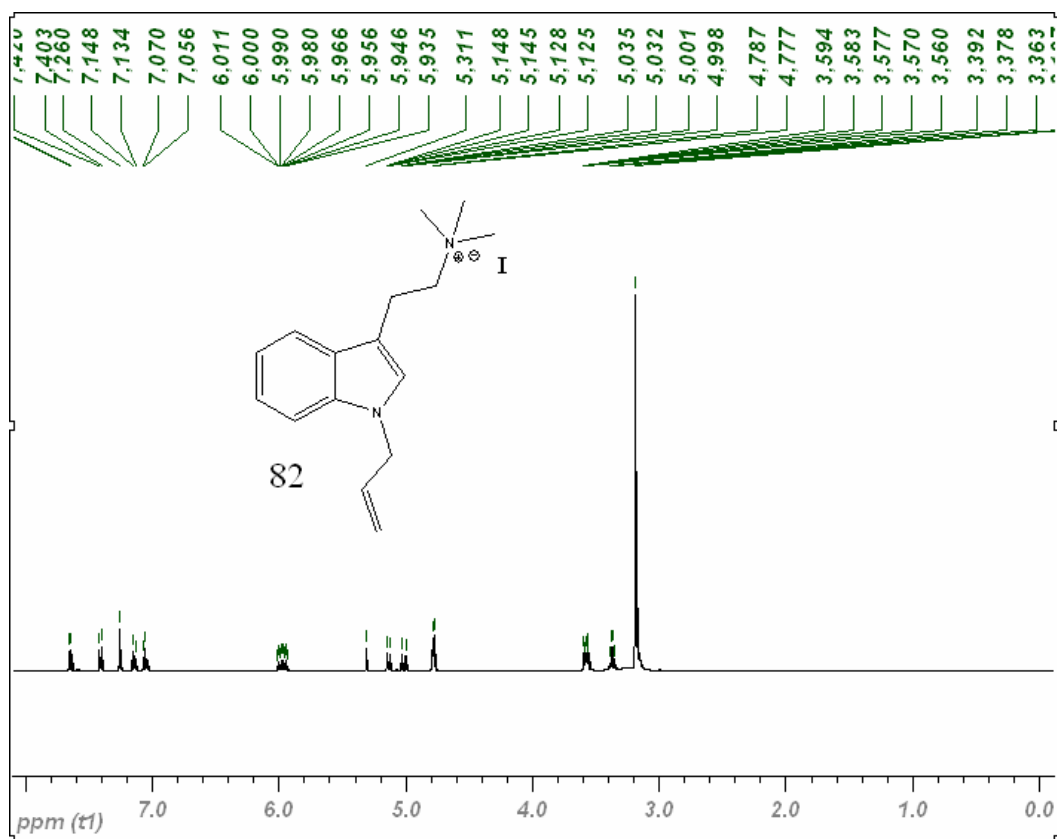
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 80



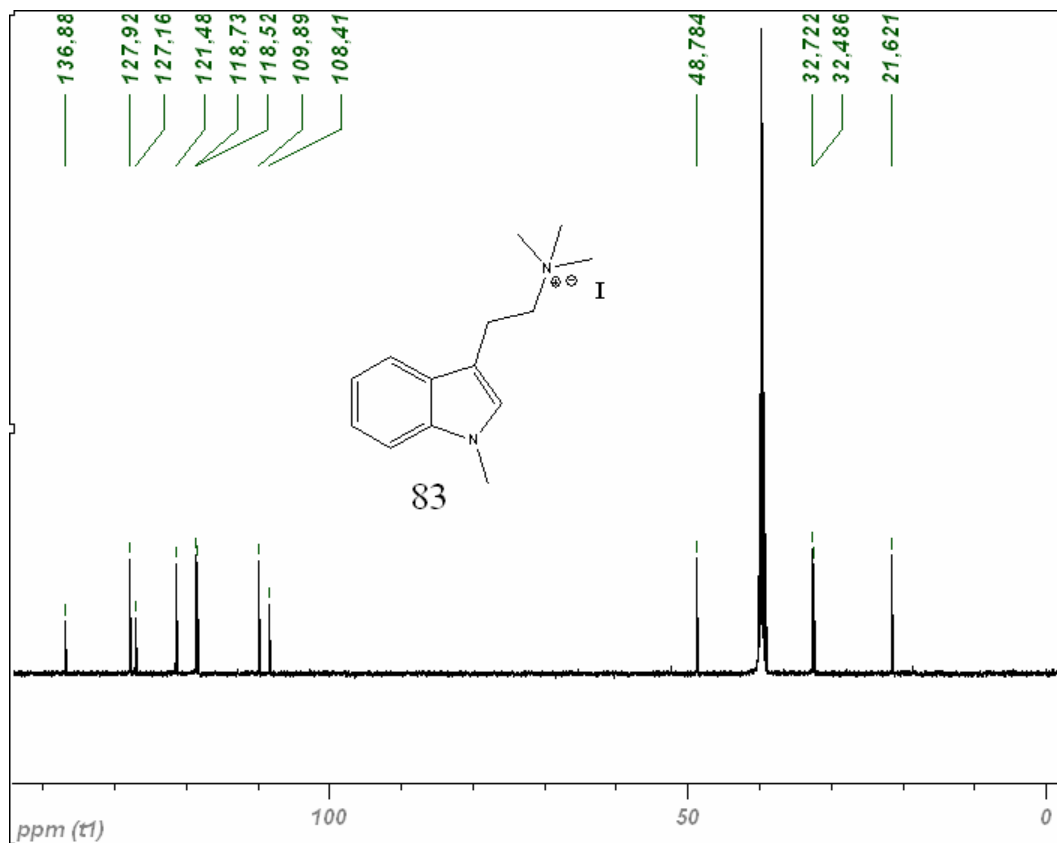
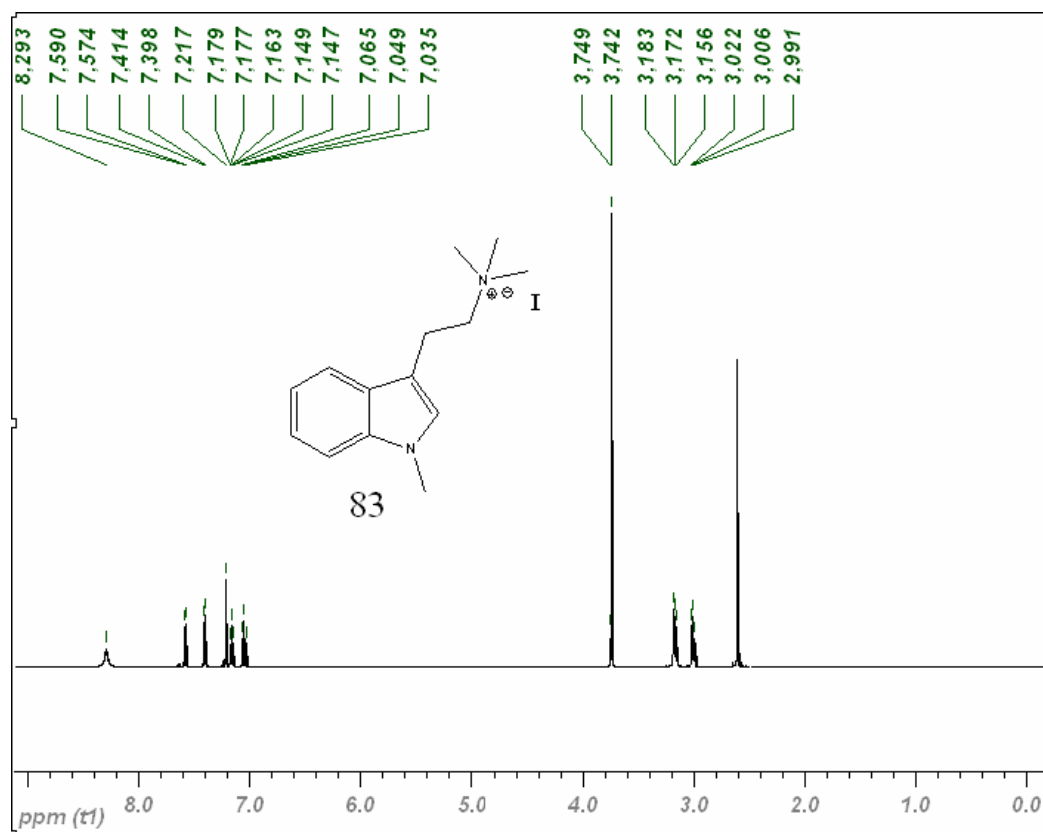
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 81



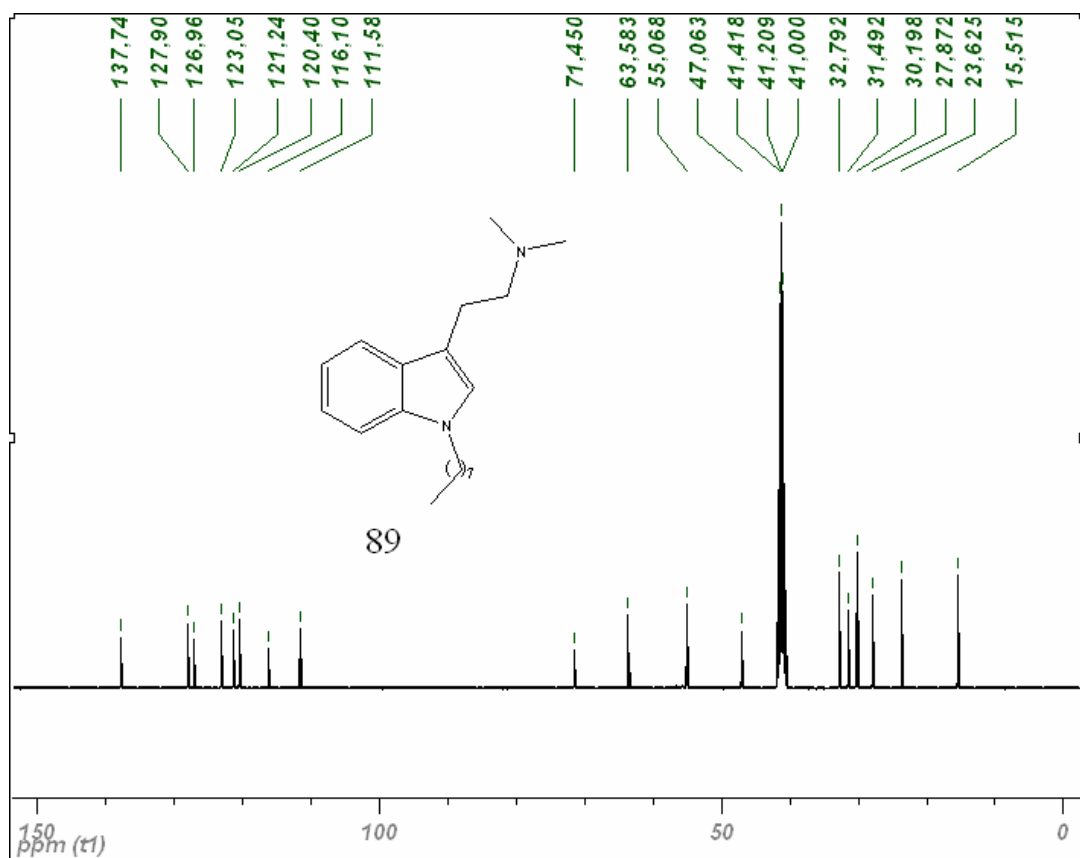
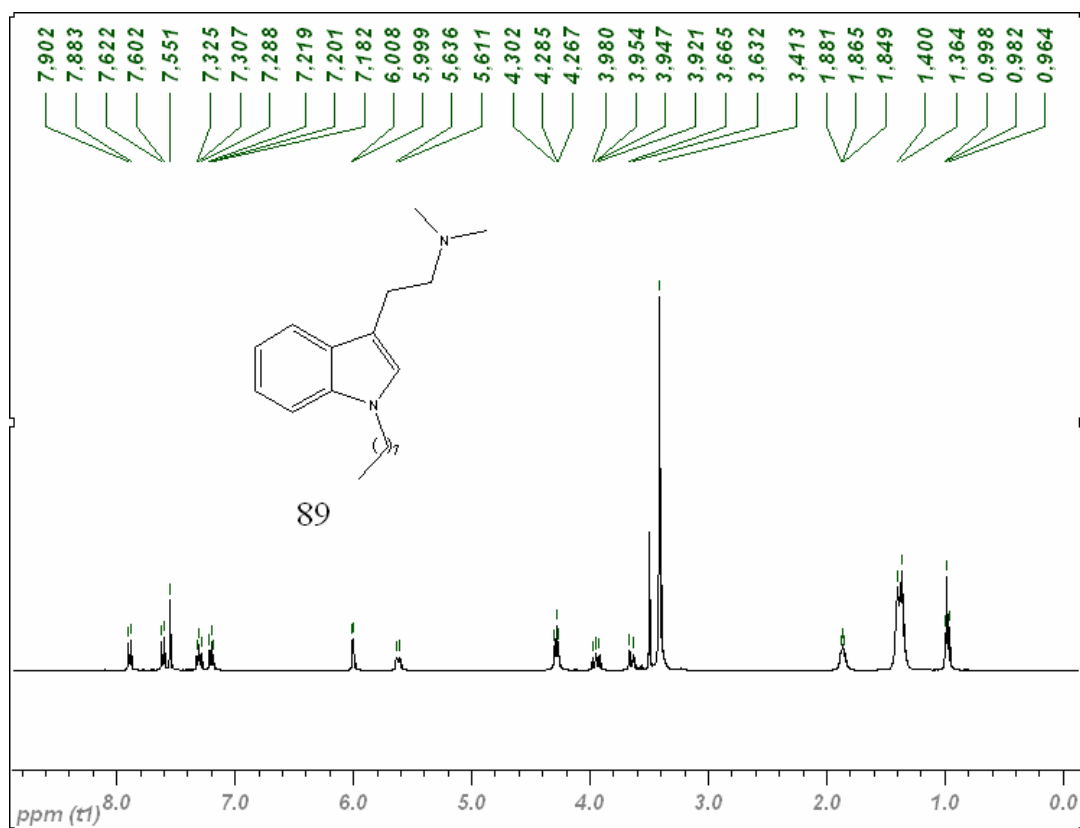
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 82



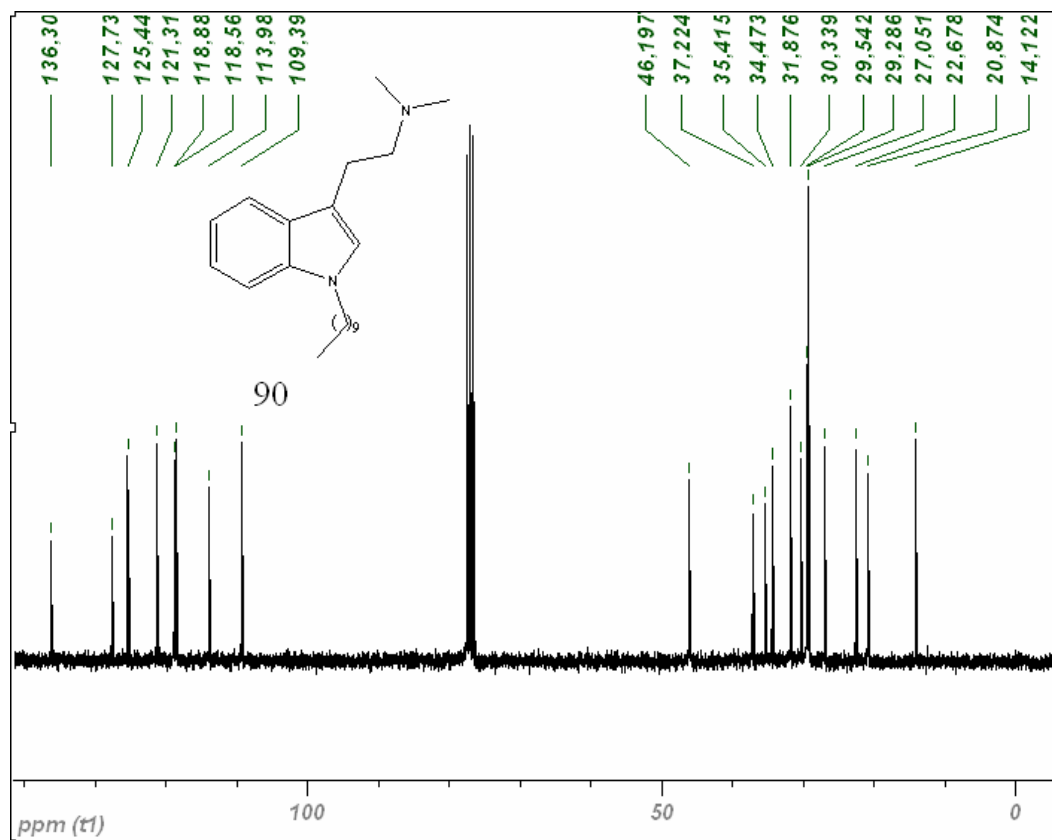
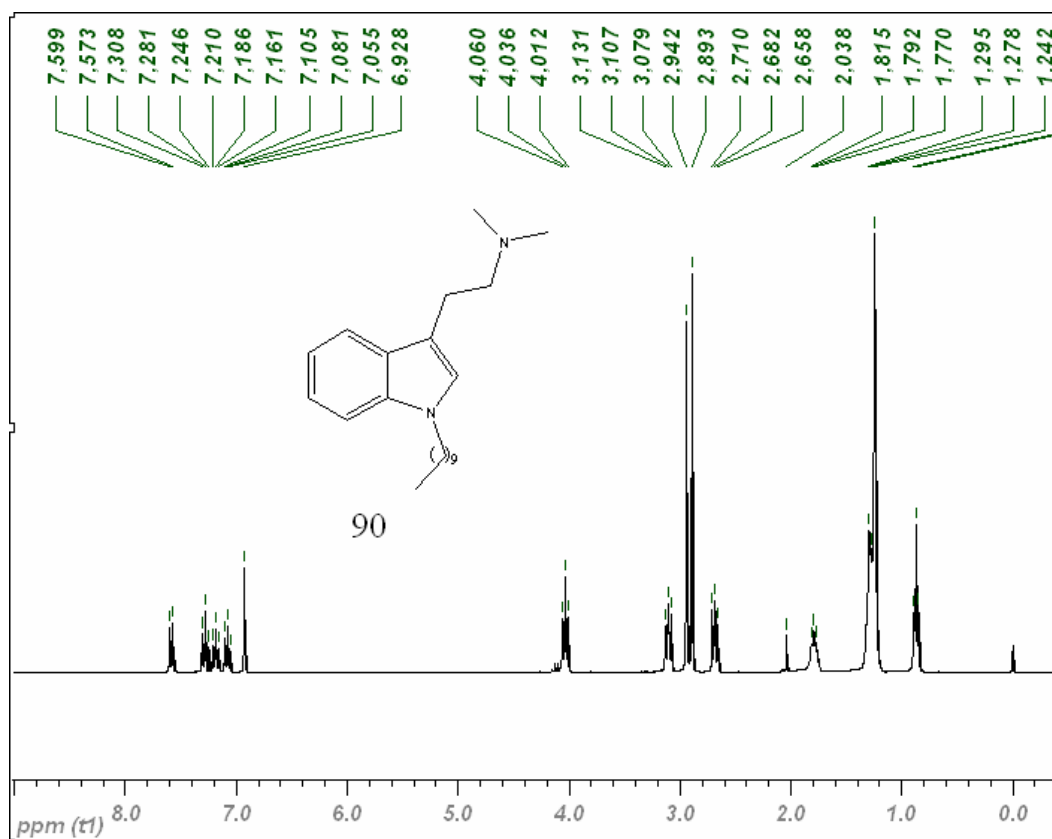
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 83



Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 89

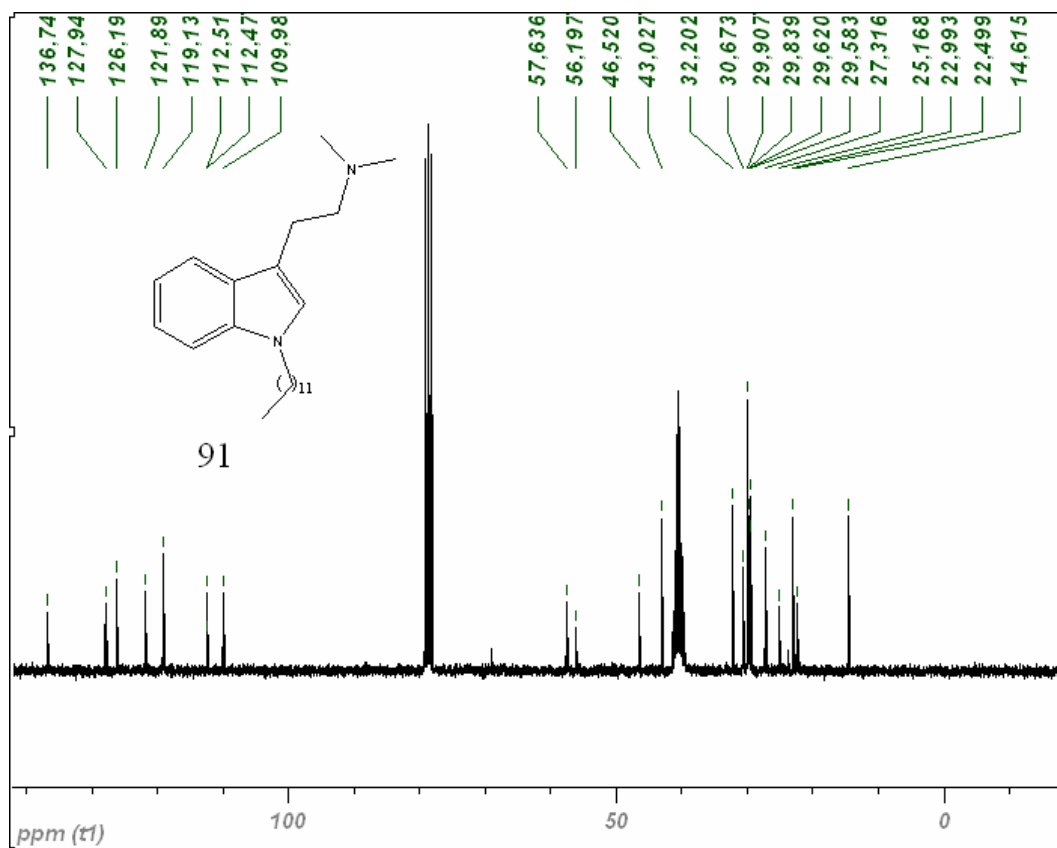
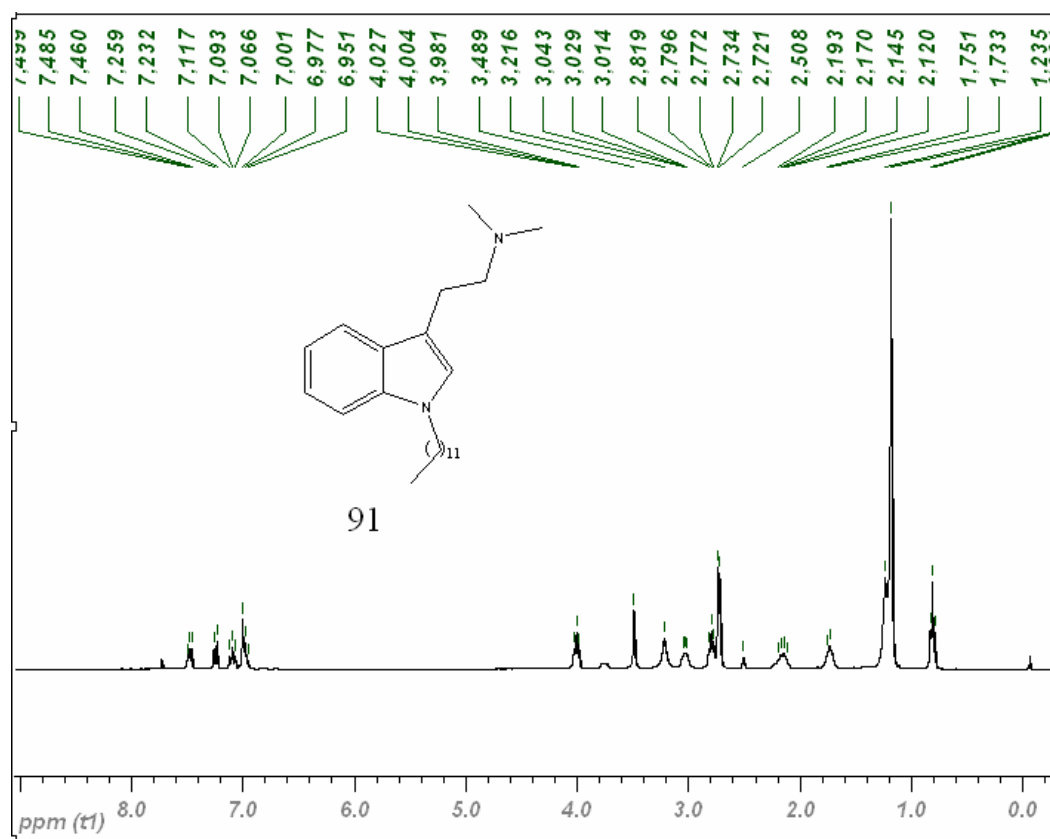


Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en CDCl<sub>3</sub> del compuesto 90

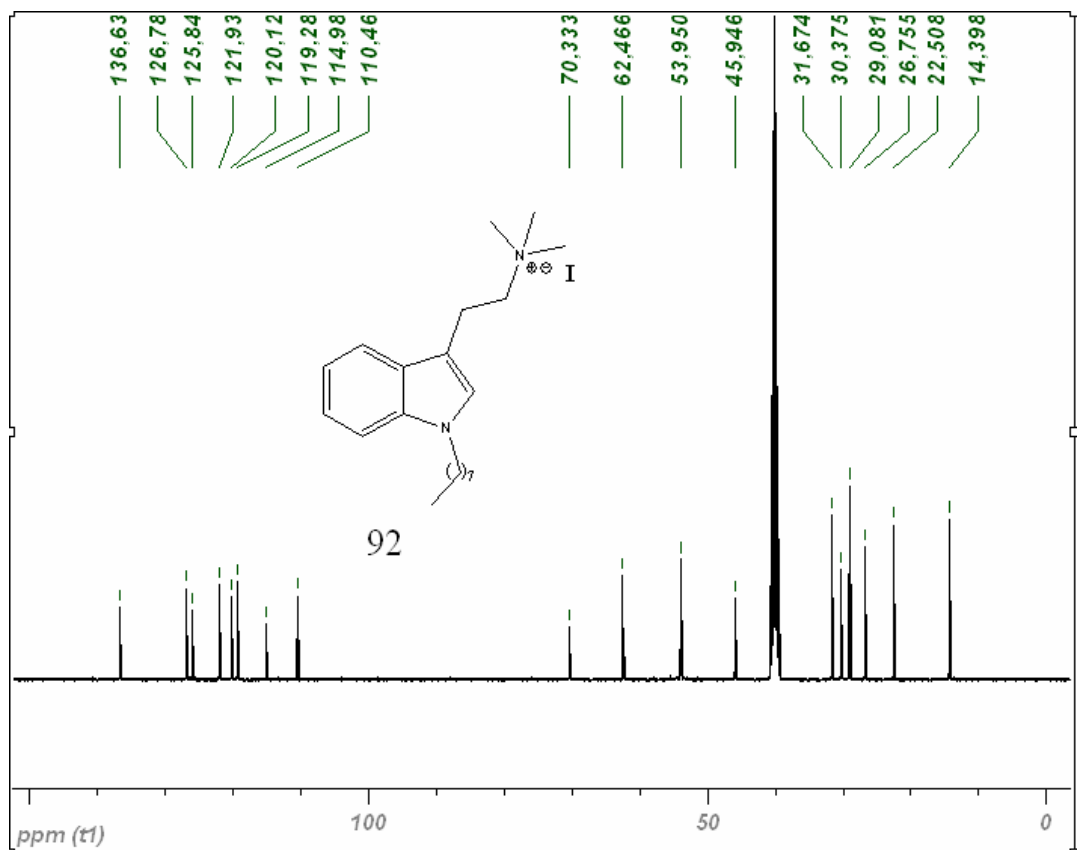
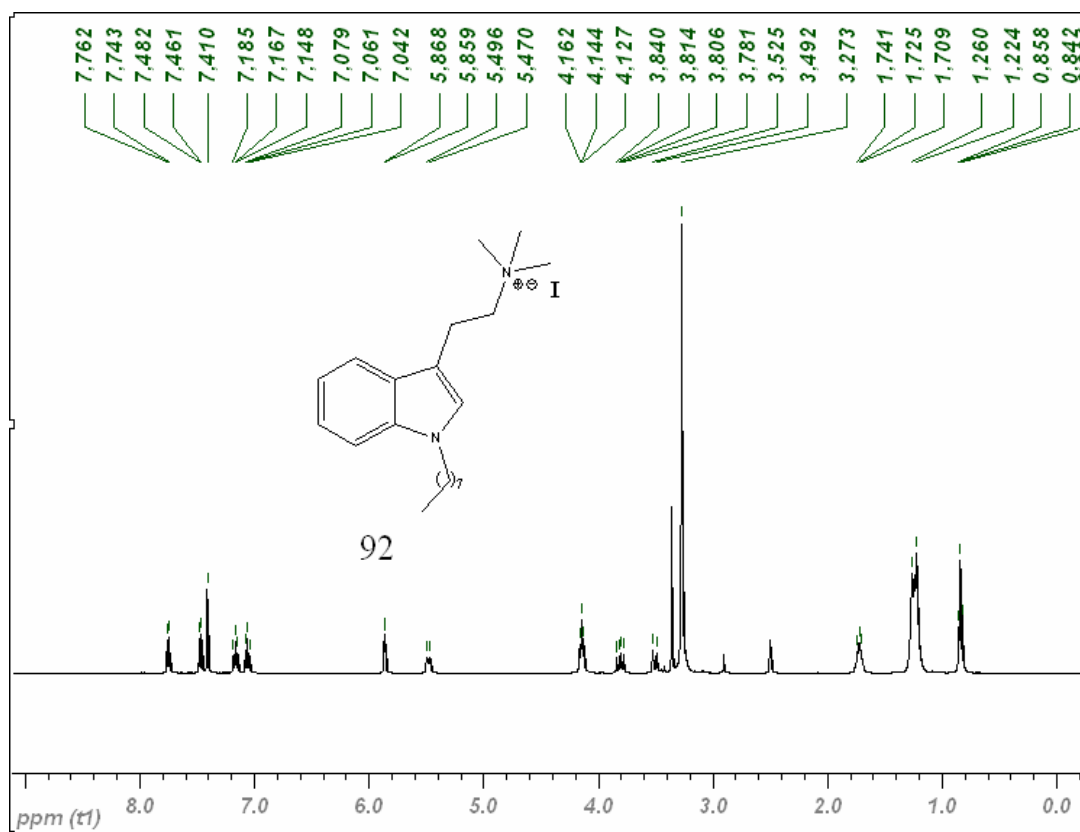




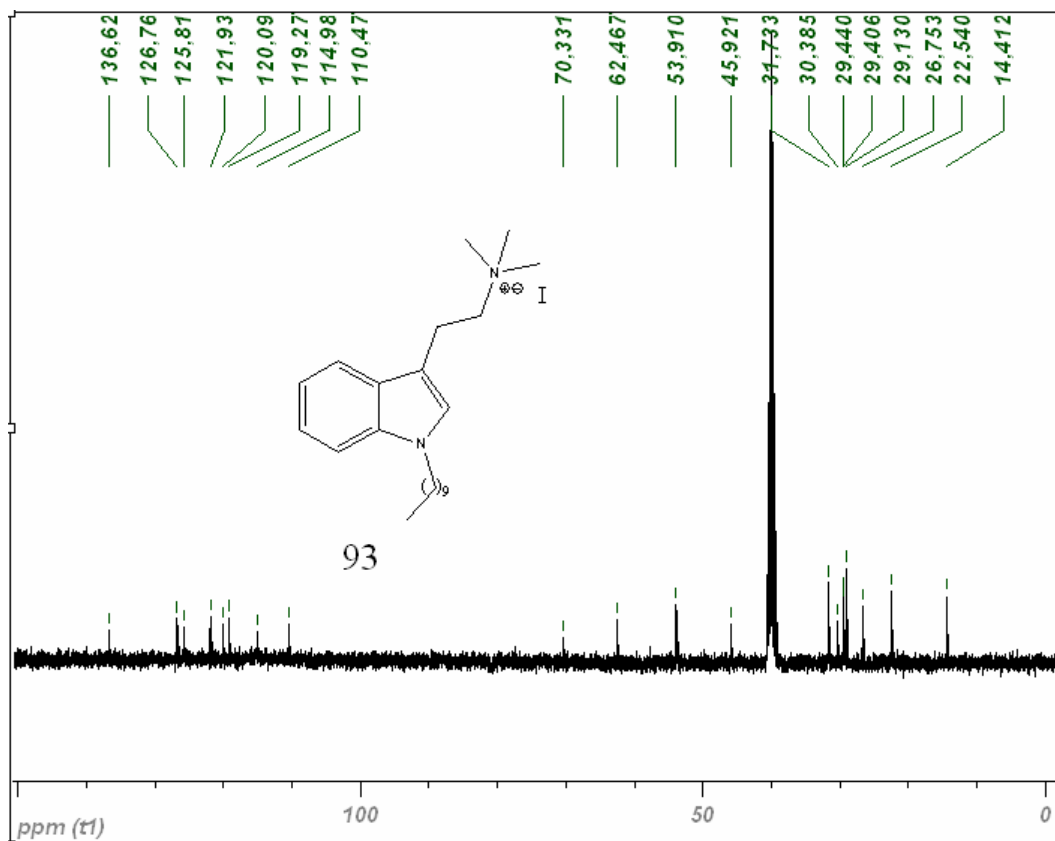
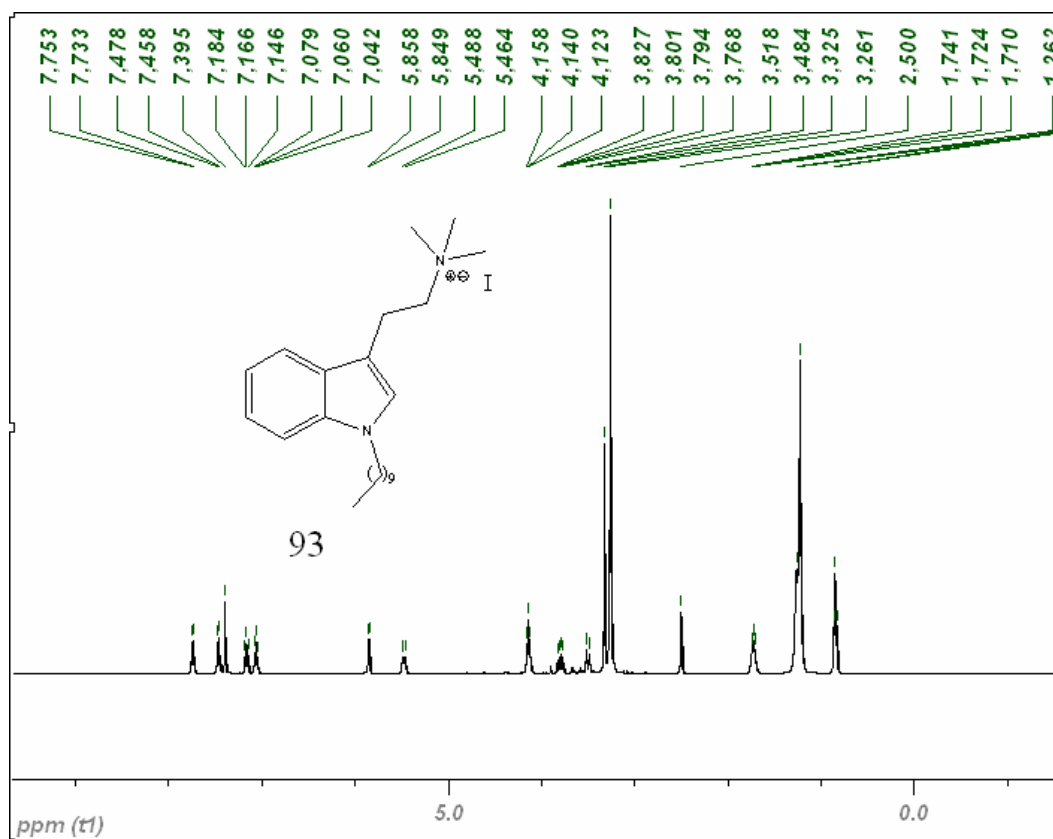
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en CDCl<sub>3</sub> del compuesto 91



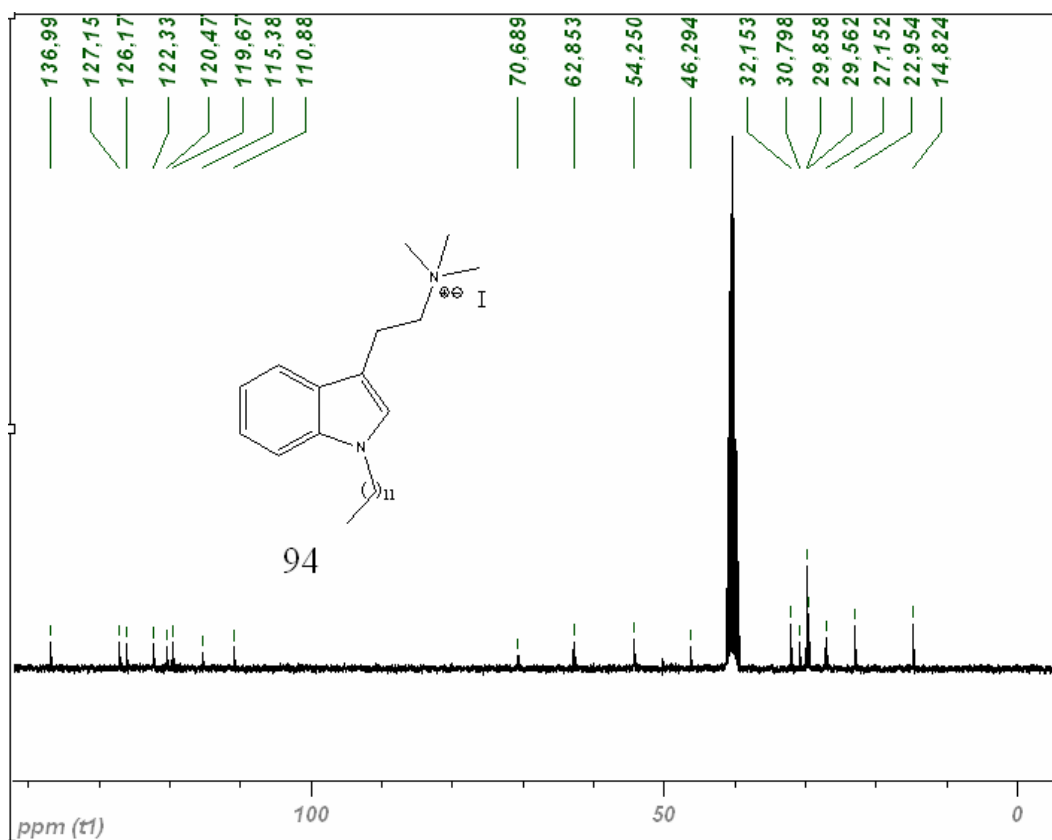
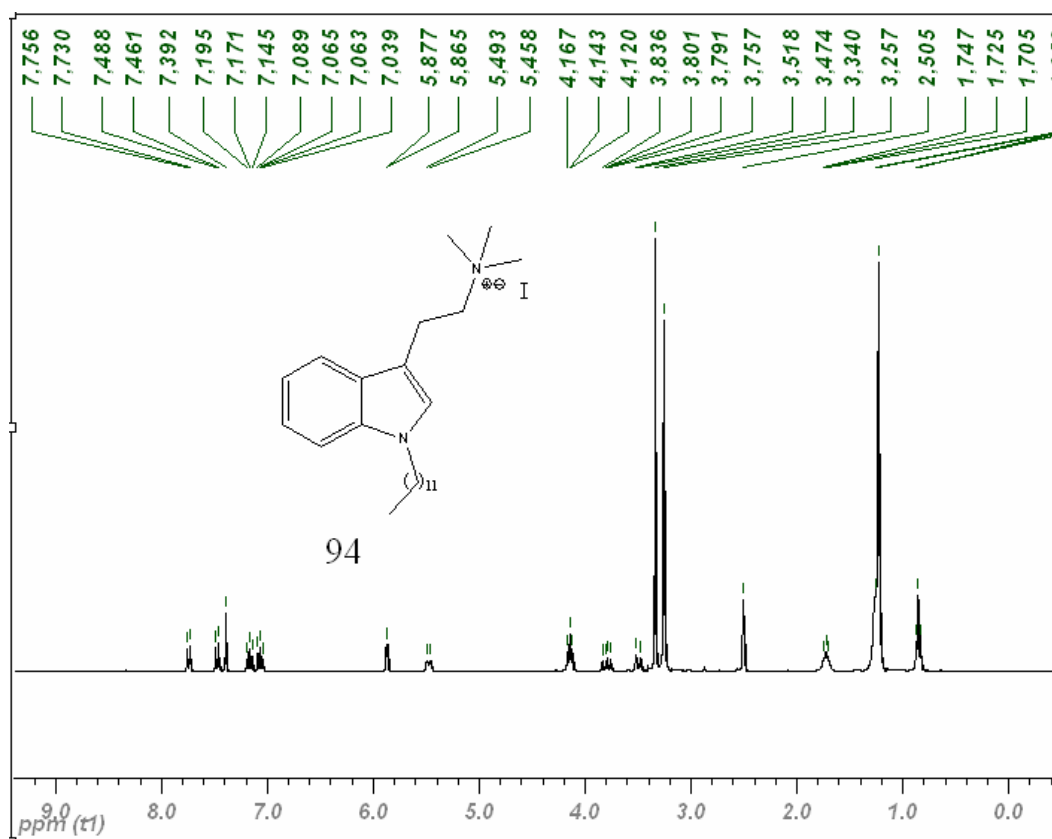
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 92



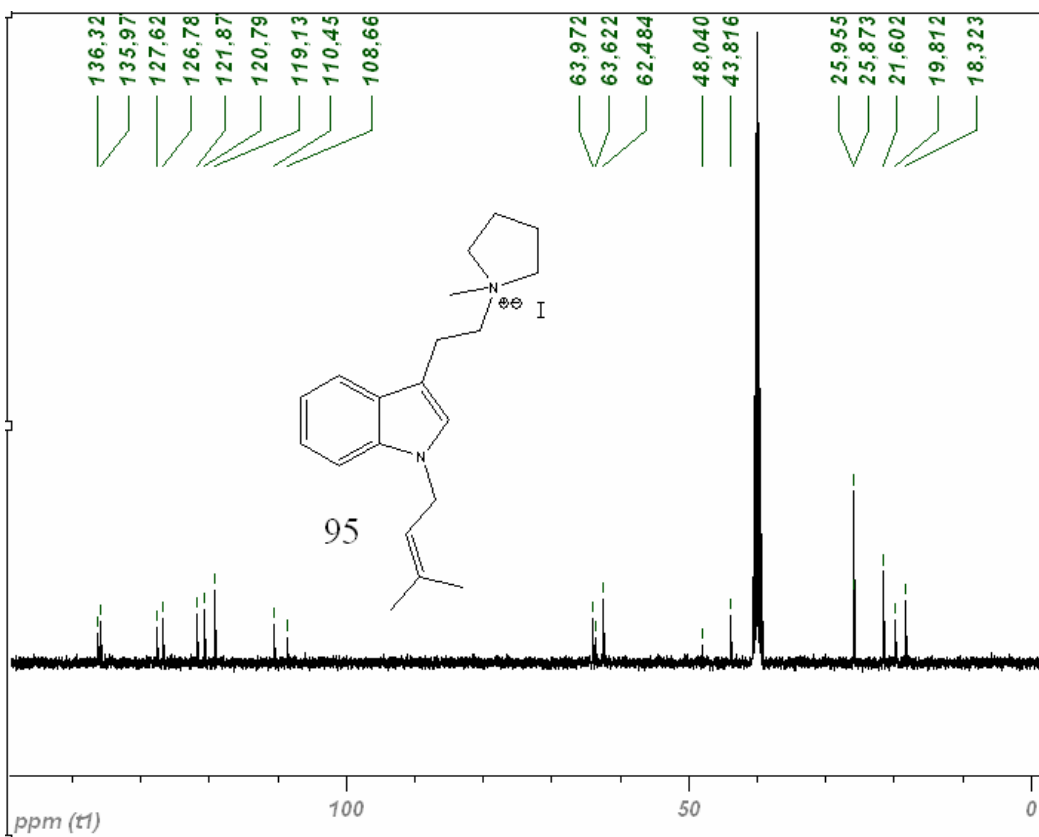
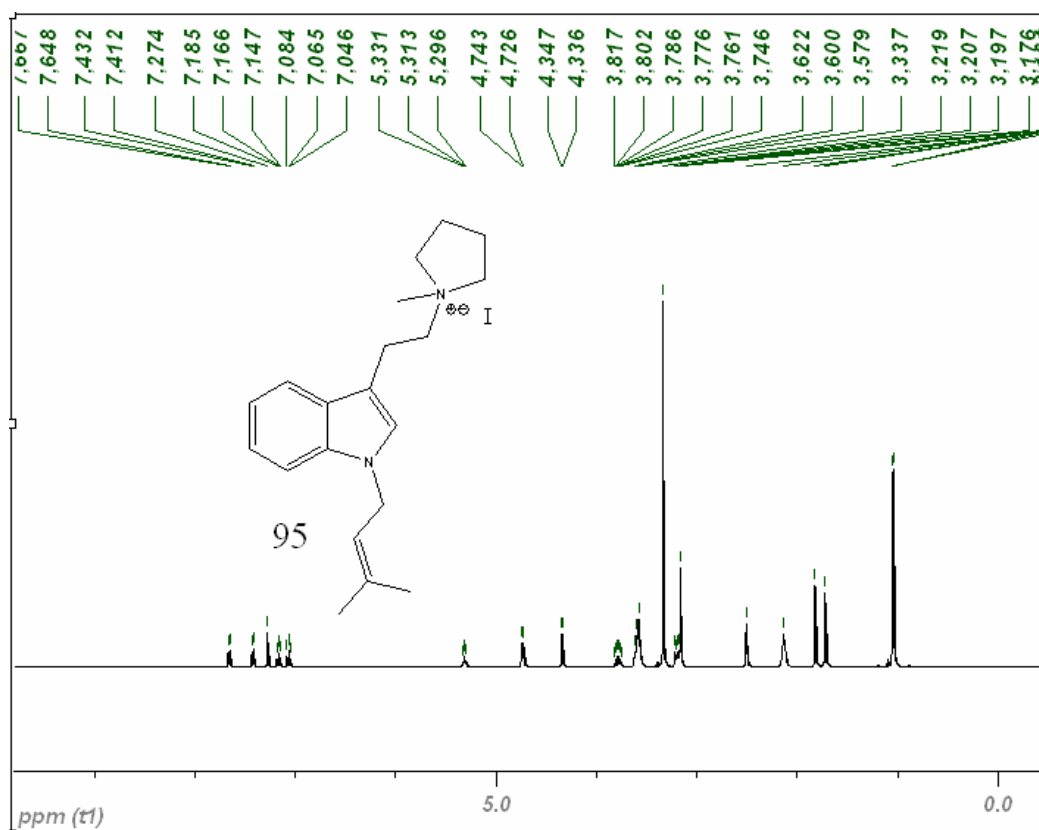
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 93



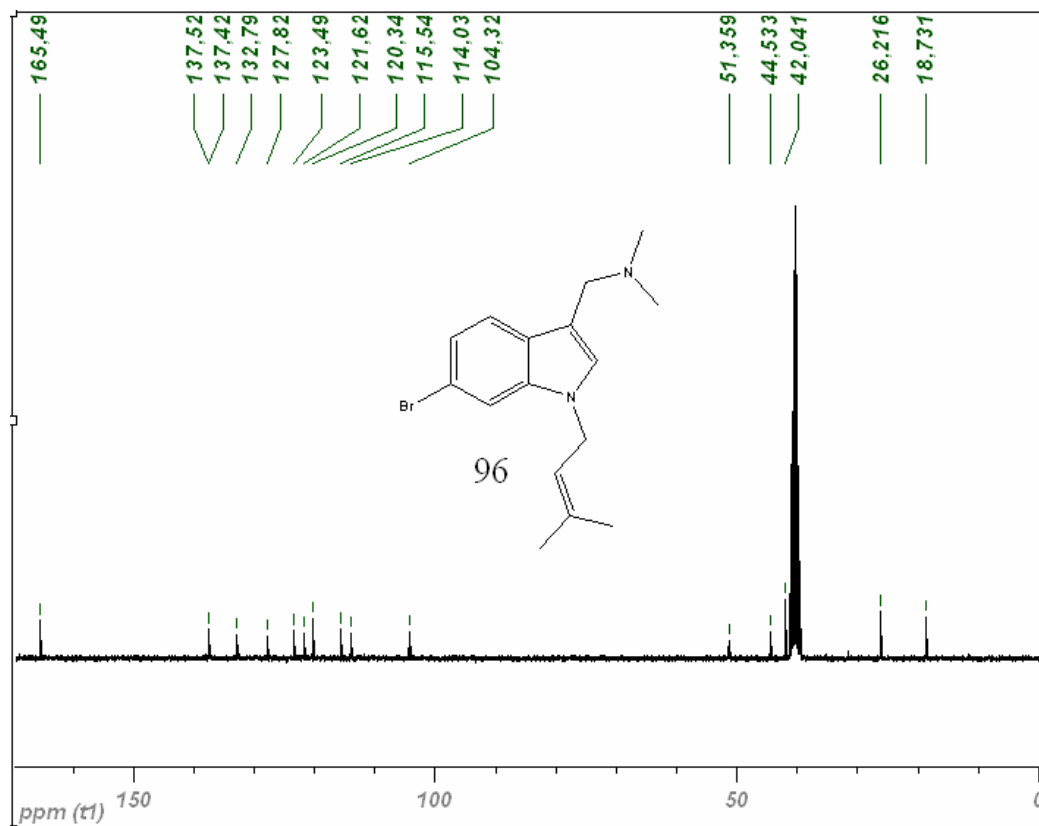
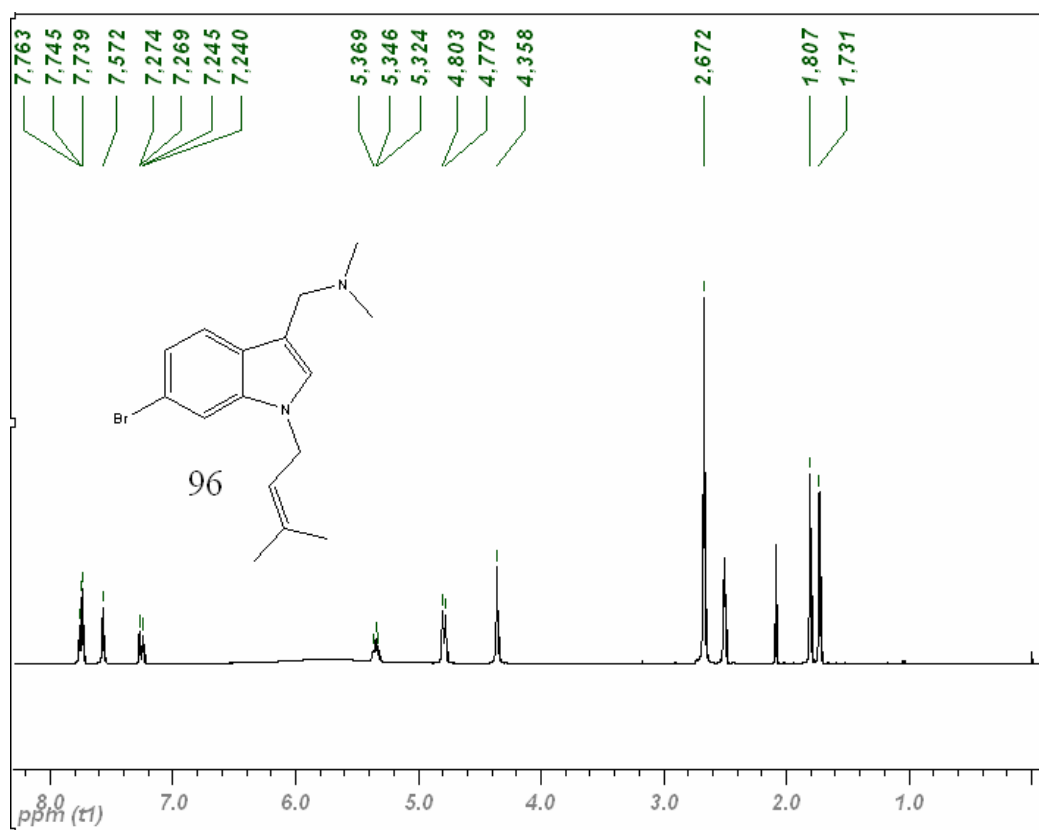
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 94



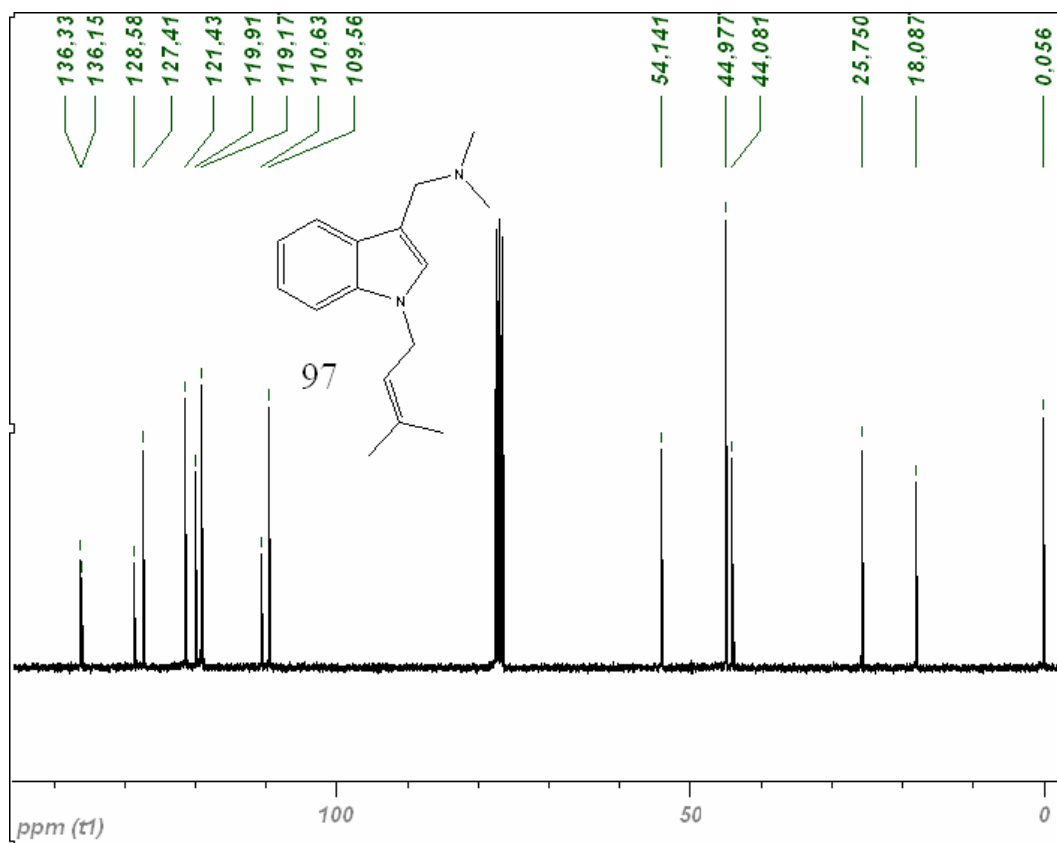
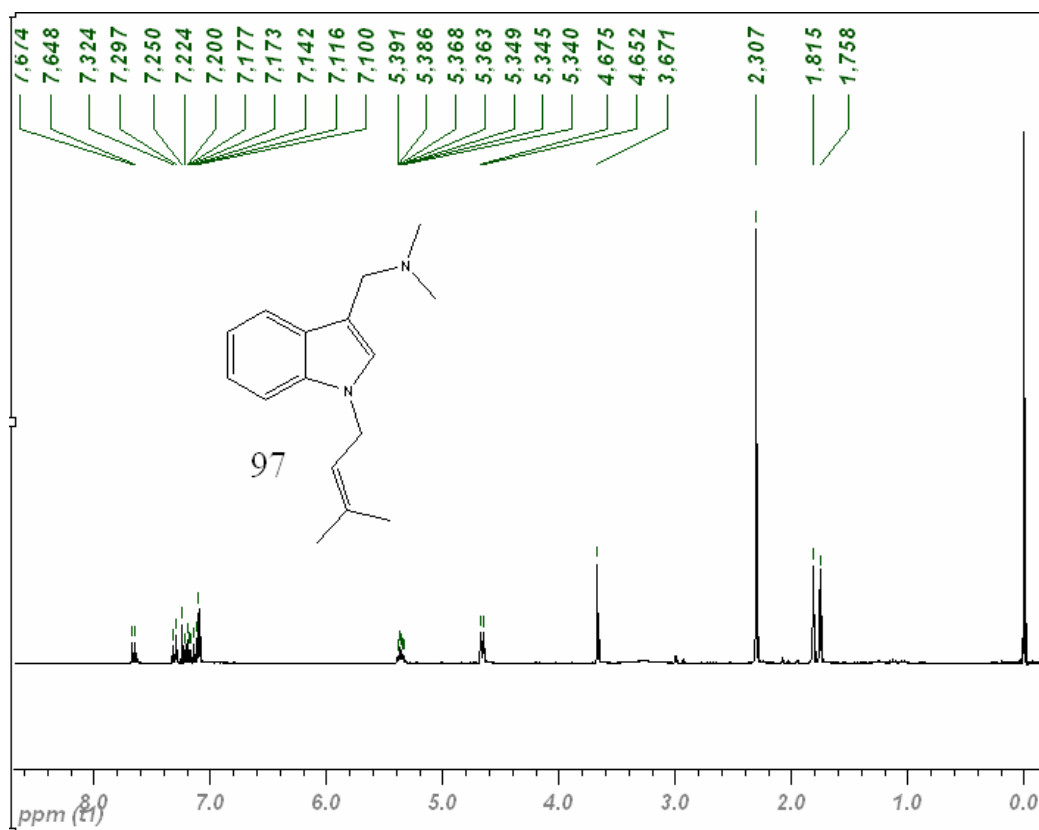
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 95



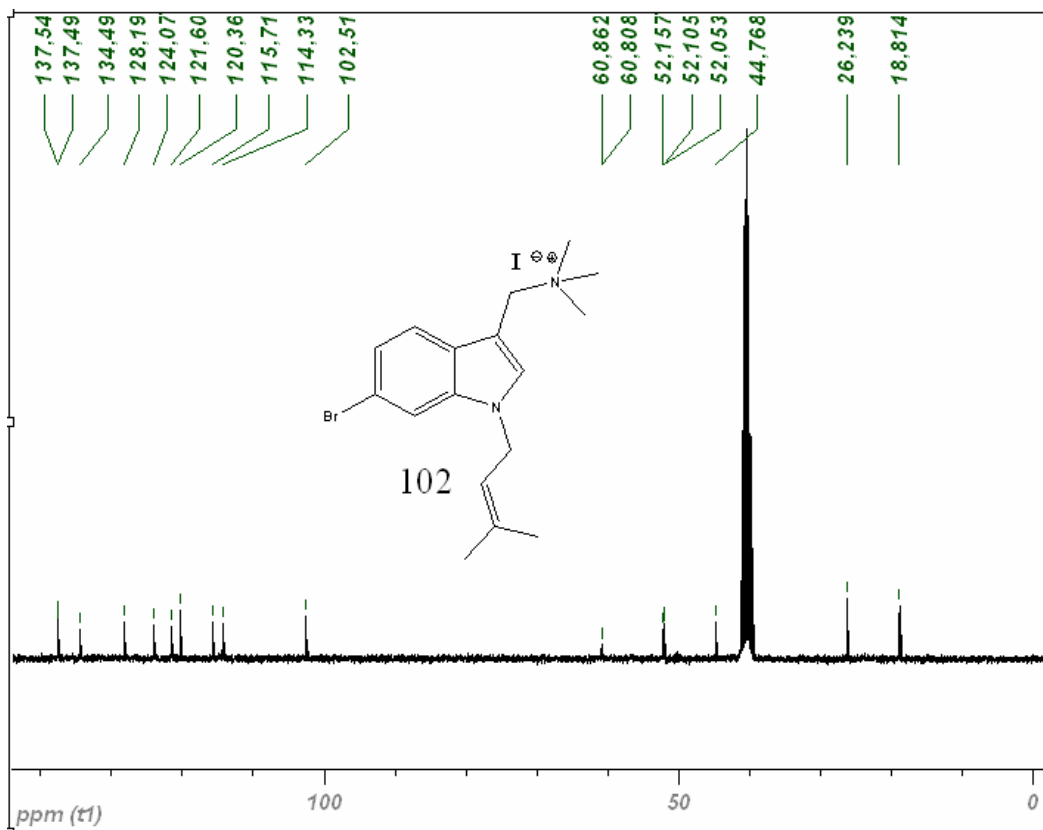
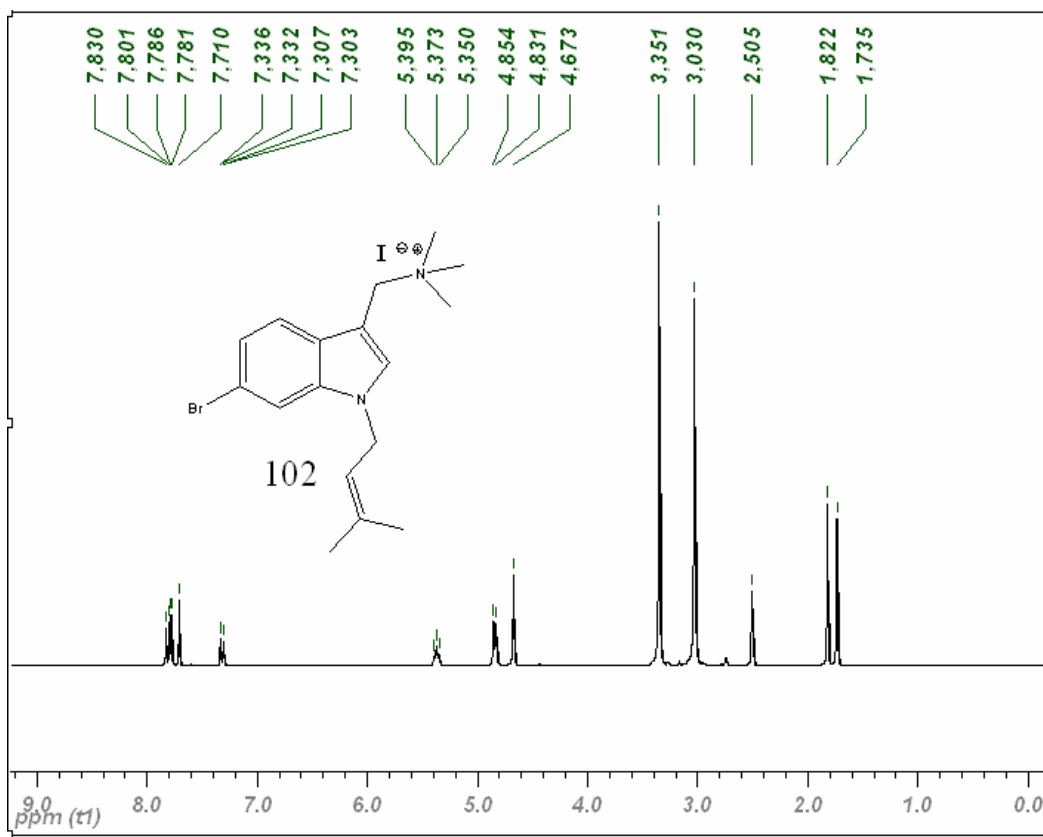
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 96



Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en CDCl<sub>3</sub> del compuesto 97

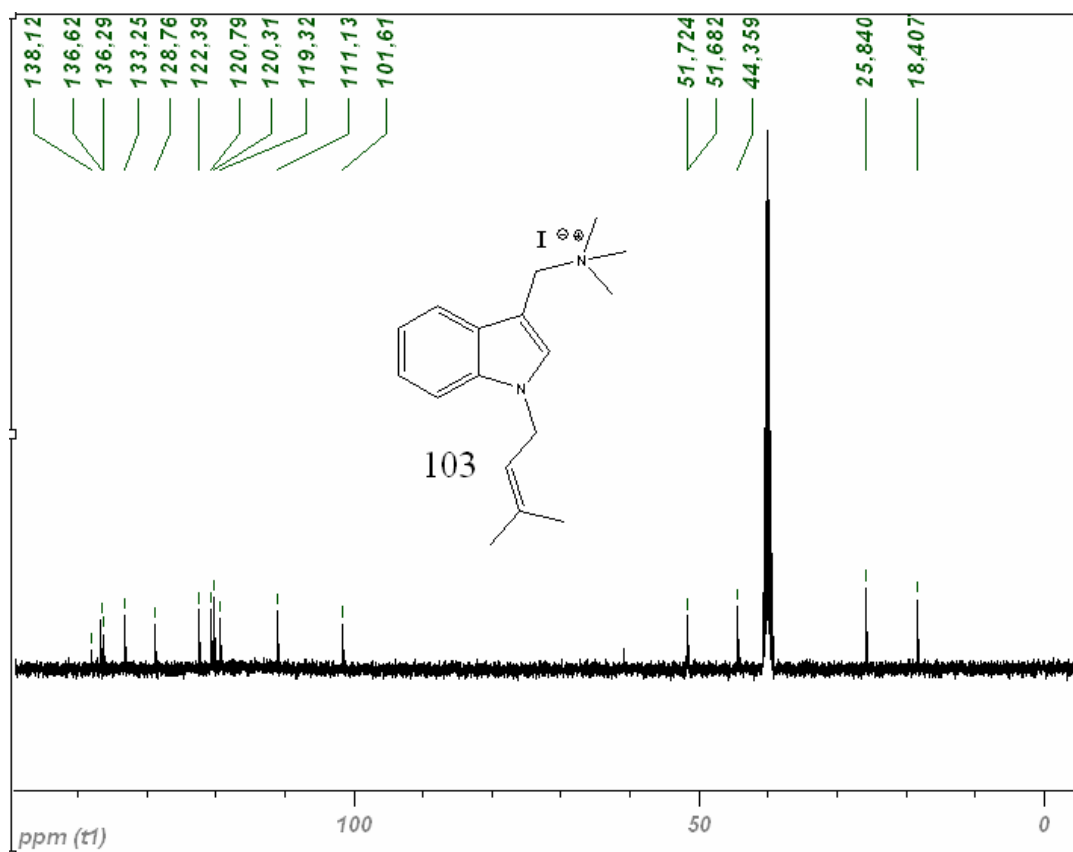
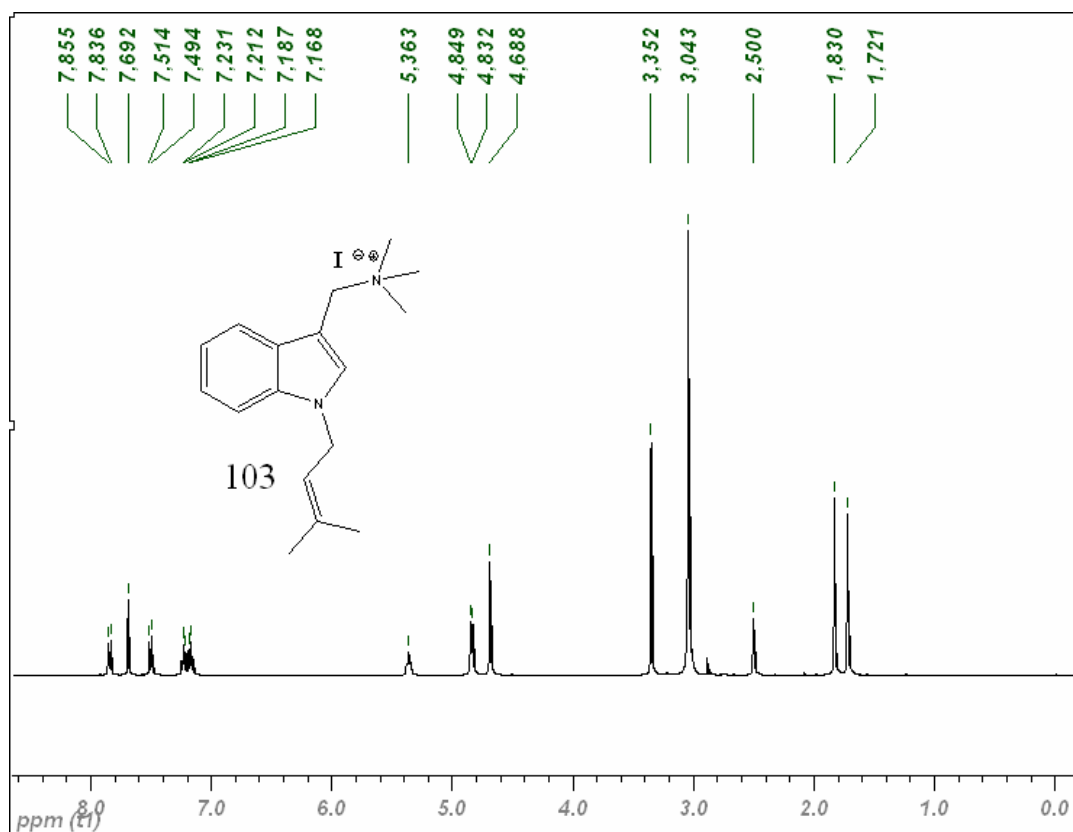


Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 102

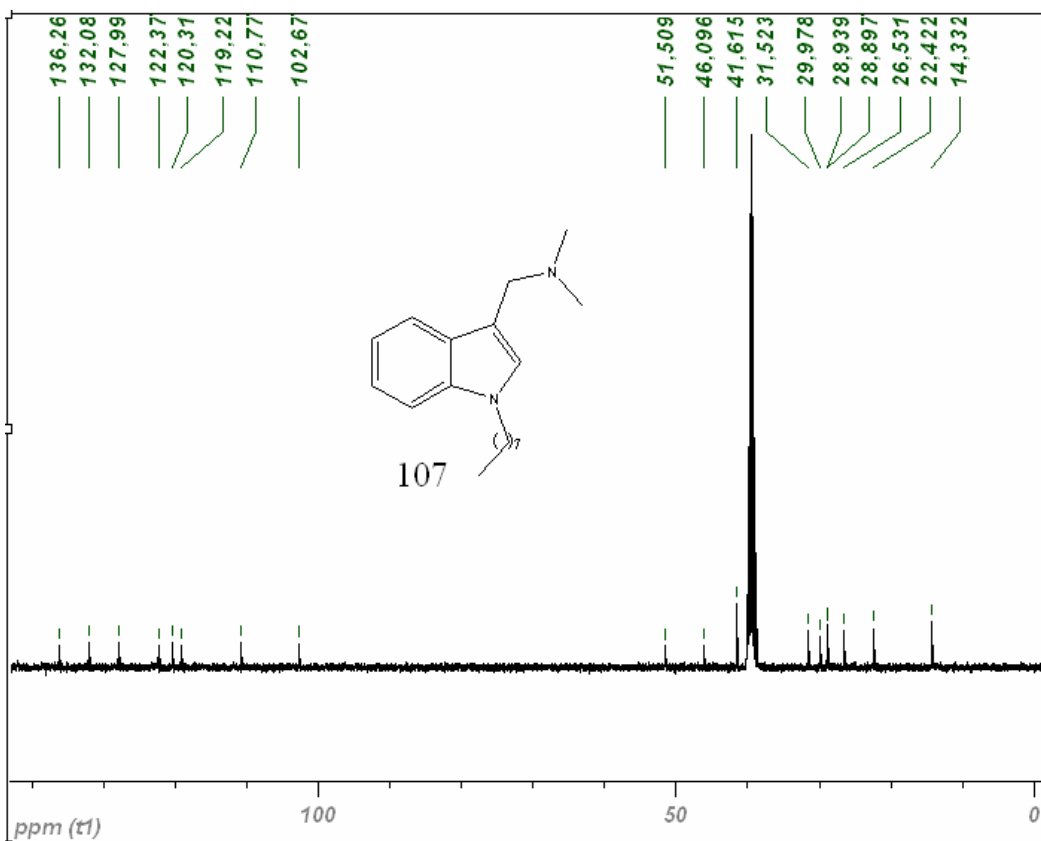
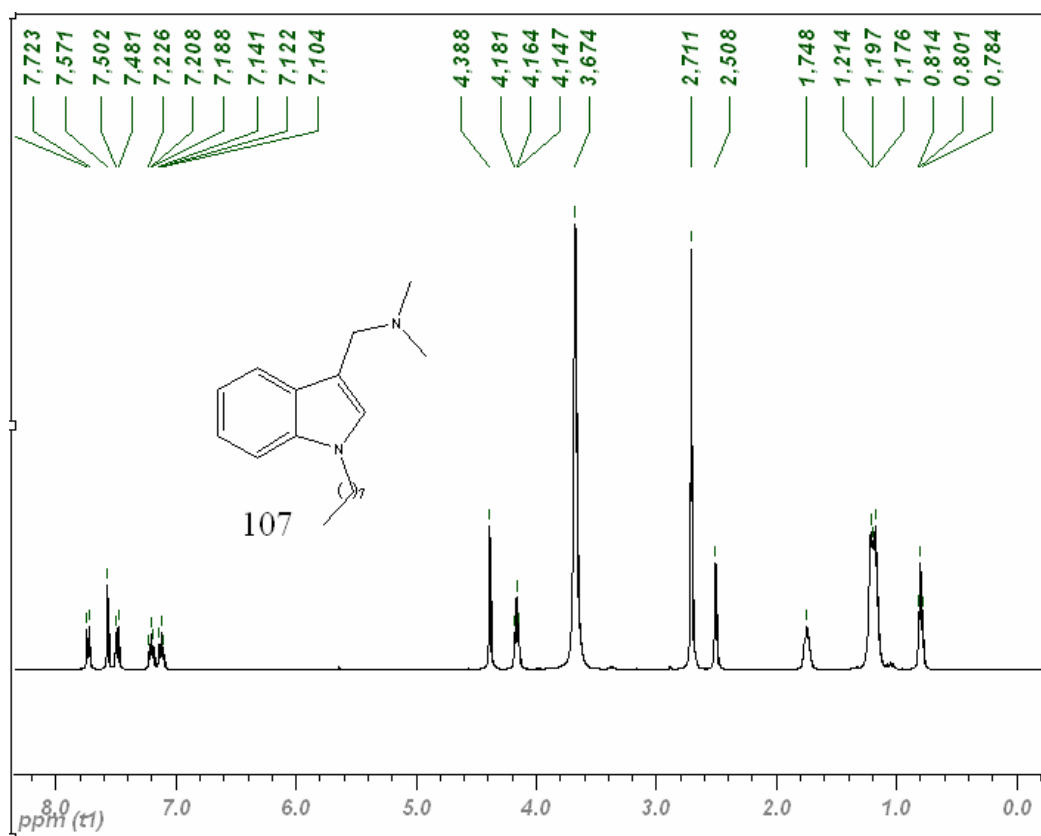




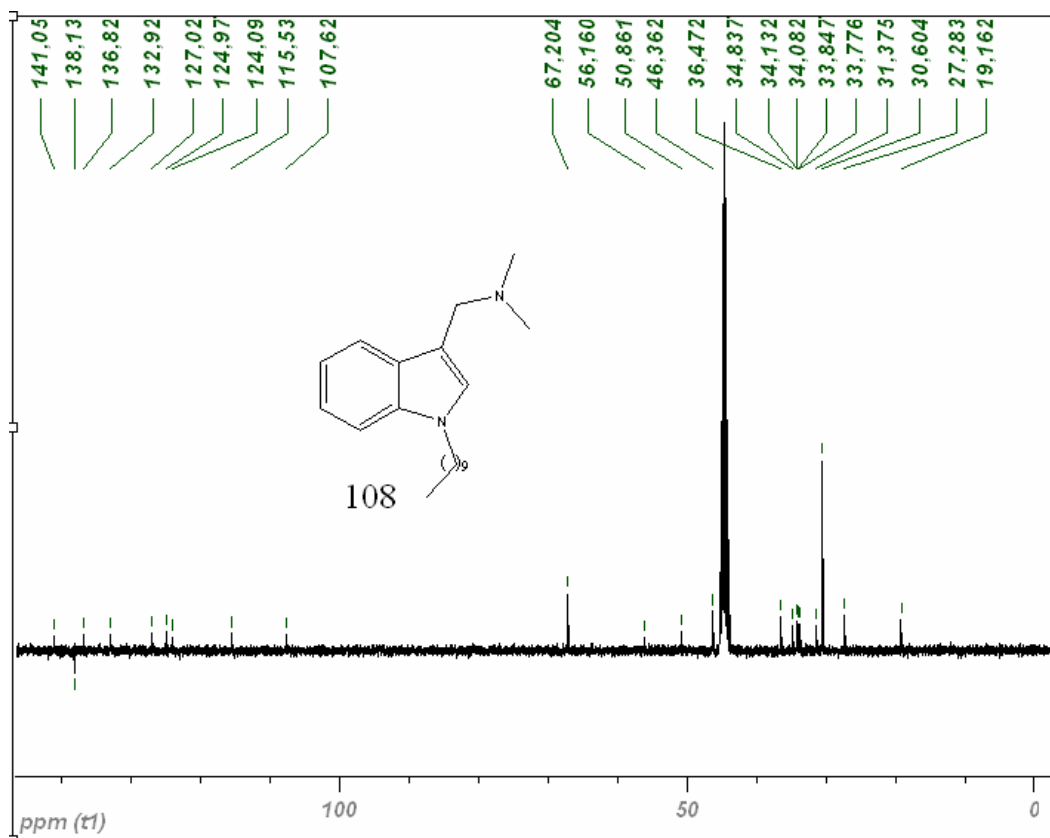
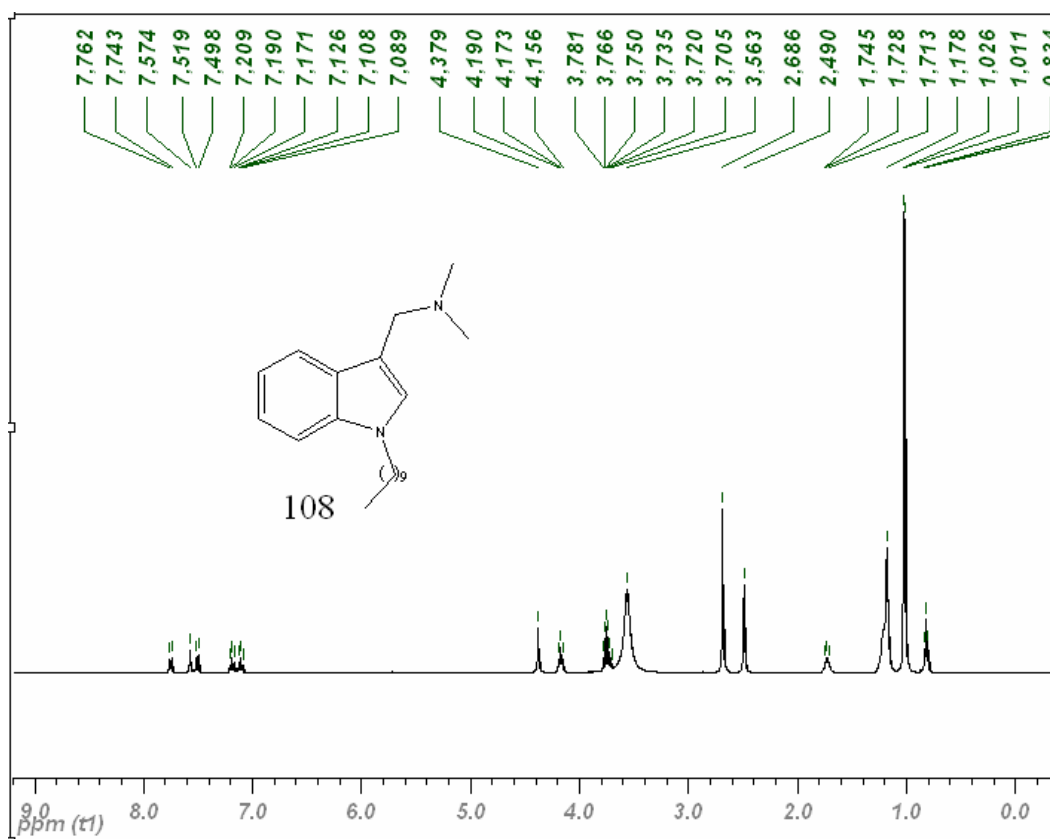
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 103



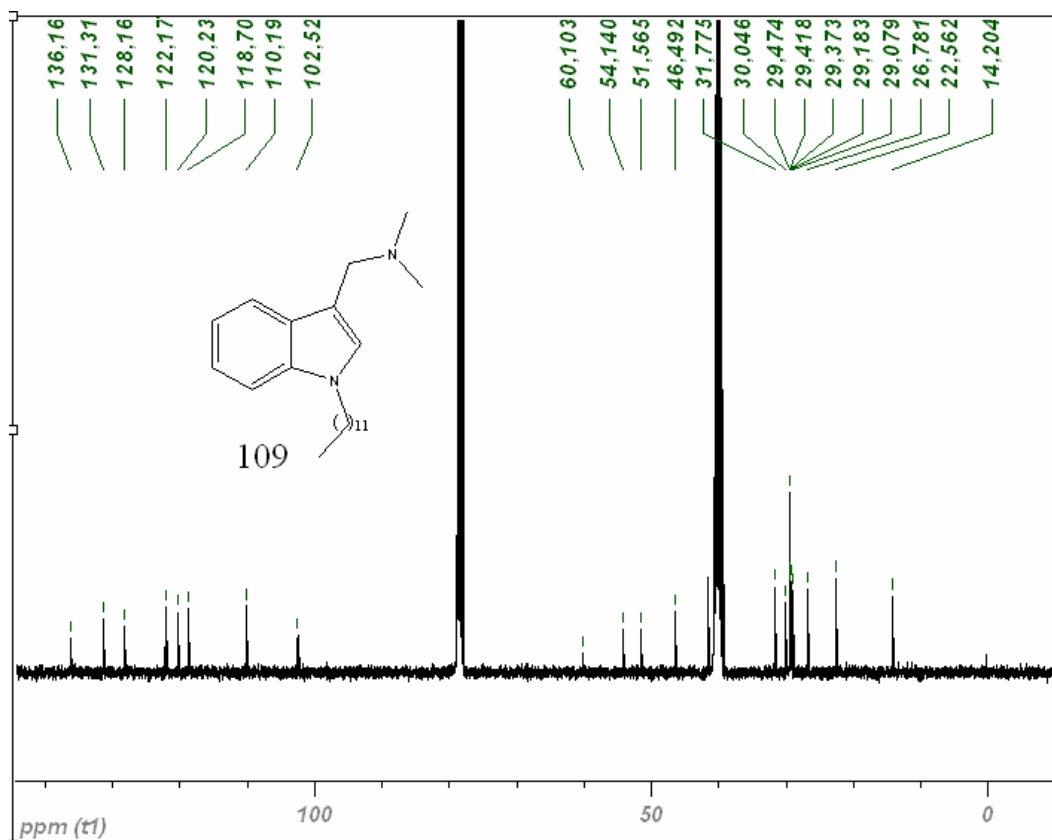
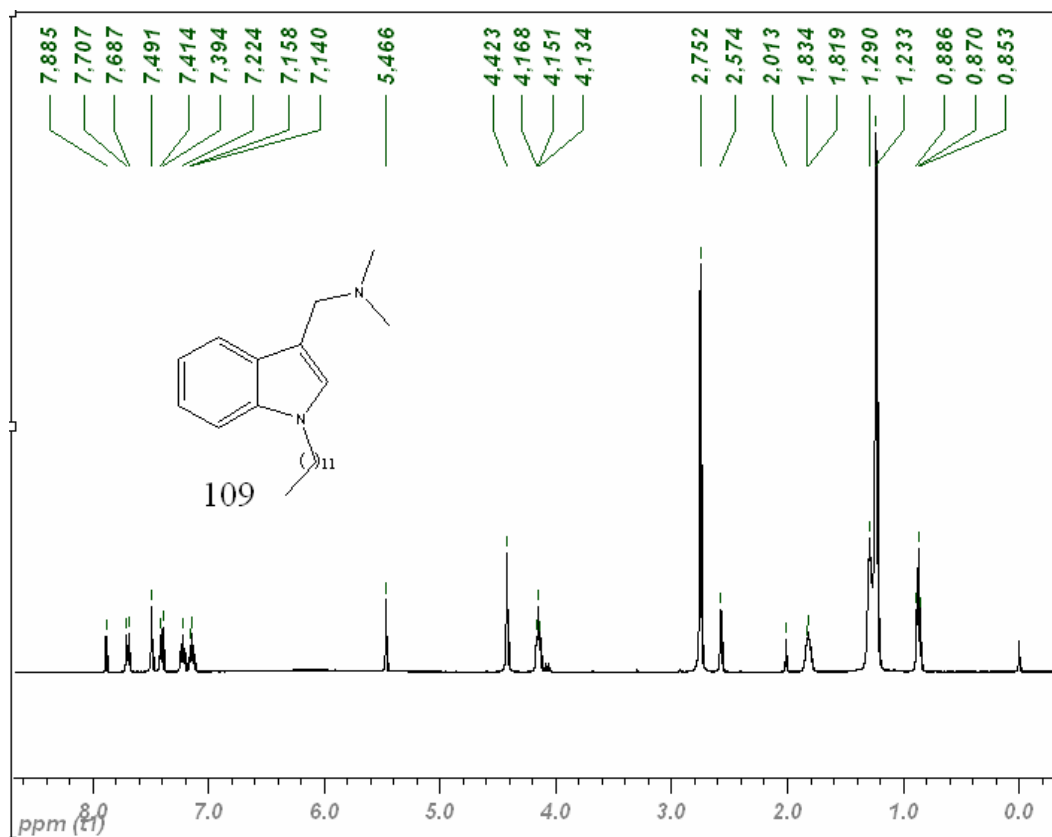
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 107



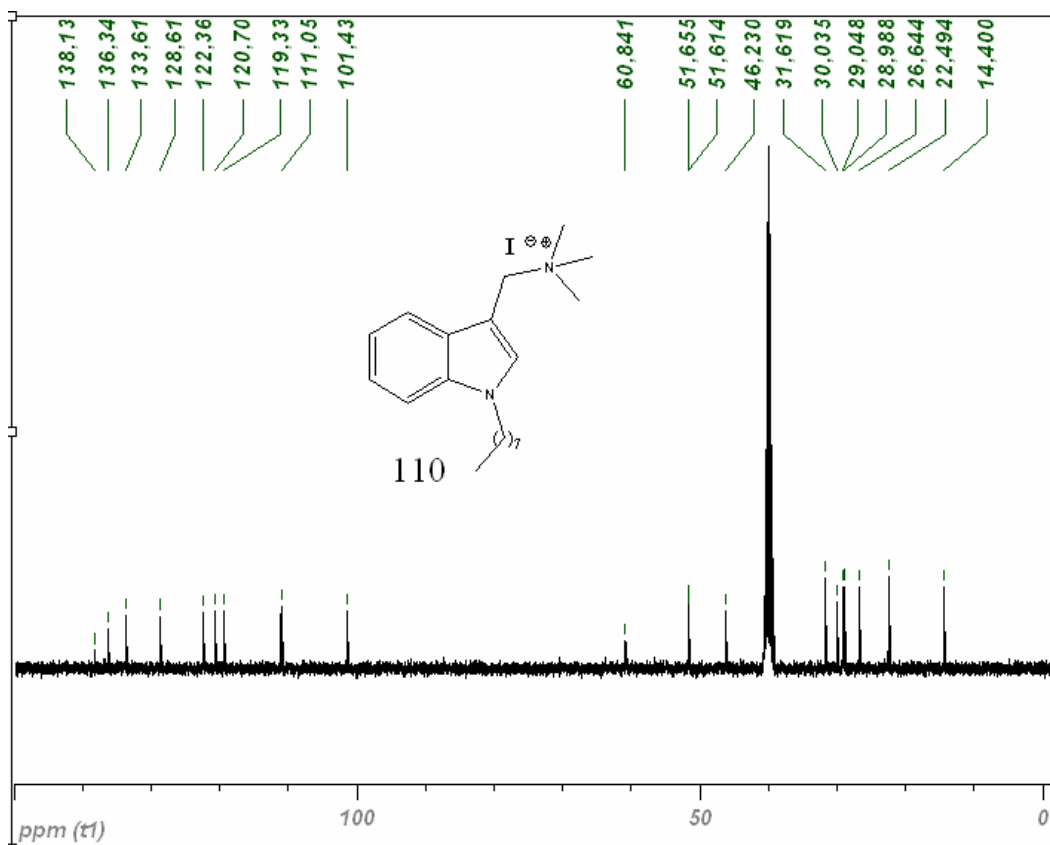
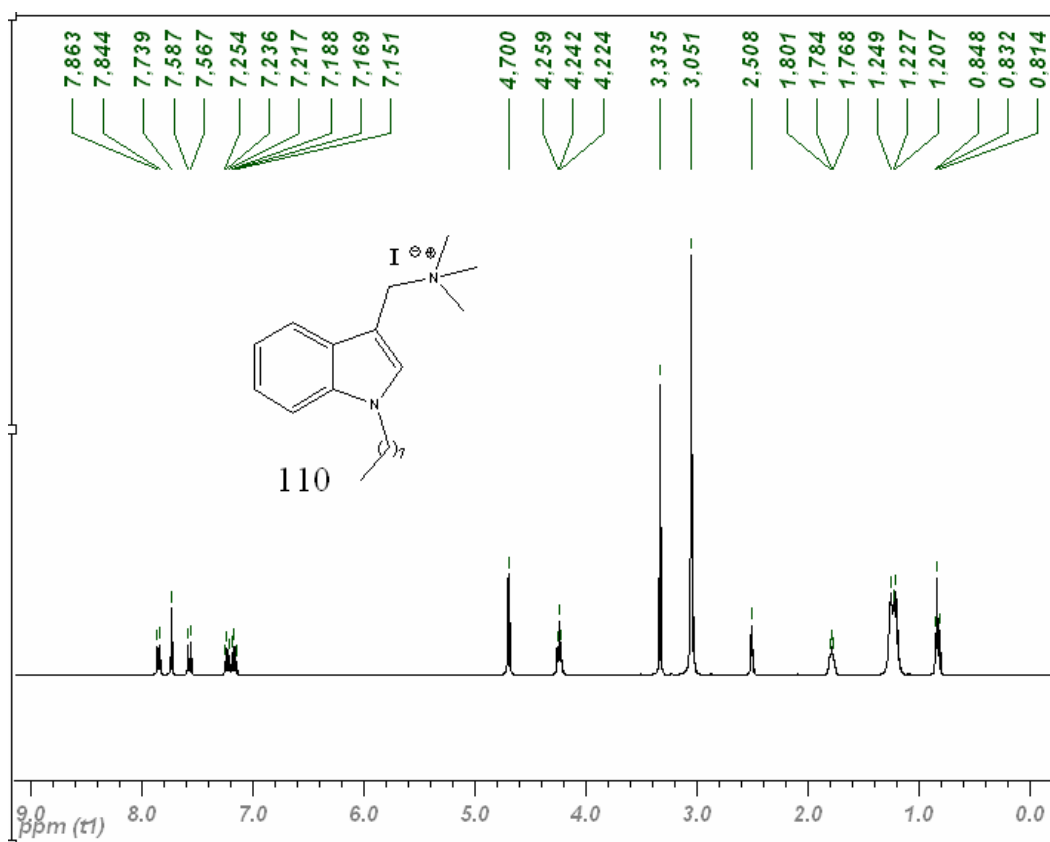
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 108



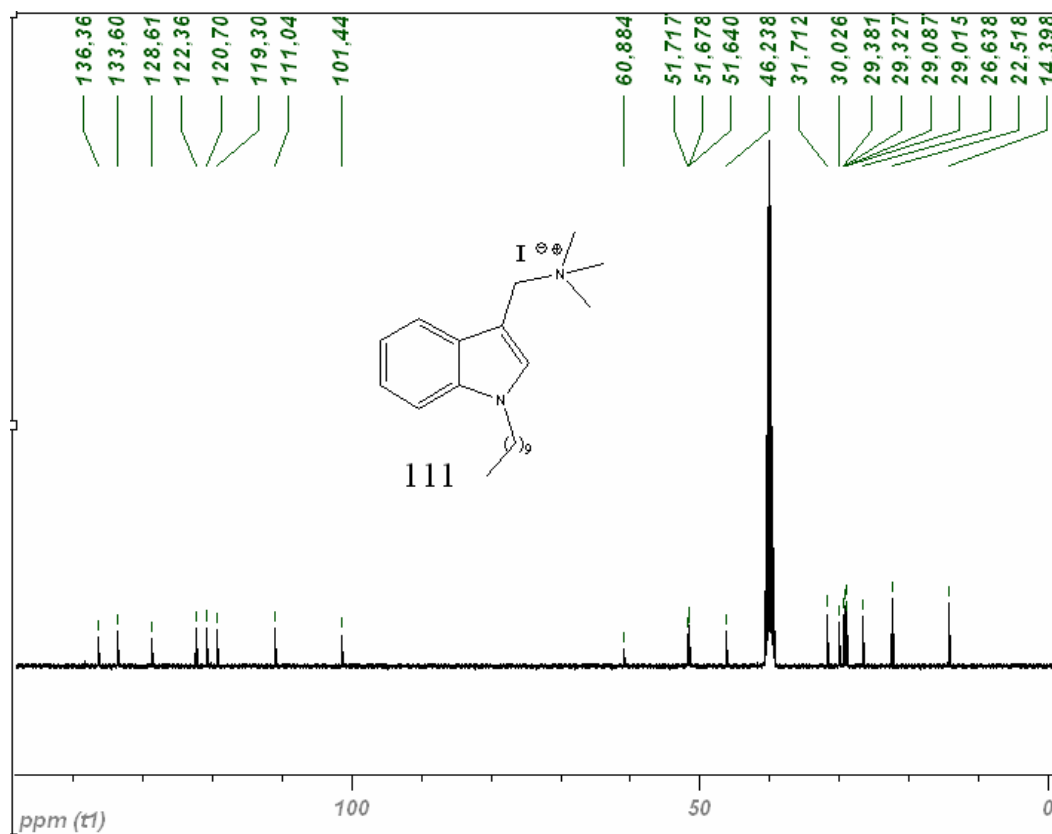
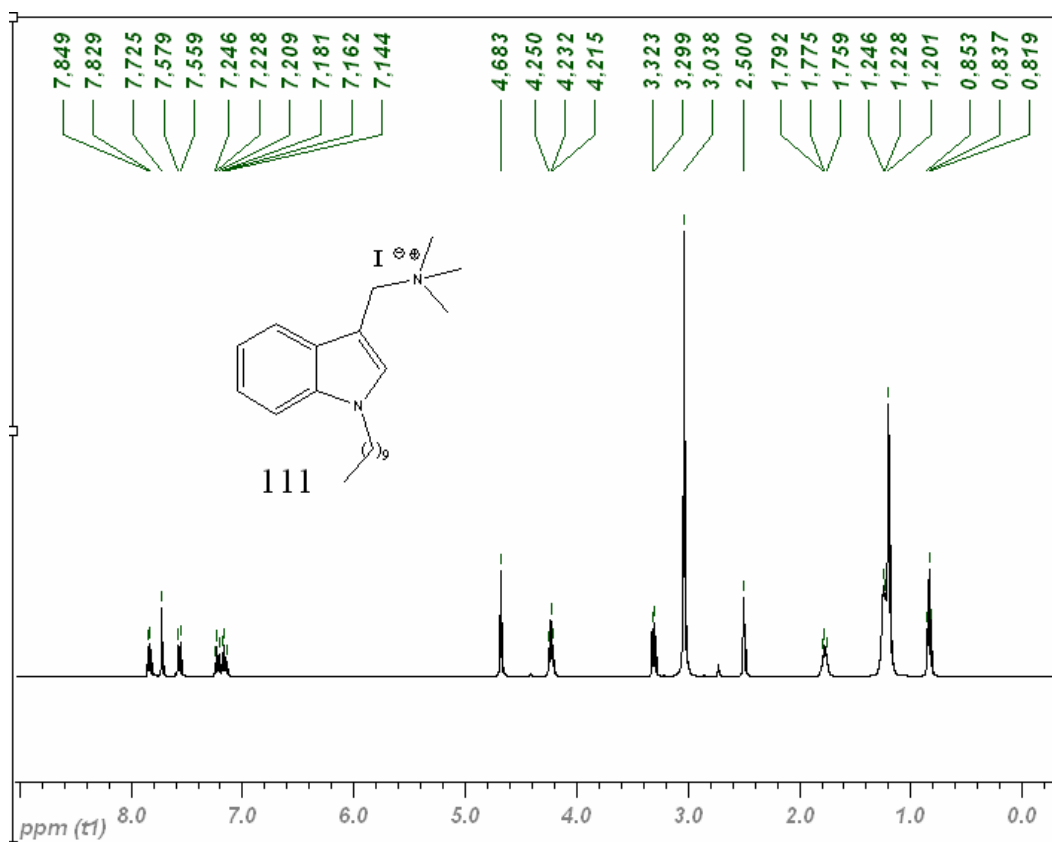
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en CDCl<sub>3</sub>/DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 109



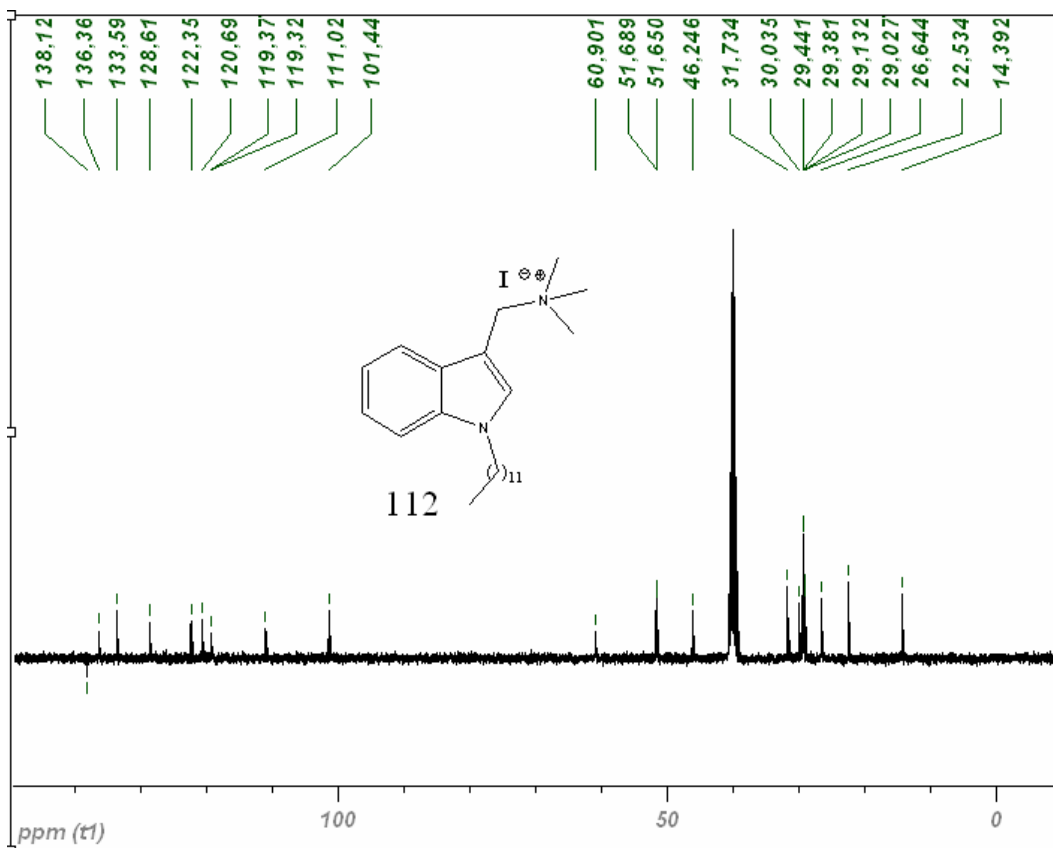
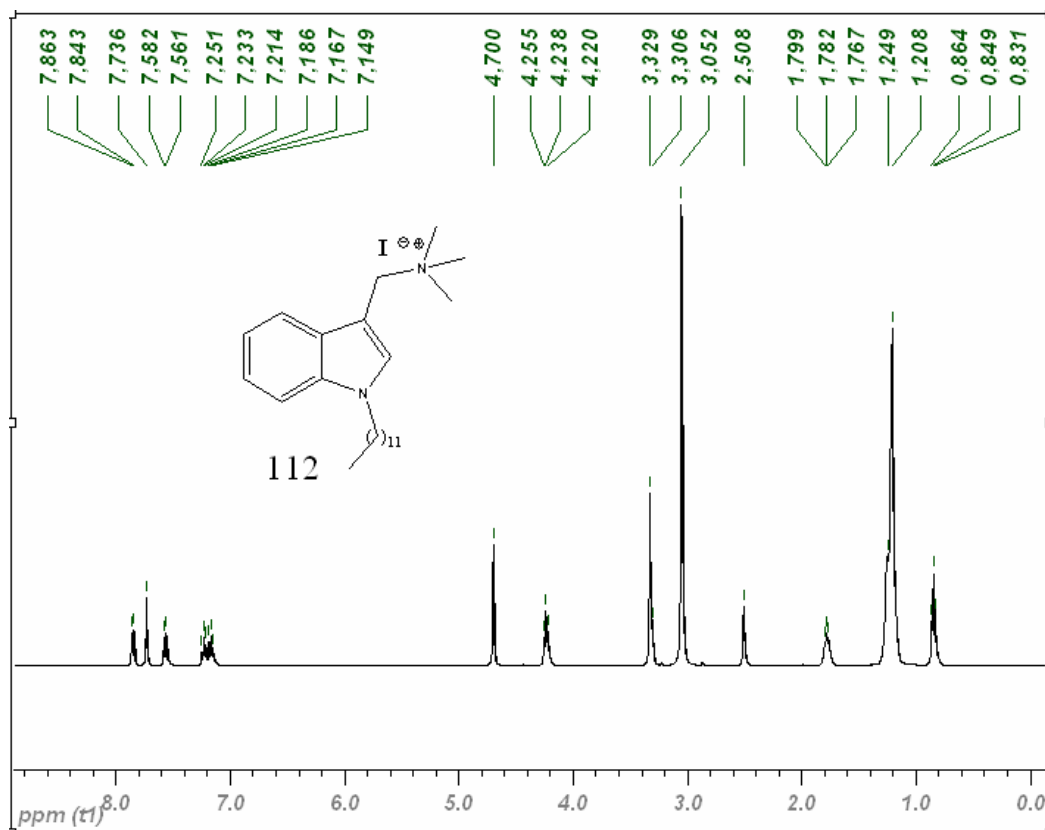
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 110



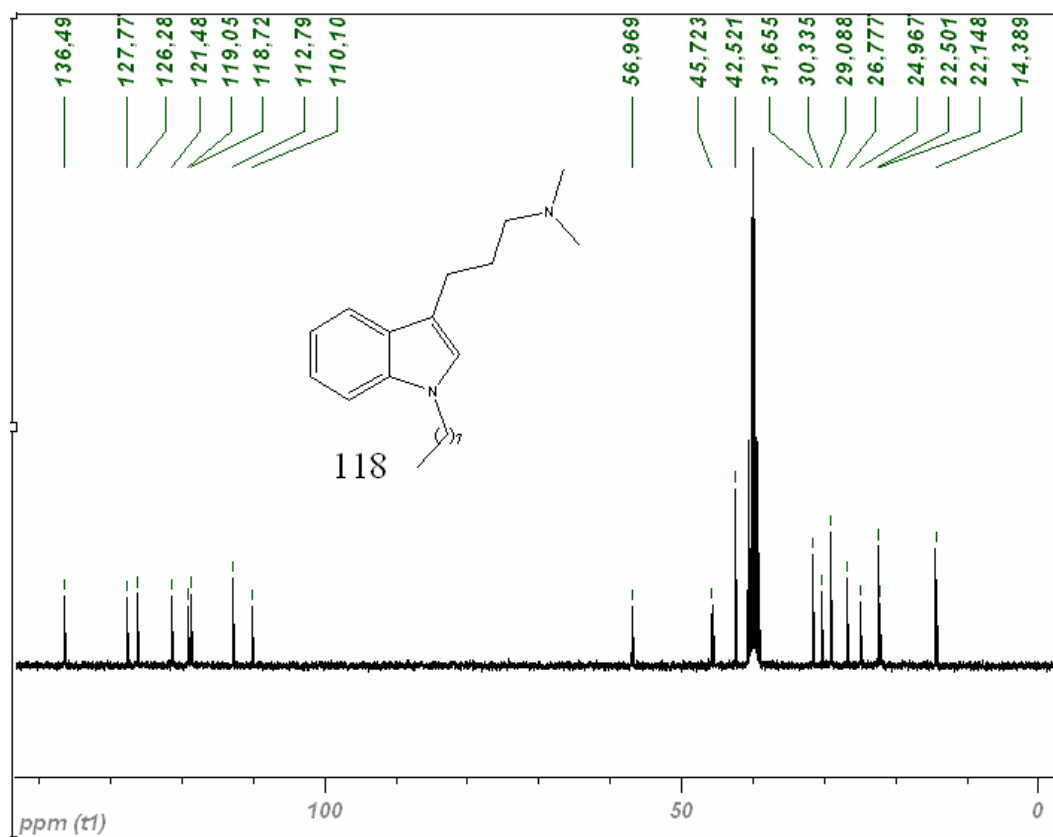
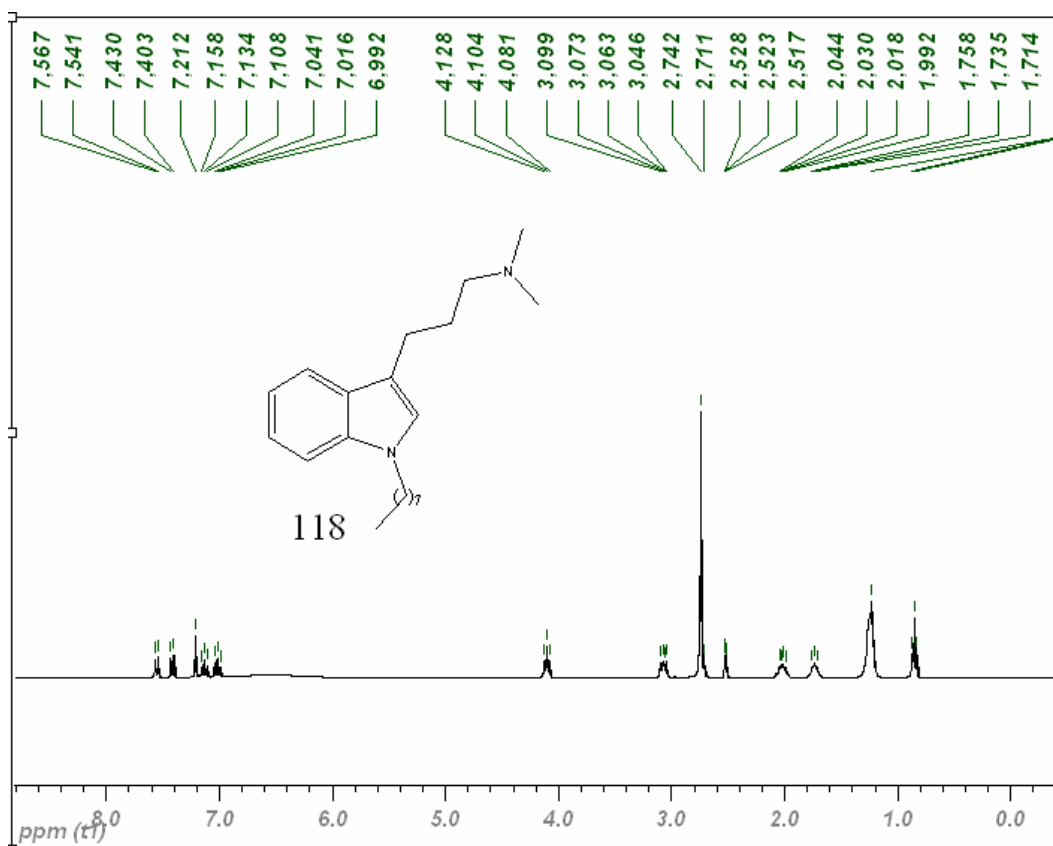
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 111



Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 112

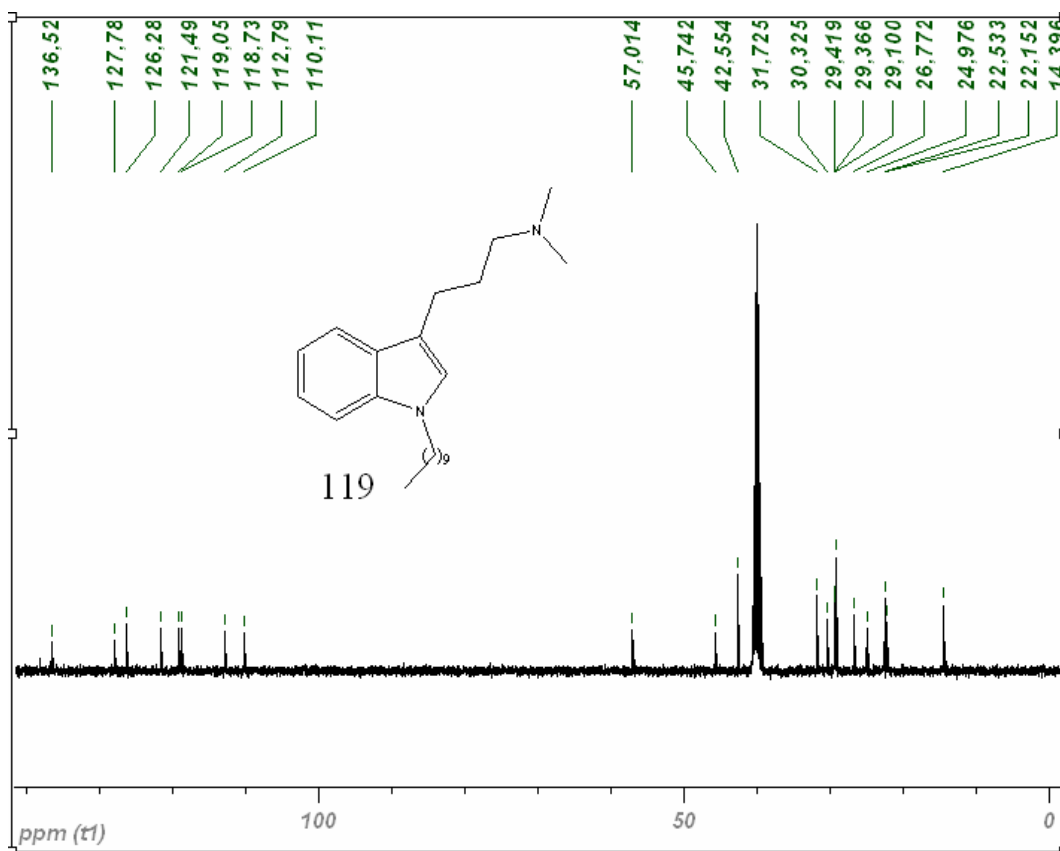
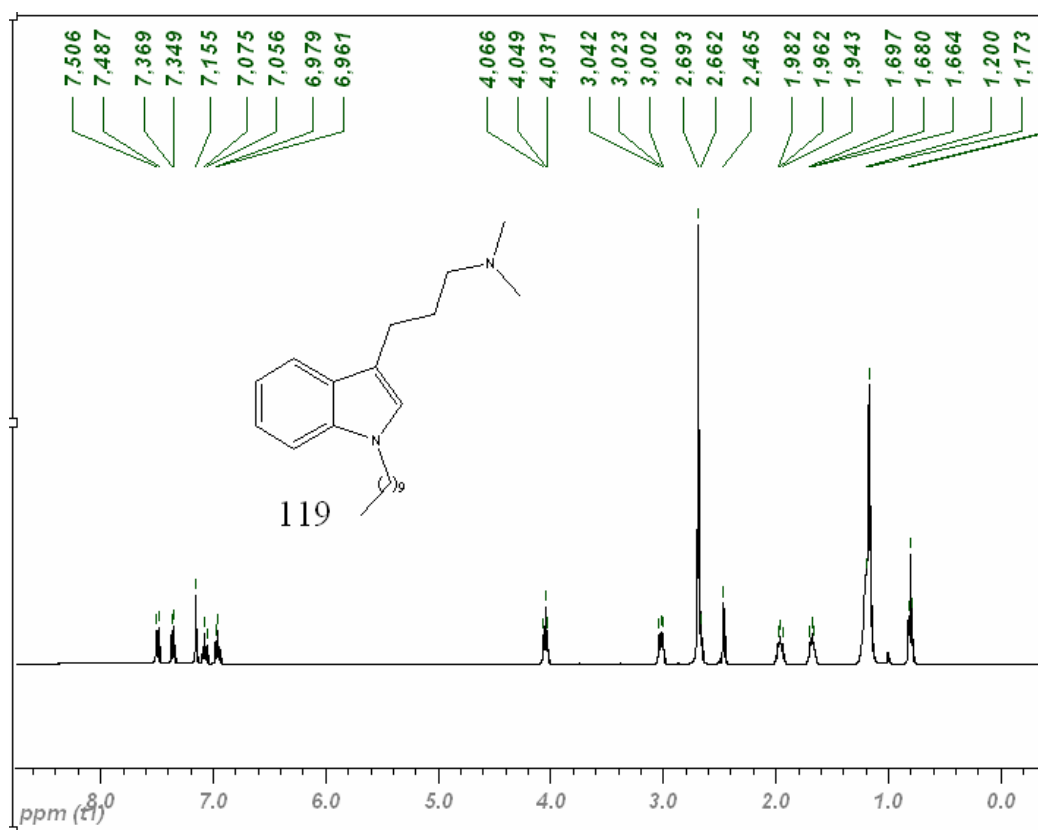


Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 118

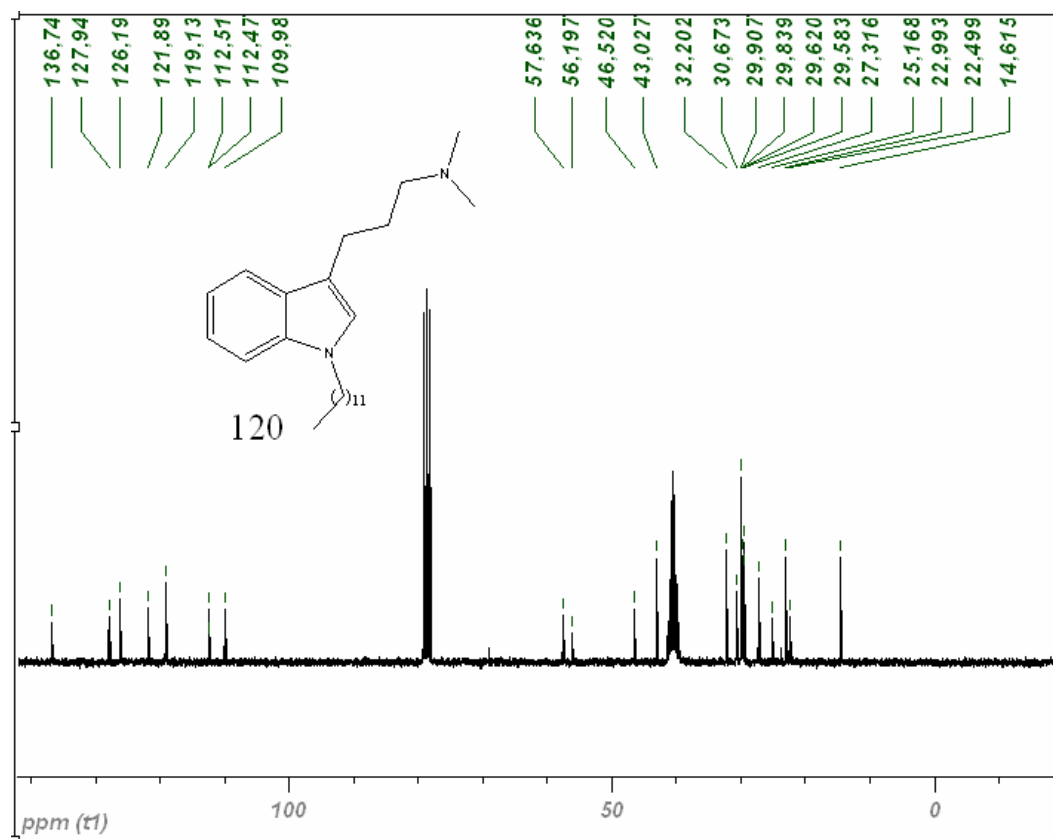
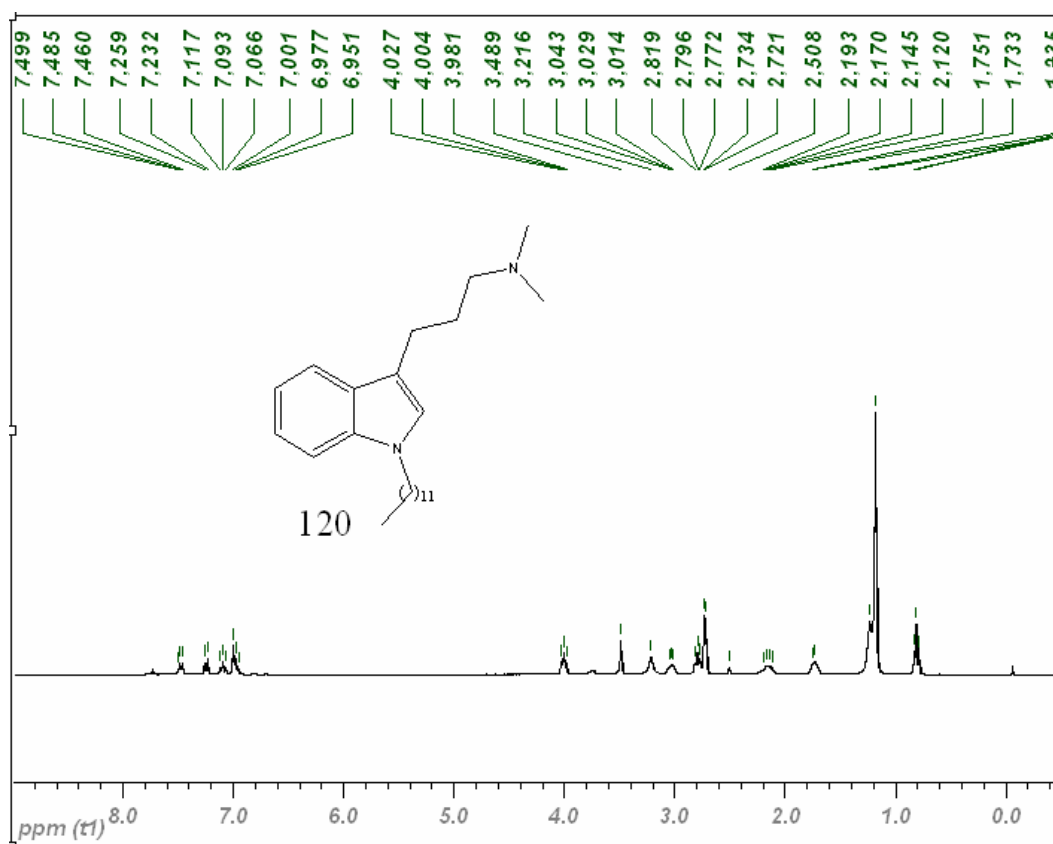




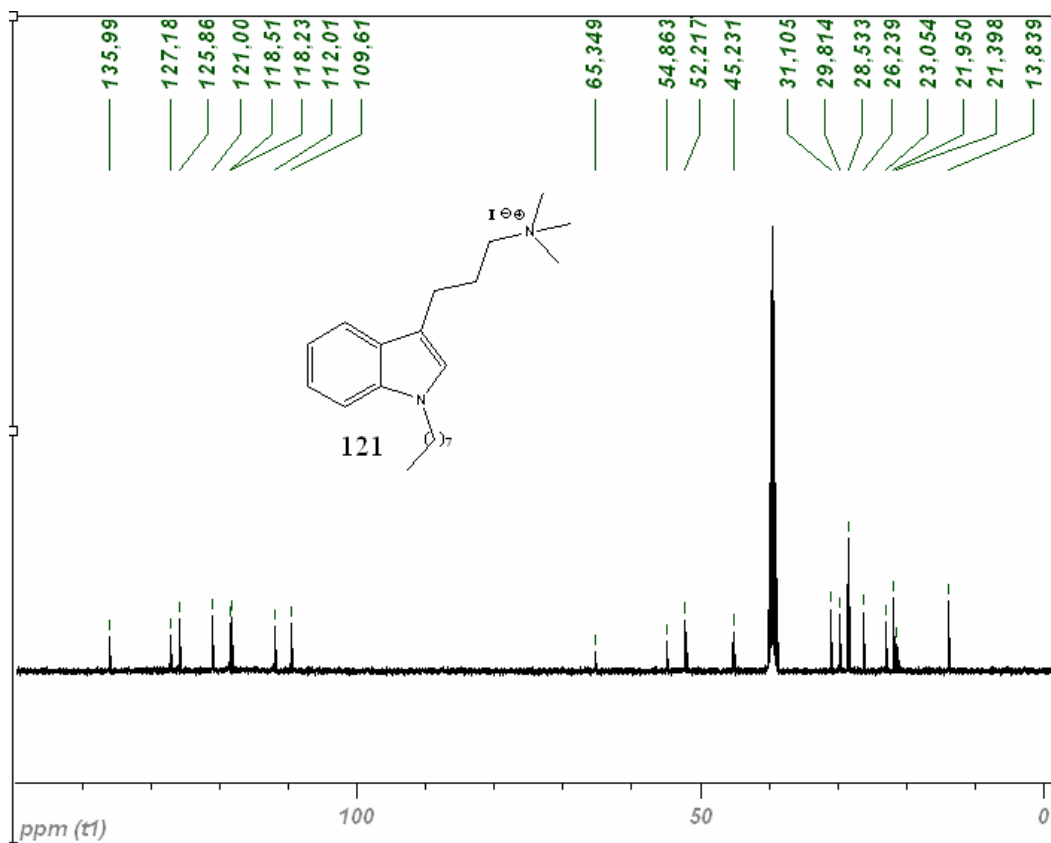
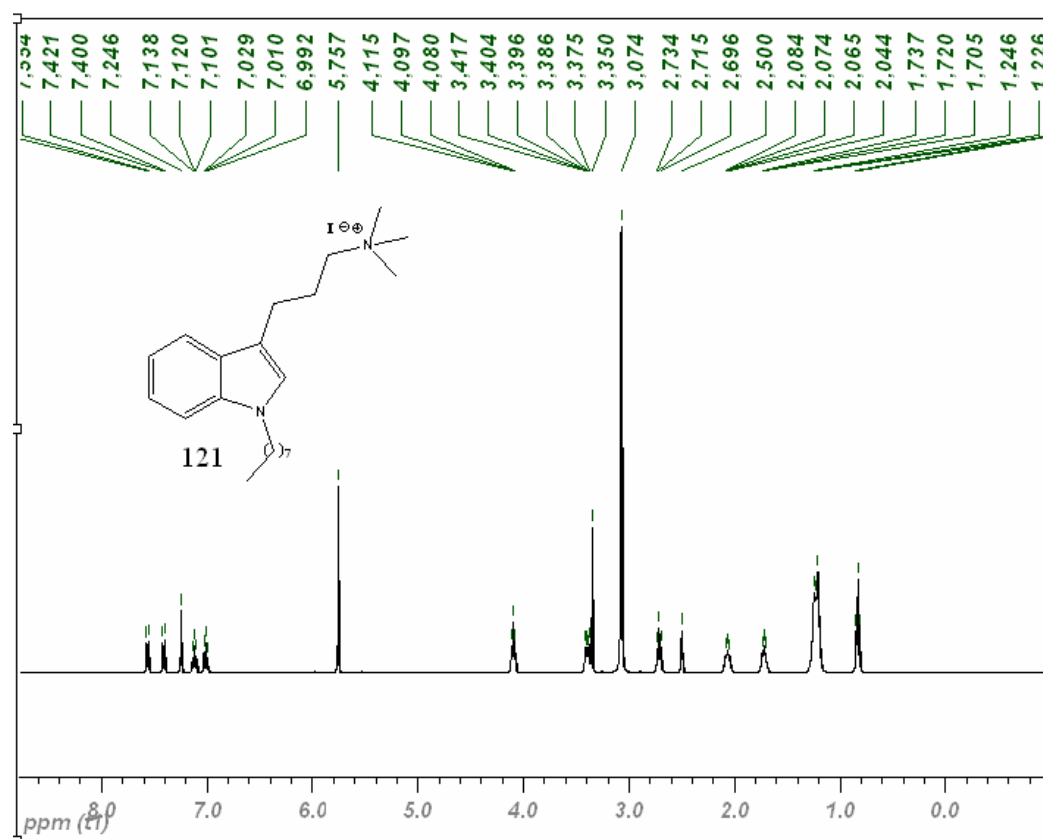
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 119



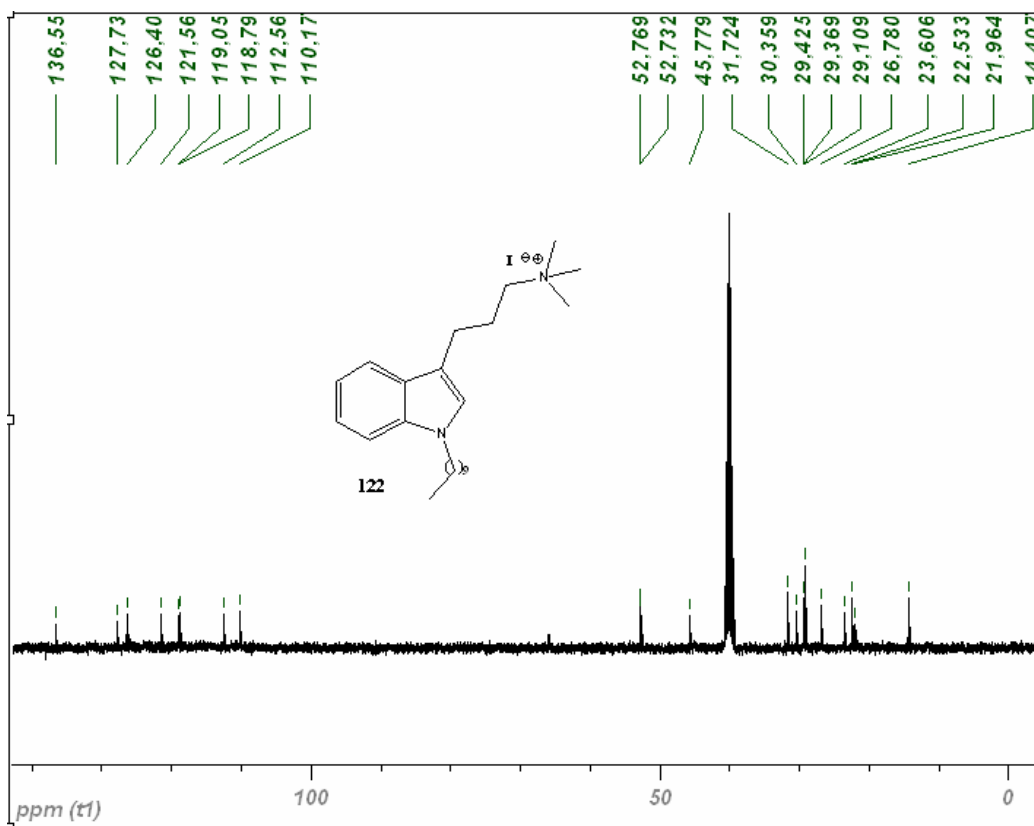
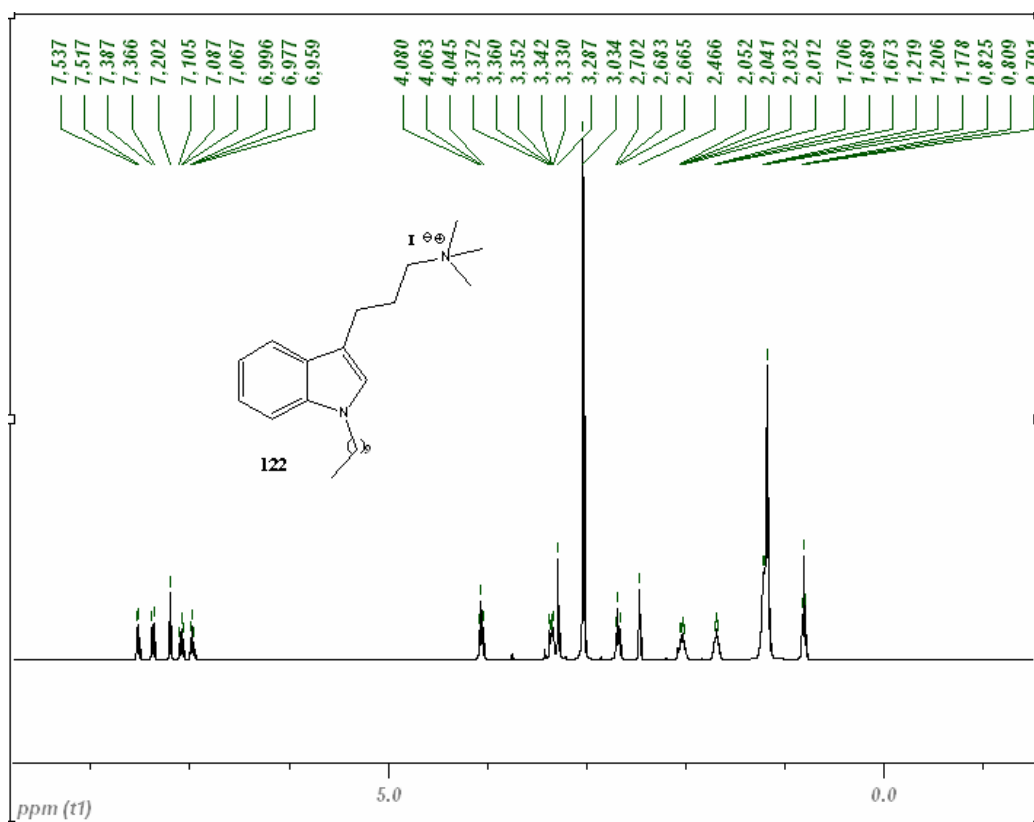
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en CDCl<sub>3</sub>/DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 120



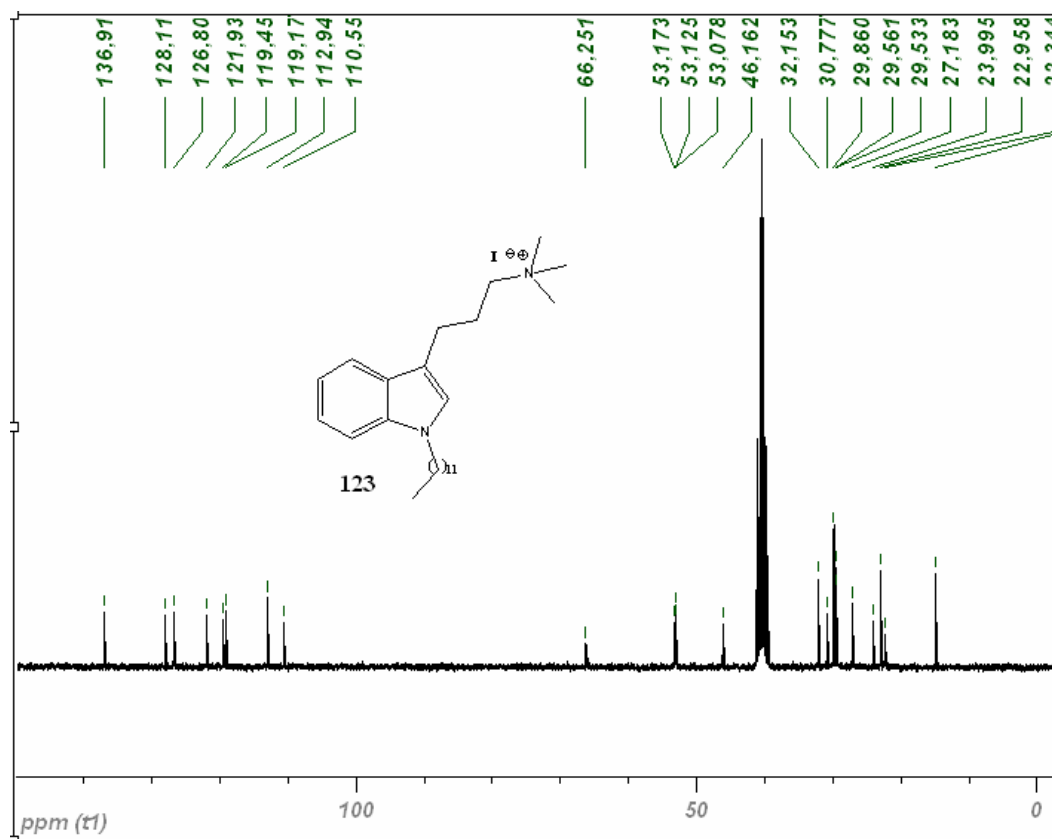
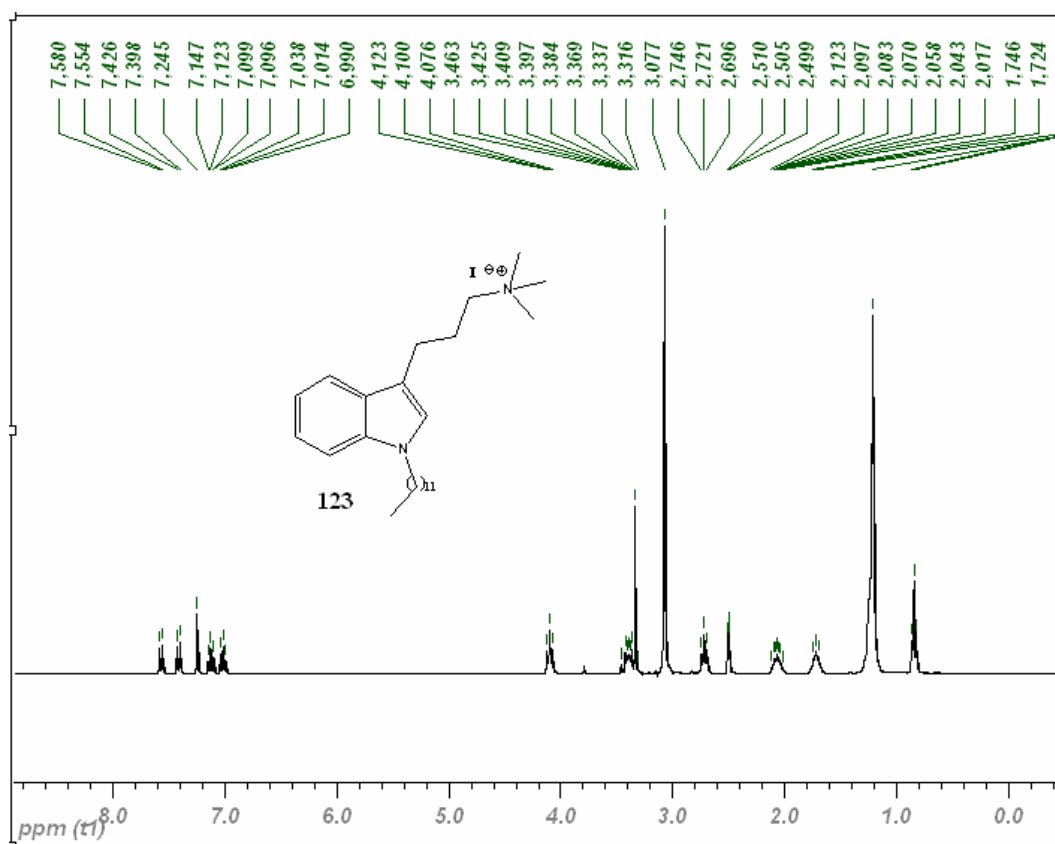
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 121



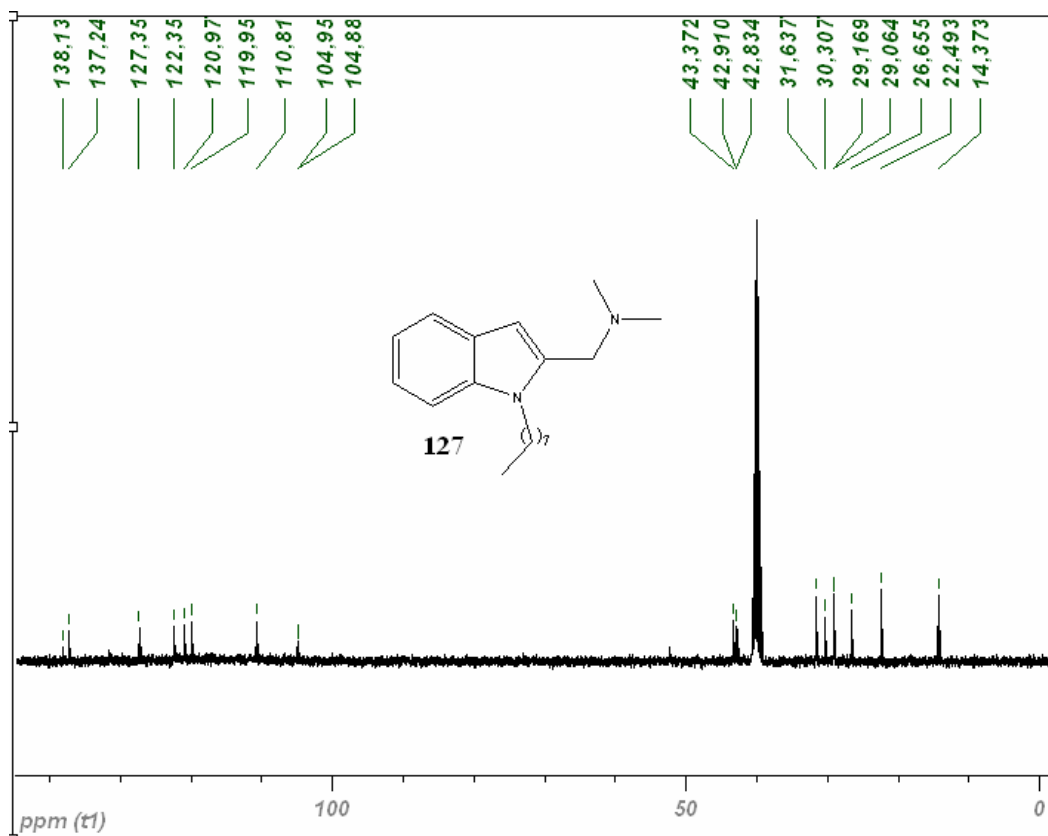
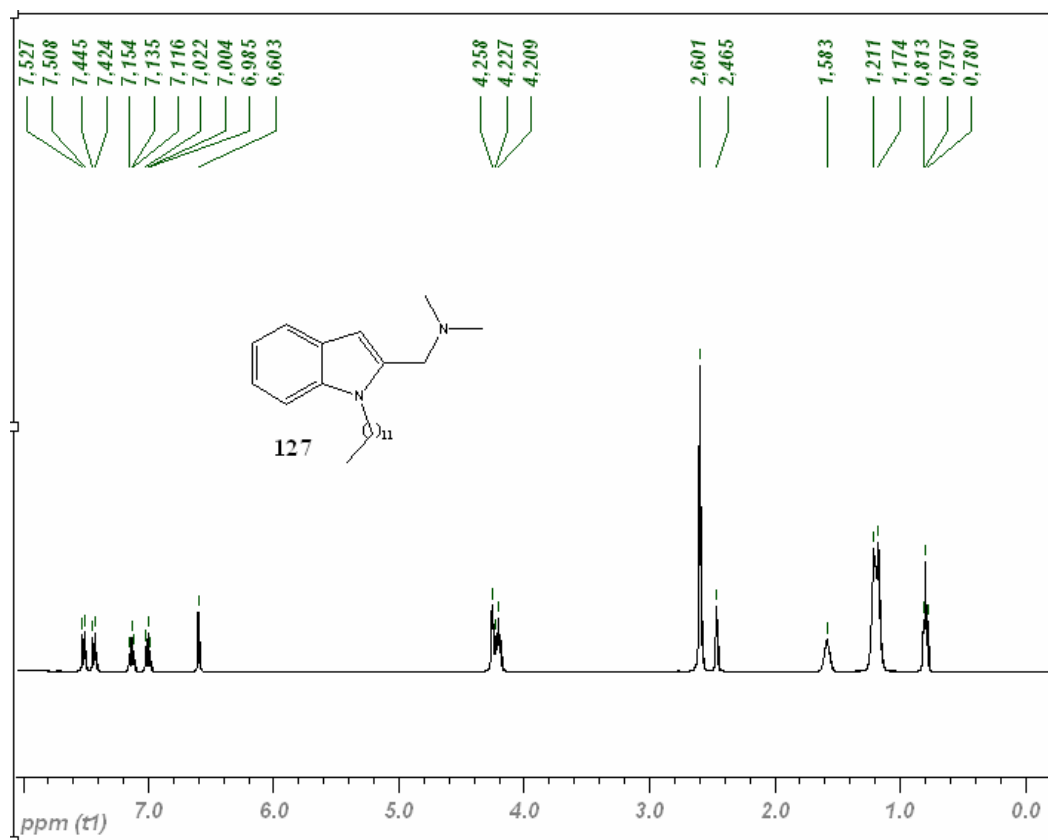
Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 122



Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 123



Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 127



Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO-*d*<sub>6</sub> del compuesto 128

