



**SÍNTESIS, RELACIONES ESTRUCTURA/AFINIDAD 5-HT_{2C} Y
ESTUDIOS COMPUTACIONALES DE ANÁLOGOS DEL
ANOREXÍGENO LORCASERINA.**

POR

WILLIAMS ABRAHAM ACEVEDO FUENTES

**TESIS ENTREGADA A LA UNIVERSIDAD DE CHILE EN CUMPLIMIENTO
PARCIAL DE LOS REQUISITOS PARA OPTAR AL GRADO DE MAGÍSTER EN
CIENCIAS QUÍMICAS**

DIRECTOR DE TESIS DR. BRUCE K. CASSELS.

CODIRECTOR DR. GERALD ZAPATA.

Santiago de Chile, Diciembre 2018.

FACULTAD DE CIENCIAS_UNIVERSIDAD DE CHILE_ESCUELA DE POSTGRADO

INFORME DE APROBACION

TESIS DE MAGÍSTER EN CIENCIAS QUIMICAS.

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Magister presentada por el candidato.

Williams Abraham Acevedo Fuentes

Ha sido aprobado por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Ciencias Biológicas (indicar programa correspondiente), en el examen de Defensa Privada de Tesis rendido el día 29 de noviembre de 2018.

Director de Tesis:

Dr. Bruce K. Cassels.

.....

Co-director de tesis

Dr. Gerald Zapata.

.....

Comisión de Evaluadora

Dra. Marcela Urzúa A.

.....

Dr. Carlos Areche M.

.....

Dr. Vicente Castro C.

.....

Reseña.



Williams Acevedo Fuentes nació junio de 1989 en la ciudad de Melipilla, hijo de William Acevedo y Luzmira Fuentes. Comienza sus estudios en la pequeña escuela F-117 de Santa Inés comuna de Las Cabras y finalizándolos el año 2006 en el colegio San Sebastián de Melipilla pasado por otros tantos colegios más.

Comienza sus estudios de químico industrial el año 2007 y egresando el periodo 2012/13, mismo año que se incorpora al laboratorio de biodinámica de la facultad de ciencias de la universidad de Chile donde comienza a interesarse por la química medicinal participando en diversos trabajos relacionados con el área hasta la fecha.

El segundo semestre del año 2016 ingresa al programa de magister en ciencias químicas de esta facultad finalizando sus estudios el año 2018.

Dedicada con mucho cariño a mi querida hermana Daniela para que se enamore del conocimiento, para que transite su propio camino y que este mismo la lleve a la academia. Es un camino hermoso para aquel que vive con más preguntas que certezas, también para aquel que le gusta el “pensar”...

Agradecimientos:

Al Proyecto FONDECYT 1150868 por aporte que financió esta investigación.

Al profesor Bruce Cassels por toda la paciencia que me ha tenido durante varios años, por los conocimientos específicos y no específicos, por su invaluable ayuda y por esas charlas maravillosas con un café en la mano. Al profesor Gerald Zapata por su gran ayuda y codirección en los temas de química computacional, también por su paciencia.

Al profesor Luis Marcelo Vilches por sus consejos y conocimiento.

A Sebastián Castro y Gonzalo Fuentes por toda la ayuda brindada.

A los amigos y navegadores del infinito que conocí en Biodinámica Jorge A. (chaman), Felipe T. (guardián del portal), Cristian S. (gran master), Nicolas L. (Nico), Cristian T., Estefa H.(Estefanía), Dario M. (Sultán), Pablo M. (Kletus), Julio S. (Julius Popper), Max C.

A mi familia por aguantarme todo este tiempo, espero enderezar el rumbo.

“...Si empleásemos libremente los conocimientos que disponemos; si estableciésemos entre éstos relaciones inesperadas; si acogiésemos los hechos son prejuicios antiguos o modernos; si nos comportásemos, en fin, como productos del saber con una mentalidad nueva, ignorante de los hábitos establecidos y afanosos de comprender, veríamos a cada instante surgir lo fantástico al mismo tiempo que la realidad...”

Louis Pauwells, Jacques Bergier.

“...Las gentes tienen estrellas que no son las mismas. Para unos, los que viajan, las estrellas son guías. Para otros, no son más que lucecitas. Para otros, que son sabios, son problemas que resolver. Para mi hombre de negocios, eran oro. Pero las estrellas no hablan. Tú tendrás estrellas como nadie las ha tenido...”

Antoine de Saint Exupéry.

Índice general.

	Página
Índice General.	vii
Índice figuras.	x
Índice de tablas.	xii
Resumen.	1
Summary.	3
Abreviaciones.	5
1. Introducción.	6
1.1 Serotonina, receptores de serotonina y su funcionamiento a nivel molecular.	6
1.2 Activación de los receptores 5-HT ₂ .	12
1.3 Estructura cristalina resuelta del receptor 5-HT _{2C} con ligandos ERG y RIT.	14
1.4 Lorcaserina.	17
1.5 Características estructurales de algunos agonistas de los receptores 5-HT _{2A} .	19
2. Hipótesis.	22
3. Objetivos.	23
3.1 Objetivo general.	23
3.2 Objetivos específicos.	23
4. Resultados	24
4.1 Metodología general de síntesis de benzazepinas análogas de Lorcaserina.	24
4.2 Serie de compuestos análogos de fenfluramina.	28
4.3 Serie de compuestos análogos de DAP (2-aril-1,3-propandiamina).	29
4.4 Comentario de resultados de síntesis.	30
5. Mediciones de actividad biológica de benzazepinas.	32
5.1 Ensayos de afinidad (binding).	32
5.2 Ensayos de actividad funcional.	34
5.3 Comentarios de resultados biológicos.	36
6. Estudios de acoplamiento molecular.	38
6.1 Generación de modelos 5-HT _{2A} , 5-HT _{2B} y 5-HT _{2C} .	38
6.2 Estudios de acoplamiento molecular para la serie WA15 en los receptores 5-HT _{2B} y 5-HT _{2C} .	39

6.3	Resultados de acoplamiento molecular.	40
6.4	Comentarios de resultados de acoplamiento molecular.	51
7.	Conclusiones.	52
	Bibliografía	53
8.	Desarrollo experimental.	58
8.1	Síntesis de compuestos WA01, WA02 y WA03, cabezas de serie para la obtención de derivados de benzazepinas análogas de lorcaserina.	58
8.1.1	Paso A. Síntesis de <i>N</i> -trifluoroacetil-3-metoxifeniletamina (a1).	58
8.1.2	Paso B. Síntesis de <i>N</i> -trifluoroacetil-2-yodo-5-metoxifeniletamina (b1).	59
8.1.3	Paso C3. Síntesis de <i>N</i> -alil- <i>N</i> -trifluoroacetil-2-yodo-5-metoxifeniletamina (c1).	60
8.1.4	Paso 1D. Síntesis de 7-metoxi-1-metilen- <i>N</i> -trifluoroacetil-2,3,4,5-tetrahidro-1 <i>H</i> -3-benzazepina (d1).	61
8.1.5	Paso 2D. Síntesis de (<i>R,S</i>)-7-metoxi-1-metil- <i>N</i> -trifluoroacetil-2,3,4,5-tetrahidro-1 <i>H</i> -3-benzazepina (d2).	62
8.1.6	Paso 3D. Síntesis de (<i>R,S</i>)-8-cloro-7-metoxi-1-metil- <i>N</i> -trifluoroacetil-2,3,4,5-tetrahidro-1 <i>H</i> -3-benzazepina (d3).	63
8.1.7	Paso E. Preparación de azepinas cabezas de serie WA01 (7-metoxi-1-metilen-2,3,4,5-tetrahidro-1 <i>H</i> -3-benzazepina), WA02((<i>R,S</i>)-7-metoxi-1-metilen-2,3,4,5-tetrahidro-1 <i>H</i> -3-benzazepina) y WA03 ((<i>R,S</i>)-8-cloro-7-metoxi-1-metil-2,3,4,5-tetrahidro-1 <i>H</i> -3-benzazepina).	64
8.2	Síntesis de los derivados <i>N</i> -bencilados y <i>N</i> -alilados de benzazepinas cabezas de serie respectivas.	65
8.2.1	Serie WA01. Derivados de 7-metoxi-1-metilen-2,3,4,5-tetrahidro-1 <i>H</i> -3-benzazepina (WA01).	65
8.2.2	Serie WA02. Derivados de (<i>R,S</i>)-7-metoxi-1-metil- <i>N</i> -trifluoroacetil-2,3,4,5-tetrahidro-1 <i>H</i> -3-benzazepina (WA02).	67
8.3	Metodología general de síntesis para derivados de lorcaserina y lorcaserina racémica.	72
8.3.1	Serie WA15. Derivados de lorcaserina ((<i>R</i>)-8-cloro -1-metil-2,3,4,5-tetrahidro-1 <i>H</i> -3-benzazepina).	72

8.3.2	Serie derivados de lorcaserina racémica ((<i>R, S</i>)-8-cloro -1-metil-2,3,4,5-tetrahidro-1 <i>H</i> -3-benzazepina).	74
8.4	Síntesis de derivados análogos de Fenfluramina.	77
8.4.1	Síntesis de 1-(2-metil-2-nitrovinil)-3-trifluorometilbenceno.	77
8.4.2	Síntesis de (<i>R,S</i>)-3-trifluorometilfenilisopropilamina.	78
8.4.3	Síntesis de derivados <i>N</i> -bencilados análogos de fenfluramina ((<i>R,S</i>)- <i>N</i> -etil-3-trifluorometilfenilisopropilamina).	78
8.5	Síntesis de 1,3-dinitropropanos.	80
8.5.1	Síntesis de 2-aril-1,3-propandiamina (DAP).	81
	Anexos	83

Índice de Figuras.

	Página
Figura 1 Representación general de la estructura de un receptor (GPCR) acoplado a una proteína G	6
Figura 2 Esquema del proceso de neurotransmisión por serotonina y su biosíntesis a partir del aminoácido triptófano.	7
Figura 3 Esquema de señalización celular para los receptores 5-HT ₂ .	10
Figura 4 La señalización del receptor 5-HT _{2C} ilustra la complejidad de la señalización serotoninérgica.	11
Figura 5 Comparación de la alineación aminoacídica de los receptores 5-HT _{2A} , 5-HT _{2B} , y 5-HT _{2C} para las 7 transmembranas.	13
Figura 6 Comparación entre las estructuras cristalinas del receptor β ₂ -adrenérgico (β ₂ -AR) y 5-HT _{2B} mostrando el motivo PIF altamente conservado.	14
Figura 7 Estructura cristalina del receptor 5-HT _{2C} .	15
Figura 8 Estructura de lorcaserina con su numeración.	17
Figura 9 Estructura de algunos fármacos antiobesidad retirados del mercado.	18
Figura 10 Estructura de 2-CB, feniletilamina agonista de los receptores 5-HT ₂ .	20
Figura 11 Modelo del receptor 5-HT _{2A} construido por homología en estado activo.	21
Figura 12 Esquema general de síntesis para la obtención de las benzazepinas WA01, WA02, WA03 y análogos de lorcaserina.	25
Figura 13 Lista de compuestos sintetizados correspondientes a las series WA01, WA02 y WA03.	26
Figura 14 Lista de compuestos sintetizados correspondientes a la serie WA15 ((<i>R</i>)-lorcaserina) y lorcaserina racémica.	27
Figura 15 Esquema general de síntesis para la obtención de derivados análogos de fenfluramina <i>N</i> -bencilados.	28
Figura 16 Lista de compuestos sintetizados correspondiente a la serie fenfluramina con sus respectivos códigos y porcentaje de rendimiento estimado.	28
Figura 17 Ruta de síntesis de compuestos de la serie de DAP.	29
Figura 18 Lista de compuestos sintetizados para la serie DAP.	29
Figura 19 Alineamiento de secuencias aminoacídicas obtenido del programa Clustal Omega.	39
Figura 20 Representación de estructura cristalina del receptor y comparación con los modelos generados.	40
Figura 21 Docking del compuesto WA02.	42
Figura 22 Docking del compuesto WA03.	44
Figura 23 Docking del compuesto WA15 (lorcaserina).	46
Figura 24 Comparación de las conformación de WA15 y WA26 en el receptor 5-HT _{2C} .	47
Figura 25 Docking agrupado de los compuestos WA26, WA13 y WA14 en el receptor 5-HT _{2C} .	48
Figura 26 Docking agrupado de los compuestos WA26, WA13 y WA14 en el receptor	48

	5-HT _{2B} .	
Figura 27	Docking agrupado de los compuestos WA26, WA13 y WA14 en el receptor 5-HT _{2A} .	49
Figura 28	Docking agrupado de compuesto WA26 color celeste (alil derivado).	50
Figura 29	Docking agrupado de los compuestos de la serie WA15 en el receptor 5-HT _{2C} .	50
Figura 30	Imagen superpuesta de lorcaserina (WA15) en los tres receptores.	52
Figura 31	Estructura general de compuestos sintetizados con la numeración a utilizar para dar claridad al a la asignación de señales en el análisis de NMR.	58
Figura 32	Esquema de síntesis de a1 sintetizado en paso A.	58
Figura 33	Esquema de síntesis de b1 según el paso B.	59
Figura 34	Esquema de síntesis de c1 según el paso C.	60
Figura 35	Esquema de síntesis de d1 sintetizado en paso 1D.	61
Figura 36	Esquema de síntesis de d2 según el paso 2D.	62
Figura 37	Esquema de síntesis de d3 según el paso 3D.	63
Figura 38	Esquema de síntesis de benzazepinas cabezas de serie WA01, WA02 y WA03 según el paso E.	64
Figura 39	Esquema de reacción para obtener la serie derivada de WA01.	66
Figura 40	Esquema de reacción para obtener la serie derivada de WA02.	68
Figura 41	Estructura del compuesto WA14 correspondiente a la serie WA02.	69
Figura 42	Estructuras de compuestos sintetizados correspondientes a la serie WA03.	70
Figura 43	Estructura del compuesto WA13 correspondiente a la serie WA03.	72
Figura 44	Estructuras de los compuestos WA16, WA17 y WA18 pertenecientes a la serie WA15 derivada de lorcaserina.	73
Figura 45	Estructura del compuesto WA26 sintetizado correspondiente a serie de la lorcaserina.	74
Figura 46	Estructuras de compuestos sintetizados correspondientes a la serie de lorcaserina racémica.	75
Figura 47	Estructura del compuesto R36 sintetizado correspondiente a la serie de lorcaserina racémica.	76
Figura 48	Estructuras de compuesto sintetizado correspondiente a la serie de fenfluramina.	77
Figura 49	Estructura general de compuestos análogos de fenfluramina con la numeración a utilizar para detallar el análisis de NMR según corresponda al compuesto de síntesis.	77
Figura 50	Estructura del compuesto sintetizado correspondiente a la serie de fenfluramina.	78
Figura 51	Estructuras de compuestos sintetizados correspondientes a la serie de fenfluramina	79
Figura 52	Numeración de los compuestos a utilizar para describir los espectros de NMR.	80
Figura 53	Estructuras de compuestos pertenecientes a la serie DAP.	81

Índice de tablas.

		Página
Tabla 1	Resumen de las características, ubicación, segundos mensajeros, tipo de proteína G y mecanismo de acción de los receptores de serotonina.	8
Tabla 2	Resumen de resultados de ensayos de afinidad expresada en valores de K_i y pK_i	32
Tabla 3	Resumen de resultados de ensayos funcionales expresados en EC_{50} y pEC_{50} .	34
Tabla 4	Extracto de Tabla 2, resumen de resultados de ensayos de afinidad expresada en valores de K_i y pK_i .	36
Tabla 5	Rendimientos de compuestos de la serie WA01.	66
Tabla 6	Rendimientos de compuestos de la serie WA02.	68
Tabla 7	Rendimientos de compuestos de la serie WA03.	71
Tabla 8	Rendimientos de compuestos de la serie de la lorcaserina.	73
Tabla 9	Rendimiento de compuestos de la serie de lorcaserina racémica.	76
Tabla 10	Rendimientos de compuestos de la serie análogos de fenfluramina.	79
Tabla 11	Rendimiento de compuestos derivados de 1,3-dinitropropanos.	80
Tabla 12	Rendimiento de compuestos de la serie DAP.	81

Resumen.

La lorcaserina ((1*R*)-8-cloro-1-metil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-3-benzazepina) es un nuevo medicamento desarrollado por Smith y Smith en 2005 y aprobado por la FDA el año 2012 como supresor del apetito. Esta droga actúa a nivel del sistema nervioso central como agonista de los receptores de serotonina 5-HT_{2C} (Smith y col. 2005). Durante su desarrollo fueron sintetizadas y evaluadas diversas benzazepinas sustituidas en todas las posiciones, pero sólo se evaluó la sustitución sobre el nitrógeno (posición 3, Figura 1) con grupos alquilo de largo de cadena C₁ hasta C₈. Si bien lorcaserina fue seleccionada para su comercialización debido a su selectividad, su actividad podría ser mejorada realizando las sustituciones adecuadas en la posición 3 del anillo azepínico y así reducir su potencial uso como droga de abuso disminuyendo su actividad sobre los receptores 5-HT_{2A} o aumentando su actividad sobre el receptor 5-HT_{2C} y con ello lograr desarrollar un nuevo y mejor fármaco para el tratamiento de la obesidad.

Como antecedentes, existen compuestos del tipo feniletilaminas que actúan sobre los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} que, cuando se les realizan bencilaciones, aumentan su actividad biológica hasta en dos órdenes de magnitud. Es por esta razón que creímos que realizando las bencilaciones adecuadas en análogos de lorcaserina podríamos obtener el mismo efecto dadas las características estructurales que comparte lorcaserina con las feniletilamina.

En el presente trabajo de tesis, se detalla la síntesis de series de benzazepinas, fenilisopropilaminas *N*-benciladas y 1,3-diaminopropanos, la evaluación biológica de los compuestos sintetizados y estudios de acoplamiento molecular de 3 series de benzazepinas *N*-benciladas en los receptores 5-HT₂. Los estudios de acoplamiento molecular intentan relacionar la probable conformación de estos estos compuestos en el sitio de unión con la actividad

biológica que ellos poseen, con el fin de encontrar características estructurales que nos den cuenta de la actividad presentada por estos compuestos.

Summary.

Lorcaserin ((1*R*)-8-chloro-1-methyl-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-3-benzazepine) is a new drug developed by Smith and Smith and approved by the FDA in 2012 as an appetite suppressant. This drug acts in the central nervous system as an agonist of serotonin 5-HT_{2C} receptors. During its development, various benzazepines substituted in all positions were synthesized and evaluated, but the substitution on nitrogen was only evaluated with alkyl groups of chain length C₁ to C₈. Although lorcaserin was selected for commercialization due to its selectivity, its activity might be improved by making the appropriate substitutions at position 3 of the azepine ring and thus reduce its potential abuse by decreasing its activity on 5-HT_{2A} receptors or increasing its activity on the 5-HT_{2C} receptor, thereby providing a lead for the development of new and better drugs for the treatment of obesity.

As background, there are compounds such as phenylethylamines that act on 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors that when benzylated at the 3 position increase their biological activity by up to two orders of magnitude. Thus we thought that by performing the appropriate analogous benzylations of lorcaserin we might obtain the same effect because of the structural characteristics shared lorcaserin with phenylethylamines.

In this thesis work I detail the synthesis of a diverse series of *N*-benzylated benzazepines, phenylisopropylamines, and a 1,3-diaminopropanes, the biological evaluation of the synthesized compounds and molecular docking studies of 3 series of *N*-benzylated benzazepines at the 5-HT₂ receptors. The molecular docking studies try to relate the probable conformation that these compounds acquire in the binding site

with their biological activity and try to find structural characteristics that allow us to understand the activity of these compounds.

Abreviaciones.

FDA: Food and Drug Administration.

5-HT: 5-Hidroxitriptamina o serotonina.

mCCP: metaclorofenilpiperazina.

TRP: triptófano

AC: adenilil ciclasa.

ERK: kinasa reguladora de señales extracelulares.

NOS: Óxido nítrico sintasa.

cNOS: Óxido nítrico sintasa constitutiva.

iNOS: Óxido nítrico sintasa inducible.

PK: Proteína kinasa.

PKC: Proteína kinasa C.

PKA: Proteína kinasa A.

PL: Fosfolipasa.

PLA₂: Fosfolipasa A₂.

PLC: Fosfolipasa C.

NAD: Nicotinamida adenina dinucleótido.

5-HIAA: Ácido 5-hidroxiindolacético.

DAG: Diacilglicerol.

IP₃: Trifosfato de inositol.

PIP₂: Fosfatidilinositol.

NMR: Resonancia magnética nuclear.

1. Introducción.

1.1. Serotonina, receptores de serotonina y su funcionamiento a nivel molecular.

Los receptores de serotonina son un grupo de receptores acoplados a proteína G (GPCRs), con la excepción del receptor 5-HT₃, que corresponde a un receptor ionotrópico ligado a canales iónicos (Siegel 2005). Éstos constan de una cadena polipeptídica y poseen un dominio extracelular, un dominio intracelular y un dominio insertado en la bicapa lipídica. Los dominios de membrana o transmembranas consisten en 7 segmentos α hélices conectados por lazos extracelulares e intracelulares (ver Figura 1 y 2). La transducción de señales se inicia cuando un ligando se une a estos receptores, normalmente en el sitio ortostérico. El sitio intracelular que interactúa con proteínas citoplasmáticas (proteína G) es sensible a cambios conformacionales inducidos por agonistas que actúan sobre este receptor dando lugar a la señalización celular que activa las distintas funciones celulares (Roth 2006), ver Figura 2.

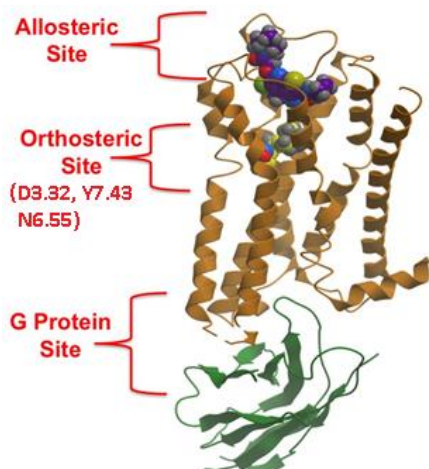


Figura 1. Representación general de la estructura de un receptor (GPCR) acoplado a una proteína G. La figura muestra el sitio ortostérico para la familia de receptores 5-HT₂, ubicado en el tercio superior del receptor.

Morfológicamente, los GPCRs están conformados por un sitio alostérico que incluye los lazos extracelulares, un sitio ortoestérico blanco de los GPCRs monoaminérgicos ubicado en el entorno de los residuos polares D3.32, Y7.43 y N6.55 (Wacker y col. 2010) y una proteína G heterotrimérica compuesta por subunidades α , β , γ , ubicada en el sitio intracelular responsable de la cascada bioquímica de transducción de señales más conocida. Existe otro mecanismo de señalización celular que no implica una activación de la proteína G, sigue la vía de β -arrestinas. Los receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT₄ muestran también una señalización vía β -arrestinas (Bohn y col. 2010).

El ligando endógeno de estos receptores es la serotonina (5-hidroxitriptamina o 5-HT), importante monoamina presente tanto en el sistema nervioso central (SNC) como en el sistema nervioso periférico (SNP). La serotonina es producida en todo el sistema nervioso (SN) a partir del aminoácido L-triptófano (TRYP, ver figura 2), pero sólo en la glándula pineal es transformada a melatonina (Siegel 2005).

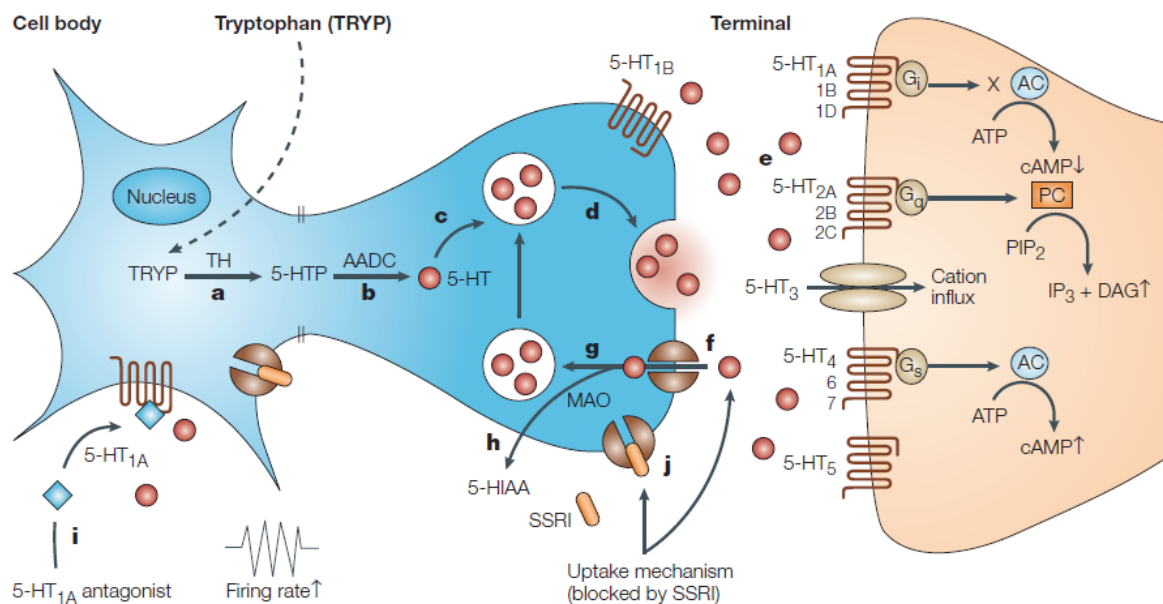


Figura 2. Esquema del proceso de neurotransmisión por serotonina y su biosíntesis a partir del aminoácido triptófano. **a)** la enzima triptófano hidroxilasa (TH) cataliza la conversión de triptófano

(TRYP) a 5-hidroxitriptofano (5-HTP). **b)** la aminoácido aromático descarboxilasa (AADC) cataliza la conversión de 5-HTP en 5-hidroxitriptamina (5-HT o serotonina). **c)** 5-HT es almacenada en vesículas **d)** 5-HT es liberada desde las vesículas hacia el espacio sináptico. **e)** 5-HT puede activar diferentes tipos de receptores 5-HT (1, 2, 3, 4, 5, 6 ó 7) uniéndose al respectivo receptor y provocando la transducción de señal correspondiente en la neurona postsináptica. **f)** 5-HT puede ser recapturada desde los terminales presinápticos por el transportador de 5-HT. **g), h)** en los terminales presinápticos la 5-HT puede ser capturada y almacenada en vesículas o degradada por la monoamino oxidasa (MAO). **i)** 5-HT activa somatodendritas presinápticas del receptor 5-HT_{1A} el que puede ser bloqueado por antagonistas selectivos de 5-HT_{1A}. **j)** los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (SSRIs) incluyendo fluoxetina inhiben el transportador de 5-HT. 5-HIAA (ácido 5-hidroxiindolacético), AC (adenilil ciclase), DAG (diacilglicerol), IP₃ (trifosfato de inositol), PIP₂ (fosfatidilinositol). Figura obtenida de Wong y col. 2005.

Para el neurotransmisor 5-HT han sido identificados diversos receptores conocidos como receptores de serotonina. Actualmente, estos receptores han sido agrupados en 7 familias por la International Union of Pharmacology en 1994 (Nichols y col. 2008) por sus características estructurales y transducción de señales. Las características generales de estos receptores se resumen en la siguiente Tabla 1.

Tabla 1. Resumen de las características, ubicación, segundos mensajeros, tipo de proteína G y mecanismo de acción de los receptores de serotonina. AC (adenilil ciclase), ERK (kinasa reguladora de señales extracelulares), NOS (Óxido nítrico sintasa) cNOS (Óxido nítrico sintasa constitutiva), iNOS (Óxido nítrico sintasa inducible), PK (proteína kinasa), PKC (proteína kinasa C), PKA (proteína kinasa A), PL (fosfolipasa), PLA₂ (fosfolipasa A₂), PLC (fosfolipasa C), NAD (Nicotinamida adenina dinucleótido).

Subtipo	Localización en SNC	Señalización principal. *	Otra señalización*	Proteína G *	Acción **
5-HT _{1A}	Rafé dorsal y medio, hipocampo, cortex, núcleos septales.	Inhibe AC Activa canales K ⁺ Estimula ERK Inhibe conductancia Ca ²⁺	Activa PLC Activa NOS Activa NAD(P)H oxidasa Activa NHE-1	G _{ia3} > G _{ia2} ≥ G _{ia1} ≥ G _{oa} > G _{za}	CNS: inhibición neuronal. Efectos conductuales en sueño, alimentación, termoregulación, agresión y ansiedad.
5-HT _{1B}	Ganglios basales y sustancia negra.	Inhibe AC Estimula ERK	Activa PLC Activa NOS Activa AC2 Activa canales K ⁺ Inhibe conductancia Ca ²⁺	G _{ia3} > G _{ia1} ≥ G _{ia2} ≥ G _{oa}	CNS: inhibición presináptica. Efectos conductuales. Vasoconstricción pulmonar.
5-HT _{1D}	Ganglios basales y sustancia	Inhibe AC	Inhibe conductancia de Ca ²⁺	G _{ia} & G _{oa}	CNS: locomoción, ansiedad, vasoconstricción

	negra.		Activa canales K ⁺		cerebral.
5-HT_{1E}	Hipocampo, cortex entorrinal, subículo.	Inhibe AC	Activa AC	G _{ia} & G _{oa}	---
5-HT_{1F}	Globo palido, sustancia negra, núcleo espinal.	Inhibe AC	Activa PLC	G _{ia} & G _{oa}	---
5-HT_{2A}	Cortex, neocortex, claustró.	Activa PLC Activa PKC Estimula ERK Activa PLA2	Activa NHE-1 Activa AC Inhibe AC	G _{qa} & G _{11a} ≥ G _{ia}	CNS: excitación neuronal, efectos conductuales, aprendizaje, ansiedad, vasoconstricción, agregación plaquetaria.
5-HT_{2B}	Colículo inferior, cóclea.	Activa PLC Activa ERK Activa PLA2	Activa ciclo celular Activa iNOS Activa cNOS	G _{qa} & G _{11a}	Contracción estomacal, válvulas cardiacas.
5-HT_{2C}	Plexo coroideo.	Activa PLC Activa PKC Activa PLA ₂	Activa intercambio de Na ⁺ /Ca ²⁺	G _{qa} & G _{11a}	CNS: ansiedad, alimentación. Plexo coroideo: secreción de fluido cerebroespinal.
5-HT₃	Núcleo espinal del nervio trigémino, área postrema, núcleo del tracto solitario.	Receptor unido a canal iónico catión-selectivo *	---	---	SNC, SNP: excitación neuronal.
5-HT₄	Hipocampo, tracto basal, cortex, sustancia negra.	Activa AC Activa PKA	Regula varios canales	G _{sa}	CNS: excitación neuronal, aprendizaje, memoria.
5-HT_{5A}	Ulbo olfatorio, habenua medial, neocortex.	Activa AC Disminuye PKA **	Activa PLC, Activa Ca ²⁺ Activa PKC**	G _{i/o}	
5-HT₆	Cuerpo estriado, cortex, núcleo accumbens.	Activa AC Activa PKA	Inhibe AC	G _{sa}	Aprendizaje y memoria
5-HT₇	Tálamo,	Activa AC	Activa ERK	G _{sa}	Participa en

hipocampo, hipotálamo, cortex.	Activa PKA	control del ritmo circadiano, vasorelajación.
--------------------------------------	------------	---

Tabla de datos obtenida de tesis de Hansen, * datos obtenidos de Raymond y col. 2001. ** Datos obtenidos de tesis de María Elena Silva.

La familia de receptores de serotonina 5-HT₂ está compuesta por 3 subtipos de receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C} altamente emparentados y homólogos, unidos a una proteína G, todos de similar tamaño (entre 450-471 aminoácidos) y sus efectos son mediados principalmente a través de la activación del metabolismo de fosoinositol (IP) y diacilglicerol (DAG) (Hoyer y col. 1994) como se muestra en la Figura 3, aunque el mecanismo real es mucho más complejo (Figura 4).

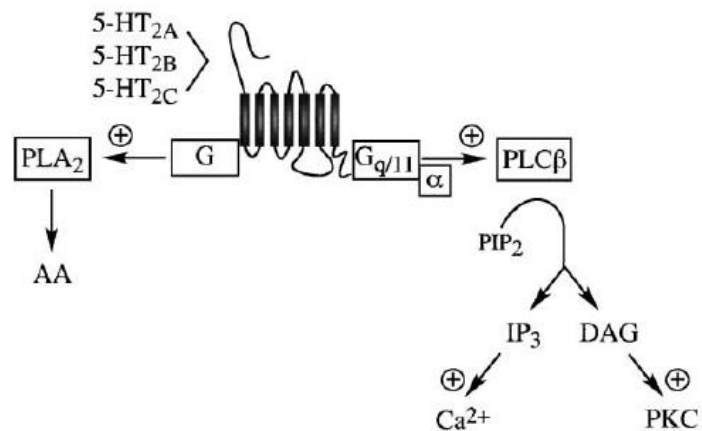


Figura 3. Esquema de señalización celular para los receptores 5-HT₂, donde el receptor activado estimula la proteína fosolipasa Cβ (PLCβ) a través de la subunidad G_{q/11} de la familia de proteínas G, resultando en la hidrólisis de fosatidilinositol (PIP₂) a inositol trifosfato (IP₃) y diacilglicerol (DAG). La generación de IP₃ conduce al aumento de los niveles de Ca²⁺ intracelular, en cambio DAG activa también la proteína quinasa C (PKC). Figura obtenida de Raymond y col. 2001.

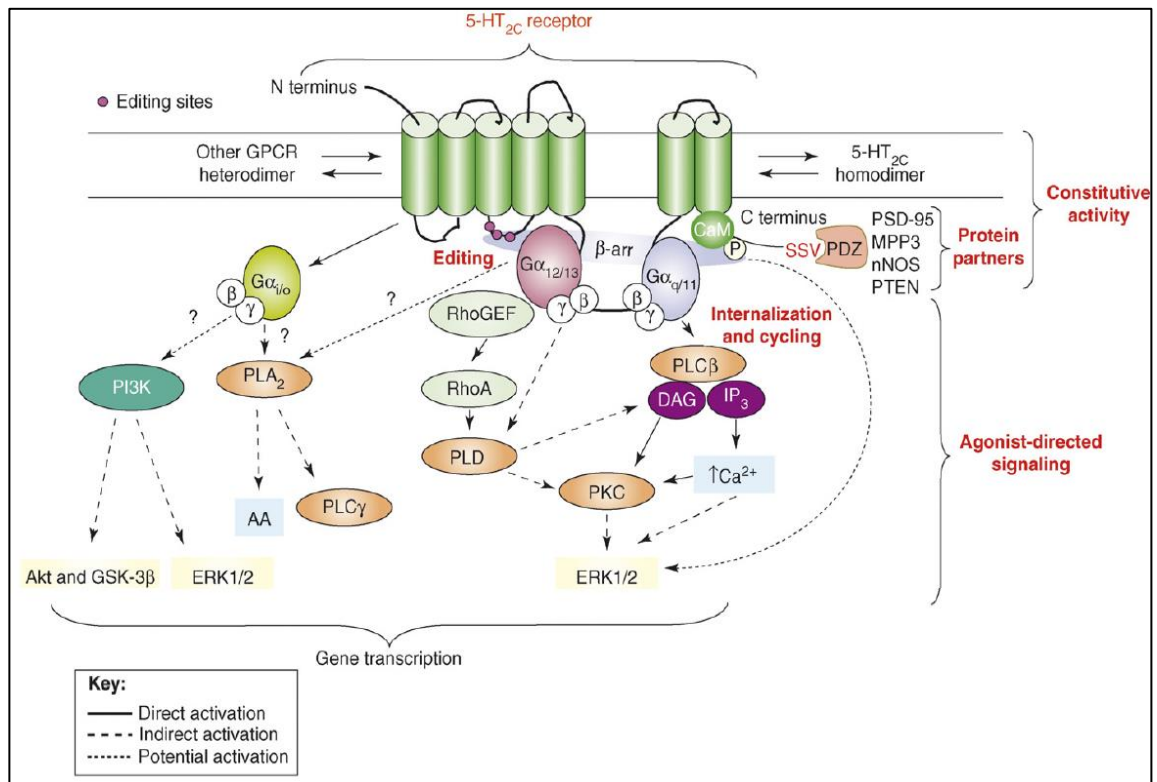


Figura 4. La señalización del receptor 5-HT_{2C} ilustra la complejidad de la señalización serotoninérgica. Inicialmente se recluta PLCβ via PLA₂, iniciada por G_{12/13} la que también indirectamente activa PLD. La PLA₂ por si misma recluta PLC γ y ciclooxigenasa 2 (COX-2) resultando en la generación de ácido araquidónico (AA). En cambio la estimulación de PLC y PLD convergen a PKC, lo que resulta en la fosforilación de ERK1/2 (ruta de activación de ERK). Una ruta adicional está provista de G_{ai/o} la que induce la fosfoinositido 3 quinasa (PI3K) hacia la cascada AKT y glicogenosintasa quinasa (GSK)-3β. Tanto la cascada ERK como esta cascada controlan transcripción de genes y también están implicadas en apoptosis y muchas otras funciones celulares. Adicionalmente la directa internalización de β-arrestinas (β-AR) puede activar ERK1/2. Figura obtenida de Millan y col. 2008.

El mecanismo de transducción de señales que conduce a la respuesta celular es un mecanismo complejo. Un agonista no sólo puede activar varias cascadas bioquímicas de transducción de señales, sino que puede activar preferentemente una vía por sobre otra, esto se le conoce como señalización dirigida por ligando (Millan y col. 2008) o como selectividad funcional (Kenakin y col. 2010; 2012). Existen diversos y conocidos agonistas de los receptores 5-HT₂ que activan una vía de señalización por sobre otra para los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C}. Entre ellos se encuentran los compuestos DOM, DOI, MDA, DON y 2C-H (Moya y col. 2007). El o los

mecanismos que rigen la activación preferente de una ruta de transducción por sobre otra constituyen un importante objeto de estudio.

1.2. Activación de los receptores 5-HT₂.

A lo largo del tiempo se ha podido identificar y corroborar mediante mutaciones sitio-dirigidas que existen algunos residuos claves para la activación de cada uno de los receptores. Algunos de estos residuos son además compartidos por otros GPCRs. Una ligando induce o estabiliza cambios conformacionales en el receptor mediante interacciones intermoleculares cuyo resultado produce una cascada de señalizaciones intracelulares (Figuras 3 y 4).

Una droga (ligando) agonista estabiliza una conformación activa del receptor y un antagonista induce una conformación inactiva del receptor (Lakshmi 2005, libro). Para el receptor β_2 adrenérgico (B₂-AR), por ejemplo, se conocen sus estructuras cristalinas en conformación activa (Rasmussen y col. 2011) con el ligando e inactiva (Wacker y col. 2010). El motivo PIF (P5.50, I3.40, F6.44) es uno de los motivos estructurales que nos permiten determinar si el receptor se encuentra en una conformación activa o inactiva (Figura 6). La conformación de este motivo estructural PIF también se extiende para la familia 5-HT₂.

TM1	2C	53	Q N W P A L S I V I I I I M T I G G N I L V I M A V
	2A	74	K N W S A L L T A V V I I L T I A G N I L V I M A V
	2B	55	- H W A A L L I L M V I I P T I G G N T L V I L A V
TM2	2C	90	Y F L M S L A I A D M L V G L L V M P L S L
	2A	110	Y F L M S L A I A D M L L G F L V M P V S M
	2B	91	Y F L M S L A V A D L L V G L F V M P I A L
TM3	2C	127	C P V W I S L D V L F S T A S I M H L C A I S L
	2A	148	C A V W I Y L D V L F S T A S I M H L C A I S L
	2B	128	C P A W L F L D V L F S T A S I M H L C A I S V
TM4	2C	171	A I M K I A I V W A I S I G V S V P I P V I G L
	2A	192	A F L K I I A V W T I S V G I S M P I P V F G L
	2B	172	A F I K I T V V W L I S I G I A I P V P I K G I
TM5	2C	214	F V L I G S F V A F F I P L T I M V I T Y C L
	2A	234	F V L I G S F V S F F I P L T I M V I T Y F L
	2B	217	F M L F G S L A A F F T P L A I M I V T Y F L
TM6	2C	312	V L G I V F F V F L I M W C P F F I T N I L S
	2A	324	V L G I V F F L F V V M W C P F F I T N I M A
	2B	325	V L G I V F F L F L L M W C P F F I T N I T L
TM7	2C	351	N V F V W I G Y V C S G I N P L V Y T L F N
	2A	363	N V F V W I G Y L S S A V N P L V Y T L F N
	2B	363	E I F V W I G Y V S S G V N P L V Y T L F N

Figura 5. Comparación de la alineación aminoacídica de los receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, y 5-HT_{2C} para las 7 transmembranas. En gris se aprecian los aminoácidos conservados, en amarillo el residuo D3.32 blanco biológico del ligando endógeno serotonina y de drogas de síntesis. En naranja el residuo W6.48, importante para la activación del receptor y en rosado S5.46-A5.46, importante para la selectividad 5-HT_(2A/2C). Figura extraída de Miller y col. 2010.

El año 2017 fue publicada la estructura cristalina del receptor 5-HT_{2B} cristalizado con los agonistas dietilamida del ácido lisérgico (LSD) y ergotamina (ERG) (Wacker y col. 2017). Sin embargo, como se aprecia en la Figura 6, este receptor no alcanzó una conformación completamente activa, más bien un estado activo parcial, dado que la transmembrana VI no alcanza a adquirir la conformación que le permita estabilizar la conformación activa completa del receptor. Ello implica que no se puede utilizar la estructura cristalina de este receptor como plantilla estructural para construir los modelos de 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} ni 5-HT_{2C} (Heifetz y col. 2016) debido a que se requiere la estructura cristalina de un receptor en su forma activa (completa) para compuestos agonistas.

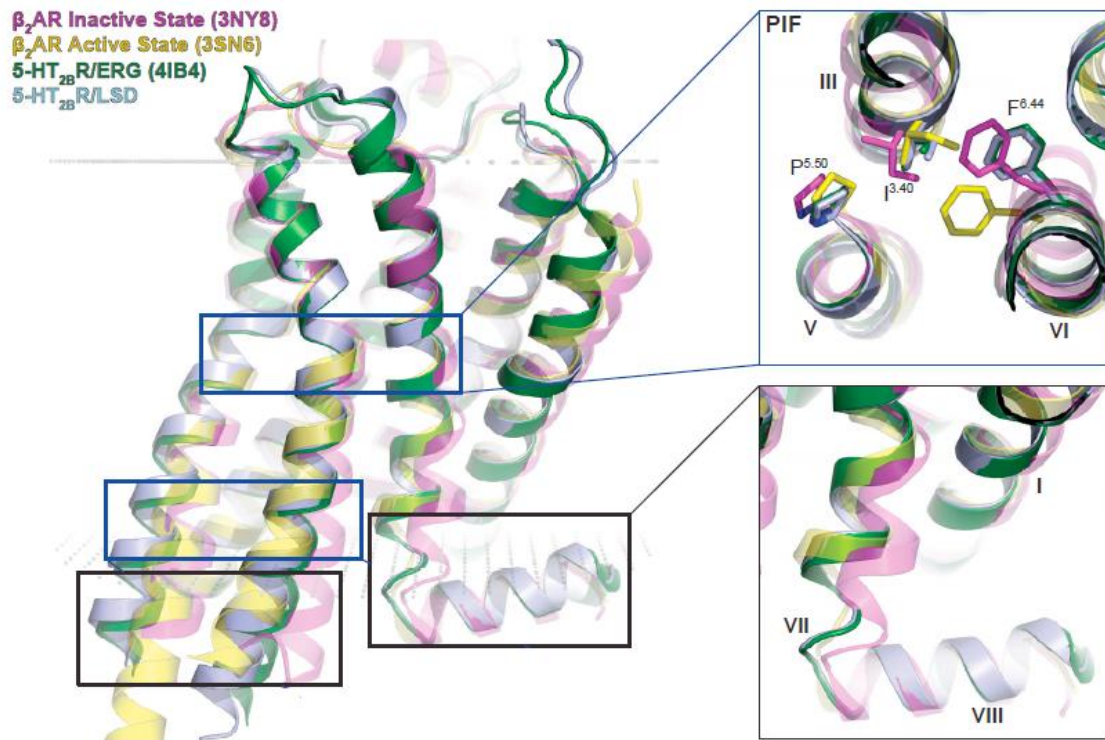


Figura 6. Comparación entre las estructuras cristalinas del receptor β_2 -adrenérgico (β_2 -AR) y 5-HT_{2B} mostrando el motivo PIF altamente conservado, en amarillo el receptor β_2 -AR en su estado activo, en magenta el receptor β_2 -AR en su estado inactivo, en verde el receptor 5-HT_{2B} cristalizado con ERG y en celeste el receptor 5-HT_{2B} cristalizado con LSD. En el recuadro superior derecho se muestra que la activación del receptor 5-HT_{2B} con dos conocidos agonistas ocurre mediante una activación parcial de este receptor ya que el residuo F6.44 queda en la misma orientación que en el receptor β_2 -AR en su forma inactiva. Figura extraída de Wacker y col. 2017.

1.3. Estructura cristalina resuelta del receptor 5-HT_{2C} con ligandos ERG y RIT.

En el año 2018 Peng y col. determinaron la estructura cristalina del receptor 5-HT_{2C} en su forma activa y su forma inactiva con dos moléculas (ERG como agonista y ritanserina como agonista inverso), donde además se corrobora la importancia de ciertos residuos clave como G5.42, V7.39, y W6.48.

Disponer de la estructura cristalina de un receptor de la familia 5-HT₂ en su conformación activa (completa) es de suma importancia para el modelamiento de las interacciones de los tres dado el alto grado de homología entre ellos (ca. 80%). Estas estructuras cristalinas son herramientas que nos permiten conocer de forma muy detallada la estructura de los

receptores, el entorno químico de los sitios alostéricos y ortostéricos, la orientación de los fármacos-ligandos con los cuales han sido cristalizados estos receptores y las interacciones importantes involucradas en la actividad de la droga con la que ha sido cristalizada.

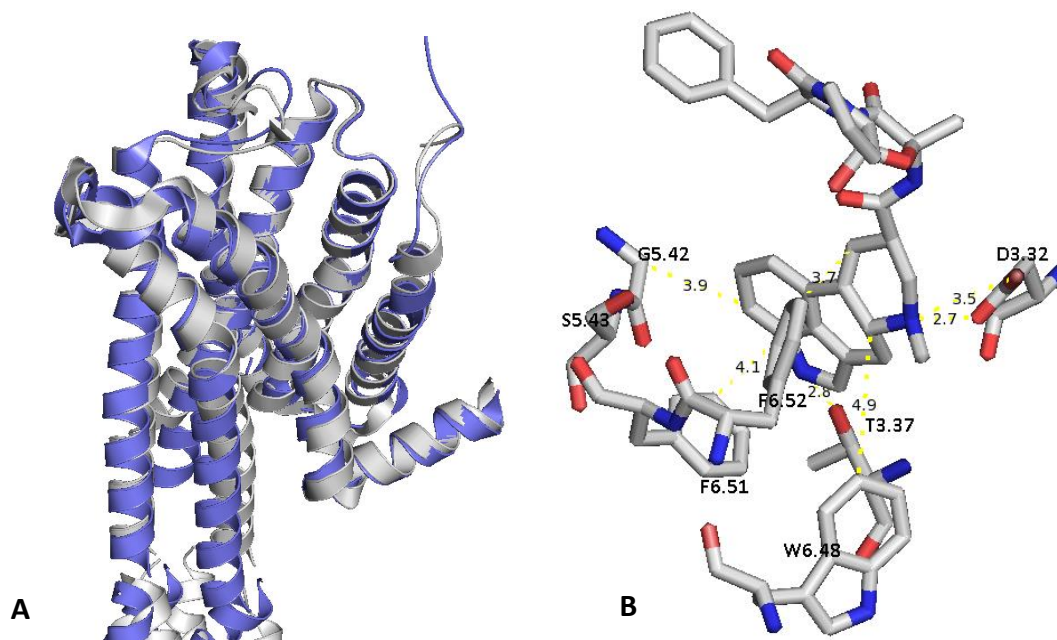


Figura 7. Estructura cristalina del receptor 5-HT_{2C}. **A** muestra la estructura cristalina del receptor en su forma activa (plateado, PDB:6BQG) y en su forma inactiva (morado, PDB:6BQH). **B** es una ampliación de la estructura cristalina del receptor cristalizado con el ligando ergotamina (ERG). Se muestra la zona de la ergolina y las interacciones con los residuos polares D3.32, T3.37, con los residuos aromáticos W6.48, F6.51, F6.52 y una interacción hidrofóbica con el residuo G5.42.

Receptor 5-HT_{2A}.

La activación del receptor 5-HT_{2A} ha sido relacionada con el efecto alucinógeno de drogas que lo activan tales como la dietilamida del ácido lisérgico (LSD) (Braden 2007, tesis). Son importantes para la actividad de este receptor los residuos altamente conservados F6.51 y F6.52, determinados mediante estudios de mutación sitio-dirigida por Braden 2006 y también atribuidos a todos los GPCRs (Preiniger y col. 2013), además del muy importante D3.32 (Cordova-Sintjago y col. 2010) y las serinas S3.36 y S5.43 (Isberg y col. 2010).

Receptor 5-HT_{2B}.

El receptor 5-HT_{2B} es considerado un blanco farmacológico que hay que evitar, ya que su activación ha sido asociada con efectos secundarios de los antiguos medicamentos utilizados para la supresión del apetito causantes de valvulopatías cardíacas (Setola y col. 2005, Roth y col. 2007, Huang y col. 2009). En trabajos recientes Wacker y col. 2017 ha podido demostrar que la activación de este receptor por dos conocidos agonistas, LSD y ergotamina (ERG), provocan una activación preferentemente vía β -arrestinas; sin embargo, el residuo L209^{EL2} ubicado en un sitio alostérico parece ser importante para este rol siendo comprobado mediante la mutación sitio dirigida L209A^{EL2}. Estos antecedentes dan cuenta de las posibles diferencias conformacionales del receptor 5-HT_{2B} con los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C}.

Receptor 5-HT_{2C}.

El receptor 5-HT_{2C} es sindicado como el responsable de la supresión del apetito (Miller y col. 2010) y el alivio de síntomas de afecciones psiquiátricas como esquizofrenia, depresión y ansiedad (Chagraoui y col. 2016, Palacios y col. 2017).

Peng y col. 2018 con la estructura cristalina del receptor 5-HT_{2C} con el ligando ERG, corroboran además la importancia de los residuos anteriormente mencionados en 5-HT_{2A} y 5-HT_{2B}. Además le atribuyen una gran importancia al residuo G5.42 para la selectividad de este receptor observando la estructura cristalina de este receptor con el antagonista selectivo ritanserina, donde se aprecia una interacción hidrofóbica a muy corta distancia con este residuo, describiendo con sus modelos de acoplamiento molecular una interacción del átomo de cloro de lorcaserina con este residuo G5.42, similar a ritanserina.

Existen herramientas informáticas como los estudios de acoplamiento molecular (docking) que nos permiten fijar un fármaco en un receptor y realizar estudios *in silico* sobre la posible orientación que tenga este en el receptor con el objeto de observar las interacciones ligando-receptor importantes en dicha conformación. Es el caso de este trabajo de tesis, donde mediante estudios *in silico* de acoplamiento molecular utilizando AutoDock4 se estudió la posible orientación de las moléculas sintetizadas en este trabajo en los receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C}.

1.4. Lorcaserina.

La lorcaserina ((1*R*)-8-cloro-1-metil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-3-benzazepina) es un nuevo medicamento aprobado por la FDA el año 2012 como supresor del apetito. Esta droga actúa a nivel del sistema nervioso central como agonista de los receptores de serotonina 5-HT_{2C} (Smith y col. 2005).

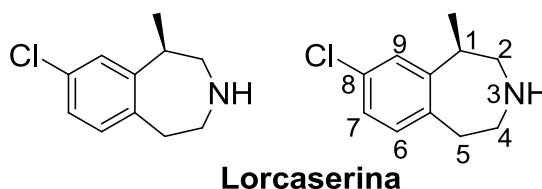


Figura 8. Estructura de lorcaserina con su numeración.

Smith (2005; 2008) desarrollaron nuevos agonistas selectivos de los receptores 5-HT_{2C} ya que los existentes dexfenfluramina, fenfluramina, fentermina, sibutramina, dietilpropión (Figura 9) provocaban importantes efectos secundarios.

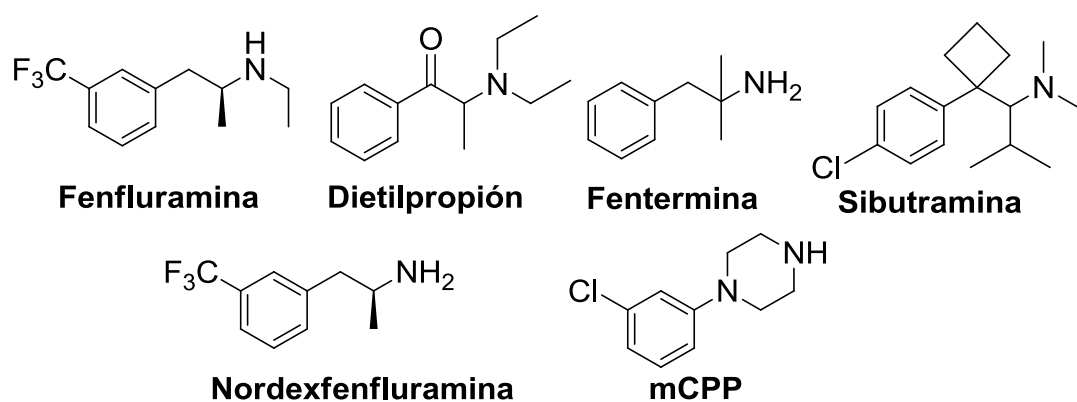


Figura 9. Estructura de algunos fármacos antiobesidad retirados del mercado. Todos poseen estructura de feniletilamina o próxima (en el caso de las fenilpiperazinas como mCPP).

La peligrosidad de estos compuestos (Figura 9) se debe a la actividad agonista sobre el receptor de serotonina 5-HT_{2B} cuya activación está asociada a efectos cardiotoxicos (Setola y col. 2005; Roth y col. 2007; Huang y col. 2009).

Para el desarrollo de lorcaserina Smith y col. (2005) comenzaron trabajando con nordexfenfluramina y mCPP (meta-clorofenilpiperazina) explorando diversas estructuras que incluyeran motivos estructurales en común de estos dos compuestos, encontrando finalmente que la estructura bicíclica fusionada 3-benzazepina presentaba una selectividad importante por los receptores 5-HT_{2C} . Dado este acontecimiento y luego de explorar diversos derivados de benzazepinas se logró encontrar que la droga más selectiva y con mejor actividad era el compuesto conocido hoy como lorcaserina, siendo aprobada por la FDA el año 2012 para ser lanzado al mercado como supresor del apetito en reemplazo de los ya existentes (figura 9). Estudios de Thomsen y col. en 2008 muestran para lorcaserina una selectividad $5\text{-HT}_{2C/2A}$ de 18 veces y $5\text{-HT}_{2C/2B}$ de 104 veces, medida por acumulación de $[^3\text{H}]$ -fosfoinositol.

Si bien Lorcaserina presenta una selectividad $5\text{-HT}_{2C}/5\text{-HT}_{2B}$ importante en comparación con sus predecesores y evita de esta manera los efectos secundarios de éstos, la selectividad respecto

a los receptores 5-HT_{2A} no es la óptima. Estos antecedentes dan cuenta de que la lorcaserina podría ser utilizada como droga de abuso con posibles efectos alucinógenos en dosis altas. Es importante mencionar que pruebas clínicas utilizando lorcaserina han mostrado una reducción de la autoadministración de otras drogas tales como cocaína, nicotina, alcohol y oxicodona (Harvey-Lewis y col. 2015, Palacios y col. 2016, Neelakantan y col. 2017 respectivamente), además de provocar un bajo potencial de farmacodependencia (Shram y col. 2011), lo que la hace una droga relativamente segura para su comercialización.

Estos importantes antecedentes han permitido asociar el tratamiento de la adicción por ciertas drogas, entre otras medidas terapéuticas, con el receptor 5-HT_{2C} donde la lorcaserina ha mostrado resultados prometedores en modelos animales y pruebas clínicas. Los antecedentes presentados aquí y el enorme potencial terapéutico que se puede alcanzar con el desarrollo de nuevos fármacos agonistas del receptor 5-HT_{2C} es lo que nos alienta a continuar la investigación de nuevos y mejores agonistas selectivos.

Durante su desarrollo fueron sintetizadas y evaluadas diversas benzazepinas sustituidas en distintas posiciones (Smith y col. 2005; 2008, US Patent 2005 y 2014; Shimada y col. 2008; Heifetz y col. 2016), pero sólo se evaluó la sustitución sobre el nitrógeno en posición 3 con grupos alquilo de largo de cadena C₁ hasta C₈.

1.5. Características estructurales de algunos agonistas de los receptores 5-HT_{2A}.

Si comparamos las estructuras químicas de las moléculas agonistas de los receptores 5-HT_{2C} (Figura 9) es posible observar que todas contienen una estructura de feniletilamina incorporada en su esqueleto, donde comparten ciertas características estructurales con ciertos compuestos que son agonistas del receptor 5-HT_{2A} (Figura 10). Este dato es crucial para comprender el origen de nuestra hipótesis.

Heim y Hansen (2003 y 2010, respectivamente) demostraron que realizando *N*-bencilaciones a feniletilaminas agonistas de los receptores 5-HT₂, utilizando bencilos preferentemente oxigenados en posición 2 (2-hidroxibencilo, 2-metoxibencilo) la afinidad de estas drogas por los receptores 5-HT₂ aumentaba hasta en dos órdenes de magnitud (Figura 10).

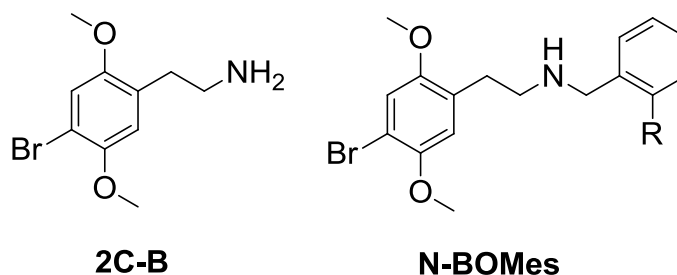


Figura 10. Estructura de 2-CB (izquierda), feniletilamina agonista de los receptores 5-HT₂. Estructura de derivados de 2C-B *N*-bencilados (N-BOME) cuya afinidad se ve aumentada con este tipo de sustituyentes (derecha).

Los receptores 5-HT₂ se asemejan mucho entre sí en cuanto a su estructura molecular, farmacología, rutas de transducción de señales, y su alto grado de identidad aminoacídica, compartiendo características comunes que los distinguen de otros receptores 5-HT (1995, Miller y col. 2010). Los residuos importantes involucrados en la activación del receptor 5-HT_{2A} por compuestos del tipo N-BOMes han sido reconocidos observados además en modelos de acoplamiento molecular por Isberg y col. 2011 (Figura 11), estos residuos corresponden a S3.36, S5.43, F6.51, F6.52, D3.32 y Y7.34, lo que también están conservados en el recetor 5-HT_{2C}. Estas semejanzas estructurales nos conducen a pensar que realizando modificaciones adecuadas a benzazepinas análogas de la lorcaserina, es decir, *N*-sustituciones, podríamos mejorar su selectividad y/o su afinidad y encontrar fundamentos para el diseño de mejores fármacos para el tratamiento de la obesidad.

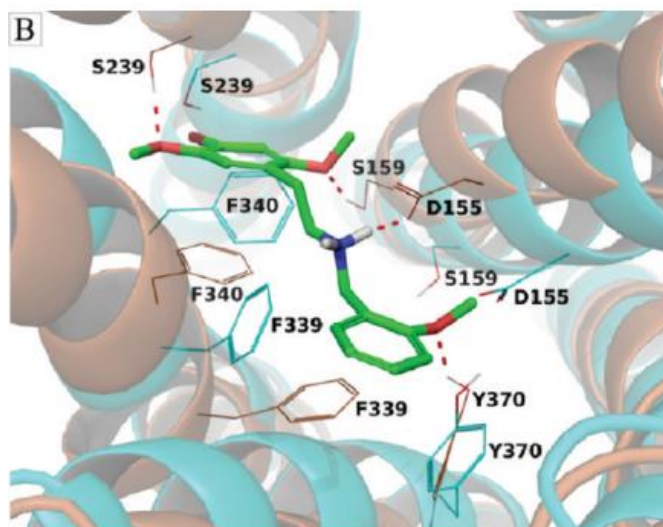


Figura 11. En color café se aprecia el modelo del receptor 5-HT_{2A} construido por homología en estado activo. En color celeste el modelo antes de ejecutar una dinámica molecular, en color verde la estructura de 2,5-BNBOME (docking de este compuesto en el receptor 5-HT_{2A}). Se aprecian las interacciones de puentes de hidrógeno entre S156 (3.36) con el grupo 2-metoxi, S239 (5.43) con el grupo 2-metoxibencil de N-bencilo sustituido con Y370 (7.43), el puente salino entre D155 (3.32), las interacciones aromáticas de F340 (6.52) con el esqueleto de la feniletilamina y F3.39 (6.51) con el sustituyente N-bencil. Figura obtenida de Isberg y col. 2011.

2. Hipótesis del trabajo.

Debido a la similitud estructural entre lorcaserina y diversas feniletilaminas conocidas por su gran afinidad por los receptores 5-HT₂, la cual aumenta notablemente cuando a éstas se les añade un sustituyente *N*-bencilo preferentemente oxigenado en la posición C-2 de este anillo, postulamos que una *N*-sustitución similar en benzazepinas aumentaría la afinidad y/o selectividad por estos receptores.

3. Objetivos.

3.1. Objetivo general.

Estudiar las relaciones estructura/afinidad y estructura/actividad de 3-benzazepinas en los receptores de serotonina 5-HT₂ con el objeto de encontrar indicios para el desarrollo de nuevos y mejores fármacos antiobesidad.

3.2. Objetivos específicos.

- a. Sintetizar las series de benzazepinas propuestas análogas de lorcaserina basadas en su analogía estructural con feniletilaminas (figuras 9 y 10).
- b. Caracterizar estos compuestos mediante técnicas espectroscópicas.
- c. Evaluar la afinidad y actividad funcional de los compuestos de estas series en los receptores de serotonina 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C}.
- d. Realizar estudios de acoplamiento molecular que permitan comprender cómo estas moléculas se acomodan en el sitio de unión de los receptores, de forma tal de comparar las distintas series de compuestos y obtener información relevante de sus relaciones estructura/actividad, estructura/afinidad y selectividad en los receptores 5-HT₂.

4. Resultados.

4.1. Metodología general de síntesis de benzazepinas análogas de lorcaserina.

Las benzazepinas análogas a lorcaserina fueron sintetizadas de acuerdo a la metodología general mostrada en la Figura 12. En primer lugar fue preparada la trifluoroacetamida del precursor 3-metoxifenietilamina (**a1**), la cual mediante una serie de reacciones descritas en los pasos B, C y D permitió obtener los compuestos **d1**, **d2** y **d3**, los que mediante una hidrólisis alcalina dan como resultado las aminas libres de estos compuestos por medio del paso E para obtener los compuestos cabezas de serie **WA01**, **WA02** y **WA03**. Posteriormente estos compuestos fueron derivatizados por reacción con los aldehídos aromáticos adecuados o con bromuro de alilo. Adicionalmente fueron comprados los compuestos (*R*)-lorcaserina y lorcaserina racémica los que fueron derivatizados de la misma manera. Finalmente fueron preparados los clorhidratos de cada uno de los productos bencilados o alilados.

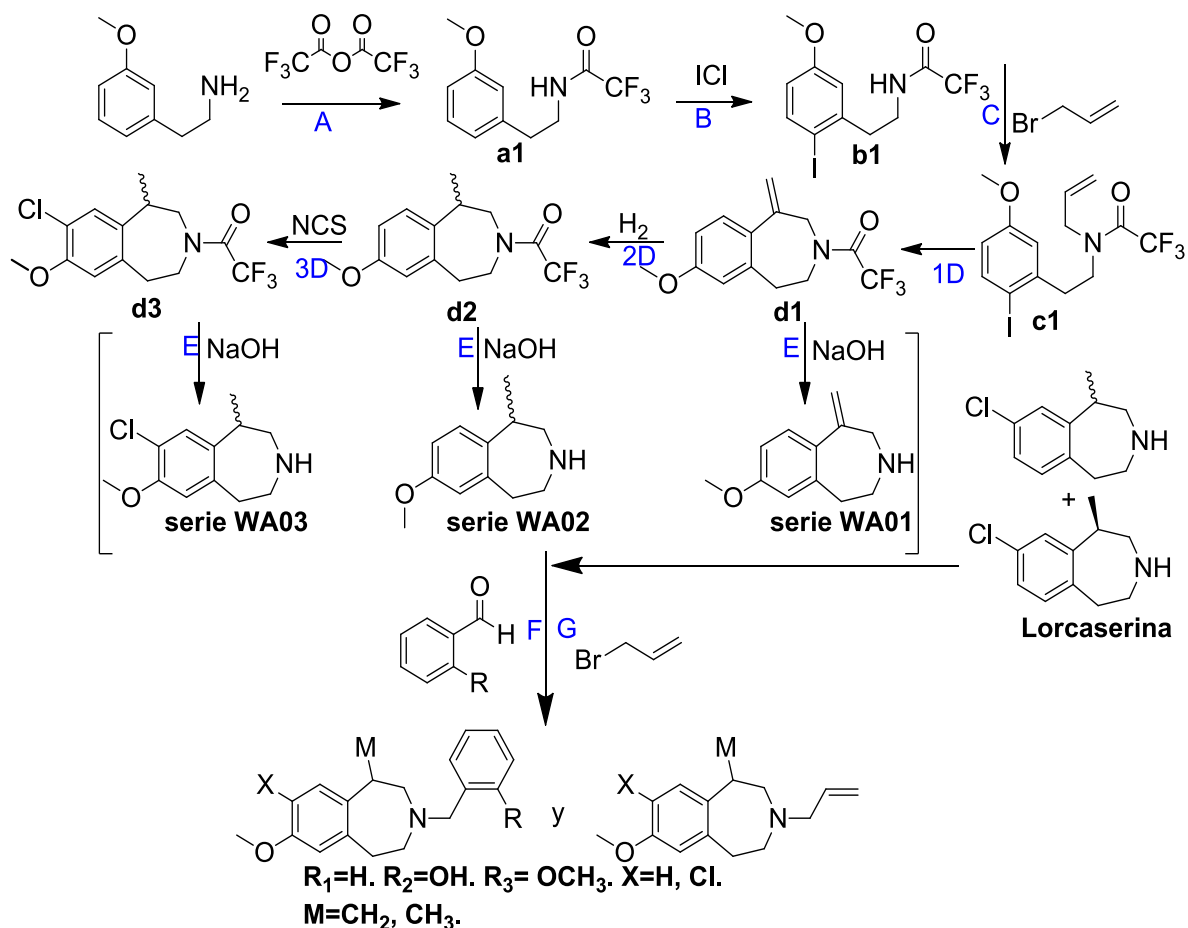


Figura 12. Esquema general de síntesis para la obtención de las benzazepinas **WA01**, **WA02**, **WA03** y análogas de lorcaserina como cabezas de serie, las cuales fueron derivatizadas con los correspondientes *N*-bencilos y *N*-alilo. Las letras mayúsculas A, B, C, etc., hacen referencia a los pasos de reacción y las letras minúsculas, **a**, **b**, **c**, etc., hacen referencia a los compuestos obtenidos en estos pasos. A) Piridina, anhídrido trifluoroacético, DCM, 0 °C, 3 h. B) CaCO₃, ICl, metanol, -20 °C, agitación toda la noche. C) K₂CO₃, bromuro de tetrabutilamonio, bromuro de alilo, tolueno, 80 °C, 4 h. D1) KOAc, bromuro de tetrabutilamonio, trifenilfosfina, PdOAc, DMF, 90 °C, agitación toda la noche. D2) H₂, 70 psi, Pd/C, metanol, temperatura ambiente, 48 h. D3) NCS, acetonitrilo, 70 °C, agitación toda la noche. E) NaOH 20%, metanol, agitación toda la noche. F) R-CHO, NaBH₄, DCM, temperatura ambiente, agitación toda la noche. F) K₂CO₃, bromuro de alilo, KOH, tolueno, temperatura ambiente, agitación toda la noche.

Los compuestos sintetizados correspondientes a la **WA01**, **WA02** y **WA03** están listados en la siguiente Figura 13 donde se detalla el nombre en código del compuesto, la estructura química y el porcentaje de rendimiento obtenido para el paso F o G según corresponda.

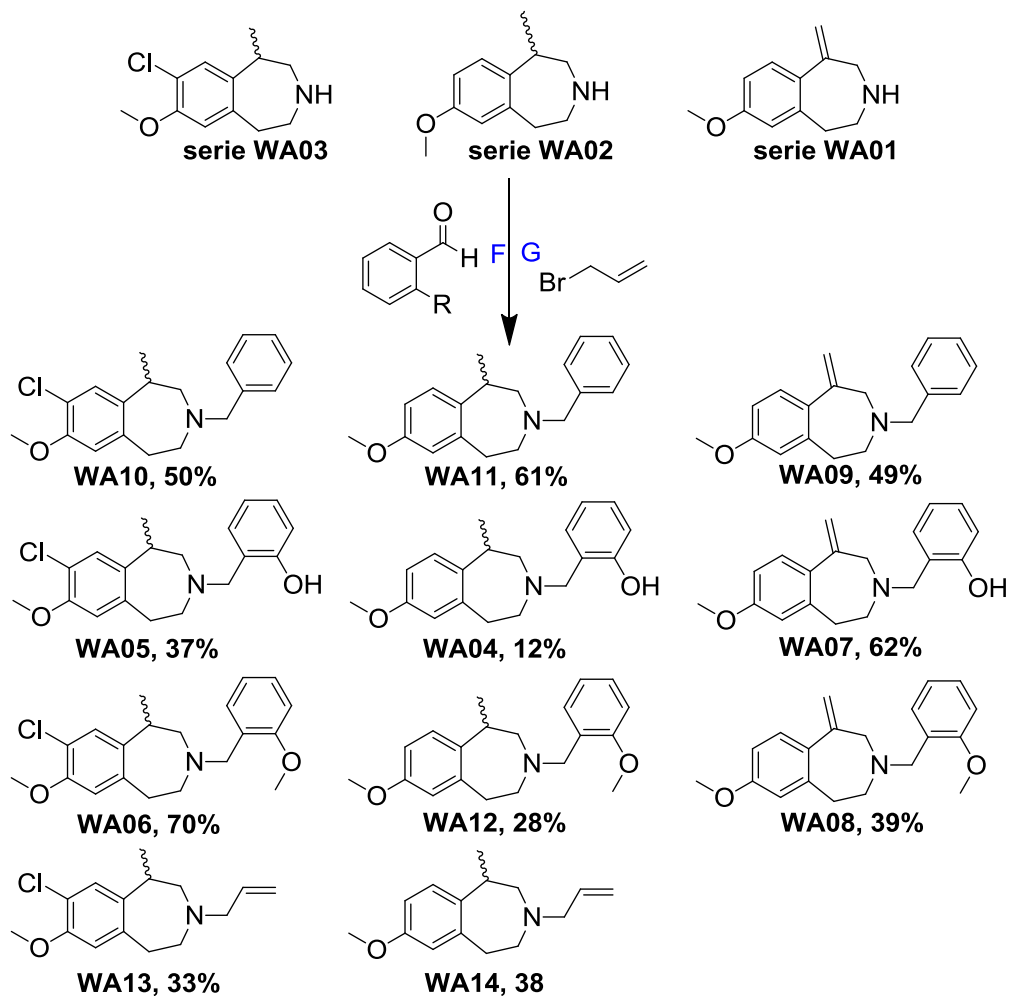


Figura 13. Lista de compuestos sintetizados correspondientes a las series **WA01**, **WA02** y **WA03** con sus respectivos códigos y porcentaje de rendimiento calculado de acuerdo al clorhidrato correspondiente a cada producto.

Los compuestos sintetizados correspondientes a la serie **WA15** ((*R*)-lorcaserina) y lorcaserina racémica están listados en la siguiente Figura 14 donde se detalla el nombre en código del compuesto, la estructura química, y rendimiento obtenido para el último paso F o G, según corresponda.

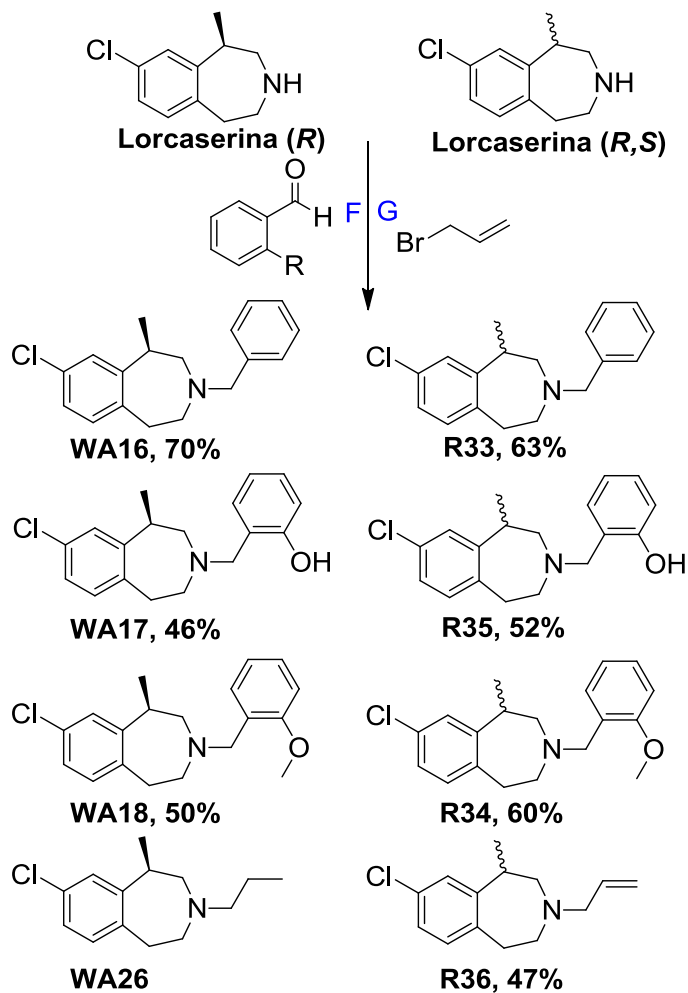


Figura 14. Lista de compuestos sintetizados correspondientes a la serie **WA15** ((*R*)-lorcaserina) y lorcaserina racémica con sus respectivos códigos y porcentaje de rendimiento calculado de acuerdo al clorhidrato correspondiente a cada producto.

4.2. Serie de compuestos análogos de fenfluramina.

Los compuestos sintetizados análogos a fenfluramina fueron obtenidos de acuerdo al esquema general de reacción presentado en la Figura 15.

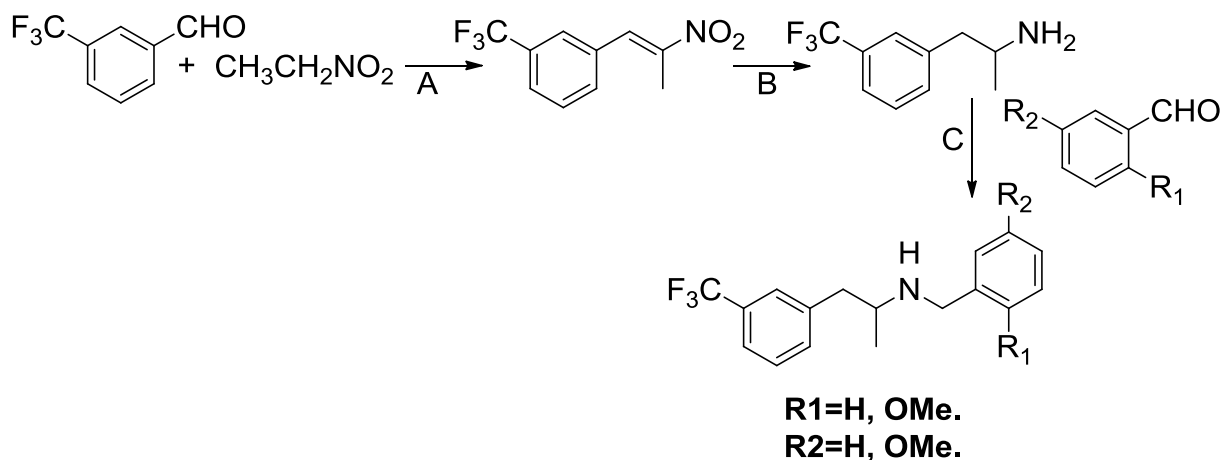


Figura 15. Esquema general de síntesis para la obtención de derivados análogos de fenfluramina *N*-bencilados. A) formiato de etanolamonio, temperatura ambiente, 36 h. B) LiAlH₄, THF, reflujo, 36 h. C) R-CHO, DCM, NaBH₄.

Los compuestos sintetizados correspondientes a la serie de análogos de fenfluramina están listados en la siguiente Figura 16 donde se detalla el nombre en código del compuesto, la estructura química y el porcentaje de rendimiento obtenido para el último paso de reacción calculado mediante la obtención del clorhidrato correspondiente.

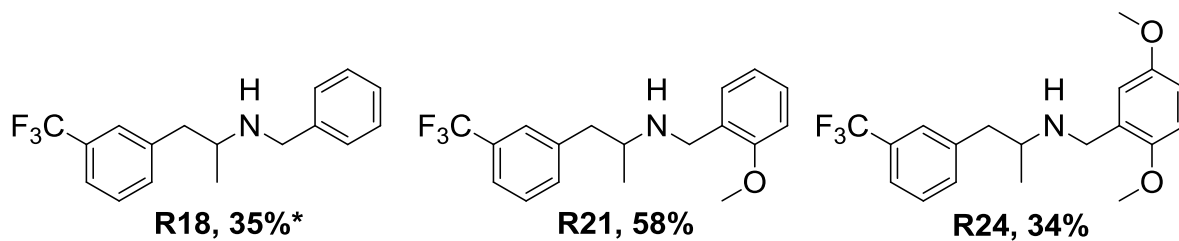


Figura 16. Lista de compuestos sintetizados correspondiente a la serie fenfluramina con sus respectivos códigos y porcentaje de rendimiento estimado.* Cálculo basado en la obtención de la base libre.

4.4. Comentario de resultados de síntesis.

Se logró sintetizar los compuestos planteados para la serie de análogos de benzazepina con rendimientos moderados y se logró su caracterización mediante NMR.

La reducción del metileno del anillo azepínico mediante hidrogenación catalítica (producto **d2**) da origen a una mezcla de enantiómeros. Es por esto que todos los derivados preparados correspondientes a la serie **WA02**, **WA03**, además de la (*R,S*)-lorcaserina adquirida comercialmente corresponden a compuestos racémicos. La serie **WA15** (*(R)*-lorcaserina corresponden a compuestos enantioméricamente puros y la serie **WA01** no presenta centros quirales.

Los compuestos de la serie **DAP** se lograron obtener, pero sus clorhidratos eran higroscópicos y poco estables. Se intentó muchas veces transformar las bases en otras sales estables, pero los intentos no fueron exitosos. Los compuestos de esta serie no fueron testeados en ensayos biológicos, con excepción del compuesto **C5**.

Los compuestos correspondientes a la serie de análogos de fenfluramina, por su parte, pudieron ser sintetizados, pero no fueron aptos para evaluar su actividad biológica debido a que sus espectros de NMR eran poco claros. Luego de la etapa de reducción del nitroestireno se aprecia la aparición en el espectro de NMR de un triplete a 6.8 ppm con una constante de acoplamiento $J = 56.2$ Hz. A pesar de los muchos intentos de purificación no se observó una mejora en las señales de los espectros. Luego de un análisis más exhaustivo se logró establecer que este triplete es característico de un grupo $-CF_2H$. Esto se podría deber a que en la etapa de reducción del nitroestireno con $LiAlH_4$ se habría provocado la pérdida de un átomo de flúor del grupo $R-CF_3$ dejando una mezcla de compuestos que tuvieran el grupo $R-CHF_2$ y otros el grupo

R-CF₃. Esta mezcla de compuestos generados, al tener tan poca diferencia estructural y considerando las condiciones de purificación por cromatografía en columna con gel de sílice en fase normal, no se logró.

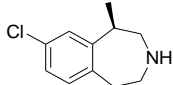
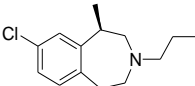
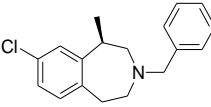
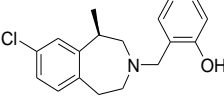
5. Mediciones de actividad biológica de benzazepinas.

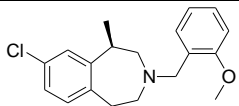
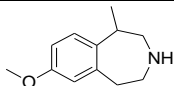
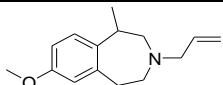
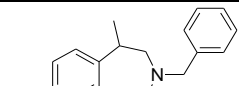
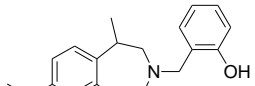
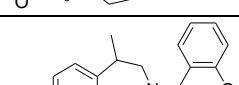
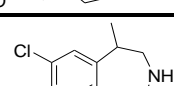
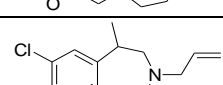
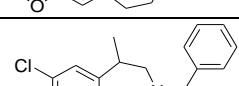
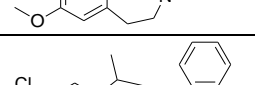
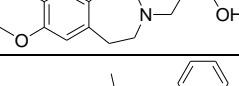
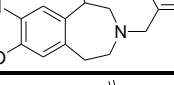
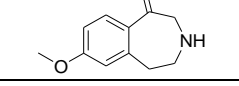
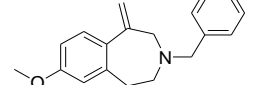
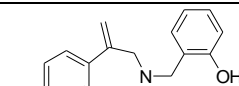
5.1. Ensayos de afinidad (binding).

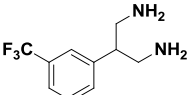
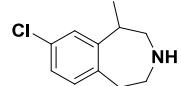
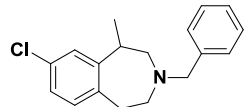
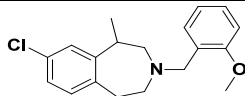
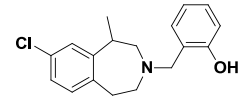
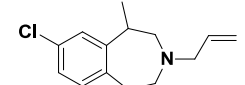
Los ensayos biológicos de afinidad (binding) y actividad funcional fueron realizados en el laboratorio del Grupo de Investigación **Biofarma CIMUS** de la Universidad de Santiago de Compostela, España. Para ello se masó 10 mg de cada compuesto que fue enviado a este laboratorio de investigación donde ellos se encargaron de realizar las pruebas correspondientes.

Las afinidades de “binding” fueron medidas en células CHO-h5-HT_{2A} para el receptor 5-HT_{2A} mediante el desplazamiento del radioligando [³H]-ketanserina, en células CHO-h5-HT_{2B} para el receptor 5-HT_{2B} mediante desplazamiento de radioligando [³H]-LSD, en células HeLa-5-HT_{2C} para el receptor 5-HT_{2C} mediante desplazamiento del radioligando [³H]-mesulergina. Los resultados de estas pruebas se resumen a continuación en la Tabla 2.

Tabla 2. Resumen de resultados de ensayos de afinidad expresada en valores de K_i y pK_i.

Código	Estructura	K _i (nM) (pK _i)			Selectividad	
		5-HT _{2A}	5-HT _{2B}	5-HT _{2C}	2C/2A	2C/2B
WA15		831.3 (6.18)	239.7 (6.62)	53.6 (7.27)	15.5	4.5
WA30		2373 (5.62)	3464 (5.46)	1139 (5.94)	2.1	3.0
WA16		395.6 (6.40)	1184.2 (5.93)	573.6 (6.24)	0.69	2.1
WA17		31±4%* (< 5)	51±3%* (< 5)	625.6 (6.20)	-	-

WA18		126.7 (6.90)	148.8 (6.83)	229.0 (6.64)	0.55	0.65
WA02 B1 OX		5059 (5.29)	2262 (5.65)	1574 (5.80)	3.2	1.4
WA14		35±4* (< 5)	1910 (5.72)	1578 (5.80)	-	1.2
WA11		2140 (5.67)	1046 (5.98)	1519 (5.82)	1.4	0.69
WA04 B6		31±2 ^{*a} 35±1 ^{*a} (< 5)	907.1 (6.04)	1251 (5.90)	-	7.6
WA12		856.1 (6.07)	276.6 (6.56)	1065 (5.97)	0.80	0.26
WA03 B3		1091 (5.96)	311.5 (6.51)	51.6 (7.29)	22	6.8
WA13		1238 (5.91)	308.3 (6.51)	83.2 (7.08)	15	3.7
WA10		582.4 (6.24)	541.7 (6.27)	290 (6.54)	2.0	1.9
WA05 B5		3999 (5.40)	642.8 (6.19)	770.9 (6.11)	5.2	0.8
WA06 B7		394.7 (6.40)	183.8 (6.74)	155.8 (6.81)	2.5	1.2
WA01 B2		4892.3 (5.31)	1145.3 (5.94)	541.9 (6.27)	9.0	2.1
WA09 B10		36±1%* (< 5)	726.5 (6.15)	1738.7 (5.76)	-	0.4
WA07 B8		18±4%* (< 5)	873.4 (6.06)	2030.6 (5.69)	-	0.4
WA08 B9		2239.6 (5.65)	291.3 (6.54)	1283.6 (5.89)	1.7	0.2

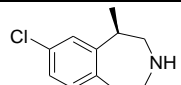
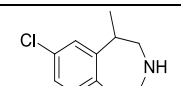
C1		-	2482 (5.61)	-	-	-
Lorca Rac		1339 (5.87)	264 (6.58)	180 (6.74)	7.4	1.46
R33		3672 (5.43)	673 (6.17)	430 (6.37)	5.4	8.5
R34		183 (6.74)	279 (6.55)	335 (6.47)	0.55	0.54
R35		3898 (5.41)	312 (6.51)	1625 (5.79)	12.5	8.5
R36		333 (6.48)	944 (6.03)	259 (6.59)	0.35	1.2

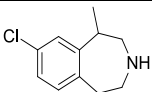
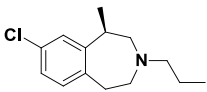
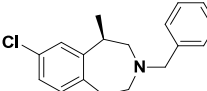
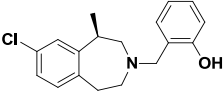
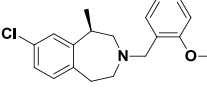
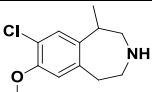
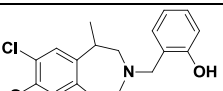
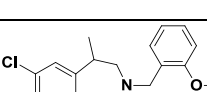
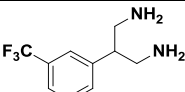
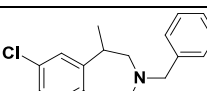
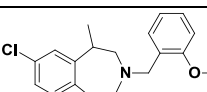
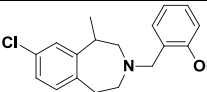
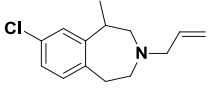
^a A concentración 1 M inhibe la unión en $4 \pm 3\%$, % inhibición a 10 μM . Las afinidades 2A and 2C fueron determinadas con antagonistas y las afinidades 2B con un agonista, por lo cual no son estrictamente comparables.

5.2. Ensayos de actividad funcional.

Los ensayos de actividad funcional fueron realizados mediante la determinación de la movilización de calcio en células CHO-h5-HT_{2A} para el receptor 5-HT_{2A} y en células HeLa-h5-HT_{2C} para el receptor 5-HT_{2C} para los compuestos que presentaban la mejor afinidad. Los resultados de estas pruebas se resumen a continuación en Tabla 3.

Tabla 3. Resumen de resultados de ensayos funcionales expresados en EC₅₀ y pEC₅₀.

Código	Estructura	EC ₅₀ (nM) (pEC ₅₀) % de respuesta			Selecti vidad 2C/2A	Tipo de actividad		
		5-HT 2A	5-HT 2B	5-HT 2C		5-HT 2B	5-HT 2A	5-HT 2C
WA15 °		190 (6.72) 70	-	11 (7.96) 100	17.2	-	AP	AT
Lorca Rac °		260 (6.59) 70	-	11 (7.96) 100	23.6	-	AP	AT

Lorca Rac		368 (6.43) 29.9	20 (7.69) 105.6	8.7 (8.06) 105.6	42.3	-	AP	AT
WA30		40290 (4.39) 55.75	-	6505 (5.19) 139.34	6.19	-	AP	AT
WA16		NA* (-) 30.39	-	3692 (5.43) 123.43	-	-	AP	AT
WA17		NA* (-) 22.75	-	37440 (4.43) 67.26	-	-	AP	AP
WA18		NA* (-) 19.06	-	2285 (5.64) 105.99	-	-	AP	AT
WA03		210.6 (6.68) 112.23	-	13.2 (7.88) 113.33	16.0	-	AP	AT
WA05		41890 (4.38) 60.34	-	1245 (5.90) 100.98	33.7	-	AP	AT
WA06		NA* (-) 32.19	-	4769 (5.32) 88.73	-	-	AP	AP
C1		-	107 (6.97) 85.6	5272 (5.28) 132	-	AP	-	AT
R33		-	8511 (5.07) 37.5	8260 (5.08) 89.7	-	AP	-	AP
R34		-	1059 (5.97) 62.1	1432 (5.84) 105.3	-	AP	-	AT
R35		-	5370 (5.27) 47.4	12240 (4.912) 93.0	-	AP	-	AT
R36		875 (6.06) 45.9	87 (7.06) 83.4	366 (6.43) 94.4	-	AP	AP	AT

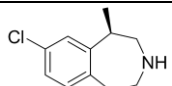
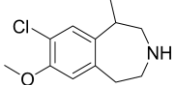
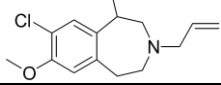
* Compuestos con actividad agonista parcial, pero no lo suficientemente activos para obtener un valor de EC₅₀. ° Valores obtenidos desde literatura (Smith y Smith 2005) medidos en células HEK-293 mediante acumulación de fosfoinositol. AP= Agonista parcial. AT= Agonista total.

5.3. Comentarios de resultados biológicos.

Los estudios de afinidad (Tabla 2) muestran que la afinidad para el medicamento lorcaserina es de 53.6 nM. Sí bien ninguno de los compuestos de la serie pudo alcanzar una afinidad mayor, las afinidades de los compuestos **WA03** y **WA13** resultaron ser importantes, así como también las selectividades (basadas en K_i) comparadas con lorcaserina. Se debe tener presente que estos compuestos corresponden a la mezcla de isómeros y no al producto enantioméricamente puro.

Los estudios de actividades biológicas que se disponen han sido determinados en líneas celulares distintas a las que se utilizaron en este trabajo, por lo que los resultados no son del todo comparables. Sin embargo, se logró medir la afinidad de la lorcaserina y su forma racémica y la actividad funcional de esta última.

Tabla 4. Extracto de Tabla 2, resumen de resultados de ensayos de afinidad expresada en valores de K_i y pK_i.

Código	Estructura	K _i (nM) (pK _i)			selectividad	
		5-HT _{2A}	5-HT _{2B}	5-HT _{2C}	2C/2A	2C/2B
WA15		831.3 (6.18)	239.7 (6.62)	53.6 (7.27)	15.5	4.5
WA03		1091 (5.96)	311.5 (6.51)	51.6 (7.29)	22 21	6.8
WA13		1238 (5.91)	308.3 (6.51)	83.2 (7.08)	15	3.7

Otro resultado destacable es que en el compuesto **WA13** (*N*-alil sustituido), si bien la *N*-sustitución perjudica un poco su afinidad por el receptor 5-HT_{2C}, ésta igual sigue siendo comparable a la de su predecesor cabeza de serie **WA03**, lo que no ocurre con la *N*-bencilación.

Tomando en cuenta los compuestos de la serie, podemos notar que la presencia de la sustitución de un halógeno como el cloro es importante para la afinidad de estas moléculas: los compuestos derivados de azepinas que presentan un átomo de cloro en la posición 8 de su estructura presentan valores de K_i mayores que aquellas que no lo contienen.

Los resultados de los ensayos de afinidad muestran que las afinidades de los compuestos por los tres receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C} no son las esperadas de acuerdo a la hipótesis planteada (que la *N*-bencilación mejoraría la actividad de estas moléculas por los receptores 5-HT₂). Por el contrario, se aprecia que la *N*-bencilación de estos compuestos afecta negativamente su afinidad en algunos casos y afecta significativamente su actividad funcional. La sustitución alílica no afecta significativamente la afinidad, aunque si la actividad funcional, pero en mucho menor medida que la *N*-bencilación.

El compuesto **WA05** presenta una mejor selectividad funcional (2C sobre 2A) que lorcaserina. Este compuesto se comporta como agonista total en los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C}. Los demás compuestos medidos muestran la tendencia a ser agonistas parciales en 5-HT_{2A} y agonistas totales en 5-HT_{2C}.

6. Estudios de acoplamiento molecular.

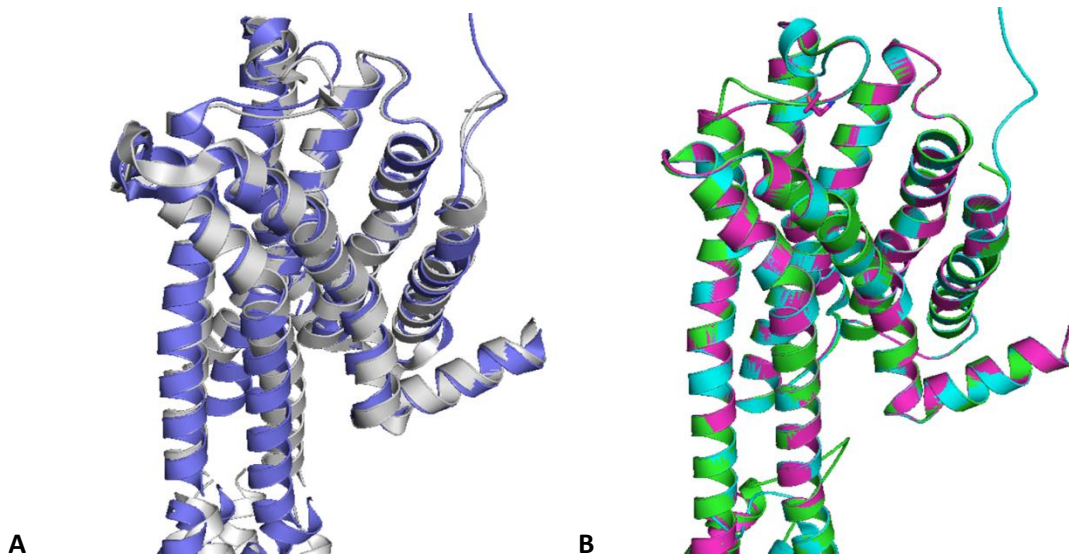
6.1. Generación de modelos 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C}.

El modelo de los receptores 5HT_{2A}, 5HT_{2B} y 5HT_{2C} fue generado utilizando como plantilla la estructura proteica cristalizada en forma activa del receptor 5-HT_{2C} obtenida desde la base de datos Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org>, PDB: 6BQG con 3 Å de resolución). Las secuencias aminoacídicas de los receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C} humanos fueron obtenidas desde la base de datos Uniprot (<http://www.uniprot.org>). El alineamiento de las secuencias aminoacídicas de los receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C} fue realizado utilizando el programa Clustal Omega disponible en <https://www.ebi.ac.uk/>. Finalmente mediante el programa SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org>) se obtuvo el modelo de los 3 receptores.

programa Gaussian 09. Las moléculas fueron dockeadas en los 3 receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C} dejando el residuo D3.32 flexible.

6.3. Resultados de acoplamiento molecular.

Los tres modelos generados de los receptores presentan un alto grado de homología estructural y poseen una inclinación de las transmembranas y orientación de los aminoácidos similar, diferenciándose solo en los residuos no conservados. En el sitio ortoestérico las diferencias son muy pocas ya que la mayoría de los residuos están conservados.



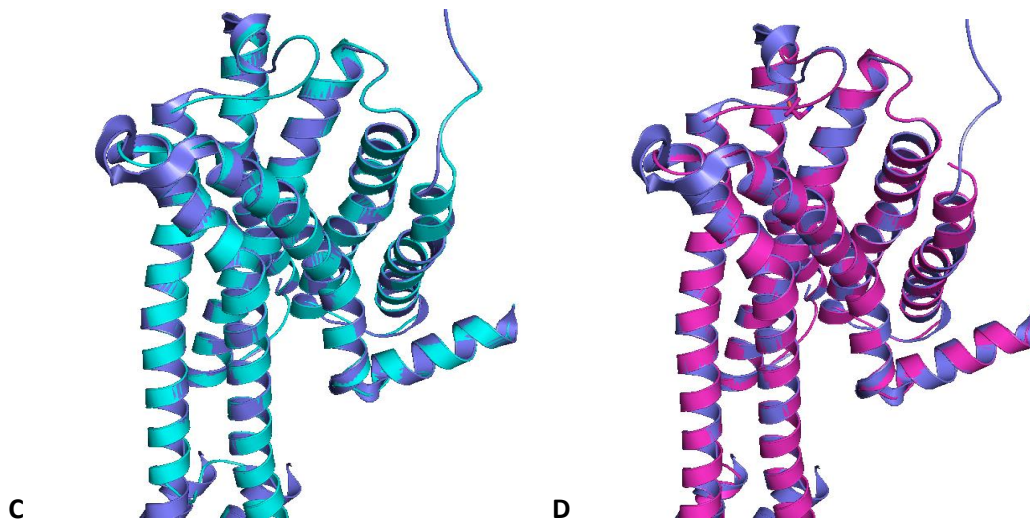


Figura 20. **A** representa una imagen del receptor 5-HT_{2C} cristalizado con ERG en su forma activa (morado) y en su forma inactiva (plateado). **B** representa los modelos superpuestos de los receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C} (magenta, verde y celeste respectivamente). **C** y **D** representan imágenes superpuestas de la estructura cristalina del receptor 5-HT_{2C} (morado) con los modelos del receptor 5-HT_{2C} (celeste) y 5-HT_{2A} (magenta).

Poses de WA02 en los receptores 5-HT₂.

Según los estudios de acoplamiento molecular el compuesto **WA02** adopta poses diferentes en los tres receptores. En el receptor 5-HT_{2C} adopta una pose más desplazada hacia el sitio intracelular que en los otros dos receptores lo que favorece las interacciones con los residuos aromáticos F6.51 y F6.52. Se observa una interacción de puente de hidrógeno entre el grupo metoxilo de la azepina (7-metoxi) con un NH de la cadena principal ubicado entre los residuos S5.43 y G5.42 a 3Å. Se observa también una interacción entre el sustituyente 1-metil con I3.40 del motivo PIF, residuo importante para la activación del receptor.

En el receptor 5-HT_{2B} hay un cambio conformacional. El grupo amino protonado interacciona con los residuos D3.32 e Y7.43, se pierde la interacción de puente de hidrogeno del sustituyente 7-metoxilo con el NH peptídico y se conservan las interacciones aromáticas con los residuos F6.51 y F6.52. En cambio en el receptor 5-HT_{2A} este metoxilo presenta un puente de

hidrógeno con S5.46, por cuya razón en este receptor el compuesto **WA02** queda orientado más hacia el sitio extracelular que en los otros receptores.

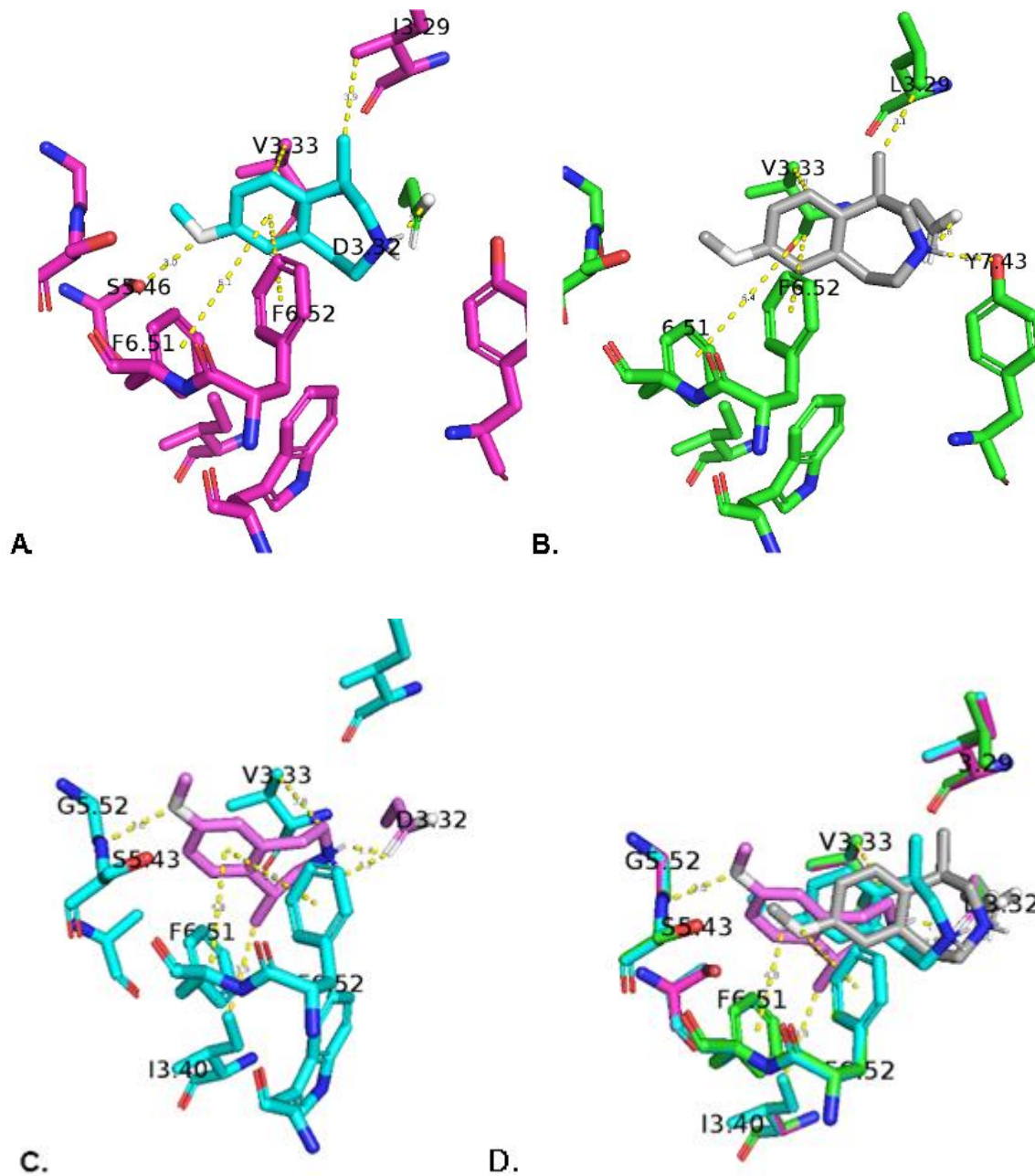


Figura 21. Docking del compuesto **WA02** en los receptores 5-HT_{2A} (A) de color magenta, 5-HT_{2B} (B) de color verde y 5-HT_{2C} (C) de color celeste. D representa los Docking agrupados para el compuesto **WA02** en los 3 receptores.

Poses de WA03 en los receptores 5-HT₂.

El compuesto **WA03** adopta poses distintas en los tres receptores, presentando la mejor afinidad por el receptor 2C de acuerdo a los ensayos biológicos.

En el receptor 5-HT_{2C} el sustituyente 7-metoxilo presenta un puente de hidrógeno con T3.37 a una distancia de 3.7 Å, una interacción hidrofóbica a 3.5 Å entre el metilo del 7-metoxilo con I3.40 (PIF) y una interacción hidrofóbica con V5.46. El halógeno (8-cloro) de la benzacepina se orienta hacia la G5.42 análogamente a lorcaserina (**WA15**) y similar a lo descrito por Peng y col. 2018. Esta orientación además favorece las interacciones con los residuos aromáticos F6.51 y F6.52.

En el receptor 5-HT_{2B} el compuesto **WA03** se desplaza hacia el sitio extracelular posiblemente influido en esta conformación por una interacción hidrofóbica con L3.29.

Las interacciones con T3.37 y F6.51 se pierden en el receptor 5-HT_{2A} comparandolo con el receptor 5-HT_{2C}. Se aprecia una interacción de puente de hidrógeno con S5.46 lo que provoca que el compuesto **WA03** quede posicionado un poco más desplazado hacia el sitio extracelular.

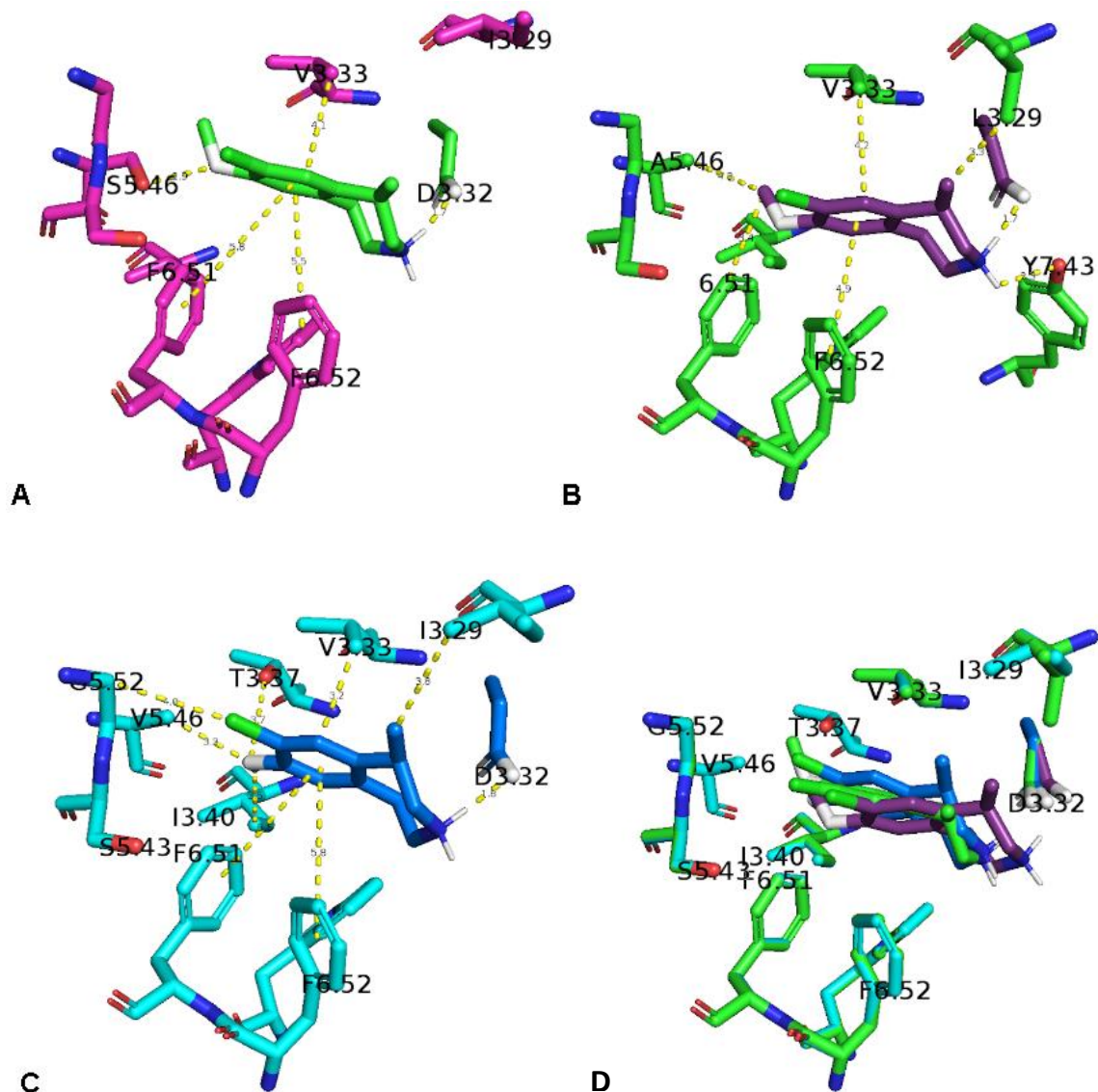


Figura 22. Docking del compuesto **WA03** en los receptores 5-HT_{2A} (A) color magenta, 5-HT_{2B} (B) color verde y 5-HT_{2C} (C) color celeste. D representa los Docking agrupados del compuesto **WA03** en los 3 receptores.

Poses de WA15 en los receptores 5-HT₂.

El compuesto **WA15** (lorcaserina) adopta poses diferentes en los tres receptores, un poco más desplazada en el receptor 5-HT_{2A} hacia el sitio extracelular debido a una repulsión producida

por el residuo polar S5.46 que en los receptores 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C} corresponde al aminoácido A5.46.

La conformación que adquiere **WA15** (lorcaserina) en 5-HT_{2C} permite que el halógeno se oriente hacia G5.42 similarmente a lo descrito por Peng en 2018, pero a una distancia mayor. Sin embargo se favorecen las interacciones aromáticas con F6.51 y F6.52. Esta conformación está permitida dada la ausencia de S5.46 que en este receptor es A5.46.

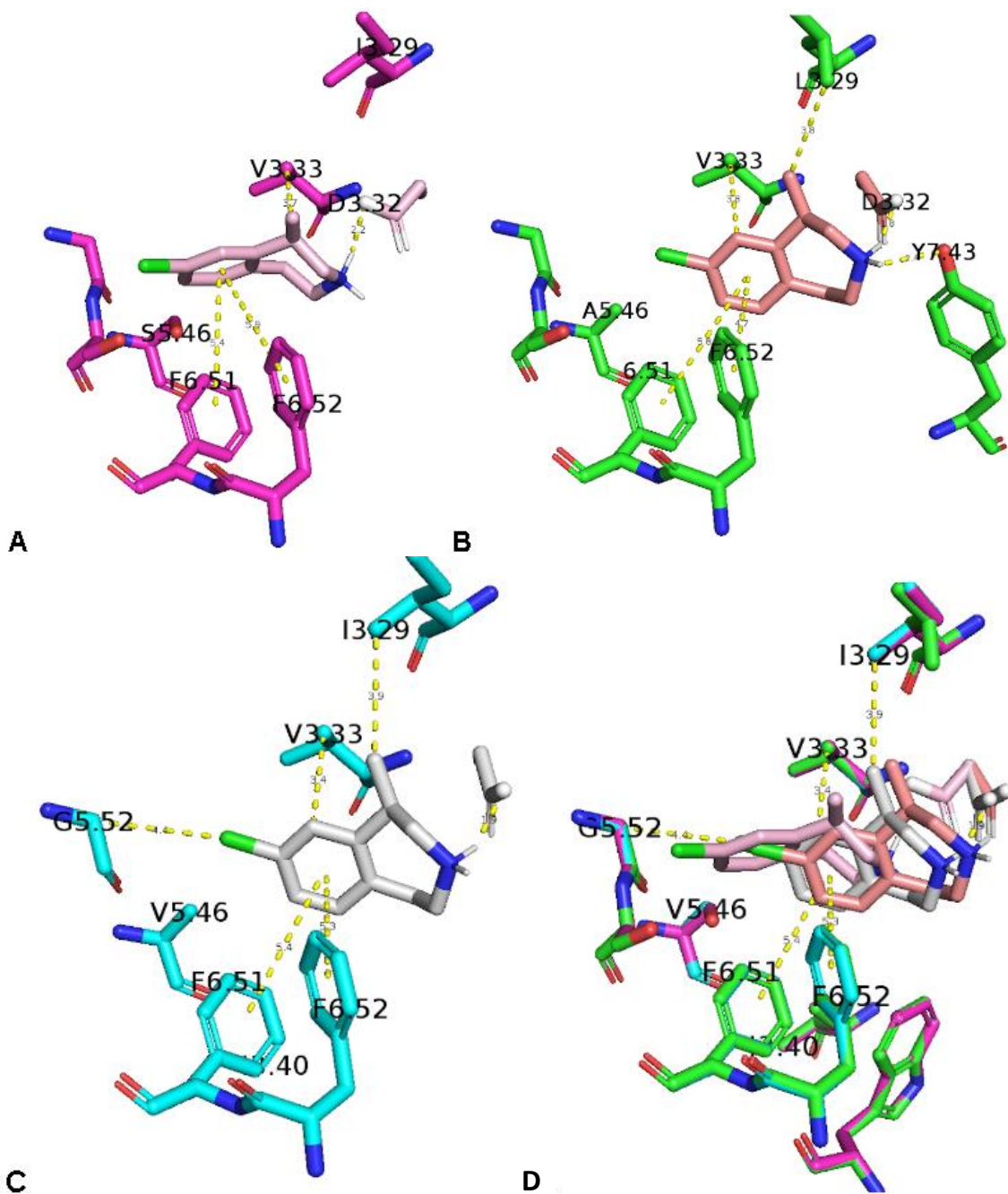


Figura 23. Docking del compuesto **WA15** (lorcaserina) en los receptores 5-HT_{2A} (A) color magenta, 5-HT_{2B} (B) color verde y 5-HT_{2C} (C) color celeste. D representa los Docking agrupados del compuesto **WA15** en los tres receptores.

Poses de WA13, WA14 y WA26 (derivados alilados) en los receptores 5-HT₂.

Los derivados alilados según los ensayos de afinidad muestran la tendencia a mantener la afinidad de los compuestos cabezas de serie para los tres receptores (ver Tabla 2), con la excepción de la serie de lorcaserina racémica, donde la afinidad por el receptor 5-HT_{2A} se ve mejorada, en el receptor 5-HT_{2B} se ve perjudicada y en el receptor 5-HT_{2C} se mantiene. Las poses de los derivados alilados son levemente distintas a las de lorcaserina, estando más desplazadas hacia el sitio extracelular.

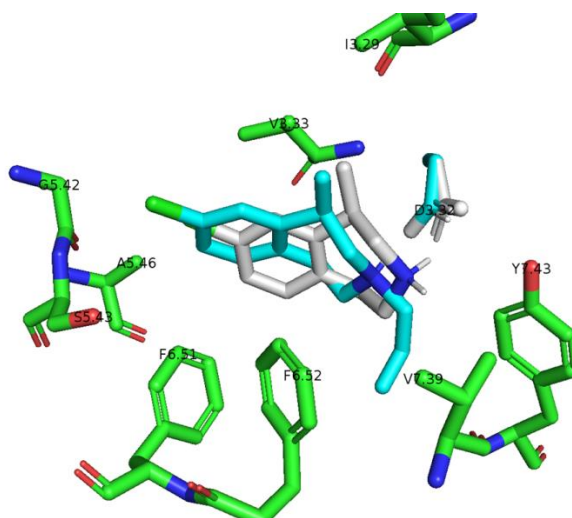


Figura 24. Imagen superpuesta de **WA26** con **WA15** (lorcaserina) en el receptor 5-HT_{2C} de color verde donde se aprecia que el esqueleto benzazepínico del derivado **WA26** adquiere una pose más desplazada hacia el sitio extracelular en comparación con el compuesto WA15 (lorcaserina).

Los derivados alilados que poseen el sustituyente 7-metoxilo correspondiente a los compuestos **WA13** y **WA14** presentan una interacción de puente de hidrógeno entre un NH peptídico en 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C}, pero en el receptor 5-HT_{2A} este sustituyente forma el puente de hidrógeno con el residuo S5.46.

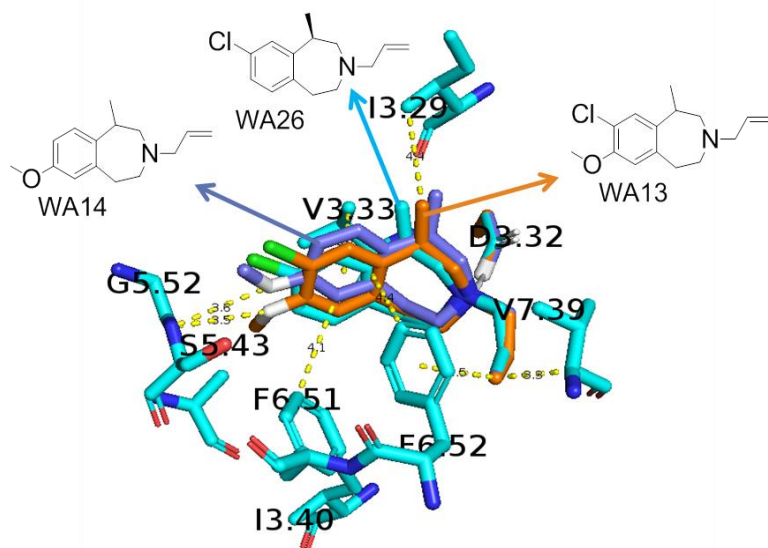


Figura 25. Docking agrupado de los compuestos **WA26**, **WA13** y **WA14** en el receptor 5-HT_{2C} de color celeste.

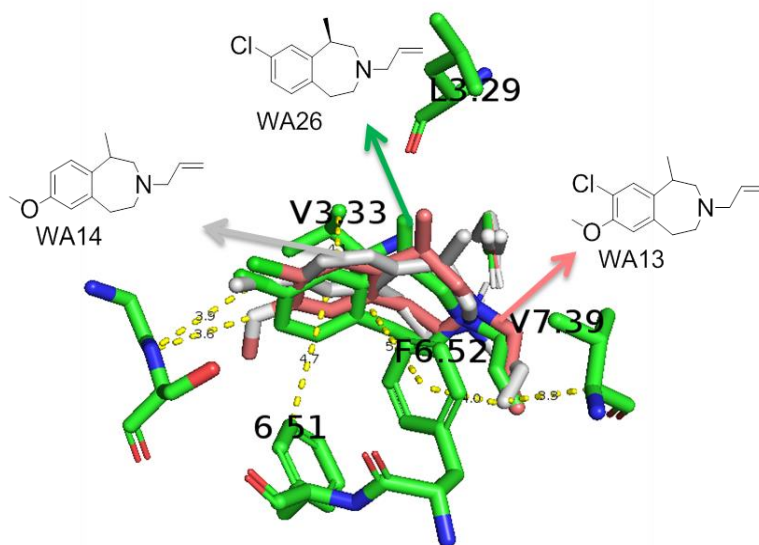


Figura 26. Docking agrupado de los compuestos **WA26**, **WA13** y **WA14** en el receptor 5-HT_{2B} de color verde.

El compuesto **WA26**, presenta el mayor incremento de afinidad de estos derivados alilados en el receptor 5-HT_{2A}, no presenta una interacción con S5.46, pero queda orientado su átomo de cloro (8-cloro) entre dos carbonilos de la cadena peptídica a una distancia donde podría presentar un puente de halógeno, lo que podría estabilizar esta conformación.

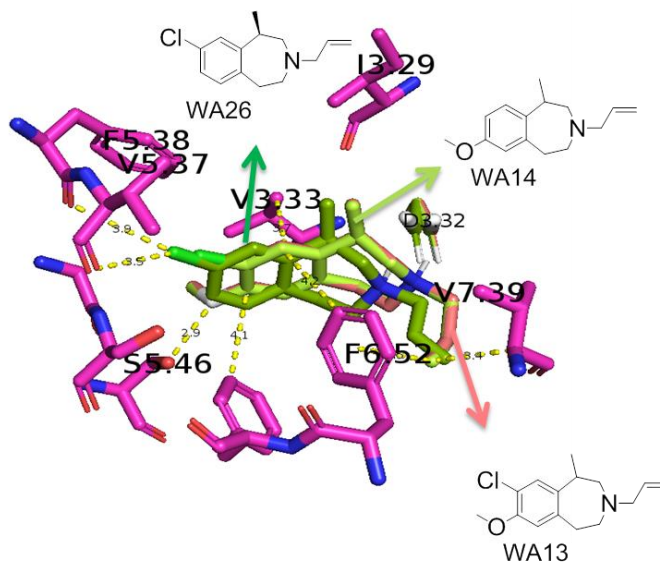


Figura 27. Docking agrupado de los compuestos **WA13** y **WA14** (superpuestos) en el receptor 5-HT_{2A} de color magenta, el compuesto **WA26** queda más desplazado hacia el sitio extracelular y equidistante a dos carbonilos de la transmembrana 5.

Los derivados *N*-bencilados.

Para los derivados *N*-bencilados no se presentan interacciones aromáticas con los residuos F6.51 y F6.52 como se esperaba. Los sustituyentes aromáticos de los *N*-bencilderivados se orientan hacia el sitio extracelular, tal y cual se aprecia en la Figura 28, de tal manera que no presentan las mismas interacciones que los *N*-BOMEs, contrariamente a lo que se esperaba.

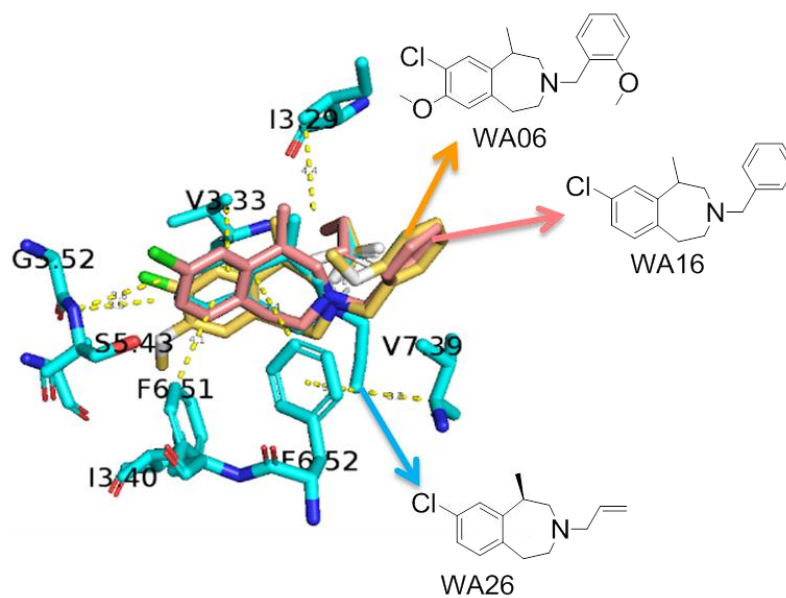


Figura 28. Docking agrupado de compuesto **WA26** color celeste (alil derivado), compuesto **WA16** en color damasco (bencil derivado) y color café **WA06** (2-metoxibencilderivado) en el receptor 5-HT_{2C}.

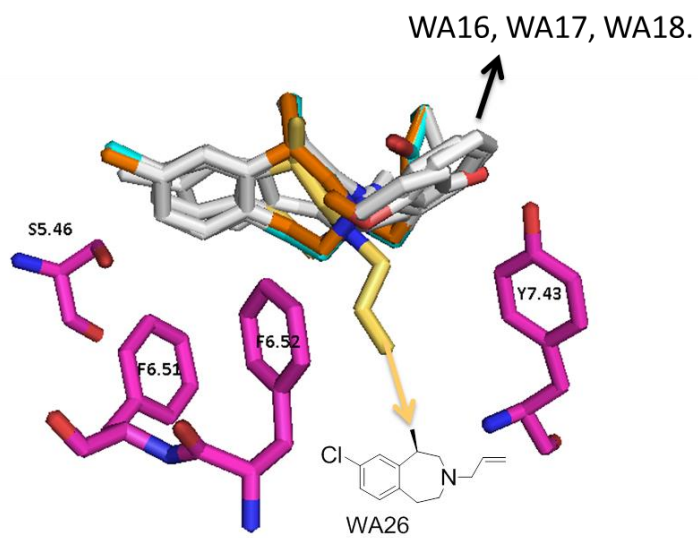


Figura 29. Docking agrupado de los compuestos de la serie **WA15** en el receptor 5-HT_{2C}.

6.4. Comentarios de resultados de acoplamiento molecular.

Se pudo construir los modelos para los tres receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C} y 5-HT_{2C} basados en la estructura cristalina del receptor 5-HT_{2C} cristalizado en su forma activa y se pudo realizar los estudios de acoplamiento molecular en los tres receptores.

Las benzacepinas sintetizadas forman una interacción iónica de puente salino entre el nitrógeno protonado (posición 3 del anillo azepínico) con el residuo D3.32 lo que explica que estos compuestos presenten algún tipo de actividad en estos receptores.

De los resultados biológicos se aprecia que los compuestos *N*-alilados mostraban mantener la afinidad de los respectivos compuestos cabezas de serie. Según los resultados de acoplamiento molecular el sustituyente *N*-alilo presenta una interacción con los residuos aromáticos F6.52 del “toggle switch” de manera similar a lo descrito para los N-BOMEs por Braden y col. 2007, importantes para la actividad de estos receptores. En el receptor 5-HT_{2C} estos derivados *N*-alilados adquieren una conformación más desplazada hacia el sitio extracelular en la lorcaserina. Estas diferencias conformacionales dan indicios de una posible actividad.

Los derivados *N*-bencilados y *N*-2-metoxibencilados parecen no perder afinidad en los receptores 5-HT_{2B} y 5-HT_{2A}, pero sí disminuye mucho su actividad funcional. Los estudios de acoplamiento molecular muestran que los sustituyentes *N*-bencilos no presentan las interacciones esperadas para los N-BOMEs (Braden y col. 2007; Isberg y col. 2013), dado que el sustituyente *N*-bencilo no interactúa con ninguno de los residuos aromáticos del “toggle switch”. Según estos estudios de acoplamiento molecular en los derivados *N*-bencil y *N*-2-metoxibencil no se aprecian interacciones importantes que permitan explicar esta aparente mejora en la afinidad en los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2B}.

7. Conclusiones.

La *N*-bencilación no mejoró la actividad biológica de las benzacepinas. Si bien en algunos casos mejoró o se mantuvo la afinidad, la actividad funcional disminuyó. Las poses de los *N*-bencil y *N*-2-*metoxibencil* derivados en los receptores 5-HT₂ son distintas a las que adoptan los *N*-BOMEs en estos receptores.

La formación de derivados alilados no perjudica significativamente la afinidad de las benzacepinas, posiblemente debido a que interactúan con los residuos aromáticos del “toggle switch”, de manera similar a los *N*-bencilos de los *N*-BOMEs.

S5.46 en el receptor 5-HT_{2A} (A5.46 en los receptores 5-HT_{2B} 5-HT_{2C}) parece ser importante para entender la selectividad de lorcaserina y posiblemente para otros compuestos que se unan de manera similar.

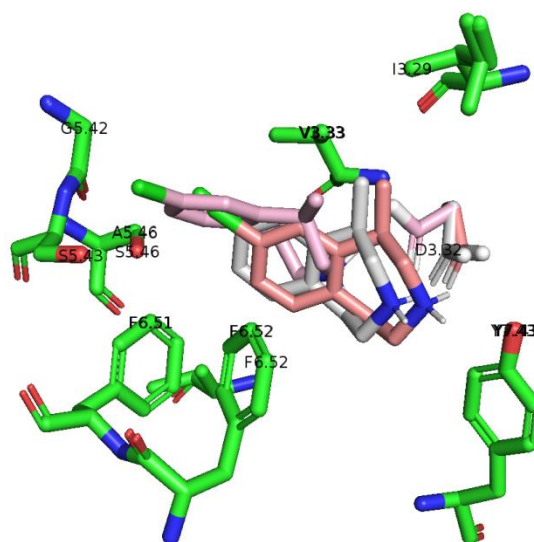


Figura 30. Imagen superpuesta de lorcaserina (WA15) en los tres receptores: 5-HT_{2A} (plateado), 5-HT_{2B} (damasco) y 5-HT_{2C} (rosado). La única diferencia importante entre estos receptores es que en el receptor 5-HT_{2A} la posición 5.46 corresponde al aminoácido serina, en cambio en los otros receptores corresponde al aminoácido alanina.

Bibliografía

Baxter G., Kennett G., Hane F., Blackburn T. 1995. 5-HT Receptor Subtypes: a Family re-united?. Trends in Pharmacological Sciences. 16, 105–110.

Braden R. M., Parrish C. J., Naylor C. J., Nichols D. E. y col. (2006). Molecular Interaction of Serotonin 5-HT_{2A} Receptor Residues Phe339(6.51) and Phe340(6.52) with Superpotent N-Benzyl Phenethylamine Agonists. Molecular Pharmacology. 70(6), 1956-1964.

Braden R. M. 2007. Tesis Doctoral. Towards a Biophysical Understanding of Hallucinogen Action. Purdue University.

Bohn M. L. y Schmid L. C. (2010). Serotonin receptor signaling and regulation via β -arrestins. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology. 45(6), 555–566.

Chagraoui A., Thibaut F., Skiba M. y col. (2016). 5-HT_{2C} receptors in psychiatric disorders: A review. Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry. 66, 120-135.

Cordova-Sintjago T., Sakhuja R., Kondabolu K. y col. (2012). Molecular Determinants for Ligand Binding at Serotonin 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} GPCRs: Experimental Affinity Results Analyzed by Molecular Modeling and Ligand Docking Studies. International Journal of Quantum Chemistry. 112(24), 3807–3814.

Hansen M. (2010) tesis Doctoral. Design and Synthesis of Selective Serotonin Receptor Agonists for Positron Emission Tomography Imaging of the Brain. Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Copenhagen.

Harvey-Lewis C., Li Z., Higgins A. G. y col . (2015). The 5-HT_{2C} receptor agonist lorcaserin reduces cocaine self-administration, reinstatement of cocaine-seeking and cocaine induced locomotor activity. *Neuropharmacology*. 101, 237-245.

Heifetz A., Storer I. R., Biggin P. C. y col. (2016). Application of an Integrated GPCR SAR-Modeling Platform To Explain the Activation Selectivity of Human 5-HT_{2C} over 5-HT_{2B}. *ACS Chemical Biology*. 11, 1372-1382.

Heim R. (2003) Tesis doctoral. Synthese und Pharmakologie Potenter 5-HT_{2A}-rezeptor agonisten mit *N*-2-methoxybenzyl-Partialstruktur. Freie Universität Berlin.

Hoyer D., Clarke E. D., Fozard R. J. y col. (1994). VII. International Union of Pharmacology Classification of Receptors for 5-Hydroxytryptamine (Serotonin). *Pharmacological Reviews*. 46(2), 157-204.

Huang Xi-Ping, Setola V., Yadav N. P. y col. (2009). Parallel functional activity profiling reveals valvulopathogens are potent 5-hydroxytryptamine 2B receptor agonists: Implications for drug safety assessment. *Molecular Pharmacology*. 76, 710–722.

Vignir I., Thomas B., David E. G. y col. 2010. G Protein- and Agonist-Bound Serotonin 5-HT_{2A} Receptor Model Activated by Steered Molecular Dynamics Simulations. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 51, 315-325.

Kenakin T. (2010). Functional Selectivity and Biased Receptor Signaling. *Perspectives in Pharmacology*. 336(2), 296-302.

Kenakin T., Watson C., Novick S. y col. (2012). A Simple Method for Quantifying Functional Selectivity and Agonist Bias. 3, 193-203.

Lakshim A. D. 2005. The G Protein-Coupled Receptors Handbook. Chapter 1. GPCRS: structure and function.

Millan J. M., Marin P., Bockaert J. y col. (2008). Signaling at G-protein-coupled serotonin receptors: recent advances and future research directions. Trends in Pharmacology sciences. 29(9), 454-464.

Miller J. K. y Wacker A. D.. (2010). Discovery and development of 5-HT_{2C} receptor agonists for obesity: is there light at the end of the tunnel?. Future Medicinal Chemistry. 2(12), 1761–1775.

Moya R. P., Cassels K. B., Clarke P. W. y col (2007). Functional Selectivity of Hallucinogenic Phenethylamine and Phenylisopropylamine Derivatives at Human 5-Hydroxytryptamine (5-HT)_{2A} and 5-HT_{2C} Receptors. 321 (3), 1054-1061.

Neelakantan H., Holliday D. E., Fox G. R. y col. (2017). Lorcaserin Suppresses Oxycodone Self-Administration and Relapse Vulnerability in Rats. ACS Chemical Neuroscience. 8, 1065–1073.

Palacios M. J., Pazos A. y Hoyer D.. (2017). A short history of the 5-HT_{2C} receptor: from the choroid plexus to depression, obesity and addiction treatment. Psychopharmacology Review. 234(9-10),1395-1418.

Roth, L. B. (2007). Drugs and valvular heart disease. The New England Journal of Medicine. 356, 6–9.

Roth, L. B. (2006). The serotonin receptors: from molecular to human therapeutics. Chapter 2. Structure and Function Reveal Insights in the Pharmacology of 5-HT Receptor Subtypes.

Rasmussen G., Søren F., DeVree T. B., Zou Y. y col. (2011). Crystal structure of the β_2 adrenergic receptor–Gs protein complex. *Journal of American Chemical Society* 132, 11443–11445.

Setola V., Dukat M., Glennon A. R. and Roth L. B. (2005). Molecular Determinants for the Interaction of the Valvulopathic Anorexigen Norfenfluramine with the 5-HT_{2B} Receptor. *Molecular Pharmacology* 68, 20–33.

Siegel J. G.. 2005. *Basic Neurochemistry. Molecular, cellular and medical aspects.* 7th edition. Chapter 13, Serotonin.

Silva M. E. Testis. (2008). Theoretical study of the interaction of agonists with the 5-HT_{2A} receptor. Fakultät für Chemie und Pharmazie der Universität Regensburg.

Smith M. B., Smith M. J., Beeley B. Nigel A. y col. (2005). Discovery and SAR of new benzazepines as potent and selective 5-HT_{2C} receptor agonists for the treatment of obesity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 15 1467–1470.

Smith M. B., Smith M. J., Tsai H. J., Schultz A. J. y col. (2008). Discovery and Structure-Activity Relationship of (1*R*)-8-Chloro-2,3,4,5-tetrahydro-1-methyl-1*H*-3-benzazepine (Lorcaserin), a Selective Serotonin 5-HT_{2C} Receptor Agonist for the Treatment of Obesity. *Journal of Medicinal Chemistry*. 51, 305–313.

Smith M. B., Smith M. J.. (2005). United States Patent US 6,953,787 B2. 11 de Octubre.

Shram J. M., Schoedel A. K., Sellers M. E. y col. (2011). Evaluation of the Abuse Potential of Lorcaserin, a Serotonin 2C (5-HT_{2C}) Receptor Agonist, in Recreational Polydrug Users. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 89,683-692.

Thomsen J. W., Smith B., Behan D. y col. (2008). Lorcaserin, a Novel Selective Human 5-Hydroxytryptamine_{2c} Agonist: in Vitro and in Vivo Pharmacological Characterization. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 325(2), 577-587.

Trigo-Mouriño, De la Fuente M. C., Gil R. R. y col. (2013). Conformational Analysis of anti-obesity Drug Lorcaserin in Water: How to take Advantage of Long-Range Residual Dipolar Couplings. *Chemistry a European Journal*. 19, 14989-14997.

Wacker D., Fenalti G., Brown A. M. y col.(2010).Conserved Binding Mode of Human B2 Adrenergic Receptor Inverse Agonists and Antagonist Revealed by X-ray Crystallography. *American Chemical Society*. 132, 11443–11445.

Wacker D., Wang C., Katritch, V. y col. (2013). Structural features for functional selectivity at serotonin receptors. *Science* 340, 615–619.

Wacker D., Wang S., Roth L. B. y col. (2017). Crystal structure of LSD-Bounded Human serotonin Receptor. *Cell* 168. 377–389.

Peng Y., John D. M., Kasper H. y col. (2018). 5-HT_{2c} Receptor Structures Reveal the structural Basis of GPCR Polypharmacology. *Cell* 172, 1–12.

8. Desarrollo experimental.

A continuación se detalla el procedimiento experimental para la obtención de cabeza de serie WA01, WA02 y WA03 de acuerdo a lo que se indica en el esquema general de reacción correspondiente a Figura 12.

8.1. Síntesis de compuestos WA01, WA02 y WA03, cabezas de serie para la obtención de derivados de benzazepinas análogos de lorcaserina.

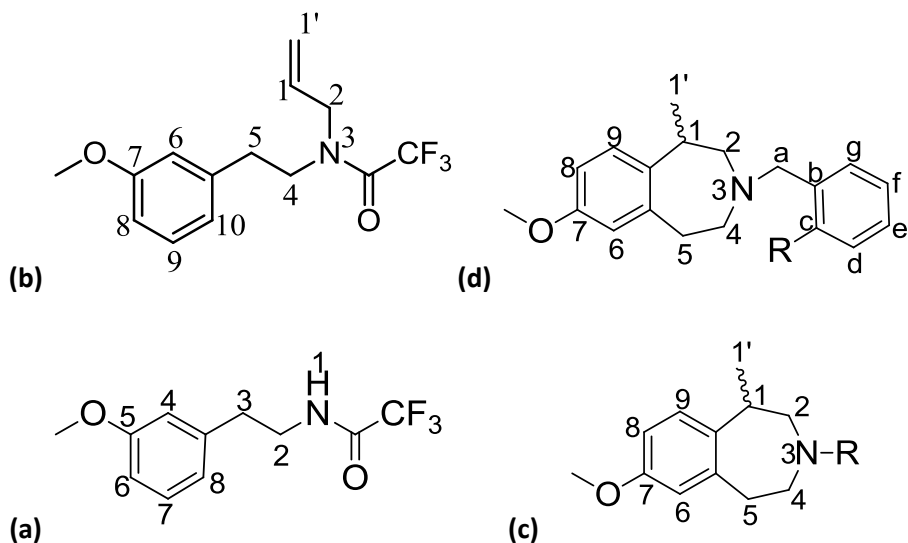


Figura 31. Estructura general de compuestos sintetizados con la numeración a utilizar para dar claridad al a la asignación de señales en el análisis de NMR.

8.1.1. Paso A. Síntesis de *N*-trifluoroacetil-3-metoxifeniletamina (a1).

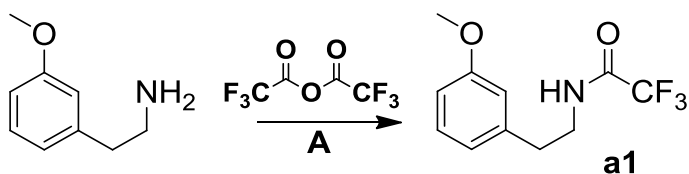


Figura 32. Esquema de síntesis de a1 sintetizado en paso A. A) Piridina, anhídrido trifluoroacético, DCM, 0 °C, 3 h.

Se disolvieron 4.041 g de 3-metoxifeniletamina (26.72 mmol) en 60 mL de DCM y se llevó a 0 °C en un baño de agua/hielo. Se adicionó en frío gota a gota 3.02 mL de piridina (37.41 mmol) y

luego muy lentamente anhídrido trifluoroacético (7.54 mL, 53.44 mmol). La mezcla de reacción fue agitada por 3 h retirando el baño de agua/hielo para que alcanzara temperatura ambiente. Finalmente se diluyó el producto de reacción con 300 mL de DCM, se lavó 3 veces con una solución de ácido clorhídrico 10%, una vez con agua y una vez con salmuera, se concentró al vacío obteniéndose 6.605 g de un aceite amarillo-pardo correspondiente al compuesto a1 (*N*-trifluoroacetil-3-metoxifeniletamina) con un 99.9% de rendimiento. Ver Figura 31(a). $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 9.49 (1H, s, H-1), 7.20 (1H, dd $J = 10.5$ Hz, 5.9 Hz, H-7), 6.80 (1H, s, H-4), 6.79 (2H, d $J = 6.7$ Hz, H-6 y H-8), 3.74 (3H, s, OCH_3), 3.44 (2H, dd $J = 13.0$ Hz, 6.5 Hz, H2), 2.80 (1H, t $J = 7.1$ Hz, H-3).

8.1.2. Paso B. Síntesis de *N*-trifluoroacetil-2-yodo-5-metoxifeniletamina (b1).

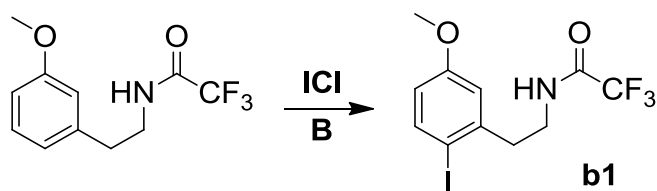


Figura 33. Esquema de síntesis de b1 según el paso B. B) CaCO_3 , ICl, metanol, -20 °C, agitación toda la noche.

Se disolvieron 7.77 g (31.45 mmol) del compuesto anterior a1 en 100 mL de metanol, se enfría hasta -20 °C mediante un baño frío de hielo/acetona/sal. Posteriormente se adicionaron 8 g (77.9 mmol) de CaCO_3 , seguido de una solución de ICl preparada disolviendo 5.61 g de ICl en 20 mL de metanol frío (34.55 mmol). La mezcla de reacción fue agitada toda la noche sin retirar el baño frío, permitiendo que la temperatura se eleve gradualmente. Posteriormente se filtra y concentra al vacío sin llevar a sequedad, se diluye con 200mL de DCM, se lava 2 veces con 100 mL de una solución de NaHSO_3 5%, una vez con 100 mL de agua y una vez con 100 mL de salmuera, las fases orgánicas fueron secadas con sulfato de sodio y se concentran al vacío para

dar 9.00 g de un aceite amarillo que luego de enfriarse cristaliza como un sólido blanco que corresponde al compuesto 1b (*N*-trifluoroacetil-2-yodo-5-metoxifeniletamina) con un rendimiento de un 76.69%. Ver Figura 31(a). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ ppm 7.68 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-7), 6.76 (1H, d $J = 3.0$ Hz, H4), 6.63 (1H, s, H-1), 6.55 (1H, dd $J = 8.7, 3.0$ Hz, H6), 3.76 (3H, s, OCH_3), 3.61 (q aparente, 2H, $J = 6.7$ Hz, H-2), 2.96 (1H, t $J = 7$ Hz, H-3).

8.1.3. Paso C3. Síntesis de *N*-alil-*N*-trifluoroacetil-2-yodo-5-metoxifeniletamina (c1).

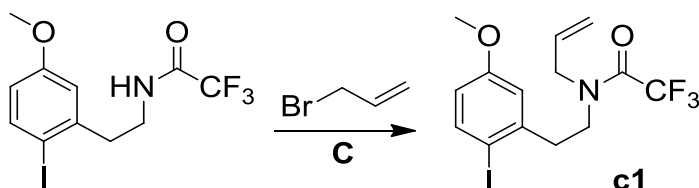


Figura 34. Esquema de síntesis de c1 según el paso C. C) K_2CO_3 , bromuro de tetrabutilamonio, bromuro de alilo, tolueno. 80°C , 4 h.

Se disolvieron 4.04 g (10.8 mmol) del compuesto anterior b1 en 200 mL de tolueno, se adicionaron 2.09 g de K_2CO_3 (15.15 mmol), 1.82 g de KOH (32.48 mmol), 0.383 g de bromuro de tetrabutilamonio (1.191 mmol), finalmente 6.919 g de bromuro de alilo (21.65 mmol). La mezcla de reacción fue agitada a 80°C por 4h. Posteriormente fue llevada a temperatura ambiente y se acidifica con una solución de ácido clorhídrico 10 % hasta pH 1-2. La fase orgánica se separa y se extrae con éter etílico, las fases orgánicas combinadas fueron lavadas dos veces con 100 mL de salmuera, secadas con sulfato de sodio y se concentradas al vacío. El producto de reacción fue purificado mediante cromatografía en columna utilizando una mezcla 4:1 de hexano/acetato de etilo para dar 3.317 g de un aceite café correspondiente al compuesto c1 (*N*-alil-*N*-trifluoroacetil-2-yodo-5-metoxifeniletamina) con un rendimiento de un 73.99 % que corresponde a una mezcla de dos rotámeros en relación 2:1. Rotámero mayor, ver Figura 31(b). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ ppm 7.63 (0.63H, d $J = 8.7$ Hz, H-9), 6.78 (0.71 H, d $J = 3$ Hz,

H-4), 6.53 (1H, dd $J = 8.7, 2.7$ Hz, H-8), 5.96-5.62 (1H, m, H-1), 5.34-5.21 (2H, m, H-1'), 3.84 (1.34H, d $J = 5.6$ Hz, H-2), 3.74 (1.97H, s, OCH₃), 3.54 (2H, m, H-4), 2.98 (2H, dd $J = 8.7, 6.5$ Hz, H-5). Rotámero menor. ¹H NMR (CDCl₃) δ ppm 7.65 (0.37H, d $J = 8.7$ Hz, H-9), 6.76 (0.48H, d $J = 3$ Hz, H-4), 6.53 (1H, dd $J = 8.7, 2.7$ Hz, H-8), 5.96-5.62 (1H, m, H-1), 5.38-5.20 (2H, m, H-1'), 4.09 (0.66H, d $J = 5.9$ Hz, H-2), 3.76 (1.27H, s, OCH₃), 3.54 (2H, m, H-4), 2.98 (2H, dd $J = 8.7, 6.5$ Hz, H-5). Rotámero mayor ¹³C NMR (CDCl₃) δ ppm 160.37 (C-7), 156.88 (q $J = 36$ Hz, C=O), 141.75 (C-5a), 140.01 (C-9), 131.70 (C-1), 119.53 (C-1'), 116.45 (q $J = 287$ Hz, CF₃), 115.93 (C-8), 115.21 (C-6), 88.48 (C-10), 55.33 (OCH₃), 50.72 (q $J = 3$ Hz, C-2), 46.67 (C-4), 37.30 (C-5). Rotámero menor ¹³C NMR (CDCl₃) δ ppm 160.28 (C-7), 156.67 (q $J = 36$ Hz, C=O), 141.10 (C-5a), 140.20 (C-9), 131.16 (C-1), 118.96 (C-1'), 116.61 (q $J = 287$ Hz, CF₃), 116.28 (C-8), 114.70 (C-6), 88.30 (C-10), 55.35 (OCH₃), 49.47 (C-2), 47.12 (q $J = 3$ Hz, C-4), 40.10 (C-5).

8.1.4. Paso 1D. Síntesis de 7-metoxi-1-metilen-*N*-trifluoroacetil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-3-benzazepina (d1).

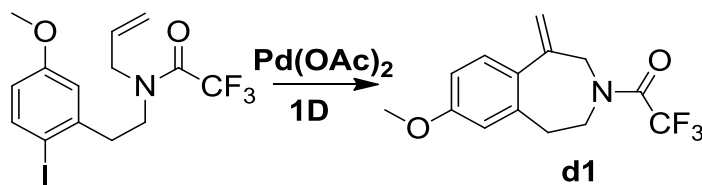


Figura 35. Esquema de síntesis de d1 sintetizado en paso 1D. D) Acetato de potasio, bromuro de tetrabutilamonio, trifenilfosfina, acetato de paladio, DMF, 90 °C, agitación toda la noche.

Se disolvieron 8.65 g (20.89 mmol) del compuesto anterior c1 en 250 mL de DMF, se adicionaron 6.143 g de acetato de potasio (62.58 mmol), 6.736 g de bromuro de tetrabutilamonio (20.89 mmol), 1.096 g de trifenilfosfina (4.170 mmol) y 234 mg de acetato de paladio (1.045 mmol). La mezcla fue agitada toda la noche en ambiente de nitrógeno a 90 °C. Terminada la reacción se enfría, se filtra para eliminar las sales. Las aguas madres se diluyeron

en agua y se extrajeron con éter etílico, las fases orgánicas combinadas se lavaron dos veces con agua (100 mL) una con salmuera (100 mL), posteriormente se secaron con sulfato de sodio y se concentran al vacío. El producto de reacción se purificó por cromatografía en columna con una mezcla de acetato de etilo al 10 % en hexano para dar 3.752 g de un aceite amarillo correspondiente al compuesto d1 (7-Metoxi-1-metilen-*N*-trifluoroacetil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-3-benzazepina) con un rendimiento de un 62.96%. Mezcla de rotámeros con relación 1:1. **Ver** Figura 31(c). $^1\text{H NMR (CDCl}_3)$ δ ppm 7.25 (0.5H, d $J = 3.8$ Hz. H9), 7.23 (0.5H, d $J = 3.8$ Hz. H9), 6.73 (1H, dd $J = 8.4, 2.6$ Hz. H8), 6.65 (1H, d $J = 2.4$ Hz. H-6), 5.29-5.16 (2H, m. H-1'), 4.39-4.35 (2H, m. CH₂), 3.80 (2H, t $J = 6.5$ Hz. CH₂), 3.74 (3H, s. OCH₃), 2.95 (2H, t aparente. CH₂). Rotamero mayor $^{13}\text{C NMR (CDCl}_3)$ δ ppm 159.83 (C-7), 156.82 (C=O), 145.21 (C-1), 137.27 (C-5a), 132.21 (C-9a), 129.98 (C-6), 116.54 (C-1'), 116.53 (CF₃), 115.15 (C-6), 112.50 (C-8), 55.17 (OCH₃), 46.71 (q $J = 3$ Hz, C-4), 45.62 (C-2), 35.29 (C-5). Rotamero menor $^{13}\text{C NMR (CDCl}_3)$ δ ppm 159.86 (C-7), 156.34 (C=O), 144.52 (C-1), 136.75 (C-5a), 131.34 (C-9a), 114.81 (C-6), 116.46 (CF₃), 114.81 (C-6), 114.44 (C-1'), 112.26 (C-8), 55.16 (OCH₃), 46.71 (q $J = 3$ Hz, C-2), 45.62 (C-4), 33.18 (C-5).

8.1.5. Paso 2D. Síntesis de (*R,S*)-7-metoxi-1-metil-*N*-trifluoroacetil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-3-benzazepina (d2).

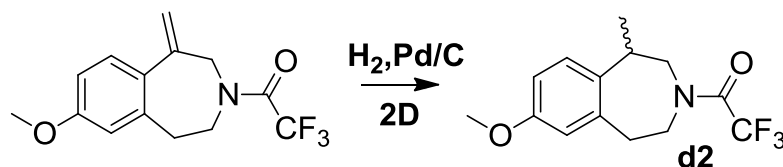


Figura 36. Esquema de síntesis de d2 según el paso 2D. D2) H₂, 70 psi, Pd/C, metanol, temperatura ambiente, 48 h.

Se disolvieron 4.695 g (15.68 mmol) del compuesto anterior d1 en metanol suficiente hasta completar 1/5 del volumen de la botella de presión, se adiciona una punta de espátula de

catalizador de paladio soportado en carbono al 10%, se inyecta hidrógeno a 70 psi y se deja en agitación por dos días. Luego se filtra, se concentra al vacío para dar un aceite amarillo. Se purificó por cromatografía en columna usando una fase móvil de 20% de acetato de etilo en hexano para dar el compuesto d2 ((*R,S*)-7-metoxi-1-metil-*N*-trifluoroacetil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-3-benzazepina) con un rendimiento de un 91.83%. Mezcla de dos rotámeros 6:4. Ver figura 31(c). $^1\text{H NMR (CDCl}_3)$ δ ppm 7.34 (0.44H, m. H9), 7.23 (0.56H, m. H6), 6.93-6.80 (2H, m. H8 y H6), 4.2-3.9 (1H, m. H1), 3.88 (3H, s. OCH₃), 3.88 (1H, mezclado con señal de metoxilo. H1) 3.7-2.91 (6H, m. CH₂), 1.46 (1.24H, d $J = 7.2\text{Hz}$. 1'-CH₃ menor), 1.42 (1.76H, d $J = 7.2\text{ Hz}$. 1'-CH₃ mayor). Rotamero mayor $^{13}\text{C NMR (CDCl}_3)$ δ ppm 157.93 (C-7), 156.16 (q $J = 35\text{ Hz}$, C=O), 138.99 (C-5a), 135.68 (C-9a), 129.42 (C-9), 116.70 (q $J = 286\text{ Hz}$, CF₃), 116.30 (C-6), 111.32 (C-8), 54.76 (OCH₃), 51.44 (C-2), 47.55 (q $J = 3\text{ Hz}$, C-4), 39.48 (C-1), 34.69 (C-5), 17.59 (C-1'). Rotamero menor $^{13}\text{C NMR (CDCl}_3)$ δ ppm 158.09 (C-7), 156.16 (q $J = 35\text{ Hz}$, C=O), 139.49 (C-5a), 134.71 (C-9a), 129.08 (C-9), 116.60 (q $J = 286\text{ Hz}$, CF₃), 115.79 (C-6), 111.90 (C-8), 54.66 (OCH₃), 53.01 (q $J = 3\text{ Hz}$, C-2), 46.04 (q $J = 3\text{ Hz}$, C-4), 38.82 (C-1), 36.37 (C-5), 17.50 (C-1').

8.1.6. Paso 3D. Síntesis de (*R,S*)-8-cloro-7-metoxi-1-metil-*N*-trifluoroacetil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-3-benzazepina (d3).

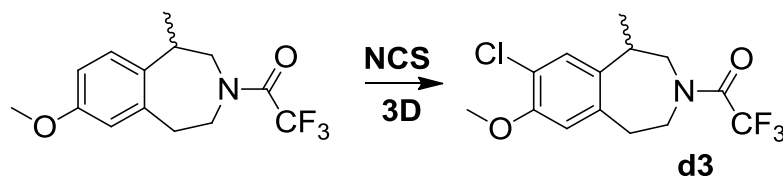
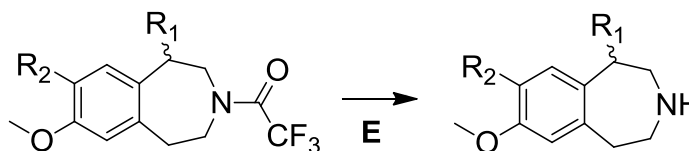


Figura 37. Esquema de síntesis de d3 según el paso 3D. D3) NCS, acetonitrilo, 70 °C, agitación toda la noche.

Se disolvieron 3.55 g (11.78 mmol) del compuesto anterior d2 en 100 mL de acetonitrilo, se adicionaron 1.73 g de *N*-clorosuccinimida (12.96 mmol). La mezcla de reacción fue agitada toda

la noche a 70 °C. Posteriormente se enfría y concentra al vacío. El producto de reacción se purifica mediante cromatografía en columna usando una fase móvil de 20% de acetato de etilo en hexano. Finalmente se obtuvo 1.932 g un aceite claro, el que luego de unos días cristaliza. Rendimiento de 48.84%, mezcla de dos rotámeros 55:45. Ver Figura 31(c). $^1\text{H NMR (CDCl}_3)$ δ ppm 7.25 (1H, s. H9), 6.74 (0.45H, s. H6 menor), 6.72 (0.55H, s. H-6 mayor), 3.86 (3H, s. OCH₃), 3.7-3.35 (2H, m. CH₂), 3.35-2.8 (3H, m. CH₂), 1.32 (1.35H, d $J = 6.0$ Hz. 1'-CH₃ menor), 1.28 (1.65H, d $J = 6$ Hz. 1'-CH₃ mayor). Rotamero mayor $^{13}\text{C NMR (CDCl}_3)$ δ ppm 156.49 (q $J = 35$ Hz, C=O), 153.24 (C-7), 137.70 (C-9a), 136.97 (C-5a) 129.98 (C-9), 120.51 (C-8), 116.88 (q $J = 287$ Hz, CF₃) 114.56 (C-6), 56.25 (OCH₃), 51.52 (C-2), 47.86 (q $J = 3$ Hz, C-4), 39.55 (C-1), 36.59 (C-5), 17.68 (C-1'). Rotamero menor $^{13}\text{C NMR (CDCl}_3)$ δ ppm 156.59 (q $J = 35$ Hz, C=O), 153.39 (C-7), 138.53 (C-9a), 135.97 (C-5a) 128.83 (C-9), 120.37 (C-8), 116.70 (q $J = 287$ Hz, CF₃), 114.19 (C-6), 56.25 (OCH₃), 53.22 (q $J = 3$ Hz, C-2), 46.13 (C-4), 39.00 (C-1), 35.01 (C-5), 17.73 (C-1').

8.1.7. Paso E. Preparación de azepinas cabezas de serie WA01 (7-metoxi-1-metilen-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-benzazepina), WA02((R,S)-7-metoxi-1-metilen-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-benzazepina) y WA03 ((R,S)-8-cloro-7-metoxi-1-metil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-benzazepina).



WA01. R1=Metileno, R2= H.

WA02. R1=Metil, R2= H.

WA03. R1=Metil, R2= Cl.

Figura 38. Esquema de síntesis de benzazepinas cabezas de serie WA01, WA02 y WA03 según el paso E. E) NaOH 20%, metanol, agitación toda la noche.

Se disolvió cada uno de los compuestos anteriormente preparados d1, d2 y d3 en 20 mL de metanol, luego se adicionaron 20 mL de hidróxido de sodio 15% a temperatura ambiente. La mezcla de reacción fue agitada toda la noche a temperatura ambiente. Finalmente se extrajo con DCM, se secó con sulfato de sodio y concentró al vacío obteniéndose las bases libres de los compuestos respectivos las cuales fueron transformadas a clorhidrato su purificación y prevenir su descomposición.

Ver Figura 31(c). **WA01 (HCl) $^1\text{H NMR (D}_2\text{O)}$** δ ppm 7.33 (1H, d $J = 8.5$ Hz. H9), 6.88 (1H, dd $J = 8.5, 2.7$ Hz. H8), 6.82 (1H, d, $J = 2.6$ Hz. H6), 5.55 (2H, d $J = 3.3$ Hz. H1'-CH₂), 3.93 (2H, s. H2), 3.82 (3H, s. OCH₃), 3.43-3.40 (2H, m. H4), 3.11-3.08 (2H, m. H5). **$^{13}\text{C NMR (D}_2\text{O)}$** δ ppm 158.84 (C-7), 139.59 (C-5a), 137.41 (C-9a) 132.50 (C-1), 130.10 (C-9), 122.01 (C-1'), 115.07 (C-6), 112.71 (C-8), 55.37 (OCH₃), 49.81 (C-2), 44.69 (C-4), 31.17 (C-5). **WA02 (Oxalato) $^1\text{H NMR (D}_2\text{O)}$** δ ppm 7.26 (1H, d $J = 8.5$ Hz. H9), 6.89 (1H, dd $J = 8.5, 2.8$ Hz. H8), 6.85 (1H, d $J = 2.7$ Hz. H6), 3.81 (3H, s. OCH₃), 3.46-3.32 (3H, m), 3.23-2.97 (4H. m), 1.40 (3H, d $J = 7.2$ Hz. 1'-CH₃). **$^{13}\text{C NMR (D}_2\text{O)}$** δ ppm 164.81 (Oxalato), 157.61 (C-7), 139.57 (C-5a), 134.98 (C-9a) , 127.85 (C-9), 115.74 (C-6), 112.20 (C-8), 55.23 (OCH₃), 51.17 (C-2), 45.23 (C-4), 33.97 (C-5), 31.37 (C-1), 16.97 (C-1'). **WA03 (HCl) $^1\text{H NMR (D}_2\text{O)}$** δ ppm 7.34 (1H, s. H9) 7.00 (1H, s. H6), 3.90 (3H, s. OCH₃), 3.54-2.94 (7H, m), 1.41 (3H, d $J = 7.1$ Hz. 1'-CH₃). **$^{13}\text{C NMR (D}_2\text{O)}$** δ ppm 152.66 (C-7), 138.38 (C-5a), 136.97 (C-9a), 127.93 (C-9), 119.69 (C-8), 114.44 (C-6), 56.20 (OCH₃), 51.01 (C-2), 45.07 (C-4), 33.79 (C-5), 31.21 (C-1), 16.86 (C-1').

8.2. Síntesis de los derivados *N*-bencilados y *N*-alilados de benzazepinas cabezas de serie respectivas.

8.2.1. Serie WA01. Derivados de 7-metoxi-1-metilen-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-benzazepina

(WA01).

El clorhidrato correspondiente al compuesto WA01 fue disuelto en agua alcalina y fue extraída la base libre con DCM, posteriormente el extracto fue secado con sulfato de sodio, concentrado al vacío y separado en 3 balones distintos. A la base libre del compuesto WA01 se agregó DCM, luego exceso de 2 equivalentes de aldehído. La mezcla de reacción fue agitada toda la noche a temperatura ambiente y fue agregado un exceso de 2.5 equivalentes de NaBH_4 durante el transcurso del día según lo indicado en Tabla 5. Finalmente fue filtrada, diluida con 50 mL de DCM, fueron agregados 20 mL de agua, extraído 3 veces con DCM, secado con sulfato de sodio y concentrado al vacío. Los compuestos fueron purificados por cromatografía en columna con una fase móvil de 20% de acetato de etilo en hexano. Finalmente los compuestos fueron transformados a los clorhidratos respectivos para prevenir su descomposición.

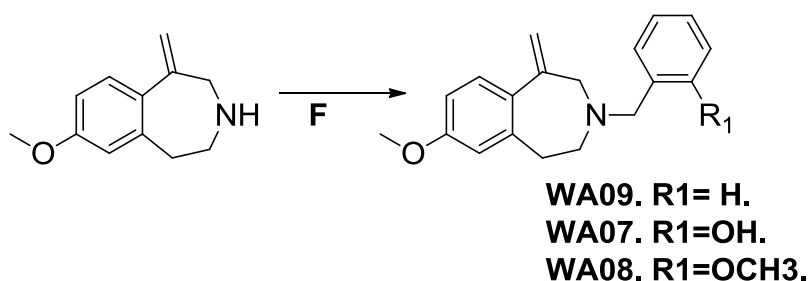


Figura 39. Esquema de reacción para obtener la serie derivada de WA01. Estructura de los compuestos WA09, WA07 y WA08. F) R-CHO, NaBH_4 , temperatura ambiente, agitación toda la noche.

Tabla 5. Rendimientos de compuestos de la serie WA01. Los cálculos de rendimiento fueron basados en la obtención de los respectivos clorhidratos.

Compuesto	Masa de compuesto inicial	Masa de aldehído correspondiente	Masa de producto	Rendimiento %
WA09	462 mg (2.33 mmol)	518 mg (4.88 mmol)	361 mg (1.14 mmol)	48.9
WA07	390 mg	503 mg	407 mg	62.4

	(1.97 mmol)	(4.12 mmol)	(1.23 mmol)	
WA08	376 mg (1.90 mmol)	541 mg (3.97 mmol)	259 mg (0.749 mmol)	39.4

Ver Figura 31(d). **WA07 (HCl) ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm** 7.60 (1H, d J = 7.5 Hz. Hf), 7.33 (1H, d J = 8.5 Hz. H9), 7.27 (1H, t, J = 7.8 Hz. Hd), 7.05 (1H, d, J = 8,1 Hz. Hc), 6.87 (1H, t, J = 7.4 Hz. He), 6.83 (1H, dd, J = 8.5, 2.5 Hz. H8) 6.79 (1H, d, J = 2.6 Hz. H6), 5.74 (1H, s. H1'), 5.64 (1H, s. H1'), 4.35 (2H, s. Ha) 4.15-4.12 (1H, m), 3.86-3.84 (1H, m), 3.73 (3H, s. OCH₃), 3.33-2.96 (4H, m). **WA08 (HCl) ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm** 7.64 (1H, d, J = 7.4 Hz. Hf), 7.48 (1H, dt, J indeterminado, Hd), 7.34 (1H, d J = 8.4 Hz. H9), 7.15 (1H, d, J = 8.3 Hz. Hc), 7.05 (1H, t, J = 7.5 Hz. He), 6.84 (1H, dd, J = 8.5 Hz, 2.6 H z. H8), 6.81 (1H, d J = 2.5 Hz. H-6), 5.76 (1H, s. H1'), 4.61 (2H, s. H-1'), 4.38 (2H, m. Ha), 4.15 (dd J = 12.9, 3.3 Hz. 1H), 3.87 (3H, s. OCH₃), 3.87-3.82 (1H-m), 3.75 (3H, s. OCH₃), 3.22-3.11 (3H-m). **WA09 (HCl) ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm** 7.76 (2H, d J = 3.6 Hz. Hc y He), 7.45 (3H, m, Hb. Hf y Hd), 7.31 (1H, d, J = 8.4 Hz. H9), 6.83 (1H, dd, J indeterminado. H8), 6.79 (1H, d, J indeterminado. H6), 5.70 (1H, s. H1'), 5.53 (2H, s. H1'), 4.49-4.38 (2H, m. Ha), 4.06 (1H, d J = 12.5 Hz), 3.79-3.74 (1H), 3.74 (3H, s, OCH₃), 3.41-3.08 (5H, m).) **^{13}C NMR (400 MHz, DMSO- d_6)** 159.01 (C-7), 138.14 (C-5^a), 137.07 (C-9a), 131.34 (C-d y C-f), 131.20 (C-1), 130.22 (C-b), 129.33 (C-c y C-g), 128.77 (C-9 y C-e), 123.56 (C-1'), 115.00 (C-6), 112.44 (C-9), 56.95 (C-2), 55.80 (C-a), 55.20 (OCH₃), 29.12 (C-5).

8.2.2. Serie WA02. Derivados de (*R,S*)-7-metoxi-1-metil-*N*-trifluoroacetil-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-3-benzazepina (WA02).

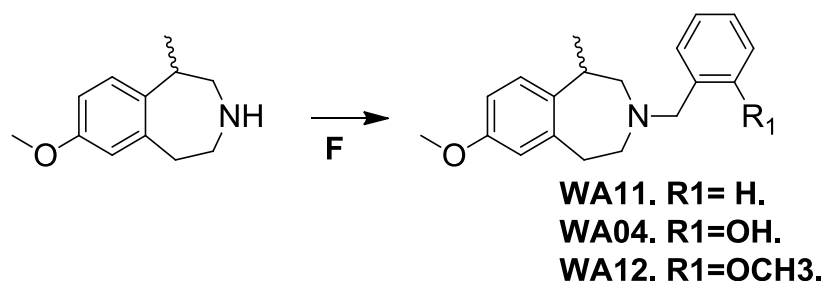


Figura 40. Esquema de reacción para obtener la serie derivada de WA02. Estructura de los compuestos WA11, WA04 y WA12. F) R-CHO, NaBH₄, temperatura ambiente, agitación toda la noche.

El clorhidrato correspondiente al compuesto WA02 fue disuelto en agua alcalina y extraída la base libre con DCM, posteriormente fue secado con sulfato de sodio, concentrado al vacío y separado en 4 balones distintos. A la base libre del compuesto WA01 se agregaron DCM, luego un exceso de 2 equivalentes de aldehído. La mezcla de reacción fue agitada toda la noche a temperatura ambiente y fue agregado un exceso de 2.5 equivalentes de NaBH₄ durante el transcurso del día según lo indicado en Tabla 6. Finalmente el producto de reacción fue filtrado, fue diluido con 50 mL de DCM, fueron agregados 20 mL de agua, extraído 3 veces con DCM, secado con sulfato de sodio y concentrado al vacío. Los compuestos fueron purificados por cromatografía en columna con una fase móvil de 20% de acetato de etilo en hexano. Finalmente los compuestos fueron transformados a los clorhidratos respectivos para prevenir su descomposición.

Tabla 6. Rendimientos de compuestos de la serie WA02. Los cálculos de rendimiento fueron basados en la obtención de los respectivos clorhidratos.

Compuesto	Masa de compuesto inicial	Masa de aldehído correspondiente	Masa de producto	Rendimiento %
WA11	211 mg (1.10 mmol)	235 mg (2.21 mmol)	215 mg (0.674 mmol)	61.3
WA04	343 mg	242 mg	74.9 mg	12.5

	(1.79 mmol)	(1.98 mmol)	(0.224 mmol)	
WA12	211 mg (1.10 mmol)	151 mg (1.10 mmol)	150 mg (0.312 mmol)	28.4

Ver Figura 31(d). **WA11 (HCl) ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm** 7.71-7.59 (2H, m. Hc y He), 7.45-7.44 (3H, m. Hb, Hf y Hd), 7.11 (1H, d. *J* = 8.9 Hz, H9), 6.80-6.79 (2H, m. H8 y H6), 4.39-4.23 (2H, m, Ha), 3.75-2.62 (7H,m, mezclado con señal de agua), 3.71 (3H, s. OCH₃), 1.31 (3H, d, *J* = 7.1 Hz. 1'-CH₃). **¹³C NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm** 157.85 (C-7), 140.35 (C-5a), 134.55 (C-9a), 131.68 (C-d y C-f), 129.65 (C-9) 129.45 (C-e), 128.73 (C-c y C-g), 125.56 (C-b), 60.13 (C-2), 59.64 (C-a), 55.04 (OCH₃), 51.94 (C-4), 31.09 (C-1), 30.51 (C-5), 17.82 (C-1'). **WA04 (HCl) ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm** 7.50 (1H, d *J* = 7.4 Hz. Hf), 7.26 (1H, t *J* = 7.5 Hz. Hd), 7.11 (1H, d *J* = 9.0 Hz. H9), 6.99 (1H, d *J* = 8.1 Hz. Hc), 6.85 (1H, t *J* = 7.4 Hz. He), 6.79-6.78 (2H, m. H8 y H6), 4.24 (2H, m. Ha), 3.71 (3H, s. OCH₃) 3.65-2.68 (7H, m, mezclado con señal de agua), 1.32 (3H, d *J* = 7.1 Hz. 1'-CH₃). **WA12 (HCl) ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm** 7.68 (1H, m. Hf), 7.43 (1H, td *J* = 8.5, 1.6 Hz. Hd), 7.10 (2H, m. H9 y Hc), 7.00 (1H, t *J* = 7.0 Hz. He), 6.78 (2H, m. H8 y H6), 4.26-4.25 (2H, m. Ha), 3.82 (3H, s. OCH₃), 3.85-2.58 (7H, m, mezclado con señal de agua), 1.31 (3H, d *J* = 7.1 Hz. 1'-CH₃).

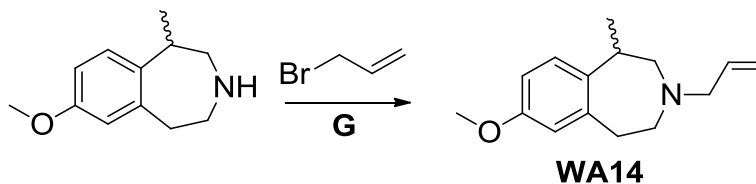


Figura 41. Estructura del compuesto WA14 correspondiente a la serie WA02. G) Bromuro de alilo, KOH, tolueno, temperatura ambiente, 24 h.

A 220 mg (1.201 mmol) de la base libre del compuesto WA02 se agregaron 20 mL de tolueno, 147 mg de bromuro de alilo (1.20 mmol) y 101 mg de KOH. La mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente por 24 horas. Posteriormente filtrada, concentrada al vacío y

fraccionada mediante cromatografía en columna utilizando una mezcla de 20% de acetato de etilo en hexano. Finalmente se transformó el compuesto al respectivo clorhidrato, obteniéndose 123 mg con un 38.24% de rendimiento. Ver figura 31(d) **WA14 (HCl) ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ ppm** 7.13 (1H, d J = 9.3 Hz. H9), 6.79 (2H, m. H8 y H6), 6.04 (1H, m. Hb), 5.49 (2H, m. Hc), 3.73 (3H, s. OCH₃), 3.90-2.60 (7H, m, mezclado con señal de agua), 1.34 (3H, d J = 7.2 Hz. 1'-CH₃).

8.2.3. Serie WA03. Derivados de (R,S)-8-cloro-7-metoxi-1-metil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-benzazepina (WA03).

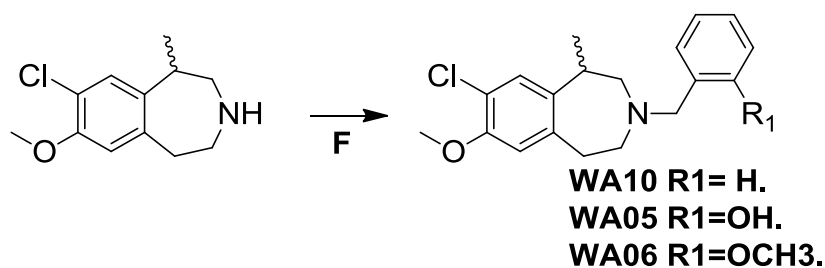


Figura 42. Estructuras de compuestos sintetizados correspondientes a la serie WA03. F) R-CHO, NaBH₄, temperatura ambiente, agitación toda la noche.

El clorhidrato correspondiente al compuesto WA03 fue disuelto en agua alcalina y extraída la base libre con DCM, posteriormente el extracto fue secado con sulfato de sodio, concentrado al vacío y separado en 4 balones distintos. A la base libre del compuesto WA01 se agregaron DCM, luego exceso de 2 equivalentes de aldehído. La mezcla de reacción fue agitada toda la noche a temperatura ambiente y fue agregado un exceso de 2.5 equivalente de NaBH₄ durante el transcurso del día según lo indicado en Tabla 7. Finalmente la solución fue filtrada, diluida con 20 mL de agua 3 veces con DCM (50 mL cada vez), el extracto secado con sulfato de sodio y concentrado al vacío. Los compuestos fueron purificados por cromatografía en columna con una fase móvil de 20% de acetato de etilo en hexano. Finalmente los compuestos fueron transformados a clorhidratos respectivos para prevenir su descomposición.

Tabla 7. Rendimientos de compuestos de la serie WA03. Los cálculos de rendimiento fueron basados en la obtención de los respectivos clorhidratos.

Compuesto	Masa de compuesto inicial	Masa de aldehído correspondiente	Masa de producto	Rendimiento %
WA10	120 mg (0.532 mmol)	108 mg (1.02 mmol)	94 mg (0.267 mmol)	50.2
WA05	464 mg (2.06 mmol)	215 mg (1.76 mmol)	268 mg (0.761 mmol)	37.0
WA06	225.7 mg (0.999 mmol)	297 mg (2.18 mmol)	267 mg (0.698 mmol)	69.9

Ver Figura 31(d). **WA10** $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 7.63 (2H, m. Hc y He), 7.44 (3H, m. Hb, Hd y Hf), 7.16 (1H, s. H9), 7.03 (1H, s. H6), 4.38 (1H, dd $J = 14.3$ Hz, 2.7 Hz. Ha), 4.23 (1H, dd $J = 12.9$ Hz, 5.1 Hz. Ha), 3.82 (3H, s. OCH_3) 3.84-2.62 (7H, m, mezclado con señal de agua), 1.31 (3H, d $J = 7.0$ Hz, $1'$ - H_3). **WA05** $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 7.54 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, Hf), 7.24 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, Hd), 7.14 (1H, s, H9), 7.04 (1H, s, H6), 7.03 (1H, d, $J = 9.1$ Hz, Hc), 6.83 (H, t, He), 4.33 (2H, m, Ha), 3.81 (3H, s, OCH_3), 3.70 (1H, m, H1) 3.61-2.72 (6H, m), 1.31 (3H, d, $J = 7.1$ Hz, $1'$ - CH_3). $^{13}\text{C NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ ppm 157.37 (C-c), 153.31 (C-7), 139.87 (C-5a), 136.23 (C-9a), 134.17 (C-g), 131.52 (C-e), 119.55 (C-f), 119.41 (C-8), 116.31 (C-d), 115.99 (C-b), 114.39 (C-6), 59.74 (C-2), 56.55 (OCH_3), 55.44 (C-a), 52.11 (C-4), 31.68 (C-1), 30.80 (C-5), 18.17 (C-1'). **WA06** $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 7.70 (1H, m. Hf), 7.43 (1H, t $J = 7.9$ Hz. Hd), 7.15 (1H, s. H9), 7.10 (1H, d $J = 8.4$ Hz. Hc), 7.04 (1H, s. H-6), 7.00 (1H, t $J = 7.4$ Hz. He), 4.38 (2H, m. Ha), 3.82 (6H, s. OCH_3), 3.57-3.35 (5H, m), 2.82 (2H, m), 1.31 (3H, d $J = 7.1$ Hz. $1'$ - CH_3). $^{13}\text{C NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ ppm 158.72 (C-c), 153.23 (C-7), 139.92 (C-5a), 136.27 (C-9a), 134.13 (C-g), 131.90 (C-e), 126.55 (C-f), 119.40 (C-8), 117.66 (C-e), 114.41 (C-6), 112.01 (C-b),

59.74 (C-2), 56.55 (OCH₃), 56.15 (OCH₃), 55.04 (C-a), 52.09 (C-4), 31.60 (C-5), 30.80 (C-1), 18.17 (C-1').

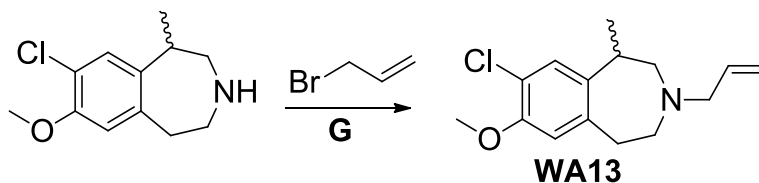


Figura 43. Estructura del compuesto WA13 correspondiente a la serie WA03. G) Bromuro de alilo, KOH, tolueno, temperatura ambiente, 24 h.

A 189 mg (0.840 mmol) de base libre de WA03 se agregaron 20 mL de tolueno, 101 mg de bromuro de alilo (0.877 mmol) y 70 mg de hidróxido de potasio. La mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente por 24 horas. Posteriormente filtrada, concentrada al vacío y purificada mediante cromatografía en columna con una fase móvil de 20% de acetato de etilo en hexano. El compuesto fue transformado al respectivo clorhidrato para prevenir su descomposición, obteniéndose 84 mg del compuesto WA13 con un rendimiento de 33.08%.

WA13 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 7.18 (1H, s. H₉), 7.08 (1H, s. H₆), 6.15-5.95 (1H, m. H_b), 5.58-5.43 (2H, m. H_c), 3.84 (3H, s. OCH₃), 3.84-2.65 (9H, m), 1.33 (3H, d *J* = 7.1Hz. 1'-CH₃).

8.3. Metodología general de síntesis para derivados de lorcaserina y lorcaserina racémica.

Para preparar estas series de compuestos se parte desde los compuestos comerciales lorcaserina y lorcaserina racémica a los cuales se les realizaron las correspondientes *N*-sustituciones de acuerdo a la Figura 14 en los pasos F y G.

8.3.1. Serie WA15. Derivados de lorcaserina ((*R*)-8-cloro -1-metil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-3-benzazepina).

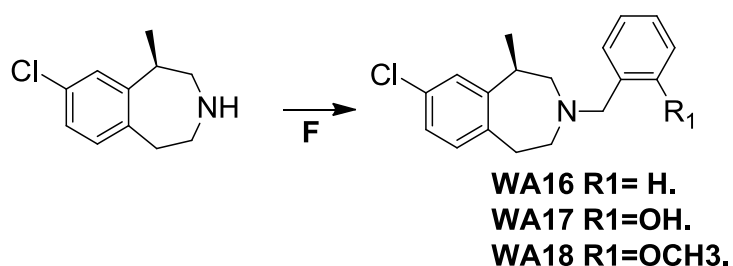


Figura 44. Estructuras de los compuestos WA16, WA17 y WA18 pertenecientes a la serie WA15 derivada de lorcaserina. F) R-CHO, NaBH₄, temperatura ambiente, agitación toda la noche.

El clorhidrato correspondiente a lorcaserina (WA15) fue disuelto en agua alcalina y extraída la base libre con DCM, posteriormente fue secada con sulfato de sodio, concentrado al vacío y separado en 4 balones distintos. A la base libre del compuesto WA15 se agregaron DCM, luego exceso de 2 equivalentes de aldehído. La mezcla de reacción fue agitada toda la noche a temperatura ambiente y fue agregado un exceso de 2.5 equivalentes de NaBH₄ durante el transcurso del día según lo indicado en Tabla 8. Finalmente fue filtrado, diluido con 50 mL de DCM, fue agregado 20 mL de agua, extraído 3 veces con DCM, secado con sulfato de sodio y concentrado al vacío. Los compuestos fueron purificados por cromatografía en columna con una fase móvil de 20% de acetato de etilo en hexano. Finalmente los compuestos fueron transformados a los clorhidratos respectivos para prevenir su descomposición.

Tabla 8. Rendimientos de compuestos de la serie de la lorcaserina. Los cálculos de rendimiento fueron basados en la obtención de los respectivos clorhidratos.

Compuesto	Masa de compuesto inicial	Masa de aldehído correspondiente	Masa de producto	Rendimiento %
WA16	184 mg (0.940 mmol)	199 mg (1.86 mmol)	212 mg (0.658 mmol)	70.0
WA17	237 mg (1.21 mmol)	295 mg (2.42 mmol)	190 mg (0.562 mmol)	46.4
WA18	230 mg	160 mg	208 mg	50.0

	(1.18 mmol)	(1.76 mmol)	(0.590 mmol)	
--	-------------	-------------	--------------	--

Ver Figura 31(d). **WA16** $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm (posibles rotámeros) 7.68 (2H, m. Hc y He), 7.44 (3H, m. Hb, Hd y Hf), 7.22 (3H, m. H6, H7 y H9), 4.31 (2H, m. Ha), 3.83 (1H, m. H1), 3.57-2.75 (6H, m), 1.33 (3H, d $J = 7.0$ Hz. $1'$ - CH_3). **WA17** $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 7.54 (1H, d $J = 7.4$ Hz. Hf), 7.26-7.17 (4H, m. Hd, H6, H7, H9), 7.01 (1H, d $J = 8.1$ Hz. Hc), 6.83 (1H, t $J = 7.3$ Hz. He), 4.39 (2H, m. Ha), 3.79 (1H, m. H1), 3.58-2.94 (4H, m), 2.99-2.68 (2H, m), 1.34 (3H, d $J = 7.1$ Hz. $1'$ - CH_3). **WA18** $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 7.69 (1H, m. Hf), 7.44 (1H, t $J = 7.7$ Hz. Hd), 7.22 (3H, m. H9, H7, H6), 7.11 (1H, dd no resuelto. Hc), 7.01 (1H, dt no resuelto. He), 4.39 (2H, m. Ha), 3.86 (1H, m, H1), 3.86 (3H, s. OCH_3) 3.57-2.65 (6H, m. CH_2), 1.31 (3H, d $J = 7.1$ Hz. $1'$ - CH_3).

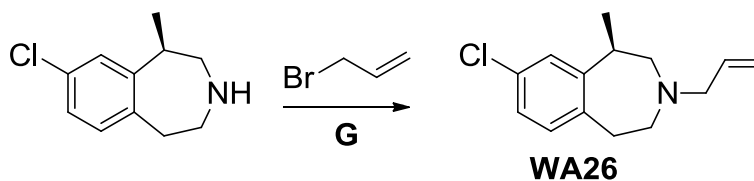


Figura 45. Estructura del compuesto WA26 sintetizado correspondiente a serie de la lorcaserina. G) K_2CO_3 , bromuro de alilo, tolueno, temperatura ambiente, 24 h.

A 167 mg (0.853 mmol) de base libre de lorcaserina se agregaron 20 mL de tolueno, 208 mg (1.505 mmol) de carbonato de potasio y 0.154 g (1.5 mmol) de bromuro de alilo. La mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente por 24 horas. Finalmente fue filtrada, diluída con agua y extraída 3 veces con DCM. El extracto fue secado con sulfato de sodio y concentrado al vacío. El producto de reacción fue purificado mediante cromatografía en columna utilizando una fase móvil de 20% de acetato de etilo en hexano y el compuesto fue convertido al correspondiente clorhidrato para prevenir su descomposición. **WA26 (base libre)** $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ ppm 7.63 (1H, dd $J = 8.7, 3.0$ Hz. H-9), 6.76 (1H, dd, $J = 5.4, 3.0$ Hz. H-7), 6.52

(1H, dt, $J = 8.7, 2.7$ Hz. H-6), 5.9–5.54 (1H, m. H-b), 5.32–5.18 (2H, m. H-c), 4.10-3.82 (2H, dd $J = 5.4$ Hz. H-a), 3.75 (3H, d aparente $J = 3.5$ Hz. H-1'), 3.53–(2H, m), 2.97 (2H, dd $J = 8.7, 6.5$ Hz, H).

8.3.2. Serie derivados de lorcaserina racémica ((*R, S*)-8-cloro -1-metil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-3-benzazepina).

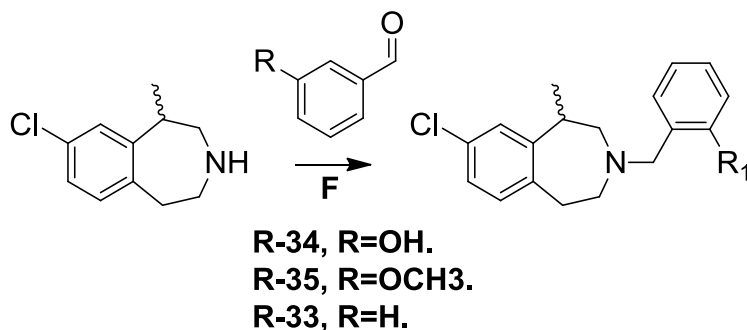


Figura 46. Estructuras de compuestos sintetizados correspondientes a la serie de lorcaserina racémica. F) R-CHO, NaBH₄, CDM, temperatura ambiente, agitación toda la noche.

El clorhidrato de lorcaserina racémica fue disuelto en agua alcalina y extraída la base libre con DCM, posteriormente la fase orgánica fue secada con sulfato de sodio, concentrada al vacío y separada en 4 balones distintos. A la base libre del compuesto WA15 se agregaron DCM, luego exceso de 1.1 equivalentes de aldehído. La mezcla de reacción fue agitada toda la noche a temperatura ambiente y fue agregado un exceso de 2.5 equivalentes de NaBH₄ durante el transcurso del día según lo indicado en Tabla 9. Finalmente la solución fue filtrada, diluido con 50 mL de DCM, fue agregado 20 mL de agua, extraído 3 veces con DCM, secado con sulfato de sodio y concentrado al vacío. Los compuestos fueron purificados por cromatografía en columna con una fase móvil de 20% de acetato de etilo en hexano. Finalmente los compuestos fueron transformados a clorhidratos respectivos para prevenir su descomposición.

Tabla 9. Rendimiento de compuestos de la serie de lorcaserina racémica. Los cálculos de rendimiento fueron basados en la obtención de los respectivos clorhidratos.

Compuesto	Masa de compuesto inicial	Masa de aldehído correspondiente	Masa de producto (HCl)	Rendimiento %
R-33	190 mg (0.970 mmol)	113 mg (1.07 mmol)	195.6 mg (0.607 mmol)	62.6
R-34	177 mg (0.945 mmol)	126 mg (1.03 mmol)	194 mg (5.74 mmol)	60.1
R-35	226 mg (1.15 mmol)	173 mg (1.27 mmol)	211 mg (0.598 mmol)	52.0

Ver Figura 31(d). **R-33** $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm (posibles rotámeros) 7.69 (2H, m. Hc y He), 7.45 (3H, m. Hb, Hd y Hf), 7.23 (3H, m. H6, H7 y H9), 4.31 (2H, m. Ha), 3.87 (1H, m. H1), 3.57-2.75 (6H, m), 1.33 (3H, d $J = 7.0$ Hz. H1'). **R-35** $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 7.5 (1H, d, $J = 7.4$ Hz. Hf), 7.26-7.19 (4H, m. Hd, H6, H7, H9), 7.00 (1H, d $J = 8.1$ Hz. Hc), 6.84 (1H, t, $J = 7.3$ Hz. He), 4.25 (2H, m. Ha), 3.77 (1H, m. H1), 3.58-72 (6H, m. CH₂), 1.34 (3H, d, $J = 7.1$ Hz. 1'-CH₃). **R34** $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 7.69 (1H, m. Hf), 7.44 (1H, t $J = 7.7$ Hz. Hd), 7.22 (3H, m. H9, H7, H6), 7.11 (1H, dd no resuelto. Hc), 7.01 (1H, dt no resuelto. He), 4.26 (2H, m. Ha), 3.86 (1H, m. H1), 3.82 (3H, m. OCH₃), 3.57-2.65 (6H, m), 1.34 (3H, d $J = 7.1$ Hz. 1'-CH₃).

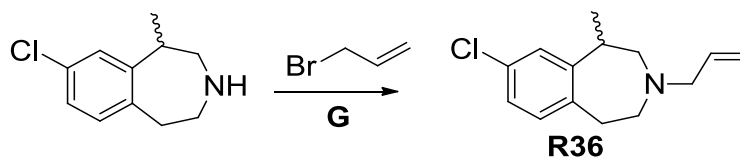


Figura 47. Estructura del compuesto **R36** sintetizado correspondiente a la serie de lorcaserina racémica. G) KOH, bromuro de alilo, tolueno, temperatura ambiente, 24 h.

A 167 mg de base libre de lorcaserina racémica (0.853 mmol) se agregaron 10 mL de tolueno, 150 mg de hidróxido de potasio (2.67 mmol) y 133 mg de bromuro de alilo (1.1 mmol). La mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente por 24 horas. Finalmente fue filtrada y concentrada al vacío, fueron agregados 50 mL de DCM, 20 mL de agua y se extraído 3 veces con DCM, secada con sulfato de sodio y concentrado al vacío. Finalmente fue purificado

mediante cromatografía en columna utilizando una fase móvil de 20% de acetato de etilo en hexano. El producto es convertido al respectivo clorhidrato, obteniéndose 129 mg con un rendimiento de 47.21%. **R36 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm** 7.19 (1H, s, H9), 7.13 (1H, dd $J = 8.1$ Hz, 1.7 Hz. H7), 7.07 (1H, d $J = 8.1$ Hz. H6), 5.82–5.71 (1H, m. Hb), 5.44–5.39 (2H, m. Hc), 3.61 (2H, d $J = 7.1$ Hz. Ha), 3.30–2.82 (7H, m), 1.26 (3H, d $J = 7.2$ Hz. 1'-CH₃).

8.4. Síntesis de derivados análogos de Fenfluramina.

8.4.1. Síntesis de 1-(2-metil-2-nitrovinil)-3-trifluorometilbenceno.

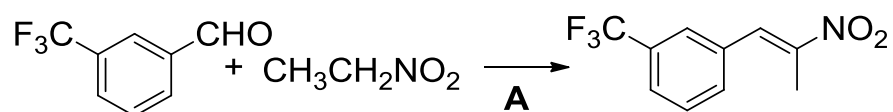


Figura 48. Estructuras de compuesto sintetizado correspondiente a la serie de fenfluramina. A) líquido iónico (formiato de etanolamonio), temperatura ambiente, 36 h.

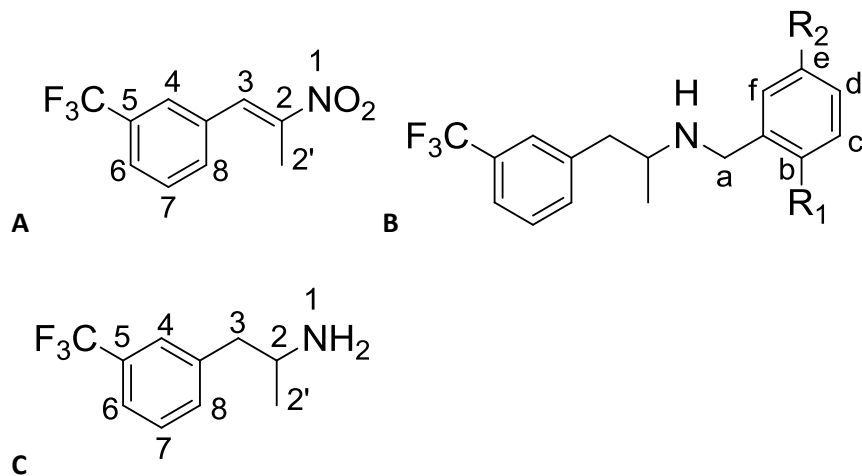


Figura 49. Estructura general de compuestos análogos de fenfluramina con la numeración a utilizar para detallar el análisis de NMR según corresponda al compuesto de síntesis.

Se disolvieron 2.50 g (14.35 mmol) de 3-trifluorometilbenzaldehído en 15 mL de líquido iónico (formiato de etanolamonio), fue adicionado 1.19 g (15.79 mmol) de nitroetano. La mezcla de reacción fue agitada durante tres días a temperatura ambiente. El producto fue purificado por cromatografía en columna utilizado una fase móvil de 5% de metanol en DCM, obteniéndose 2.525 g de producto puro con un 76.11% de rendimiento. Ver figura 49(a). **$^1\text{H NMR}$ (400 MHz,**

CDCl_3) δ ppm 8.07 (1H, s. H3), 7.68-7.66 (2H, m. Fenilo), 7.60-7.59 (2H, m. Fenilo), 2.44 (3H, s. 2'-CH₃).

8.4.2. Síntesis de (*R,S*)-3-trifluorometilfenilisopropilamina.

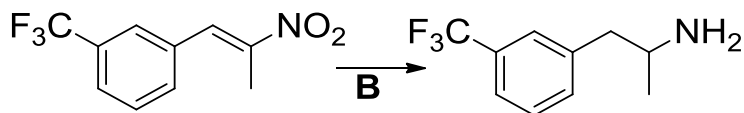


Figura 50. Estructura del compuesto sintetizado correspondiente a la serie de fenfluramina. B) LiAlH_4 , reflujo, THF, 36 h.

Fueron disueltos 1.48 g (6.40 mmol) de nitroestireno en 100 mL de THF, se agregaron lentamente 3 g de LiAlH_4 en un baño agua/hielo. La mezcla de reacción fue agitada a la temperatura de reflujo por tres días. La reacción fue terminada agregando gota a gota una solución saturada de tartrato de sodio y potasio enfriando en un baño de agua/hielo hasta que hubo reaccionado todo el LiAlH_4 . Posteriormente fue filtrada la mezcla de reacción, concentrada al vacío y purificada por cromatografía en columna utilizando una fase móvil de 5% de metanol en DCM obteniéndose 1.08 g de producto como base libre (5.31 mmol) con un 83.0% de rendimiento. Ver Figura 49(b). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, D_2O) δ ppm 7.70-7.48 (4H, m. H4, 6, H7 y H8), 3.68 (1H, m. H2), 3.05 (2H, dq $J = 14.1, 7.6$ Hz. H3), 1.32 (3H, d $J = 6.6$ Hz. 2'-CH₃). También aparece una señal importante a 6.86 (0.20 H, t, $J = 56.1$ Hz).

8.4.3. Síntesis de derivados *N*-bencilados análogos de fenfluramina ((*R,S*)-*N*-etil-3-trifluorometilfenilisopropilamina).

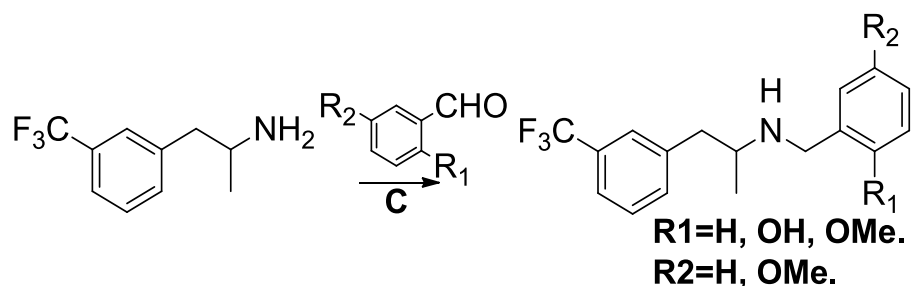


Figura 51. Estructuras de compuestos sintetizados correspondientes a la serie de fenfluramina. C) R-CHO, DCM, temperatura ambiente, 48 h.

Fueron disueltas las cantidades indicadas en Tabla 10 de 3-trifluorometilfenilisopropilamina en 6 mL de metanol y fueron adicionados dos equivalentes del correspondiente benzaldehído. Luego de dos días agitación a temperatura ambiente fueron adicionados lentamente 2.5 equivalentes de NaBH₄. La mezcla de reacción fue filtrada, concentrada al vacío y purificada por cromatografía en columna utilizando como fase móvil 20% de acetato de etilo en hexano. Los correspondientes productos puros fueron transformados a los respectivos clorhidratos.

Tabla 10. Rendimientos de compuestos de la serie análogos de fenfluramina. Los cálculos de rendimiento fueron basados en la obtención de los respectivos clorhidratos.

Compuesto	sustituyentes	Cantidad de fenilisopropilamina	benzaldehído	% Rendimiento
R18	R ₁ =H, R ₂ =H	130 mg, (0.6397 mmol)	136 mg (1.279 mmol)	35.17 *
R21	R ₁ =OMe. R ₂ =H	277 mg, (1.363 mmol)	371 mg (2.726 mmol)	58.08*
R24	R ₁ =OMe, R ₂ =OMe	404 mg, (1.988 mmol)	660 mg (3.976 mmol)	33.67

*rendimiento calculado con la base libre obtenida

Ver figura 49. **R18.** ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ ppm 7.70–7.41 (9H, m. H-fenilos), 4.32 (2H, qd J = 13.2, 3.6 Hz. Ha), 3.67 (1H, m. H2), 3.30 (1H, m.), 2.95 (1H, ddd, J = 13.8, 9.0, 4.9 Hz), 1.34 (3H, d J = 6.6 Hz. 2'-CH₃). También aparece un triplete a 6.84 (J = 56.1 Hz). **R21.** ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ ppm 7.74–7.32 (6H, m. H4, H6, H7, H8, Hd y Hf), 7.07 (2H, t J = 7.9 Hz. Hc y He), 4.45–4.17 (2H, m. Ha), 3.70 (3H, d J = 5.6 Hz. OCH₃), 3.55 (1H, m. H2), 3.27–2.92 (2H, m. H3), 1.38 (3H,

d $J = 6.2$ Hz. 2'-CH₃). También aparece un triplete a 6.82 ($J = 56.2$ Hz). **R24.** ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 7.70-7.48 (4H, m. H4, H6, H7 y H8), 6.92 (3H, m. Hc, Hd y Hf), 4.05 (2H,m. Ha), 3.65 y 6.62 (6H, s. OCH₃), 3.29 (1H, dd $J = 13.8$ Hz, 6.4 Hz. H2), 3.13-276 (2H, m.H3), 1.32 (3H, d $J = 6.6$ Hz. 2'-CH₃).

8.5. Síntesis de derivados de 1,3-dinitropropanos.

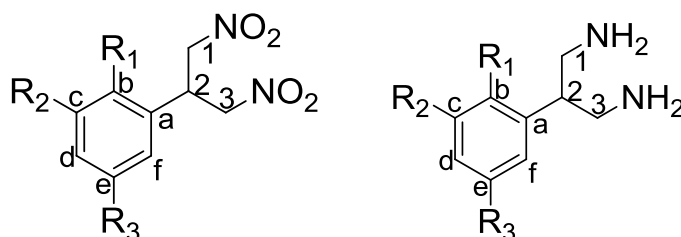


Figura 52. Numeración de los compuestos a utilizar para describir los espectros de NMR.

Fueron disueltos 10 mmol del correspondiente benzaldehído en 50 mL de nitrometano y se agregaron 2.5 g (30 mmol) de bicarbonato de sodio. La reacción fue agitada a reflujo por tres días. Posteriormente fue filtrada y se concentra al vacío. La mezcla de reacción fue purifica mediante cromatografía en columna usando como fase móvil una mezcla 20% de acetato de etilo en hexano.

Tabla 11. Rendimiento de compuestos derivados de 1,3-dinitropropanos.

Compuesto	Cantidad de benzaldehído	Cantidad de NaHCO ₃	Rendimiento %
C1-R16	1.06 g (10 mmol)	2.50 g 30 mmol	38.1
C2-R13	1.74 g (10 mmol)	2.50 g 30 mmol	43.1
C3-R25	1.67 g 10 mmol	2.50 g 30 mmol	41.7

Ver Figura 52. **R16.** ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.425-7.34 (3H, m, H-fenilos), 7.24-7.22 (2H, m H- fenilos), 4.78 (4H, m. H1 y H3), 4.32 (1H, q $J = 7.2$ Hz. H2). **R13.** ¹H NMR (400 MHz,

CDCl_3 δ ppm 7.65 (1H, d $J = 7.8$ Hz. Hd), 7.55 (1H, t $J = 7.8$ Hz. He), 7.51 (1H, s. Hb), 4.79 (4H, dd $J = 13.0, 6.6$ Hz. H1 y H3), 4.41 (1H, q $J = 7.1$ Hz. H2). **R25.** $^1\text{H NMR}$ (400 M-Hz, CDCl_3) δ ppm 6.83 (2H, s. Hc y Hd), 6.71 (H, s. Hf), 4.85 (4H, d aparente $J = 7.0$ Hz), 4.40 (1H, dt, $J = 14.0, 7.0$ Hz. H2), 3.83 (3H, s. OCH_3), 3.75 (3H, s. OCH_3).

8.5.1. Síntesis de 2-aril-1,3-propandiamina (DAP).

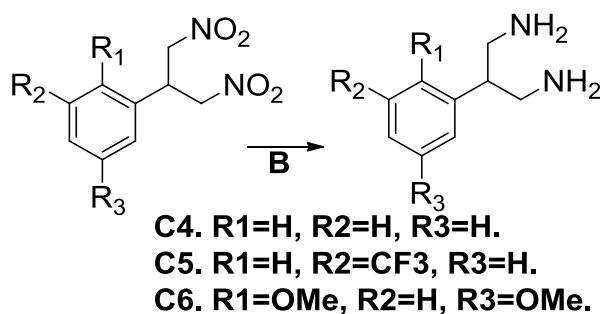


Figura 53. Estructuras de compuestos pertenecientes a la serie DAP.

Fueron disueltas las cantidades indicadas de los compuestos de Tabla 12 en 20 mL de metanol, luego fueron agregadas las cantidades indicadas de PtO_2 en una botella de presión. Fue inyectado H_2 a 70 psi y se dejó en agitación por 3 días. La mezcla de reacción fue filtrada y concentrada al vacío. Los productos se purificaron por cromatografía en columna utilizando una mezcla de 5% de metanol en DCM. Los compuestos luego fueron convertidos a los respectivos clorhidratos.

Tabla 12. Rendimiento de compuestos de la serie DAP. Los cálculos de rendimiento fueron basados en la obtención de los respectivos clorhidratos.

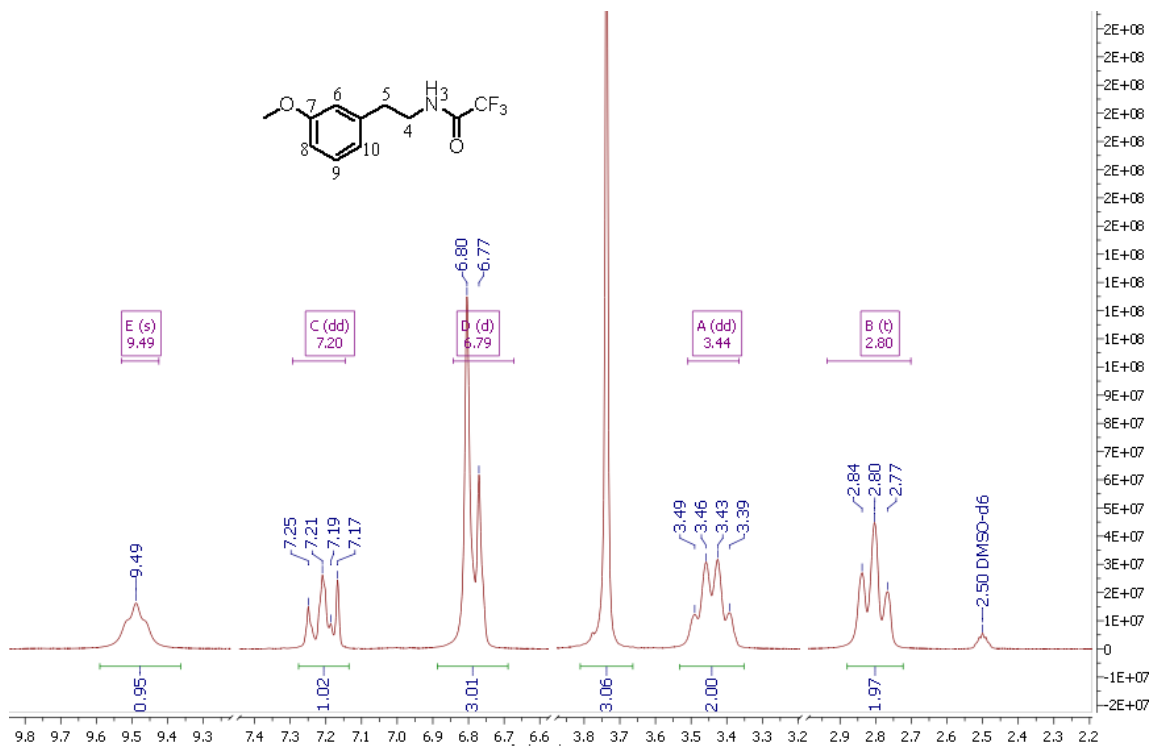
Compuesto	Masa (mg)	PtO_2	Rendimiento %
C4	0.428 (2.036 mmol)	30 mg	100
C5	0.430 (1,546 mmol)	60 mg	43.54

C6	0.660 (2.442 mmol)	30 mg	31.48
-----------	-----------------------	-------	-------

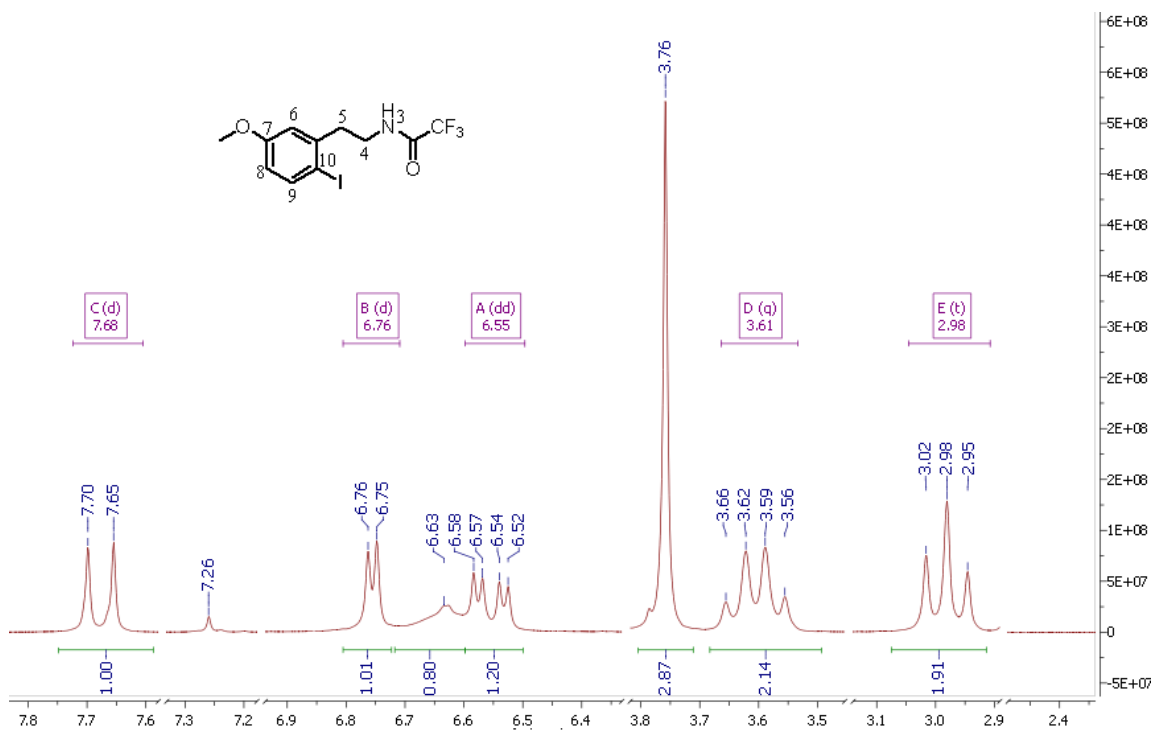
Ver figura 52. **C4¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm** 7.59-7.47 (5H, m. H-fenilos), 3.53-3.25 (5H, m. H1, H2 y H3). **C5¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm** 7.78 (1H, s. Hb), 7.73 (1H, d *J* = 7.6 Hz. Hf), 7.67 (1H, d *J* = 7.8 Hz. Hd), 7.61 (1H, t *J* = 7.6 Hz. He), 3.64–3.50 (1H, m. H-2), 3.37 (2H, dd *J* = 13.1 Hz, 6.0 Hz), 3.08 (2H, dd *J* = 13.1, 8.5 Hz). **¹³C NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm** 138.76 (C-a), 132.79 (C-f), 129.88 (C-e), 129.50 (C-c, q *J* = 31.50 Hz), 125.47 (C-b, d *J* = 3.7 Hz), 124.75 (C-d, d *J* = 3.7 Hz), 124.27 (CF₃, q *J* = 272.41 Hz), 41.35 (C-2), 41.22 (C-1 y C-2). **C6¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm** 6.94 (1H, d *J* = 8.9 Hz. Hc), 6.86 (1H, d, *J* = 9.0 Hz. Hd), 6.76 (1H, s. Hf), 3.67 (6H, s. OCH₃), 3.46–3.31 (1H, m. H2), 3.25–3.03 (4H, m. H1 y H3).

Anexos

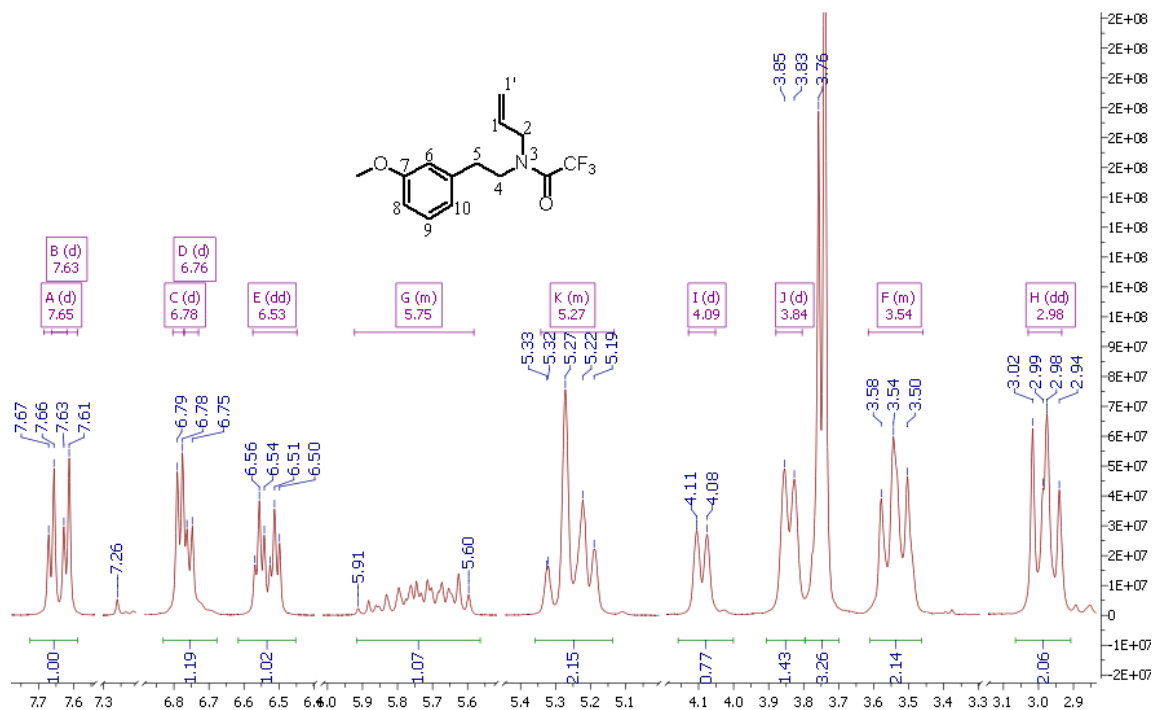
Compuesto (a1) N-trifluoroacetil-3-metoxifeniletilamina.



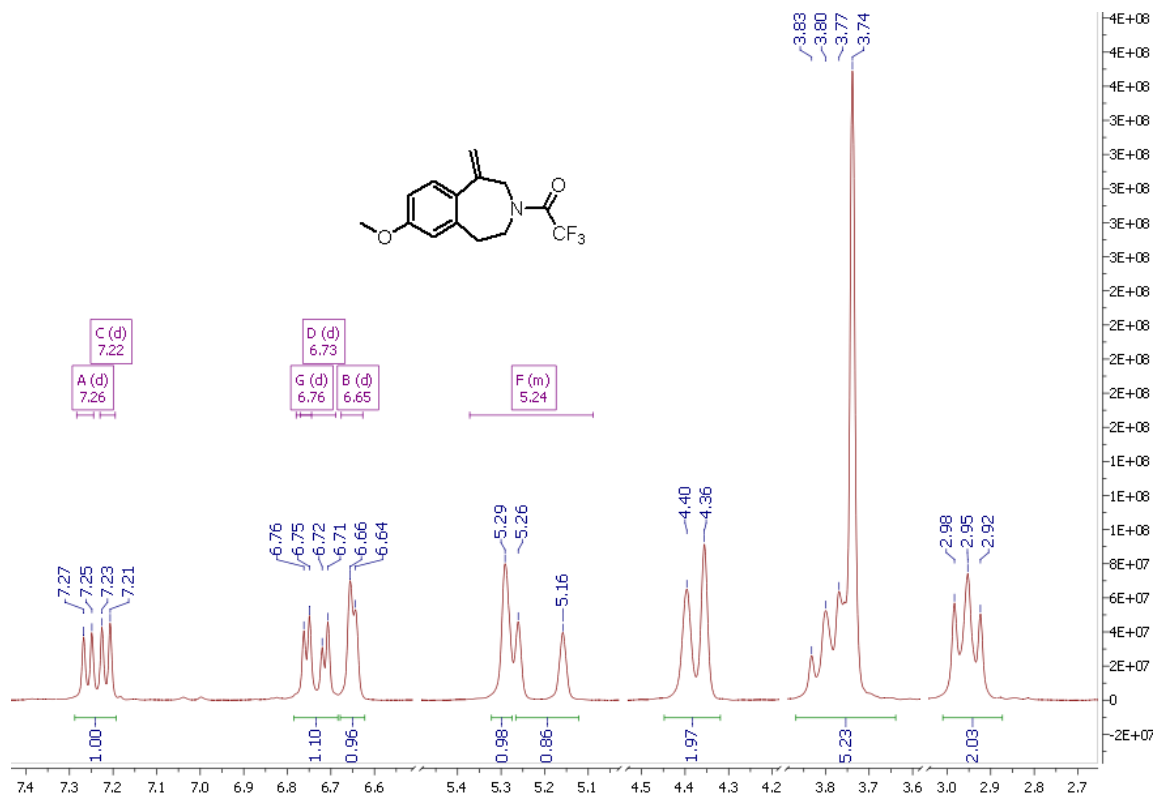
Compuesto b1 N-trifluoroacetil-2-yodo-5-metoxifeniletilamina.



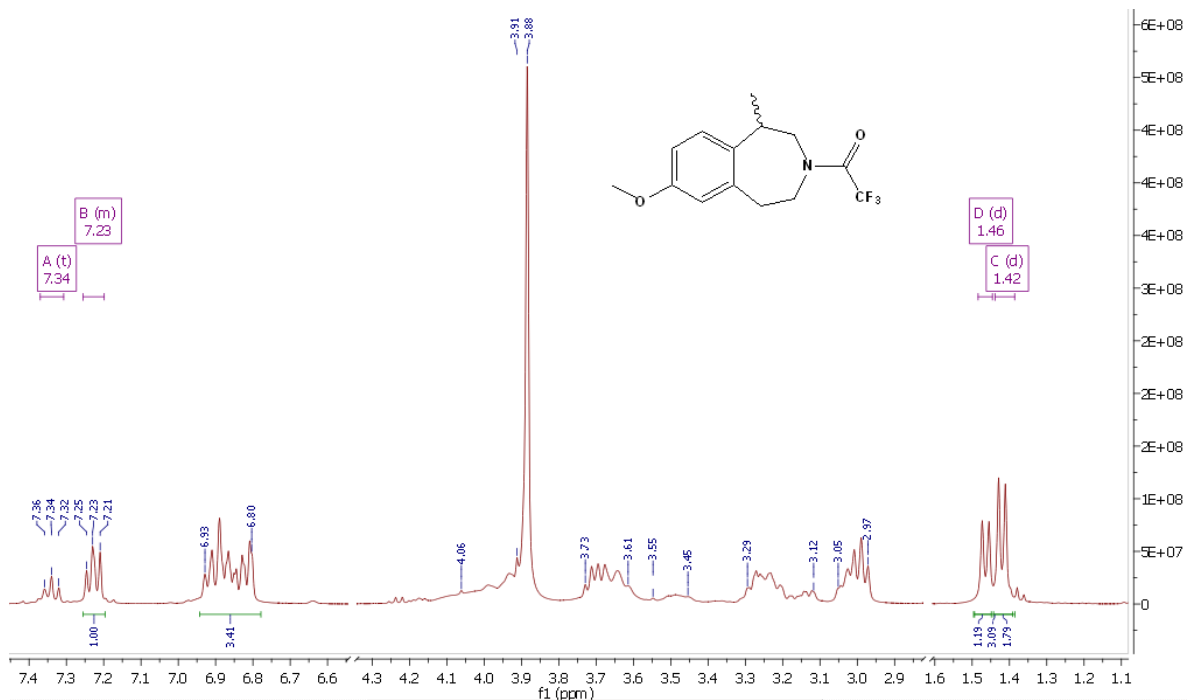
Compuesto c3 N-alil-N-trifluoroacetil-2-yodo-5-metoxifeniletilamina.



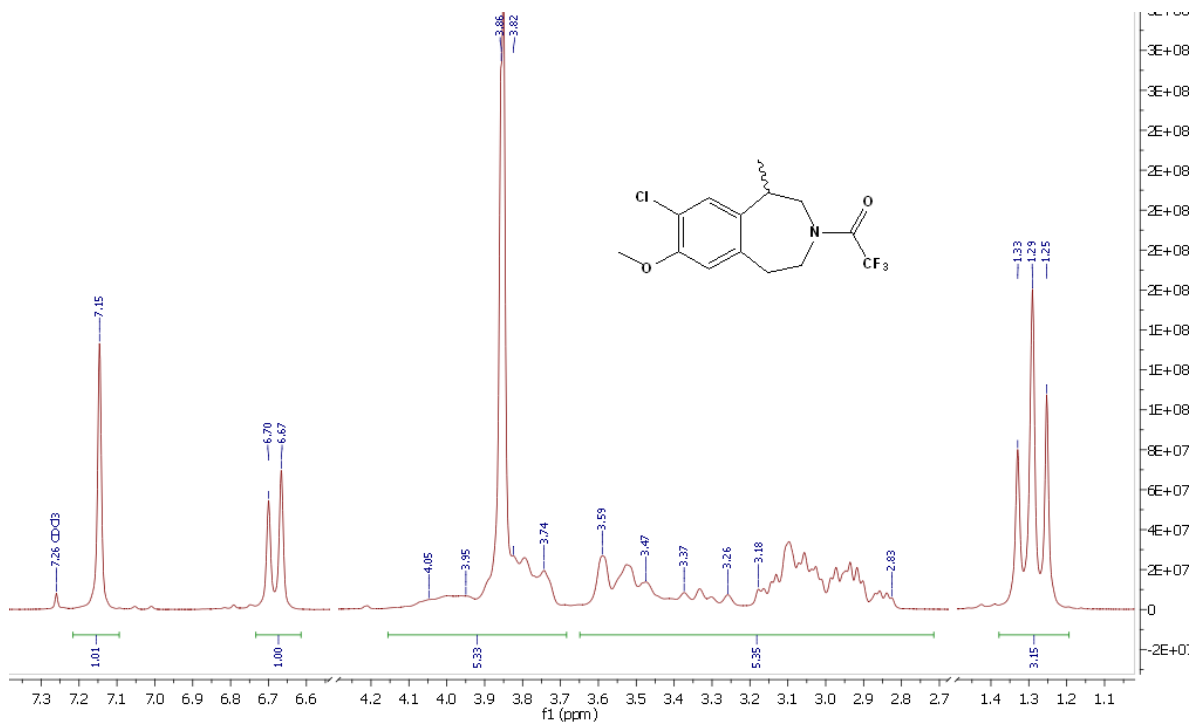
Compuesto d1 7-Metoxi-1-metilen-N-trifluoroacetil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-benzazepina.



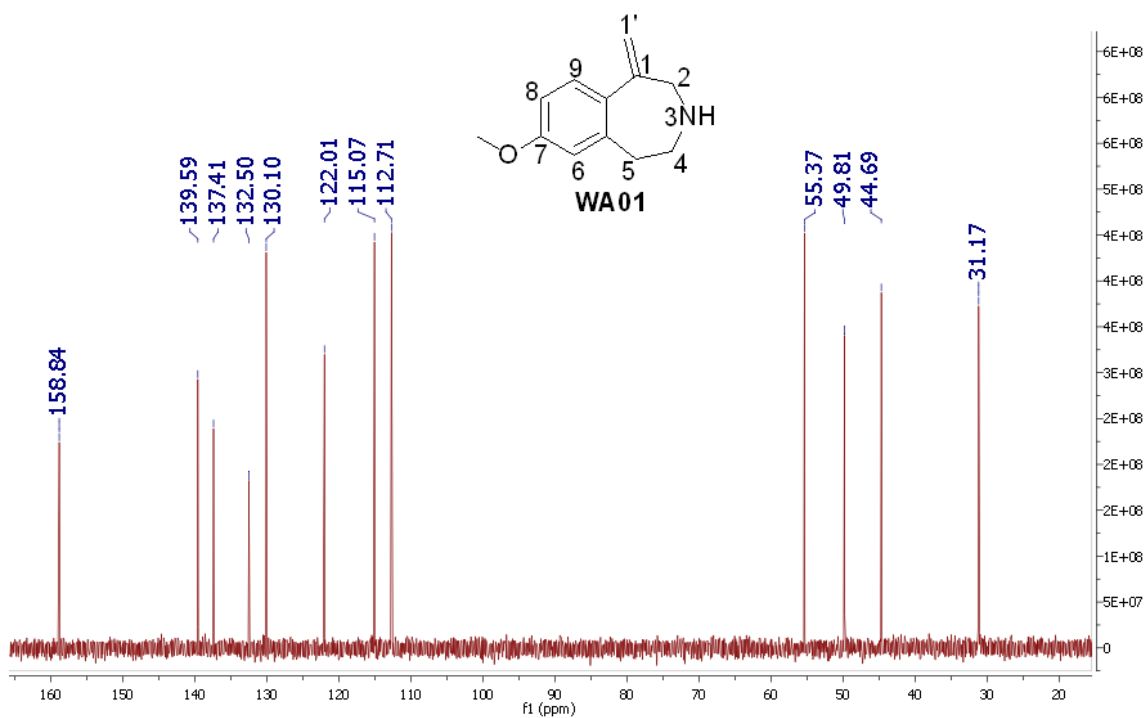
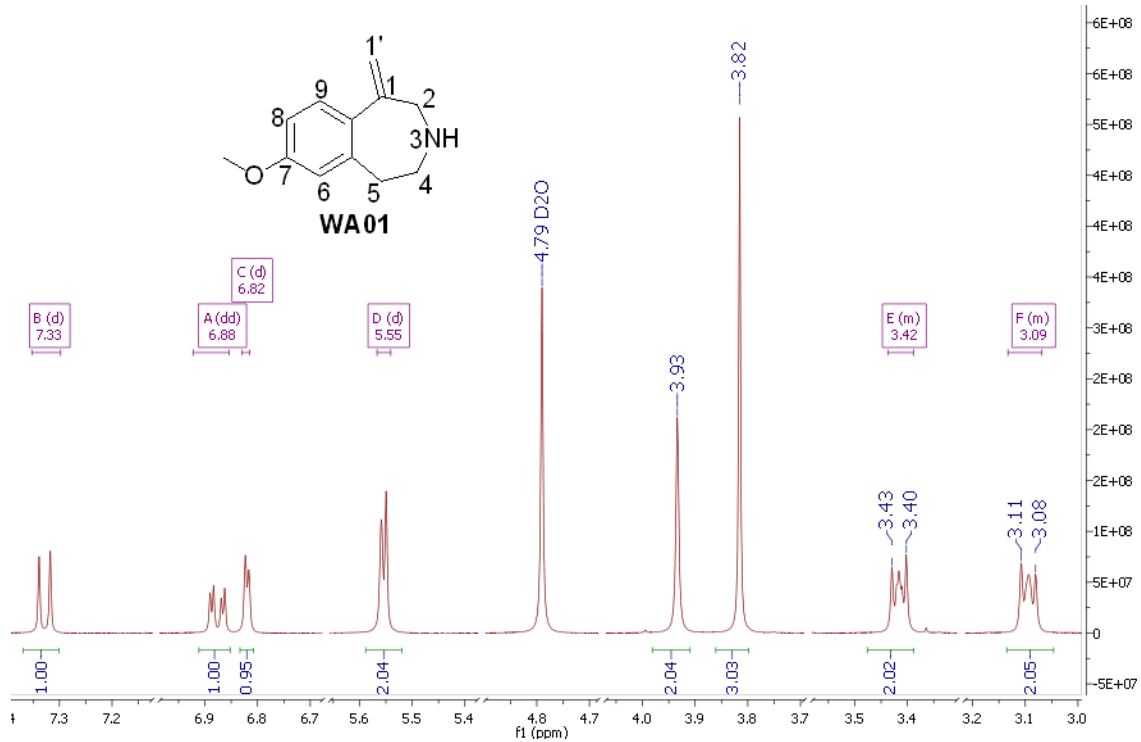
Compuesto d2 (R,S)-7-metoxi-1-metil-N-trifluoroacetyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-benzazepina.



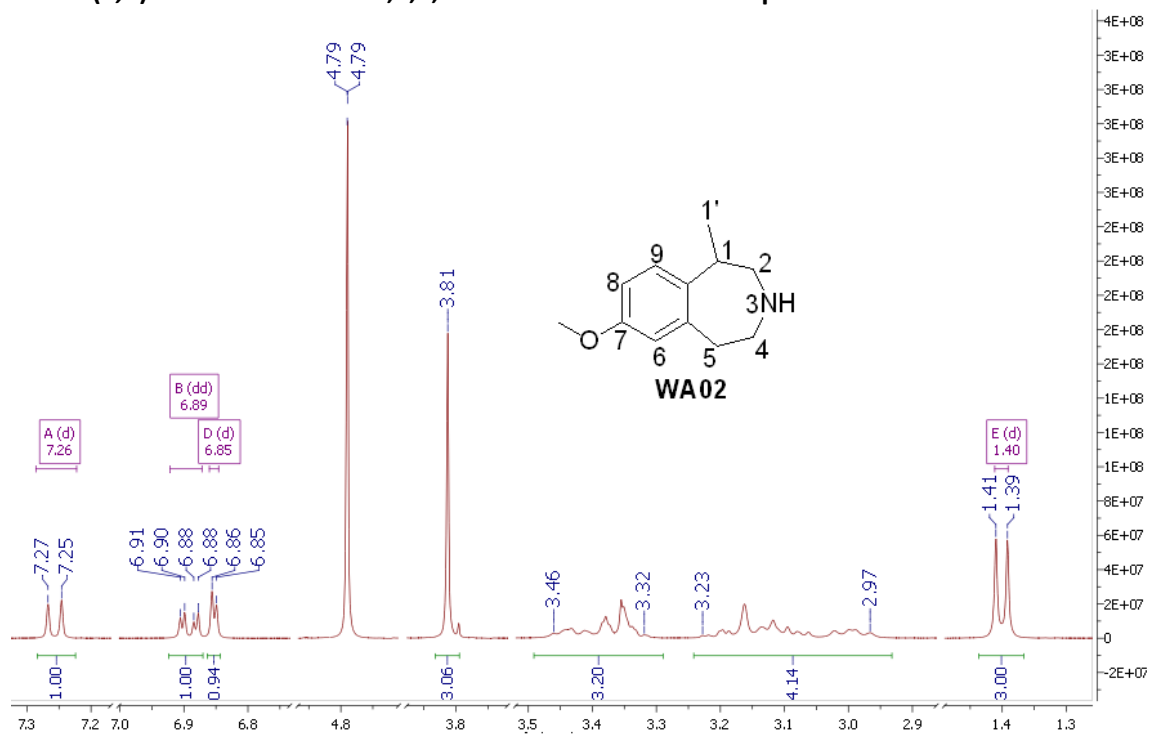
Compuesto d3 (R,S)-8-cloro-7-metoxi-1-metil-N-trifluoroacetyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-benzazepina.



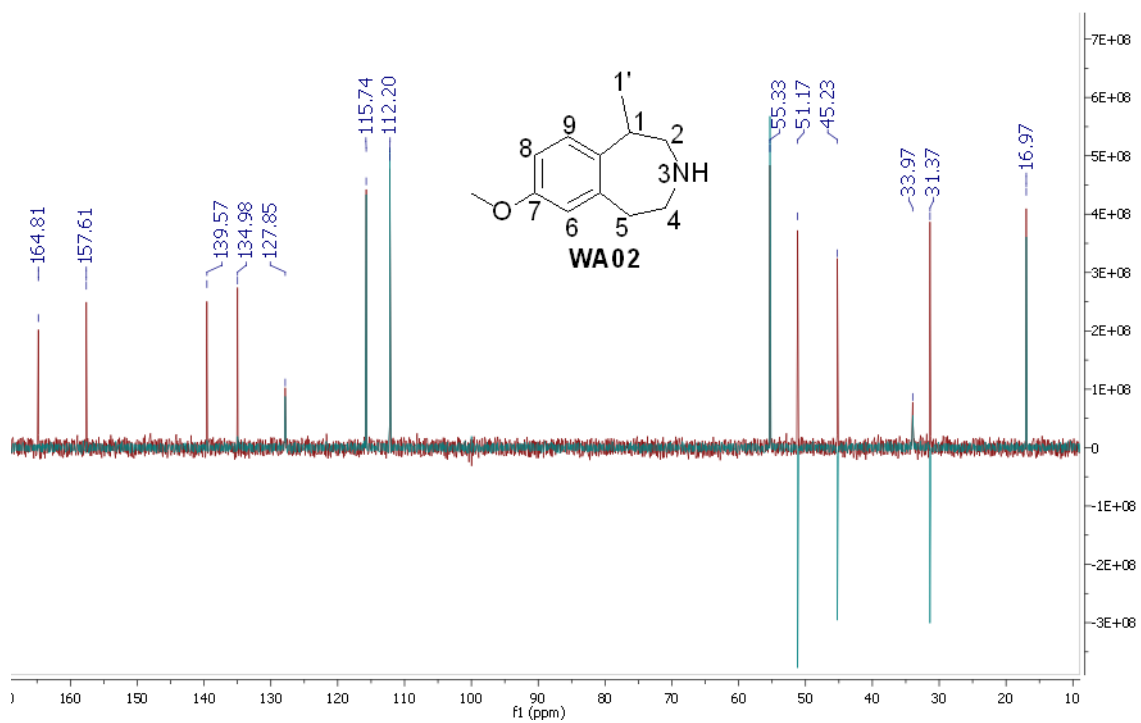
WA01 7-metoksi-1-metilen-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-benzazepina.



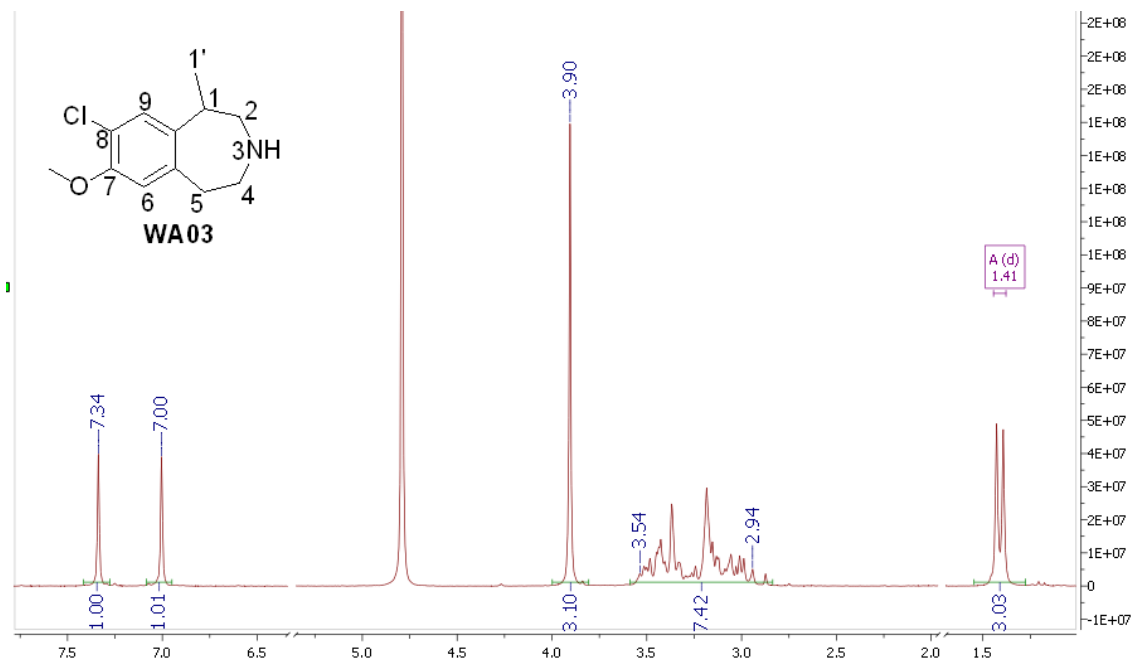
WA02 (R,S)-7-metoxi-1-metil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-benzazepina.



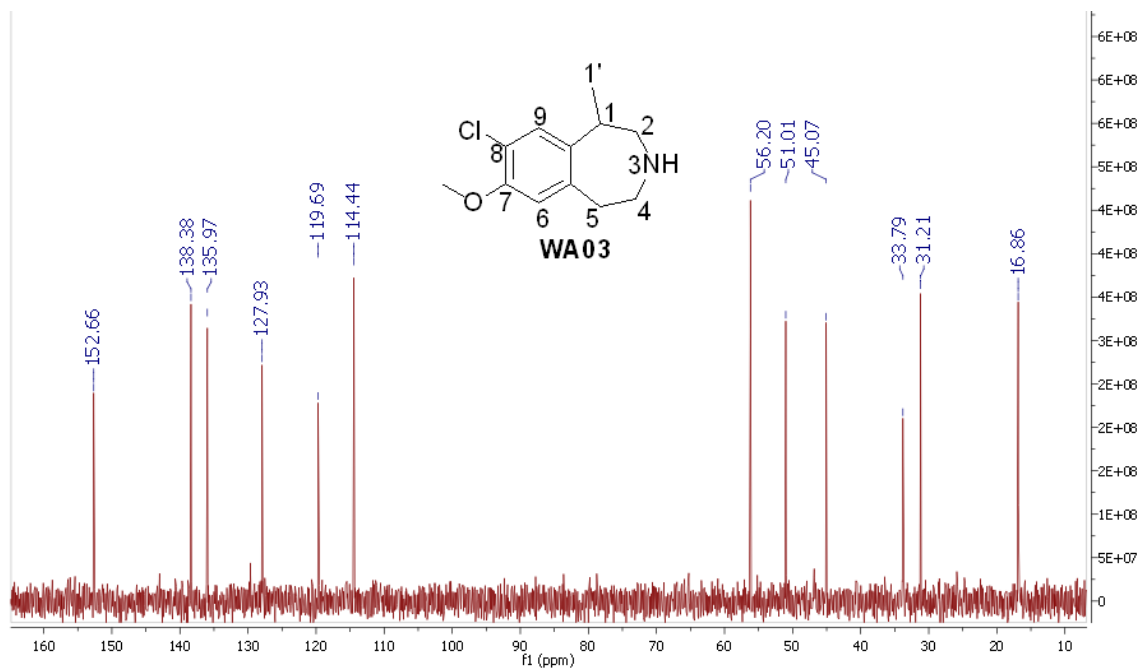
¹³C NMR color rojo. DEPT 135 color azul.



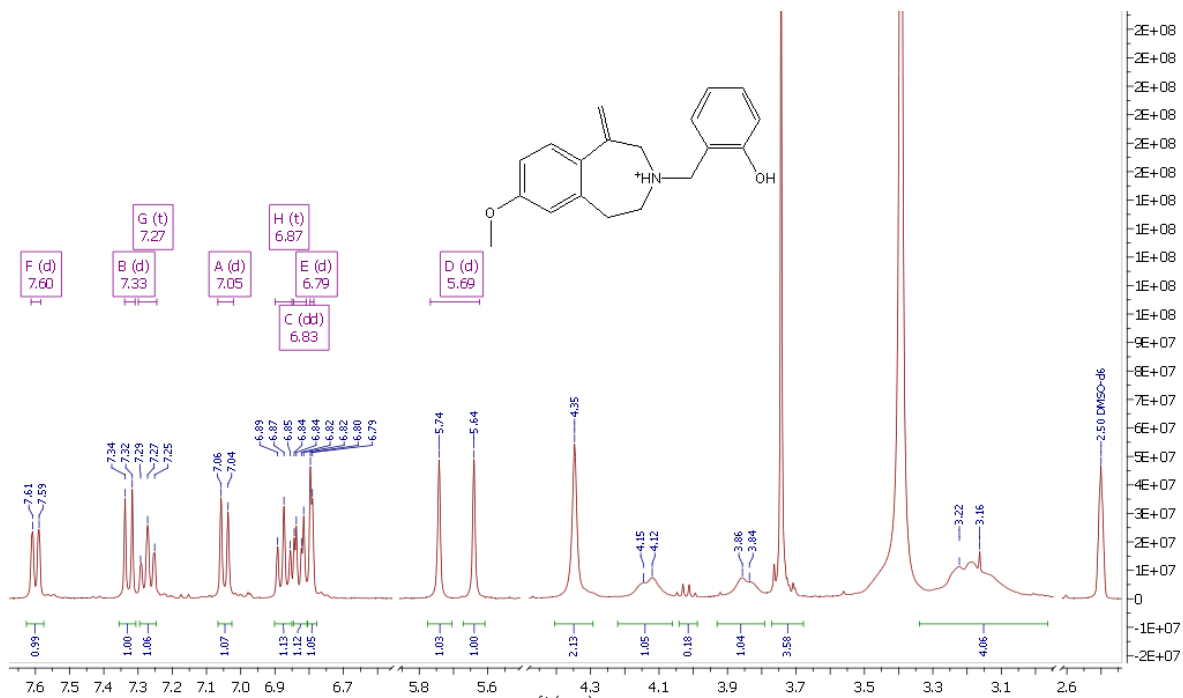
WA03 (*R,S*)-8-cloro-7-metoxi-1-metil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-3-benzazepina.



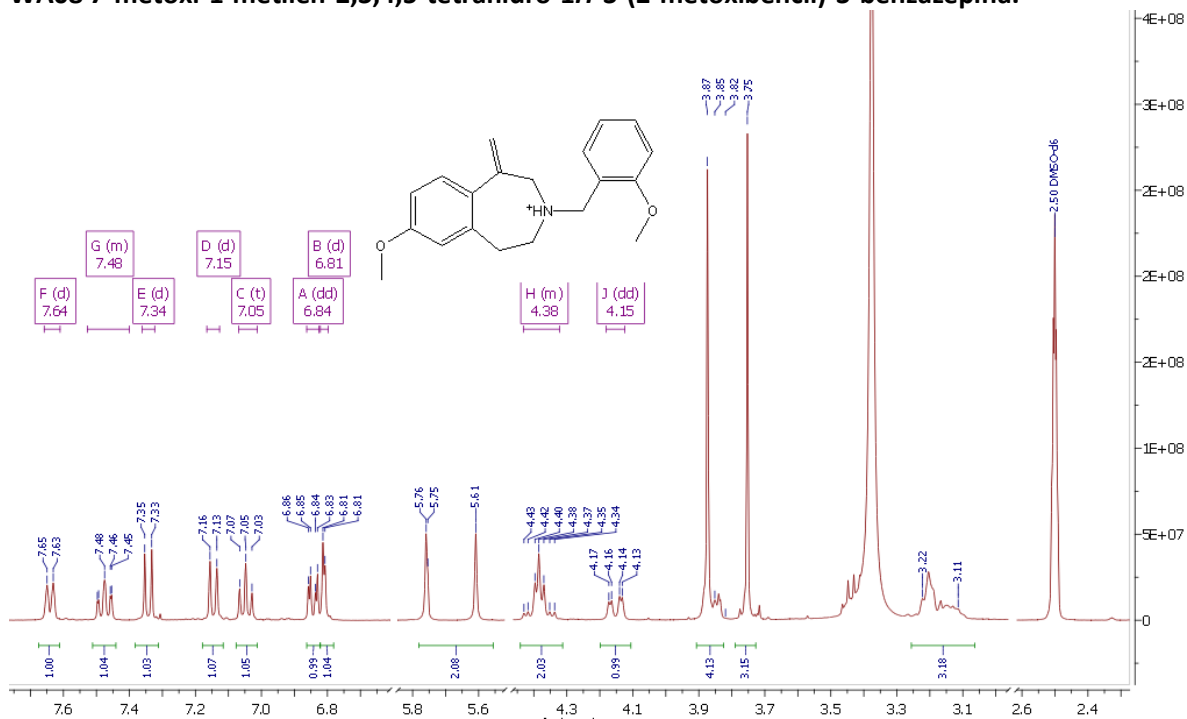
¹³C NMR



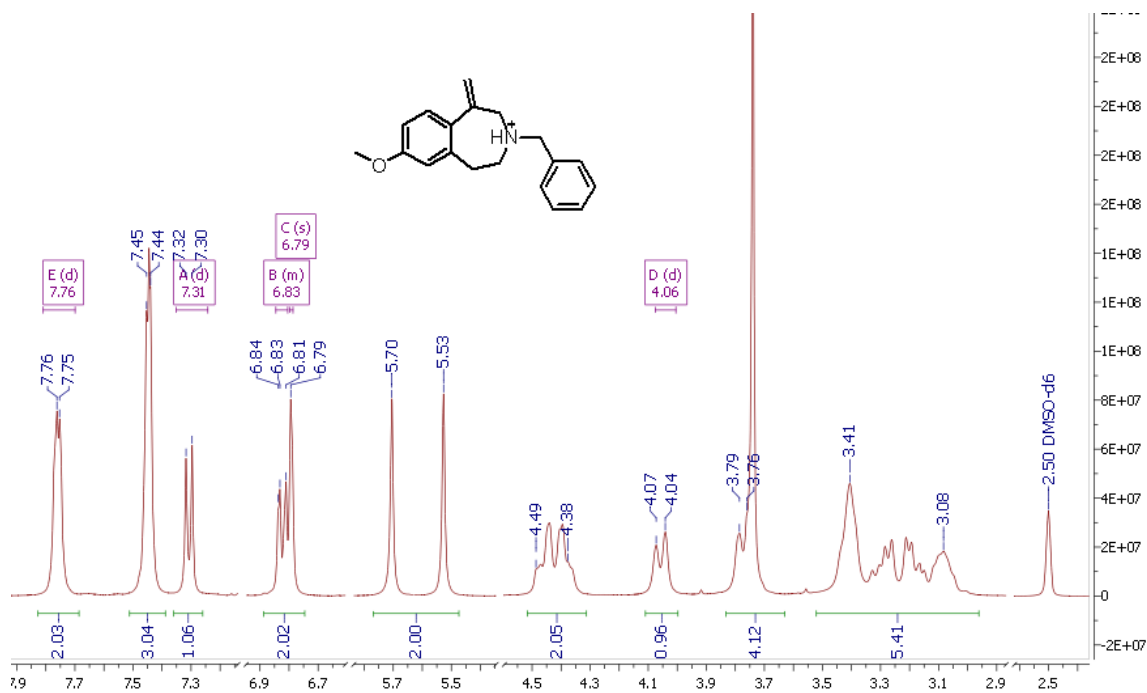
WA07 7-metoxi-1-metilen-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-(2-hidroxibencil)-3-benzazepina.



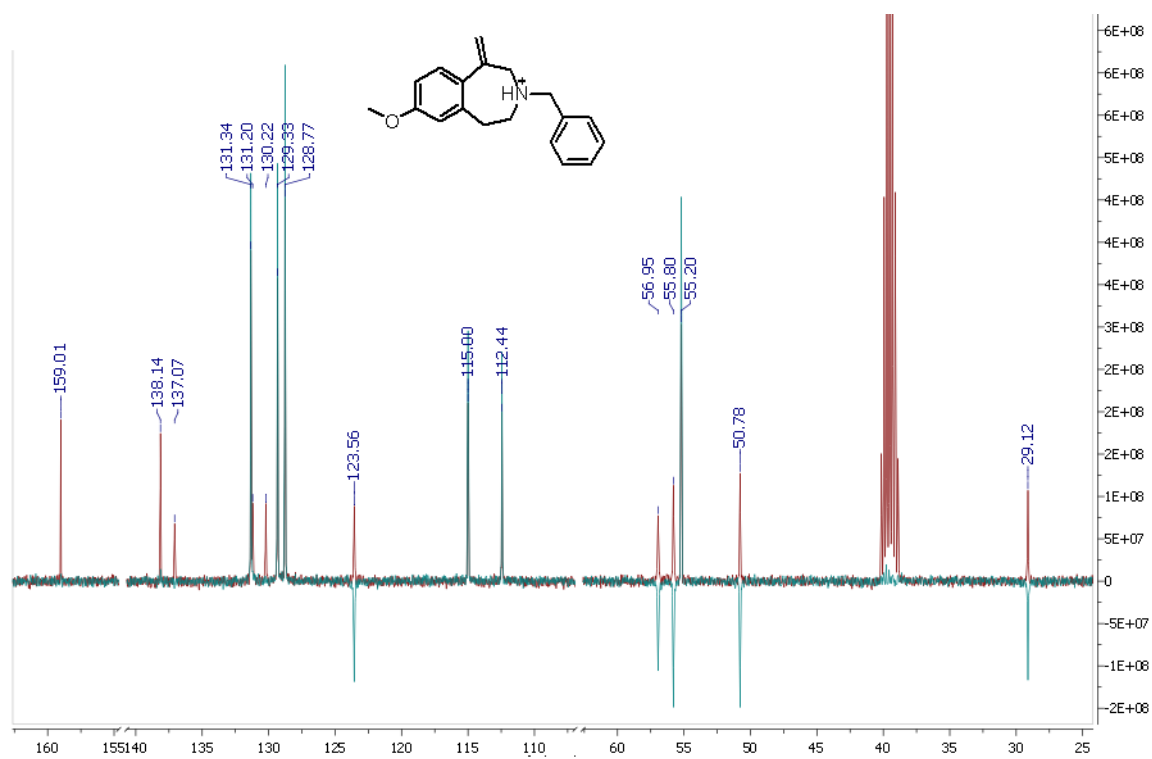
WA08 7-metoxi-1-metilen-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-(2-metoxibencil)-3-benzazepina.



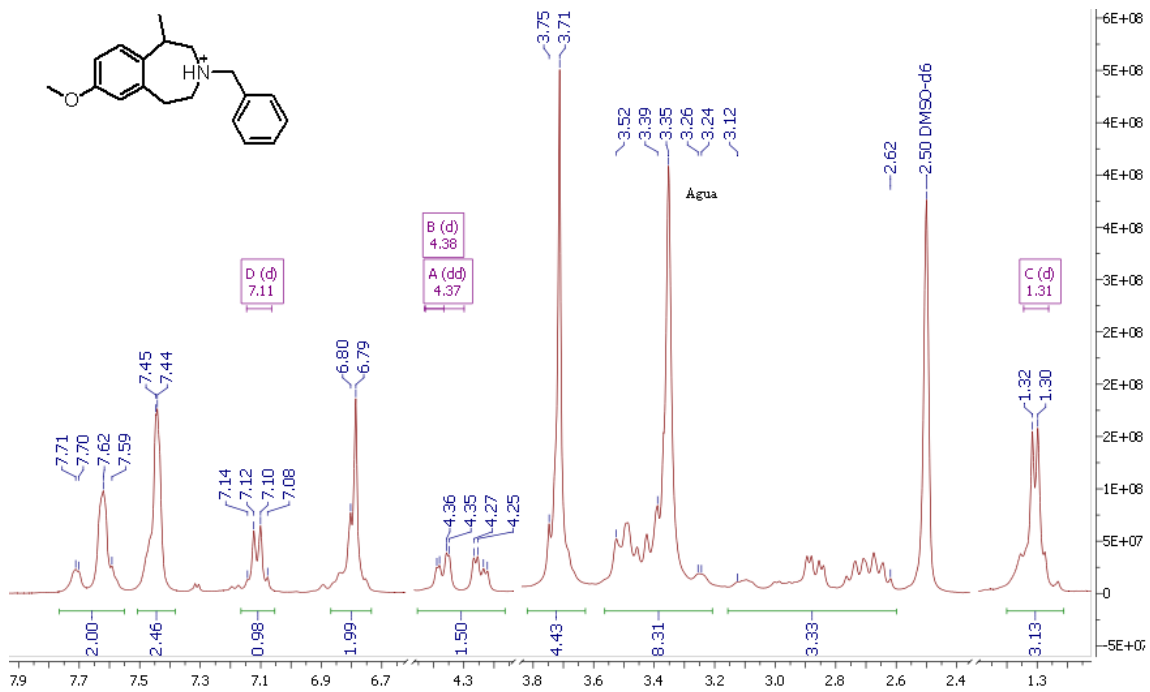
WA09 7-metoxi-1-metilen-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-bencil-3-benzazepina.



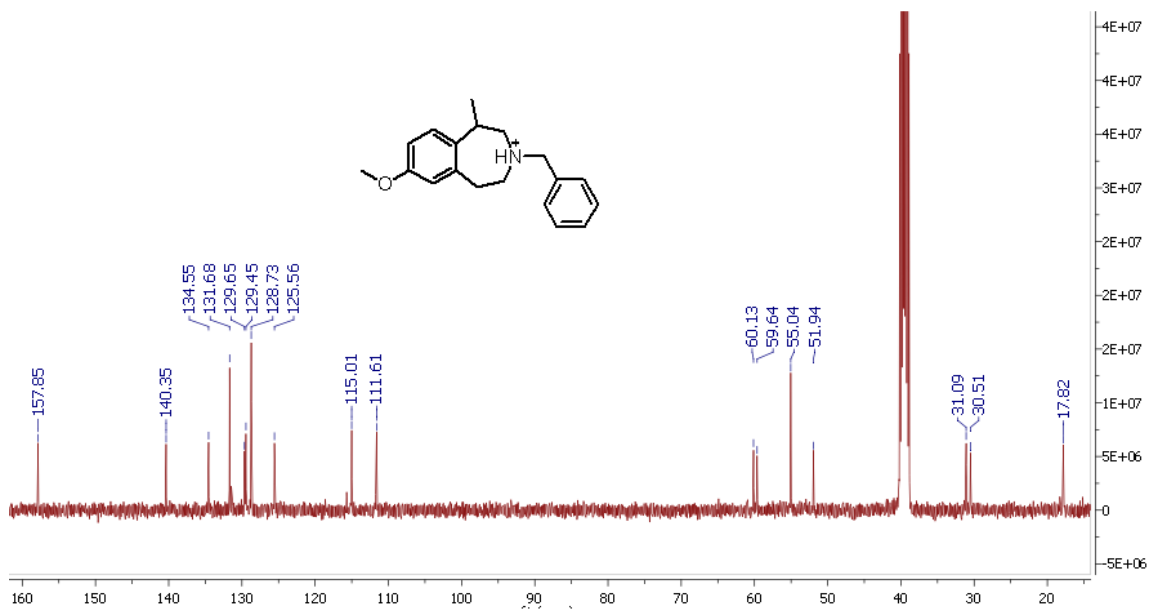
¹³C NMR color rojo. DEPT 135 color azul.



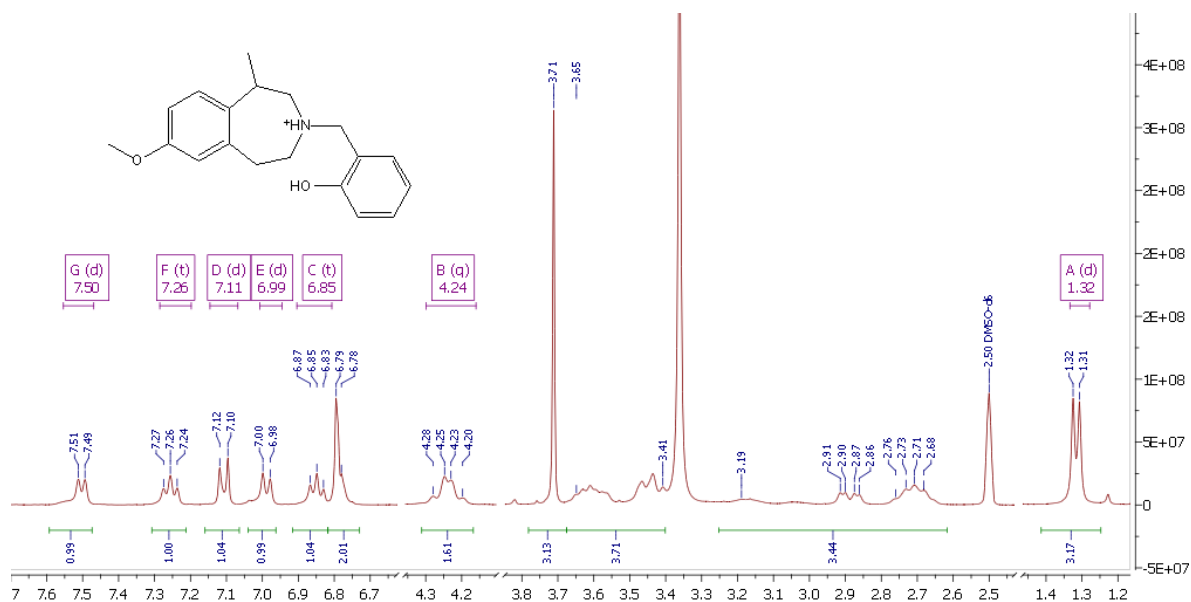
WA11 (*R,S*)-7-metoxi-1-metil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-3-bencil-3-benzazepina



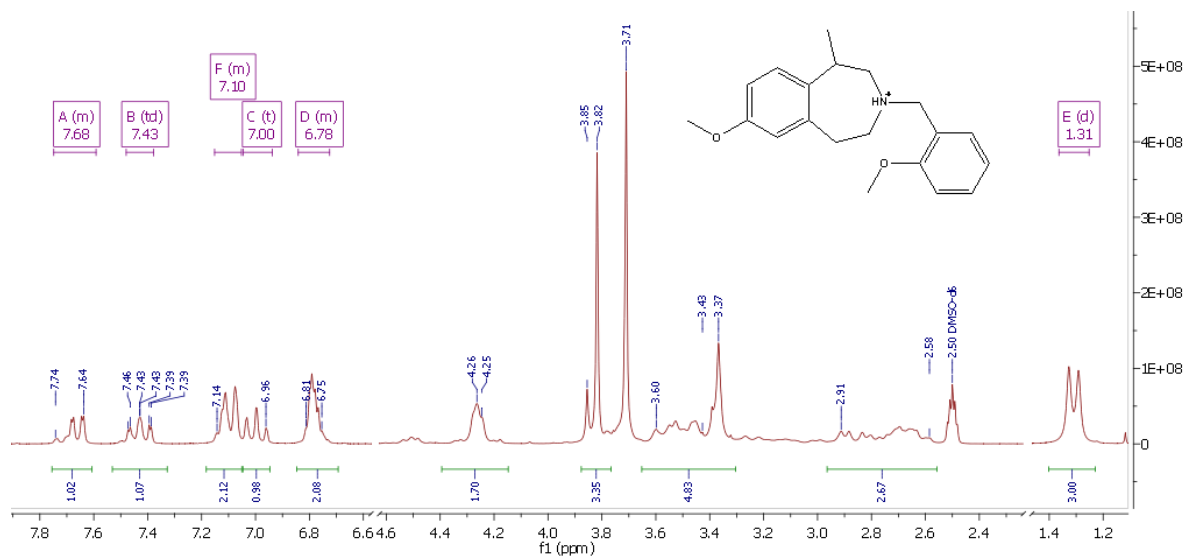
¹³C NMR.



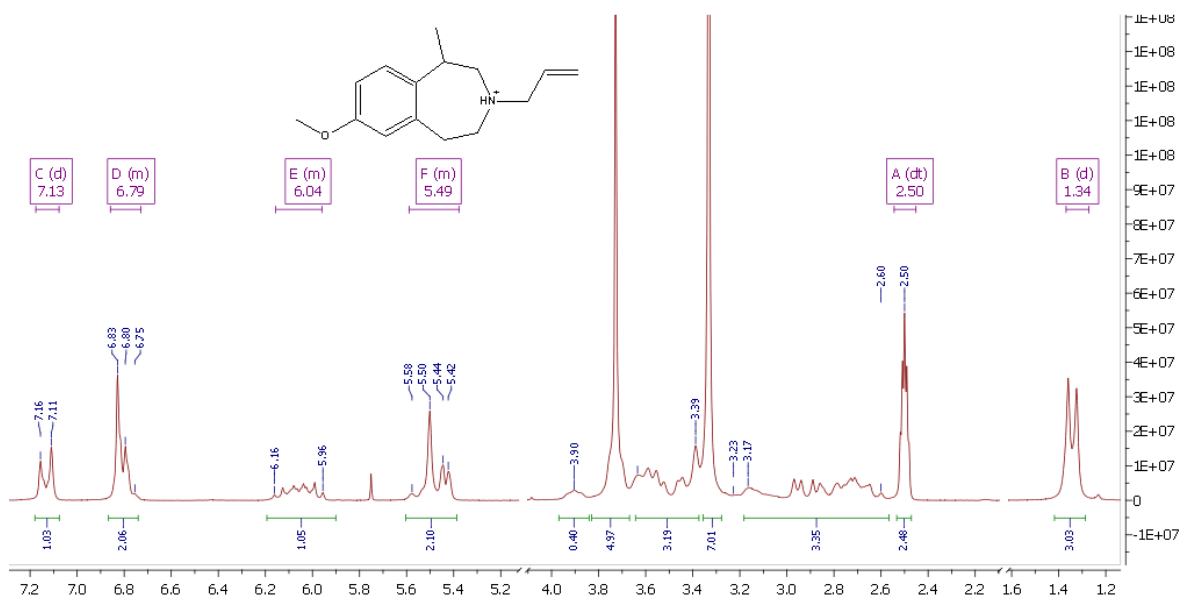
WA04 (R,S)-7-metoksi-1-metil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-(2-hidroxibencil)-3-benzazepina



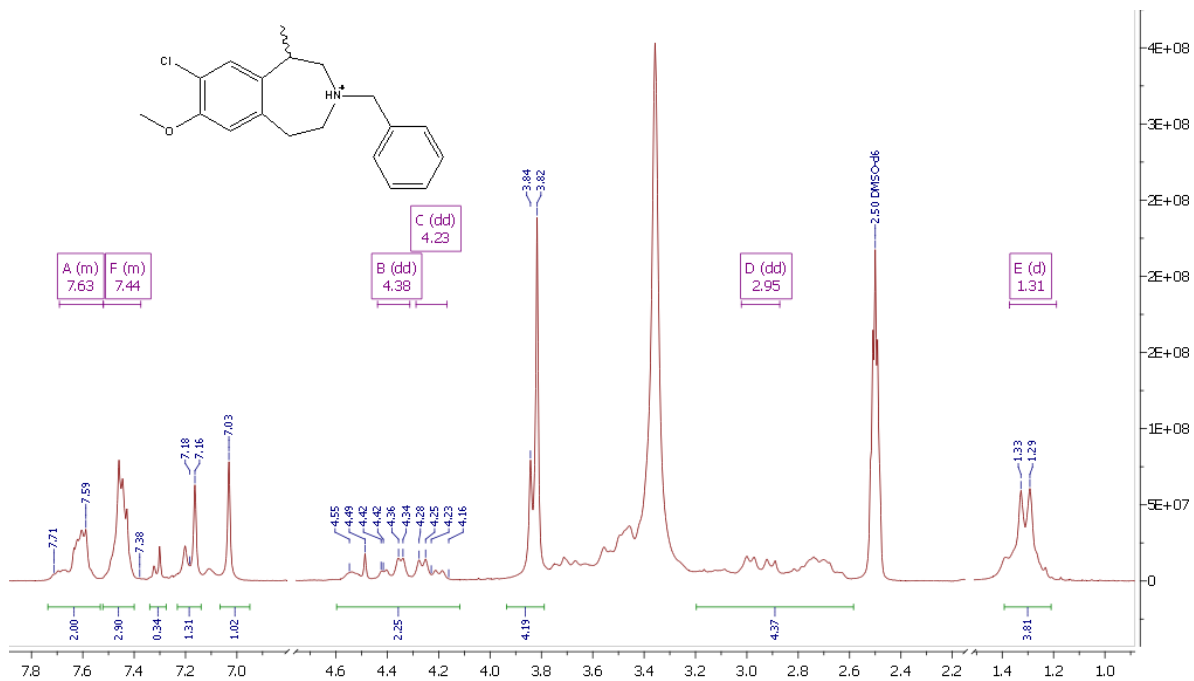
WA12 (R,S)-7-metoksi-1-metil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-(2-metoxibencil)-3-benzazepina



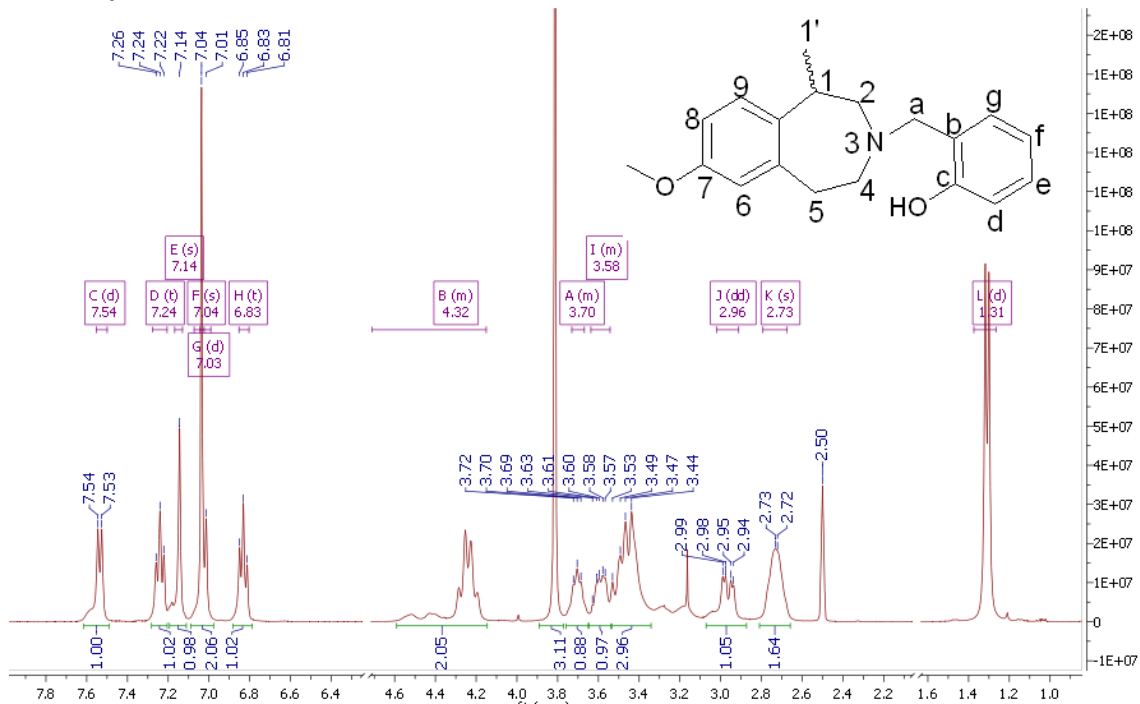
WA14 (R,S)-3-alil-7-metoxi-1-metil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-benzazepina.



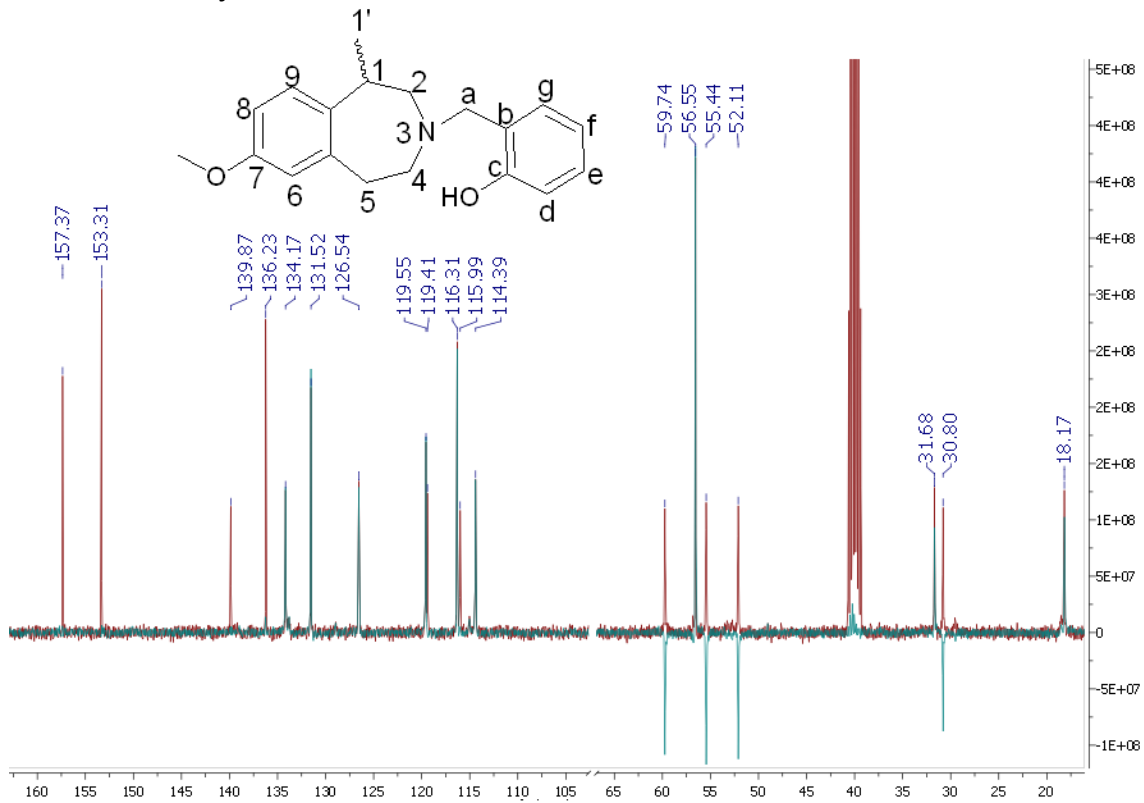
WA10 (R,S)-8-cloro-7-metoxi-1-metil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-bencil-3-benzazepina



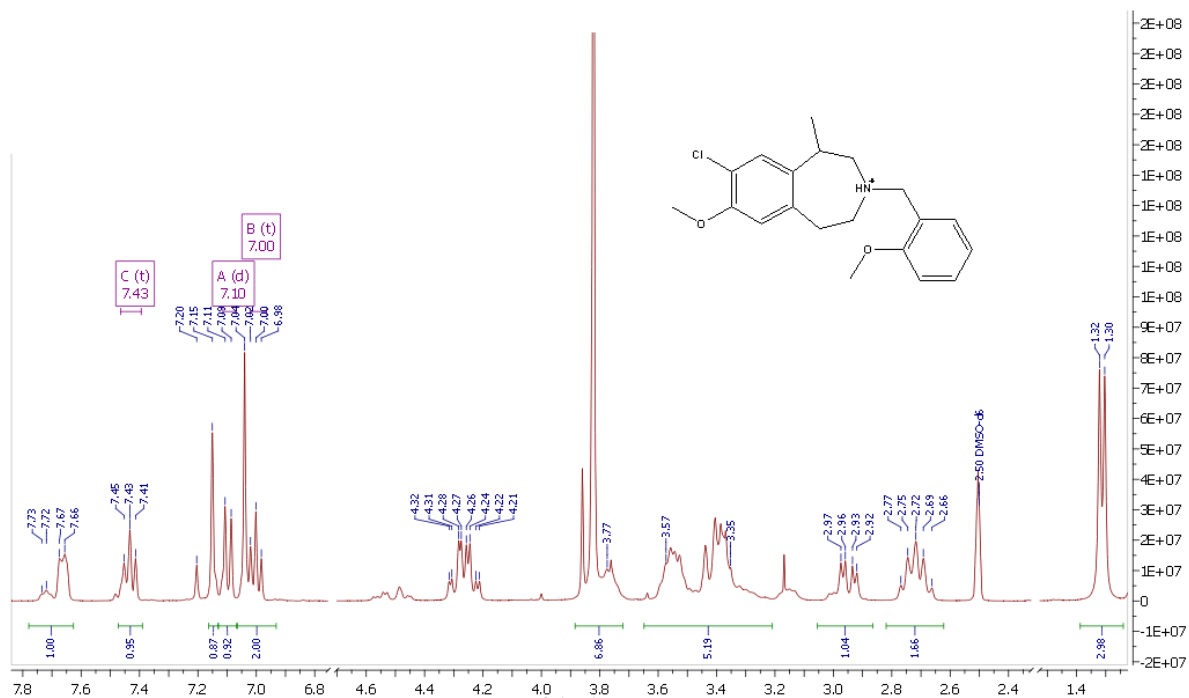
WA05 (R,S)-8-cloro-7-metoxi-1-metil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-(2-hidroxibencil)-3-benzazepina



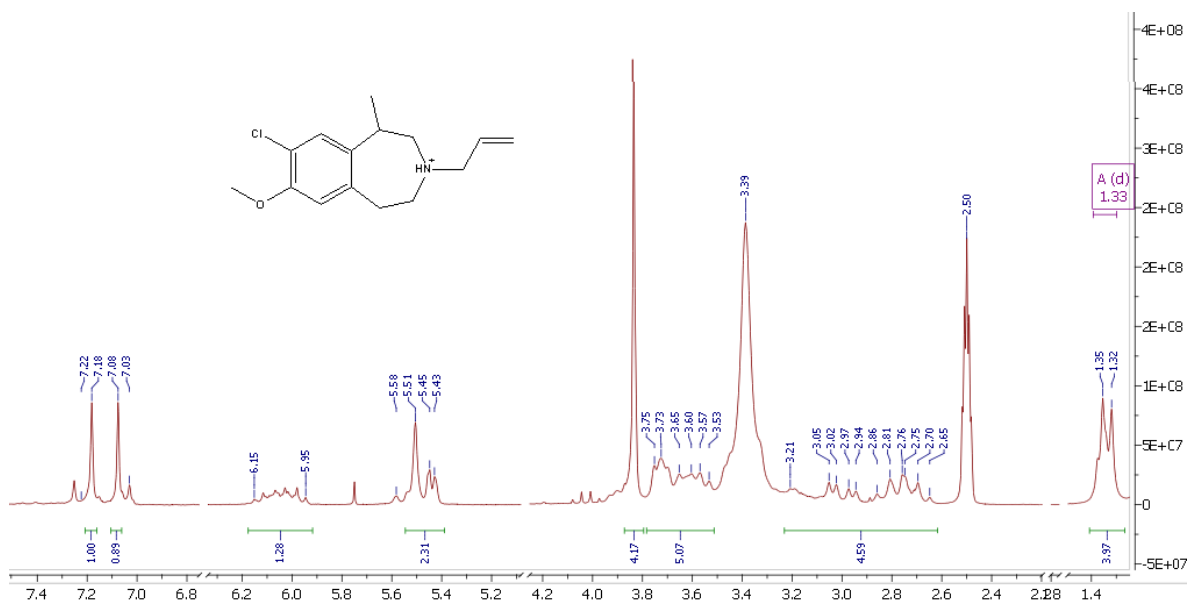
¹³C NMR color rojo. DEPT 135 color azul.



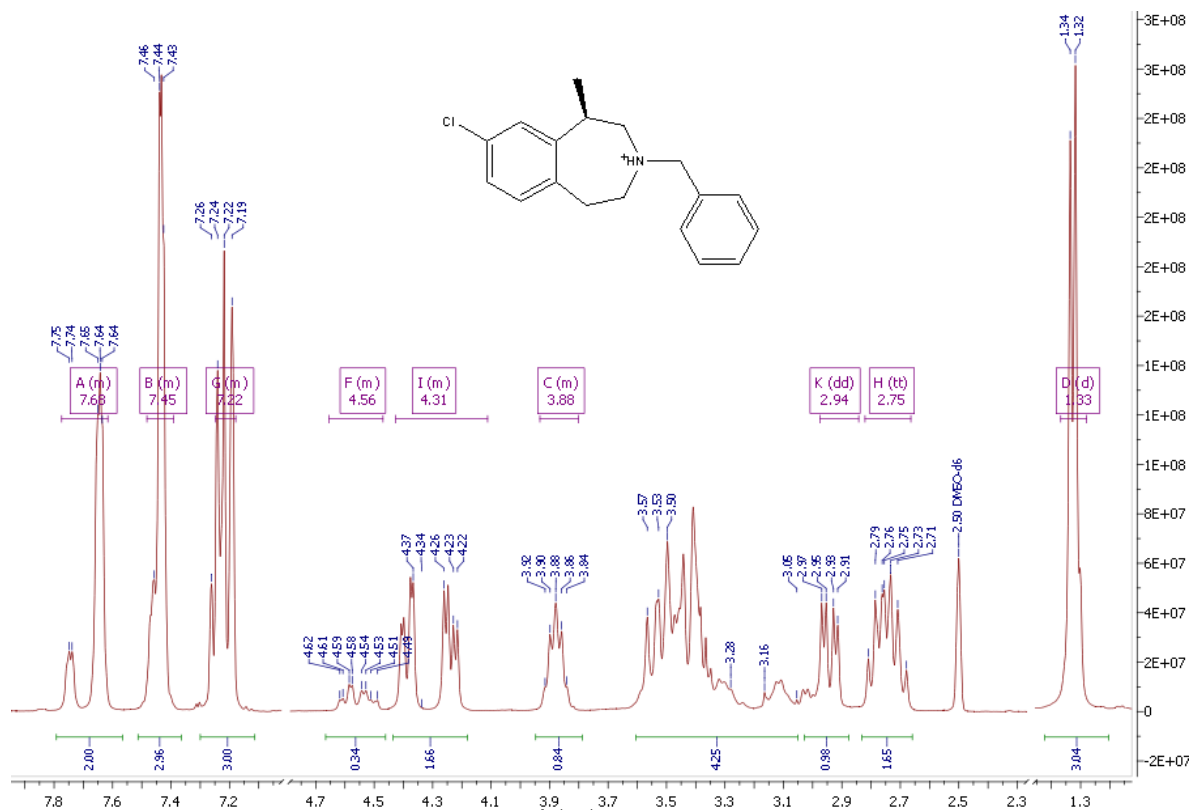
WA06 (R,S)-8-cloro-7-metoxi-1-metil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-(2-metoxibencil)-3-benzazepina



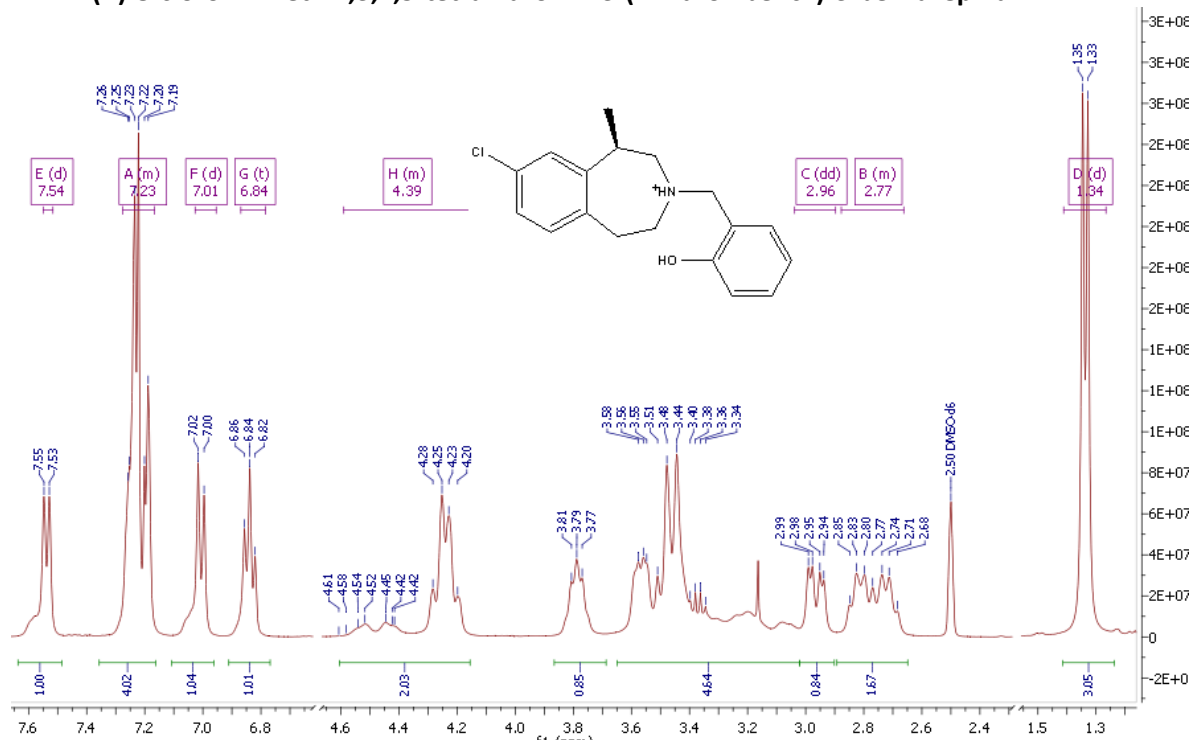
WA13 (R,S)-3-allyl-8-cloro-7-metoxi-1-metil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-benzazepina.



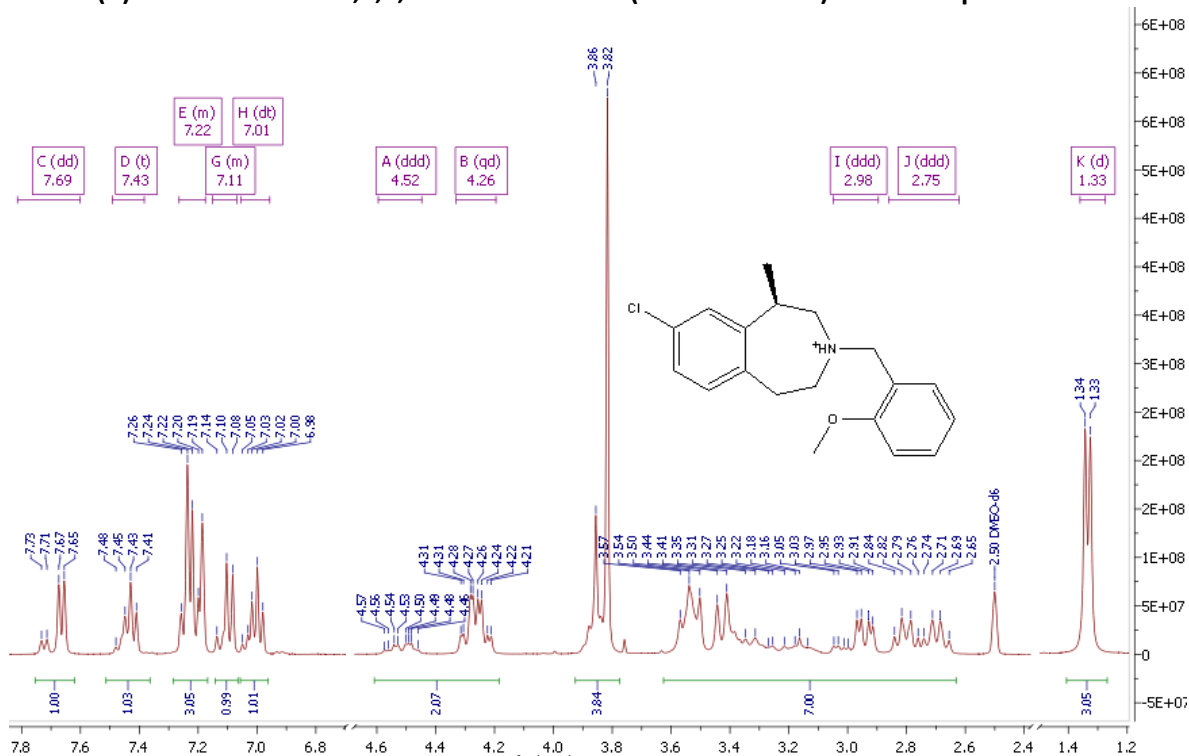
WA16 (R)-8-cloro -1-metil-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-bencil-3-benzazepina.



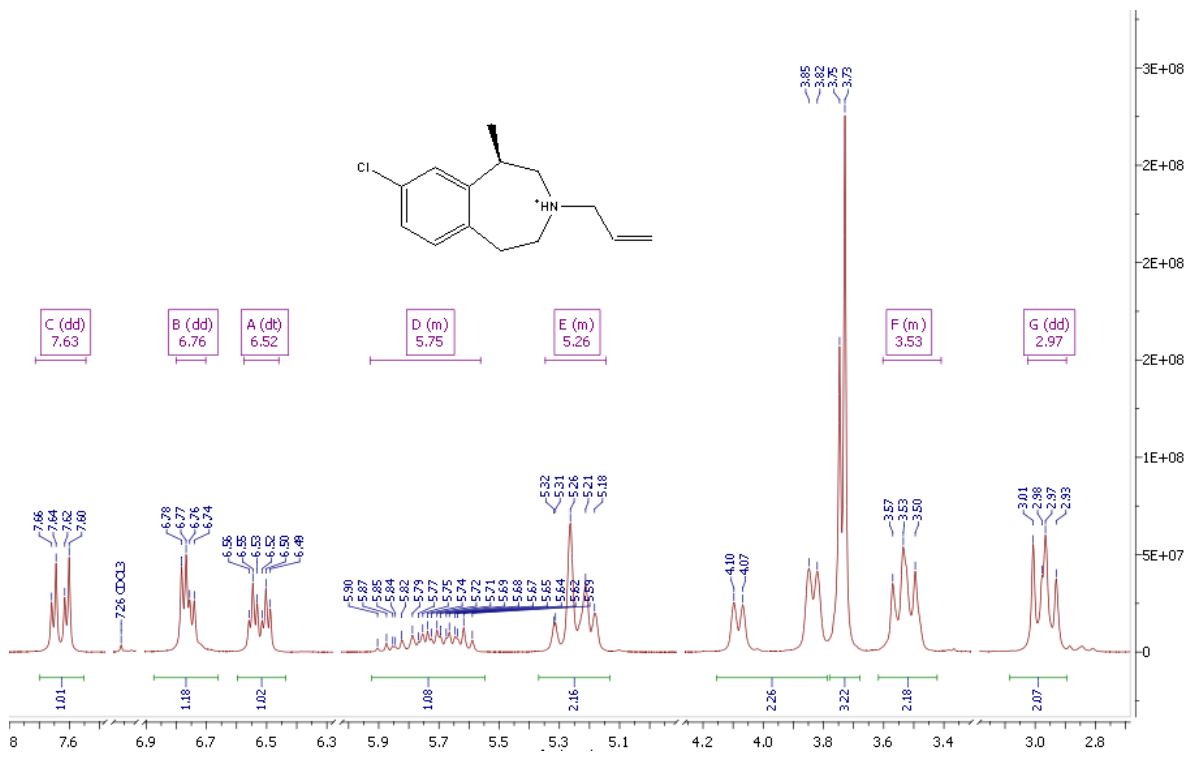
WA17 (R)-8-cloro -1-metil-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-(2-hidroxibencil)-3-benzazepina.



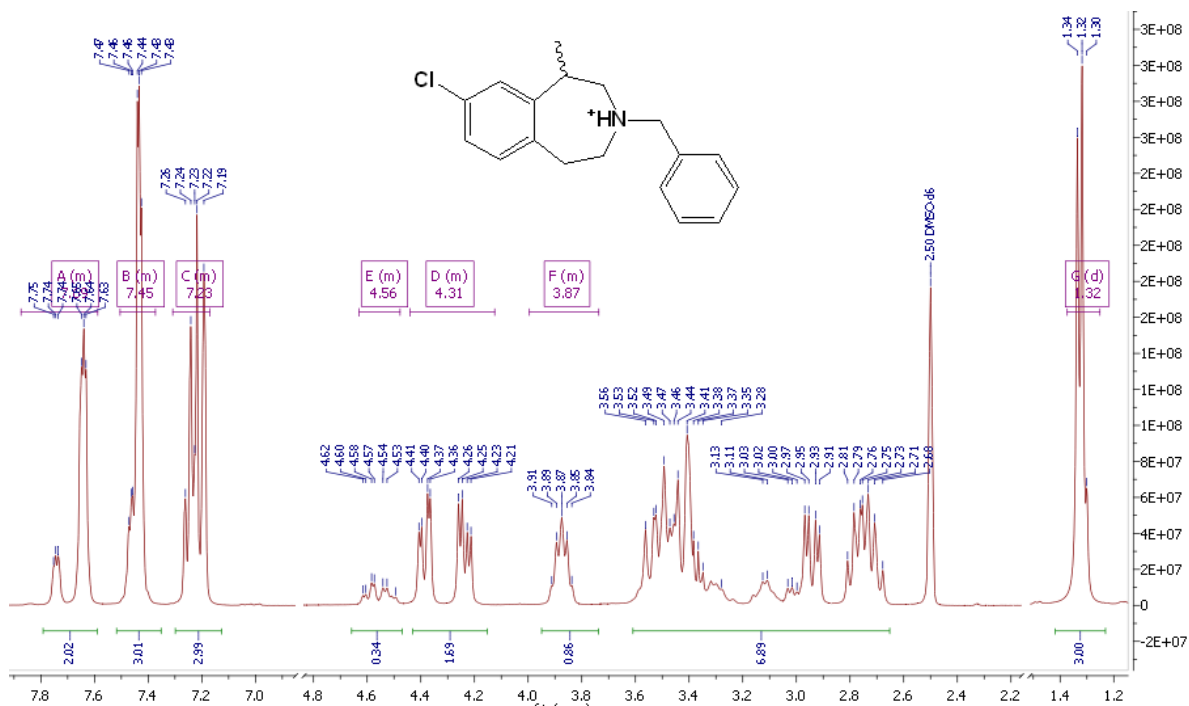
WA18 (R)-8-cloro -1-metil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-(2-metoxibencil)-3-benzazepina.



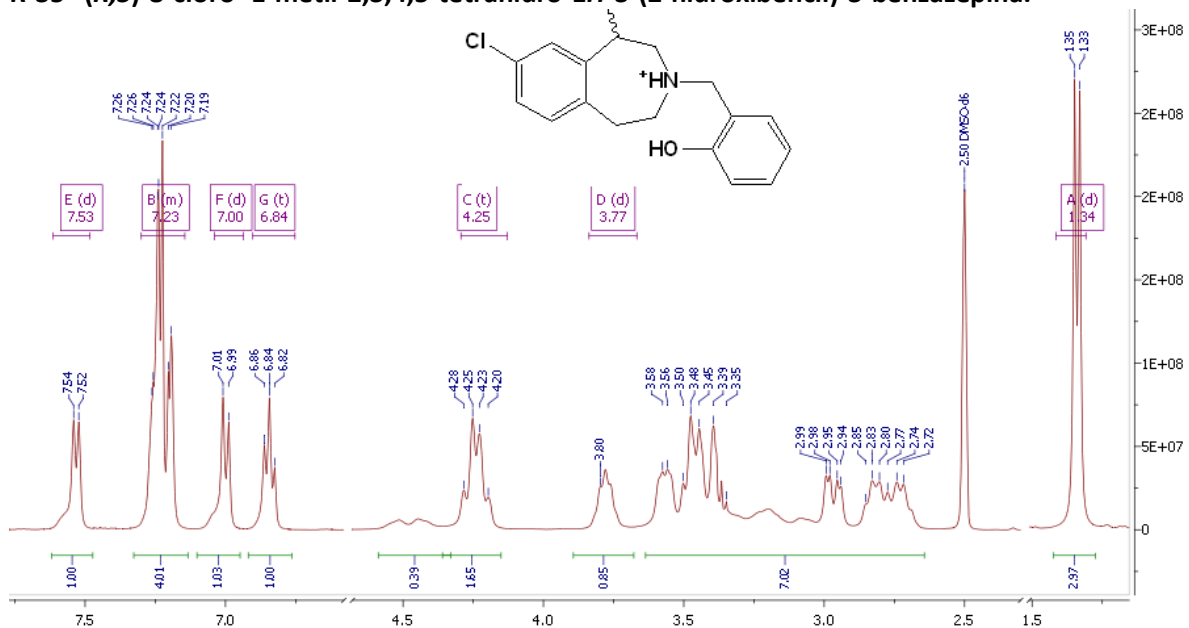
WA26 (R)-3-aliil-8-cloro -1-metil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-benzazepina.



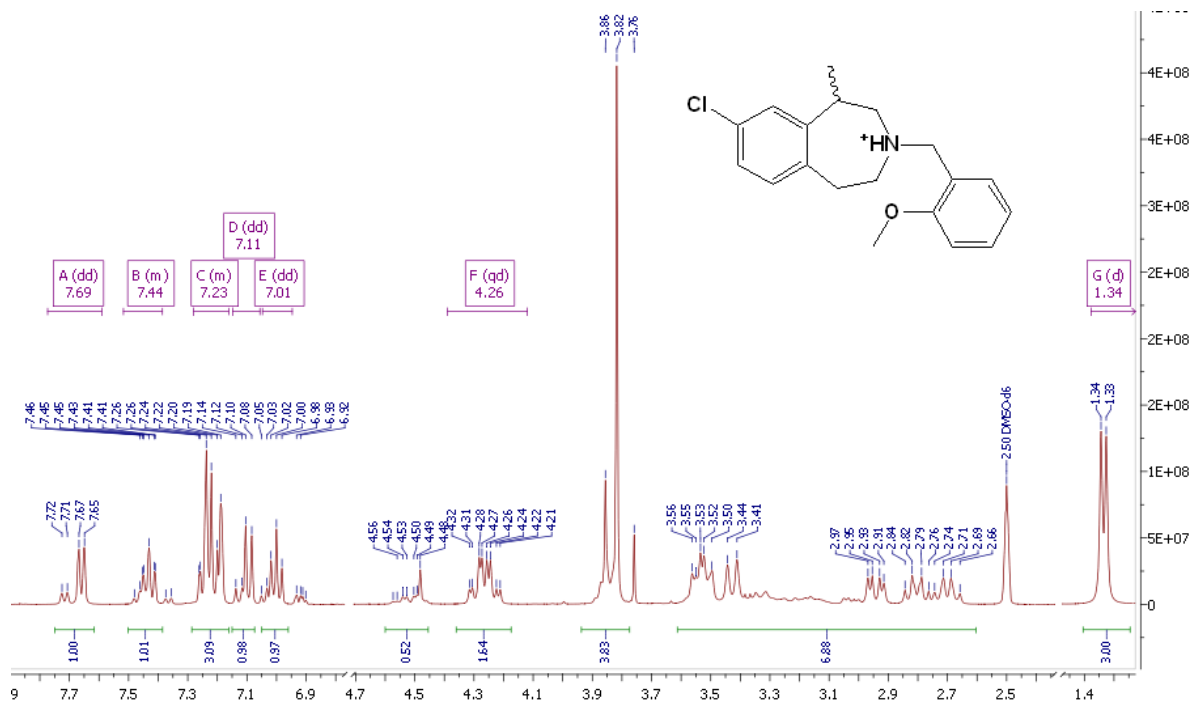
R-33 (R,S)-8-cloro -1-metil-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-(2-bencil)-benzazepina.



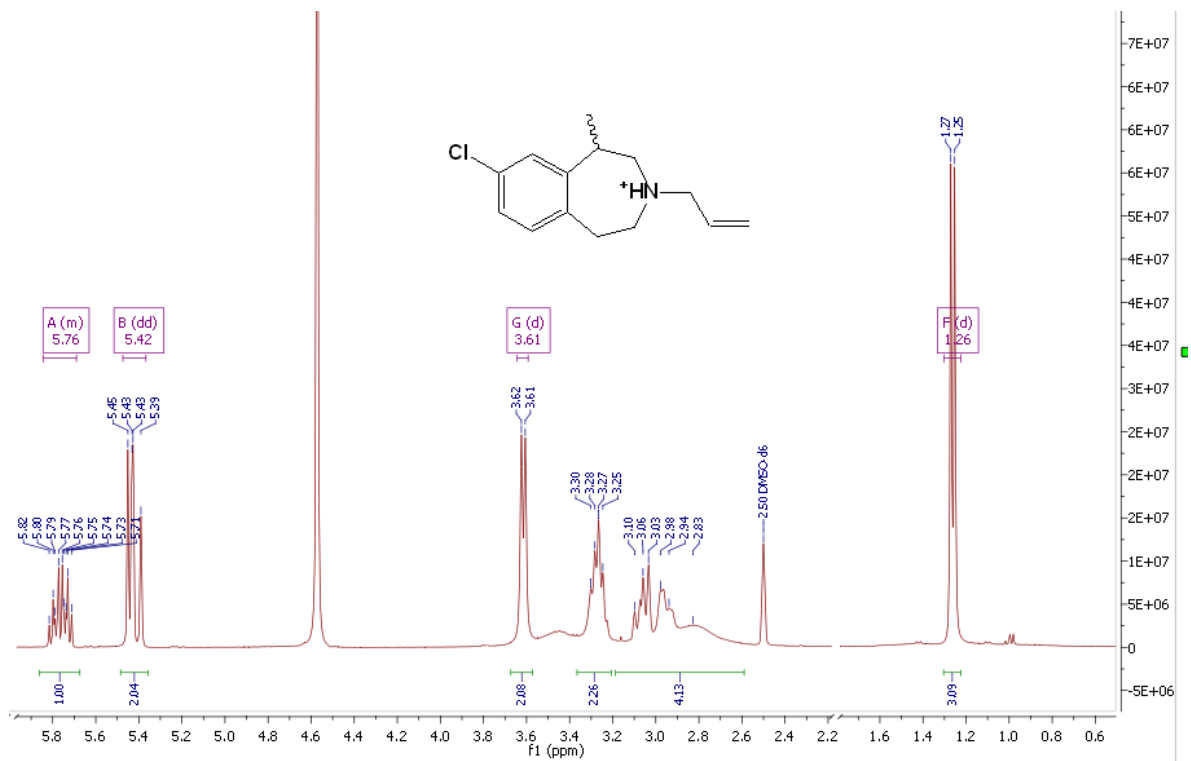
R-35 (R,S)-8-cloro -1-metil-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-(2-hidroxi-bencil)-3-benzazepina.



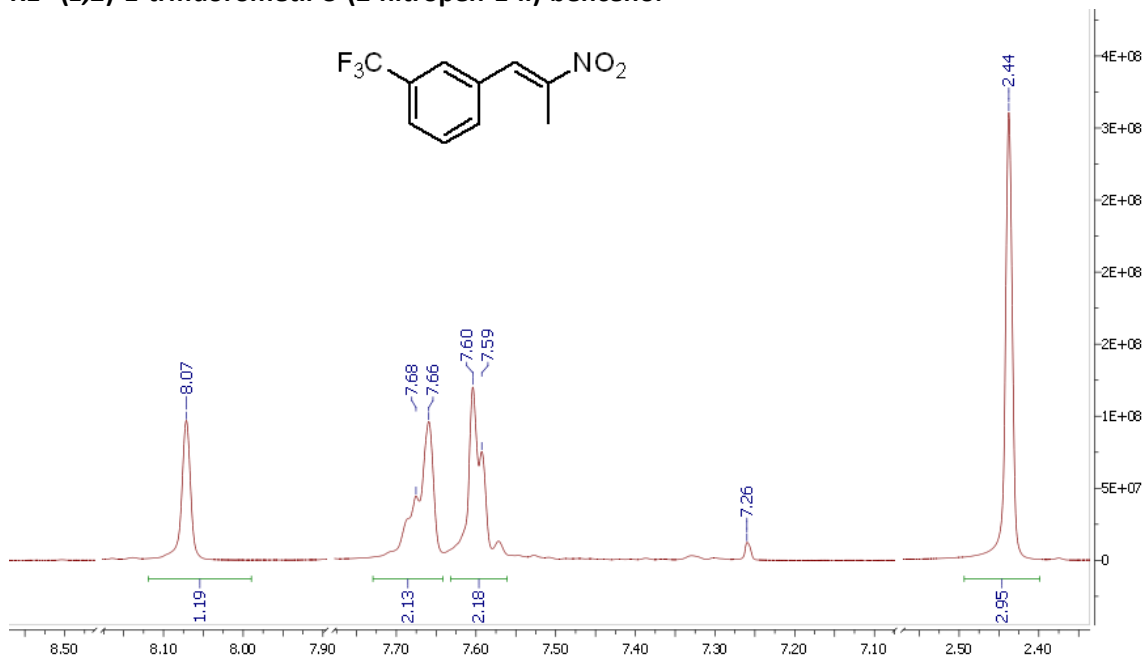
R-34 (R,S)-8-cloro -1-metil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-(2-metoxibencil)-3-benzazepina.



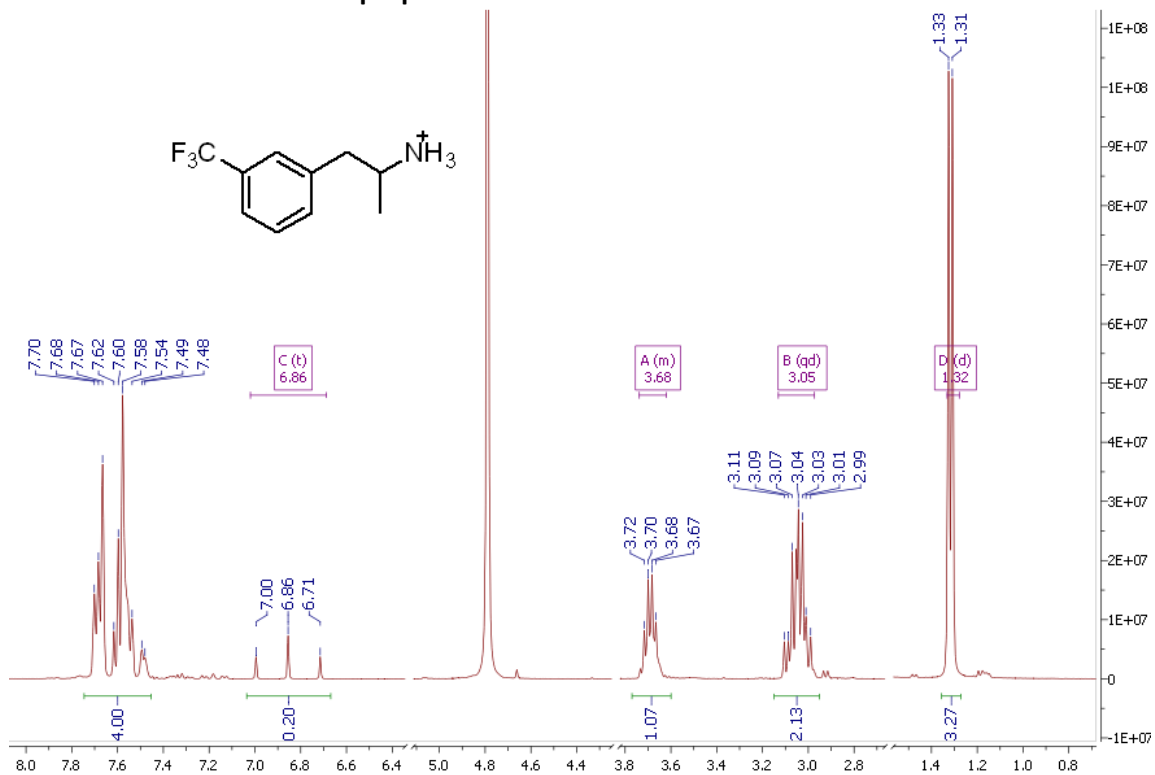
R-36 (R,S)-3-allyl-8-cloro -1-metil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-benzazepina.



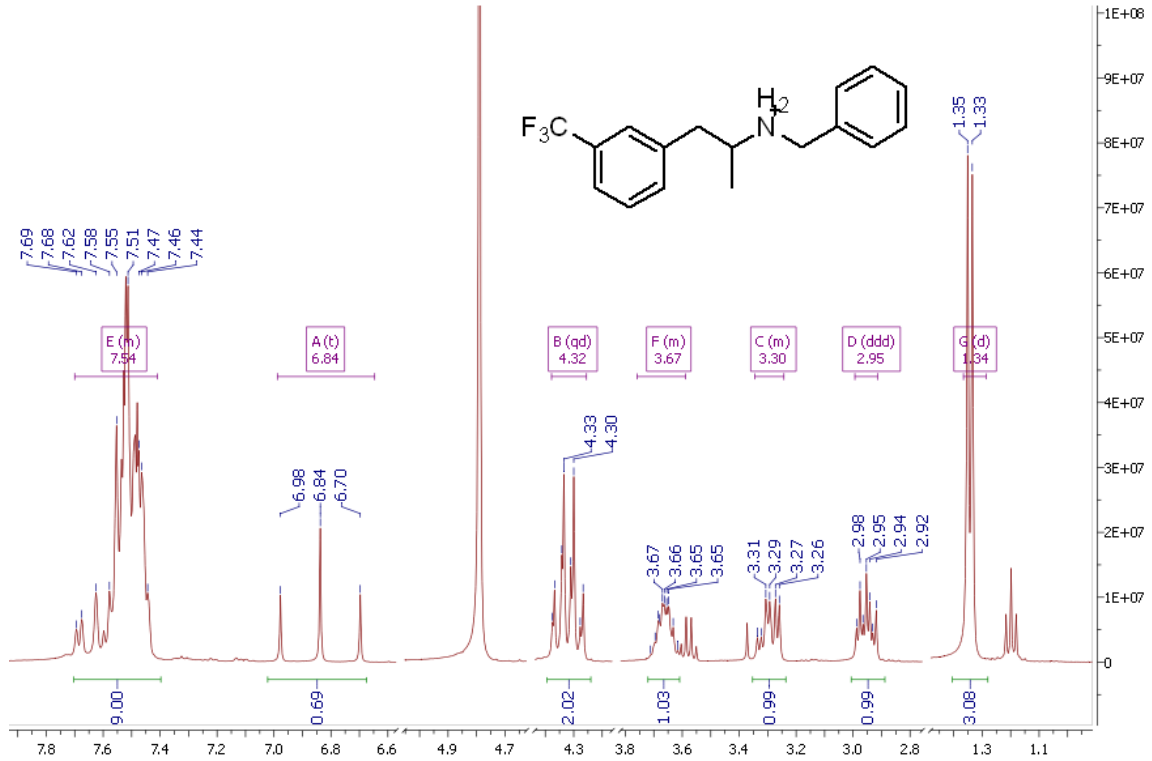
R1 (E,Z)-1-trifluorometil-3-(2-nitropen-1-il)-benceno.



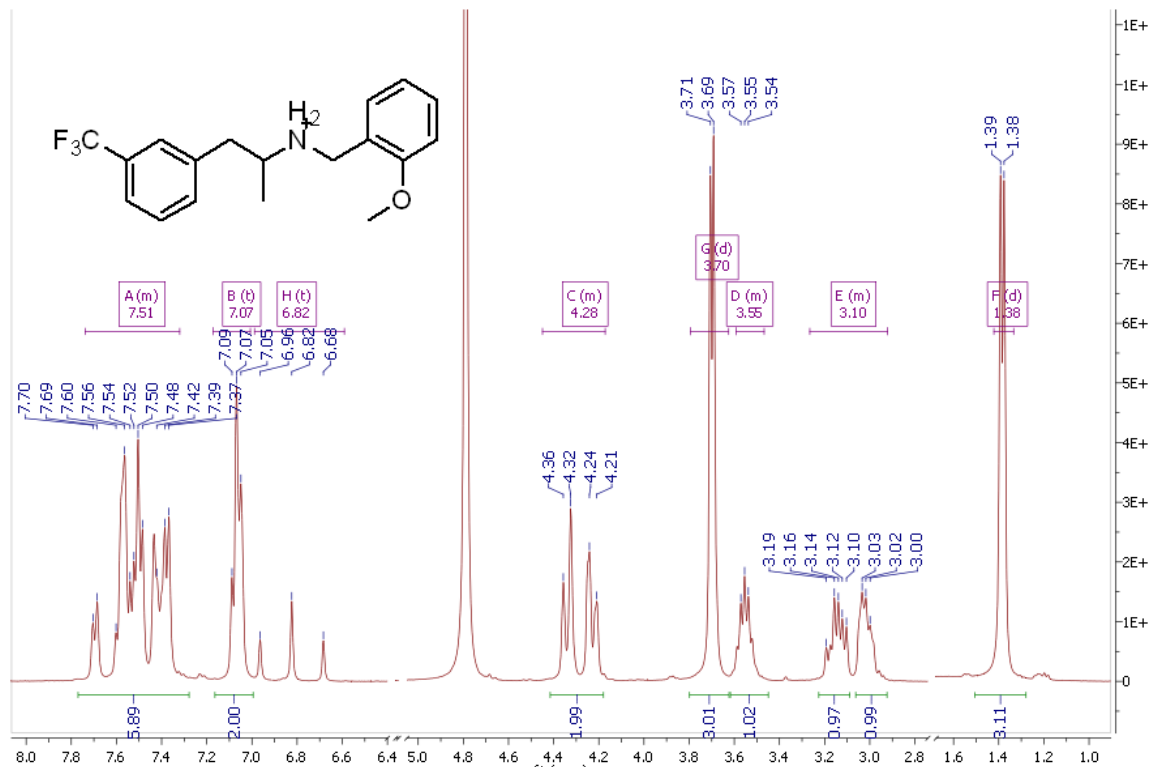
FEA 3-trifluorometilfenilisopropilamina.



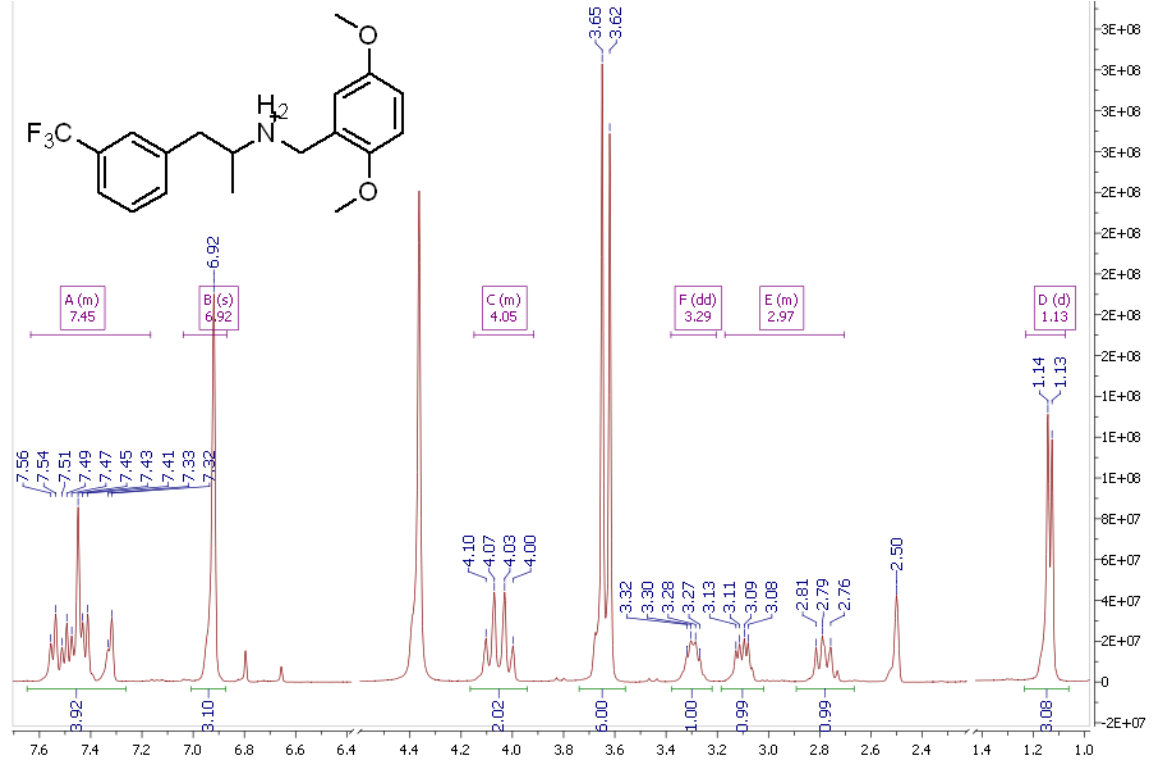
R18 (*R,S*)-*N*-bencil-3-trifluorometilfenilisopropilamina.



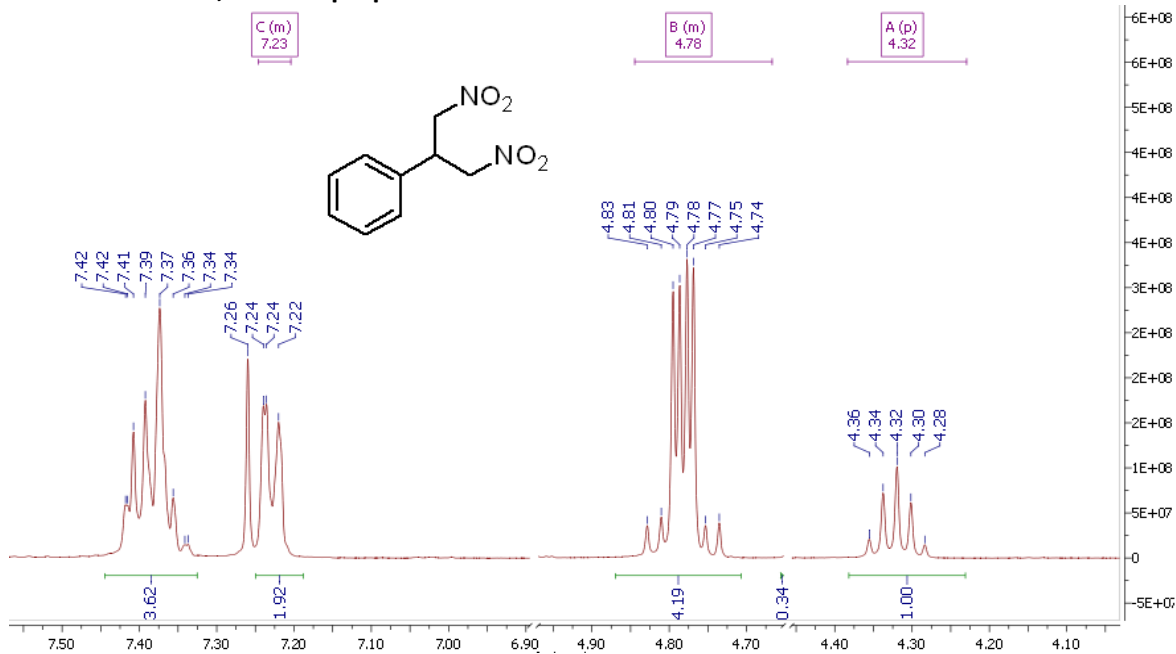
R21 (R,S)-N-(2-metoxibencil)-3-trifluorometilfenilisopropilamina.



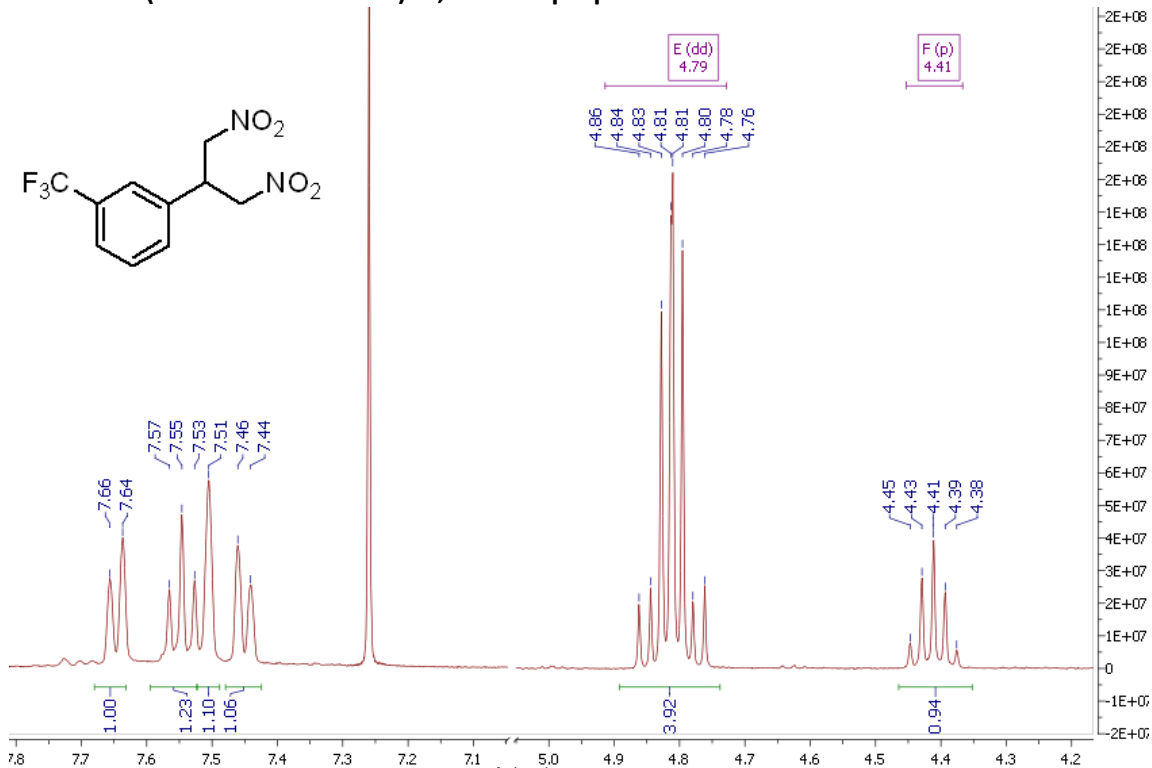
R-24 (R,S)-N-(2,5-dimetoxibencil)-3-trifluorometilfenilisopropilamina.



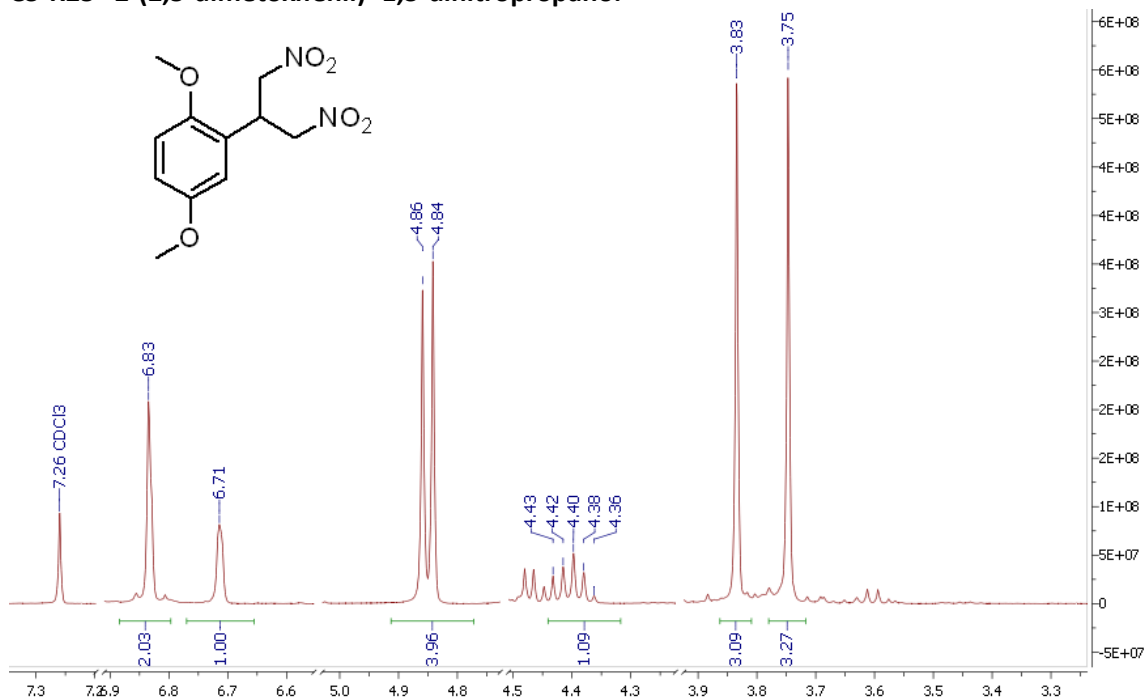
C1-R16 2-fenil-1,3-dinitropropano.



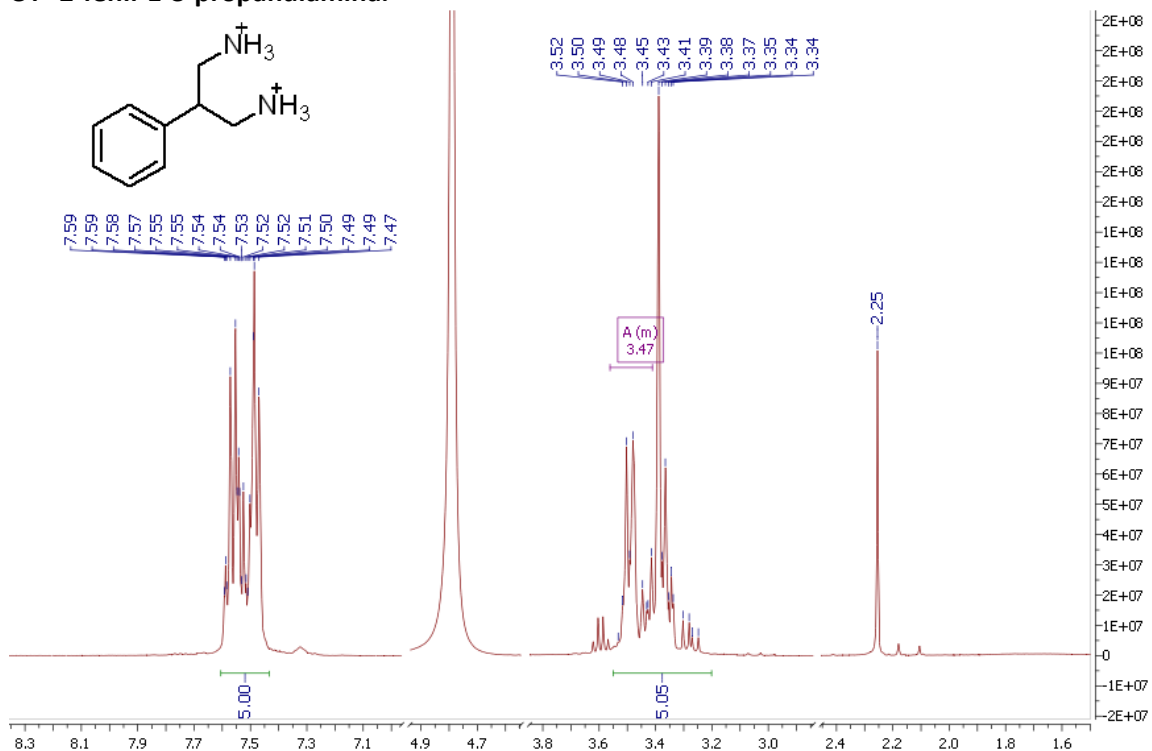
C2-R13 2-(3-trifluorometilfenil)- 1,3-dinitropropano.



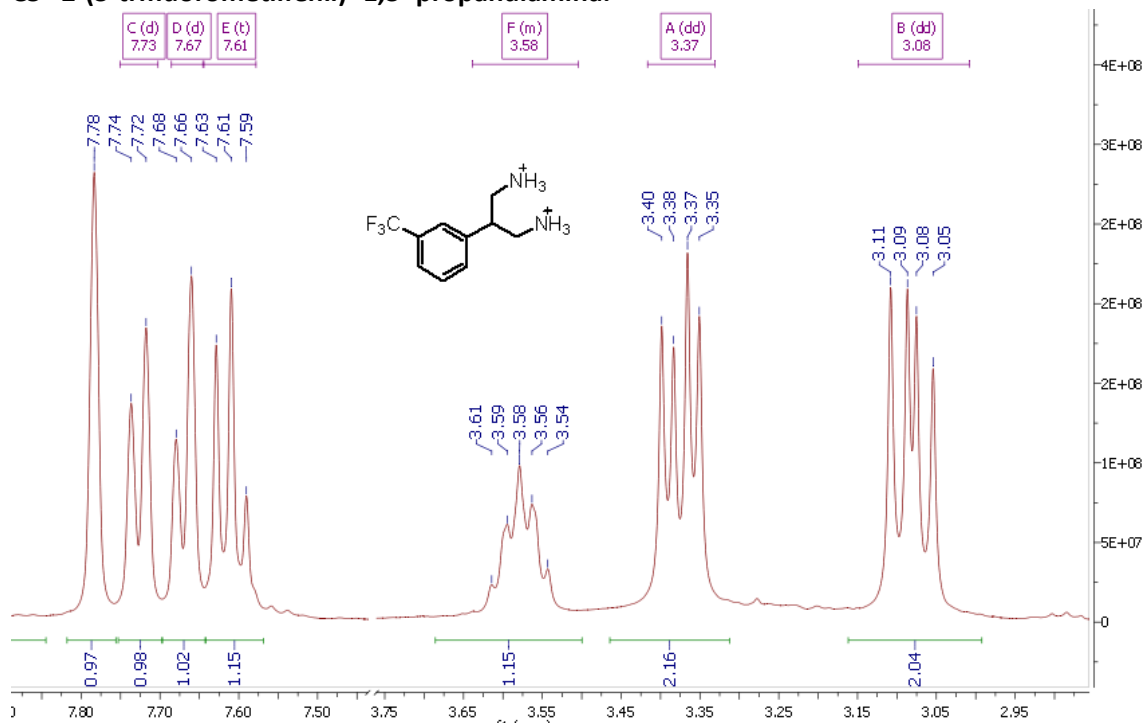
C3-R25 2-(2,5-dimetoxifenil)- 1,3-dinitropropano.



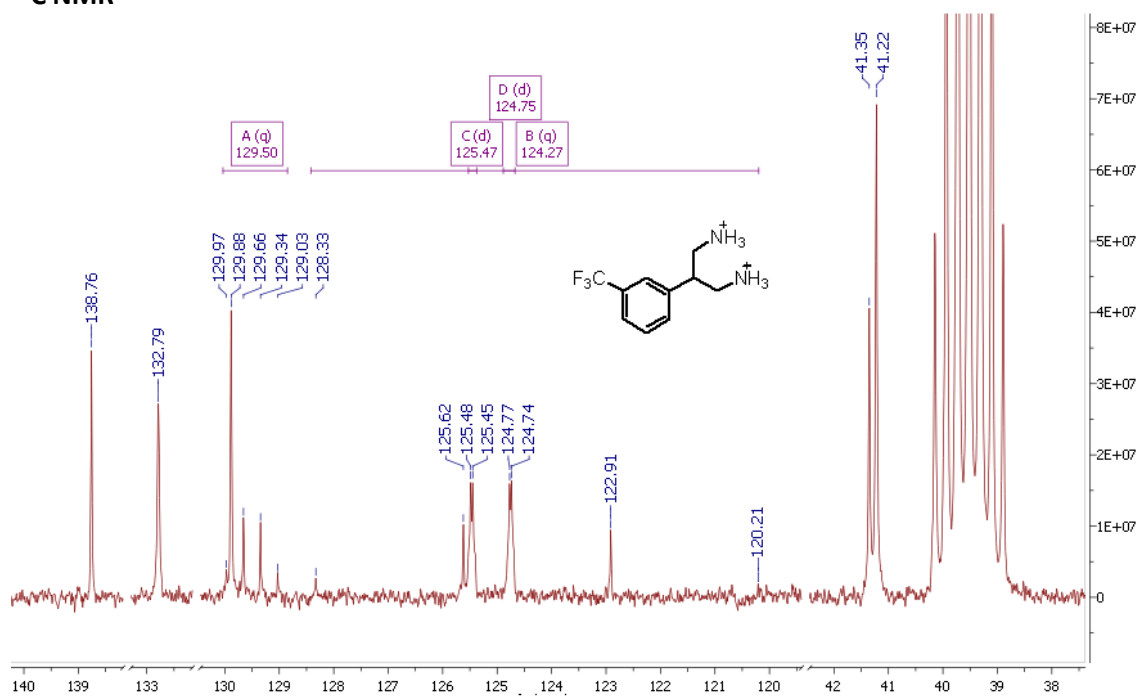
C4 2-fenil-1-3-propandiamina.



C5 2-(3-trifluorometilfenil)- 1,3- propandiamina.



¹³C NMR



C6 2-(2,5-dimetoxifenil)-propan-1-3-diamina.

