



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas  
Departamento de Química Orgánica y Fisicoquímica

**“ESTUDIO DE SÍNTESIS Y ACOPLAMIENTO MOLECULAR  
INDUCIDO DE NUEVOS DERIVADOS *N*-{4-[4-(1*H*-INDOL-  
2-CARBONIL)-1-PIPERAZINIL]FENILARILAMIDAS.  
HETERO BIS-LIGANDOS CON POTENCIAL ACTIVIDAD  
SEROTONINERGICA 5-HT<sub>1A</sub> EN LA BUSQUEDA DE  
NUEVAS MOLECULAS ANTIDEPRESIVAS.”**

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

**JUAN ANDRÉS ANDRADES LAGOS**

DIRECTOR DE TESIS  
Dr. Hernán Armando Pessoa Mahana

PROFESOR PATROCINANTE:  
Dr. Hernán Armando Pessoa Mahana

CODIRECTOR DE TESIS  
Dr. Gerald Amilcar Zapata Torres

Santiago, Chile 2013



## AGRADECIMIENTOS

Al finalizar esta etapa quiero agradecer a muchas personas que han sido parte de este proceso y etapa de mi vida y espero no olvidar a nadie.

En primer lugar agradecer a mi tutor, Dr Hernán Pessoa, el cual me abrió las puertas de su laboratorio, me entregó ayuda, conocimientos y por sobre experiencias de vida que me impulsaron a decidir el camino que he tomado hoy en día, el de la academia. Gracias por sobre todo, por ser la gran persona que es, le estaré eternamente agradecido.

Al Dr Gerald por su tiempo y enseñanzas en el trabajo. Al Dr David Vázquez quien se preocupó por mi trabajo mucho más que solo como un corrector, gracias por su ayuda, apoyo y calidez humana.

Quiero agradecer de manera muy especial a toda a mi familia, a mis padres, Celmira y Juan, que han dado todo por mi y se han sacrificado día y noche para permitirme ser quien soy, a mis hermanos, Alicia y Mauricio, que siempre me han apoyado y acompañado, a mis abuelitos, Marina y José, gracias por enseñarme que es posible volar, a todos mis tíos, primos que siempre han estado pendientes y preocupados de mi, y a mi polola Camila, que ha sido una gran compañera de vida cuidándome, apoyándome y porque no decirlo aguantándome. Gracias a todos, esto no podría haber sido posible sin ustedes.

A mis compañeros de Laboratorio, Oney por tu apoyo y consejos cuando el camino era difícil, a Paul, Christopher y Cristian por toda la ayuda prestada, por su tiempo y simpatía, a Horacio, Cynthia, y a todos los alumnos de unidad de investigación, por sus consejos, paciencia y buena onda. Todos ustedes me hicieron grato el trabajo del día a día en el laboratorio.

A todos los amigos que he conocido en esta vida universitaria, pero en especial a Javier, gracias por estar en las buenas y en las malas, gracias por tu amistad y compañerismo, a Feñita y Julis mis grandes amigas, gracias por su preocupación, su alegría y buenos momentos que me han entregado, a Daniel por su ayuda a amistad tanto en pre como en postgrado, a Nelson que se ha pasado con su ayuda en el laboratorio y ahora en este camino del doctorado, a Marcelo por sus consejos y por creer y acompañarme en los proyectos futbolísticos, mis compañeros de equipo y los de mi querida Selección de Fútbol de Ciencias Químicas y Farmacéuticas.

A todos esos profesores que dieron la posibilidad de trabajar y ser ayudante de diferentes asignaturas y los que me han apoyado en diferentes proyectos.

A mis amigos Institutanos que a pesar de los años siguen estando conmigo.

A FONDECYT por su apoyo a través del proyecto N° 1090169

## TABLA DE CONTENIDOS

	Página
AGRADECIMIENTOS.	III
TABLA DE DE CONTENIDOS	IV
INDICE DE FIGURAS	VII
INDICE DE TABLAS	VIII
ABREVIATURAS DE SIGLAS	IX
ABREVIATURAS DE AMINOACIDOS	X
RESUMEN	XI
SUMMARY	XII
<b>Página</b>	
<b>1. INTRODUCCIÓN.</b>	<b>1</b>
Teorías de la depresión	1
Serotonina, historia y sus funciones.	2
Receptores Serotoninérgicos.	3
Blancos terapéuticos para la acción de fármacos antidepresivos.	4
Núcleo indólico y esqueleto arilpiperazínico.	7
<b>2. HIPÓTESIS.</b>	<b>11</b>
<b>3. OBJETIVO GENERAL</b>	<b>11</b>
<b>4. OBJETIVOS ESPECIFICOS</b>	<b>11</b>
<b>5. MATERIALES Y EQUIPOS.</b>	<b>12</b>
Materiales.	12
Equipos.	13
<b>6. DESARROLLO EXPERIMENTAL.</b>	<b>14</b>
2-[4-(4-Nitrofenil)-1-piperazinil]carbonil}-1 <i>H</i> -indol ( <b>2a</b> ).	14
4-[4-(1 <i>H</i> -2-Indolilcarbonil)-1-piperazinil]-anilina ( <b>3a</b> ).	15
N-{4-[4-(1 <i>H</i> -Indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida ( <b>4a</b> ).	16
4-Cloro- <i>N</i> -{4-[4-(1 <i>H</i> -indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida ( <b>4b</b> ).	17
3-Fluoro- <i>N</i> -{4-[4-(1 <i>H</i> -indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida ( <b>4c</b> ).	18
3-Bromo- <i>N</i> -{4-[4-(1 <i>H</i> -indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-	19

benzamida ( <b>4d</b> ).	
4-Metil- <i>N</i> -{4-[4-(1 <i>H</i> -indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}- benzamida ( <b>4e</b> ).	20
4-Fluoro- <i>N</i> -{4-[4-(1 <i>H</i> -Indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}- benzamida ( <b>4f</b> ).	21
3-Metoxi- <i>N</i> -{4-[4-(1 <i>H</i> -Indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}- benzamida ( <b>4g</b> ).	22
<b>7. RESULTADOS Y DISCUSIONES.</b>	23
Estudio sintético de los ligandos sintetizados.	23
•Obtención del derivado ( <b>2a</b> ).	24
•Obtención del derivado ( <b>3a</b> ).	27
•Obtención del derivado ( <b>4a</b> ).	28
•Obtención del derivado ( <b>4b</b> ).	28
•Obtención del derivado ( <b>4c</b> ).	29
•Obtención del derivado ( <b>4d</b> ).	30
•Obtención del derivado ( <b>4e</b> ).	30
•Obtención del derivado ( <b>4f</b> ).	31
•Obtención del derivado ( <b>4g</b> ).	32
Estudios de acoplamiento molecular de <i>N</i> - {4-[4-(1 <i>H</i> -Indol-2- carbonil)-1-piperazinil]fenil}arilamidas al receptor 5HT <sub>1A</sub> .	33
Estudio de acoplamiento molecular de la familia de bis-ligandos sintetizados 4(a-h).	35
•Estudio del complejo ligando receptor para el derivado 4a.	37
❖ Estudio del complejo ligando receptor para el derivado 4a <sub>1</sub> .	37
❖ Estudio del complejo ligando receptor para el derivado 4a <sub>2</sub> .	40
•Estudio del complejo ligando receptor para el derivado 4b.	42
•Estudio del complejo ligando receptor para el derivado 4c.	43
•Estudio del complejo ligando receptor para el derivado 4d.	45
•Estudio del complejo ligando receptor para el derivado 4e.	47
❖ Estudio del complejo ligando receptor para el derivado 4e <sub>1</sub> .	47
❖ Estudio del complejo ligando receptor para el derivado 4e <sub>2</sub> .	48
•Estudio del complejo ligando receptor para el derivado	49

4f.		
•Estudio del complejo ligando receptor para el derivado		50
4g.		
❖ Estudio del complejo ligando receptor para el derivado 4g <sub>1</sub> .		51
❖ Estudio del complejo ligando receptor para el derivado 4g <sub>2</sub> .		52
8.	<b>CONCLUSIONES.</b>	54
9.	<b>REFERENCIAS.</b>	55
10.	<b>ANEXO.</b>	57

## INDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Estructuras de los principales neurotransmisores monoaminérgicos del SNC.	2
Figura 2	Estructura de la Reserpina, alcaloide utilizado como fármaco antihipertensivo.	2
Figura 3	Síntesis endógena de Serotonina.	3
Figura 4	Estructura de la Moclobemida, antidepresivo inhibidor selectivo de la MAO-A.	5
Figura 5	Estructura de los Antidepresivos tricíclicos.	6
Figura 6	Estructura de los Inhibidores Selectivos de la Recaptación de Serotonina.	6
Figura 7	Estructura de la Venlafaxina y Bupropión.	7
Figura 8	Estructura de la Vilazodona.	7
Figura 9	Cuadro resumen de las actividades biológicas estudiadas y atribuidas al núcleo indólico.	8
Figura 10	Fármacos que actúan sobre receptores 5-HT <sub>1A</sub> .	9
Figura 11	Esqueleto de benzotiofenpiperazinas.	9
Figura 12	Familia de Estudio. R= H, Cl, F, Br, OCH <sub>3</sub> , CH <sub>3</sub> .	10
Figura 13	Familia de Estudio. R= H, Cl, F, Br, CH <sub>3</sub> , OCH <sub>3</sub> .	23
Figura 14	Esquema retrosintético para la obtención de la familia.	23
Figura 15	Mecanismo propuesto de formación de compuesto <b>2a</b> .	25
Figura 16	Mecanismo alternativo de formación del compuesto <b>2a</b> .	26
Figura 17	Estructura tridimensional de receptor 5-HT <sub>1A</sub> obtenido.	34
Figura 18	Estructura general de los compuestos sintetizados.	35
Figura 19	Representación de la orientación del compuesto <b>4a</b> .	37
Figura 20	Representación de la interacción entre el Asp 116 y el nitrógeno protonado del compuesto <b>4a</b> <sub>1</sub> .	38
Figura 21	Representación de la interacción entre la tyr 96 y el compuesto <b>4a</b> <sub>1</sub> .	38
Figura 22	Representación de la interacciones entre el compuesto <b>4a</b> <sub>1</sub> y Phe 361 y 362.	38
Figura 23	Representación de la interacción entre las Cys 120 y 187 con el compuesto <b>4a</b> <sub>1</sub> .	39
Figura 24	Representación de la interacción entre diferentes aminoácidos y el compuesto <b>4a</b> <sub>1</sub> .	39
Figura 25	Representación de la interacción entre la tyr Asn 386 y Try 390 y el compuesto <b>4a</b> <sub>1</sub> .	40
Figura 26	Representación de la interacción entre la Asp 116 y el compuesto <b>4a</b> <sub>2</sub> .	40
Figura 27	Representación de la interacción entre el compuesto <b>4a</b> <sub>2</sub> y Phe361 y 362.	41
Figura 28	Representación de la interacciones del compuesto <b>4a</b> <sub>2</sub> y aminoácidos que forman parte de receptor.	41
Figura 29	Representación de la interacción entre Asn 386 y Tyr 96 con el compuesto <b>4a</b> <sub>2</sub> .	42

Figura 30	Representación de la orientación del compuesto <b>4b</b> .	43
Figura 31	Representación orientación del compuesto <b>4c</b> .	45
Figura 32	Representación orientación del compuesto <b>4d</b> .	46
Figura 33	Representación de las orientaciones del compuesto <b>4e</b> .	47
Figura 34	Representación orientación del compuesto <b>4f</b> .	50
Figura 35	Representación de las orientaciones del compuesto <b>4g</b> .	51

## INDICE DE TABLAS

		Página
Tabla 1	Derivados indólicos y actividad biológica.	8
Tabla 2	Aminoácidos responsables de la formación del bolsillo hidrofílico.	34
Tabla 3	Resumen de los resultados obtenidos del estudio de docking de los compuestos sintetizados.	36
Tabla 4	Resumen de las interacciones que presentaron los ligandos con los aminoácidos que componen el receptor.	53

## Abreviaturas

5-HT	5-hidroxitriptamina (Serotonina)
5-HIAA	Ácido 5-hidroxiindolilacético
OMS	Organización Mundial de la Salud
ENS	Encuesta Nacional de Salud
LCR	Líquido Céfalo Raquídeo
RAPG	Receptor Acoplado a Proteína G
MAO	Monoaminoxidasa
ATC	Antidepresivos Tricíclicos
ISRS	Inhibidores Selectivos de la Recaptación de Serotonina
SNC	Sistema Nervioso Central
SNP	Sistema Nervioso Periférico
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
DMSO-d <sub>6</sub>	Dimetilsulfóxido deuterado
TMS	Tetrametilsilano
IR	Infrarrojo
DMAP	Dimetilaminopiridina
DCC	Diciclohexilcarbodiimida
B3LYP	Becke, three-parameter, Lee-Yang-Parr.
TM	Transmembrana

## Abreviaturas de Aminoácidos

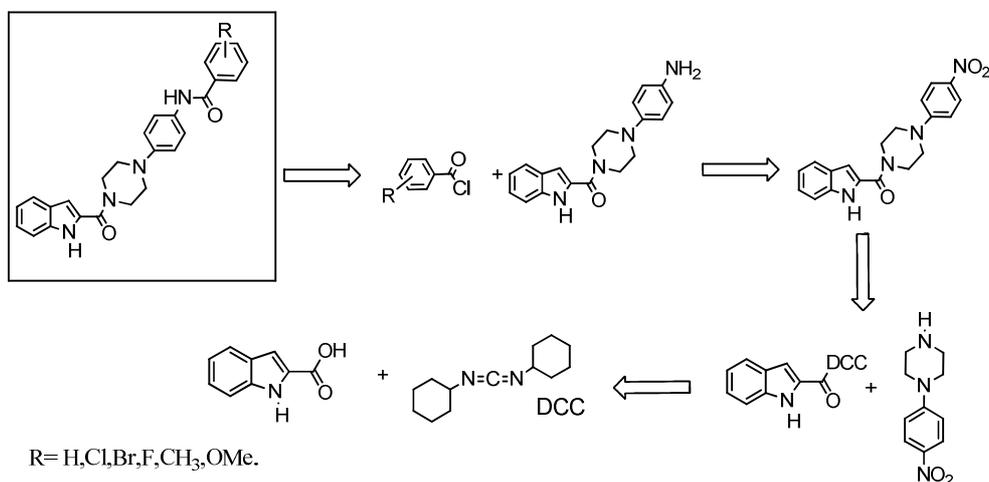
Gly	Glicina
Ala	Alanina
Val	Valina
Leu	Leucina
Ile	Isoleucina
Pro	Prolina
Phe	Fenilalanina
Tyr	Tirosina
Trp	Triptófano
Cys	Cisteina
Met	Metionina
Ser	Serina
Thr	Treonina
Lys	Lisina
Arg	Arginina
His	Histidina
Asn	Asparragina
Gln	Glutamina
Glu	Glutamato
Asp	Aspartato

## Resumen

### “ESTUDIO DE SÍNTESIS Y ACOPLAMIENTO MOLECULAR INDUCIDO DE NUEVOS DERIVADOS *N*-4-[4-(1*H*-INDOL-2-CARBONIL)-1-PIPERAZINIL]FENIL} ARILAMIDAS. HETERO BIS-LIGANDOS CON POTENCIAL ACTIVIDAD SEROTONINERGICA 5-HT<sub>1A</sub> EN LA BUSQUEDA DE NUEVAS MOLECULAS ANTIDEPRESIVAS.”

Estudios de funcionalización del 1*H*-indol-2-acido carboxílico, condujeron a la síntesis de una familia de compuestos *N*-{4-[4-(1*H*-Indol-2-carbonil)-1-piperazinil]-fenil}-arilamidas 4(a-h) con potencial actividad serotoninérgica en el sistema nervioso central. La obtención de este grupo de compuestos cursó en una secuencia de 3 pasos, obteniéndose con rendimiento global moderado.

La secuencia sintética utilizada se inició mediante la reacción del 1*H*-indol-2-acido carboxílico con *N,N'*-Diciclohexilcarbodiimida y 4-nitro-fenilpiperazina, generando la 4-nitrofenilpiperazinilamida (2) en un 78% de rendimiento. La reducción de (2) generó la amina correspondiente (3) en un 50%, que fue sometida a reacción con una serie de haluros de acilo para dar finalmente la familia 4(a-h) con rendimientos entre un 65 a 75%.



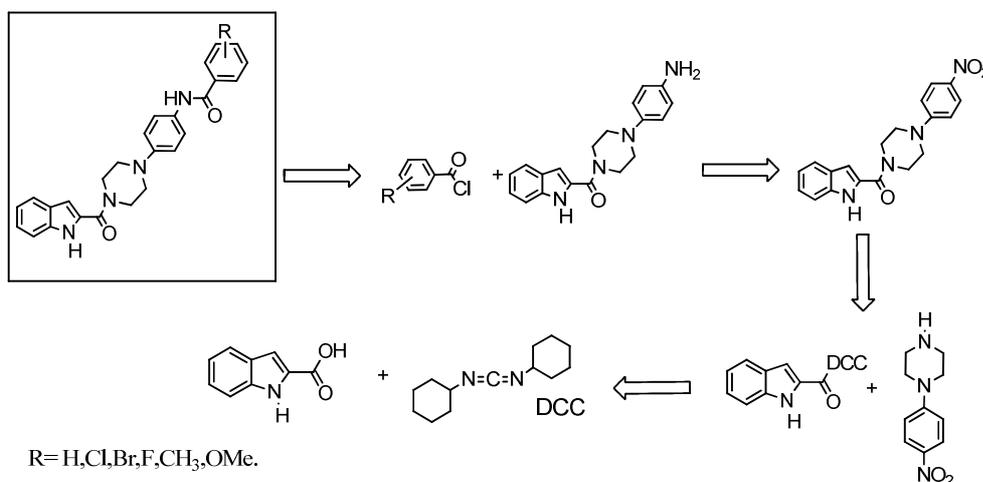
Se realizaron estudios de docking de los compuestos 4(a-h) en el receptor 5-HT<sub>1A</sub> obteniéndose puntajes de docking favorables de interacción entre los ligandos sintetizados y el receptor.

## Summary

### “SYNTHESIS AND DOCKING STUDIES OF NEW *N*-{4-[4-(1*H*-INDOLE-2-CARBONYL)-1-PIPERAZINYL]-PHENYL}-ARYLAMIDE. HETERO BIS-LIGANDS WITH POTENTIAL 5-HT<sub>1A</sub> SEROTONERGIC ACTIVITY IN THE SEARCH OF NEW ANTIDEPRESSIVE MOLECULES”.

Functionalization studies on 1*H*-indol-2-carboxylic acid, led us to the synthesis of a series of *N*-{4-[4-(1*H*-indole-2-carbonyl)-1-piperaziny]-phenyl}-arylamides 4(a-h), with potential serotonergic activity at the 5-HT<sub>1A</sub> R.

The synthetic sequence took place in a three steps sequence and started by reaction between 1*H*-indol-2-carboxylic acid and *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimide with 4-nitrophenylpiperazine, to give the amide (2) (78% yield). Further reduction of (4) provided the corresponding amine (5) in a 50% yield, which was finally reacted with a series of acyl halide to give compounds 4(a-h) with yields between 65 to 75%.



Docking studies were carried out for compounds 4(a-h) on the 5-HT<sub>1A</sub> R displaying favorable docking scores of interaction between receptor and ligand synthesized.

## **1.-INTRODUCCIÓN**

---

La depresión es un alteración patológica del estado de ánimo que se caracteriza por la presencia de tristeza, pérdida de interés o placer, sentimientos de culpa, falta de autoestima, y sensación de desamparo. Presentándose además trastornos cognitivos como dificultad para concentrarse, cambios físicos como pérdida de energía o fatiga y otros como irritabilidad, agresividad, disminución del libido, alteraciones del sueño, trastornos alimenticios y pensamiento suicida recurrente entre otros<sup>[1, 2]</sup>.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó que en el año 2002 existieron 154 millones de personas que experimentaron trastornos depresivos y de la autoestima, calculándose que en el año 2020 esta enfermedad será la segunda causa de incapacidad en el mundo<sup>[2]</sup>.

En Chile Según la Encuesta Nacional de Salud (ENS) del año 2009-2010, la prevalencia de síntomas depresivos es de un 17,2% siendo mayor en mujeres (25,7%) que en hombres (8,5%). Además se observa mayor prevalencia de estos síntomas en los segmentos de edad productiva ya que en el rango de edad de 25 a 44 y 45 a 64 años la prevalencia es de un 19,4% y 19,2% respectivamente muy por sobre los segmentos de 15 a 24 y +65 en donde la prevalencia registrada fue 14,4% y 11,2% respectivamente, lo que afecta la productividad debido a un trabajo realizado con desgano además de un mayor ausentismo laboral, lo que finalmente repercute en pérdidas económicas a nivel personal, empresarial y país<sup>[3]</sup>.

No obstante los espectaculares avances logrados en ámbitos como la neurobioquímica y/o farmacología molecular y la genómica, no se ha logrado aún disponer de un conocimiento acabado de su etiología y tratamiento<sup>[4]</sup>.

### **Teorías de la patología depresiva**

Diversas teorías han intentado explicar los mecanismos fisiológicos que conducen y caracterizan esta enfermedad. En este sentido la Teoría Monoaminérgica intentó explicar primariamente esta patología en base a una deficiencia o desbalance de los principales neurotransmisores a nivel cerebral noradrenalina, serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) y dopamina<sup>[5]</sup> (**Figura 1**).

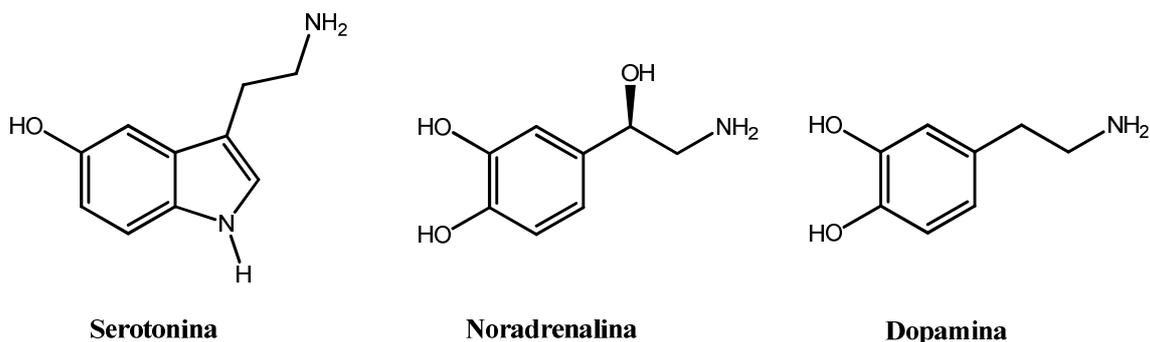


Figura 1. Estructura de los principales neurotransmisores monoaminérgicos del SNC.

Consecuente con esto, se determinó que la reserpina, un alcaloide utilizado como fármaco antihipertensivo en los años 50, bloquea el almacenamiento de monoaminas, induciendo síntomas depresivos<sup>[4, 6]</sup>. De igual forma la depleción de catecolaminas por métodos dietarios induce un relapso de los síntomas depresivos<sup>[4]</sup>.

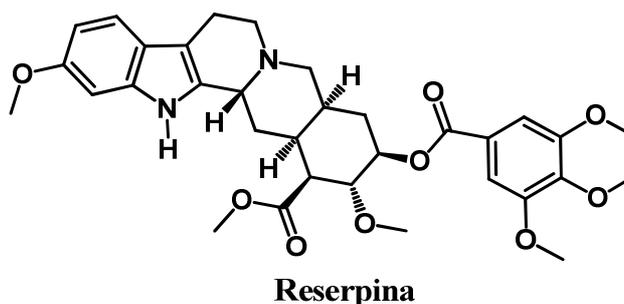


Figura 2. Estructura de la Reserpina, alcaloide utilizado como fármaco antihipertensivo.

Posterior a esto se constató el importante rol de la serotonina en la enfermedad depresiva, postulándose por tanto que su déficit sería la causa primaria de esta patología, derivándose entonces a la Hipótesis Serotoninérgica<sup>[7]</sup>. Esta hipótesis se correlaciona con estudios que demuestran niveles disminuidos del principal metabolito de la serotonina, el ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), en el líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes depresivos que intentan suicidarse<sup>[8]</sup>.

### Serotonina, historia y sus funciones:

La serotonina es un neurotransmisor formado por un anillo indólico y una cadena de etilamina en C-3, aislada por primera vez en 1930 por Erspamer y cols desde el intestino delgado llamada de esta forma desde 1940 luego de que fuera redescubierta por Irvin Page<sup>[9, 10]</sup>.

Este neurotransmisor se obtiene endógenamente a partir del aminoácido L-triptófano según el siguiente esquema (Figura 3):

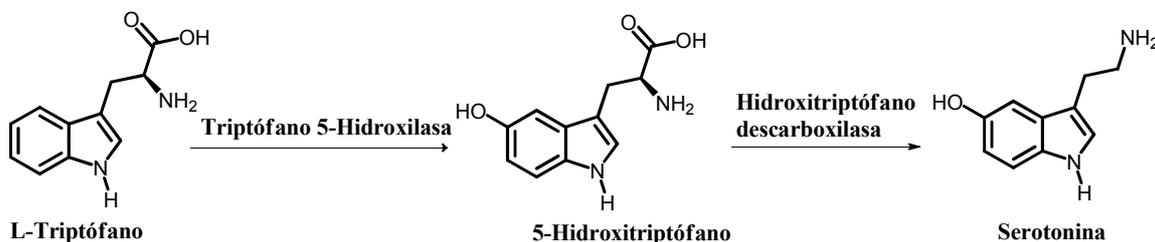


Figura 3. Síntesis endógena de Serotonina.

Cumple variadas funciones tanto a nivel central como periféricas. En relación a la primera está involucrado en el estado de ánimo, control del apetito y actividad sexual entre otros. A nivel periférico regula el peristaltismo intestinal, facilita la agregación plaquetaria y genera vasoconstricción uterina, solo por mencionar algunos<sup>[11]</sup>.

### Receptores Serotoninérgicos

Los receptores serotoninérgicos son una familia de receptores acoplados a proteína G (RAPG) del tipo A (con excepción de 5-HT<sub>3</sub> que es un canal iónico). El estudio de la subdivisión de estos receptores comenzaron en la década de los 50, con ensayos farmacológicos principalmente en intestino donde se generó la primera clasificación de receptores serotoninérgicos M y D, ya que eran bloqueados por morfina y dibenamina respectivamente.

A partir de esto se ha determinado la existencia del receptor 5-HT<sub>1</sub> subdividido en 5 subfamilias (5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1D</sub>, 5-HT<sub>1E</sub>, 5-HT<sub>1F</sub>) cada uno de ellos acoplados a proteína G<sub>i/o</sub>. Además de estos el receptor 5-HT<sub>5A</sub> también está acoplado a este tipo de proteína. El receptor 5-HT<sub>2</sub> está subdividido en 5-HT<sub>2A</sub> y 5-HT<sub>2B</sub>, ambos acoplados a proteína G<sub>q/11</sub><sup>[9]</sup>. Como se dijo anteriormente el receptor 5-HT<sub>3</sub> a diferencia de los anteriores es un canal iónico y los receptores 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>6</sub>, y 5-HT<sub>7</sub> están acoplados a proteína G<sub>s</sub>.

A pesar de lo mencionado sobre la teoría Monoaminérgica, esta no explica el hecho de que los antidepresivos modifican los sistemas de neurotransmisión en pocas horas pero el efecto antidepresivo solo se logra conseguir luego de varias semanas de tratamiento<sup>[4]</sup>.

Por este motivo se sugiere un proceso de regulación la alza (up-regulation) de los receptores 5-HT<sub>1</sub> debido al déficit del neurotransmisor que existe, en la enfermedad

depresiva. De esta forma un aumento de serotonina por la acción de ISRS, genera un aumento de concentración de serotonina en la zona somatodendrítica, generando una desensibilización de los receptores 5-HT<sub>1</sub> y la consecuente regulación a la baja (down-regulation) de estos receptores. Debido a esto se reinicia la liberación de serotonina en la zona axónica, aumentando entonces, la cantidad de neurotransmisor en la terminal axónica con la consecuente down-regulation de los receptores 5-HT postsináptico lo que se correlaciona con el inicio de la actividad antidepresiva. Es así como esta teoría explicaría el retraso en el inicio de acción de los antidepresivos<sup>[10, 12]</sup>.

De esta forma un nuevo blanco terapéutico se aprecia, ya que mientras más rápido se logre la desensibilización de receptores 5-HT<sub>1</sub>, más rápido se obtendrá el efecto antidepresivo.

### **Blancos terapéuticos para la acción de fármacos antidepresivos**

Conocer los sitios de acción de las drogas antidepresivas, nos ayuda a comprender su mecanismo de acción, perfiles de efectos secundarios además de poder contribuir a mejorar las terapias existentes hoy en día.

En este sentido podemos distinguir los siguientes sitios de acción:

#### **1. Monoaminoxidasa (MAO).**

La monoaminoxidasa es una enzima encargada de la metabolización de aminas biológicas (serotonina, adrenalina, noradrenalina y dopamina) además de xenobióticos. Por lo tanto el bloqueo de la enzima genera una disminución en la metabolización de estos neurotransmisores, con el consecuente aumento de su disponibilidad, generándose, de esta forma, la actividad antidepresiva. Estos fármacos fueron los primeros de reconocida actividad antidepresiva.

Estos fármacos fueron quedando en desuso debido a su perfil de efectos secundarios, entre los cuales se observan, crisis hipertensivas, hepatotoxicidad y riesgos fatales en sobredosis, no obstante la aparición de un inhibidor selectivo de la MAO-A, reversible (moclobemida), a motivado su reutilización debido que posee menos efectos adversos que los inhibidores irreversibles de la MAO, siendo útil en depresiones con demencias y fobia social<sup>[13]</sup>.

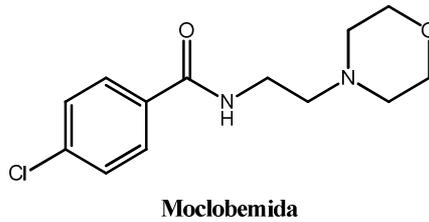


Figura 4. Estructura de la Moclobemida, antidepresivo selectivo de la MAO-A.

## 2. Bombas de recaptación de aminas:

Estas son proteínas de membrana situadas en la neurona presináptica, y tienen como función reingresar el neurotransmisor hacia la neurona presináptica desde la hendidura presináptica. Por lo tanto al inhibir su acción se aumenta la cantidad de neurotransmisor capaz de interactuar a nivel postsináptico, mejorándose la neurotransmisión y generándose de esta forma la actividad antidepresiva.

Podemos señalar la existencia de diversas bombas de recaptación, donde diferentes fármacos podrán generar su acción. En relación a esto tenemos:

- ❖ Antidepresivos tricíclicos (ATC): Son fármacos cuya estructura está constituida por tres anillos fusionados, además de poseer una cadena lateral aminada. Actúan inhibiendo la bomba de recaptación de noradrenalina, y serotonina. Fueron ampliamente utilizados pero su uso disminuyó luego de la aparición de los inhibidores de la recaptación de serotonina debido a sus efectos secundarios debido al bloqueo de receptores de histamina ( $H_1$ ) provocando sedación y aumento de peso, bloqueo alfa 1 ( $\alpha_1$ ) asociado a hipotensión y el bloqueo de receptores muscarínicos ( $M_1$ ) nivel periférico está relacionado con sequedad bucal, visión borrosa, constipación, taquicardia, arritmias, entre otros. Además de ser riesgosos en sobredosis, ya que pueden causar convulsiones y ocasionar la muerte debido a arritmias cardiacas. Dentro de este grupo encontramos fármacos como la imipramina, amitriptilina y nortriptilina<sup>[8]</sup>.

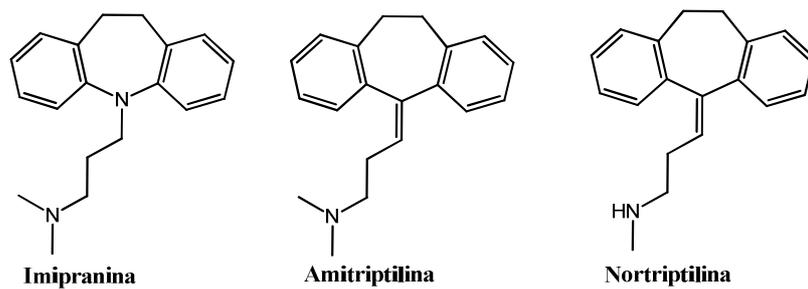


Figura 5. Estructura de los Antidepresivos Tricíclicos.

❖ Inhibidores selectivos de la recaptación de Serotonina (ISRS): Son fármacos que inhiben de forma selectiva la bomba de recaptación de serotonina, siendo más seguros y con mejor tolerabilidad que los ATC e inhibidores de la MAO, además una sobredosis no conduce a un desenlace de muerte aunque no son tan efectivos como los primeros. Dentro de sus representantes tenemos Fluoxetina, Sertralina y Citalopram<sup>[14]</sup>.

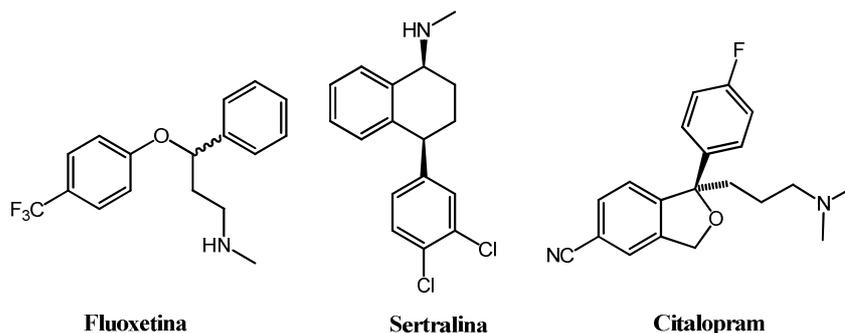


Figura 6. Estructura de los Inhibidores Selectivos de la Recaptación de Serotonina.

Además entre los antidepresivos clásicos, existe otro grupo de fármacos, de variada estructura química que actúan sobre los blancos farmacológicos ya señalados, pero además tienen características que los hacen particulares. De estos fármacos podemos señalar:

Venlafaxina: inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina y noradrenalina

Bupropión: inhibidor de la recaptación de noradrenalina y dopamina.

Trazodona: inhibidor débil de la recaptación de serotonina, antagonista de receptores 5-HT<sub>2</sub>, α<sub>1</sub> y H<sub>1</sub>.

Mianserina: Antagonista de receptores α<sub>2</sub>, 5-HT<sub>2</sub>, α<sub>1</sub> y H<sub>1</sub>.

Mirtazapina: Antidepresivo noradrenérgico y serotoninérgico específico, antagonista α<sub>2</sub>, antagonista 5-HT<sub>3</sub>, 5-HT<sub>3</sub> y H<sub>1</sub>.

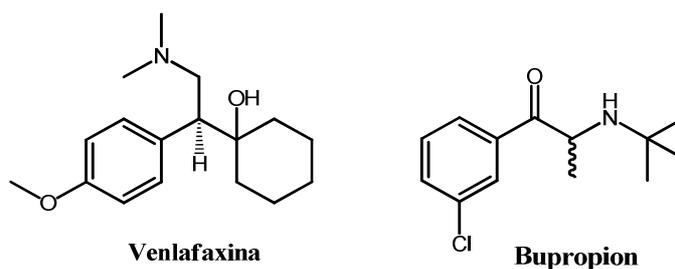


Figura 7. Estructura de la Venlafaxina y Bupropión.

### 3. Receptor 5HT<sub>1A</sub>:

Como se señaló anteriormente, este receptor emerge como un nuevo blanco terapéutico para el tratamiento de desordenes depresivos. El mecanismo de acción de fármacos se basa en la desensibilización de estos autoreceptores.

Un fármaco capaz de actuar sobre este receptor es vilazodona, una alquilindolamina, de mecanismo de acción dual, agonista parcial del receptor 5-HT<sub>1A</sub> e inhibidor de la recaptación de serotonina<sup>[15-18]</sup>.

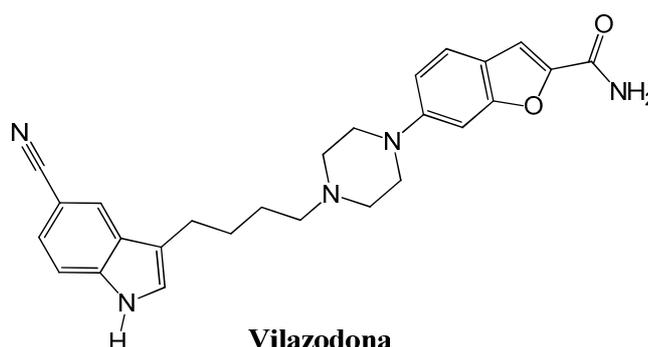


Figura 8. Estructura de la Vilazodona.

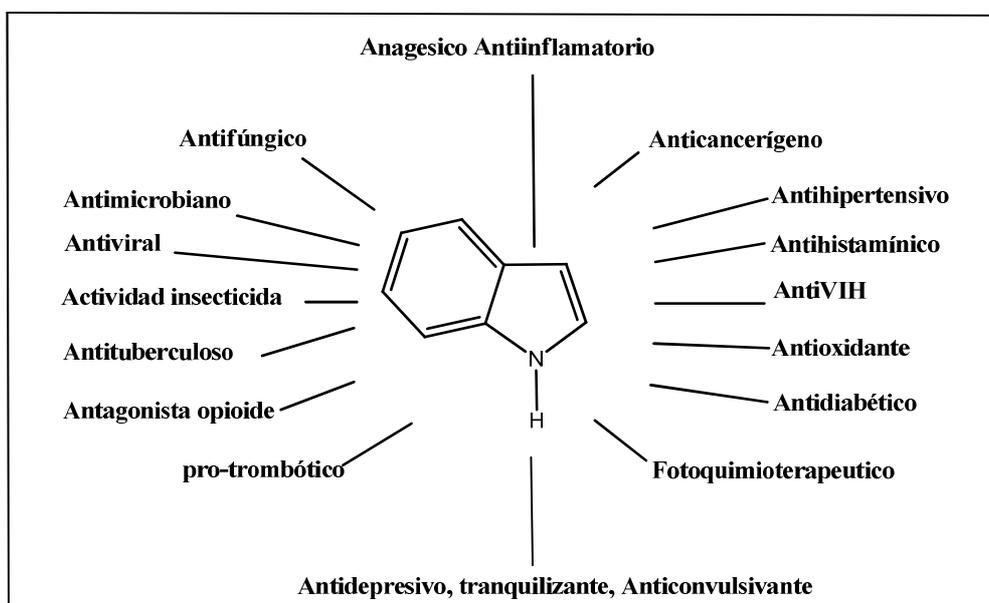
### Núcleo indólico y esqueleto arilpiperazina.

Entre los compuestos heterocíclicos, el núcleo indólico exhibe una altísima relevancia a nivel biológico debido a que, forma parte de estructuras proteicas estando asimismo presente en la arquitectura del L-Triptófano, el que posteriormente puede convertirse en serotonina (neurotransmisor de alta importancia a nivel de SNC y SNP), este a su vez puede metabolizarse a melatonina (involucrada en el ciclo vigilia-sueño), además de ser el esqueleto farmacóforo de variados compuestos medicinales. Al detallar este último punto la tabla 1 muestra las diferentes actividades farmacológicas de algunos derivados indólicos<sup>[19, 20]</sup>.

**Tabla 1:** Derivados indólicos y actividad biológica.

<b>Derivado Indólico</b>	<b>Actividad Biológica</b>
<b>Indometacina</b>	Analgésico y antiinflamatorio
<b>Fedosal</b>	Analgésico
<b>Etodolaco</b>	Antiartrítico
<b>Sumatriptán</b>	Antimigrañoso
<b>Noratriptán</b>	Estimulante de SNC
<b>Pindolol</b>	Antihipertensivo
<b>Indolmicina</b>	Antibiótico
<b>Adrenocromo</b>	Hemostático

Además de estos medicamentos diversos estudios postulan otras actividades biológicas, las cuales se resumen en el siguiente cuadro (**Figura 9**)<sup>[19]</sup>:



**Figura 9.** Cuadro resumen de las actividades biológicas estudiadas y atribuidas al núcleo indólico.

Por este motivo resulta muy interesante su utilización en la generación de nuevas moléculas, en especial que puedan generar actividad a nivel del SNC.

Diversos estudios respaldan la importancia estructural del esqueleto de arilpiperazina, en la obtención de ligandos afines al receptor 5-HT<sub>1A</sub>. Esta porción estructural se presenta en una familia de fármacos que activan receptores 5-HT<sub>1A</sub> con actividad ansiolítica, como son la buspirona, tandospirona, gepirona e ipsapirona<sup>[21-24]</sup> (**Figura 10**).

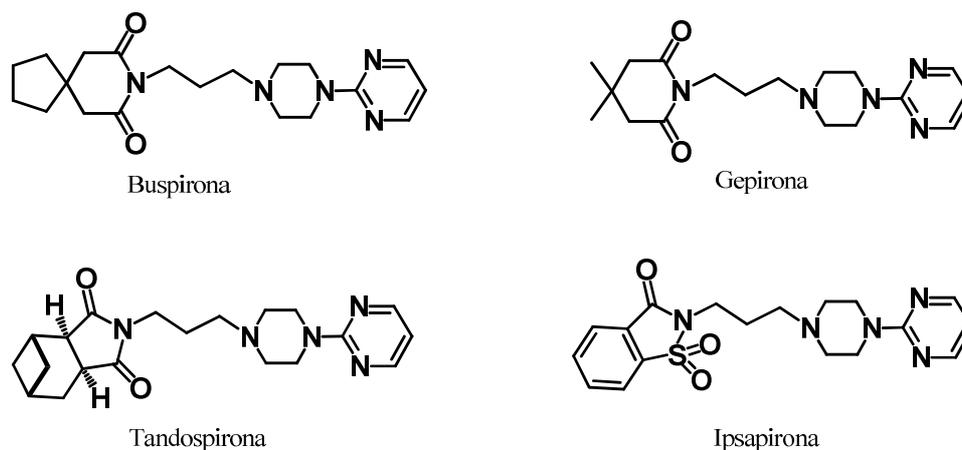


Figura 10. Fármacos que actúan sobre receptores 5-HT<sub>1A</sub>.

En este sentido, trabajos previos realizados en nuestro laboratorio Pessoa-Mahana y cols. sintetizaron de una familia de derivados 2-benzotiofenalquilpiperazinas (**Figura 11**) las que exhibieron afinidades micromolares en estudios de afinidad por el receptor 5-HT<sub>1A</sub><sup>[25]</sup>.

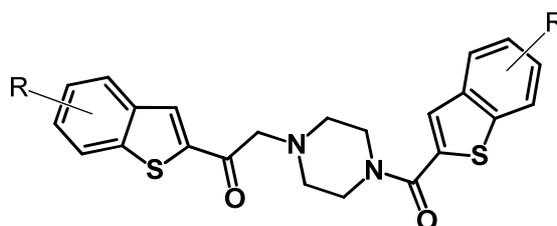


Figura 11. Esqueleto de benzotiofenpiperazinas.

Dada la relevancia del receptor 5-HT<sub>1A</sub> en la enfermedad depresiva y su potencialidad como nuevo blanco para drogas antidepresiva se consideró realizar estudios de síntesis de una familia de derivados bis-ligandos indólicos, esto basado en la reactividad del núcleo indólico y su presencia en la estructura de la serotonina en conjunto a la unión de este a anillos de arilpiperazina los cuales presentan alta afinidad por este tipo de receptores. Además se realizó análisis de acoplamiento molecular ("Docking") de esta familia de nuevos ligandos con el objetivo de:

- pronosticar las interacciones que tendrán estos ligandos con los aminoácidos insertos en el receptor,
- determina las moléculas que podrían tener una mejor respuesta biológica para así evaluar esos compuestos en, por ejemplo, pruebas de unión de ligando.

En la **figura 12** se muestra la familia de indolfenilpiperaniza estudiada.

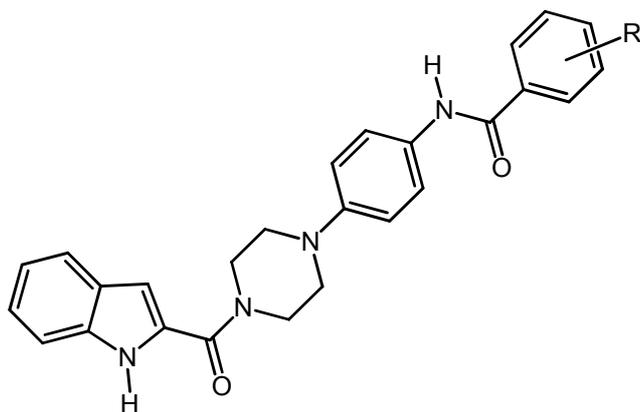


Figura 12. Familia de Estudio. R= H, Cl, F, Br, OCH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>.

## **2.- HIPÓTESIS**

---

*N*-{4-[4-(1*H*-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}arilamidas presentarán interacciones favorables en el bolsillo hidrofílico del receptor 5-HT<sub>1A</sub>, basado en la conocida bioactividad de derivados del núcleo indólico en receptores serotoninérgicos centrales y la comprobada acción farmacológica de esqueletos arilpiperazínicos, como una molécula afín al receptor 5-HT<sub>1A</sub>.

## **3.- OBJETIVO GENERAL**

---

Sintetizar y modelar nuevos bis-ligandos de naturaleza indólica con potencial actividad serotoninérgica de acción central anexado a estudios de modelación molecular ligando-receptor al receptor 5-HT<sub>1A</sub>.

## **4.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

---

i) Estudio de síntesis y caracterización de los siguientes productos:

- *N*-{4-[4-(1*H*-Indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida(**4a**).
- 4-Cloro-*N*-{4-[4-(1*H*-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida(**4b**).
- 3-Fluoro-*N*-{4-[4-(1*H*-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida(**4c**).
- 3-Bromo-*N*-{4-[4-(1*H*-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida(**4d**).
- 4-Metil-*N*-{4-[4-(1*H*-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida(**4e**).
- 4-Fluoro-*N*-{4-[4-(1*H*-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida (**4f**).
- 3-Metoxi-*N*-{4-[4-(1*H*-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida (**4g**).

ii) Estudios de acoplamiento molecular Inducido:

Determinación del sitio de unión de la serie de ligandos arilpiperazinilindoles en el receptor 5-HT<sub>1A</sub> mediante un estudio teórico de acoplamiento molecular en dicho receptor utilizando el programa Autodock 4,1. Determinación y descripción del modo de interacción de los derivados de la serie arilpiperazinilindoles de los compuestos en estudio.

## 5.- MATERIALES Y EQUIPOS

---

### Materiales.

#### Solventes.

Los solventes utilizados fueron de calidad Sigma-Aldrich, Merck (p.a.) y de grado técnico: Acetonitrilo, ácido acético, etanol, metanol, tetrahidrofurano, trimetilamina, fueron de calidad p.a. Acetato de etilo, diclorometano, y hexano fueron adquiridos en grado técnico, purificados por destilación y posteriormente secado con sulfato de sodio anhidro para su uso en cromatografía en capa fina y cromatografía en columnas.

#### Reactivos.

- 1*H*-indol-2-ácido carboxílico (Aldrich 98%).
- 4-Nitrofenilpiperazina (Aldrich 97%).
- *N,N*-Diciclohexilcarbodimida (Merck 99%).
- 4-(Dimetilamino)piridina (Merck 99%).
- Hierro metálico (Merck 99%).
- Cloruro de benzoílo (Merck 99%).
- 4-Clorobenzoílo cloruro (Merck 98%).
- 4-Fluorobenzoílo cloruro (Merck 98%).
- 4-Metilbenzoílo cloruro (Merck 99%).
- 3-Bromobenzoílo cloruro (Merck 99%).
- 3-Fluoro benzoílo cloruro (Merck 98%).
- Ácido 3-metoxibenzoico (Merck 98%).
- 3-Fluorobenzoílo cloruro (Merck 98%).

## Equipos.

Para la purificación de los compuestos sintetizados se utilizaron placas cromatográficas de Sílica gel Merck 60 (70-230mesh) y DC-alufolien 60 F<sub>254</sub> para columnas y cromatografía de capa fina respectivamente.

Los análisis de espectrometría de Resonancia Magnética Nuclear (<sup>1</sup>H RMN y <sup>13</sup>C RMN) se realizaron en un espectrómetro Bruker modelo Advance DRX-300. Para estos análisis se utilizó dimetilsulfóxido (DMSO-d<sub>6</sub>) al 99,9%. Los desplazamientos químicos se expresaron en ppm ( $\delta$ ) y las constantes de acoplamiento *J* en Hertz (Hz). El estándar interno que se utilizó para la determinación de los espectros fue tetrametilsilano (TMS).

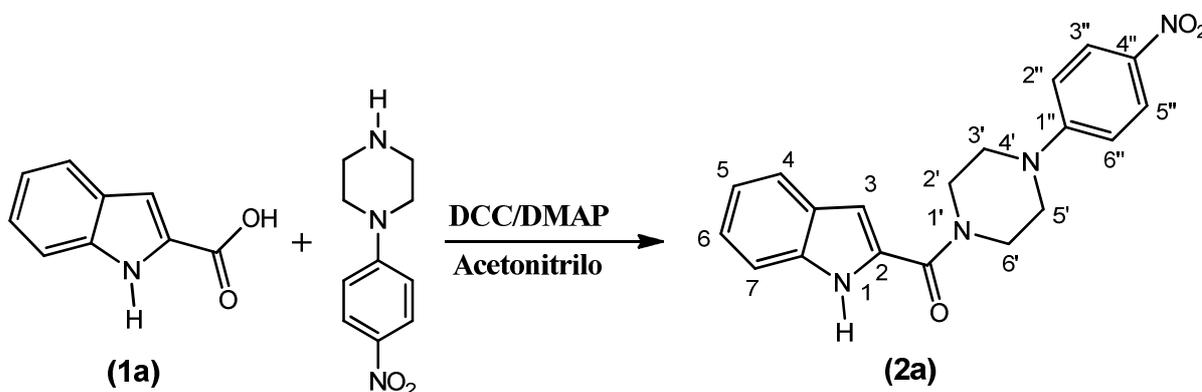
Para la obtención de los espectros de infrarrojo (IR), se midieron las muestras en un espectrofotómetro FT-IR Bruker IFS 55, en el cual se utilizó discos de KBr como medio de dispersión. Las señales obtenidas se expresaron en longitud de onda (cm<sup>-1</sup>).

La determinación de los puntos de fusión se realizó en una placa calefactora Reichert 2102. Los datos obtenidos se expresan en °C.

Los análisis de espectrometría de masa se realizaron con un espectrómetro de masas Modelo MAT 95XP, ThermoFinnigan. Analizador de doble enfoque, sector magnético y eléctrico.

## 6.- DESARROLLO EXPERIMENTAL

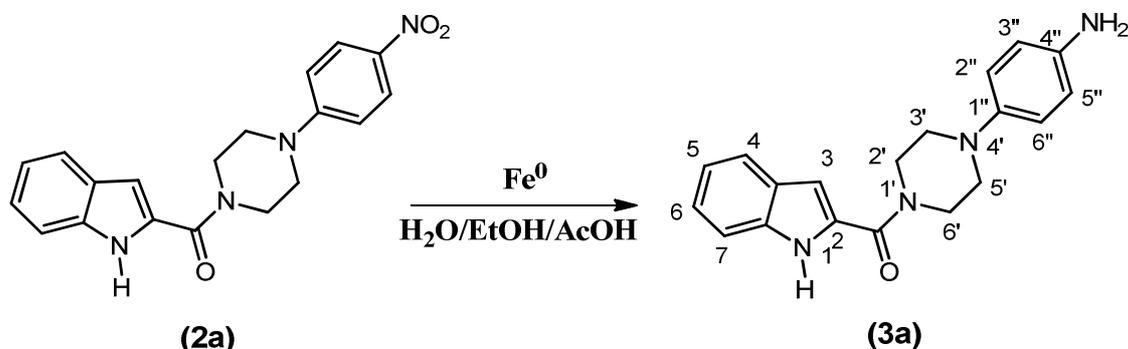
### 2-[[4-(4-Nitrofenil)-1-piperazinil]carbonil]1H-indol (2a).



Se disolvió ácido 2-indolilcarboxílico (**1a**) (400 mg, 1,24 mmoles), p-nitrofenilpiperazina (568 mg, 1.36 mmoles), dimetilaminopiridina (DMAP), (304 mg, 1.24 mmoles), y dicitclohexilcarbodimida (DCC) (608 mg, 1.49 mmoles) en acetonitrilo (50 mL) agitándose a 80°C por 3.0 horas a reflujo. Transcurrido ese tiempo se extrajo con acetato de etilo (50 mL x 4), se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró al vacío. Posteriormente se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice eluída en fase móvil de acetato de etilo: hexano (1:1), obteniéndose el producto **2a** puro con un 78% de rendimiento (680 mg).

$^1\text{H-RMN}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ): 3.65 (s.ancho, 4H, 3' y 5' H-pip), 3.98 (s.ancho, 4H, 2' y 6' H-pip), 6.92 (s, 1H, 3-H), 7.01 (d, 2H 2''-H y 6''-H,  $J = 9$  Hz), 7.10 (t, 1H, 5-H  $J = 7.5$  Hz), 7.24 (t, 1H, 6-H  $J = 7.5$  Hz), 7.50 (d, 1H, 7-H  $J = 9$  Hz), 7.67 (d, 1H, 4-H,  $J = 6$  Hz), 8.13 (d, 2H 3''-H y 5''-H,  $J = 9$  Hz), 11.69 (s, 1H, N-H).  $^{13}\text{C-RMN}$  (75 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ): (39.7) x 2, (45.7) x 2, 104.5, 112.1, (112.2) x 2, 119.8, 121.4, 123.4, (125.7) x 2, 126.8, 129.6, 136, 136.9, 154.2, 162.1. p.f: 256- 257.1 °C. IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3406 (N-H), 3081 (C-H Arom), 1594 (NHC=O), 1513 ( $\text{NO}_2$  asim), 1317 ( $\text{NO}_2$  sim). Análisis Elemental  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3$ . Teórico: C,65.13; H, 5.18; N, 15.99. Experimental. C, 63.50; H, 5.06; N 15.65.

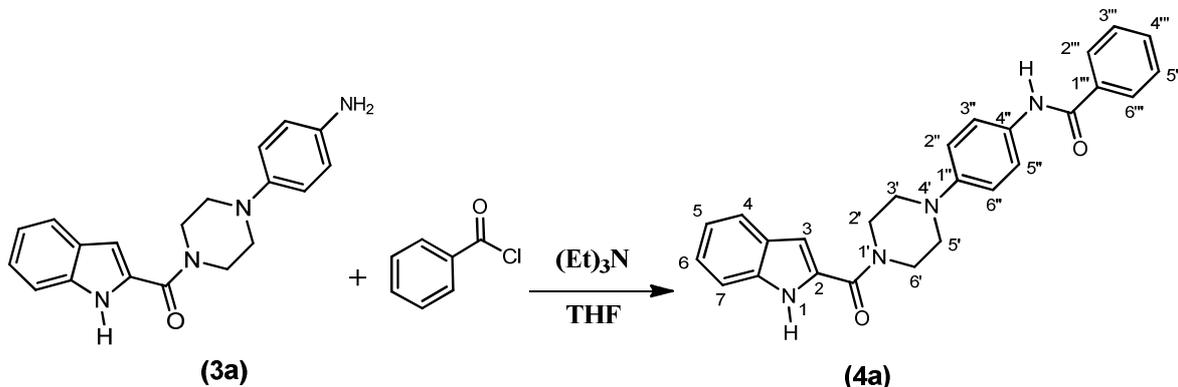
#### 4-[4-(1*H*-2-indolilcarbonil)-1-piperazinil]-anilina (**3a**).



A una solución de agua: etanol: ácido acético 1:1:1 (50 mL), se adicionó nitrofenilpiperazinilindol **2a** (920 mg, 2.62 mmoles) y  $\text{Fe}^0$  (1180 mg, 20.96 mmoles). La mezcla se dejó agitando por 50 minutos a  $70^\circ\text{C}$ , transcurrido este tiempo, se agregó 100 mL de agua y se neutralizó con bicarbonato de sodio. Posteriormente se extrajo con acetato de etilo (50 mL x 4), se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentró al vacío. El crudo de reacción se purificó por columna cromatográfica en gel de sílice en fase móvil Acetato de etilo: hexano: metanol (4:1:1), obteniéndose el producto **3a** como un sólido con 50% de rendimiento (424 mg).

$^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ): 2.96 (m, 4H, 3'-H y 5'-H), 3.88 (s.ancho, 4H, 2'-H y 6'-H), 4.70 (s.ancho, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 6.52 (d, 2H, 3''-H y 5''-H o 2''-H y 6''-H  $J=8.6$  Hz), 6.74 (d, 2H, 3''-H y 5''-H o 2''-H y 6''-H  $J=8.6$  Hz), 6.83 (d, 1H, 3-H  $J=1.8$  Hz), 7.05 (t, 1H, 5-H  $J=7.5$  Hz), 7.19 (t, 1H, 6-H  $J=7.4$  Hz), 7.43 (d, 1H, 7-H  $J=8.1$ ), 7.62 (d, 1H, 4-H  $J=8.0$ ), 11.63 (s, 1H, N-H).  $^{13}\text{C}$ -RMN (75 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ): (39.3) x 2, (50.6) x 2, 103.6, 111.6, (114.2) x 2, (118.2) x 2, 119.3, 120.9, 122.8, 126.3, 129.4, 135.5, 141.5, 142.3, 161.5. p.f: 222.9- 224.6  $^\circ\text{C}$ . IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3433 (N-H), 3324 (N-H asim), 3277 (N-H sim), 3062 (C-H Arom), 1624 (Def. N-H), 1599 (NHC=O) 1513 (C=C Arom). Análisis Elemental  $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}$ . Teórico: C, 71.23; H, 6.29; N, 17.49. Experimental. C, 69.68; H, 6.41; N 16.83.

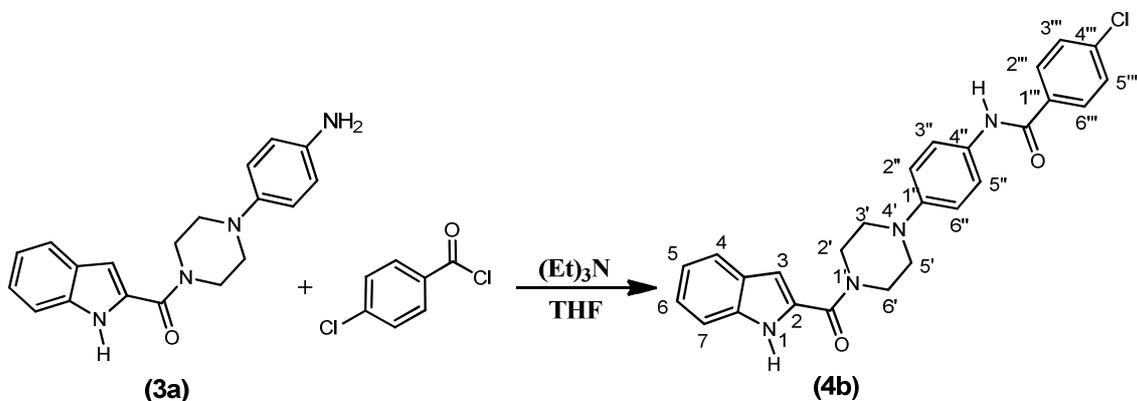
### N-{4-[4-(1*H*-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida(**4a**).



A una solución de cloruro de benzoilo (89 mg, 0.63 mmoles) en THF (40 mL), se agregó trietilamina (0.09 mL, 0.63 mmoles), luego se adicionó gota a gota la amina **3a** en THF (20 mL) (210 mg, 0.63 mmoles). Se dejó agitar a temperatura ambiente por 3 horas. Luego se agregó agua (60 mL), posteriormente el crudo de la reacción fue extraído con acetato de etilo (50 mL x 4) lavado con una solución de bicarbonato de sodio (40 mL x 1), secado con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró en un evaporador rotatorio. El residuo sólido fue purificado por cromatografía en columna en gel de sílice con fase móvil acetato de etilo: hexano (2:1). El producto puro **4a** obtenido presentó rendimiento de 75% (209 mg).

$^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ): 3.21 (m, 4H, 3'-H y 5'-H), 3.92 (s. ancho, 4H, 2'-H y 6'-H), 6.86 (d, 1H, 3-H  $J = 1.44$  Hz), 6.99 (d, 2H, 3''-H y 5''-H o 2''-H y 6''-H  $J = 9.1$  Hz), 7.06 (t, 1H 5-H  $J = 7.4$  Hz), 7.20 (t, 1H, 6-H  $J = 7.6$  Hz), 7.44 (d, 1H, 7-H,  $J = 9$  Hz), 7.54 (m, 3H, 3'''-H, 4''-H' y 5'''-H), 7.6 (d, 1H, 4-H  $J = 9$  Hz), 7.67 (d, 2H, 3''-H y 5''-H o 2''-H y 6''-H  $J = 9.1$  Hz), 7.95 (d, 2H, 2'''-H y 6'''-H  $J = 6.57$  Hz), 10.09 (s, 1H, OCN-H), 11.63 (s, 1H, N-H).  
 $^{13}\text{C}$ -RMN (75 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ): (39.9) x 2, (48.6) x 2, 103.7, 111.6, (115.6) x 2, 119.3, 120.9, (121.1) x 2, 122.8, 126.3, (127.1) x 2, (127.9) x 2, 129.4, 130.9, 131.1, 134.7, 135.9, 146.7, 161.6, 164.5. p.f: 248.5- 249.8 °C. IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3311 (N-H), 3054 (C-H arom), 1650 (C=O), 1625 (Def. N-H), 1599 (NHC=O), 1519 (C=C arom). HRMS: Masa exacta calculada: 424.18993. Experimental: 424.19030.

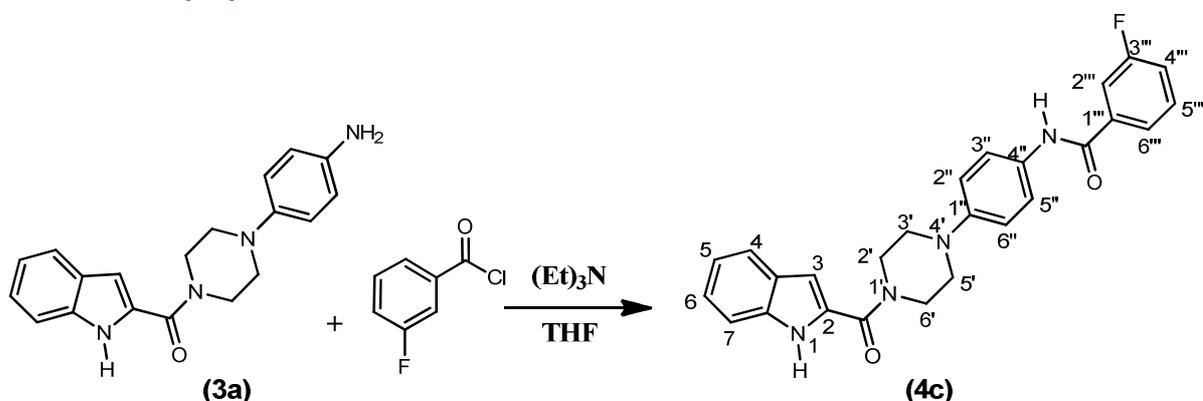
#### 4-Cloro-N-{4-[4-(1*H*-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida(4b).



A una solución de cloruro de 4-clorobenoílo (131 mg, 0.75 mmoles) en THF (40 mL), se agregó trietilamina (0.1 mL, 0.75 mmoles), luego se adicionó gota a gota la amina **3a** en THF (20 mL) (210 mg, 0.63 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente por 3 horas y se adicionó finalmente agua (60 mL), posteriormente el crudo de la reacción fue extraído con acetato de etilo (50 mL x 4) lavado con una solución de bicarbonato de sodio (40 mL x 1), y secado con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentra en un evaporador rotatorio. El residuo sólido es purificado por cromatografía en columna en gel de sílice con fase móvil acetato de etilo: hexano (2:1). El producto puro obtenido **4b** presentó rendimiento de 70 % (210 mg).

$^1\text{H-RMN}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ): 3.32 (s.ancho, 4H, 3'-H y 5'-H), 3.92 (s.ancho, 4H, 2'-H y 6'-H), 6.85 (s, 1H, 3-H), 6.99 (d, 2H, 2''-H y 6''-H,  $J = 8\text{Hz}$ ), 7.06 (t, 1H, 5-H,  $J = 8\text{Hz}$ ), 7.20 (t, 1H, 6-H,  $J = 8\text{Hz}$ ), 7.44 (d, 1H, 7-H,  $J = 8\text{Hz}$ ), 7.58-7.66 (m, 5H, 3''-H, 5''-H, 3'''-H, 5'''-H y 4-H), 7.97 (2H, 2'''-H y 6'''-H), 10.2 (s, 1H, NHCO), 11.61 (s, 1H, N-H).  $^{13}\text{C-RMN}$  (75 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ): (40.2) x 2, (49.4) x 2, 104.5, 112.4, (116.4) x 2, 120.1, (121.7) x 2, 121.9, 123.6, 127.2, 128.8, (129.9) x 2, (130.2) x 2, 132.1, 136.3, 136.4, 147.7, 162.4, 164.2, 168.8. p.f: 270- 271.9 °C. IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3420 (N-H), 3324 (N-H), 3051 (C-H arom), 2955 (C-H alif), 1647 (C=O), 1600 (NHCO), 1574 (C=C arom). HRMS: Masa exacta calculada: 458.15095. Experimental: 458.14961.

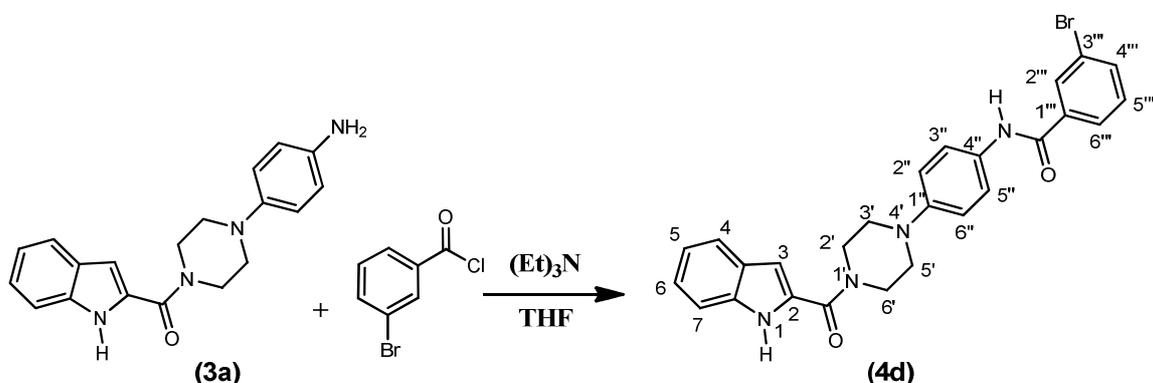
### 3-Fluoro-N-{4-[4-(1*H*-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida(4c).



A una solución de cloruro de 3-fluorobenzoylo (119 mg, 0.75 mmoles) en THF (40 mL), se agregó trietilamina (0.10 mL, 0.75 mmoles), luego se adicionó gota a gota la amina **3a** en THF (20 mL) (200 mg, 0.63 mmoles). Se dejó agitar a temperatura ambiente por 3 horas y se adicionó agua (60 mL), posteriormente el crudo de la reacción fue extraído con acetato de etilo (50 mL x 4) lavado con una solución de bicarbonato de sodio (40 mL x 1), y secado con sulfato de sodio anhidro, se filtra y se concentra en un evaporador rotatorio. El residuo sólido es purificado por cromatografía en columna en gel de sílice con fase móvil acetato de etilo: hexano (2:1). El producto puro **4c** obtenido presentó rendimiento de 72 % (199mg).

$^1\text{H-RMN}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ): 3.32 (s.ancho, 4 H, 3'-H y 5'-H), 3.92 (s.ancho, 4-H, 2'-H y 6'-H), 6.85(s, 1H, 3-H), 7.00(d, 2H, 2''-H y 6''-H,  $J = 8\text{Hz}$ ), 7.06(t, 1H, 5-H,  $J = 8\text{ Hz}$ ), 7.20 (t, 1H, 6-H,  $J = 8\text{Hz}$ ), 7.43 (m, 2H, 7-H y 5'''-H), 7.55-7.66 (m, 4H, 3''-H, 5''-H, 4-H y 2'''-H), 7.76 (d, 1H, 6'''-H,  $J = 8\text{ Hz}$ ), 7.81 (d, 1H, 4'''-H,  $J = 8\text{ Hz}$ ), 10.15 (s, 1H, NHCO), 11.62 (s, 1H, N-H).  $^{13}\text{C-RMN}$  (75 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ): (40.2) x 2, (49.4) x 2, 104.5, 112.4, 114.7 (d,  $^2J_{\text{C-F}} = 23\text{ Hz}$ ), (116.2) x 2, (116.4) x 2, 118.3, 120.1, 121.8 (d,  $^2J_{\text{C-F}} = 25\text{ Hz}$ ), 122.5, 123.6, 124.1, 127.2, 130.2, 131, 136.3, 136.4, 147.7, 162.3 (d,  $^1J_{\text{C-F}} = 243\text{ Hz}$ ), 162.4, 163.9. p.f: 250- 250.7 °C. IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3420 (N-H), 3302 (N-H), 3057 (C-H arom), 2917-2815 (C-Halif), 1656 (CONH), 1599 (CONH def NH), 1519 (C=C arom), 1480 (C=C arom). HRMS: Masa exacta calculada: 442.18050. Experimental: 442.17944.

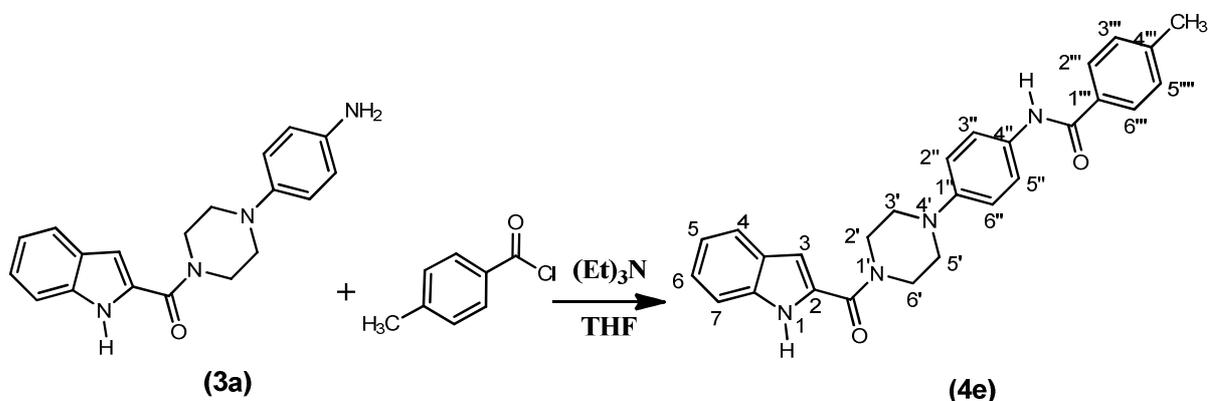
### 3-Bromo-*N*-{4-[4-(1*H*-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida(**4d**).



A una solución de cloruro de 3-bromobenzoilo (165 mg, 0.75 mmoles) en THF (40 mL), se agregó trietilamina (0.10 mL, 0.75 mmoles), luego se adicionó gota a gota la amina **3a** en THF (20 mL) (200 mg, 0.63 mmoles). Se dejó agitar a temperatura ambiente por 3 horas y se adiciona agua (60 mL), posteriormente el crudo de la reacción es extraído con acetato de etilo (50 mL x 4), lavado con una solución de bicarbonato de sodio (40 mL x 1), y se seca con sulfato de sodio anhidro, se filtra y se concentra en un evaporador rotatorio. El residuo sólido es purificado por cromatografía en columna en gel de sílice con fase móvil acetato de etilo: hexano (2:1). El producto puro **4d** obtenido presentó rendimiento de 75% (236 mg).

$^1\text{H-RMN}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ): 3.32 (s.ancho, 4H, 3' y 5' H-pip), 3.92 (s.ancho, 4H, 2' y 6' H-pip), 6.85 (s, 1H, 3-H), 6.99 (d, 2H 2''-H y 6''-H,  $J = 6$  Hz), 7.06 (t, 1H, 5-H  $J = 4.5$  Hz), 7.2 (t, 1H, 6-H  $J = 4.5$  Hz), 7.48 (m, 2H, 7-H y 5'''-H), 7.64 (m, 3H, 4-H, 3''-H y 5''-H), 7.77 (d, 1H 6'''-H  $J = 6$  Hz), 7.96 (d, 1H 4'''-H  $J = 3$  Hz), 8.14 (s, 1H, 2'''-H), 10.16 (s, 1H, NHCO), 11.58 (s, 1H, N-H),  $^{13}\text{C-RMN}$  (75 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ): (39.8) x 2, (49.4) x 2, 104.5, 112.4, (116.4) x 2, 120.1, 121.7, (122) x 2, 123.6, 127.1, 127.2, 130.3, (130.5) x 2, 130.9, 131.6, 134.4, 136.4, 137.7, 147.8, 162.4, 163.8. p.f: 196.8- 199.5 °C. IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3424 (N-H), 3347 (N-H), 3067 (C-H Arom), 1667 (C=O), 1596 (NHC=O), 1519 (C=C Arom). HRMS: Masa exacta calculada: 502.10044. Experimental: 502.09923.

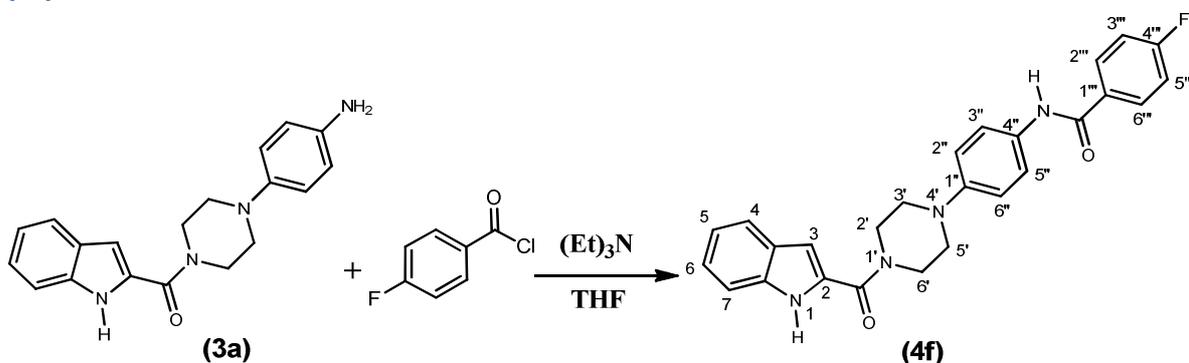
#### 4-Metil-N-{4-[4-(1*H*-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida(4e).



A una solución de cloruro de 4-metilbenzoílo (116 mg, 0.75 mmoles) en THF (40 mL), se agrega trietilamina (0.1 mL, 0.75 mmoles), luego se adicionó gota a gota la amina **3a** en THF (20 mL) (200 mg, 0.63 mmoles). Se dejó agitar a temperatura ambiente por 3 horas y se adiciona agua (60 mL), posteriormente el crudo de la reacción es extraído con acetato de etilo (50 mL x 4) lavado con una solución de bicarbonato de sodio (40 mL x 1), se seca con sulfato de sodio anhidro, y finalmente concentrado en un evaporador rotatorio. El residuo sólido es purificado por cromatografía en columna en gel de sílice con fase móvil acetato de etilo: hexano (2:1). El producto puro obtenido **4e** presentó un rendimiento de 68 % (186 mg).

$^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ): 2.38 (s, 3H, H-alif), 3.21 (s.ancho, 4H, 3' y 5' H-pip), 3.92 (s.ancho, 4H, 2' y 6' H-pip), 6.86 (s, 1H, 3-H), 6.99 (d, 2H 2''-H y 6''-H,  $J = 9\text{ Hz}$ ), 7.06 (t, 1H, 5-H  $J = 7.5\text{ Hz}$ ), 7.2 (t, 1H, 6-H  $J = 7.5\text{ Hz}$ ), 7.32 (d, 2H, 3'''-H y 5'''-H,  $J = 6\text{ Hz}$ ), 7.44 (d, 1H, 7-H  $J = 9\text{ Hz}$ ), 7.64 (t, 3H, 4-H, 3''-H y 5''-H), 7.87 (d, 2H 2'''-H y 6'''-H,  $J = 9\text{ Hz}$ ), 10.1 (s, 1H, NHCO), 11.63 (s, 1H, N-H),  $^{13}\text{C}$ -RMN (75 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ): 20.95, (39.7) x 2, (49.1) x 2, 104.1, 112, (116) x 2, 119.7, (121.3) x 2, 121.4, 123.2, 126.8, (127.5) x 2, (128.8) x 2, 129.8, 131.6, 132.2, 135.9, 141.2, 147.1, 162, 164.8. p.f: 260.2- 261 °C. IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3423 (N-H), 3298 (N-H), 3050 (C-H arom), 2916-2814 (C-H alif), 1649 (C=O), 1600 (CONH), 1516 (C=C arom).HRMS: Masa exacta calculada: 438.20558. Experimental: 438.20635.

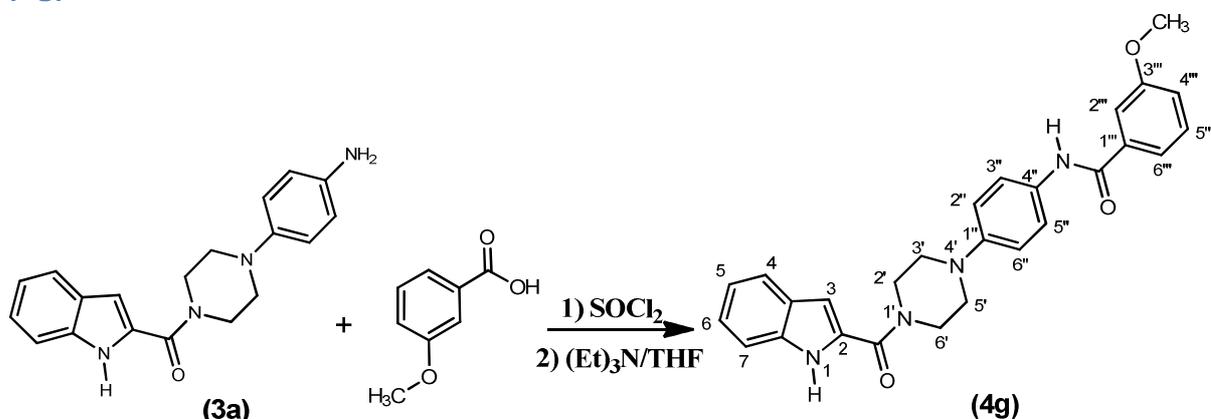
#### 4-Fluoro-N-{4-[4-(1*H*-Indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida (4f).



A una solución de cloruro de para-fluorbenzoílo (119 mg, 0.75 mmoles) en THF (40 mL), se agregó trietilamina (0.1 mL, 0.75 mmoles), luego se adicionó gota a gota la amina **3a** en THF (20 mL) (210 mg, 0.63 mmoles). Se dejó agitar a temperatura ambiente por 3 horas. Luego se adicionó agua (60 mL), posteriormente el crudo de la reacción fue extraído con acetato de etilo (50 mL x 4) lavado con una solución de bicarbonato de sodio (40 mL x 1), y secado con sulfato de sodio anhidro, la mezcla se filtra y se concentra en un evaporador rotatorio. El residuo sólido fue purificado por cromatografía en columna en gel de sílice con fase móvil acetato de etilo: hexano (2:1). El producto puro **4f** obtenido presentó rendimiento de 74% (214 mg).

<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 3.22 (s, ancho, 4 H, 3'-H y 5'-H), 3.92 (s, ancho, 4 H, 2'-H y 6'-H), 6.86 (s, 1H, 3-H), 7.00 (d, 2H, 2''-H y 6''-H, *J* = 8 Hz), 7.06 (t, 1H, 5-H, *J* = 8 Hz), 7.20 (t, 1H, 6-H, *J* = 8 Hz), 7.36 (m, 2H, 3'''-H y 5'''-H), 7.44 (d, 1H, 7-H, *J* = 16 Hz), 7.62-7.66 (m, 3H, 3''-H, 5''-H y 4-H), 8.03 (m, 2H, 2''-H y 6''-H), 10.11 (s, 1H, NHCO), 11.62 (s, 1H, N-H). <sup>13</sup>C-RMN (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): (40.3) x 2, (49.4) x 2, 104.5, 112.5, 115.5 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>C-F</sub> = 22 Hz) x 2, (116.5) x 2, 120, 121.7, (121.9) x 2, 123.6, 127.2, 130.2, 130.6 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>C-F</sub> = 9 Hz) x 2, 131.8 (d, <sup>4</sup>*J*<sub>C-F</sub> = 2.2 Hz), 136.3, 147.6, 159.5, 162.4 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>C-F</sub> = 260 Hz), 164.3, 165.5. p.f: 260.2 - 261 °C. IR (cm<sup>-1</sup>): 3423 (N-H), 3315 (N-H), 3060 (C-H arom), 2914-2813 (C-H alif), 1650 (CONH) 1601 (C=O), 1517 (C=C arom), Análisis Elemental C<sub>26</sub>H<sub>23</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>. Teórico: C, 70.57; H, 5.24; N, 12.66. Experimental. C, 67.97; H, 5.25; N 12.77.

### 3-Metoxi-N-{4-[4-(1*H*-Indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida (4g).



Se disolvió ácido 3-metoxibenzoico (128 mg, 0.75 mmoles) en cloruro de tionilo (SOCl<sub>2</sub>) (40 mL) agitándose a 70°C por 45 minutos. Transcurrido este tiempo se rotavapora el SOCl<sub>2</sub> a sequedad obteniéndose un compuesto oleoso, al cual se agregó trietilamina (0.1 mL, 0.75 mmoles), luego se adicionó gota a gota la amina **3a** en THF (20 mL) (210 mg, 0.63 mmoles). Se dejó agitar a temperatura ambiente por 3 horas. Luego se adiciono agua (60 mL), posteriormente el crudo de la reacción fue extraído con acetato de etilo (50mL x 4) se seco con sulfato de sodio anhidro, y lavado con una solución de bicarbonato de sodio (40mL x 1), se filtró y se concentró en un evaporador rotatorio. El residuo sólido fue purificado por cromatografía en columna en gel de sílice, utilizando como fase móvil acetato de etilo: hexano (2:1). El producto puro **4g** se obtuvo con un rendimiento de 66% (187mg).

<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 3.21 (s.ancho, 4H, 3'-H y 5'-H), 3.84 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.92 (s.ancho, 4H, 2'-H y 6'-H), 6.86 (s, 1H, 3-H), 6.99 (d, 2H, 2''-H y 6''-H, *J* = 6 Hz), 7.06 (t, 1H, 5-H, *J* = 4.5 Hz), 7.14 (d, 1H, 4'''-H, *J* = 6 Hz), 7.21 (t, 1H, 6-H, *J* = 4.5Hz), 7.43 (t, 2H, 7-H y 5'''-H, *J* = 7.5Hz), 7.49 (s, 1H, 2'''-H), 7.54 (d, 1H, 6'''-H, *J* = 6), 7.65 (t, 3H, 3''-H, 5''-H, 4-H), 10.06 (s, 1H, NHCO), 11.63 (s, 1H, N-H). <sup>13</sup>C-RMN (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): (40.2) x2, (49.4) x 2, 55.7, 104.5, 112.4, (116.4) x 2, 120.1, (121.7) x 2, 121.9, 123.6, 127.2, 128.8, (129.9) x 2, (130.2) x 2, 132.1, 136.3, 136.4, 147.7, 162.4, 164.2, 168.8. p.f: 201.3 – 204 °C. IR (cm<sup>-1</sup>): 3286 (N-H), 3053 (C-H Arom), 1647 (C=O), 1593 (NHC=O) y (Def. N-H). Análisis Elemental C<sub>27</sub>H<sub>26</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>. Teórico: C, 71.35; H, 5.77; N, 12.33. Experimental. C, 69.90; H, 6.14; N 12.18.

## 7.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Considerando los argumentos presentados anteriormente, el objetivo primordial fue obtener nuevos ligandos con actividad serotoninérgica sobre receptores 5-HT<sub>1A</sub>, planteándose la síntesis de ocho compuestos indólicos de naturaleza bis-ligandos. Nuestro estudio se sustenta en la bioactividad de derivados de **núcleo indólico** sobre receptores serotoninérgicos centrales además de la conocida acción farmacológica del esqueleto arilpiperazínico sobre receptores 5-HT<sub>1A</sub> y otros acoplados a proteína G (RAPG) como el  $\beta_2$  adrenérgico<sup>[26, 27]</sup>. Además del estudio sintético, se realizaron estudios teóricos de acoplamiento molecular (Docking), los cuales tienen por objetivo entregar información acerca de las interacciones que pueden existir entre los grupos funcionales en las moléculas diseñadas y los aminoácidos que constituyen el receptor, siendo por tanto una herramienta valiosa que permite analizar nuestro estudio sintético, generar una aproximación a los resultados que se pueden obtener al realizar pruebas biológicas y por lo tanto ayudarnos a la elección de ligandos para este tipo de ensayos.

### I) Estudio sintético de los ligandos sintetizados.

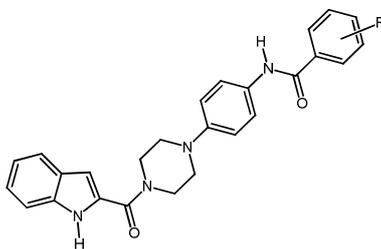


Figura 13. R=H, Cl, F, Br, OCH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>.

La familia en estudio fue diseñada mediante el siguiente esquema retrosintético (figura)14

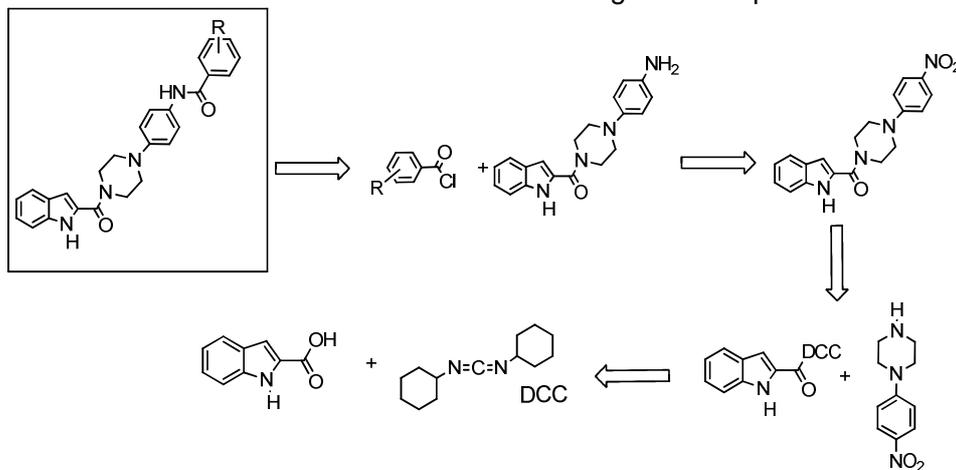
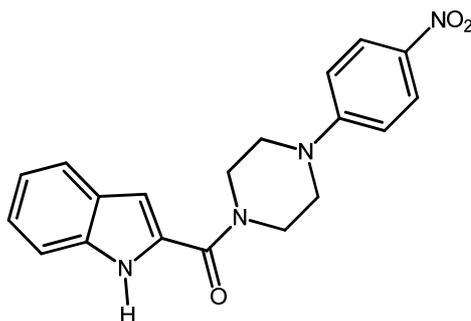


Figura 14. Esquema retrosintético para la obtención de la familia.

En relación al esquema retrosintético planteado, la síntesis toma lugar inicialmente con la con la formación del derivado 2-[[4-(4-nitrofenil)-1-piperazinil]carbonil]

**1) Obtención del derivado (2a).** 2-[[4-(4-nitrofenil)-1-piperazinil]carbonil]-1*H*-indol.



La síntesis del compuesto **2a** cursa por tratamiento del ácido 2-indolilcarboxílico (**1a**) en presencia de 4-nitrofenilpiperazina, dimetilaminopiridina (DMAP), y Diciclohexilcarbodiimida (DCC) en acetonitrilo a reflujo. La reacción se completa luego de 3 horas, obteniéndose un producto de color amarillo intenso, color característico de los compuestos nitrados.

La reacción tomaría curso bajo el mecanismo de Steglich por reacción del ácido carboxílico con la DCC generándose un aducto que posteriormente deriva a un intermediario reactivo que reacciona en presencia de 4-dimetilaminopiridina para generar una especie de alta reactividad electrofílica que es finalmente atacada por la arilpiperazina para dar la amida correspondiente<sup>[28]</sup>(**Figura 15**).

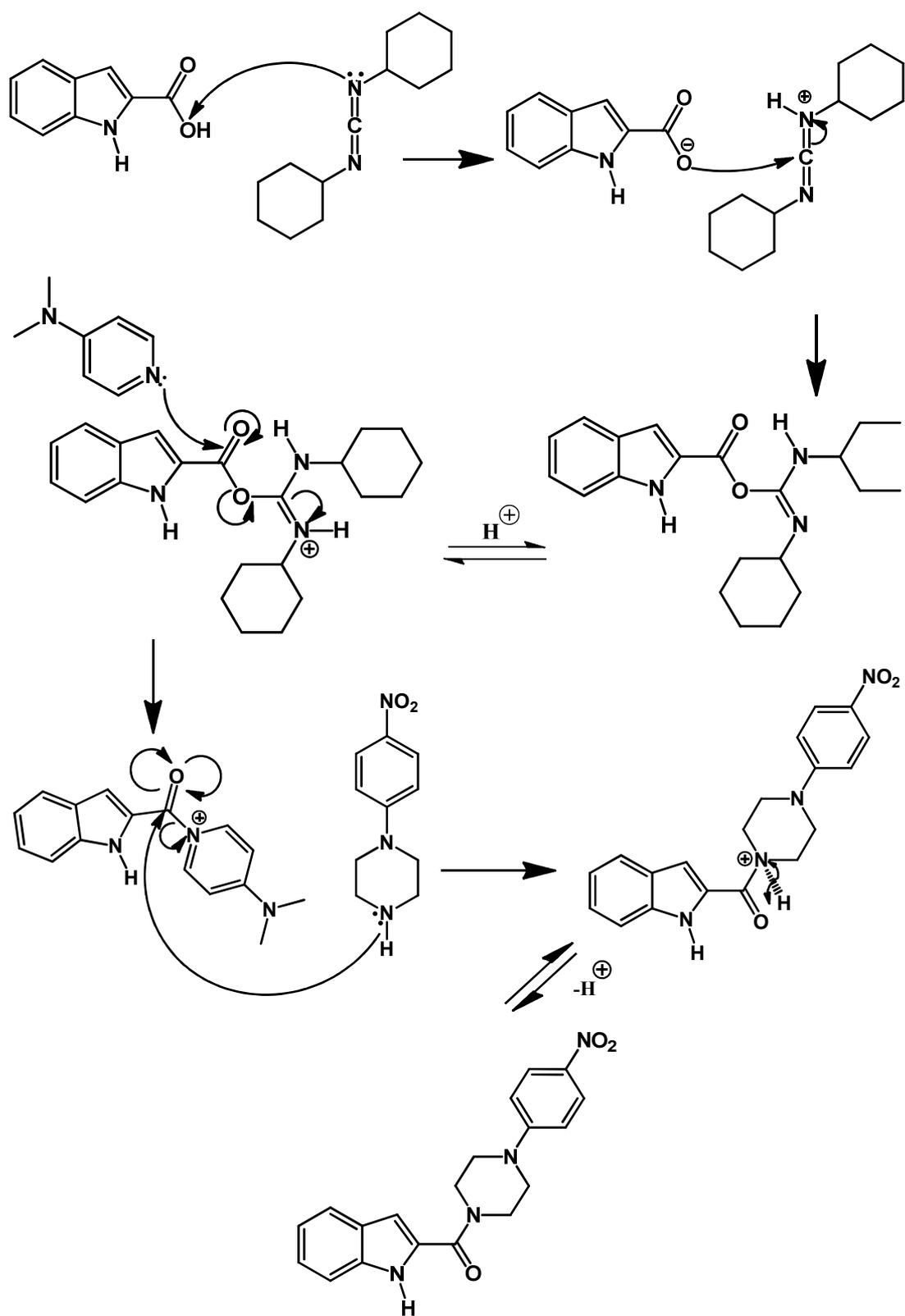


Figura 15. Mecanismo propuesto de formación del compuesto 2a.

En adición a lo anteriormente señalado, la reacción podría mecanísticamente tomar curso por medio de una reacción ácido-base entre el ácido carboxílico y la DMAP donde se generaría una especie carboxilato de mayor nucleofilia que reaccionaría con la DCC induciendo así un buen grupo saliente para la sustitución nucleofílica con 4-nitrofenilpiperazina. **(Figura 16)**

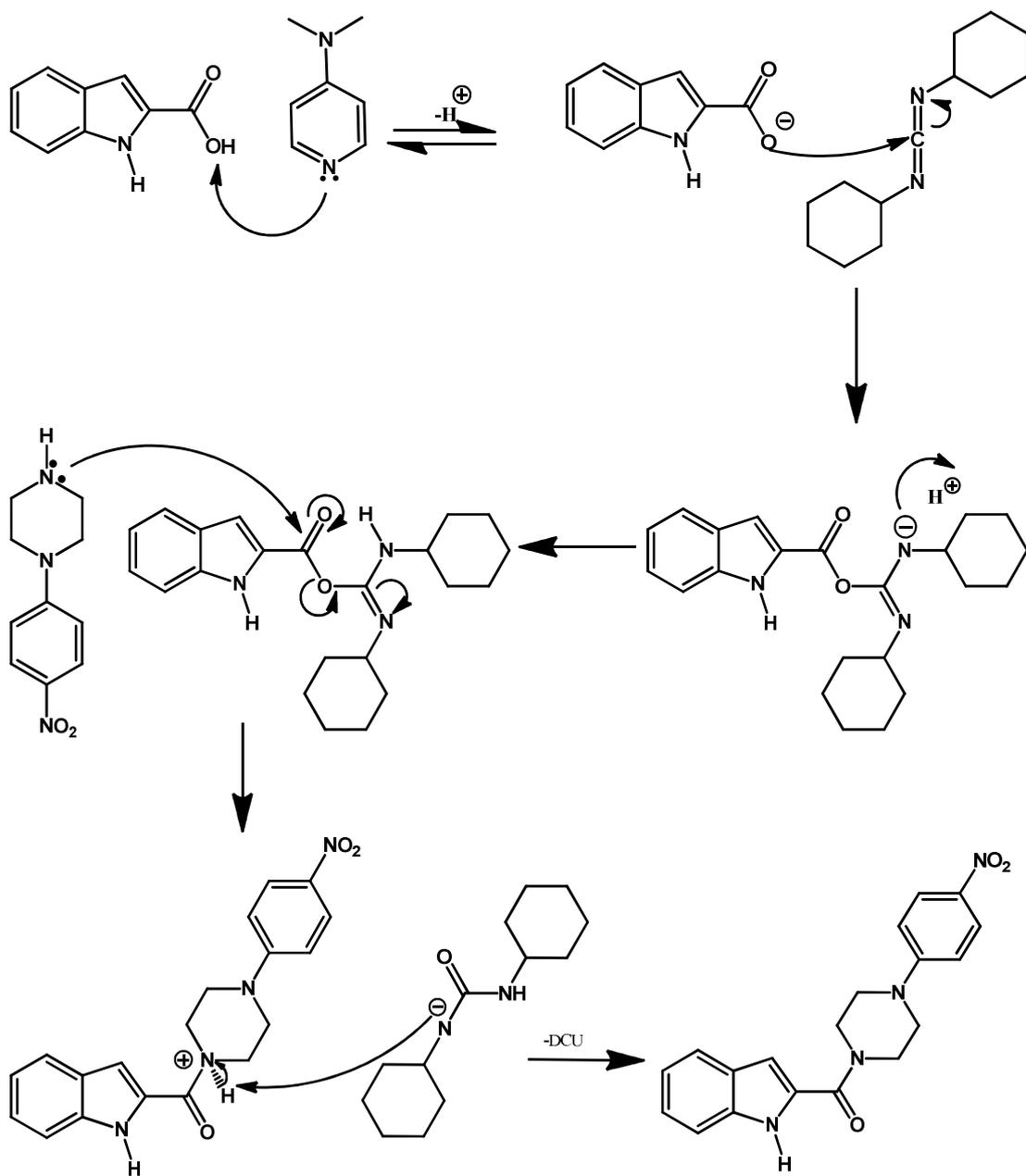
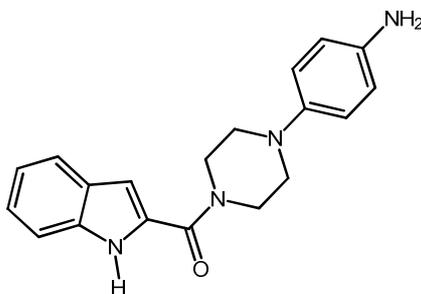


Figura 16. Mecanismo alternativo de formación del compuesto 2a.

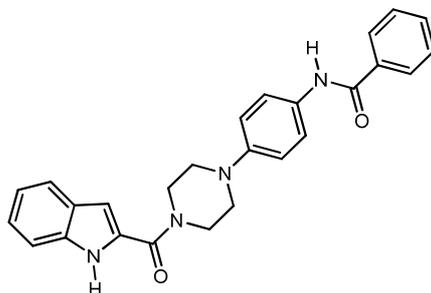
En el producto **2a** destacan, en el espectro  $^1\text{H-RMN}$ , dos singletes a  $\delta$ : 3.65 ppm y  $\delta$ : 3.98 ppm asignables a los protones piperazínicos. Los dos dobletes a  $\delta$ : 7.1 ppm y  $\delta$ : 8.13 ppm correspondientes al sistema AB del anillo aromático 1,4 disustituido de la fracción arilpiperazínica. Las señales del núcleo indólico se presentan como un singlete a  $\delta$ : 6.92 ppm, dos tripletes a  $\delta$ : 7.1 ppm y otro a  $\delta$ : 7.24, dos dobletes a  $\delta$ : 7.5 ppm y a  $\delta$ : 7.67, además del singlete a  $\delta$ : 11.69 ppm correspondientes al hidrogeno de la porción N-H del indol. Entre las diferentes señales del  $^{13}\text{C-RMN}$  podemos mencionar la presencia de las señales a  $\delta$ : 39.7 ppm y a  $\delta$ : 45.7 ppm correspondientes a las señales de los carbonos piperazínicos y la señal del carbono amidico a  $\delta$ : 162.1 ppm. En el IR se aprecian las bandas correspondientes al grupo nitro a  $\delta$ : 1513 y 1317  $\text{cm}^{-1}$ .

## 2) Obtención del derivado (3a).4-[4-(1H-2-indolil-carbonil)-1-piperazinil]-anilina.



Esta etapa cursa mediante la reducción del compuesto **2a** con hierro metálico en medio acético, calentamiento (70°C) por 50 minutos. A medida que la reacción avanza, la solución heterogénea toma un color verde-marrón, la cual al ser purificada por columna cromatográfica genera un compuesto solido de color café. El  $^1\text{H-RMN}$  destacan la aparición de un singlete ancho a  $\delta$ : 4,71 ppm correspondiente a los hidrógenos del grupo amina. Por otra parte se aprecian dos dobletes muy cercanos correspondientes al sistema AB 1,4 disustituido del anillo aromático de la fracción arilpiperazínica a  $\delta$ : 6.52 ppm y  $\delta$ : 6.74 ppm. En el IR se observan las señales correspondientes al grupo NH-Ar a  $\delta$ : 3324, 3277  $\text{cm}^{-1}$ .

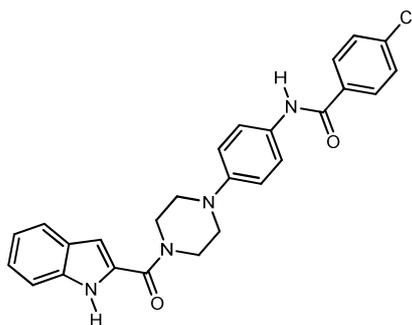
**3) Obtención del derivado (4a).** *N*-{4-[4-(1*H*-Indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida.



El producto **4a** se forma a partir de la reacción entre el compuesto **3a** y cloruro de benzoílo en THF y en presencia de trietilamina durante 3 horas a temperatura ambiente, obteniéndose un sólido de color blanco.

En el espectro de  $^1\text{H-RMN}$  se aprecia la existencia de un nuevo sistema aromático, al compararlo con el reactivo inicial **3a**, representado por las señales multiplete a  $\delta$ : 7,54 ppm para los hidrógenos de las posiciones 3, 4 y 5 del nuevo anillo bencénico además del doblete a  $\delta$ : 7,95 ppm asignados a los hidrógenos de las posiciones 2 y 6 del mismo anillo. Además se aprecia la aparición de una señal singulete a 10,1 para la amida N-H formada. Al IR observamos la presencia del carbonilo amidico a  $\delta$ :  $1599\text{ cm}^{-1}$  y la deformación N-H a  $\delta$ :  $1625\text{ cm}^{-1}$ .

**4) Obtención del derivado (4b).** 4-Cloro-*N*-{4-[4-(1*H*-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida.

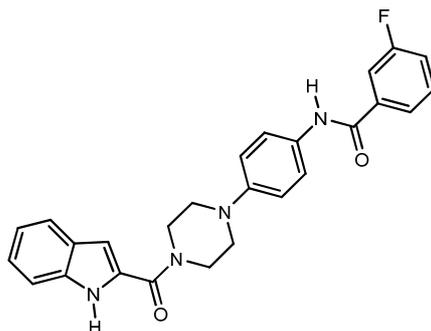


El producto **4b** se forma a partir por la reacción entre el compuesto **3a** y cloruro de 4-clorobenzoílo en THF anhidro, en presencia de trietilamina durante 3 horas a temperatura ambiente, obteniéndose un sólido de color blanco.

En el espectro  $^1\text{H-RMN}$  se observa la desaparición de la señal correspondiente al hidrogeno de la posición 4 del anillo fluorado y la aparición nuevas señales para los hidrógenos de las posición 2, 3, 5 y 6 de esta porción arilica. De estos hidrógenos, los

correspondientes a la posición 3 y 5 se visualizan como un multiplete en un rango de  $\delta$ : 7,58 - 7.66 ppm. Los hidrógenos de la posición 2 y 6 de este anillo se encuentran a  $\delta$ : 7,97 ppm como doblete. En relación al espectro IR podemos mencionar las señales del carbonilo a  $1600\text{ cm}^{-1}$  y la señal C=C arom a  $1574\text{ cm}^{-1}$ .

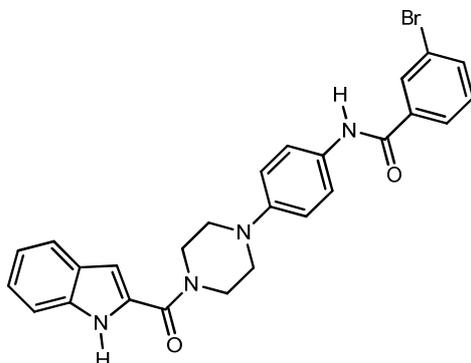
**5) Obtención del derivado (4c).** 3-Fluoro-*N*-{4-[4-(1*H*-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida.



El producto **4c** se forma a partir de la reacción entre el compuesto **3a** y cloruro de 3-fluorobenzilo en THF y en presencia de trietilamina durante 3 horas a temperatura ambiente, obteniéndose un sólido de color blanco.

Al analizar el espectro  $^1\text{H-RMN}$  observamos la presencia de un nuevo sistema aromático, con un multiplete en el rango de  $\delta$ : 7.55 ppm y 7.66 ppm donde se encontraría inserto el singulete correspondiente al hidrógeno de la posición 2 de la nueva fracción arilica. Dos dobletes, uno a  $\delta$ : 7.76 ppm y otro a  $\delta$ : 7.81 ppm nos indican la presencia de hidrógenos de las posiciones 6 y 4, respectivamente. Otro multiplete a  $\delta$ : 7.43 ppm nos presenta el protón de la posición 5. Además observamos la aparición de un nuevo singulete a campo bajo, en este caso a  $\delta$ : 10.15 ppm, el cual representa el protón de la nueva amida formada. En el IR se observan ambos NH a  $3420$  y  $3302\text{ cm}^{-1}$  y la absorción correspondiente a los dos grupos carbonilos amídicos a  $1656$  y  $1599\text{ cm}^{-1}$ .

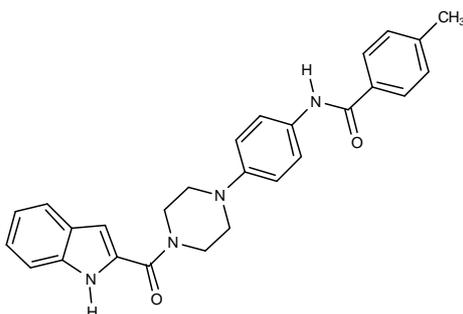
**6) Obtención del derivado (4d).** 3-Bromo-*N*-{4-[4-(1*H*-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida.



El producto **4d** se forma a partir de la reacción entre el compuesto **3a** y cloruro de 3-bromobenzoílo en THF y en presencia de trietilamina durante 3 horas a temperatura ambiente, obteniéndose un sólido de color blanco.

En el espectro El  $^1\text{H-RMN}$  se destacan el singulete a  $\delta$ : 8.14 ppm correspondiente al hidrogeno de la posición 2 del bromo-benceno. El hidrógeno de la posición 4 de este mismo anillo se observa como un doblete a  $\delta$ : 7,96 ppm; de igual forma un doblete, pero esta vez a  $\delta$ : 7,77 ppm representa el hidrogeno de la posición 6 y a  $\delta$ : 7,48 ppm, inserto en un multiplete se aprecia la señal del hidrogeno de la posición 5. En el IR observamos las señales N-H a 3424 y 3347  $\text{cm}^{-1}$ . Además observamos los carbonilos a 1667 y 1596  $\text{cm}^{-1}$ .

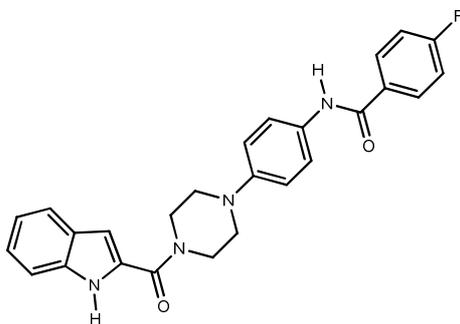
**7) Obtención del derivado (4e).** 4-Metil-*N*-{4-[4-(1*H*-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida.



El producto **4e** se forma a partir del la reacción entre el compuesto **3a** y cloruro de 4-metilbenzoílo en THF anhidro y en presencia de trietilamina durante 3 horas a temperatura ambiente, obteniéndose un sólido de color blanco.

En el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN se observa la presencia de un nuevo sistema AB, correspondiente a los hidrógenos del anillo benceno terminal. Esto se refleja en dos dobletes uno a  $\delta$ : 7,32 ppm el cual representa los hidrógenos de las posiciones 3 y 5 de este anillo, y otro doblete a  $\delta$ : 7,87 ppm el que corresponde a los hidrógenos de las posiciones 2 y 6. Además de esto, se aprecia un singulete a  $\delta$ : 2,38 ppm correspondiente a los hidrógenos del sustituyente metilo. En el IR apreciamos la señal de los carbonilos a 1600 y 1516  $\text{cm}^{-1}$ , además de la señal C-H alifática en el orden de 2916 y 2814  $\text{cm}^{-1}$ .

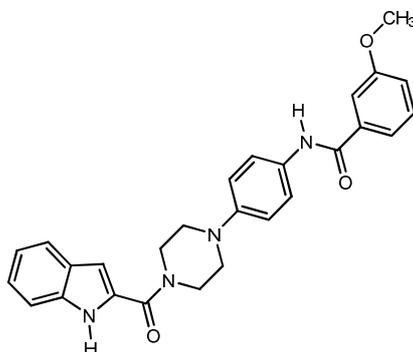
**8) Obtención del derivado (4f).** 4-Fluoro-*N*-{4-[4-(1*H*-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida .



El producto **4f** se forma a partir de la reacción entre el compuesto **3a** y cloruro de 4-fluorobenzóilo en THF y en presencia de trietilamina durante 3 horas a temperatura ambiente, obteniéndose un sólido de color blanco.

Al analizar el espectro  $^1\text{H}$ -RMN se observa la presencia de un nuevo sistema AB del nuevo benceno para sustituido. Se aprecia dentro del multiplete a  $\delta$ : 7.36 los hidrógenos de las posiciones 3 y 5 de este anillo y en  $\delta$ : 8,03 apreciamos un nuevo multiplete con las señales de los hidrógenos de las posiciones 2 y 6. Además de estas señales vemos el hidrógeno de la nueva amida a  $\delta$ : 10.11. El espectro IR nos entrega las bandas correspondiente a los NH a 3423 y 3315  $\text{cm}^{-1}$ , además de las señales correspondientes a los carbonilos a 1650 y 1601  $\text{cm}^{-1}$ .

**9) Obtención del derivado (4g).** 3-Metoxi-*N*-{4-[4-(1*H*-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida .



El producto **4g** se forma a partir de la reacción entre el ácido 3-metoxibenzoico en cloruro de tionilo y la posterior reacción del producto formado con **3a** en THF y en presencia de trietilamina durante 3 horas a temperatura ambiente, obteniéndose un sólido de color café.

El espectro  $^1\text{H-RMN}$  del compuesto **4g** presenta un singulete a  $\delta$ : 3,84 correspondiente a los protones del grupo metoxilo que, en este caso, sustituye en posición meta al segundo anillo de benceno. Las señales restantes de esta nueva fracción de la molécula están dadas por un singulete a  $\delta$ : 7,49 que representa el hidrógeno de la posición 2 de este anillo. Dos dobletes muestran los hidrogenos de las posiciones 4 y 6, encontrándose cada uno de ellos a  $\delta$ : 7.14 y 7.54 ppm. Finalmente un triplete a 7.43 señala la presencia del hidrógeno de la posición 5. El IR muestra las bandas correspondientes a las señales del carbonilo a 1647 y 1593  $\text{cm}^{-1}$ .

## Estudios de acoplamiento molecular inducido de *N*-{4-[4-(1*H*-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}arilamidas al receptor 5HT<sub>1A</sub>.

El docking o estudios de acoplamiento molecular inducido de compuestos en el sitio de unión de receptores y la estimación de afinidad del complejo es una herramienta utilizada por la Química Medicinal para el diseño de fármacos. En particular esta técnica se utiliza para estimar la orientación y disposición de un compuesto, ligando o fármaco, en su sitio de acción. De esta forma se puede especular la unión más probable entre ligando y receptor, considerando la disposición de menor energía requerida. Así, con los resultados obtenidos con esta técnica el investigador podrá discernir y generar una evaluación más racional tanto en la síntesis (realizar modificaciones o ampliar nuevas rutas), como de la evaluación biológica, pudiéndose generar de esta forma una elección de los candidatos a dichas pruebas.

Es por este motivo que además de la síntesis de ligandos anteriormente desarrollados, en esta tesis se realizó el estudio de acoplamiento molecular inducido de los compuestos elaborados. Esta faena tiene por objetivo la determinación y evaluación de interacciones moleculares que existen entre los residuos de aminoácidos que componen el receptor 5-HT<sub>1A</sub> y la estructura de los diferentes ligandos que conforman esta familia. De esta forma se podrá estimar que compuestos presentarían mejores afinidades de unión con el receptor ya mencionado al realizar estudios biológicos.

Para realizar este estudio se utilizó un receptor 5-HT<sub>1A</sub> previamente modelado por homología al receptor  $\beta_2$ -adrenérgico (código: 3 NY9), debido a que su estructura tridimensional no ha sido obtenida por métodos de cristalización y análisis estructural con difracción de rayos X o resonancia magnética nuclear (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N) como han sido descritos otros receptores acoplados a proteína G.

Finalmente el receptor obtenido fue una proteína de 422 aminoácidos, los cuales se encuentran distribuidos a lo largo de 7  $\alpha$ -hélices indicadas, con 3 lazos extracelulares (arriba) y 3 lazos intracelulares (abajo).

La Figura 17 muestra la estructura tridimensional del receptor 5-HT<sub>1A</sub> obtenido.

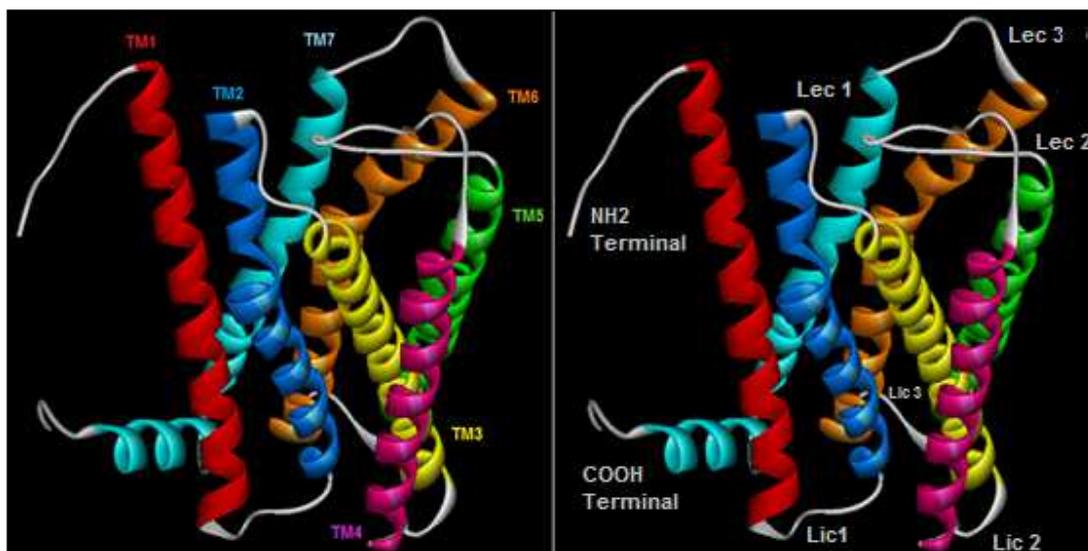


Figura 17. Estructura tridimensional del receptor 5-HT<sub>1A</sub> obtenido ( Lic = Loop intracelular, Lec = Loop extracelular).

Esta estructura deja en su interior un poro o bolsillo de carácter hidrofílico, lugar donde el ligando ingresa al receptor, para poder generar los diferentes tipos de interacciones y la consecuente respuesta biológica<sup>[29]</sup>. La literatura existente nos entrega información de una serie de aminoácidos que serían los responsables de la formación de este poro, siendo en particular aminoácidos de las transmembranas 3, 5, 6 y 7 además de loop extracelular 2 los formadores de esta cavidad<sup>[30]</sup>. El detalle se muestra en la Tabla 2

Tabla 2.- Aminoácidos responsables de la formación del bolsillo hidrofílico.

Transmembrana				
3	5	6	7	Loop extracelular 2
Phe 112	Tyr 195	Cys 357	Ile 385	Asp 185
Ile 113	Thr 196	Trp 358	Asn 386	Ala 186
Ala 114	Ser 199	Leu 359	Trp 387	Cys 187
Asp 116	Thr 200	Pro 360	Leu 388	Thr 188
Val 117	Gly 202	Phe 361	Gly 389	Ile 189
Leu 118	Ala 203	Phe 362	Tyr 390	
Cys 119	Phe 204		Ser 391	
Cys 120			Asn 392	
Thr 121				

Dado estos antecedentes se realizó el estudio de acoplamiento molecular inducido de los 8 compuestos sintetizados en el receptor 5-HT<sub>1A</sub>. Con estos datos se procedió a

comparar los datos obtenidos para determinar cuáles de los nuevos bis-ligandos tendrían mejores afinidades con el receptor además de determinar si existe alguna implicancia relevante en el cambio de la posición de los sustituyentes dentro del anillo de benzamida.

Los ligandos sintetizados fueron generados y posteriormente optimizados por medio de cálculos de minimización energética basado en la Teoría de las funcionales de Densidad, utilizando B3LYP implementado en el programa **Gaussian 98**. Las optimizaciones se ejecutaron asumiéndose en el vacío y además las moléculas se encontraron cargadas debido a la protonación del nitrógeno de la función amida, aunque esta protonación no se encuentra muy favorecida. Los estudios de docking se realizaron con el programa **Autodock 4.1**.

#### **Estudio de acoplamiento molecular de la familia de bis-ligandos sintetizados 4(a-h).**

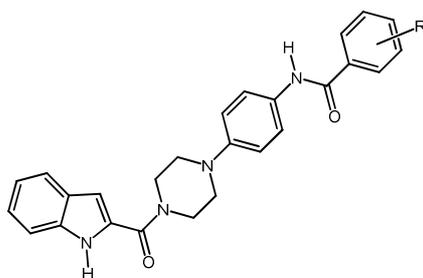


Figura 18. Estructura general de los compuestos sintetizados. R= H, Cl, Br, F, OCH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>.

La Figura 18 muestra la estructura general de los compuestos sintetizados. Todos ellos presentan puntajes de docking negativos y por tanto favorables con respecto a la orientación y la probabilidad de interacción dentro del bolsillo del receptor 5-HT<sub>1A</sub>. Las magnitudes de trabajo van generalmente en valores entre -5 y -15, siendo una de las principales limitantes la rigidez del sistema. Dentro de estos resultados podemos distinguir los compuestos que poseen una conformación predominante y los que no. El detalle de los resultados obtenidos es desglosado en la **Tabla 3**:

**Tabla 3.-** Resumen de los resultados obtenidos del estudio de docking de los compuestos sintetizados.

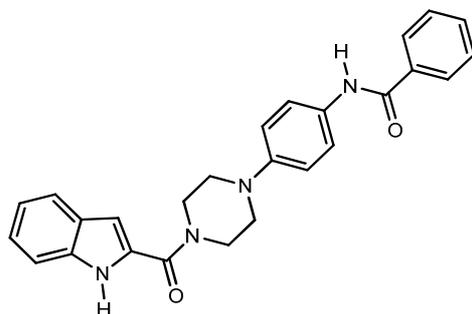
Compuesto (R)	Número conformaciones predominantes	Puntaje de docking	Orientación
4a (H)	2	-7,95 y -7,82	Indol hacia la TM5 y TM2 respectivamente
4b (4-Cl)	1	-7,99	Indol hacia la TM2
4c (3-F)	1	-6,81	Indol hacia la TM5
4d (3-Br)	1	-7,91	Indol hacia la TM5
4e (4-Me)	2	-7,55 y -7,01	Indol hacia la TM2 y TM5 respectivamente
4f (4-F)	1	-6,74	Indol hacia la TM5
4g (3-OMe)	2	-7,7 y -7,28	Indol hacia la TM5 y TM2 respectivamente

Al observar la Tabla 3 podemos comprobar que todos los compuestos poseen la misma orientación, estando la porción indólica se encuentra próxima a la transmembrana 5, pero además 3 compuestos poseen una segunda conformación relevante hacia la TM2.

Al estudiar los potenciales sitios básicos de protonación a pH plasmático, de nuestra serie, y en función de los valores de pKa de los nitrógenos piperazínicos involucrados (pKa =5 y 23 para los nitrógenos anilínico y amidico respectivamente), observamos que la fracción ionizable en ambos casos sería muy baja, y si bien la protonación del N piperazínico tipo anilina estaría un poco más favorecida, que la protonación del N piperazínico amidico, decidimos llevar a cabo el estudio teórico de protonación del nitrógeno amidico sobre la base de que el grupo carbonilo ( $\pi$ -aceptor) podría por mayor coplanaridad interactuar más adecuadamente con un sistema anular  $\pi$ -donor como es el anillo indólico que con los orbitales pz ( $sp_3$ ) del nitrógeno piperazínico, favoreciendo la libre disposición del par de electrones en el átomo nitrógeno como entidad básica clave para la protonación.

De esta forma apostamos a obtener una mayor fracción de fármaco ionizado capaz de interactuar con el Asp 116 del receptor.

## Estudio del complejo ligando receptor para el derivado 4a



Como lo demuestra la Figura 19 (A y B), el derivado **4a** no presenta una orientación predominante y por lo tanto se considera analizar las 2 conformaciones mayoritarias. Para esta evaluación el compuesto **4a<sub>1</sub>** será el cual tenga su porción indólica orientada a la TM5 y el compuesto **4a<sub>2</sub>** será el cual tenga su porción indólica orientada a la TM2.

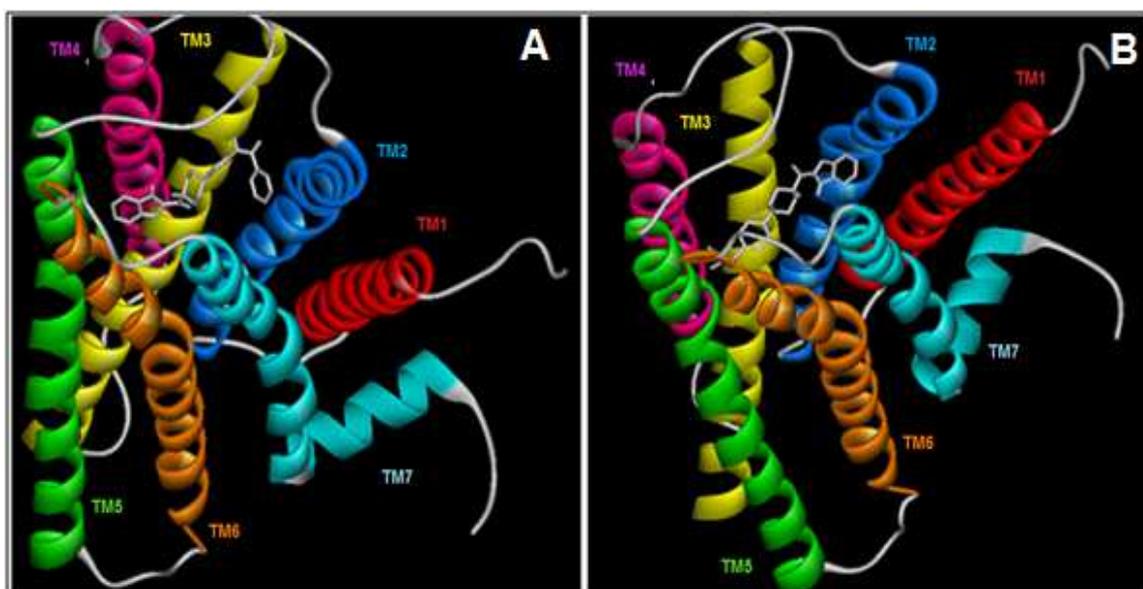


Figura 19. Representación de las orientaciones del compuesto 4a. La imagen de la izquierda (A) representa el compuesto orientado hacia la Transmembrana 5 (**4a<sub>1</sub>**), de imagen de la derecha (B) representa el compuesto orientado hacia la Transmembrana 2 (**4a<sub>2</sub>**).

## Estudio del complejo ligando receptor para el derivado 4a<sub>1</sub>.

Como ya se mencionó el compuesto **4a<sub>1</sub>** está orientado a la TM5. Dentro de las interacciones se señala la existente entre el Asp 116 y el nitrógeno protonado a 3,8 Å.

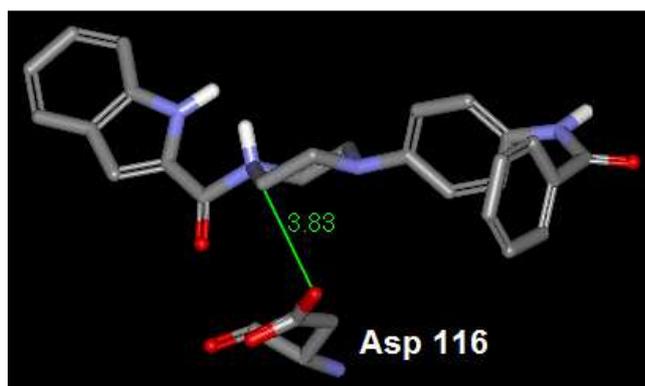


Figura 20. Representación de la interacción entre el Asp 116 y el nitrógeno protonado del compuesto  $4a_1$ .

El residuo de Tyr 96 presenta una orientación de su anillo aromático de tendencia paralela al segundo anillo bencílico del ligando a una distancia de 4,2 Å.

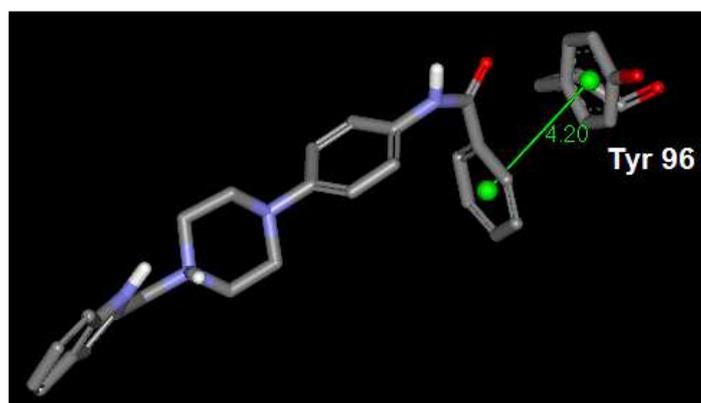


Figura 21. Representación de la interacción entre la tyr 96 y el compuesto  $4a_1$ .

Las Phe de las posiciones 361 y 362 generan interacciones CH- $\pi$  con el anillo indólico a una distancia de 4,6 Å y 2,7 Å respectivamente.

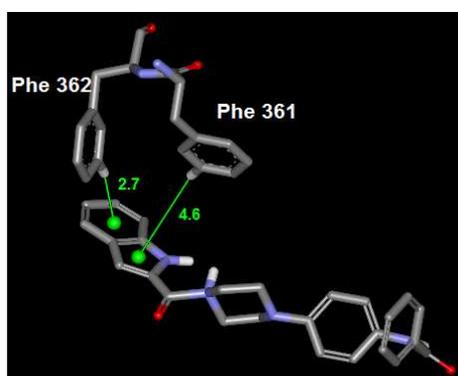


Figura 22. Representación de la interacciones entre el compuesto  $4a_1$  y Phe 361 y 362.

En relación de las cisteínas 120 y 187, estas participan en la interacción con el ligando por medio de Puentes de Hidrogeno. La ubicada en la posición 120 genera esta interacción por medio del NH, actuando como donador de puente de hidrogeno con el carbonilo vecino al indol con una distancia de 4,2 Å. Por otra parte cisteína de la ubicación 187 lo hace como aceptor de puente de hidrogeno con en NH anilínico a 1,6 Å.

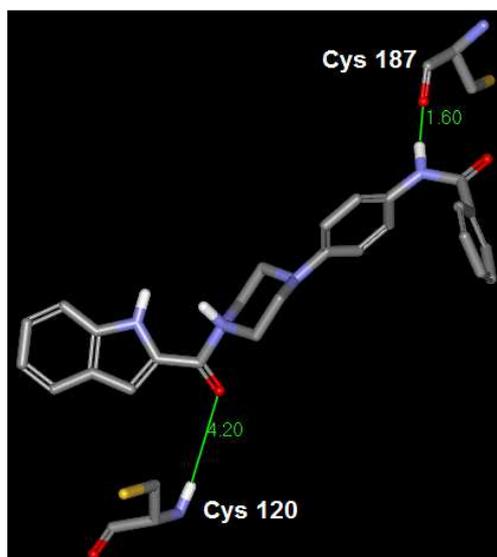


Figura 23. Representación de la interacción entre las Cys 120 y 187 con el compuesto 4a<sub>1</sub>.

Interacciones apolares se observan entre la Ala 93 y el segundo anillo bencílico a 3,3 Å, el carbono piperazínico interactúa con el residuo de Ile 113 a 3,3 Å y el de Val 117 a 3 Å. A nivel del anillo indólico la Ala 203 lo hace a 2,8 Å.

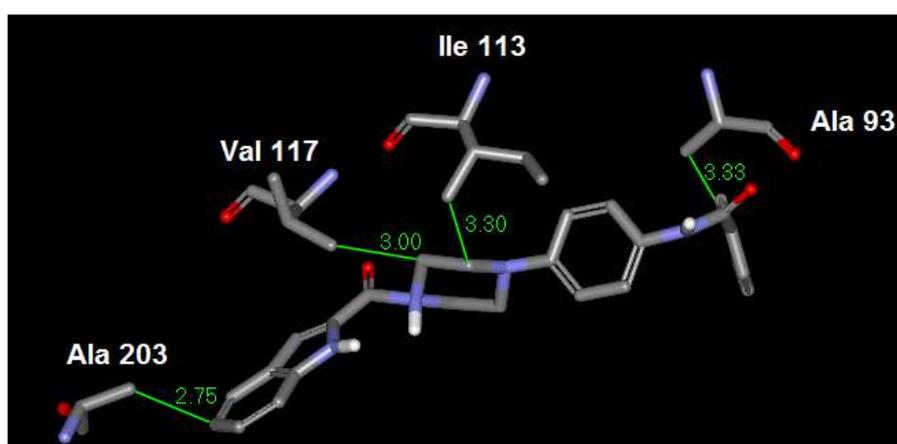


Figura 24. Representación de la interacción entre diferentes aminoácidos y el compuesto 4a<sub>1</sub>.

Por otra parte El residuo de Asn 386 genera una interacción ion-dipolo con el nitrógeno protonado a 4,5 Å y a 4.6 Å por un puente de hidrogeno con el mismo nitrógeno. La Try 390 interactúa por medio de un puente de hidrogeno con el segundo nitrógeno piperazínico a 4,4 Å.

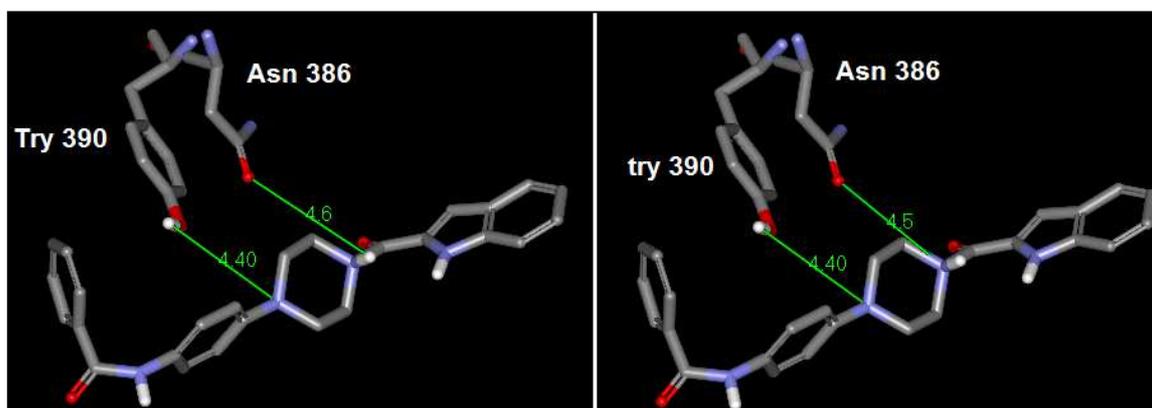


Figura 25. Representación de la interacción entre la tyr Asn 386 y Try 390 y el compuesto 4a<sub>1</sub>.

#### Estudio del complejo ligando receptor para el derivado 4a<sub>2</sub>.

En este caso el ligando presenta su porción indólica orientada hacia la TM2.

Al señalar interacciones el residuo de Asp 116 presenta una interacción con el nitrógeno protonado a 3,2 Å.

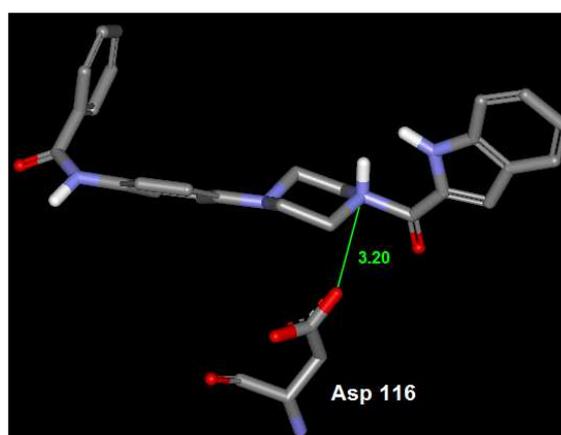


Figura 26. Representación de la interacción entre la Asp 116 y el compuesto 4a<sub>2</sub>.

Interacciones CH- $\pi$  se observan entre la Phe 361 a 3,6 Å del primer anillo bencílico y la Phe 362 a 3,3 Å del segundo anillo bencílico.

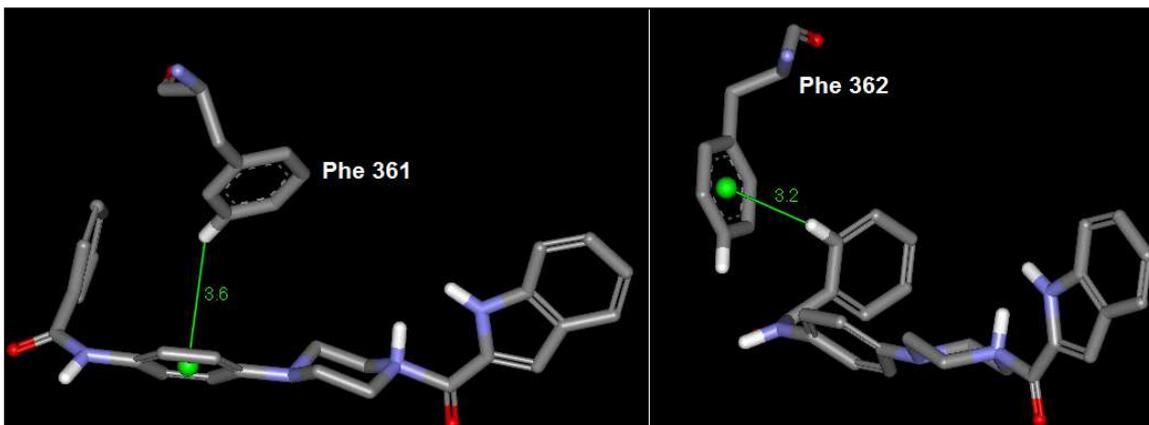


Figura 27. Representación de la interacción entre el compuesto  $4a_2$  y Phe361 y 362.

Interacciones de tipo apolar se generan en diferentes sectores de ligando. En el núcleo indólico la Thr 200 interacciona a 3,2 Å, la Ala 383 lo hace a 3,1 Å. En el primer anillo bencílico la Val 117 se encuentra a 4,2 Å. El segundo anillo presenta interacciones con la Thr 196 (3,3 Å) y la Ala 365 (3,5 Å).

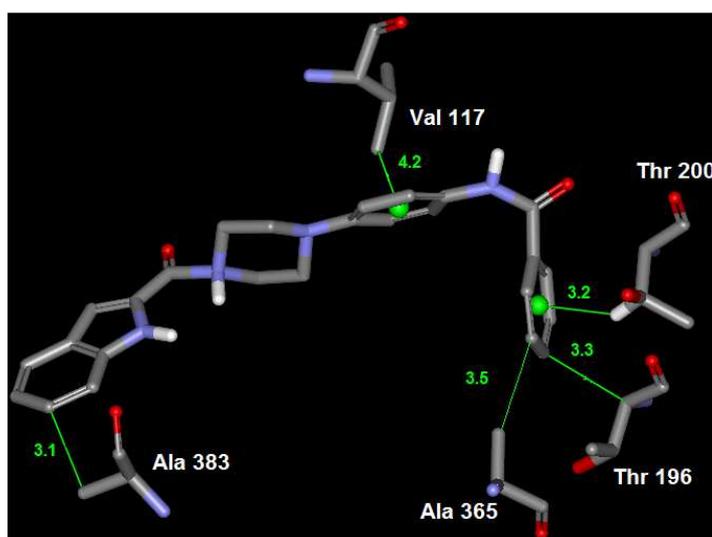


Figura 28. Representación de la interacciones del compuesto  $4a_2$  y aminoácidos que forman parte de receptor.

Finalmente interacciones del tipo puentes de hidrogeno se presentan entre Asn 386 con el nitrógeno del indol a 2,2 Å y con el hidrogeno del nitrógeno de la piperazina a la misma distancia. De la misma manera la Tyr 390 también interactúa con el nitrógeno del indol a 3,4 Å.

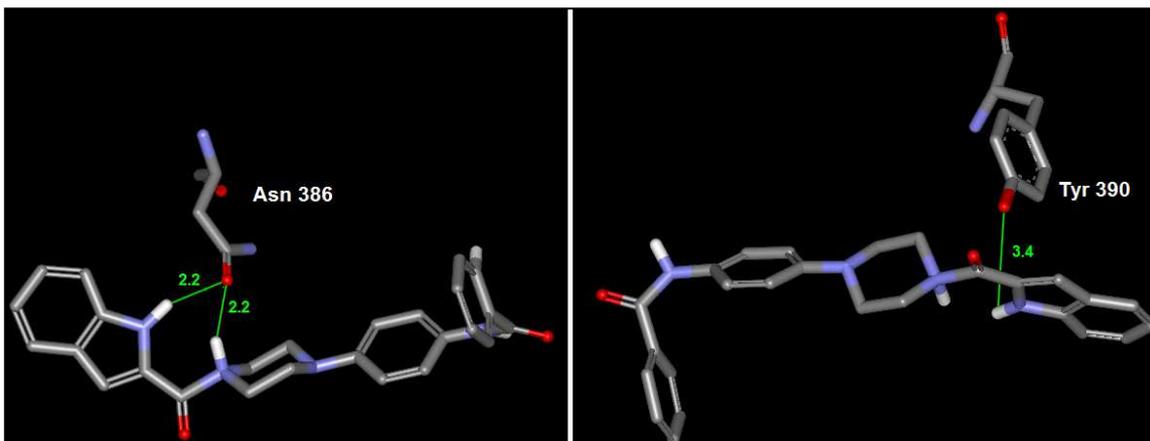
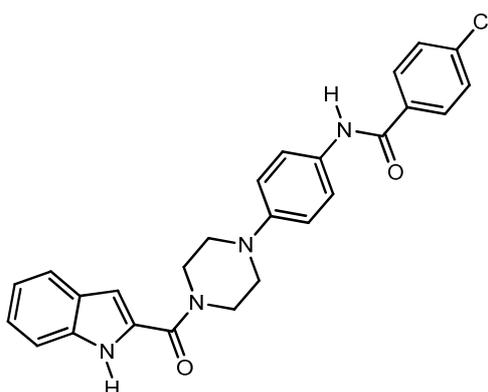


Figura 29. Representación de la interacción entre Asn 386 y Tyr 96 con el compuesto 4a<sub>2</sub>.

### Estudio del complejo ligando receptor para el derivado 4b



Como lo demuestra la Figura 20, el derivado **4b** presenta un sentido de orientación de la porción indólica de su estructura hacia la TM2.

Debido a su disposición el Asp 116 se encuentra alejado del nitrógeno protonado y encontrándose más cercano al NH anilínico generando un puente de hidrógeno a 3,5 Å. En este mismo lugar la Val 117 que presenta mayor cercanía con este NH (3,4 Å) también genera otro puente de hidrógeno. Otra interacción de este tipo de presenta en la Cys 120 con el carbonilo vecino al benceno terminal a 3,4 Å. La lys 191 genera un puente de halógeno con el cloro a 2,9 Å de distancia.

Más cercano que el Asp se encuentra la Tyr 390 generando una interacción ion-dipolo a 4,5 Å.

Se presentan interacciones del tipo CH- $\pi$  en el anillo indólico con la Tyr 96 (2,4 Å), con el primer anillo bencílico lo hace el Trp 358 (5 Å) y en el segundo anillo la interacción se presenta con las Phe 361 (3,4 Å) y 362 (3,8 Å).

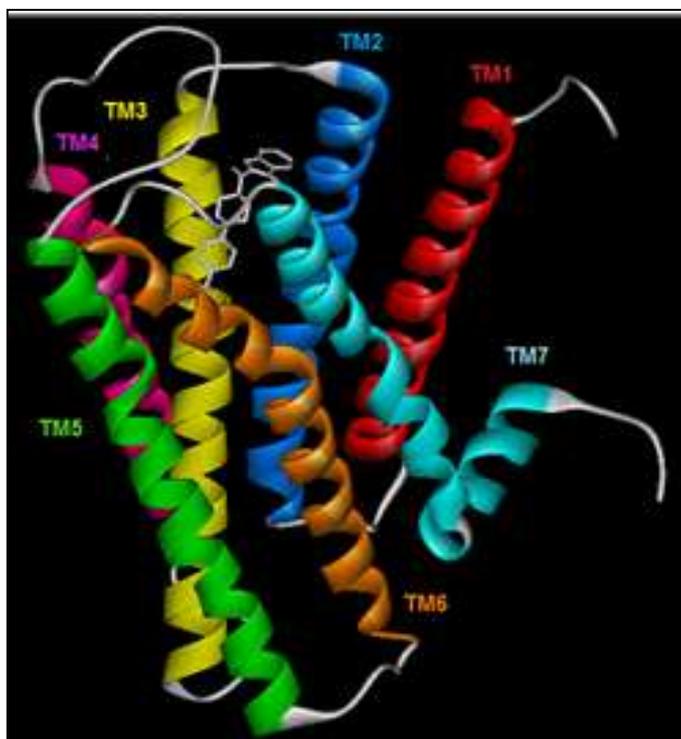
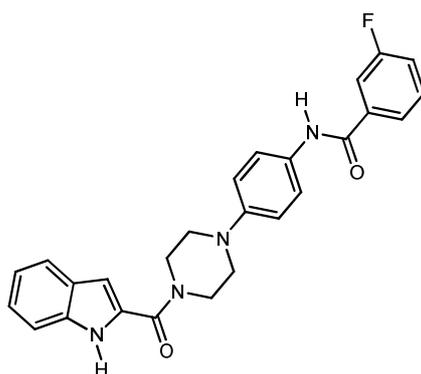


Figura 30. Representación orientación del compuesto 4b hacia la Transmembrana 2.

#### Estudio del complejo ligando receptor para el derivado 4c.



Como lo demuestra la Figura 21, el derivado **4c** presenta un sentido de orientación de la porción indólica de su estructura hacia la TM5.

En este ligando se aprecia la interacción del Asp 116 con el nitrógeno protonado a 3,9 Å.

Las Phe de las posiciones 361 y 362 generan interacciones CH- $\pi$  con el anillo indólico a una distancia de 3,8 y 4,2 Å respectivamente. La misma interacción presenta la Phe 112 con el primer anillo bencílico a 2,5 Å de distancia.

Las Ala de las posiciones 93 y 203 generan interacciones de tipo apolar con diferentes sectores del ligando. La primera lo realiza con el segundo anillo bencílico a 3,3 Å, y la segunda con el indol a 2,8 Å.

Al hablar de las Cys, estas participan en la interacción con el ligando por medio de Puentes de Hidrogeno. La ubicada en la posición 120 genera esta interacción por medio del NH, actuando como donador de puente de hidrogeno con el carbonilo vecino al indol con una distancia de 4,7 Å. Por otra parte Cys de la ubicación 187 lo hace como aceptor de puente de hidrogeno con en NH anilínico a 2,1 Å.

A nivel de los carbonos piperazínicos, la Ile 113 genera una interacción apolar a 3,3 Å y la Val 117 lo hace a 3,2 Å. El nitrógeno protonado genera una interacción ion-dipolo con la Asn 386 a 4,4 Å y además el NH de este residuo realiza un puente de hidrogeno con el carbonilo vecino al indol a 3,8 Å.

Finalmente la Tyr 96 presenta una orientación de su anillo aromático de tendencia paralela al segundo anillo bencílico del ligando a una distancia de 4,2 Å. De la misma forma el OH se encuentra paralelo al Flúor a una distancia de 5,0 Å.

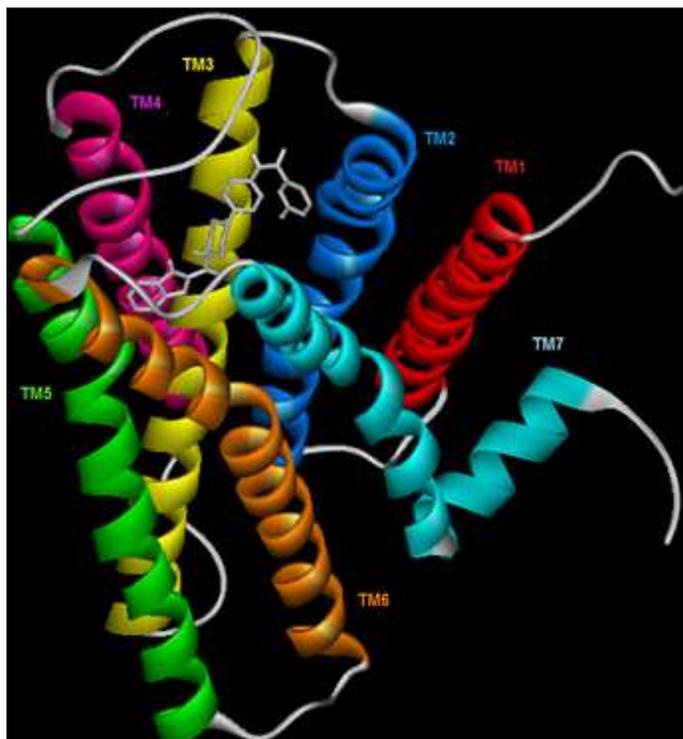
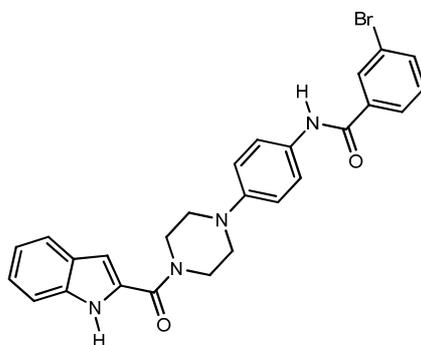


Figura 31. Representación orientación del compuesto 4c hacia la Transmembrana 5.

#### Estudio del complejo ligando receptor para el derivado 4d.



Como lo demuestra la Figura 21, el derivado **4d** presenta un sentido de orientación de la porción indólica de su estructura hacia la TM5.

Al analizar las interacciones presentes entre nuestro ligando **4d** y el receptor modelado se destaca la presencia de una interacción iónica entre el Asp 116 y el nitrógeno protonado a 5,1 Å la cual se encuentra reforzada por una interacción de puente de hidrogeno del mismo Asp con el hidrogeno del nitrógeno a 5.6 Å . Una gran cantidad de interacciones CH- $\pi$  con las diferentes fracciones del ligando son observadas. En este

sentido se reportan interacciones del indol con las Phe de las posiciones 361 y 362 a distancias de 2,6 Å y 3,8 Å respectivamente. Estas interacciones también se presentan a nivel del primer anillo bencílico, él interactúa con las Phe 112 e Ile 113 a 3,2 Å y 3,3 Å. Mayor cantidad de interacciones de este tipo se registran con el segundo anillo bencílico del ligando. En esta porción interacciones CH- $\pi$  se presentan con los aminoácidos Ala 93 (2,8 Å), Tyr 96 (3,2 Å), Trp 387 (3,1 Å) y Tyr 390 (4 Å).

Además de estas interacciones se presenta un puente de hidrogeno entre la Cys 187 y el nitrógeno anilínico (3,8 Å), interacciones apolares de la Ala 203 con el anillo indólico a 2,9 Å y la Ile 113 a 3,1 Å del carbono de la piperazina y una interacción ion-dipolo de la Lys 191 con el carbonilo vecino al indol a una distancia de 3,1 Å.

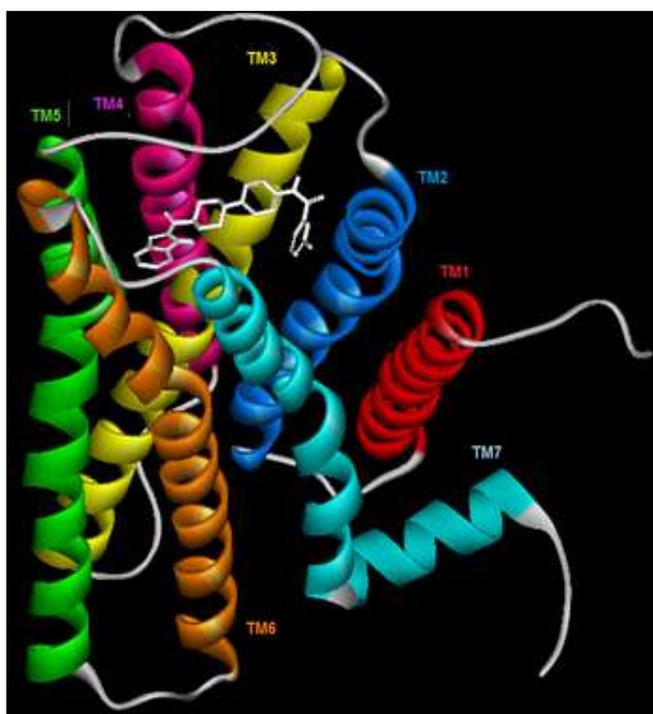
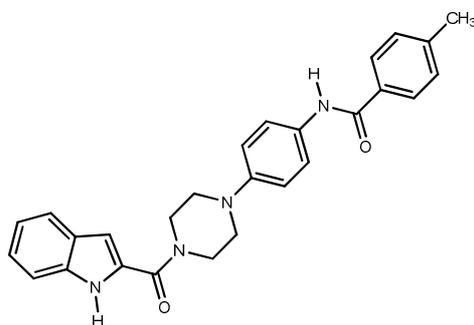


Figura 32. Representación orientación del compuesto 4d hacia la Transmembrana 5.

### Estudio del complejo ligando receptor para el derivado 4e.



Como lo demuestra la Figura 23 (A y B), el derivado **4e** no presenta una orientación predominante y por lo tanto se considera analizar las 2 conformaciones mayoritarias. Para esta evaluación el compuesto **4e<sub>1</sub>** será el cual tenga su porción indólica orientada a la TM2 y el compuesto **4e<sub>2</sub>** será el cual tenga su porción indólica orientada a la TM5.

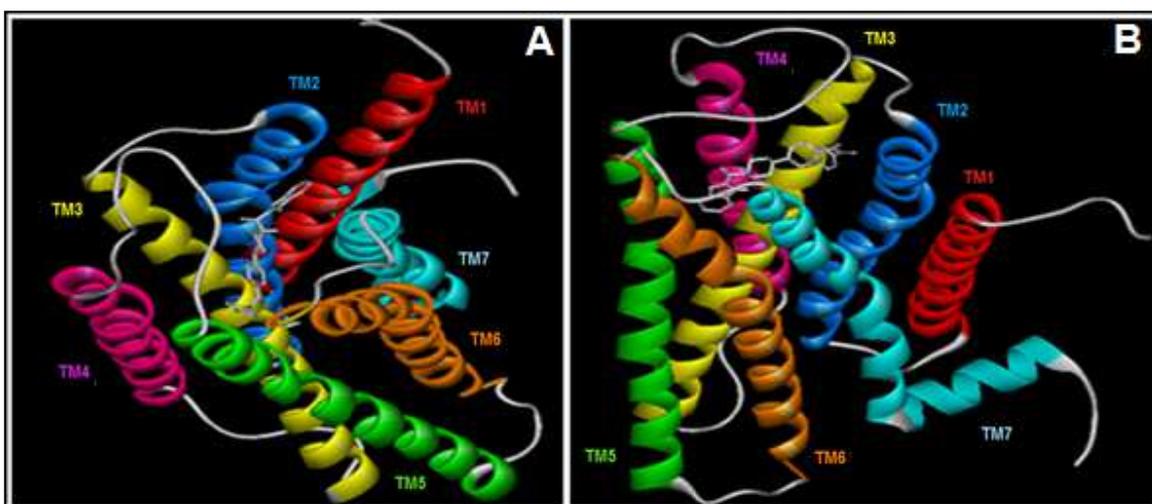


Figura 33. Representación de las orientaciones del compuesto 4e. La imagen de la izquierda (A) representa el compuesto orientado hacia la Transmembrana 2 (**4e<sub>1</sub>**), de imagen de la derecha (B) representa el compuesto orientado hacia la Transmembrana 5 (**4e<sub>2</sub>**).

### Estudio del complejo ligando receptor para el derivado 4e<sub>1</sub>.

En este caso el ligando presenta su porción indólica orientada hacia la TM2.

Al señalar interacciones el residuo de Asp 116 presenta una interacción con el nitrógeno protonado a 4,4 Å.

Interacciones CH- $\pi$  se observan entre la Phe 361 a 4 Å del primer anillo bencílico y la Phe 362 a 3,7 Å del segundo anillo bencílico. De igual manera la Tyr 96 interactúa con el anillo indólico a 3 Å.

Interacciones de tipo apolar se generan en diferentes sectores de ligando. En el núcleo indólico la Ala 93 interactúa a 3,5 Å, la Ala 383 lo hace a 3,5 Å. La Ile 189 lo hace a 3,5 Å de la piperazina y en el segundo anillo se presenta la interacción de la Thr 196 con el metilo que sustituye al anillo a 4 Å de distancia.

Finalmente interacciones del tipo puentes de hidrogeno se presentan entre la Cys 120 con el NH anilínico a 2,8 Å. De la misma manera la Asn 386 Tyr 390 pueden generar puentes de hidrogeno con el nitrogeno de la piperazina a 2,2 Å y 3,3 Å respectivamente.

#### **Estudio del complejo ligando receptor para el derivado 4e<sub>2</sub>.**

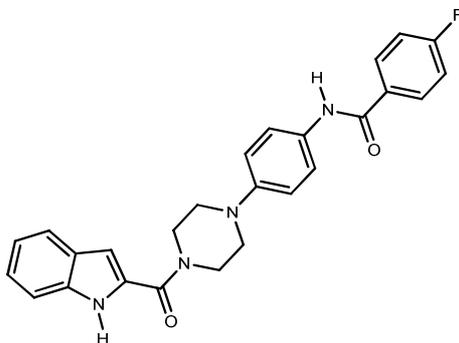
Como ya se mencionó el compuesto 4e<sub>2</sub> está orientado a la TM5. Entre de las interacciones relevantes se señala el Asp 116 y el nitrógeno protonado a 5,8 Å, esta interacción se encuentra reforzada por un puente de hidrogeno entre en Asp y el protón del hidrógeno a 5.0 Å.

El residuo de Tyr 96 presenta una orientación de su anillo aromático de tendencia paralela al segundo anillo bencílico del ligando a una distancia de 3,8 Å. Destaca un puente de hidrogeno se presenta entre la Lys 191 y el carbonilo vecino al indol a 2,1 Å.

Las Phe de las posiciones 361 y 362 generan interacciones CH- $\pi$  con el anillo indólico a una distancia de 3,7 y 2,2 Å respectivamente. Otra interacción de este tipo se presenta entre la Phe 112 y el primer anillo bencílico a 3 Å de distancia.

Interacciones apolares se observan entre la piperazina y los residuos Ile 113 y la Ile 189 a 3,2 Å y 4,1 Å respectivamente. La Ala 203 lo hace con el indol a 3 Å y la Ala 383 con el sustituyente metilo de segundo benceno a 3,5 Å.

### Estudio del complejo ligando receptor para el derivado 4f.



Como lo demuestra la Figura 25, el derivado **4f** presenta un sentido de orientación de la porción indólica de su estructura hacia la TM5.

En este ligando se observa la interacción del Asp 116 con el nitrógeno protonado a 4,4 Å.

Las Phe de las posiciones 361 y 362 generan interacciones CH- $\pi$  con el anillo indólico a una distancia de 3,5 Å y 3,9 Å respectivamente. La misma interacción presenta la Phe 112 con el primer anillo bencílico a 3,1 Å de distancia.

Las Ala de las posiciones 93 y 203 generan interacciones de tipo apolar con diferentes sectores del ligando. La primera lo realiza con el segundo anillo bencílico a 3,2 Å, y la segunda con el indol a 3 Å.

Nuevamente las Cys participan en la interacción con el ligando por medio de Puentes de Hidrogeno. La ubicada en la posición 120 genera esta interacción por medio del NH, actuando como donador de puente de hidrogeno con el carbonilo vecino al indol con una distancia de 4,1 Å. Por otra parte Cys de la ubicación 187 lo hace como aceptor de puente de hidrogeno con en NH anilínico a 1,9 Å.

A nivel de las carbonos piperazínicos, la Ile 113 genera una interacción apolar a 3,5 Å y la Val 117 lo hace a 3,5 Å. El nitrógeno protonado genera una interacción ion-dipolo con la Asn 386 a 442 Å y además el NH de este residuo realiza un puente de hidrogeno con el carbonilo vecino al indol a 3,8 Å.

Una puente de Halógeno se observa entre el flúor ubicado el posición para y el NH de Trp 387 a 1,9 Å de distancia.

Finalmente la Tyr 96 se presenta una orientación de su anillo aromático de tendencia paralela al segundo anillo bencílico del ligando a una distancia de 3,9 Å.

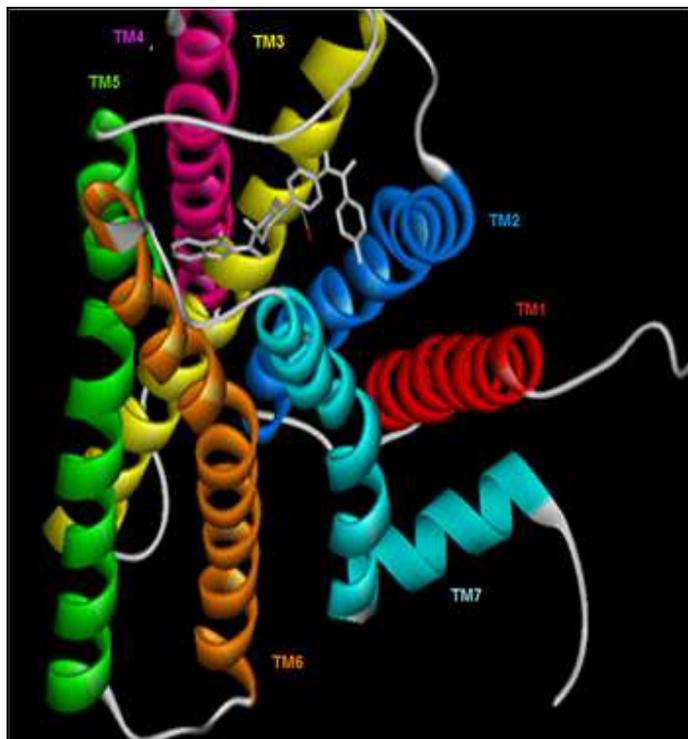
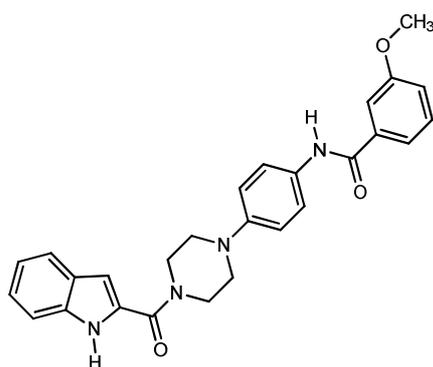


Figura 34. Representación orientación del compuesto 4f hacia la Transmembrana 5.

#### Estudio del complejo ligando receptor para el derivado 4g.



Como lo demuestra la Figura 26 (A y B), el derivado **4g** no presenta una orientación predominante y por lo tanto se considera analizar las 2 conformaciones mayoritarias. Para

esta evaluación el compuesto **4g<sub>1</sub>** será el cual tenga su porción indólica orientada a la TM5 y el compuesto **4g<sub>2</sub>** será el cual tenga su porción indólica orientada a la TM2.

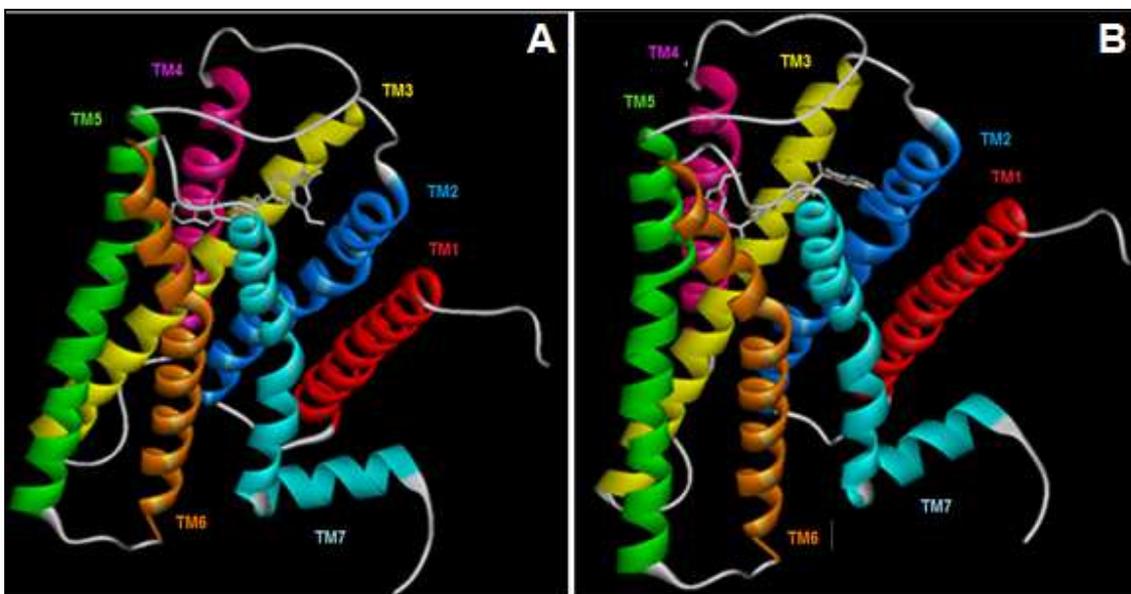


Figura 35. Representación de las orientaciones del compuesto **4g**. La imagen de la izquierda (A) representa el compuesto orientado hacia la Transmembrana 5 (**4g<sub>1</sub>**), de imagen de la derecha (B) representa el compuesto orientado hacia la Transmembrana 2(**4g<sub>2</sub>**).

#### Estudio del complejo ligando receptor para el derivado **4g<sub>1</sub>**.

Como ya se mencionó el compuesto **4g<sub>1</sub>** está orientado a la TM5. Dentro de las interacciones relevantes se señala la existente entre el Asp 116 y el nitrógeno protonado a 3,9 Å.

El residuo de Tyr 96 presenta una orientación de su anillo aromático de tendencia paralela al segundo anillo bencílico del ligando a una distancia de 4,1 Å.

Las Phe de las posiciones 361 y 362 generan interacciones CH- $\pi$  con el anillo indólico a una distancia de 4,2 Å y 2,4 Å respectivamente. Otra interacción de este tipo se presenta entre la Phe 112 y el primer anillo bencílico a 3 Å de distancia.

En relación de las Cys 120 y 187, estas participan en la interacción con el ligando por medio de Puentes de Hidrogeno. La ubicada en la posición 120 genera esta interacción por medio del SH, actuando como donador de puente de hidrogeno con el carbonilo vecino

al indol con una distancia de 4,1 Å. Por otra parte Cys de la ubicación 187 lo hace como aceptor de puente de hidrogeno con en NH anilínico a 2,3 Å.

Interacciones apolares se observan entre la piperazina y los residuos Ile 113 y Val 117 a 3,4 Å y 3,2 Å. A nivel del primer anillo bencílico la Ala 189 interactúa a 3,6 Å. La Ala 383 lo hace con segundo anillo de benceno a 3,6 Å.

### **Estudio del complejo ligando receptor para el derivado 4g<sub>2</sub>.**

En este caso el ligando **4g<sub>2</sub>** presenta su porción indólica orientada hacia la TM2. Se aprecian interacciones entre el residuo de Asp 116 con el nitrógeno protonado piperazínico a 4,2 Å.

La Tyr 96 interactúa por medio de una interacción de su nube  $\pi$  con el anillo indólico a 4,6 Å.

Interacciones de tipo apolar se generan en diferentes sectores de ligando. En el núcleo indólico la Ala 93, Gln 97 y Ala 383 interactúan a 4,1 Å, 4,2 Å y 3,7 Å, la Val 117 lo hace con el primer benceno a 3,6 Å. La Ala 203 interactúa a 4,8 Å del segundo benceno.

Finalmente se presentan interacciones del tipo puentes de hidrogeno entre la Tyr 195 con el sustituyente metoxilo aromático a 3,7 Å y la Asn 386 lo hace con la piperazina a 2,5 Å.

La **tabla 4** nos muestra un resumen de las interacciones que presentaron los ligandos con los aminoácidos que componen el receptor.

**Tabla 4.** Resumen de las interacciones que presentaron los ligandos con los aminoácidos que componen el receptor.

N° aminoácido	Ligando									
	4a <sub>1</sub>	4a <sub>2</sub>	4b	4c	4d	4e <sub>1</sub>	4e <sub>2</sub>	4f	4g <sub>1</sub>	4g <sub>2</sub>
<b>Ala 93</b>	x			x	x	x		x		x
<b>Tyr 96</b>	x		X	x	X	X	X	x	X	x
<b>Gln 97</b>										x
<b>Phe 112</b>					X		X	X	X	
<b>Ile 113</b>	x			x	X		X	X	X	
<b>Asp 116</b>	x	x	X	x	X	X	X	X	X	x
<b>Val 117</b>	x	x	X	x				X	X	x
<b>Cys 120</b>	x		X	x		X		X	X	
<b>Cys 187</b>	x			x	X			X	X	
<b>Ile189</b>						X	X		X	
<b>Lys 191</b>			X		X		X			
<b>Try 195</b>										x
<b>Thr 196</b>		x				X				
<b>Thr 200</b>		x								
<b>Ala 203</b>	x			x	X		X	X		x
<b>Trp 358</b>			X							
<b>Phe 361</b>	x	x	X	x	X	X	X	X	X	
<b>Phe362</b>	x	x	X	x	X	X	X	X	X	
<b>Ala 365</b>		x								
<b>Ala 383</b>		x				X	X		X	x
<b>Asn 386</b>	x	x		x		X		X		x
<b>Trp 387</b>					X			X		
<b>Tyr 390</b>	x	x	X		X	X				
<b>Cantidad de interacciones</b>	12	10	9	11	12	11	10	13	11	9
<b>Puntaje de Docking</b>	-7.95	-7.82	-7.99	-6.81	-7.91	-7.55	-7.01	-6.74	-7.70	-7.28

## 8.-OBJETIVOS LOGRADOS / CONCLUSIONES

---

- 1) Por reacción entre el indol 2 ácido carboxílico (**1a**), dicitlohexilcarboxamida (DCC) y 4-nitrofenilpiperazina, se obtuvo el compuesto **2a** con un rendimiento de 78%.
- 2) El derivado aminofenilpiperazinoindol (**3a**) fue obtenido por reducción del nitrofenilpiperazinoindol (**2a**) con un rendimiento de 50%.
- 3) La generación de los hetero bis-ligandos **4(a-h)** fue llevada a cabo por reacción del derivado aminofenilpiperazinoindol (**3a**) con diferentes haluros de aroílo, obteniéndose las bis-arilamidas terminales con rendimientos entre 65-75%.
- 4) Los estudios de acoplamiento molecular inducido ("Docking") de la familia **4(a-h)** sobre el receptor 5-HT<sub>1A</sub> presentaron puntajes de docking favorables, lo que constituye un adecuado fundamento para ser considerados buenos candidatos a ensayos farmacológicos en el receptor 5-HT<sub>1A</sub>.
- 5) En los análisis de los estudios de docking no se observó una disposición espacial única de los compuestos sintetizados, viéndose moléculas orientadas hacia la transmembrana 2 y/o 5. A pesar de esta indefinición en la conformación espacial de las moléculas los resultados obtenidos son congruentes con los de literatura existente. Esto se puede deber a que el Asp 116 sirve como aminoácido de anclaje y la orientación hacia una de las transmembranas queda sujeta a la capacidad del ligando de generar interacciones apolares por medio de la fracción indólica o del anillo bencílico terminal con aminoácidos apolares, los cuales son similares en ambas transmembranas, además de la ausencia de un sustituyente en la posición 5 del indol que ayudaría a estabilizar la interacción con la Ser de la posición 199 de la transmembrana 5.
- 6) El compuesto 4b presentó el mejor puntaje de docking entre los compuestos evaluados, donde la interacción de la lys 191 podría explicar la diferencia en el puntaje obtenido con respecto a los otros compuestos de la familia sintetizada. A pesar de esto no existieron grandes diferencias interactivas en relación a los sustituyentes insertos en la porción arilica sustituida.

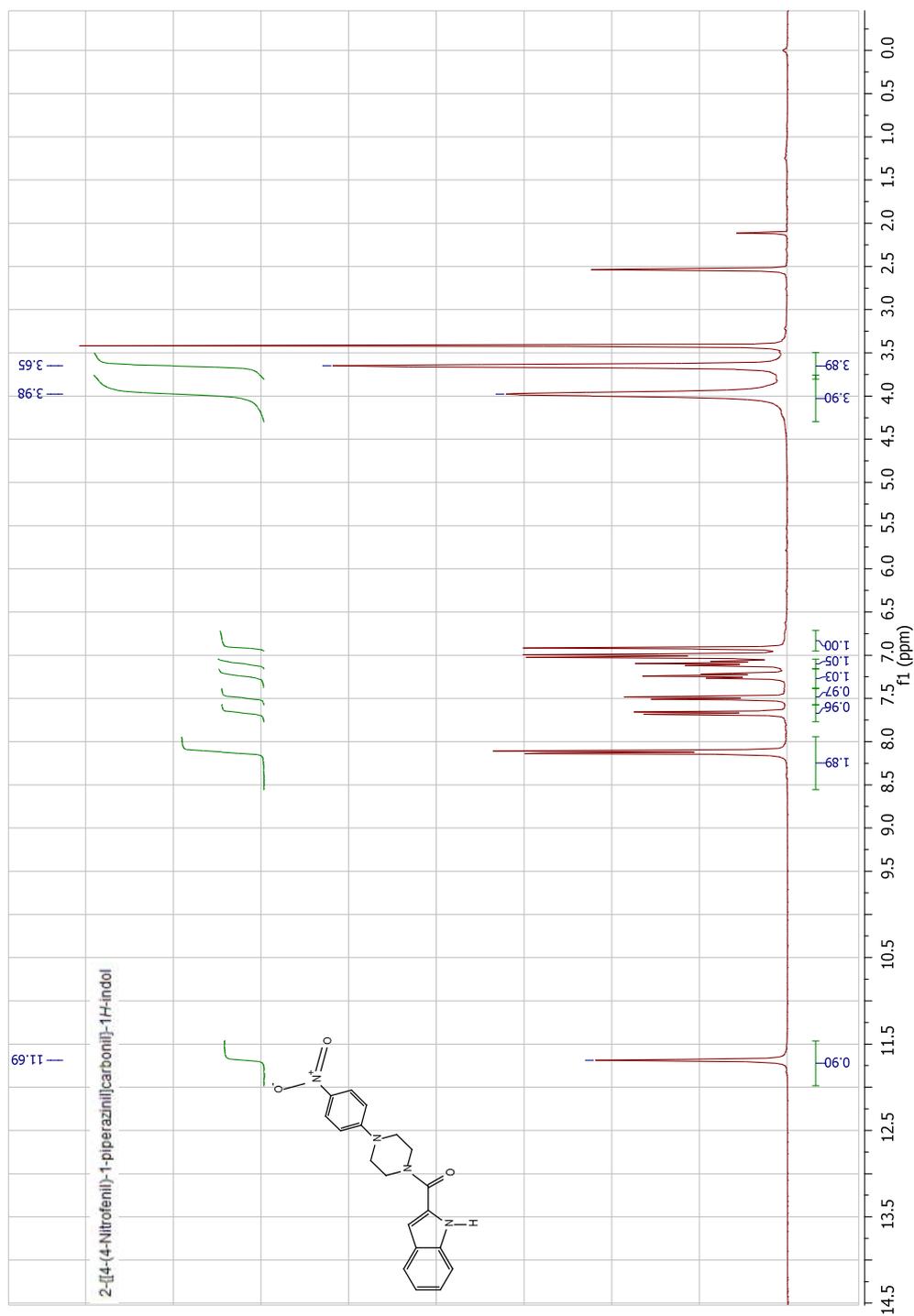
## 9.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

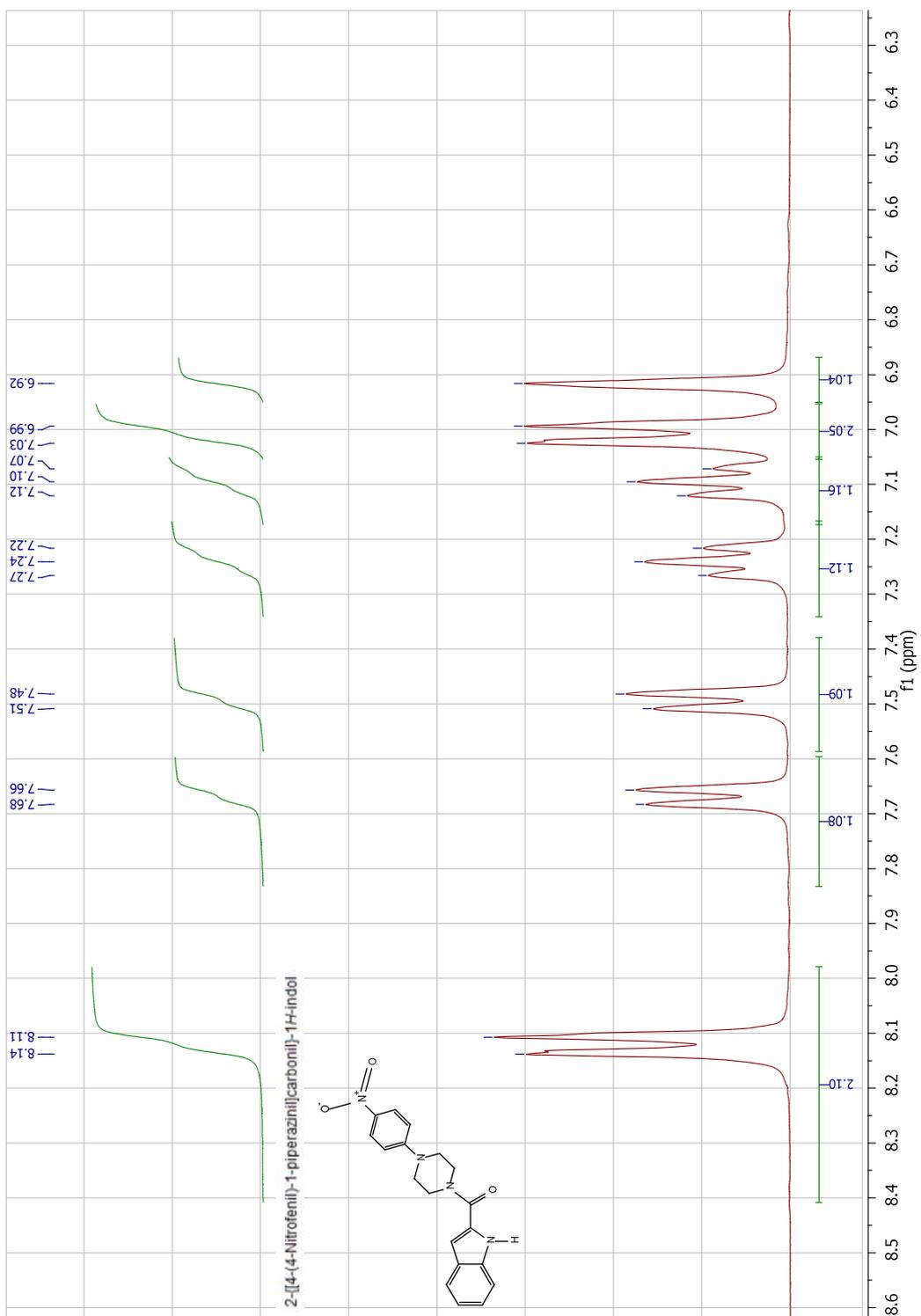
---

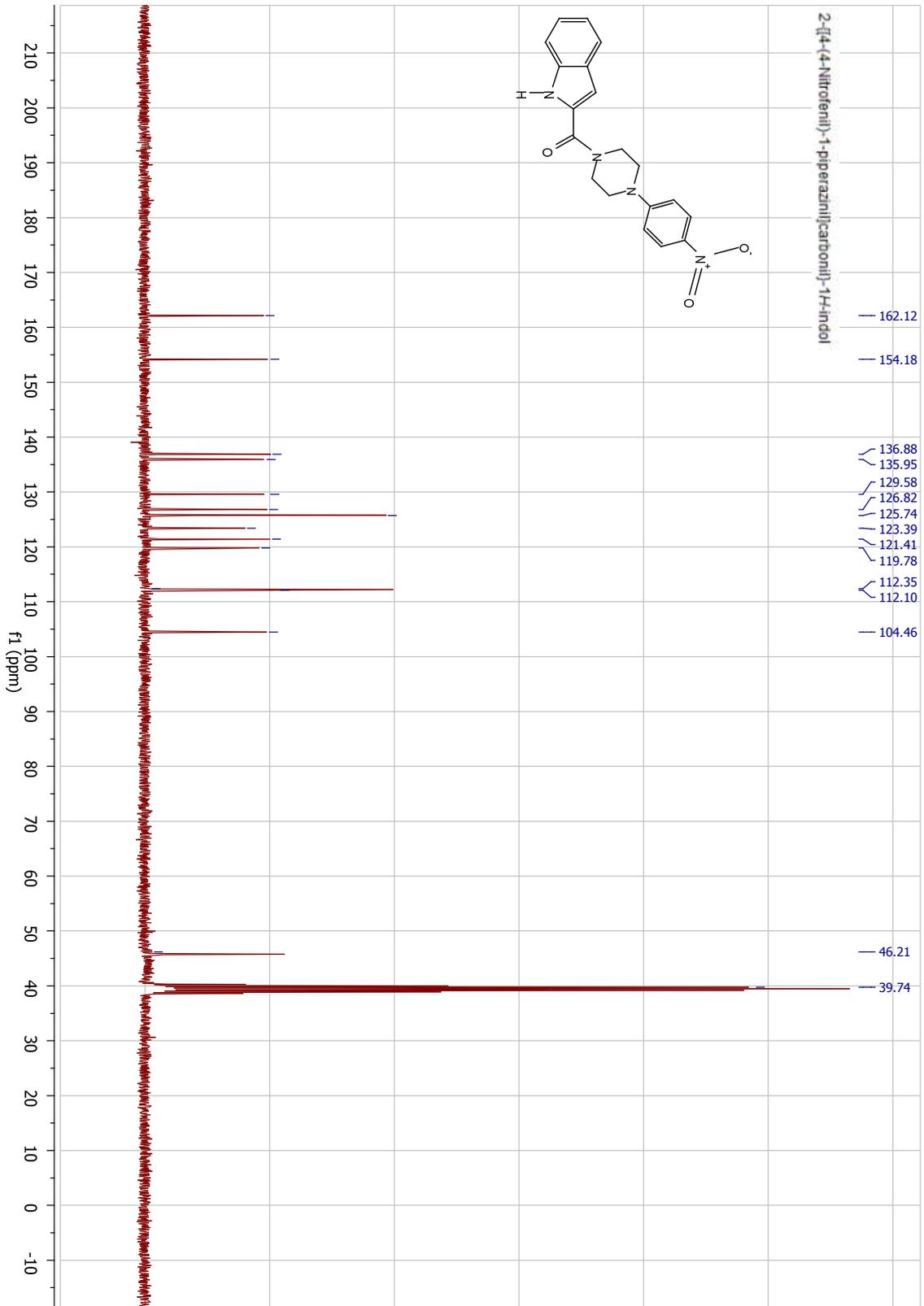
1. L., B.L.L.L.J.S.P.K., *Goodman y Gilman Las bases farmacológicas de la Terapéutica*. 11 ed2006.
2. Salud, M.d., *Guía Clínica Tratamiento de Personas con Depresión*, S.d.S. Pública, Editor 2009: Santiago.
3. Salud, M.d., *Encuesta Nacional de Salud 2009-2010*, 2012. p. 412-413.
4. Wong, M.-L. and J. Licinio, *Research and treatment approaches to depression*. Nat Rev Neurosci, 2001. **2**(5): p. 343-351.
5. Elhwuegi, A.S., *Central monoamines and their role in major depression*. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 2004. **28**(3): p. 435-451.
6. F.López-Muñoz, C.Á., *Historia de la Psicofarmacología*. Vol. II. 2007, Madrid, España: Editorial Médica Panamericana S.A.
7. Albert, P.R., C. Benkelfat, and L. Descarries, *The neurobiology of depression--revisiting the serotonin hypothesis. I. Cellular and molecular mechanisms*. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2012. **367**(1601): p. 2378-81.
8. Jesús Florez, J.A.A., África Mediavilla, *Farmacología Humana*. 3 edición ed1997.
9. Hannon, J. and D. Hoyer, *Molecular biology of 5-HT receptors*. Behav Brain Res, 2008. **195**(1): p. 198-213.
10. Nichols, D.E. and C.D. Nichols, *Serotonin receptors*. Chem Rev, 2008. **108**(5): p. 1614-41.
11. Berger, M., J.A. Gray, and B.L. Roth, *The expanded biology of serotonin*. Annu Rev Med, 2009. **60**: p. 355-66.
12. Srahl, S.M., *Psicofarmacología de los antidepresivos*. Vol. 1. 1997. 1-108.
13. Yamada, M. and H. Yasuhara, *Clinical Pharmacology of MAO Inhibitors: Safety and Future*. NeuroToxicology, 2004. **25**(1-2): p. 215-221.
14. Vaswani, M., F.K. Linda, and S. Ramesh, *Role of selective serotonin reuptake inhibitors in psychiatric disorders: a comprehensive review*. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 2003. **27**(1): p. 85-102.
15. Dawson, L.A. and J.M. Watson, *Vilazodone: a 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist/serotonin transporter inhibitor for the treatment of affective disorders*. CNS Neurosci Ther, 2009. **15**(2): p. 107-17.
16. Heinrich, T., et al., *Indolebutylamines as Selective 5-HT<sub>1A</sub> Agonists*. Journal of Medicinal Chemistry, 2004. **47**(19): p. 4677-4683.
17. Heinrich, T., et al., *Synthesis and Structure-Activity Relationship in a Class of Indolebutylpiperazines as Dual 5-HT<sub>1A</sub> Receptor Agonists and Serotonin Reuptake Inhibitors*. Journal of Medicinal Chemistry, 2004. **47**(19): p. 4684-4692.
18. Heinrich, T. and H. Böttcher, *A new synthesis of indole 5-carboxylic acids and 6-hydroxy-indole-5-carboxylic acids in the preparation of an o-hydroxylated metabolite of vilazodone*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2004. **14**(10): p. 2681-2684.
19. Sharma, V., P. Kumar, and D. Pathak, *Biological importance of the indole nucleus in recent years: A comprehensive review*. Journal of Heterocyclic Chemistry, 2010. **47**(3): p. 491-502.
20. Srivastava, A. and S. Pandeya, *Indole a versatile nucleus in pharmaceutical field*. International J Current Pharm Review and Research, 2011. **1**(3).
21. Pessoa-Mahana, H., et al., *Synthesis, 5-hydroxytryptamine<sub>1A</sub> receptor affinity and docking studies of 3-[3-(4-aryl-1-piperazinyl)-propyl]-1H-indole derivatives*. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2012. **60**(5): p. 632-8.

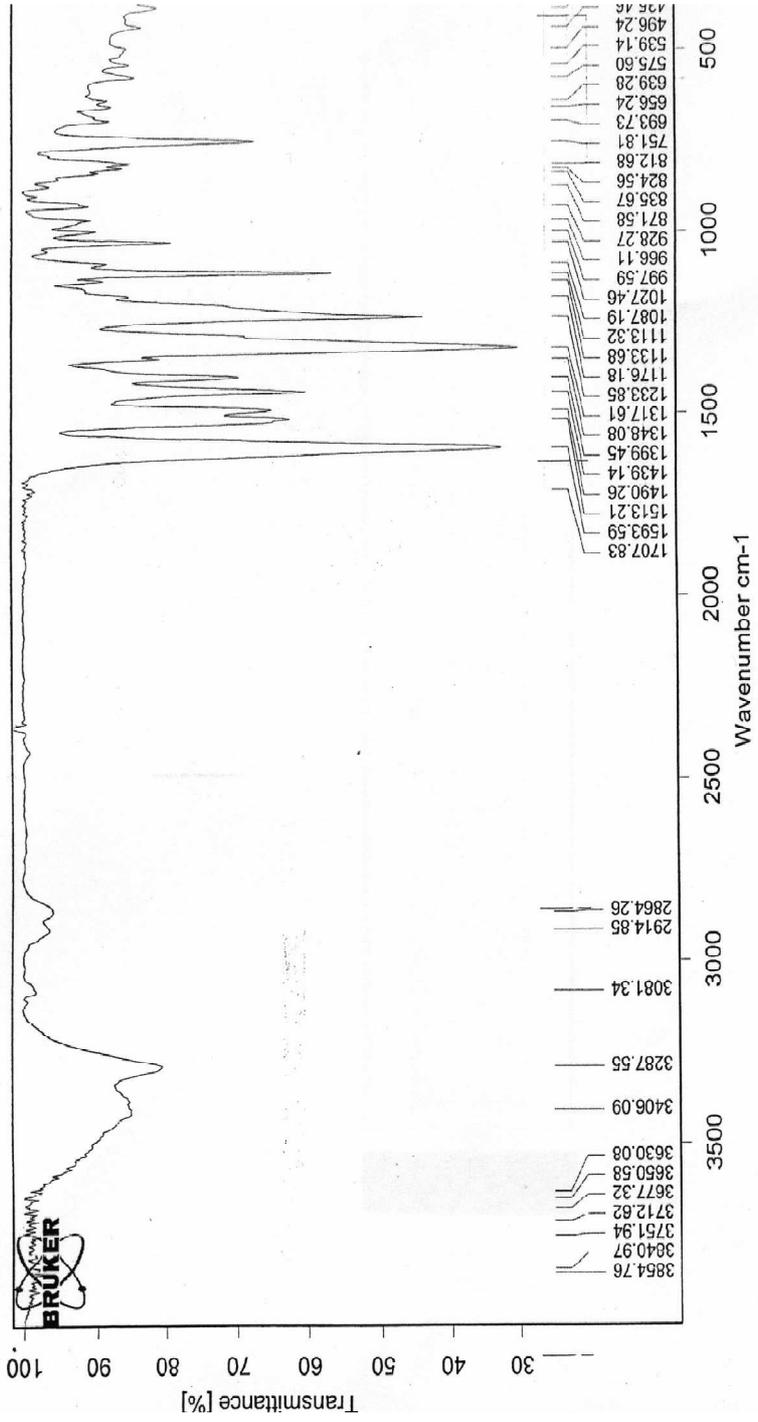
22. Pessoa-Mahana H., R., G.,G. Araya-Maturana,R., Koshe Cárcamo, J., Pessoa-Mahana,C.David. , *Synthesis of 4-Arylpiperazine Derivative of Moclobemide.Potential Antidepressants with a Dual Mode of Action.* 34,14, 2513-2521, 2004.
23. Asagarasu, A., et al., *Design and synthesis of piperazinyipyridine derivatives as novel 5-HT1A agonists/5-HT3 antagonists for the treatment of irritable bowel syndrome (IBS).* Chem Pharm Bull (Tokyo), 2009. **57**(1): p. 34-42.
24. Khatri, M., et al., *Synthesis and pharmacological evaluation of new arylpiperazines< i> N</i>-{4-[4-(aryl) piperazine-1-yl]-phenyl}-amine derivatives: Putative role of 5-HT< sub> 1A</sub> receptors.* Bioorg Med Chem, 2009. **17**(5): p. 1890-1897.
25. D, P.-M.H.K.C.J.R.H.N.R.-G.G.S.B.C.R.A.-M.y.P.-M.C., *Solvent-Free Microwave Synthesis of 3-(4-Benzo[b]thiophene-2-carbonyl)-1-piperazinyl-1-benzo[b]thiophen-2-yl-1-propanones. New Hetero Bis-Ligands with Potential 5-HT1A Serotonergic Activity.* Heterocycles 2008, 2008. **75**: p. 1913-1929.
26. Orjales, A., et al., *Syntheses and Binding Studies of New [(Aryl)(aryloxy)methyl]piperidine Derivatives and Related Compounds as Potential Antidepressant Drugs with High Affinity for Serotonin (5-HT) and Norepinephrine (NE) Transporters.* Journal of Medicinal Chemistry, 2003. **46**(25): p. 5512-5532.
27. Martínez, J., et al., *New 3-[4-(aryl)piperazin-1-yl]-1-(benzo[b]thiophen-3-yl)propane derivatives with dual action at 5-HT1A serotonin receptors and serotonin transporter as a new class of antidepressants.* European Journal of Medicinal Chemistry, 2001. **36**(1): p. 55-61.
28. Steglisch, W., : Hofle, G. *Angew., Chem., Inter. Ed. Engl.* 8, 981522, 1969.
29. Bissantz, C., B. Kuhn, and M. Stahl, *A Medicinal Chemist's Guide to Molecular Interactions.* Journal of Medicinal Chemistry, 2010. **53**(14): p. 5061-5084.
30. Zlatovic, M.V., et al., *Interaction of arylpiperazine ligands with the hydrophobic part of the 5-HT1A receptor binding site.* Bioorg Med Chem, 2006. **14**(9): p. 2994-3001.

## 10.-ANEXO.



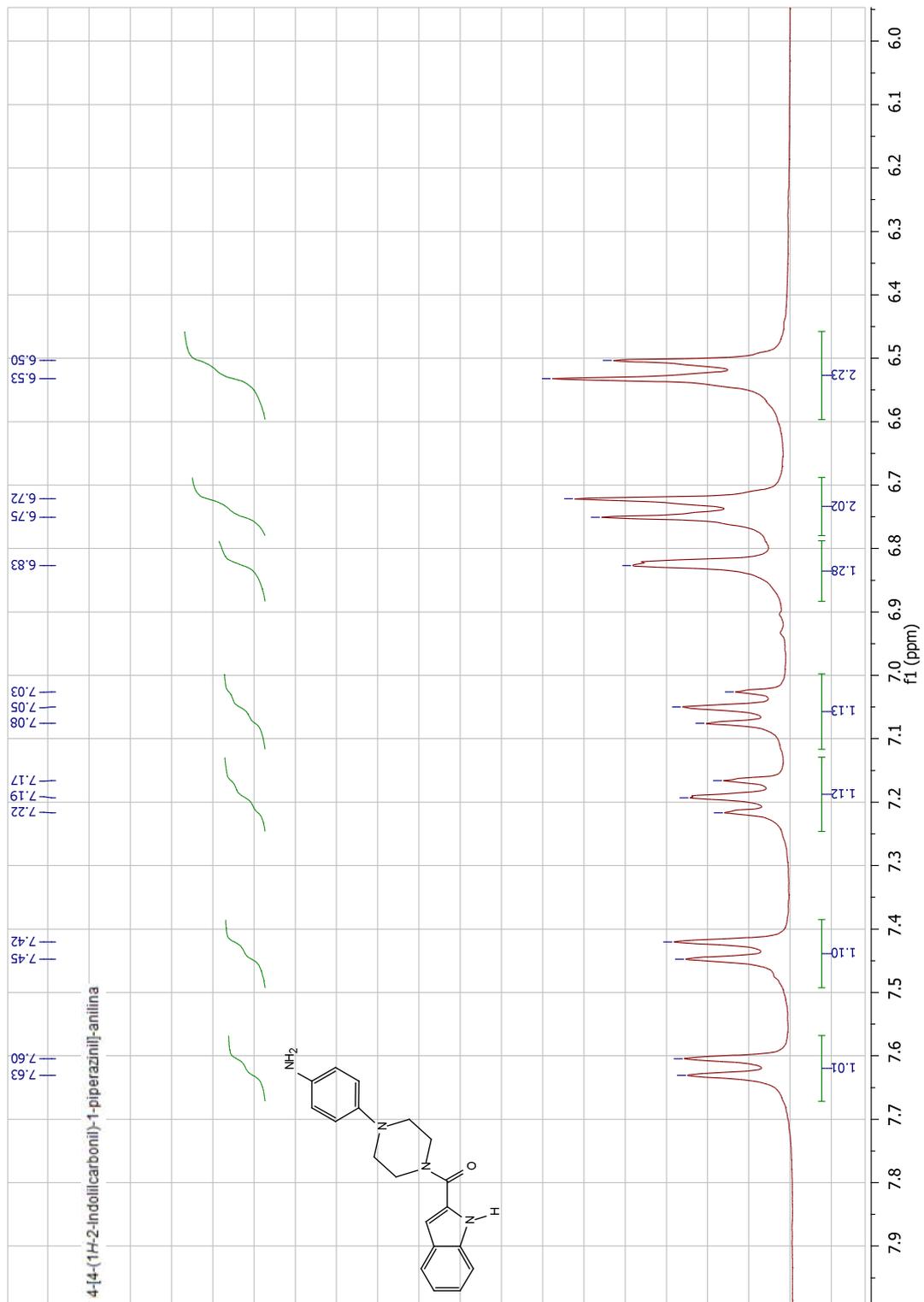


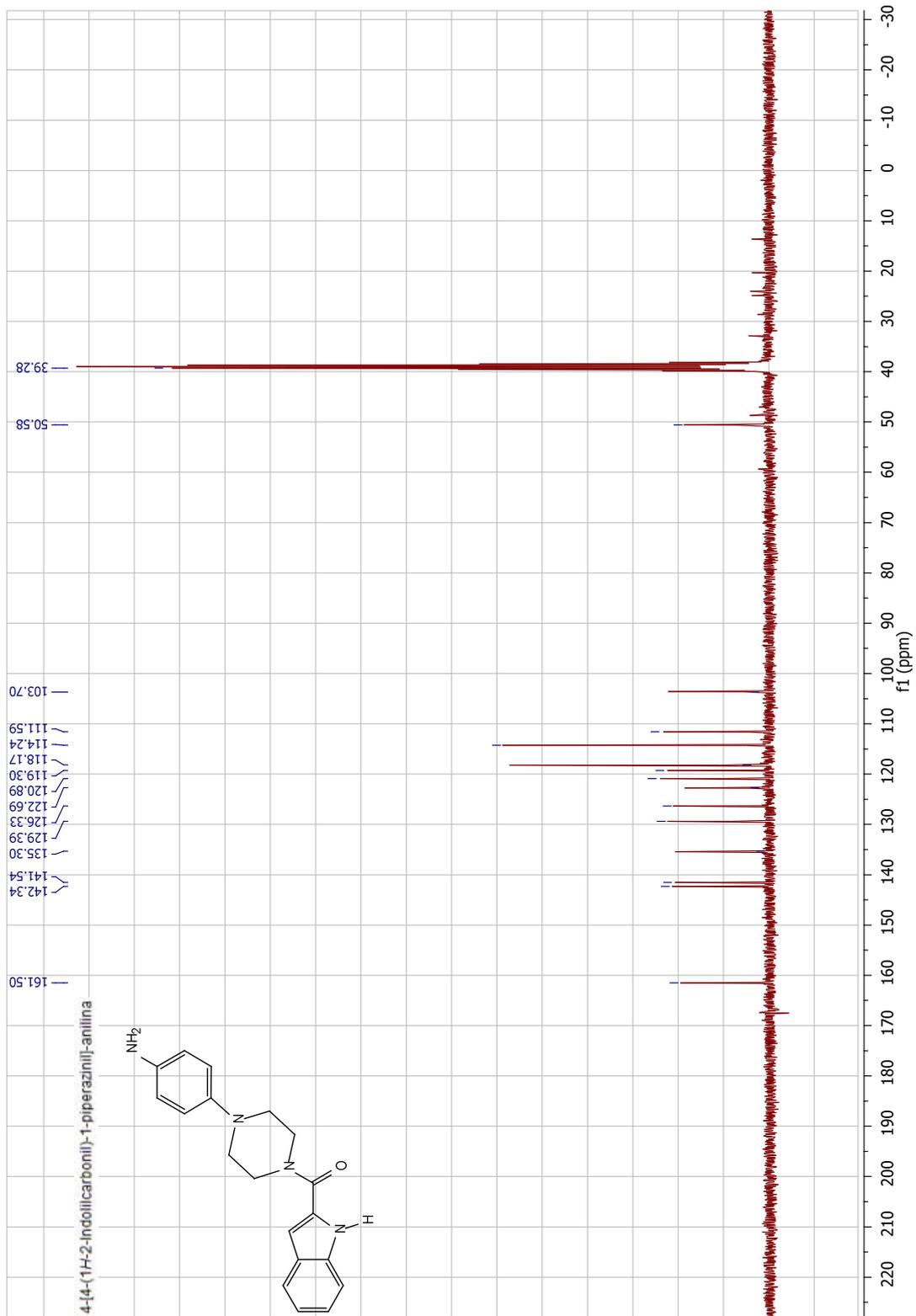


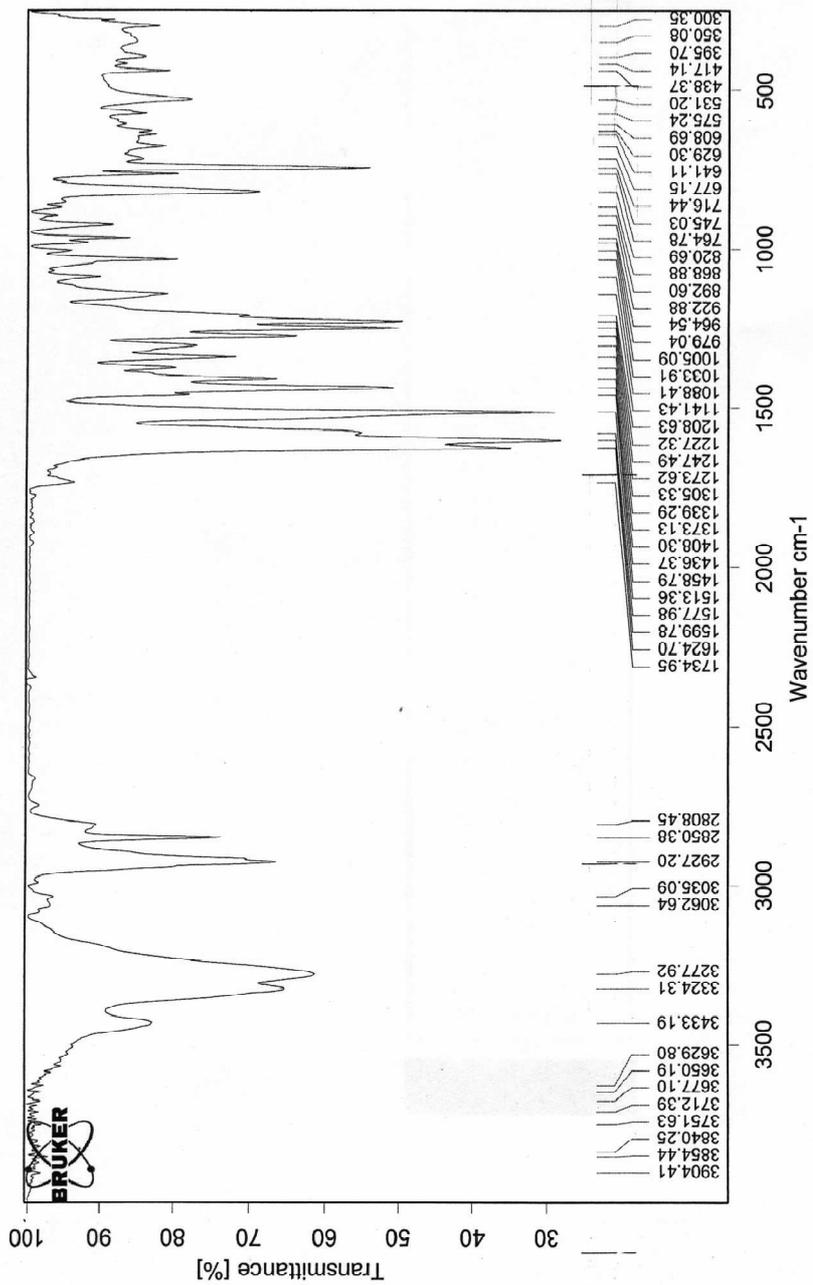


C:\Program Files\OPUS\_65\MIEASHSA15MA\_8      Rossy Escobar JA-1Dr. David Pessoa Far.      Pellet KBr.      15-0C

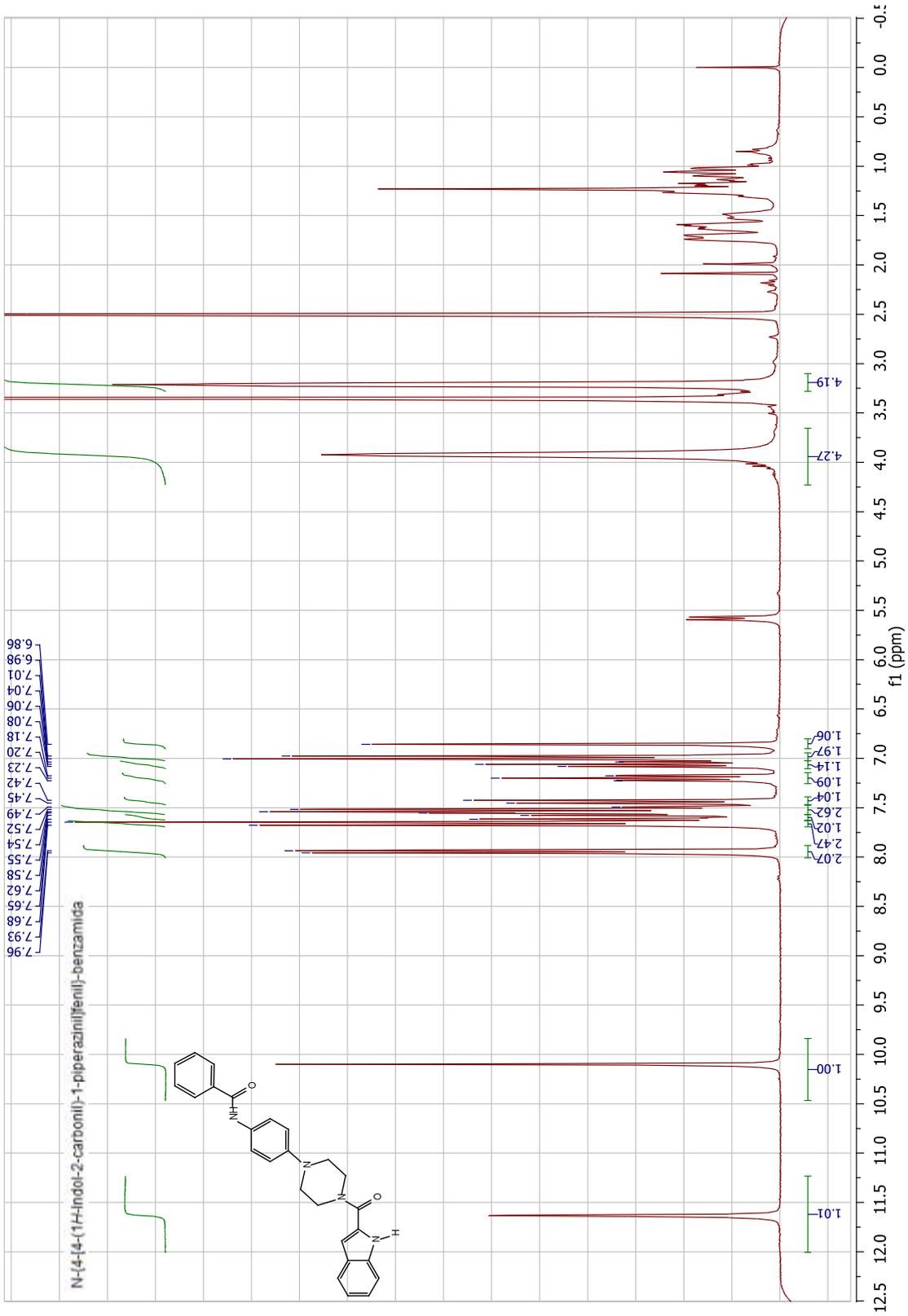


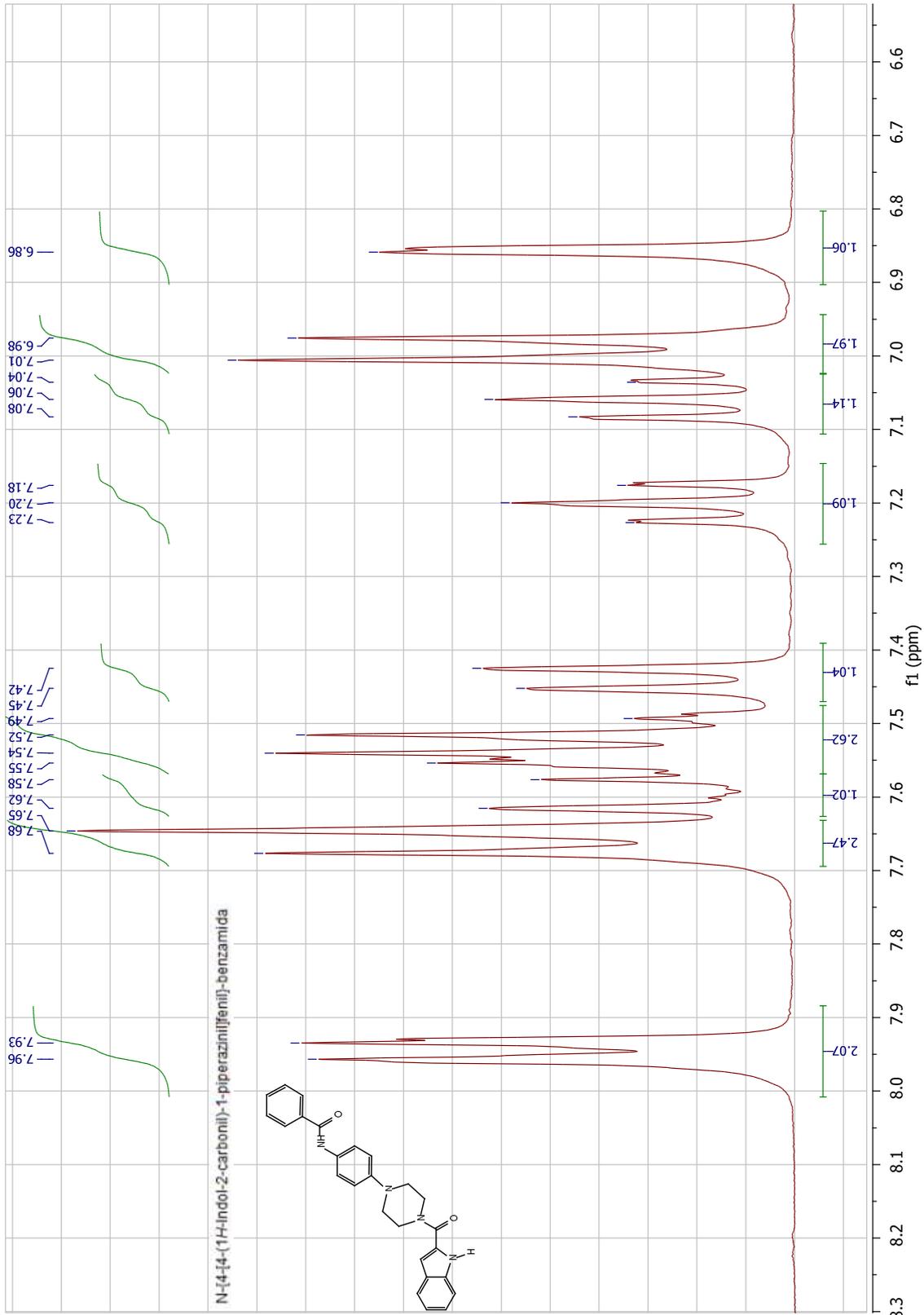


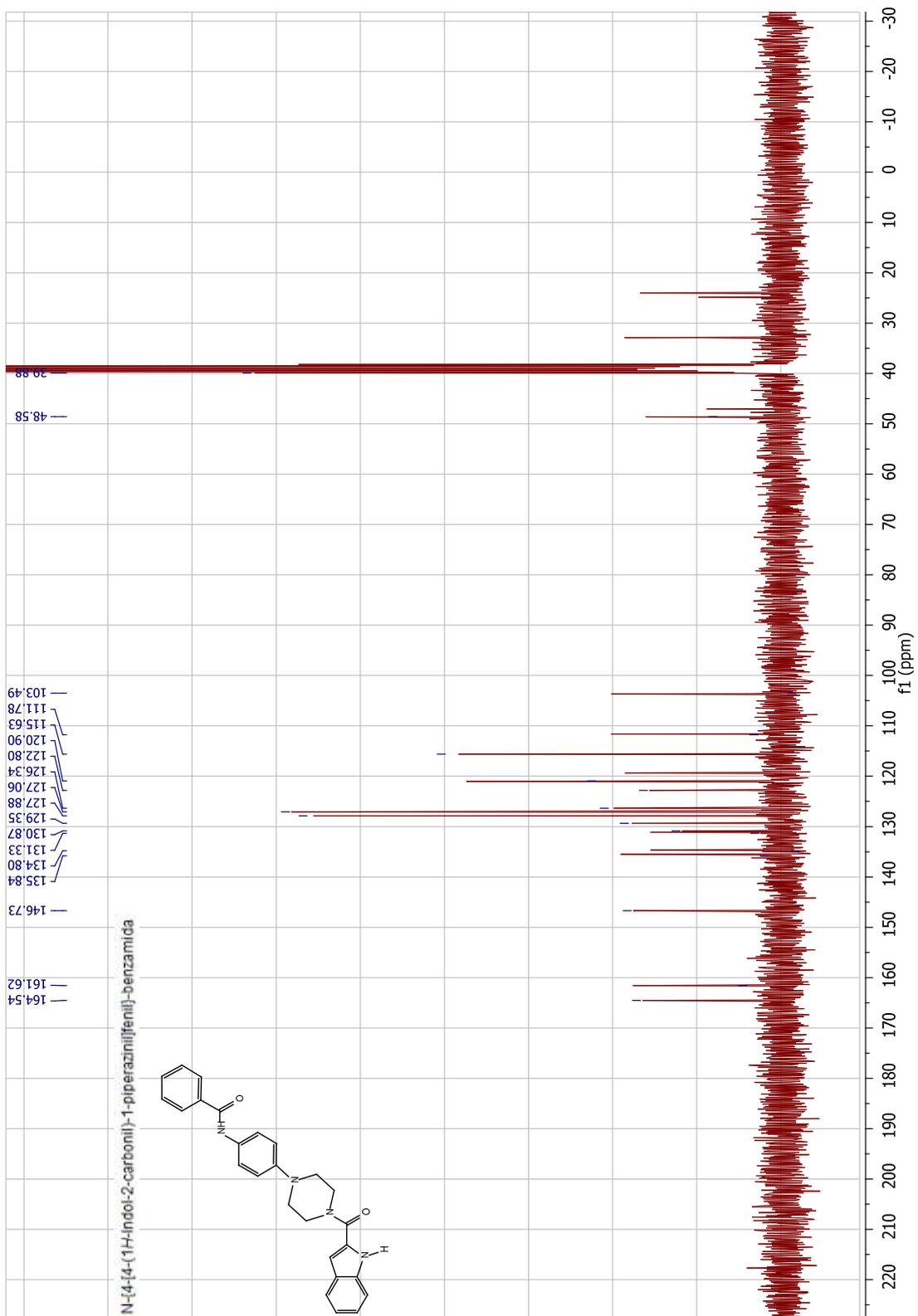


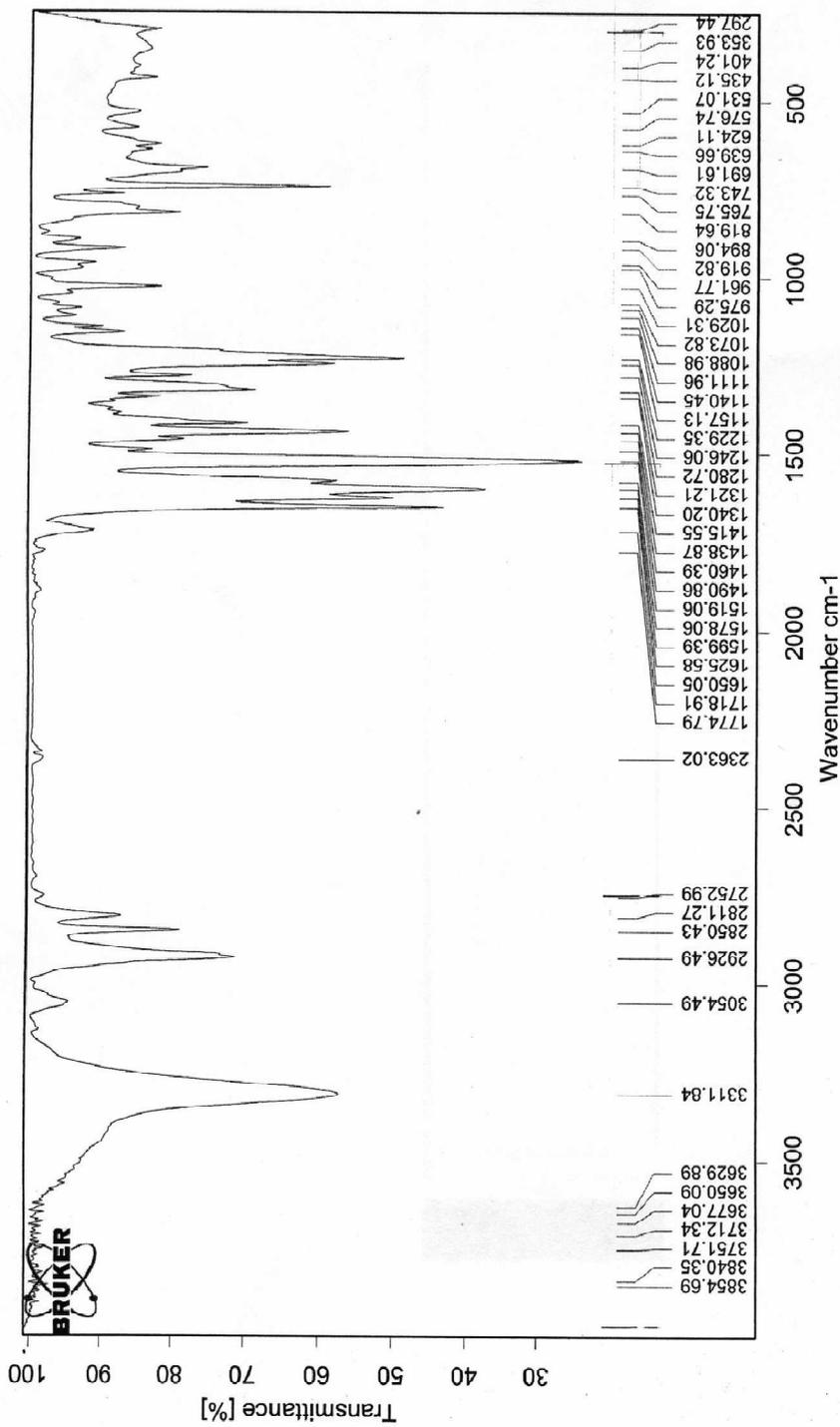


C:\Program Files\OPUS\_65\MEAS\ISA15\MA.11      Rossy Escobar JA-2 Dr. David Pessoa Far.      Pellet KBr.      15-03-2013



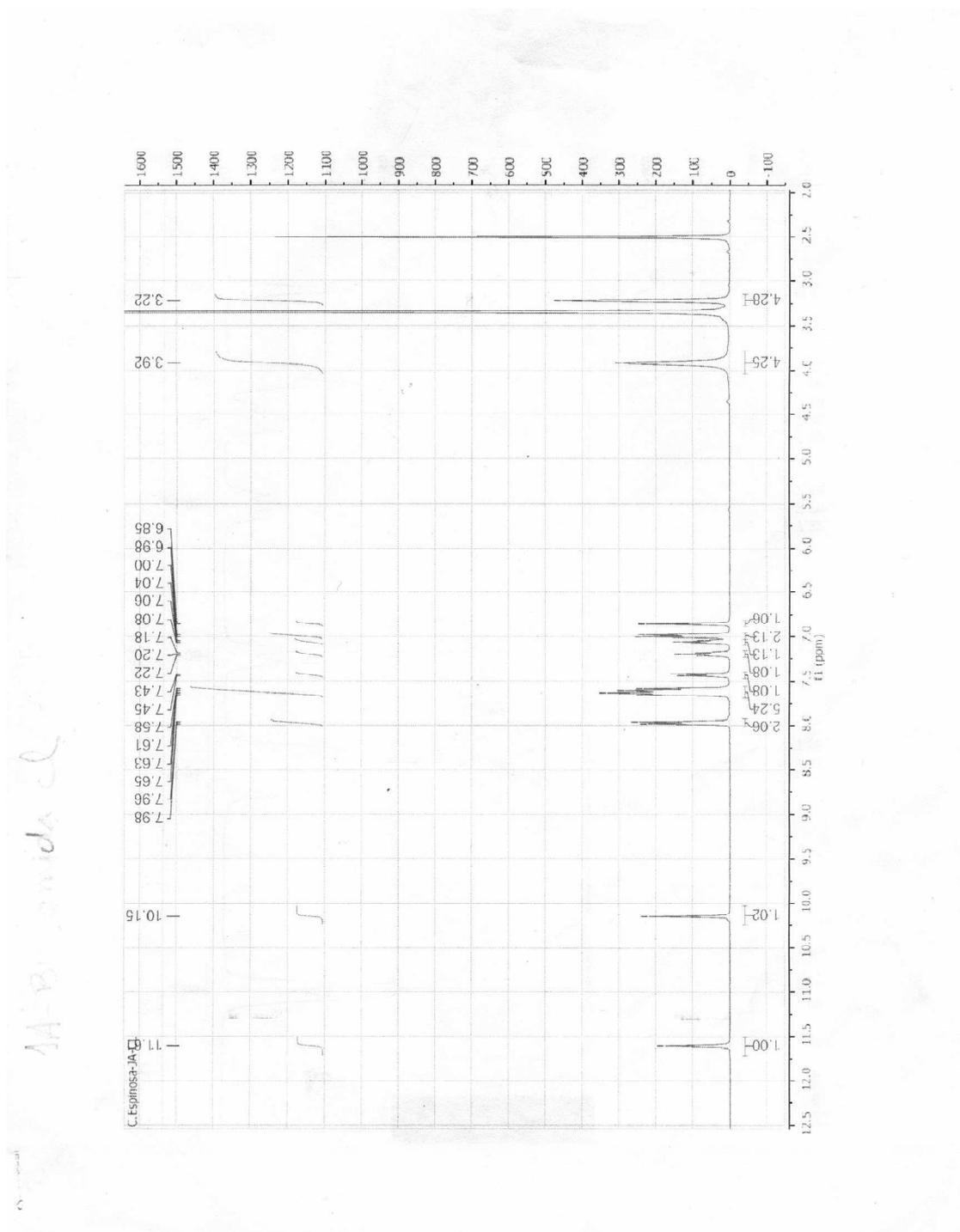




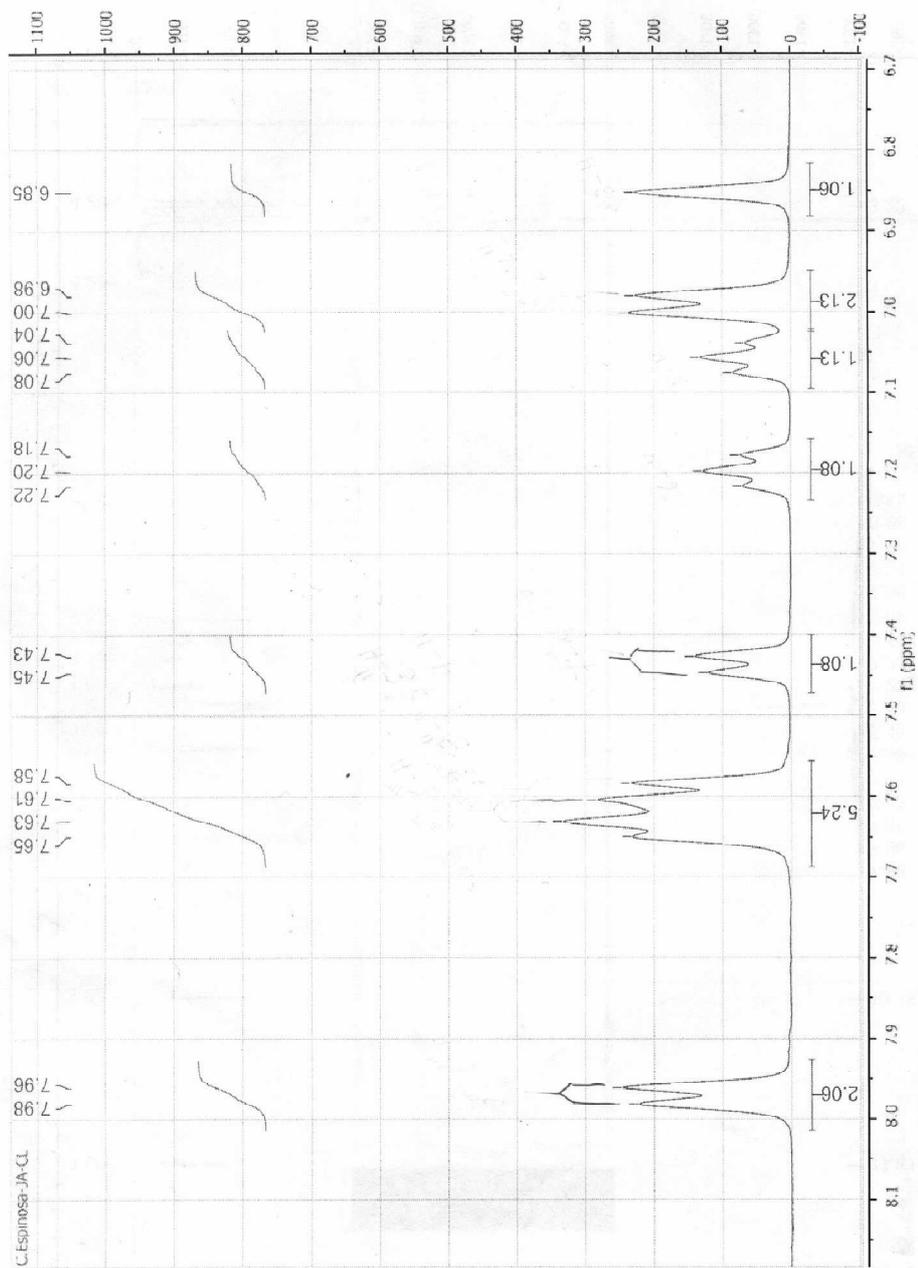


C:\Program Files\OPUS\_65\MEAS\HSA15MA.7      Rosy Escobar JA-4 Dr. David Pessoa Far.      Pellet KBr.      15-03-2013

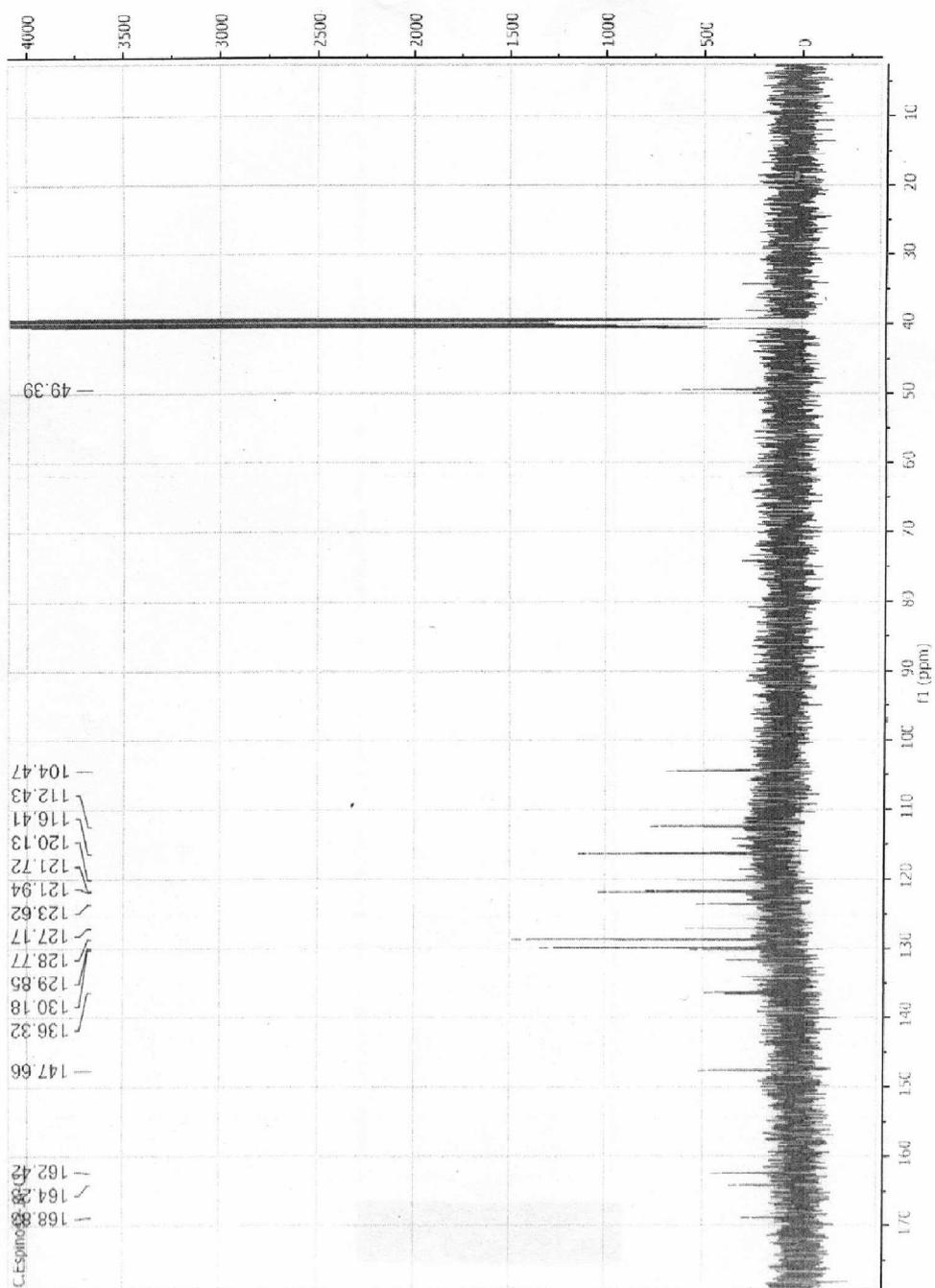
4-Cloro-N-{4-[4-(1*H*-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida



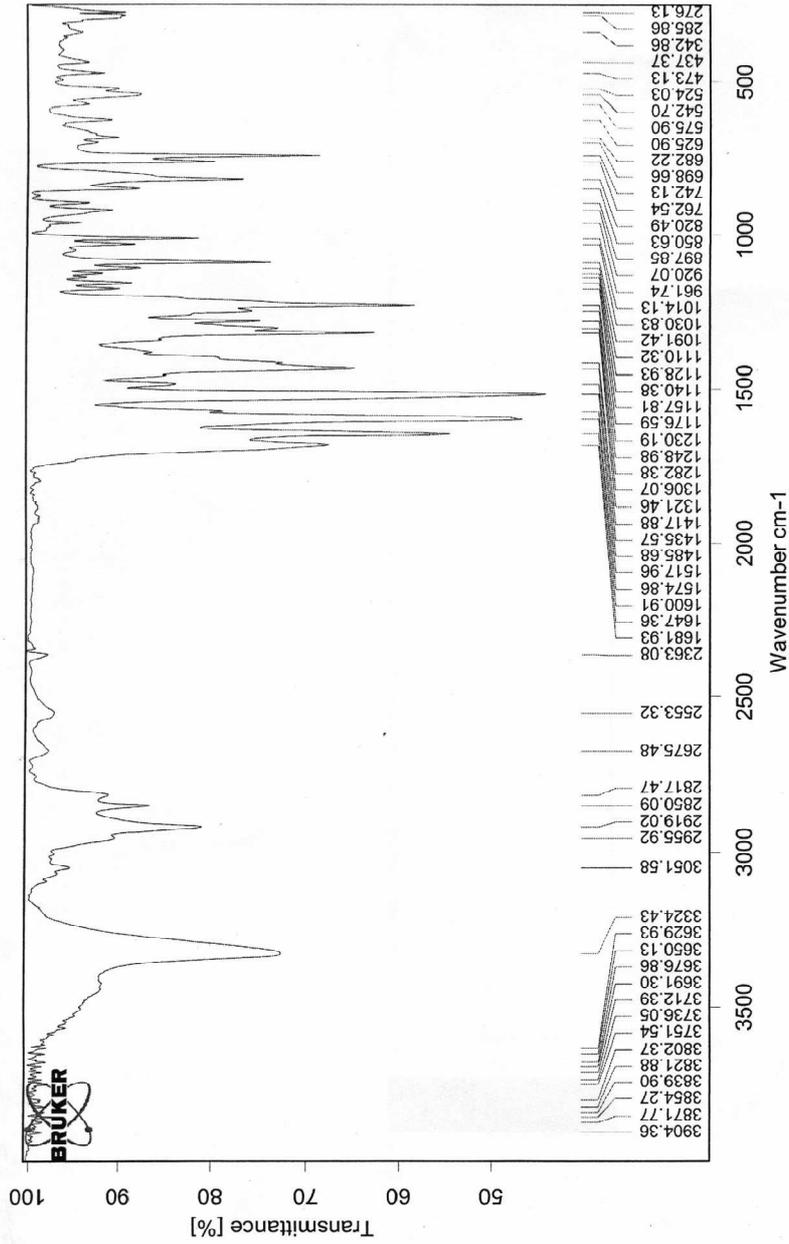
4-Cloro-N-{4-[4-(1*H*-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida



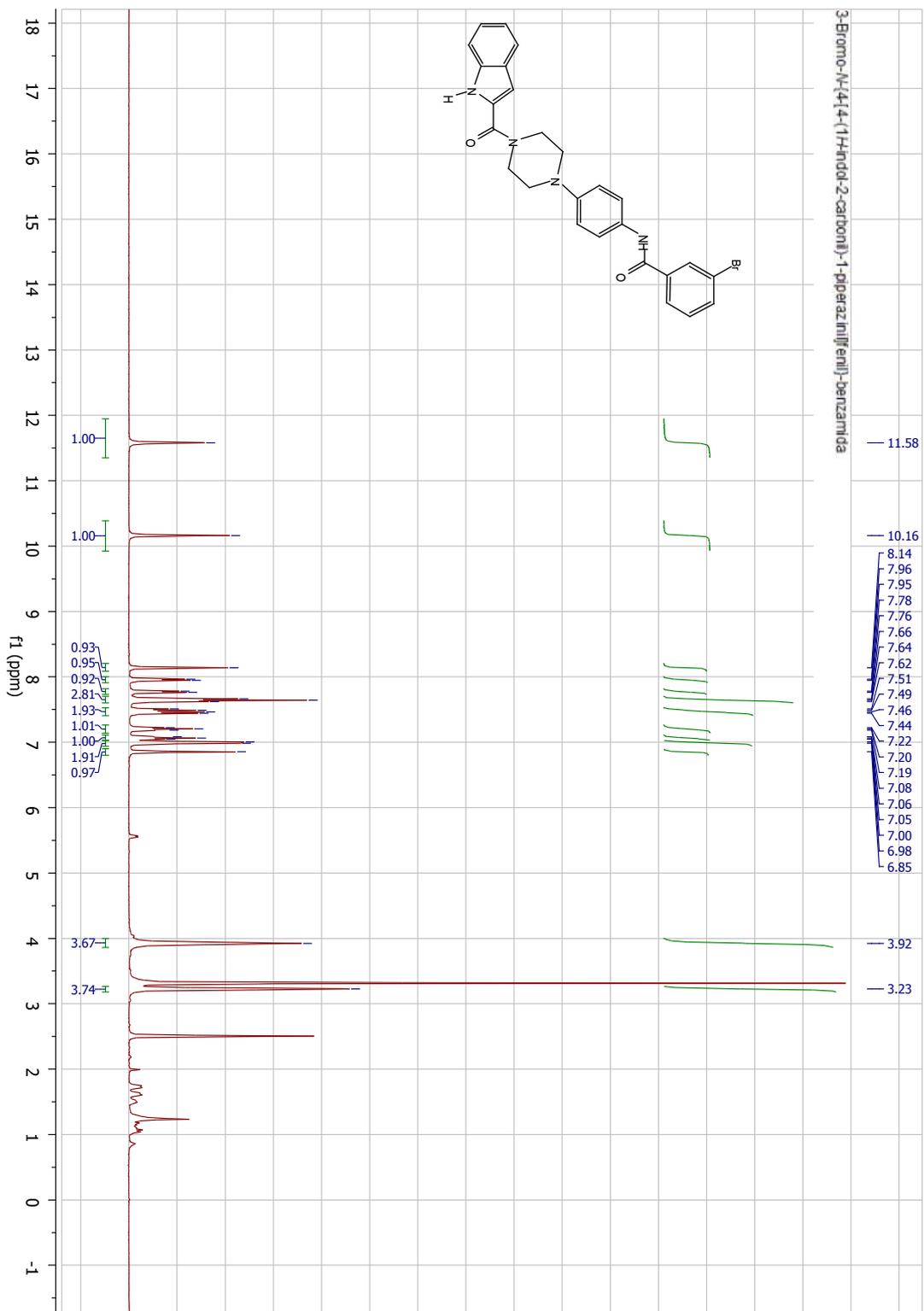
4-Cloro-N-{4-[4-(1*H*-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida

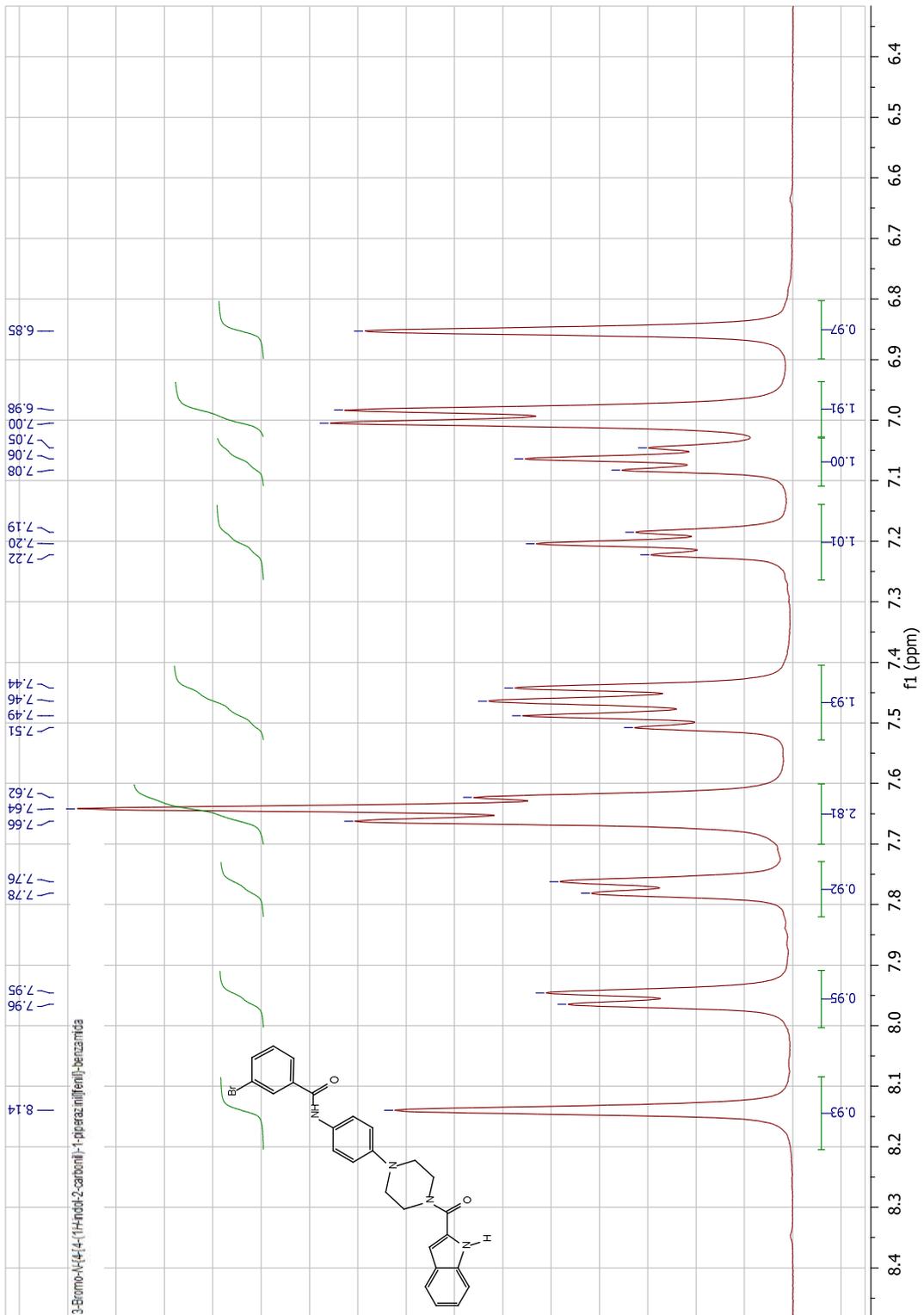


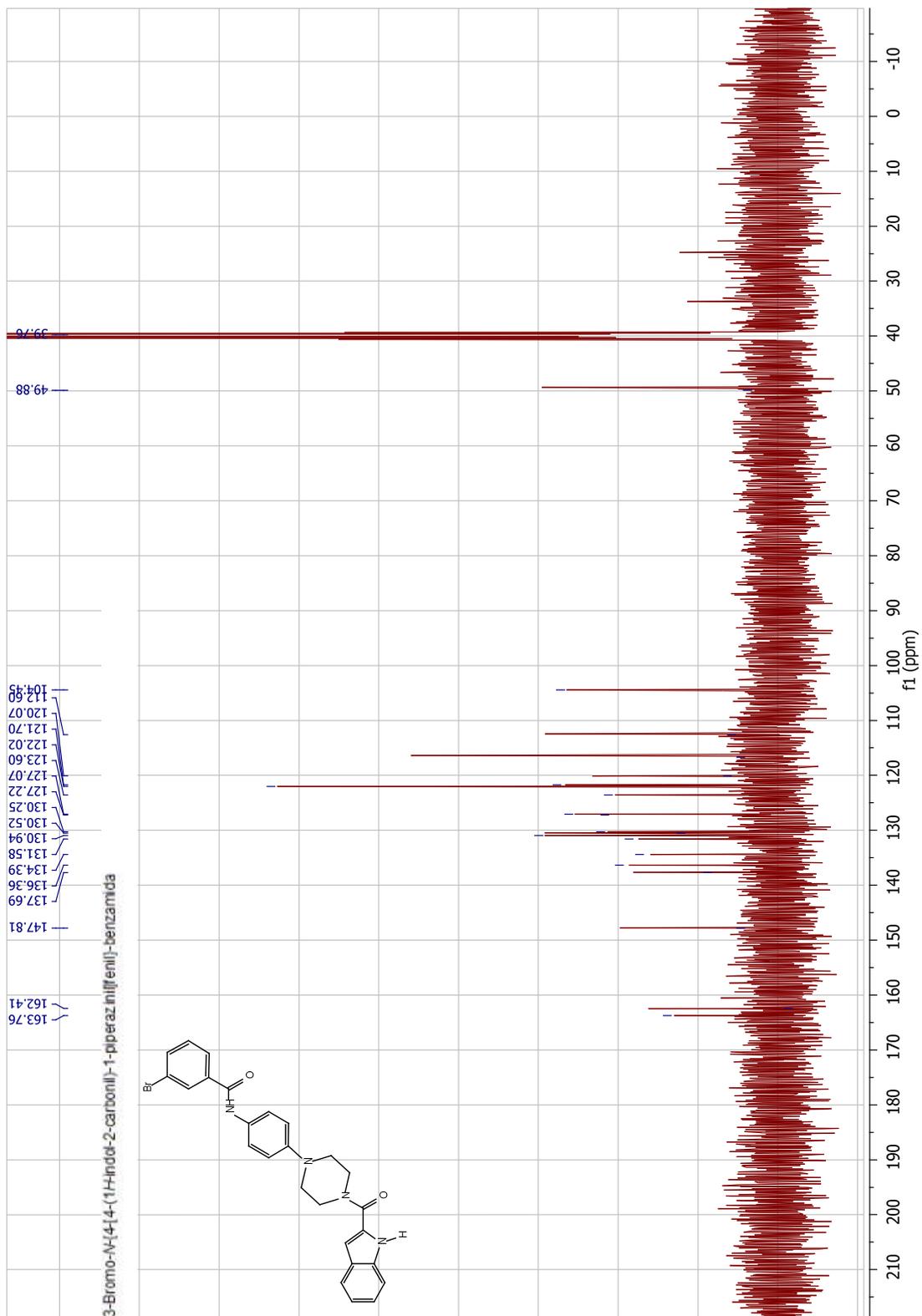
4-Cloro-N-{4-[4-(1*H*-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida

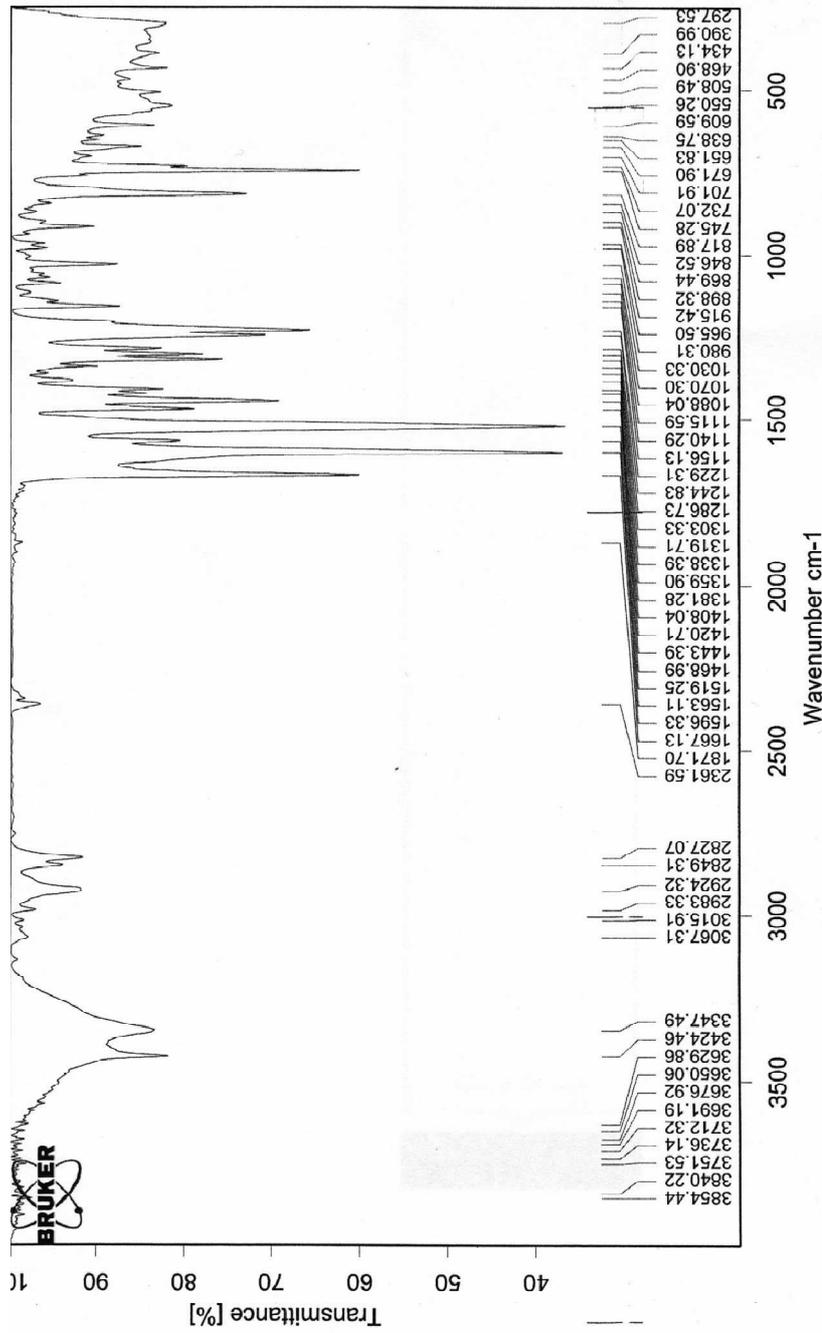


C:\Program Files\OPUS\_65\MEAS\HSA25MA.24 Christian Espinosa JA-7 Dr. David Pessoa far. Pellet KBr. 25-03-2013



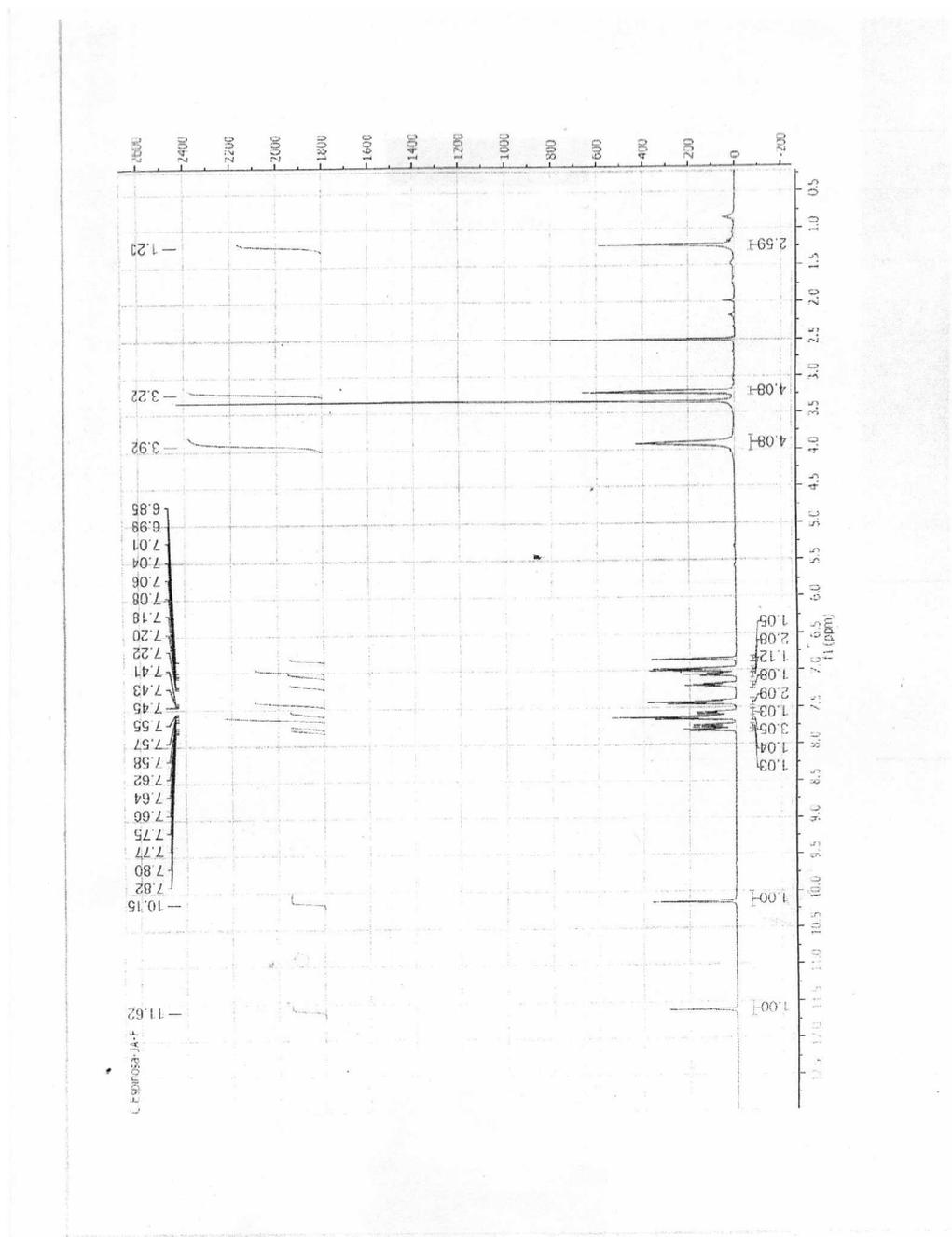




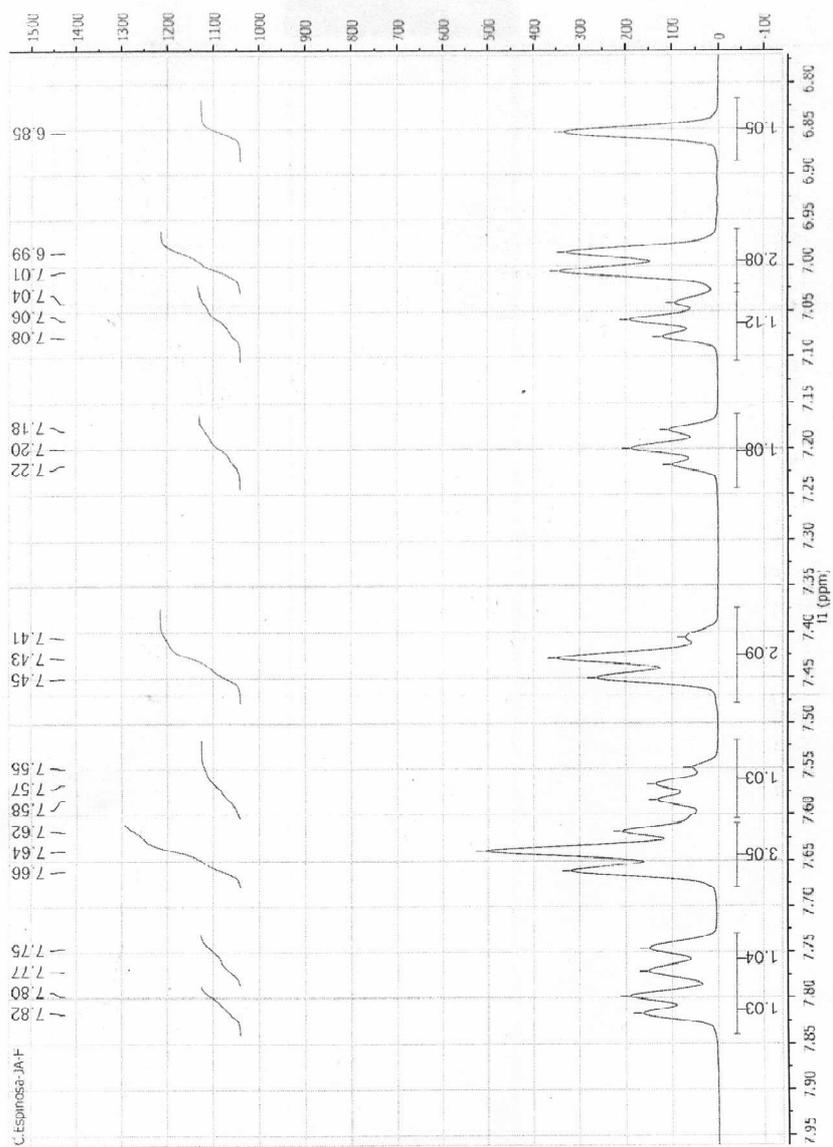


C:\Program Files\OPUS\_65\MEAS\HSA15MA.9      Rossy Escobar JA-3 Dr. David Pessoa Far.      Pellet KBr.      15-03-2013

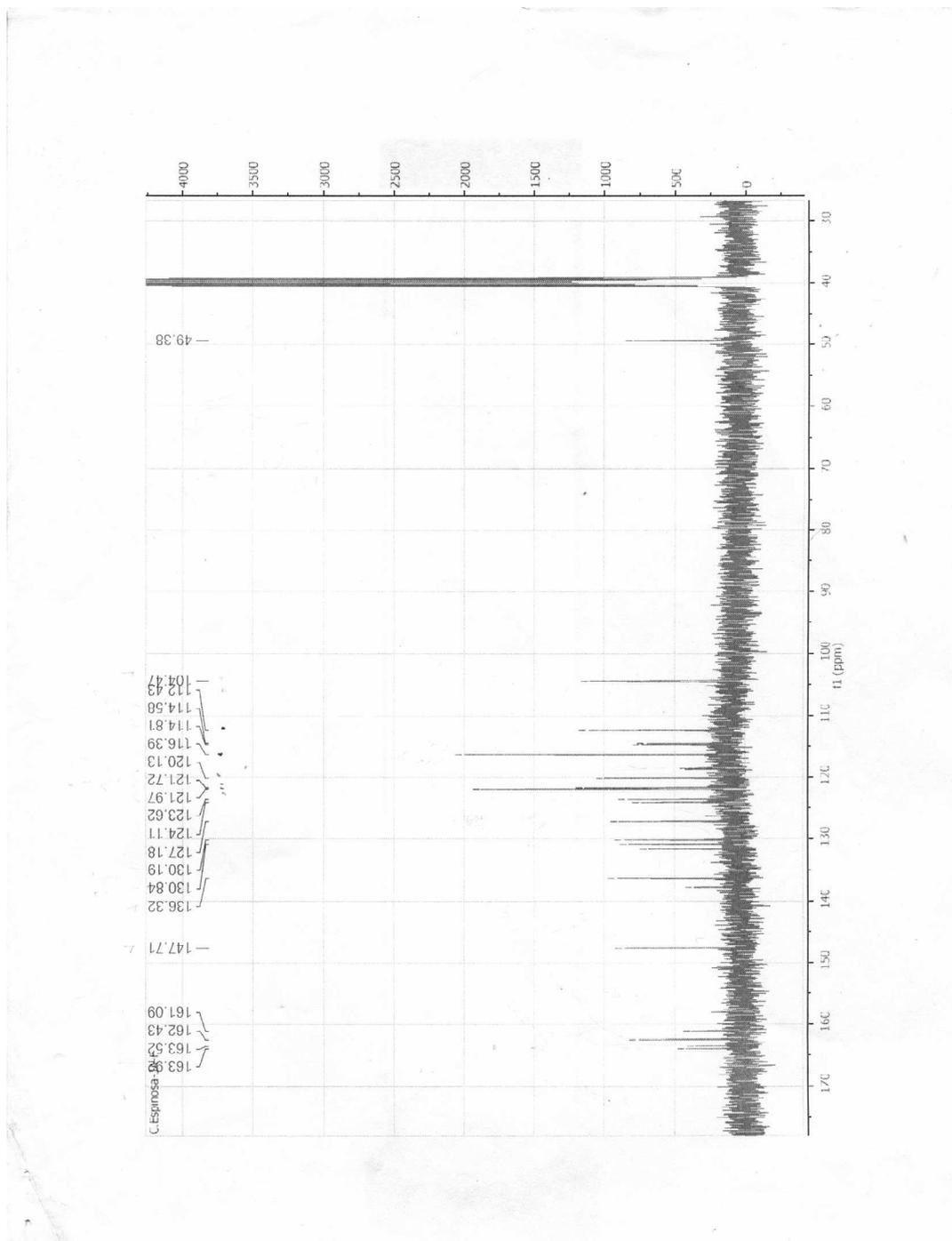
3-Fluoro-N-{4-[4-(1H-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida



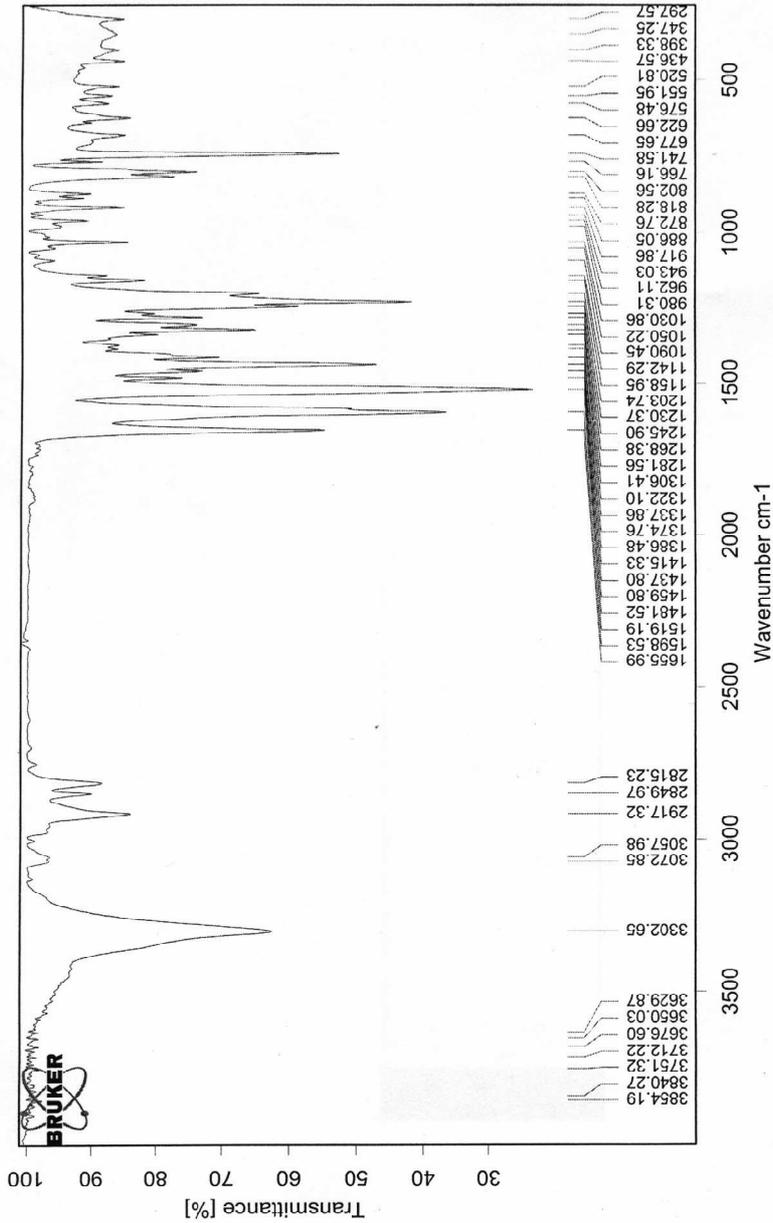
3-Fluoro-N-{4-[4-(1H-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida



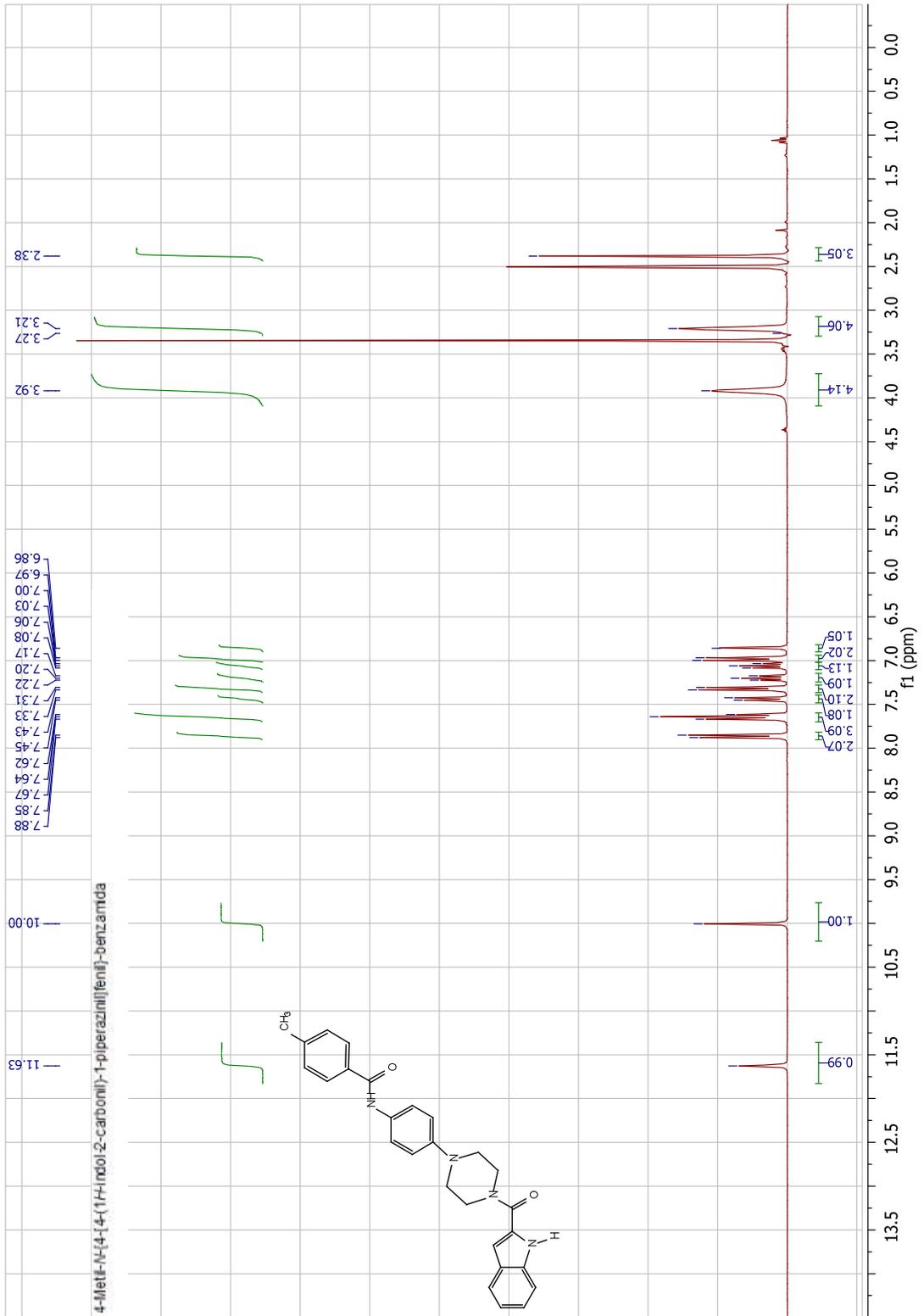
3-Fluoro-N-{4-[4-(1H-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida

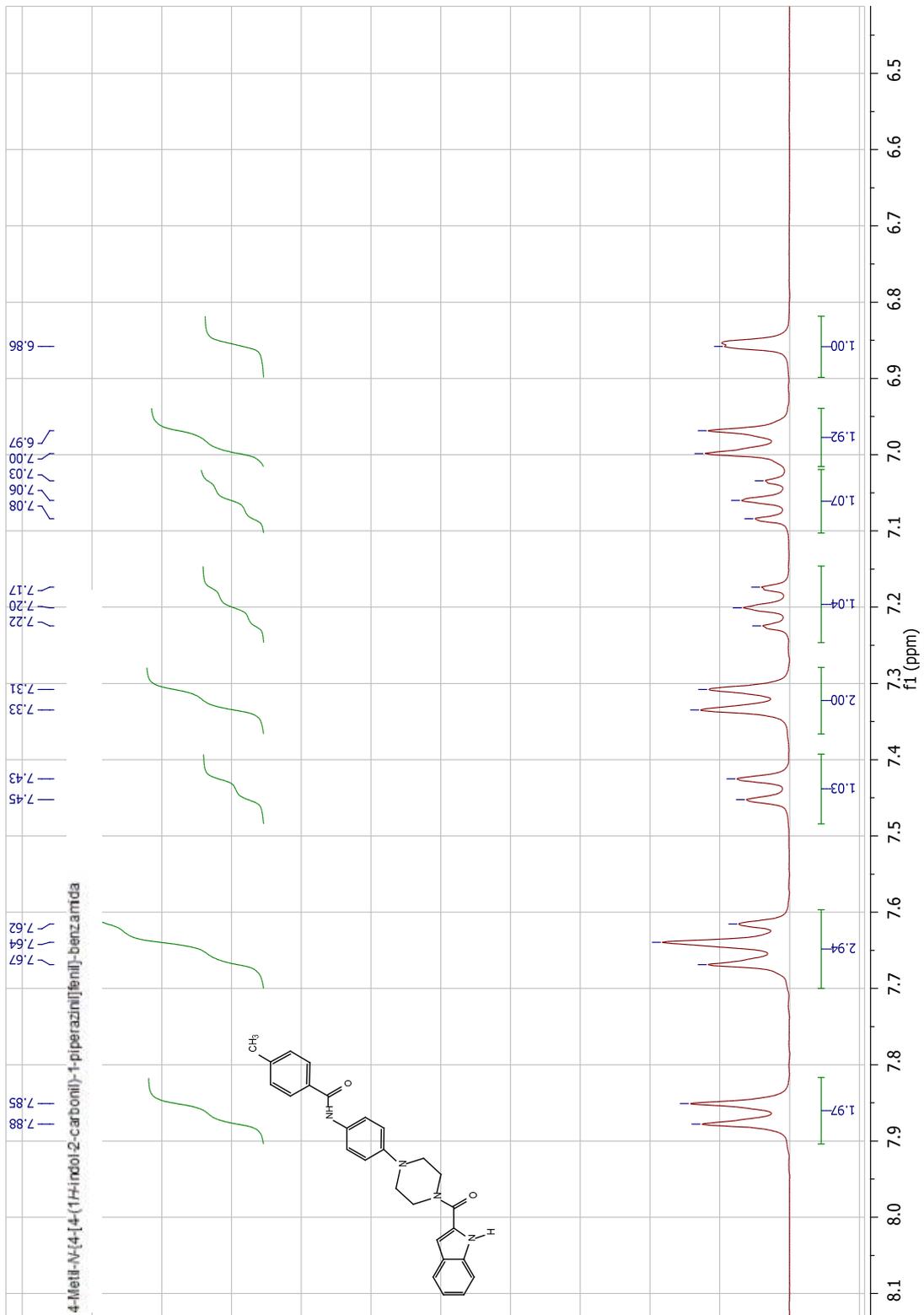


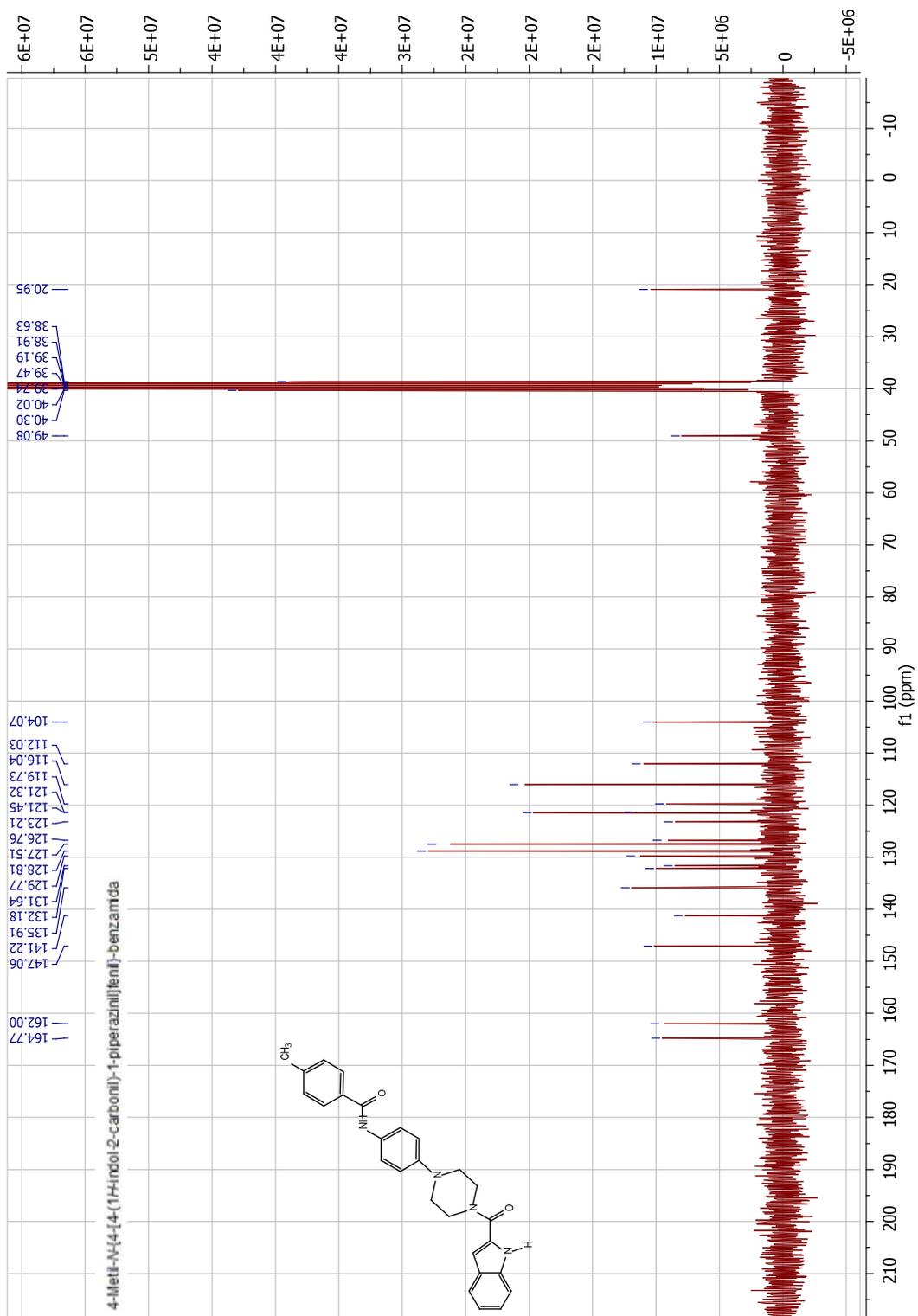
3-Fluoro-N-{4-[4-(1H-indol-2-carbonil)-1-piperazinil]fenil}-benzamida

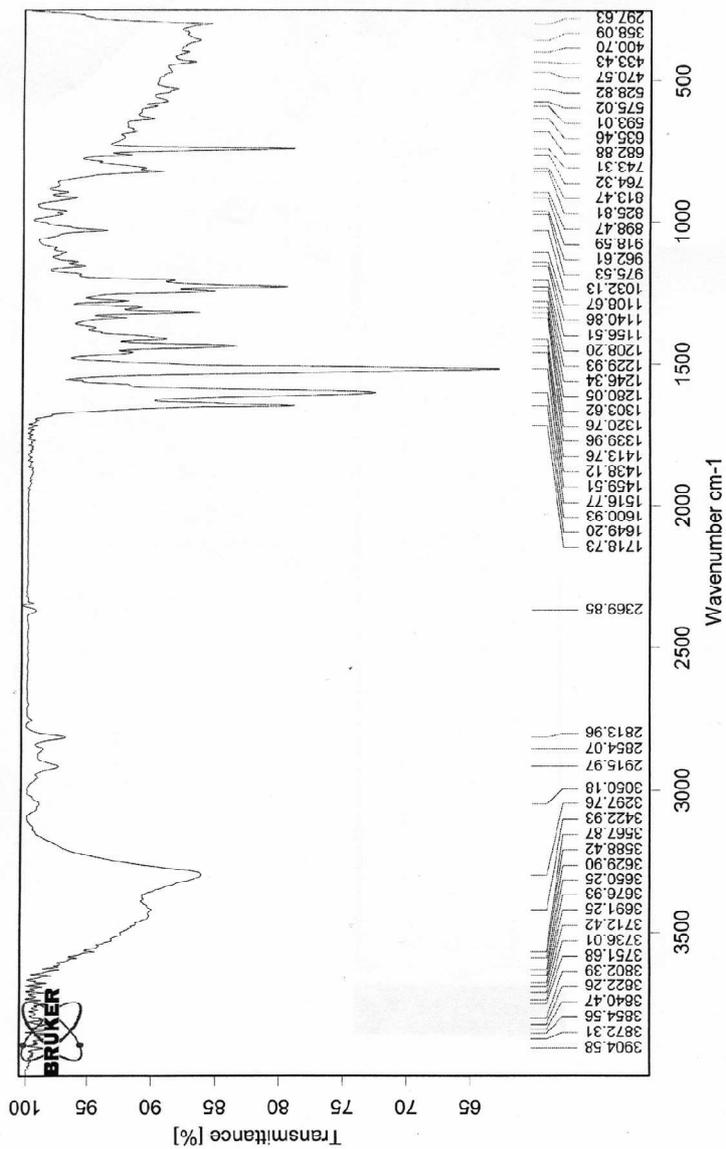


C:\Program Files\OPUS\_65\MEAS\HSA25MA.23 Christian Espinosa JA-6 Dr. David Pessoa far. Pellet KBr. 25-03-2013

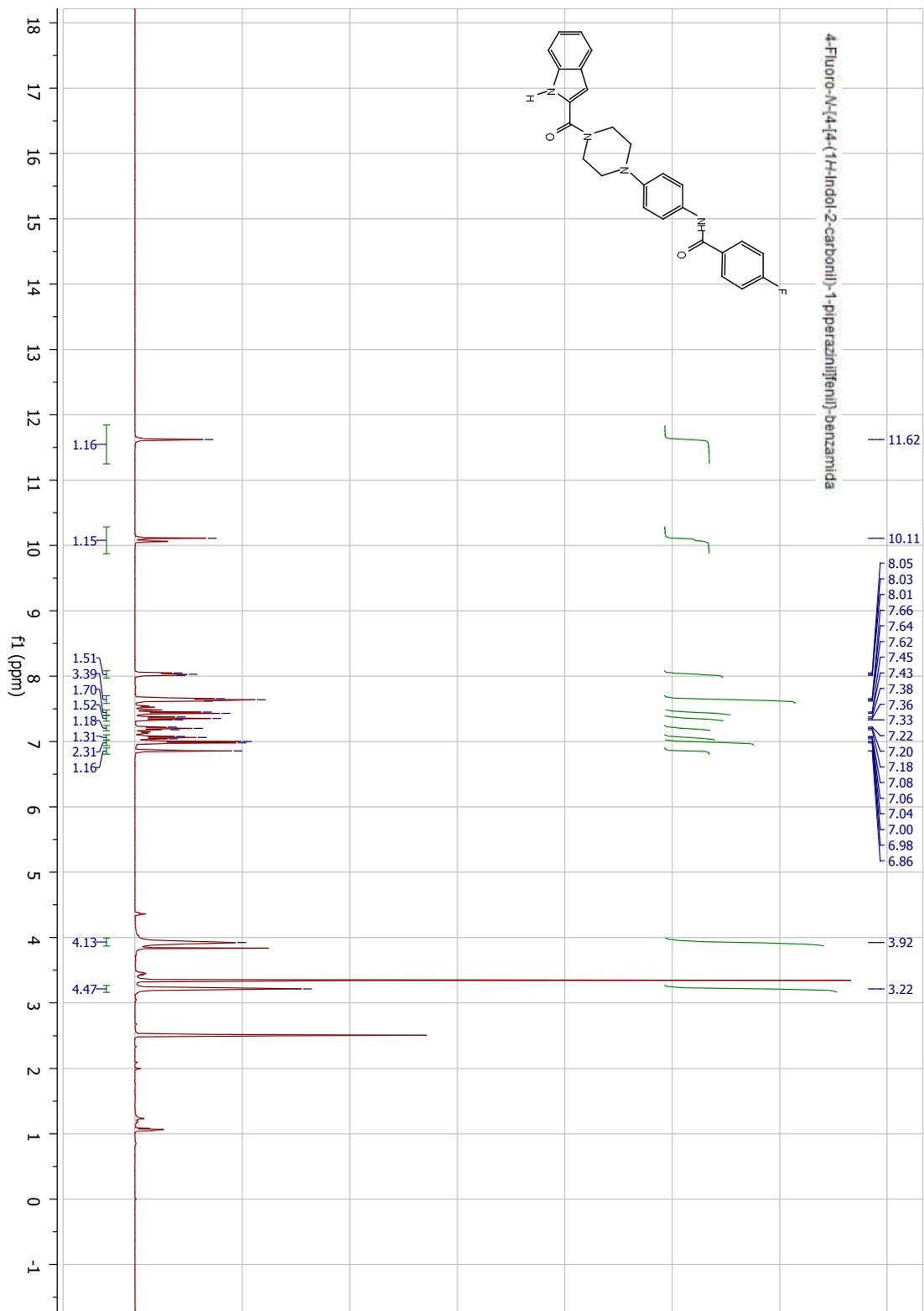


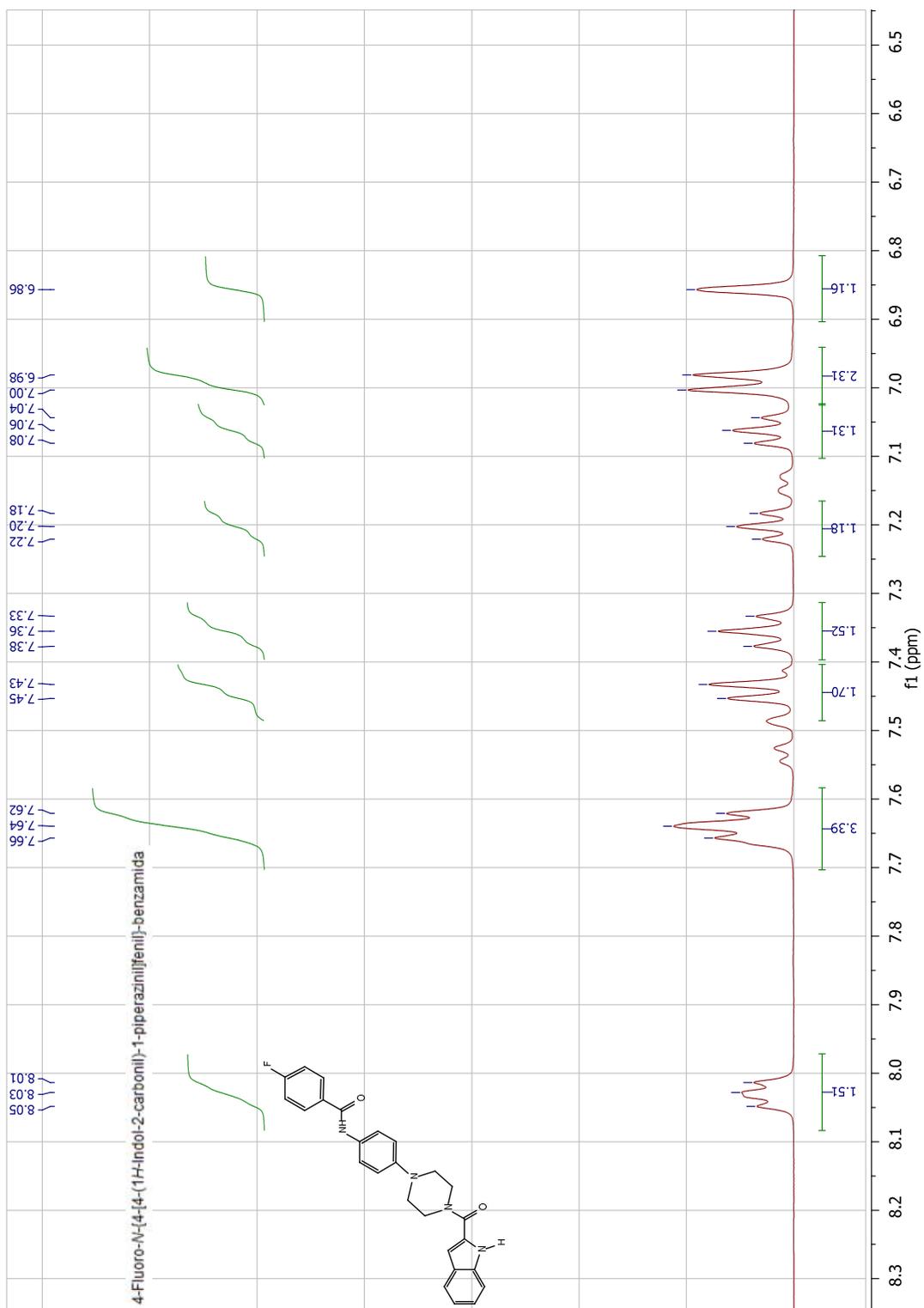


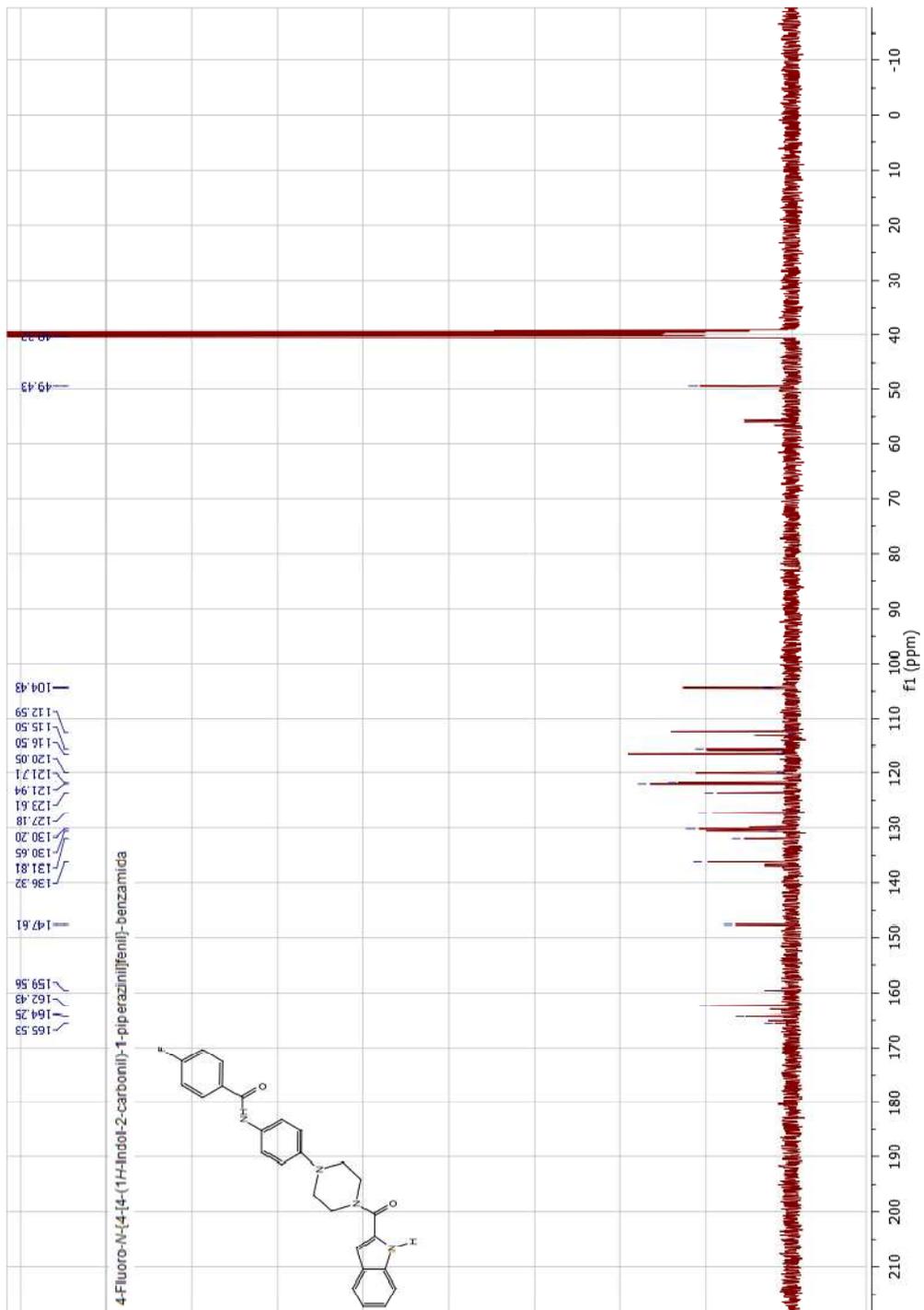


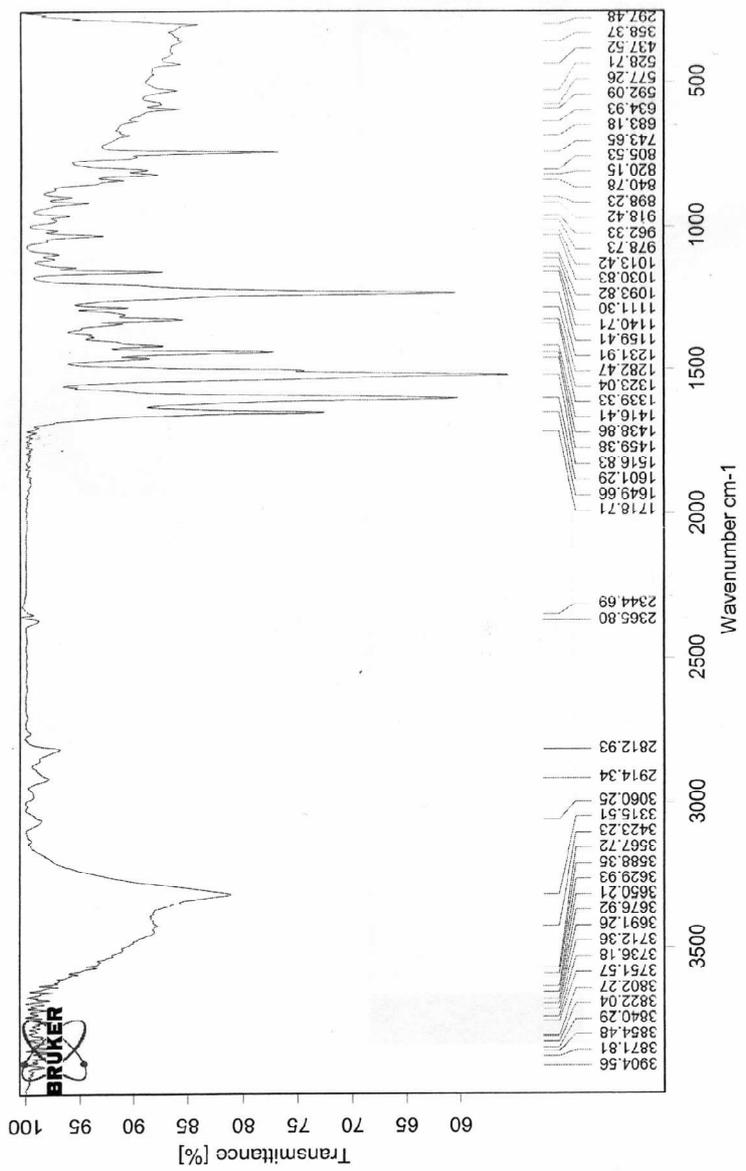


C:\Program Files\OPUS\_60\MEAS\HSA25MA.25 Christian Espinosa JA-8 Dr. David Pessoa far. Pellet KBr. 25-03-2013

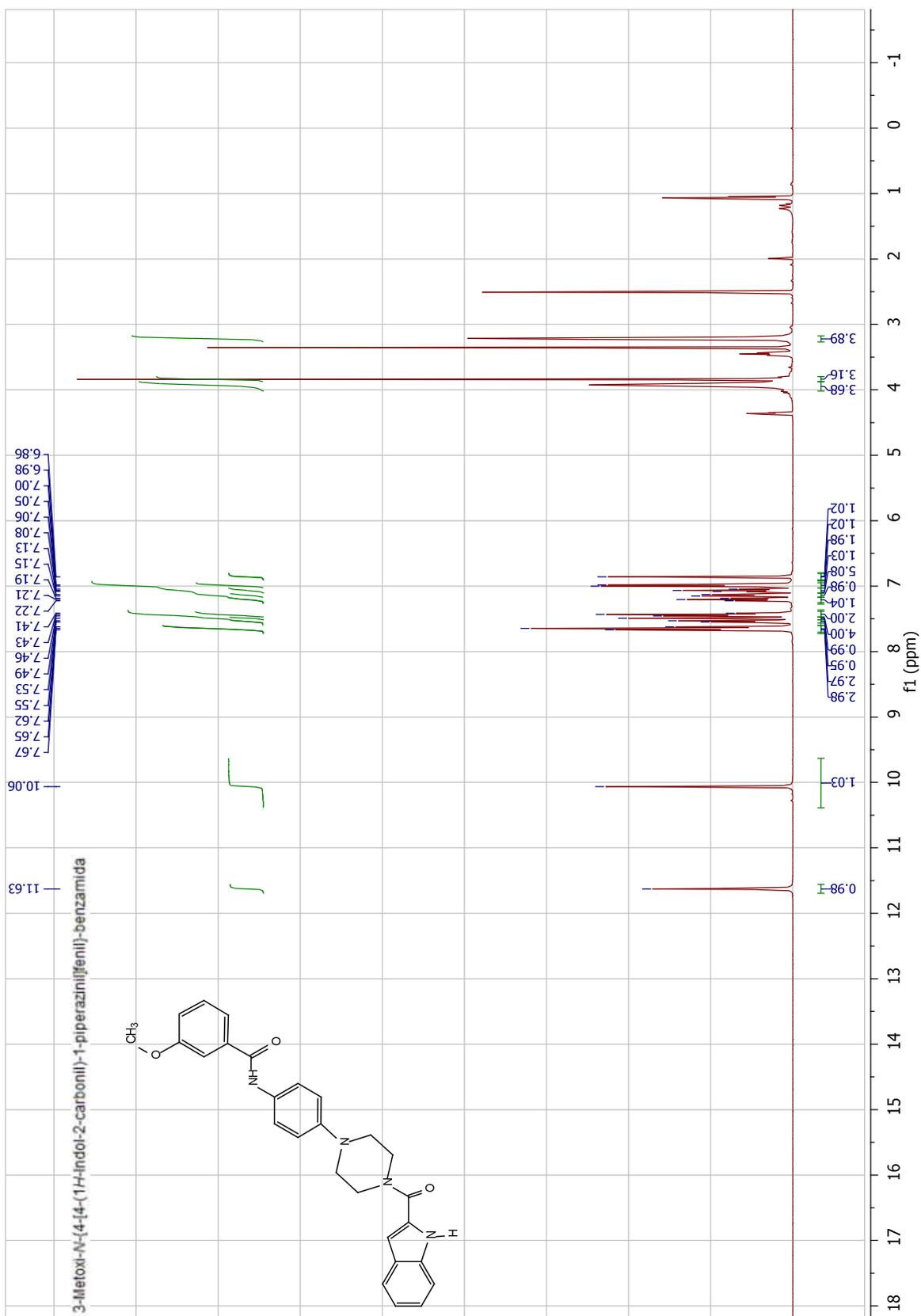


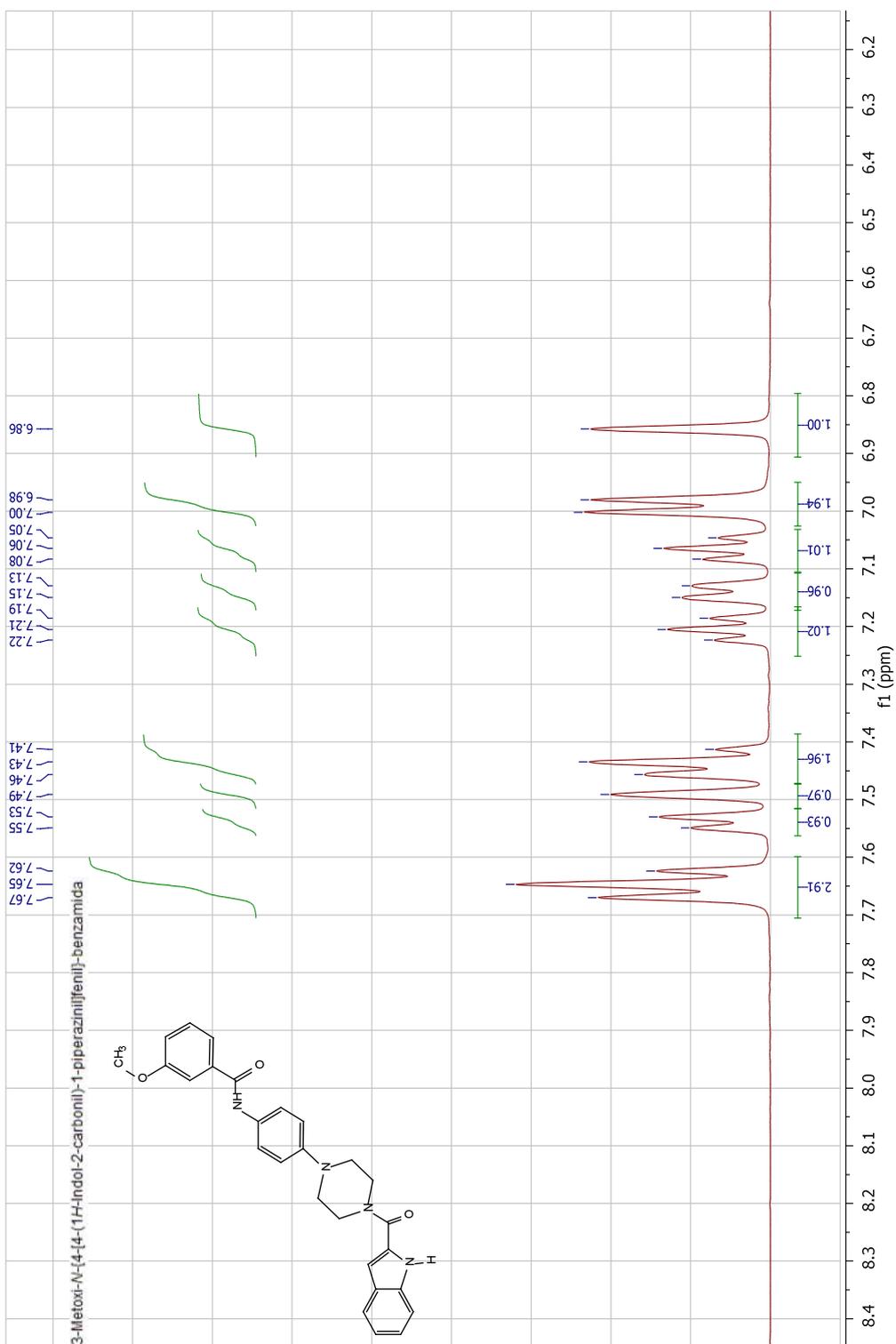


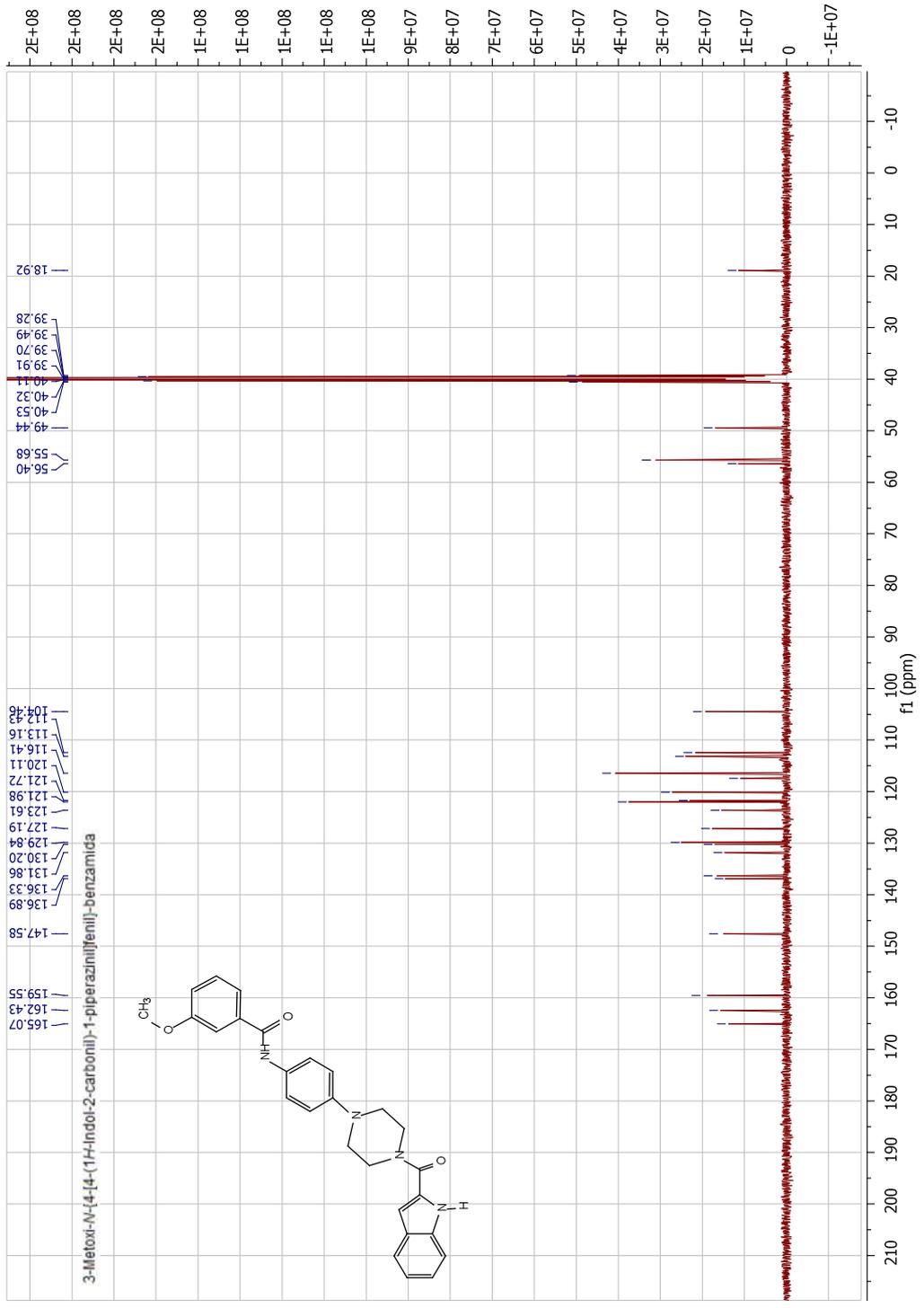


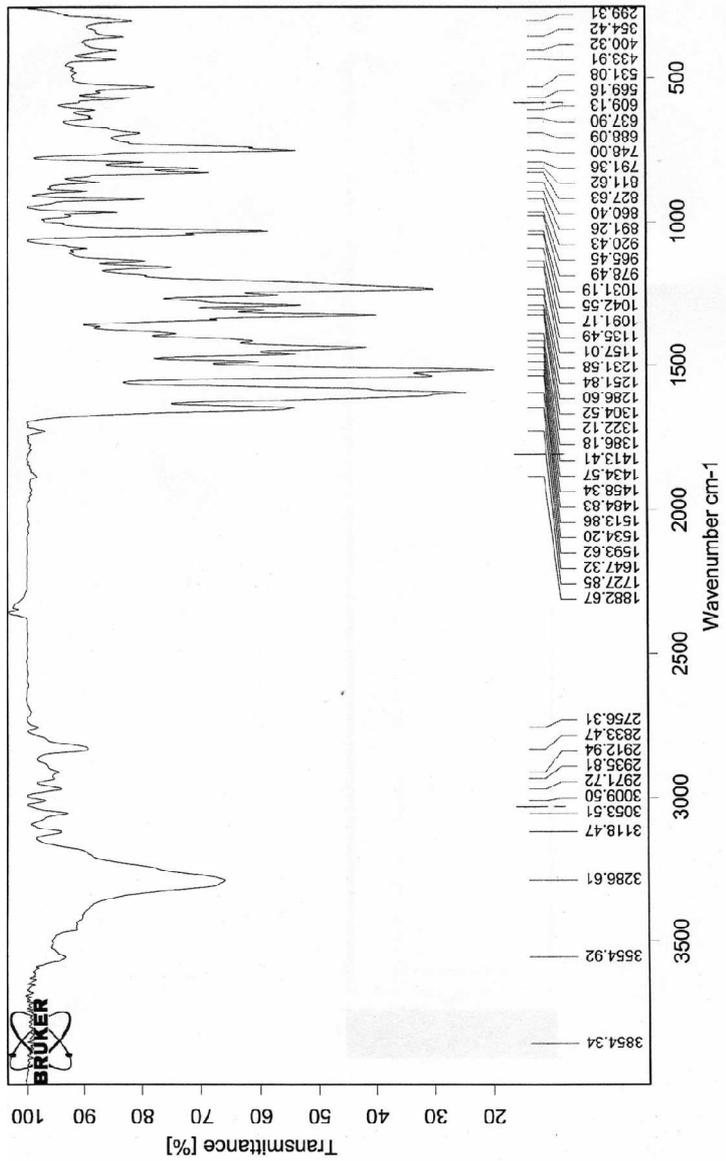


C:\Program Files\OPUS\_65\MEAS\HSA25MA.25 Christian Espinosa JA-9 Dr. David Pessoa Iar. Pellet KBr. 25-03-2013









C:\Program Files\OPUS\_65\MEAS\HSA15MA.10      Rossy Escobar JA-5 Dr. David Pessoa Far.      Pellet KBr.      15-03-2013

