

Universidad de Chile

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas



“DISEÑO, SINTESIS, EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA Y ESTUDIOS *IN SILICO* DE NUEVOS BIS-LIGANDOS INDÓLICOS MULTIRECEPTORIALES CON MECANISMO DE ACCIÓN MONOAMINÉRGICA DUAL O TRIPLE”.

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

CHRISTOPHER DAVID CERDA CAVIERES

Director de Tesis: Dr. Hernán Pessoa Mahana

Santiago de Chile, 2018

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS

INFORME DE APROBACIÓN DE TESIS DE DOCTORADO

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

CHRISTOPHER DAVID CERDA CAVIERES

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

Director de Tesis:

Dr. Hernán Pessoa Mahana

Comisión Evaluadora de Tesis:

Dr. Claudio Olea A. (Presidente).

Dr. Gonzalo Recabarren G.

Dr. Boris Weiss L.

Dr. Patricio Iturriaga V.

Dedicado a mi Madre Marcela y a mi amor Carolina,
a Marcela por enseñarme a ser incansable
para lograr mis sueños, a Carolina
por su tremendo apoyo y hacer
mis días más alegres.
Las AMO.

Agradecimientos

A mi estimadísimo tutor de tesis Dr. Hernán Pessoa Mahana, por todas las vivencias y enseñanzas ocurridas durante el proceso de su guía.

A la comisión evaluadora y en especial al Dr. Patricio Iturriaga por permitirme trabajar en su laboratorio en la Universidad De La Frontera, para desarrollar parte de mi trabajo de tesis. Sus consejos me ayudaron enormemente a crecer y madurar como futuro investigador.

A todos los Profesores y personal técnico del laboratorio docente del departamento de Química Orgánica y Fisicoquímica, con muchos de los cuales tuve el agrado de trabajar en las ayudantías de “muchas químicas orgánicas” o de compartir en más alguna tertulia divertida en la Universidad o en algún otro lugar.

A mi querida familia y pareja: mi madre Marcela, mi pareja Carolina, mi hermana Suzanne, mis sobrinos Diego y Maximiliano, mis tíos y mis queridos primos por toda la compañía y momentos de apoyo a lo largo de este proceso.

A mis amigos de generación de doctorado y los que conocí durante este suplicio llamado tesis: Gabriel Quiroz, Claudio Barrientos, Braulio Aranda, Paul Silva, Christian González, Carla Valenzuela, Juan Pablo Gonzalez, Renzo Zanocco, Claudio Mendez y toda la gente de pregrado que pasó por el laboratorio como unidad de investigación o mis ayudantías y con las cuales terminamos siendo grandes amigos. Muchas gracias a todos por los grandes momentos que fueron forjando nuestra amistad.

A mis amigos y hermanos de toda la vida Mario, Juan Pablo, Pablo y Hugo por estar siempre que se necesitan en algún momento de dificultad o para brindar apoyo.

A mis queridos amigos y colegas de generación de Química y Farmacia: Carolina, Eduardo, Pamela, Patricia, Gustavo, Fernando, Ronnie, Fabiola, Isa y Cristian por su constante y desinteresada amistad más todas esas frases de apoyo.

Financiamiento:

Esta tesis de doctorado se realizó en el laboratorio de mecanismo de reacción, departamento de química orgánica y fisicoquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile y contó con el financiamiento de los siguientes proyectos y becas:

Beca de Formación de Capital Humano Avanzado de CONICYT para la realización de estudios de doctorado nacional 2011836012

Investigador responsable: Christopher Cerda Cavieres.

Proyecto FONDECYT N° 1130347

Investigador responsable: Dr. Hernán Pessoa-Mahana.

Beca Gastos operacionales año 2014 2011836012

Investigador responsable: Christopher Cerda Cavieres.

Beca Término de Tesis Doctoral 2011836012

Investigador responsable: Christopher Cerda Cavieres.

ÍNDICE

ÍNDICE	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE TABLAS	xviii
GLOSARIO TÉRMINOS Y ABREVIATURAS USADAS	xxi
RESUMEN	xxiv
SUMMARY	xxv
1 INTRODUCCIÓN	1
1.1 La depresión: epidemiología y definición.	1
1.2 Neurobiología de la depresión.	3
1.3 Farmacología de la depresión.....	6
1.4 Problemática de la terapia antidepresiva.	10
1.5 Razonamiento de blancos farmacológicos para la síntesis de nuevas moléculas multirreceptorales.	13
1.6 Propuestas de farmacóforos para el diseño estructural de los ligandos. .	14
1.7 Consideraciones generales sobre las estructuras proteicas utilizadas como blancos farmacológicos.	17
HIPOTESIS	27
OBJETIVO GENERAL	27
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
1.1 OBJETIVO ESPECÍFICO I.....	28
1.2 OBJETIVO ESPECÍFICO II.....	28
1.3 OBJETIVO ESPECÍFICO III.....	29
2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
2.1 Síntesis de las familias 1, 2 y 3	30
2.1.1 Familia I.....	30
2.1.1.1 Ruta sintética para la obtención de derivados indólicos	31
2.1.1.2 Rutas sintéticas para la obtención de derivados 3,4-dihidro-2 <i>H</i> -benzo[1,4]oxazinas.	46
2.1.2 Familia II.....	67
2.1.2.1 Ruta sintética para la obtención de (2-cloro-acetilamino)- <i>N</i> -(2-morfolin-4-il-etil)-benzamidias fluoradas.....	68
2.1.2.2 Obtención de la Familia 2A-L.....	79
2.1.3 Familia III.....	83

2.1.3.1	Ruta sintética para la obtención de 2-(1-piperazinil)- <i>N</i> -2-piridinil acetamidas.....	84
2.1.3.2	Obtención de la Familia F3A-L.....	94
2.2	Fundamentos de los Ensayos de unión por competencia con radioligandos. Medición de actividad enzimática y estudios acoplamiento molecular inducido....	98
2.2.1	Ensayos de afinidad por desplazamiento de radioligandos.....	98
2.2.2	Conceptos básicos en estudios de afinidad.	99
2.2.3	Ensayos de desplazamiento de un radioligando. Fundamento.	102
2.3	Estudios de acoplamiento molecular inducido (Docking) en TSER / D2 / MAO-A.	103
2.3.1	Métodos.	103
2.3.1.1	Acoplamiento molecular inducido en SERT.....	104
2.3.1.2	Acoplamiento molecular inducido en D2s.	106
2.3.1.3	Acoplamiento molecular inducido en MAO-A.....	107
2.4	Resultados y discusiones.....	108
2.4.1	Familia 1.....	109
2.4.2	Familia 2.....	122
2.4.3	Familia 3.....	134
3	CONCLUSIONES.....	147
3.1	Conclusiones Generales de las 3 familias.....	150
4	MATERIALES Y MÉTODOS.....	152
4.1	Reactivos, técnicas e instrumentos.....	152
4.2	Síntesis.....	157
4.2.1	Obtención y caracterización de los derivados 3-(1 <i>H</i> -3-indolil)-propanoles 1a-c.	157
4.2.2	Obtención y caracterización de los derivados (1 <i>H</i> -3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonatos 2a-c.....	159
4.2.3	Obtención y caracterización de los derivados [4-[3-(1 <i>H</i> -3-indolil)propil]1-piperazinil] carbamatos de <i>t</i> -butilo 3a-c.....	162
4.2.4	Obtención y caracterización de los derivados 3-(3-piperazin-1-il-propil)-1 <i>H</i> -indoles 4(a-c).....	165
4.2.5	Obtención de los derivados <i>o</i> -aminofenoles (4-5 sustituidos) 5a-e.....	168
4.2.6	Obtención y caracterización de los derivados 4 <i>H</i> -benzo[1,4]oxazin-3-onas 6a-f.	170
4.2.7	Obtención y caracterización de los derivados 3,4-dihidro-2 <i>H</i> -benzo[1,4]oxazinas 7a-f.	175
4.2.8	Obtención y caracterización de los derivados 2-cloro-1-(2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-etanamidas 8a-f.	179
4.2.9	Obtención y caracterización de los derivados [4-[2-(3,4-dihidro-2 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>][1,4]oxazin-4-il)-2-oxo-etil]-piperazina-1-il] carbamatos de <i>t</i> -butilo 9a-f.	185
4.2.10	Obtención y caracterización de los derivados 1-(2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-piperazin-1-il-etanamidas 10a-c.....	191

4.2.11	Obtención y caracterización de los derivados benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-{4-[3-(1 <i>H</i> -3-indolil)-propil]-1-piperazinil} .derivados F1A-O)	2,3-Dihidro- etanamidas 193
4.2.12	Obtención de cloruros de ácido 11a-d.	210
4.2.13	Obtención y caracterización de los derivados <i>N</i> -(2-morfolin-4-il-etil)-benzamidas flúoro-nitrados 12a-d.	211
4.2.14	Obtención y caracterización de los derivados <i>N</i> -(2-morfolin-4-il-etil)-benzamidas amino-fluorados 13a-d.	215
4.2.15	Obtención y caracterización de los derivados (2-cloro-acetilamino)- <i>N</i> -(2-morfolin-4-il-etil)-benzamidas fluoradas 14a-d.	219
4.2.16	Obtención y caracterización de los derivados (2-{4-[3-(1 <i>H</i> -indol-3-il)-propil]-1-piperazinil}-acetilamino)- <i>N</i> -(2-morfolin-4-il-etil)-benzamidas fluoradas F2A-L.	223
4.2.17	Obtención y caracterización de los derivados <i>N</i> -2-piridinil-2-cloro acetamidas 15a-d.....	238
4.2.18	Obtención y caracterización de los derivados [4-[(2-piridinil-carbamoil)-metil]-1-piperazinil] carbamatos de <i>t</i> -butilo 16a-d.....	241
4.2.19	Obtención y caracterización de los derivados <i>N</i> -(2-piridinil)-2-(1-piperazinil) acetamidas 17a-d.....	245
4.2.20	Obtención y caracterización de los derivados <i>N</i> -(2-piridinil)- 2-{4-[3-(1 <i>H</i> -3-indolil)-propil]-1-piperazinil} acetamidas F3A-L.	248
5	BIBLIOGRAFÍA	262

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1: Estructura química de las monoaminas serotonina (5-HT), dopamina (DA) y norepinefrina (NE).....	3
Figura 1.2: Ramificaciones cerebrales de los sistemas serotoninérgico y dopaminérgico.....	4
Figura 1.3: Esquema que muestra el ciclo para los neurotransmisores serotonina y dopamina, desde: 1) Su aminoácido precursor, 2) Síntesis celular, 3) Almacenamiento en vesículas dentro del citosol, 4) Liberación al espacio sináptico, 5) Acción sobre el receptor postsináptico o sobre auto receptores, 6) Recaptación mediante transportadores para volver a ser reutilizado o ser degradado por la MAO-A (serotonina) o MAO-B (dopamina) dentro de la mitocondria.....	6
Figura 1.4: Estructura química de los inhibidores de monoamino oxidasa, no selectivos, selectivo por la isoforma A (iMAO-A) y selectivos por la isoforma B (iMAO-B).	8
Figura 1.5: Estructura química de los antidepresivos tricíclicos imipramina, amitriptilina, desipramina y doxepina.	9
Figura 1.6: Estructura química de paroxetina y fluoxetina, inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina.	10
Figura 1.7: Estructura química de ladostigil, ejemplo de molécula multirreceptorial, y moléculas parentales Rivastigmina (inhibidor de acetilcolinesterasa) y Rasagilina (iMAO-B).	13
Figura 1.8: Valores de afinidad medidos como IC ₅₀ obtenidos en trabajos previos sobre el transportador de serotonina (TSER).....	15
Figura 1.9: Valores de afinidad medidos como K _i sobre el receptor D ₂ para estructuras que presentan porciones indólicas o piperazínicas.	15
Figura 1.10: Valor de afinidad medido como K _i para ligando con núcleo de 1-4 benzoxazina 3-ona sobre receptor D _{2s}	16
Figura 1.11: Valor de actividad inhibitoria, medidos como IC ₅₀ , para ligandos sobre la MAO-A.....	16
Figura 1.12: A) Estructura de TSER vista de forma paralelamente a la membrana. Las moléculas de (S)-citalopram unidas en el sitio central y alostérico se muestran	

en representación de barras de colores verde y cian, respectivamente. Los iones de sodio se muestran como esferas de color salmón. (CHS) Hemisuccinato de colesterol y (NAG) N-acetilglucosamina. **B)** Vista superior de TSER desde el lado extracelular de la membrana. 18

Figura 1.13: Estructura de la enzima MAO-A humana dibujada en modo cinta. N, N-terminal; C, C-terminal. La estructura se divide en dos dominios, dominio extra-membrana (se muestra en amarillo y rojo) y dominio intra-membrana (se muestra en azul). El dominio extra-membrana se divide en dos regiones, región de unión FAD (amarillo) y región de unión para sustrato y/o inhibidor (roja). Las moléculas FAD (negro) y harmina (verde). La flecha negra indica la posición de G110, que corresponde al residuo al que se introdujeron mutaciones para lograr estabilizar. 21

Figura 1.14: Vista espacial del sitio de unión para sustrato y/o inhibidor. **(A):** Los residuos de aminoácidos se muestran en amarillo, FAD y harmina se muestran en verde. Las líneas punteadas indican los enlaces puente de hidrógeno hechos por las moléculas de agua presentes atrapadas en el sitio. **(B)** Vista comparativa de la estructura de los sitios de unión para sustrato y/o inhibidor en MAO-A y MAO-B humanas co-cristalizadas con sus inhibidores específicos. Los residuos están numerados sin paréntesis para MAO-A (color amarillo) y con paréntesis son para MAO-B (color azul claro). Los inhibidores son coloreados de la siguiente manera: naranja, harmina; verde, isatina; púrpura, análogo de rasagilina; rojo, 1,4-difenil-2-buteno. FAD se muestra en negro. 23

Figura 1.15: Vista lateral y superior de una estructura homóloga del receptor D₂ unida al ligando endógeno dopamina. 25

Figura 2.1: Estrategias retrosintéticas, consideradas para la obtención de la Familia 1. 30

Figura 2.2: Síntesis de los compuestos 1-4(a-c) *Reactivos y Condiciones:* (a) DMA, dihidropirano, H₂SO₄ 4%; (b) CH₂Cl₂, TEA, TsCl, DMAP; (c) CH₃CN, piperazina N-Boc, K₂CO₃; (d) CH₂Cl₂, TFA. 32

Figura 2.3: Esquema general de la síntesis de indoles de Fisher. 32

Figura 2.4: Mecanismo de apertura para el 3,4-dihidropirano. 33

Figura 2.5: Mecanismo propuesto para la síntesis de indoles de Fisher. 34

Figura 2.6: Espectro de protones del compuesto 1a.	36
Figura 2.7: Esquema de la reacción de tosilación de los intermediarios 1a-c.	37
Figura 2.8: Espectro de protones del compuesto 2a.	39
Figura 2.9: Esquema general de la reacción de sustitución nucleofílica bimolecular (SN2) para la obtención de los compuestos 3a-c.	40
Figura 2.10: Espectro de protones del compuesto 3a.	42
Figura 2.11: Esquema de la reacción de hidrólisis anhidra para la obtención de los compuestos 4a-c.	42
Figura 2.12: Mecanismo de reacción propuesto para el proceso de hidrólisis anhidra de los carbamatos 3a-c.	43
Figura 2.13: Espectro de protones del compuesto 4a.	46
Figura 2.14: Síntesis de los compuestos 5-10. Solventes y reactantes: (a) H ₂ O, EtOH, AcOH, Fe ^o ; (b) CH ₃ CN, CH ₂ ClCOCl, K ₂ CO ₃ ; (c) THF, LiAlH ₄ ; (d) THF, TEA, CH ₂ ClCOCl; (e) CH ₃ CN, K ₂ CO ₃ , N-Boc piperazina; (f) CH ₂ Cl ₂ , TFA.	47
Figura 2.15: Esquema sintético de la reacción reductiva de los <i>o</i> -nitrofenoles comerciales.	47
Figura 2.16: Reacción de ciclación para la obtención de las lactamas 6a-f.	50
Figura 2.17: Espectro de protones del compuesto 6a.	52
Figura 2.18: Reacción de reducción del carbonilo amídico con LiAlH ₄ en condiciones anhidras.	52
Figura 2.19: Espectro de protones del compuesto 7a.	54
Figura 2.20: Reacción de acilación.	55
Figura 2.21: Espectro de protones del compuesto 8a.	57
Figura 2.22: Reacción de sustitución nucleofílica (SN2) sobre el cloro α -carbonílico.	58
Figura 2.23: Espectro de protones del compuesto 9a.	60
Figura 2.24: Reacción de hidrólisis anhidra de los carbamatos 9 a-c.	60
Figura 2.25: Espectro de protones del compuesto 10a.	63
Figura 2.26: Operaciones sintéticas finales de las rutas 1 y 2 para la obtención de la Familia 1.	63
Figura 2.27: Espectro de protones del compuesto F1A.	66

Figura 2.28: Diseño retrosintético para la obtención de la Familia 2.	67
Figura 2.29: Síntesis de los compuestos 1-4. Solventes y reactantes: (a) DMA, dihidropirano, H ₂ SO ₄ 4%; (b) CH ₂ Cl ₂ , TEA, TsCl, DMAP; (c) CH ₃ CN, piperazina N-Boc, K ₂ CO ₃ ; (d) CH ₂ Cl ₂ , TFA.	68
Figura 2.30: Síntesis de los compuestos 11-14. Solventes y reactantes: (a) SOCl ₂ ; (b) THF, 2-aminoetil-morfolino; (c) H ₂ O, AcOH, EtOH, Fe ⁰ ; (d) THF, CH ₂ ClCOCl.	68
Figura 2.31: Sustratos comerciales del ácido flúor nitro benzoico.....	69
Figura 2.32: Reacción de formación de los cloruros de ácido 11a-d.....	69
Figura 2.33: Cloruros de ácido 11a-d.	70
Figura 2.34: Reacción de formación de las benzamidas 12 a-d.....	71
Figura 2.35: Espectro de protones del compuesto 12a.	73
Figura 2.36: Reacción de reducción del grupo nitro.	74
Figura 2.37: Espectro de protones del compuesto 13a.	76
Figura 2.38: Reacción de acetilación de los derivados 13a-d.	76
Figura 2.39: Espectro de protones del compuesto 14a.	79
Figura 2.40: Reacción de operación real para la obtención de la Familia 2.	80
Figura 2.41: Espectro de protones del compuesto F2A.	83
Figura 2.42: Diseño retrosintético para la obtención de la familia 3.	84
Figura 2.43: Síntesis de los compuestos 1-2. Solventes y reactantes: (a) DMA, dihidropirano, H ₂ SO ₄ 4%; (b) CH ₂ Cl ₂ , TEA, TsCl, DMAP.	84
Figura 2.44: Síntesis de los compuestos 1-4. Solventes y reactantes: (a) THF, TEA, CH ₂ ClCOCl; (b) CH ₃ CN, K ₂ CO ₃ , N-Boc piperazina; (c) CH ₂ Cl ₂ , TFA.....	85
Figura 2.45: Sustratos comerciales precursores de los derivados 15a-d.	85
Figura 2.46: Reacción de acetilación para la obtención de derivados 15 a-d.	86
Figura 2.47: Espectro de protones del compuesto 15a.	88
Figura 2.48: Reacción de sustitución nucleofílica bimolecular (S _N 2) con N-Boc-piperazina.....	88
Figura 2.49: Espectro de protones del compuesto 16a.	91
Figura 2.50: Reacción de hidrólisis anhidra para la obtención de intermediarios 17 a-d.	91

Figura 2.51: Espectro de protones del compuesto 17a.	93
Figura 2.52: Operación sintética final para la obtención de la Familia 3.	94
Figura 2.53: Espectro de protones del compuesto F3A.	97
Figura 2.54: Ecuación química en el equilibrio.	99
Figura 2.55: Ecuación de la ley de acción de masas, para la cual K_D es la constante de equilibrio del proceso de disociación.	100
Figura 2.56: Proceso del estudio de afinidad por desplazamiento de radioligando.	101
Figura 2.57: Ecuación de Cheng y Prusoff donde IC_{50} es la concentración del ligando no marcado que inhibe el 50% de la unión del radioligando, $[R_L]$ es la concentración del radioligando usado y K_D es la afinidad del radioligando por el receptor.	102
Figura 2.58: Modo de unión descrito para (s)-citalopram (cian) en el sitio de unión central del SERT. Se muestran los residuos cercanos (gris) y los átomos de Na^+ (esferas rosadas). Las líneas negras punteadas representan puentes salinos y puentes de hidrógeno, las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.	105
Figura 2.59: Modo de unión e interacciones esenciales predichas para haloperidol (cian) en el sitio de unión del receptor D2. Se muestran los residuos cercanos (gris). Las líneas negras punteadas representan puentes salinos o interacciones débiles.	107
Figura 2.60: Modo de unión descrito para harmina (cian) en el sitio de unión de la MAO-A. Se muestran los residuos cercanos (gris). Las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.	108
Figura 2.61: Modos de unión e interacciones en el SERT. A. F1G (amarillo), B. F1H (magenta), C. F1I (naranja), D. F1K (azul). Se muestran los residuos cercanos (gris) y los átomos de Na^+ (esferas rosadas). Las líneas negras punteadas representan puentes salinos o puentes de hidrógeno y las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.	112
Figura 2.62: Modos de unión e interacciones en el SERT. Compuesto F1F (verde claro). Se muestran los residuos cercanos (gris) y los átomos de Na^+ (esferas	

rosadas). Las líneas negras punteadas representan puentes salinos o puentes de hidrógeno y las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.	113
Figura 2.63: Modos de unión e interacciones en el SERT. F1L (verde oscuro). Se muestran los residuos cercanos (gris) y los átomos de Na ⁺ (esferas rosadas). Las líneas negras punteadas representan puentes salinos o puentes de hidrógeno y las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.	113
Figura 2.64: Comparación de valores de Ki entre derivados indol-bromados versus indol-fluorados.	114
Figura 2.65: Modos de unión e interacciones en el SERT. A. F1A (rojo), B. F1B (violeta). Se muestran los residuos cercanos (gris) y los átomos de Na ⁺ (esferas rosadas). Las líneas negras punteadas representan puentes salinos o puentes de hidrógeno y las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.	115
Figura 2.66: Valores de Ki para los derivados de más bajas afinidades.	116
Figura 2.67: Valores de Ki para los derivados 5-fluoro-indólicos F1G y F1H.	117
Figura 2.68: Valores de Ki para los derivados 6-fluoro-benzoxazínicos F1C, F1I y F1O.	118
Figura 2.69: Valores de Ki para el subgrupo sin sustituciones en C-5 del indol, pero con halógenos en C-6 de la benzoxazina.	118
Figura 2.70: Modos de unión superpuestos de haloperidol (cian) con los compuestos analizados de la serie 1; F1A(violeta), F1B (verde), F1M (naranja) y F1N (azul).....	119
Figura 2.71: Modos de unión superpuestos de harmina (cian) con los compuestos F1F(rosado), F1H (verde), F1I (naranja) y F1L (violeta).	121
Figura 2.72: Modos de unión e interacciones en la MAO-A. A. F1F (rosado), B. F1H (verde), C. F1I (naranja) y D. F1L (violeta). Se muestran los residuos cercanos (gris). Las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.	122
Figura 2.73: F2C (turquesa) y F2G(violeta). Se muestran los residuos cercanos (gris). Las líneas negras punteadas representan puentes salinos, las interacciones catión- π se muestran en amarillo y las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.	125

Figura 2.74: F2E (celeste) y F2I (naranja). Se muestran los residuos cercanos (gris). Las líneas de las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.	126
Figura 2.75: Valores de K_i para aquellos ligandos con sustitución 5-2 de tipo meta sobre TSER.....	127
Figura 2.76: Valores de K_i para aquellos ligandos con sustitución 3-4 de tipo meta sobre TSER.....	128
Figura 2.77: Valores de K_i para aquellos ligandos con sustitución 5-2 de tipo meta sobre el receptor D2s.	130
Figura 2.78: La serie 2 F2C (amarillo), F2G (verde), F2E (rojo) e F2I (violeta). .	131
Figura 2.79: Valores de porcentajes de inhibición para los compuestos F2B, F2F y F2J con patrón de sustitución 3,4 (tipo meta).....	132
Figura 2.80: Compuestos F2B (magenta) y F2J(verde). Se muestran los residuos cercanos (gris). Las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes...	133
Figura 2.81: Compuestos F2G (celeste) y F2H (amarillo). Se muestran los residuos cercanos (gris). Las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes...	134
Figura 2.82: Valores de K_i para aquellos ligandos con sustitución C-5 indólica.	136
Figura 2.83: Compuestos F3F (azul), F3H (rosado) y F3J (verde). Se muestran los residuos cercanos (gris). Las líneas negras punteadas representan puentes salinos y las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.....	138
Figura 2.84: Compuestos F3C (amarillo) y F3K (violeta). Se muestran los residuos cercanos (gris). Las líneas negras punteadas representan puentes salinos y las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.	139
Figura 2.85: Modos de unión superpuestos de haloperidol (cian) con los compuestos analizados de la serie 3: F3A, F3C, F3F y F3G.	142
Figura 2.86: Estructuras fluoradas y bromadas en C-5 del indol que exhiben los mejores porcentajes de inhibición dentro de cada subgrupo.	143
Figura 2.87: Estructuras dicloradas en la piridina con los mejores porcentajes de inhibición en cada subgrupo.....	144
Figura 2.88: Modos de unión para los compuestos F3G (cian) y F3L (magenta). Se muestran los residuos cercanos (gris). Las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.	145

Figura 2.89: A) Modos de unión para los compuestos F3A (verde) y F3B (violeta). Se muestran los residuos cercanos (gris). Las líneas negras punteadas representan puentes de hidrógeno y las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.

..... 146

Figura 3.1: Propuesta estructural final de un ligando mejorado con posible actividad triple y de justificación de fragmentos. 151

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1: Compuestos 1a-c con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.....	35
Tabla 2.2: Compuestos 2a-c con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.....	38
Tabla 2.3: Compuestos 3a-c con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.....	41
Tabla 2.4: Compuestos 4a-c con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.....	45
Tabla 2.5: Compuestos 5a-e con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.....	49
Tabla 2.6: Compuestos 6a-f con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.....	51
Tabla 2.7: Compuestos 7a-f con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.....	54
Tabla 2.8: Compuestos 8a-f con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.....	56
Tabla 2.9: Compuestos 9a-f con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.....	59
Tabla 2.10: Compuestos 10a-c con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.....	62
Tabla 2.11: Compuestos F1A-O con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.....	66
Tabla 2.12: Compuestos 12 a-d con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.....	72
Tabla 2.13: Compuestos 13a-d con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.....	75
Tabla 2.14: Compuestos 14 a-d con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.....	78
Tabla 2.15: Compuestos F2A-L con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.....	82

Tabla 2.16: Compuestos 15 a-d con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.....	87
Tabla 2.17: Compuestos 16a-d con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.....	90
Tabla 2.18: Compuestos 17a-d con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.....	92
Tabla 2.19: Compuestos F3A-L con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.....	96
Tabla 2.20: Datos se presentan como el valor promedio \pm EEM de tres experimentos independientes, cada uno por triplicado. Todos los valores de K_i son expresados en rango nM, N.D. no determinado.	110
Tabla 2.21: Compuestos seleccionados de la familia 1 analizados en los estudios de acoplamiento molecular inducido en TSER.....	110
Tabla 2.22: Compuestos seleccionados de la familia 1 analizados en estudios de acoplamiento molecular inducido en D2.....	116
Tabla 2.23: Compuestos seleccionados de la familia 1 analizados en los estudios de acoplamiento molecular inducido en MAO-A.....	120
Tabla 2.24: Datos se presentan como el valor promedio \pm EEM de tres experimentos independientes, cada uno por triplicado. Todos los valores de K_i son expresados en rango nM. N.D. no determinado.	123
Tabla 2.25: Compuestos seleccionados de la serie 2 analizados en los estudios de acoplamiento molecular inducido en TSER.....	124
Tabla 2.26: Compuestos seleccionados de la serie 2 analizados en los estudios de acoplamiento molecular inducido en D2.....	129
Tabla 2.27: Compuestos seleccionados de la serie 2 analizados en los estudios de acoplamiento molecular inducido en MAO-A.....	131
Tabla 2.28: Datos se presentan como el valor promedio \pm EEM de tres experimentos independientes, cada uno por triplicado. Todos los valores de K_i son expresados en rango nM. N.D. no determinado.	135
Tabla 2.29: Compuestos seleccionados de la familia 3 analizados en los estudios de acoplamiento molecular inducido en TSER.	135

Tabla 2.30: Compuestos seleccionados de la familia 3 analizados en los estudios de acoplamiento molecular inducido en D2.	140
Tabla 2.31: Compuestos seleccionados de la familia 3 analizados en los estudios de acoplamiento molecular inducido en MAO-A.....	142

GLOSARIO TÉRMINOS Y ABREVIATURAS USADAS

[³ H]-Metilspiperona	Metilspiperona tritiada
[³ H]-Paroxetina	Paroxetina tritiada
¹³ C-RMN	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
¹ H-RMN	Resonancia magnética nuclear de protones
5-HT	Serotonina
Å	Angström
AC	Adenilato ciclasa
AcOEt	Acetato de etilo
AcOH	Ácido acético
AT	Antidepresivos tricíclicos
Ci	Curie
D _{2L}	Receptor 2 de dopamina largo
D _{2S}	Receptor 2 de dopamina corto
D ₃	Receptor 3 de dopamina
DA	Dopamina
DHP	3,4-dihidropirano
DM	Dinámica molecular
DMA	Dimetilacetamida
DMAP	4-dimetilaminopirina
DMSO	Dimetilsulfóxido
ED	Detección electroquímica
EDTA	Etilendiaminotetraacetato
EtOH	Etanol
FAD	Dinucleótido flavina adenina

Gi	Proteína G inhibitoria
GPCR	Receptores acoplados a proteína G
hD3	Receptor 3 de dopamina humano
hMAO-A	Monoaminoxidasa-A humana
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
HRMS	Espectroscopía de masa
hSERT	Transportador de serotonina humano
IC ₅₀	Concentración de inhibidor que produce el 50% del efecto
iMAO	Inhibidores de la monoamino oxidasa
IRSN	Inhibidores de la recaptación de la NE y la 5-HT
ISRS	Inhibidores selectivos de la recaptación de la 5-HT
Ki	Constante de afinidad
LGA	Algoritmo genético Lamarckiano
M	Molar
MAO-A	Monoaminoxidasa-A
MAO-B	Monoaminoxidasa-B
MeOH	Metanol
mL	Mililitros
mM	Milimolar
Mmol	Milimol
NE	Norepinefrina
n-Hex	n-Hexano
nM	Nanomolar
OMS	Organización Mundial de la Salud
PDB	Protein Data Bank

RMSD	Desviación de mínimos cuadrados
RNAm	Adenosín ribonucleótido mensajero
SNC	Sistema nervioso central
TDA	Transportador de dopamina
TEA	Trietilamina
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
TM	Sitios transmembrana
TMA	Transportadores de monoaminas
TNE	Transportador de norepinefrina
TsCl	Cloruro de tosilo
TSER	Transportador de serotonina
VMD	<i>Visual Molecular Dynamic</i>

RESUMEN

La presente tesis es un aporte al conocimiento en el área de la Química medicinal mediante el diseño y síntesis de nuevos derivados indólicos que actúen como ligandos multifuncionales con potencial acción antidepresiva. Los estudios de afinidad se efectuaron sobre h-TSER (proteína transportadora de serotonina humana), D2s (receptor de dopamina D2 corto humano) e inhibición sobre la enzima MAO-A (monoamino oxidasa de rata). Estructuralmente las nuevas familias corresponden a indolil propilpiperazinas conectadas a: anillos benzoxazínicos (F1), derivados morfolinoetilbenzamidias fluorados (F2) y anillos aminopiridínicos (F3).

Los estudios de afinidad efectuados por desplazamiento de radioligandos en las 3 familias, mostraron que 14 compuestos que exhibieron valores de K_i en el rango nanomolar (3.0-16nM) en la proteína TSER. En los estudios de afinidad por desplazamiento de radioligando para el receptor D2s, 11 compuestos exhibieron afinidades entre 330-910 nM. Finalmente, en los ensayos en MAO-A, 7 compuestos mostraron porcentajes de inhibición sobre el 50%.

Solo una (familia III) exhibió un perfil de acción con acción multimodal dual. Los compuestos F3F (K_i TSER = 3,13 nM; e inhibición MAO-A = 50%), F3G (K_i TSER = 13,10 nM; e inhibición MAO-A = 75%) y F3L (K_i TSER = 9,64 nM; e inhibición MAO-A = 67%). Todos los ensayos farmacológicos fueron complementados contrastados y discutidos con estudios de acoplamiento molecular inducido (docking).

SUMMARY

The main goal of the present thesis is to contribute to the knowledge of the medicinal chemistry through the design and synthesis of novel indol derivatives functioning as multitargets agents with potential antidepressive action. Binding affinities studies were carried out in h-SERT (human serotonin transporter proteine), hD2s (human short-dopamine receptor) and rat MAO-A enzyme inhibition. Indolylpropyl piperazine moieties were connected to the following scaffolds: functionalized benzoxazine rings (F1), morpholinoethylfluorinated benzamide derivatives (F2) and functionalized aminopyridines (F3).

Radioligand binding assays on SERT carried out for compounds belonging to the three families showed that 14 compounds displayed K_i values in the nanomolar range (3.0-16nM) six of them belonging to the first family. The D2s receptor study gave 11 compounds displaying affinities between 330-910 nM, the MAO-A assays revealed that 7 compounds showed enzyme inhibition values over 50%.

Only Family III displayed a dual mode of biological activity. Compounds F3F (K_i SERT = 3.13 nM, MAO-A inhibition = 50%), F3G (K_i SERT = 13.10 nM, MAO-A inhibition = 75%) and F3L (K_i SERT = 9.64 nM, MAO-A inhibition = 67%). The pharmacological results were supported and discussed using induced molecular coupling studies (docking).

1 INTRODUCCIÓN

1.1 La depresión: epidemiología y definición.

La depresión es un trastorno del ánimo extremadamente común, el cual afecta a aproximadamente 350 millones de personas en el mundo, la cual va mermando el estilo y calidad de vida de quienes la padecen. Esta patología trae consigo elevados costos asociados a salud, convirtiéndose en un tema problemático para los individuos y la sociedad en general¹. La Organización Mundial de la Salud (OMS) prevé que en el año 2030 la depresión será la segunda causa de morbilidad a nivel mundial².

En Chile la situación es problemática, especialmente en Santiago de Chile, ya que un estudio de la OMS muestra que la mitad de la población santiaguina tiene algún desorden mental (52,8 %), estableciéndose una frecuencia de la depresión de un 29,5 % y de ansiedad generalizada de un 18,7%³, siendo un tema de salud complejo para nuestro país.

La depresión se define como una enfermedad neuropsiquiátrica que se caracteriza por una conducta deprimida, tristeza, una disminución del interés general y una función cognitiva afectada, las cuales están acompañadas por varios cambios psico-fisiológicos tales como alteraciones en el apetito, falta de deseo sexual, alteraciones del sueño, poca capacidad de concentración, etc.^{4,5}

La depresión y la hipótesis monoaminérgica

A lo largo de los años, la evidencia neurobiológica, fisiopatológica y terapéutica han establecido con fuerza la hipótesis monoaminérgica de la depresión. En este contexto y con el fundamento fisiopatológico de dicha hipótesis,

distintos estudios clínicos en personas con trastornos depresivos han expuesto la existencia de un desbalance a nivel del sistema nervioso central (SNC) en las concentraciones de las monoaminas serotonina (5-HT), dopamina (DA) y norepinefrina (NE) (**Figura 1.1**). También se ha observado que algunas de las proteínas relacionadas al sistema monoaminérgico, como los transportadores, los receptores o las enzimas metabolizadoras, estarían afectadas en el cerebro, estableciendo un fundamento^{6,7,8,9,10}. En una visión general, el sistema monoaminérgico presente en el SNC y que se relaciona a los trastornos del ánimo, está compuesto por neuronas que tienen sus porciones somatodendríticas en mesencéfalo y tallo cerebral, y que proyectan sus axones a casi todo el cerebro, estableciendo sinapsis especialmente en las áreas que están relacionadas con el procesamiento cognitivo, emotivo y conductual⁴.

De este modo, desde hace casi aproximadamente setenta años, el incremento de los niveles de las monoaminas en el SNC por el tratamiento con inhibidores de la monoamino oxidasa (iMAO), antidepresivos tricíclicos (AT), inhibidores selectivos de la recaptación de la 5-HT (ISRS) más los inhibidores de la recaptación de la NE y la 5-HT (IRSN) entre otros, han revertido los síntomas en individuos con depresión, estableciéndose un apoyo desde la terapéutica a la hipótesis monoaminérgica de la depresión¹¹.

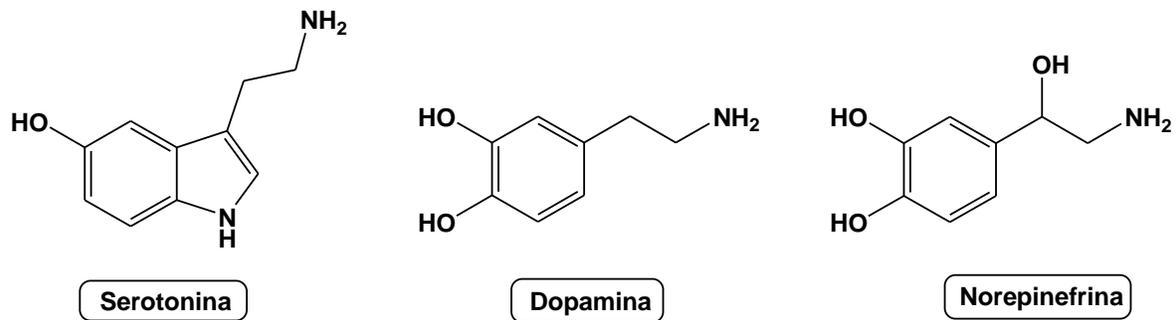


Figura 1.1: Estructura química de las monoaminas serotonina (5-HT), dopamina (DA) y norepinefrina (NE).

1.2 Neurobiología de la depresión.

En el contexto neurobiológico asociado a la depresión, las porciones somatodendríticas de las neuronas pertenecientes a los sistemas monoaminérgicos, se ubican en núcleos acotados en la parte posterior del cerebro y proyecta a casi todas las porciones de este. En el caso del sistema serotoninérgico, los cuerpos neuronales se localizan en el núcleo del rafé (núcleo serotoninérgico principal del SNC), ubicado en el tallo cerebral y que proyecta hacia la amígdala, el hipocampo, neocorteza, los estriados dorsal y ventral, etc. ^{12,13,14}.

Por otro lado, el sistema dopaminérgico, que también estaría correlacionado con el trastorno depresivo, posee los cuerpos celulares neuronales en el área del tegmento ventral (ubicado en el mesencéfalo), y que proyectan principalmente hacia el núcleo accumbens y corteza prefrontal^{15,14,16,17} (**Figura 1.2**).

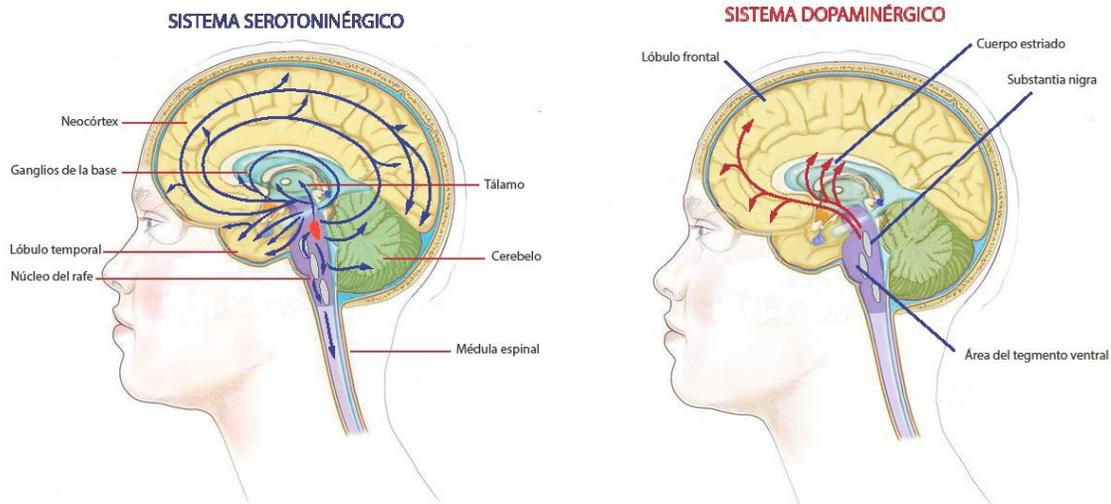


Figura 1.2: Ramificaciones cerebrales de los sistemas serotoninérgico y dopaminérgico.

A su vez, en el sistema norepinefrinérgico, los cuerpos celulares neuronales se localizan principalmente en el *locus coeruleus* (ubicado en tallo cerebral), y realizan su proyección hacia hipocampo, corteza, amígdala, etc.^{18,19,11,14}.

Teniendo en cuenta toda esta información, dichas agrupaciones neuronales proyectan sus axones a áreas del SNC que están involucradas en el procesamiento del aprendizaje, motivación, estado y control del ánimo, etc., o sea todas aquellas funciones que se ven afectadas en la enfermedad depresiva.^{4, 14,16,17,19,20,21}

En un contexto general y resumido de la fisiología celular de estos grupos celulares, las neuronas serotoninérgicas, dopaminérgicas y norepinefrinérgicas, al activarse por despolarización de la membrana plasmática neuronal, liberan sus respectivos neurotransmisores almacenados en las vesículas sinápticas al espacio sináptico, mecanismo que es realizado por proteínas dependientes de Ca^{+2} ^{22,23}.

Una vez liberados estos neurotransmisores pueden unirse a:

(i) Receptores en la neurona postsináptica: los cuales pueden ejercer una activación o inhibición neuronal, dependiendo de la cascada de señalización intracelular asociada a dichos receptores^{24,25,26,27,28,29}.

(ii) Autorreceptores: los que están ubicados en el mismo terminal sináptico y que regulan el proceso de liberación de los neurotransmisores, siendo por lo general, un proceso de naturaleza inhibitoria^{24,25,26,27,28,29,30}.

Por otro lado, para controlar la homeostasis extracelular (concentración de los neurotransmisores liberados al espacio sináptico), tenemos proteínas conocidas como transportadores de monoaminas (TMA), las que se ubican en la perisinapsis (región celular cercana a la sinapsis) de los terminales sinápticos, y que tienen la función de captar las monoaminas desde el espacio extracelular al intracelular^{29,31}.

Cada sistema en particular tiene su respectivo TMA presináptico, siendo el **TSER** para el sistema serotoninérgico^{32,31,29}, el **TDA** para el dopaminérgico^{33,31,29} y el **TNE** para el norepinefrinérgico^{34,31,29}. Estos TMA corresponden a proteínas doce dominios transmembrana pertenecientes a la familia de transportadores dependientes de Na⁺ y Cl⁻, los cuales recaptan 5-HT, DA o NE desde el espacio sináptico al espacio intracelular respectivamente^{29,31,32,33,34}.

Estos neurotransmisores, una vez recaptados y de vuelta en el citosol neuronal presináptico, pueden ser nuevamente empaquetados en las vesículas sinápticas a través del transportador de monoaminas y así estar disponibles para una próxima liberación^{35,36} o metabolizados por las monoamino oxidasas (MAO)^{36,37}.

En humanos existen dos tipos de MAO, la MAO-A y la MAO-B, las cuales catalizan la desaminación de las monoaminas. Estas enzimas se encuentran

asociadas a la membrana mitocondrial externa³⁸ y se ha determinado que MAO-A participa en la metabolización de la 5-HT y la NE preferencialmente, en cambio, la DA es metabolizada por ambos tipos de MAO^{37,38} (**Figura 1.3**).

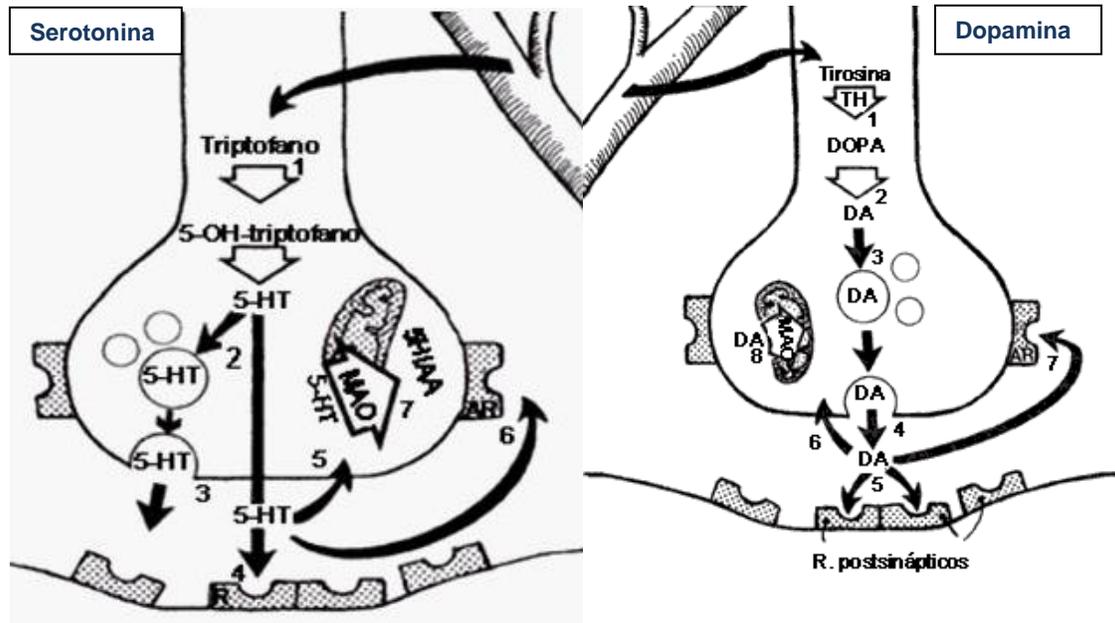


Figura 1.3: Esquema que muestra el ciclo para los neurotransmisores serotonina y dopamina, desde: 1) Su aminoácido precursor, 2) Síntesis celular, 3) Almacenamiento en vesículas dentro del citosol, 4) Liberación al espacio sináptico, 5) Acción sobre el receptor postsináptico o sobre auto receptores, 6) Recaptación mediante transportadores para volver a ser reutilizado o ser degradado por la MAO-A (serotonina) o MAO-B (dopamina) dentro de la mitocondria.

1.3 Farmacología de la depresión

Como se señaló anteriormente, la fisiopatología de la depresión establece un desbalance monoaminérgico, principalmente una disminución de los niveles de monoaminas en el SNC. En ese sentido y para revertir dicha situación, los fármacos utilizados en clínica para el tratamiento de individuos depresivos tienen variados mecanismos de acción como por ejemplo la de inhibir la metabolización de los neurotransmisores, es así como nace el uso de los iMAO o con el fin de aumentar el tiempo de permanencia del neurotransmisor en el espacio sináptico por el bloqueo de los transportadores, como por ejemplo los AT, ISRS, e INRS¹¹

Inhibidores de monoamino oxidasa

El primer fármaco antidepresivo en aparecer fue el iMAO irreversible y no selectivo **iproniazida** el cual fue discontinuado por producir hepatotoxicidad. El mecanismo por el cual actúan es el de inhibir la actividad enzimática de la MAO^{11,37,39,38} lo que conlleva a un aumento en el tiempo de vida media de las monoaminas.

Debido a la existencia de dos enzimas MAO, los inhibidores se pueden dividir en tres categorías por su selectividad (**Figura 1.4**):

- (i) iMAO no selectivos (por ejemplo, la fenelzina y la isocarboxazida)
- (ii) iMAO-A (por ejemplo, la moclobemida)
- (iii) iMAO-B (por ejemplo, la pargilina y selegilina)

Si bien son los más efectivos en tratamiento de la depresión, su utilización en clínica es más bien restringida debido a la interacción de fármacos, efectos secundarios no deseados y restricciones alimenticias, ya que en combinación con una dieta que contenga tiramina generan crisis hipertensiva.

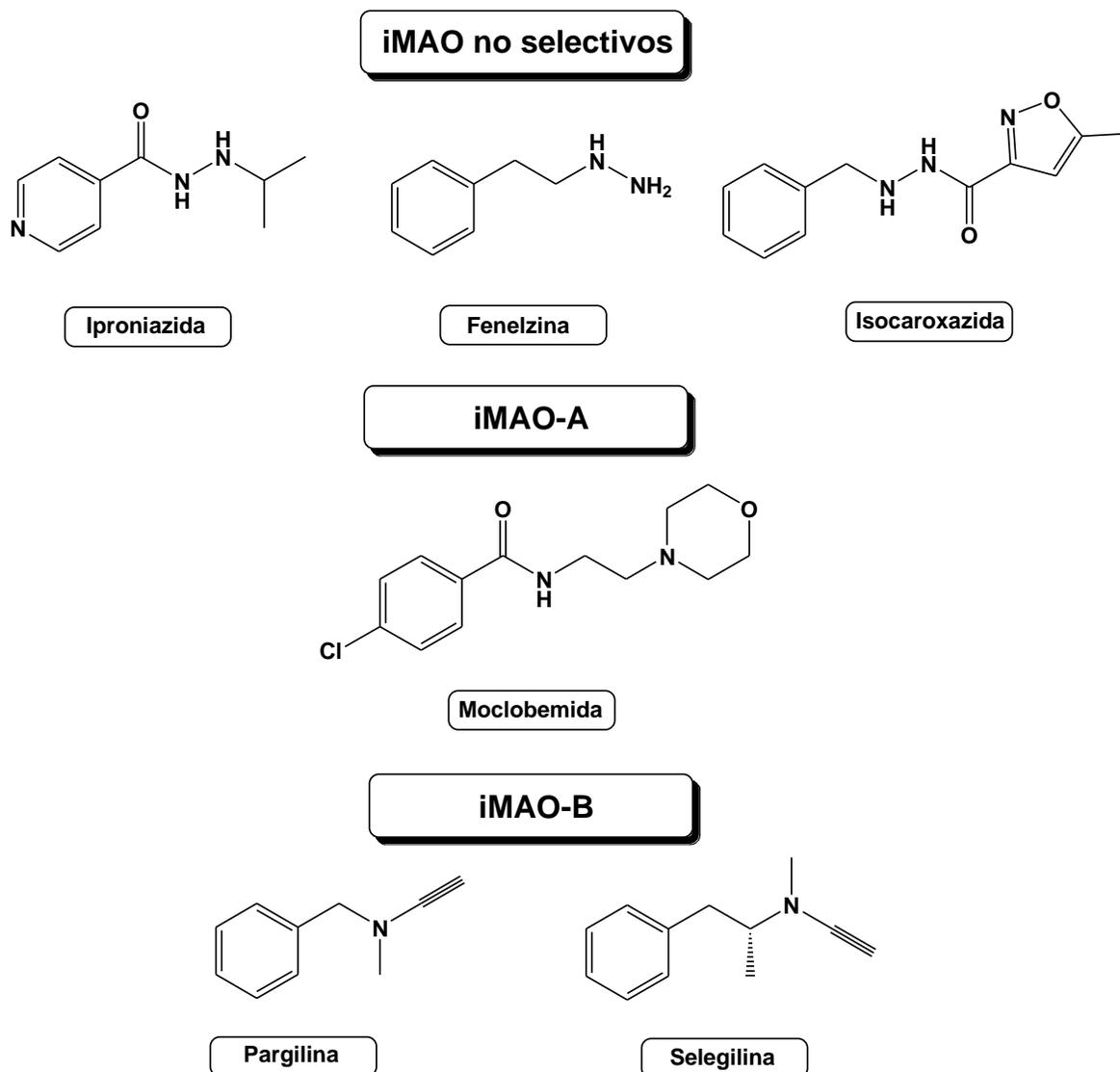


Figura 1.4: Estructura química de los inhibidores de monoamino oxidasa, no selectivos, selectivo por la isoforma A (iMAO-A) y selectivos por la isoforma B (iMAO-B).

Antidepresivos Tricíclicos

El primer AT utilizado en clínica fue la imipramina, la cual fue propuesta inicialmente como un antihistamínico. A partir de la estructura de la imipramina se han sintetizado una multiplicidad de fármacos^{11,39,40} para el tratamiento de la depresión. Dependiendo del AT, los blancos farmacológicos pueden ser variados e incluyen distintos receptores, sin embargo, se reconoce en ellos la capacidad de

tener como dianas a los TMA, preferencialmente a TSER y TNE, con similares o distintas afinidades, teniendo un efecto de bloqueo de la recaptación de la 5-HT y la NE. Ejemplo de los AT son la imipramina, la amitriptilina, la desipramina, la doxepina, etc. **(Figura 1.5).**

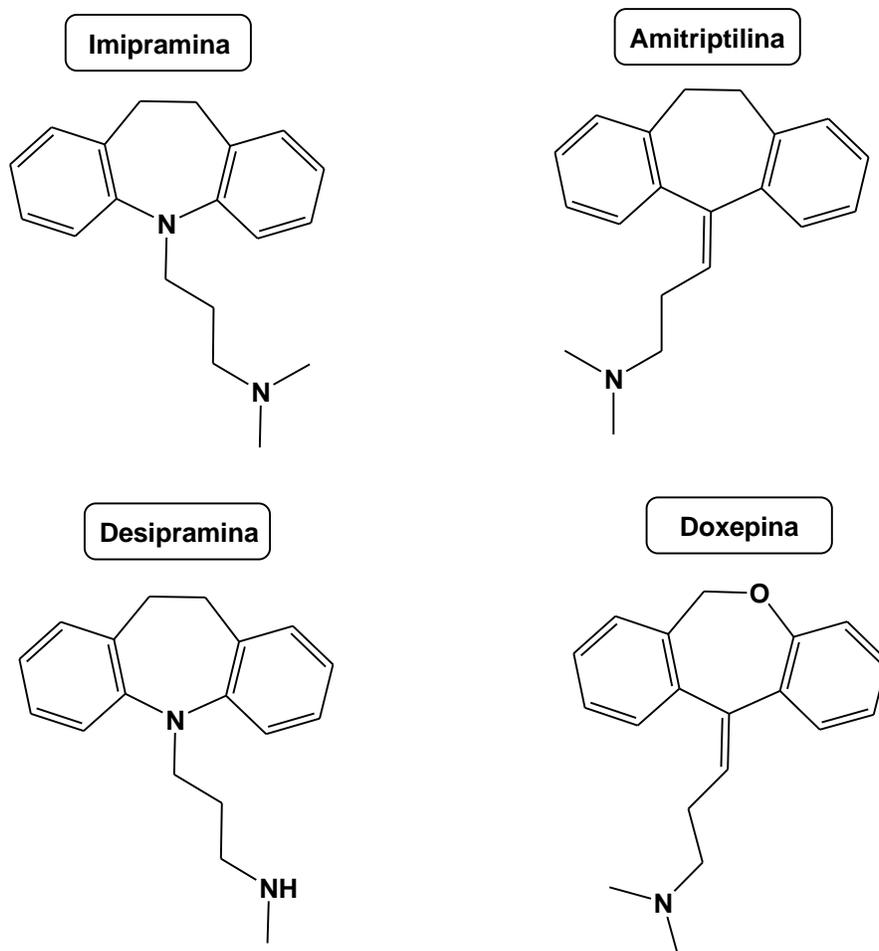


Figura 1.5: Estructura química de los antidepresivos tricíclicos imipramina, amitriptilina, desipramina y doxepina.

Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina.

Posterior a la aparición en clínica de los AT surgen los ISRS^{11,39,41}, que tienen como mecanismo de acción el bloqueo selectivo del TSER, sustentando una

refinación de la hipótesis monoaminérgica dando origen a la hipótesis serotoninérgica de la depresión. El rol principal que algunos autores le dan al sistema serotoninérgico en la etiología de la depresión se sustenta en evidencias fisiopatológica las cuales muestran que polimorfismos en el TSER y la disminución de los niveles de la 5-HT en el SNC⁸ están asociados a predisposición a la depresión⁶.

Algunos ejemplos de ISRS son la fluoxetina, la paroxetina, la venlafaxina etc.

(Figura 1.6).

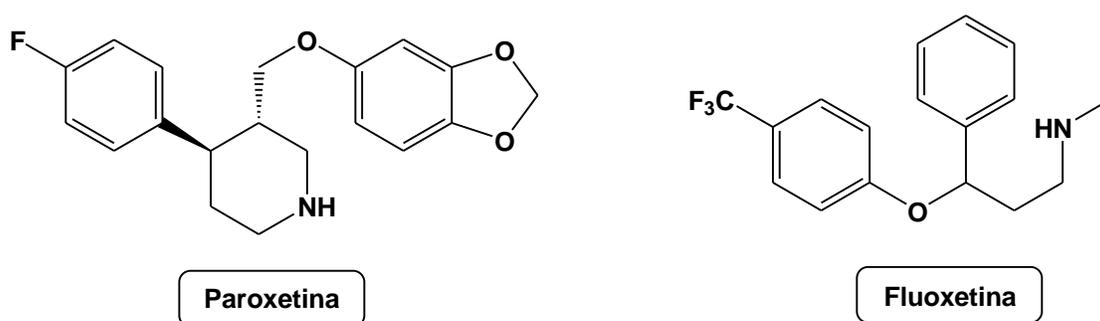


Figura 1.6: Estructura química de paroxetina y fluoxetina, inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina.

1.4 Problemática de la terapia antidepresiva.

Los datos de literatura muestran que el bloqueo de TSER por los AT y los ISRS promueven un incremento de los niveles de la 5-HT en el SNC, pero existe un retardo en el tiempo en que ejercen efectos sobre los síntomas asociados a la depresión^{11,41}. Por otro lado existe cierta parte de individuos depresivos que presentan depresión resistente a tratamiento, en los cuales se propone la terapia combinada de iMAOs con AT, ISRS o IRNS, sin embargo, el control de dicha terapia tiene que ser exhaustivo ya que puede existir el riesgo de efectos adversos, siendo el más severo el síndrome serotoninérgico⁴². Además, la depresión es comórbida

con otras patologías como la ansiedad, trastorno obsesivo compulsivo entre otros trastornos neuropsiquiátricos^{43,44,45,46}.

De esta manera, y teniendo en cuenta los conocimientos de tipo neurobiológico, molecular y terapéutico de las moléculas existentes utilizadas en la fisiopatología o tratamiento de la depresión, es que nace la idea de buscar nuevos fármacos que mejoren los tiempos de respuestas y tengan múltiples blancos definidos para el tratamiento de la depresión en conjunto con otras patologías neuropsiquiátricas, a la vez de ir disminuyendo los efectos secundarios no deseados^{47,48}.

Concepto de polifarmacología y fármacos multirreceptoriales

El paradigma un fármaco-un receptor ha ido cambiando en años recientes. Un área importante de integración entre los sistemas biológicos, la fisiopatología de las enfermedades y el conocimiento estructural de los fármacos ya utilizados en clínica ha apuntado a la búsqueda de nuevas moléculas, diseñadas racionalmente y con múltiples dianas específicas.

Así surge el concepto de **polifarmacología**, es decir el tratamiento de enfermedades, en las cuales se conocen los sistemas afectados, con fármacos multirreceptoriales^{47,48,49,50,51} que modulen más de una diana farmacológica. Estas moléculas nuevas pueden ser de naturaleza híbrida, es decir el resultado de la unión de dos o más fármacos, o de naturaleza quimérica, es decir, el resultado de la unión de sólo las porciones estructurales (farmacóforos) de distintos fármacos que presentan especificidad por un sistema acotado.

El fundamento de la polifarmacología y la utilización de fármacos multirreceptoriales en la fisiopatología de la depresión se sustenta en mejorar la

eficacia, velocidad de inicio de acción y mayor tolerabilidad de la farmacoterapia. Las ventajas comparativas del uso de fármacos multirreceptoriales versus la asociación combinada de fármacos individuales viene dado por una mejor adherencia a la fármaco terapia (es más fácil tomar un solo comprimido que un arsenal de ellas), se evita la interacción de fármacos (tópico farmacocinético de interés en el cual un fármaco altera la biodisponibilidad y la metabolización de otro), simplicidad en el estudio farmacocinético y toxicológico (es más oneroso conducir estudios farmacocinéticos y toxicológicos por cada fármaco que por una única molécula), etc.

En las últimas décadas, se informaron múltiples publicaciones en el área de la química medicinal, en las cuales se comunicaba el diseño racional y síntesis de diversas moléculas multirreceptoriales. Un ejemplo de una molécula con dichas características y que nos sirve para clarificar el concepto al cual se apunta en esta tesis doctoral, lo constituye el diseño y síntesis del fármaco **ladostigil** (TV3326) (**Figura 1.7**) que es un nuevo ligando para el tratamiento de la enfermedades de Alzheimer y Parkinson comórbidas con trastornos depresivos, donde se ensambló una entidad farmacofórica proveniente del inhibidor enzimático de acetilcolinesterasa-butirilcolinesterasa **Rivastigmina** con el potente iMAO-B **Rasagilina**. El resultado dio un compuesto final que es capaz de inhibir ambas enzimas y que se encuentra en evaluación su seguridad y eficacia para su utilización en clínica.^{52,53,54}

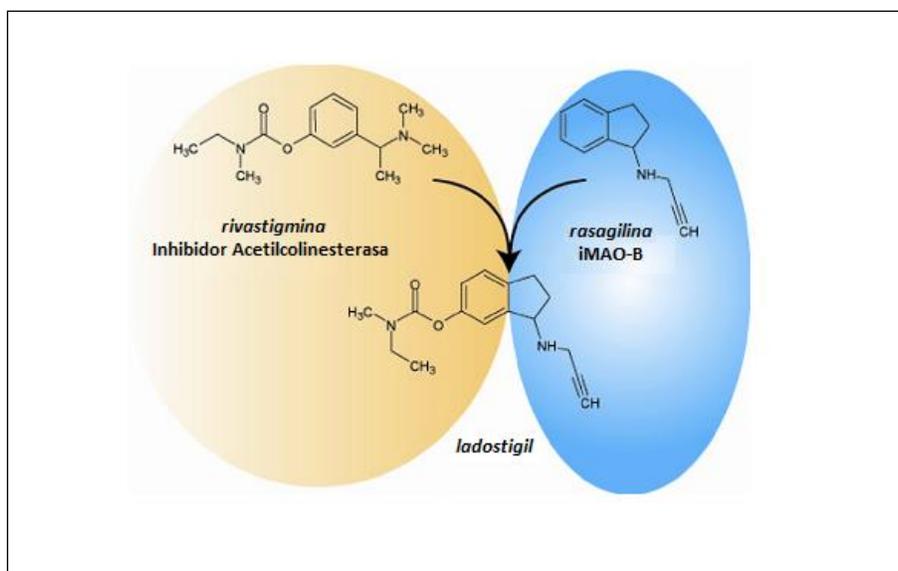


Figura 1.7: Estructura química de ladostigil, ejemplo de molécula multirreceptorial, y moléculas parentales Rivastigmina (inhibidor de acetilcolinesterasa) y Rasagilina (iMAO-B).

1.5 Razonamiento de blancos farmacológicos para la síntesis de nuevas moléculas multirreceptoriales.

En esta tesis doctoral se propone el diseño, síntesis y evaluación de nuevas moléculas multirreceptoriales que tengan como blancos farmacológicos a TSER, MAO-A y la isoforma corta del receptor dopaminérgico del tipo 2 (D_{2s}). Dado la evidencia fisiopatológica, neurobiológica y farmacológica antes expuesta, moléculas que tengan como blancos farmacológicos al TSER y la MAO-A presentan un buen perfil para ser utilizados en una probable farmacoterapia futura de la depresión. Así lo expone la utilización y demostración de la eficacia en clínica de la terapia conjunta de ISRS, que tienen como diana al TSER, en combinación con iMAO, para mejorar la sintomatología de la depresión resistente a tratamiento⁴².

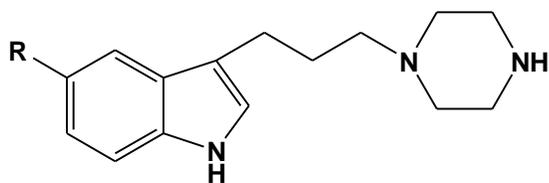
Por otro lado, la justificación de presentar al receptor D_{2s} como blanco farmacológico para dichas moléculas se extrae de la importancia que toma el sistema dopaminérgico en la fisiopatología de la depresión. En dicho sentido, se ha

observado que un desequilibrio de la DA, neurotransmisor principal en el proceso de la motivación¹⁷, podría estar asociado a un déficit de emociones positivas y procesamiento de la motivación en individuos con depresión^{55,16}. En las áreas de proyección del sistema dopaminérgico, la liberación de la DA está controlada por los receptores presinápticos dopaminérgicos D₂, que se acoplan a una proteína G inhibitoria G_i y suprimen la liberación de la DA ^{27,56}. El receptor D₂ presenta dos isoformas derivadas por empalme alternativo, la isoforma corta D_{2s} y la isoforma larga D_{2L}, y se ha establecido que el control presináptico de la DA se debe principalmente a la modulación de los D_{2s}^{57,27}.

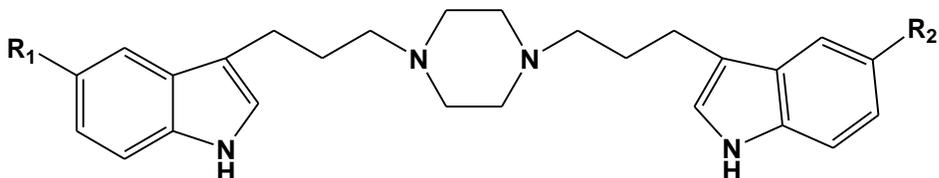
Respaldando nuestro planteamiento, datos clínicos recientes han demostrado que el tratamiento con amisulprida (antagonista de los receptores presinápticos D₂), mejora la transmisión dopaminérgica y la conectividad en las áreas estriatales en individuos depresivos⁵⁸. Lo anteriormente expuesto, sugiere que los fármacos con capacidad de modular los receptores D_{2s} podrían ayudar en mejorar la sintomatología de la depresión.

1.6 Propuestas de farmacóforos para el diseño estructural de los ligandos.

En experiencias previas del grupo de investigación de nuestro laboratorio, se pudo comprobar la importancia del sistema indol-propil-piperazina sustituidos en la posición C-5 del indol ya sea en la forma de unidad o como hetero u homo bis-ligandos⁵⁹ para la unión de estos compuestos al transportador de serotonina (TSER), logrando muy buenos valores de afinidad (**Figura 1.8**).



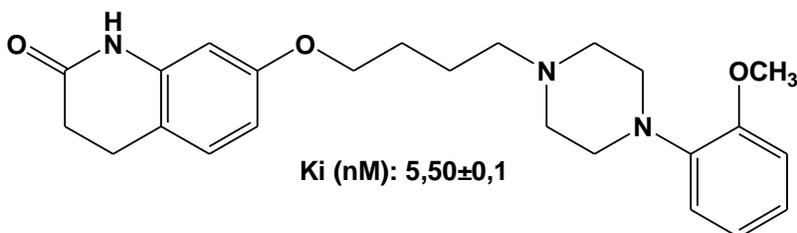
IC_{50} (nM): 37 ± 5 R = H, 13 ± 2 R = F



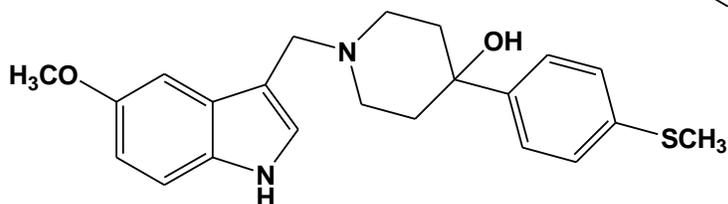
IC_{50} (nM): 26 ± 6 R₁ / R₂ = H / F, 14 ± 3 R₁ / R₂ = F / OCH₃

Figura 1.8: Valores de afinidad medidos como IC_{50} obtenidos en trabajos previos sobre el transportador de serotonina (TSER).

Con respecto a la unión de las estructuras de tipo indólicas o piperazínicas al receptor D2, existen en la literatura trabajos previos en los cuales se presentan compuestos que contienen farmacóforos con interesantes valores de afinidad^{60, 61} (Figura 1.9).



K_i (nM): $5,50 \pm 0,1$



K_i (nM): $0,22 \pm 0,01$

Figura 1.9: Valores de afinidad medidos como K_i sobre el receptor D2 para estructuras que presentan porciones indólicas o piperazínicas.

El núcleo de tipo 1-4 benzoxazina fue seleccionado debido a su similitud estructural con el heterociclo 1-4 bezoxazina-3-ona, el cual reporta valores de afinidad, en el rango de nM, sobre el receptor D2s ⁶² (**Figura 1.10**).

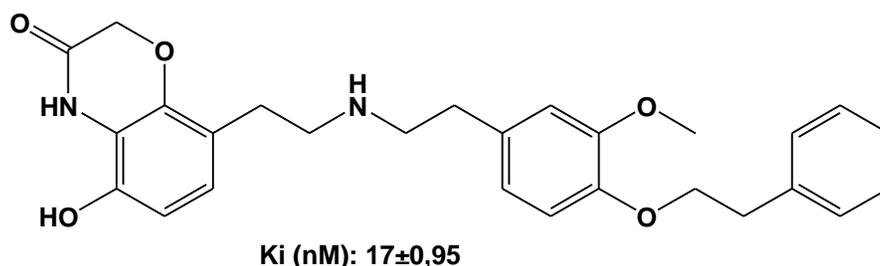


Figura 1.10: Valor de afinidad medido como Ki para ligando con núcleo de 1-4 benzoxazina 3-ona sobre receptor D2s.

Para el caso de la actividad inhibitoria de una molécula sobre la MAO-A, en la literatura ha sido descrita (**Figura 1.11**) la presencia del núcleo indólico, de nitrógenos básicos protonables e incluso de sistemas heterocíclicos π-deficientes como la quinolina⁶³.

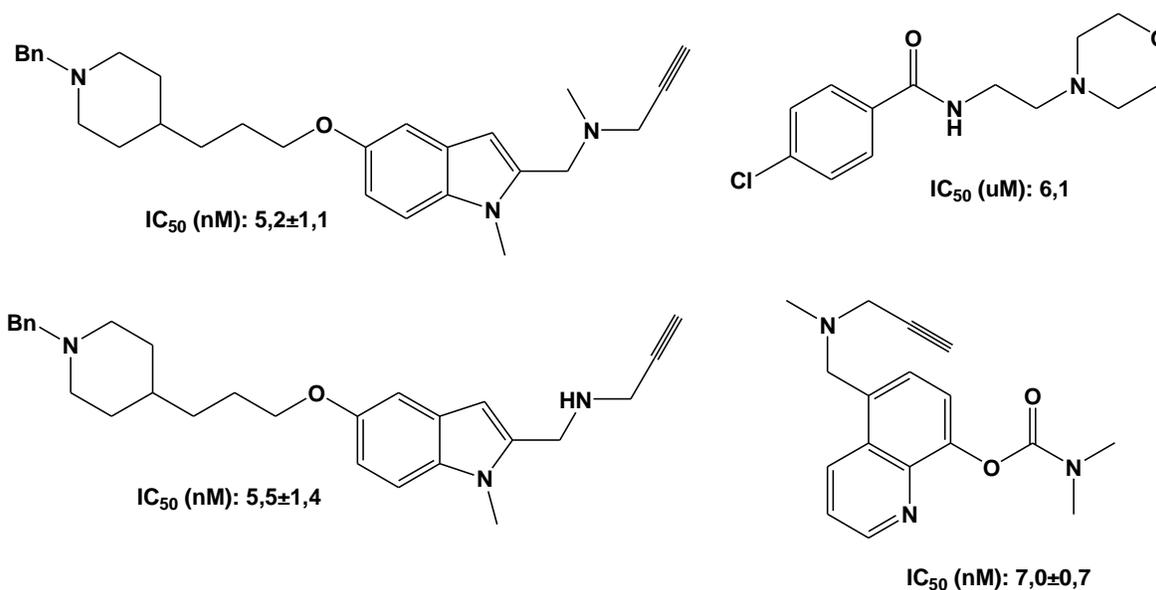


Figura 1.11: Valor de actividad inhibitoria, medidos como IC₅₀, para ligandos sobre la MAO-A.

1.7 Consideraciones generales sobre las estructuras proteicas utilizadas como blancos farmacológicos.

En base a los datos expuestos anteriormente, se procederá a realizar una descripción de aspectos estructurales y funcionales de:

- El transportador de serotonina (TSER).
- La enzima monoaminoxidasa A (MAO-A).
- El receptor de dopamina (D_{2s}).

Transportador de serotonina (TSER).

En el SNC, el transportador de serotonina está situado en la membrana de las neuronas presinápticas y su función es recaptar la serotonina remanente en el espacio sináptico para volver a incluirlo, mediante un proceso Na^+/Cl^- dependiente, en el citosol de la neurona presináptica con el fin de ser nuevamente incluido en vesículas para su reutilización o simplemente ser degradado por la enzima MAO-A.

Este transportador (humano) fue co-cristalizado junto a los ligandos (S)-citalopram y paroxetina para poder dilucidar su estructura⁶⁰ mediante rayos-X el año 2016. Dicha cristalización se consiguió gracias a mutaciones puntuales en la secuencia de aminoácidos dirigidas a estabilizar la estructura termosensible.

La estructura de TSER humano tiene 12 hélices transmembrana y cuando se une a (S)-citalopram o paroxetina exhibe una conformación hacia el exterior con el fármaco antidepresivo unido al sitio central, a la mitad de la membrana y acunado en una cavidad formada por residuos de TM1, TM3, TM6, TM8 y TM10 (**Figura 1.12**). También se encontró una segunda molécula de (S)-citalopram en el sitio alostérico, dentro del vestíbulo extracelular del (S)-citalopram ubicado a aproximadamente 13Å del sitio central.

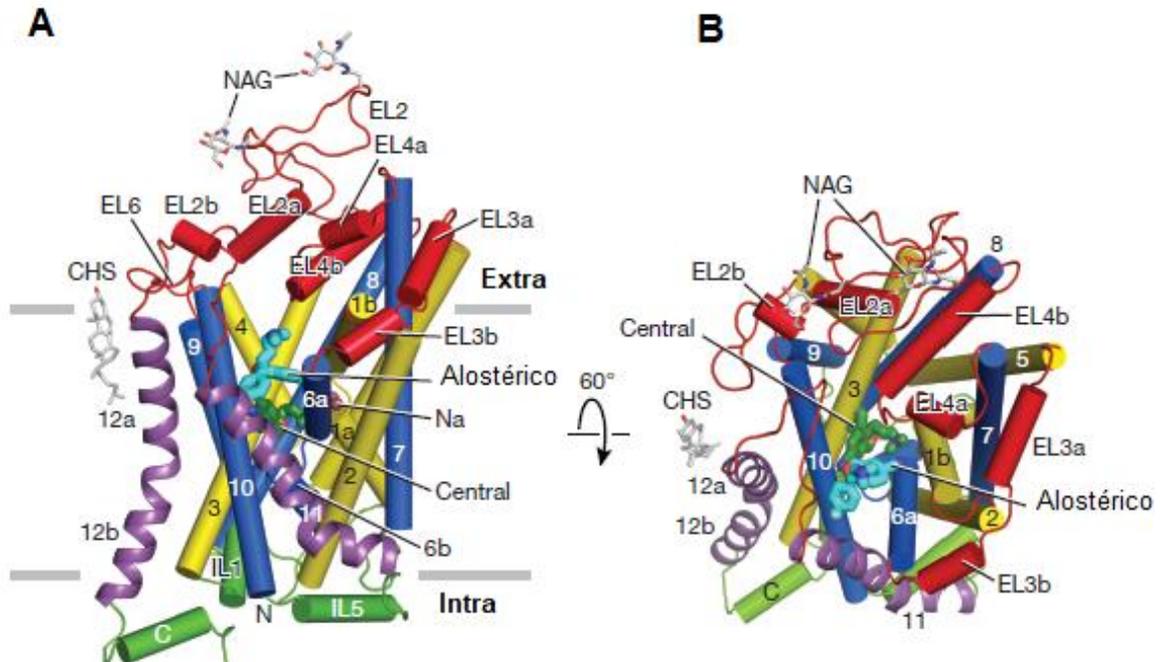


Figura 1.12: A) Estructura de TSER vista de forma paralelamente a la membrana. Las moléculas de (S)-citalopram unidas en el sitio central y alostérico se muestran en representación de barras de colores verde y cian, respectivamente. Los iones de sodio se muestran como esferas de color salmón. (CHS) Hemisuccinato de colesterol y (NAG) N-acetilglucosamina. **B)** Vista superior de TSER desde el lado extracelular de la membrana.

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

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

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

El **subsitio B** es particularmente importante para los antidepresivos con alta afinidad. Tyr176 participa en interacciones hidrofóbicas con los grupos fluorofenil y benzodioxol de (S)-citalopram y paroxetina respectivamente. Ile172 y Phe341 definen una cavidad apolar que envuelve los grupos hidrofóbicos de estas drogas. Phe341 forma una interacción aromática con la 'cara' del cianoftalano del (S)-citalopram y con el 'borde' del grupo fluorofenil de paroxetina. Ser439, Leu443, Ala169 y Ala173 definen una cavidad hidrofóbica, en la que se insertan los grupos fluorofenil y benzodioxol de (S)-citalopram y paroxetina. El grupo fluorofenil del (S)-citalopram se ubica 1.5 Å más profundo en este espacio en comparación con el benzodioxol de paroxetina.

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

Enzima monoaminoxidasa A (MAO-A).

La monoaminoxidasa (MAO) es una enzima que se localiza en la membrana externa mitocondrial y existen 2 subtipos MAO-A y MAO-B cuyas secuencias de aminoácidos son hasta 70% idénticas. En ambos casos, es la encargada de catalizar la desaminación de aminas biogénicas, xenobióticas más la de los neurotransmisores serotonina, norepinefrina y dopamina. La MAO contiene un dinucleótido flavina adenina (FAD) unido covalentemente a un residuo de cisteína por un enlace 8α -(S-cisteinil)-riboflavin. Esta enzima juega un papel decisivo en algunos trastornos psiquiátricos y neurológicos, incluida la depresión y la enfermedad de Parkinson. Cabe mencionar que la inhibición de la MAO provoca un aumento en el nivel de neurotransmisores en el sistema nervioso central, lo que trae como consecuencia una mejora en dichos trastornos. Este fenómeno descrito, da un enfoque importante en la búsqueda inhibidores efectivos para desarrollar nuevas drogas para tratar tales enfermedades.

Las enzimas MAO-A y MAO-B tienen especificidades únicas de sustrato e inhibidores: MAO-A oxida la serotonina, mientras que MAO-B no lo hace; MAO-A es selectivamente inhibido por clorgilina, mientras que MAO-B es altamente inhibido por la selegilina. El desarrollo de inhibidores MAO selectivos y reversibles es importante no solo desde el punto de vista del tratamiento de los síntomas, al aumentar la vida media biológica del neurotransmisor, sino que también los es con respecto al fenómeno de neuroprotección (prevención o retraso de los procesos de neurodegeneración). La MAO-A, posee una estructura⁶⁶ que puede dividirse en 2 dominios (**Figura 1.13**): un dominio extra-membrana, el cual queda expuesto al

espacio citosólico y que contiene el extremo N-terminal más otro dominio intra-membrana el cual contiene el segmento C-terminal y que sirve como anclaje a la membrana mitocondrial. El sector extra-membrana se subdivide en 2 sectores, uno que se une a la molécula de FAD y otro que es el sitio de unión para sustratos y/o inhibidores.

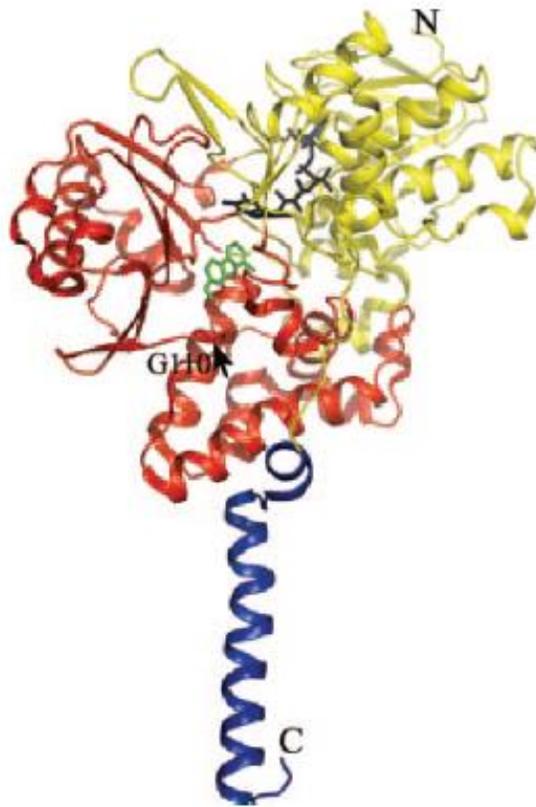


Figura 1.13: Estructura de la enzima MAO-A humana dibujada en modo cinta. N, N-terminal; C, C-terminal. La estructura se divide en dos dominios, dominio extra-membrana (se muestra en amarillo y rojo) y dominio intra-membrana (se muestra en azul). El dominio extra-membrana se divide en dos regiones, región de unión FAD (amarillo) y región de unión para sustrato y/o inhibidor (roja). Las moléculas FAD (negro) y harmina (verde). La flecha negra indica la posición de G110, que corresponde al residuo al que se introdujeron mutaciones para lograr estabilizar.

Al realizar el análisis de la conformación y/o estructura de la cavidad en donde se unen los sustratos e inhibidores de tipo específico-reversibles. Se puede apreciar que los residuos que rodean el sustrato y/o el inhibidor, son un total de 16

residuos conservados tanto para la cavidad de MAO-A humana y para MAO-A de rata. En comparación con MAO-B, ambos sitios difieren en 6 de los 16 residuos que conforman sus sitios activos.

La **harmina**, que corresponde a un inhibidor reversible y con el cual la enzima fue cristalizada, se encuentra posicionado en el sitio activo de esta e interactúa con Tyr-69, Asn-181, Phe-208, Val-210, Gln-215, Cys-323, Ile-325, Ile-335, Leu-337, Phe-352, Tyr-407, Tyr-444 y FAD. Siete moléculas de agua se encuentran ocupando el espacio entre el inhibidor y estos residuos. El inhibidor y el FAD se unen a través de dos moléculas de agua vía enlaces puente de hidrógeno. El grupo amida de la cadena lateral Gln-215 interactúa estrechamente con harmina por una interacción de tipo π - π a una distancia de 3.4 Å (**Figura 1.14A**). Al realizar una sobreposición de las estructuras de los sitios activos de MAO-A y MAO-B humanas en presencia harmina más otros inhibidores como isatina, un análogo de rasagilina y 1,4-difenil-2-buteno, se pueden apreciar las interacciones de estos ligandos con los residuos aminoacídicos en dicha cavidad (**Figura 1.14B**).

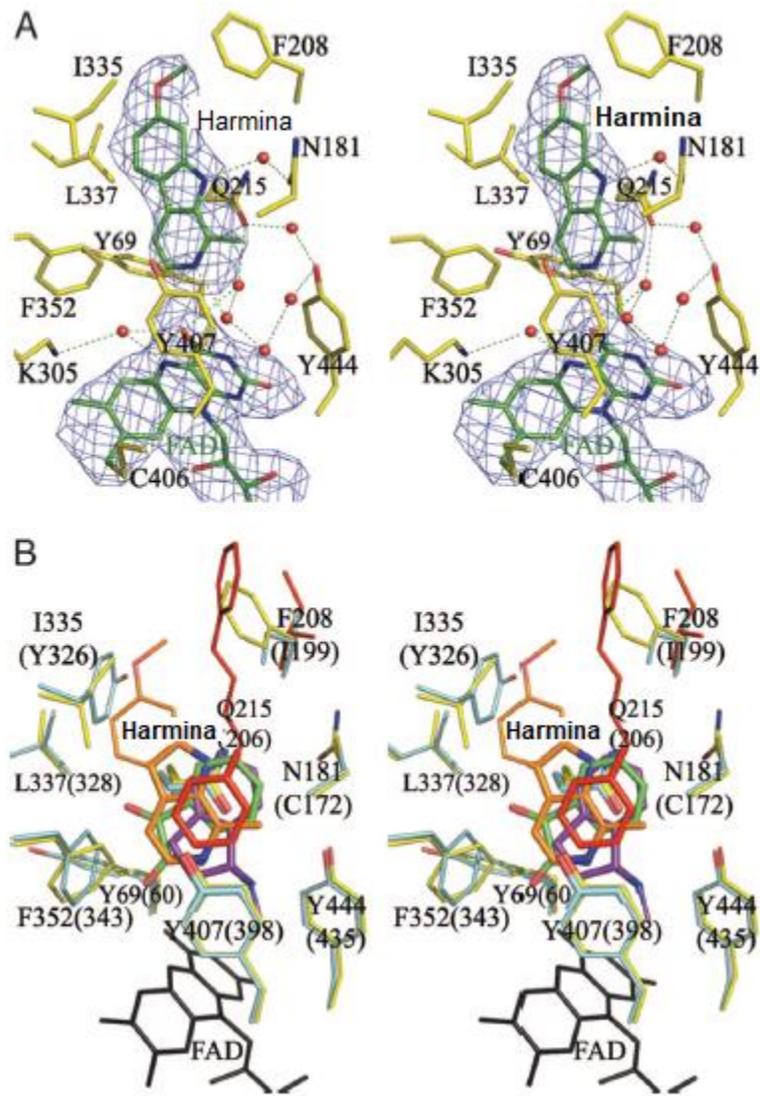


Figura 1.14: Vista espacial del sitio de unión para sustrato y/o inhibidor. **(A):** Los residuos de aminoácidos se muestran en amarillo, FAD y harmina se muestran en verde. Las líneas punteadas indican los enlaces puente de hidrógeno hechos por las moléculas de agua presentes atrapadas en el sitio. **(B)** Vista comparativa de la estructura de los sitios de unión para sustrato y/o inhibidor en MAO-A y MAO-B humanas co-cristalizadas con sus inhibidores específicos. Los residuos están numerados sin paréntesis para MAO-A (color amarillo) y con paréntesis son para MAO-B (color azul claro). Los inhibidores son coloreados de la siguiente manera: naranja, harmina; verde, isatrina; púrpura, análogo de rasagilina; rojo, 1,4-difenil-2-buteno. FAD se muestra en negro.

Receptor de dopamina (D_{2s}).

Los receptores de la dopamina (DA), son una clase de receptores acoplados a proteína G (GPCR), y han sido ampliamente estudiados con el objetivo de desarrollar fármacos para el tratamiento de trastornos neurológicos, psiquiátricos y oculares. Para poder realizar la construcción de la estructura proteica del receptor D₂ debido a la falta de información estructural sobre este GPCR o de su complejo con algún ligando, se ha impulsado el desarrollo de modelos por homología de esta, basados en la estructura cristalina del receptor de dopamina D₃ humana (hD₃) que ha sido resuelto recientemente. Por lo tanto, los modelos de receptores de dopamina D₂ y D₃ se basan en la estructura cristalizada del receptor hD₃.

Las estructuras refinadas, obtenidas de las simulaciones hechas con dinámica molecular (DM) en el entorno de la membrana, se utilizaron posteriormente para la realización de estudios de acoplamiento ligando-receptor con el fin de investigar las posibles formas de interacción del ligando en la cavidad del receptor.

El sistema dopaminérgico y su función en el sistema nervioso central (SNC), ha sido ampliamente estudiado en los últimos 50 años.

La dopamina ejerce su acción a través de cinco tipos de receptores dopaminérgicos (receptores D₁₋₅) acoplados a distintas proteínas G, y que se agrupan en dos clases: D₁-like y D₂-like, los que difieren en la señal de transducción, perfil de unión y efectos fisiológicos. Los receptores de tipo D₁-like (D₁ y D₅) están acoplados principalmente a proteínas G de tipo estimuladoras (G_s) que tienen como fin un aumento en la actividad de la adenilato ciclasa (AC), mientras que los

receptores de tipo D₂-like (D₂, D₃ y D₄) están acoplados a proteínas G inhibitorias (G_i) lo que conduce a suprimir la actividad de AC.

Un proceso alternativo de corte-empalme en la secuencia RNAm del receptor D₂ conduce a la generación de dos isoformas: D₂ corto (D_{2S}) y D₂ largo (D_{2L}), los que han sido asociados (aunque no exclusivamente) con actividad presináptica y postsináptica respectivamente. Estos receptores constan de 7 dominios transmembrana (TM) (**Figura 1.15**) y la diferencia que presentan entre ambos, radica en que la isoforma “corta” sufre un corte en su secuencia aminoacídica de 29 residuos en el III bucle intracelular (**3ICL**)⁶⁵ con respecto a la isoforma “larga”, lo que nos indica que los aminoácidos del sitio de unión son los mismos tanto para D₂ corto (D_{2S}) como para D₂ largo (D_{2L}).

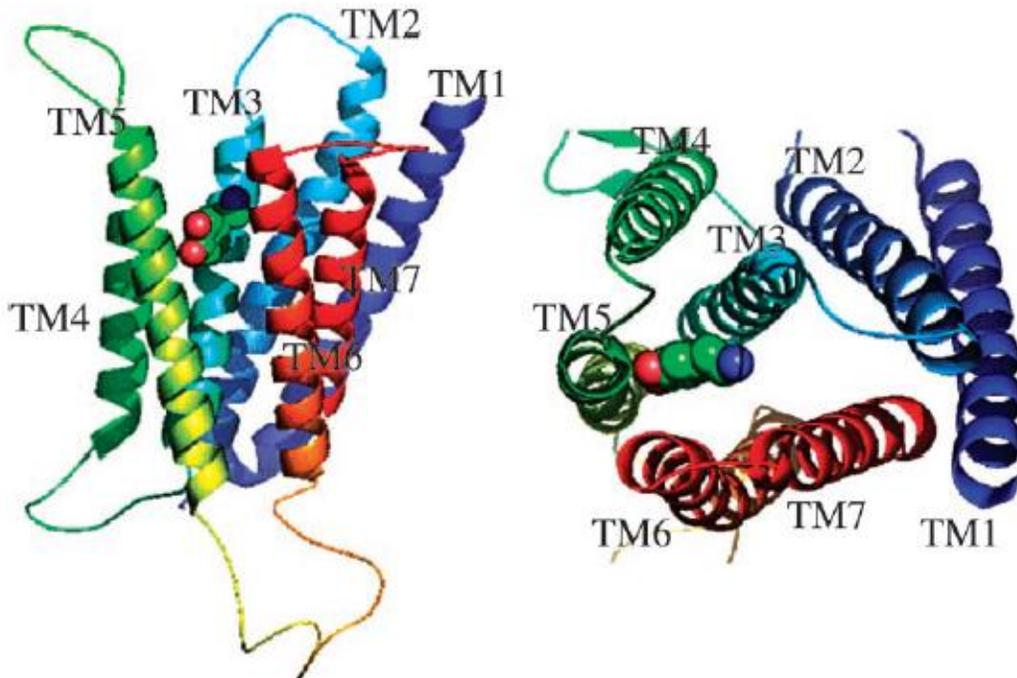


Figura 1.15: Vista lateral y superior de una estructura homóloga del receptor D₂ unida al ligando endógeno dopamina.

En estas estructuras, el sitio de unión de ligandos está constituido por las TM 3, 5, 6 y 7. Los aminoácidos que pertenecen a cada una de ellas y que participan en la unión del ligando son: Asp114 (TM3); Ser193, Ser194, Ser 197 (TM5); Trp386, Phe389, Phe390, His393 (TM6) y Tyr416 (TM7)

HIPOTESIS

La suma de los antecedentes mencionados anteriormente nos llevó a la idea de que la porción estructural de indolil propil piperazina, conectadas a esqueletos de tipo benzoxazínico, aminopiridínico o relacionados a moclobemida, debieran conducir a moléculas que actuarían como ligandos con afinidad dual o triple en los receptores farmacológicos TSER, D_{2s} y MAO-A, siendo candidatas para el tratamiento de trastornos depresivos, por lo que se propone la siguiente hipótesis:

“La síntesis de nuevas moléculas que incluyan la porción estructural indolil propil piperazina conectadas a esqueletos de tipo benzoxazínico, aminopiridínico o relacionados a moclobemida, conducen a ligandos multirreceptoriales que tienen como dianas farmacológicas al Transportador de Serotonina, el Receptor de Dopamina D_{2s} y la enzima Monoamino Oxidasa A”.

OBJETIVO GENERAL

Como objetivo general de esta tesis doctoral planteamos lo siguiente:

Sintetizar tres familias de moléculas que presenten actividad multirreceptorial, las cuales serán caracterizadas química y farmacológicamente, y estudiadas a través de acoplamiento molecular inducido.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1.1 OBJETIVO ESPECÍFICO I

Sintetizar y caracterizar, de manera química, farmacológica y a través de acoplamiento molecular inducido, la familia 1 (F1) de moléculas 2,3-Dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-{4-[3-(1H-3indolil)-propil]-1-piperazinil}-etanamidas funcionalizadas.

- Síntesis.
- Caracterización química mediante ^1H -RMN, ^{13}C -RMN, IR, y HRMS.
- Caracterización farmacológica mediante ensayos de unión por competencia con radioligandos para TSER y $\text{D}_{2\text{S}}$, y ensayos de inhibición enzimática de MAO-A.
- Caracterización *in silico* de la unión a TSER, $\text{D}_{2\text{S}}$ y MAO-A, a través de acoplamiento molecular inducido.

1.2 OBJETIVO ESPECÍFICO II

Sintetizar y caracterizar, de manera química, farmacológica y a través de acoplamiento molecular inducido, la familia 2 (F2) de moléculas (2-{4-[3-(1H-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-acetilamino)-N-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamidas fluoradas funcionalizadas.

- Síntesis.
- Caracterización química mediante ^1H -RMN, ^{13}C -RMN, IR, y HRMS.
- Caracterización farmacológica mediante ensayos de unión por competencia con radioligandos para TSER y $\text{D}_{2\text{S}}$, y ensayos de inhibición enzimática de MAO-A.
- Caracterización *in silico* de la unión a TSER, $\text{D}_{2\text{S}}$ y MAO-A, a través de acoplamiento molecular inducido.

1.3 OBJETIVO ESPECÍFICO III

Sintetizar y caracterizar, de manera química, farmacológica y a través de acoplamiento molecular inducido, la familia de moléculas *N*-(2-piridinil) 2-{4-[3-(1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil} acetamidas funcionalizadas.

- Síntesis.
- Caracterización química mediante ¹H-RMN, ¹³C-RMN, IR, y HRMS.
- Caracterización farmacológica mediante ensayos de unión por competencia con radioligandos para TSER y D_{2S}, y ensayos de inhibición enzimática de MAO-A.
- Caracterización *in silico* de la unión a TSER, D_{2S} y MAO-A, a través de acoplamiento molecular inducido.

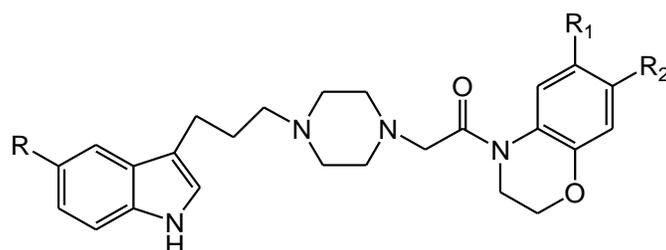
2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.1 Síntesis de las familias 1, 2 y 3

A continuación, se describen y detallan todos los procesos y metodologías sintéticas que nos condujeron a la obtención y caracterización de los 39 ligandos finales pertenecientes a las familias 1, 2 y 3.

2.1.1 Familia I

(2,3-Dihidro-4-benzo[1,4]oxazinil)-2-{4-[3-(1*H*-3-indolil)-propil]1-piperazinil}-etanamidas.



La estrategia de síntesis para la obtención de esta familia se basó en los esquemas retrosintéticos (**Figura 2.1**).

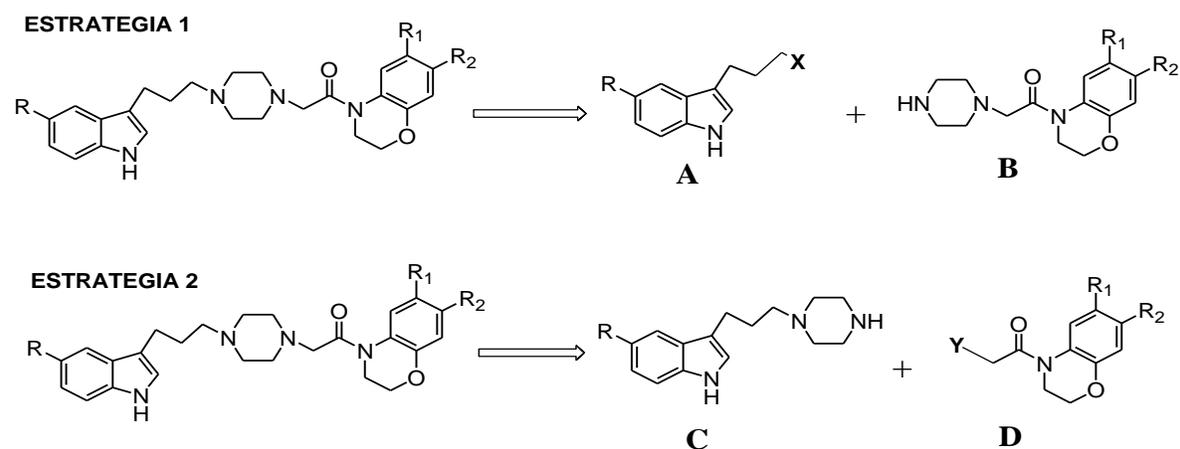


Figura 2.1: Estrategias retrosintéticas, consideradas para la obtención de la Familia 1.

Las desconexiones consideradas, mostraban para el caso de la **estrategia 1**, una conexión entre el derivado 3-tosilpropilindólico **(A)** con un derivado piperazinilbenzoxazino carboxamida **(B)**. En el caso de la **estrategia 2**, la desconexión aplicada, contempló la obtención del intermediario piperazinilpropil indólico **(C)** y su posterior conexión al esqueleto de α -cloro benzoxazinocarboxamida **(D)**.

2.1.1.1 Ruta sintética para la obtención de derivados indólicos

2.1.1.1.1 Estrategia 1

Obtención de los intermediarios 1 y 2a-c

Basados en la desconexión retrosintética mencionada, se describen primariamente los procedimientos sintéticos utilizados para la obtención de los derivados 3-(3-*p*-toluensulfonil-1-il-propil)-1*H*-indol **2a-c** a partir de los productos **1a-c** los cuales provienen del sustrato comercial “clorhidrato de fenilhidrazina” y “dihidropirano” los cuales reaccionan mediante la síntesis de Fischer para indoles. A continuación, se expone el diagrama completo (**Figura 2.2**) para la obtención de los 4 intermediarios útiles tanto para la estrategia 1 como para la 2.

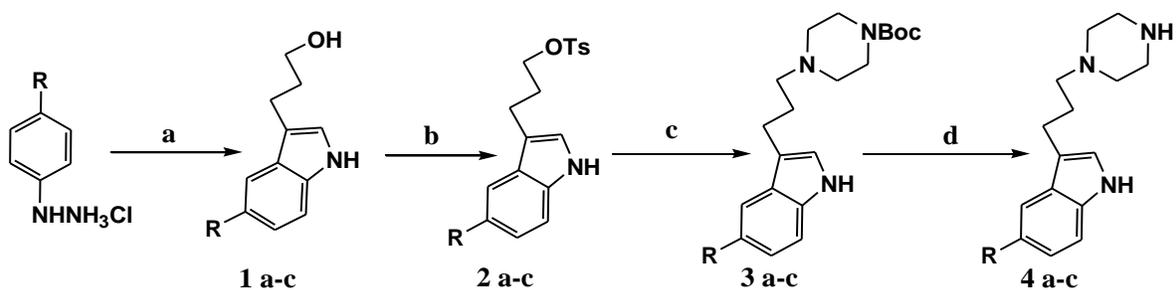


Figura 2.2: Síntesis de los compuestos 1-4(a-c) *Reactivos y Condiciones:* (a) DMA, dihidropirano, H₂SO₄ 4%; (b) CH₂Cl₂, TEA, TsCl, DMAP; (c) CH₃CN, piperazina N-Boc, K₂CO₃; (d) CH₂Cl₂, TFA.

2.1.1.1.1 Obtención de los intermediarios 1a-c.

La obtención del segmento indólico (**compuestos 1a-c**) se logró a través de la síntesis de Fisher, utilizando como reactivos de partida una serie de clorhidratos de fenilhidrazinas comerciales, sustituidas en **C-4**, en presencia de 3,4-dihidropirano en medio ácido (**Figura 2.3**).

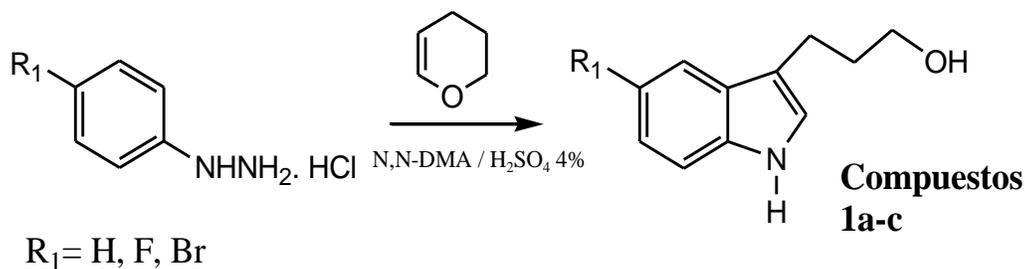


Figura 2.3: Esquema general de la síntesis de indoles de Fisher.

Mecanismo de reacción:

Apertura del anillo de 3,4-dihidropirano

En una primera instancia, mecanísticamente, la reacción toma lugar a través de la apertura del anillo de 3,4-dihidropirano en medio ácido de acuerdo con los

siguientes pasos en donde se termina generando el 5-hidroxi-pentanal (**5**), en equilibrio con su hemiacetal (**4**) (**Figura 2.4**).

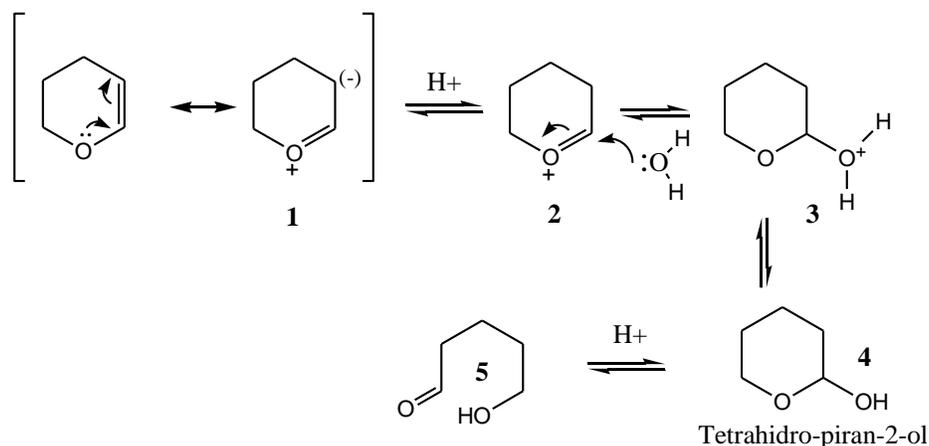


Figura 2.4: Mecanismo de apertura para el 3,4-dihidropirano.

Formación del anillo indólico

A continuación el 5-hidroxi-pentanal sufriría una reacción de condensación (**A**) con la arilhidrazina para generar una arilhidrazona (**6**), la cual tautomeriza (**7**) a una en-hidrazina (**8**), que experimenta un desplazamiento sigmatrópico [3,3] (**9**), para dar un intermediario diimínico el cual conduce a una ciclación intramolecular con posterior pérdida de amoníaco (**10**), aromatizando para así obtener los derivados 3-(1*H*-3-indolil)-propanol (**11**) (**Figura 2.5**).

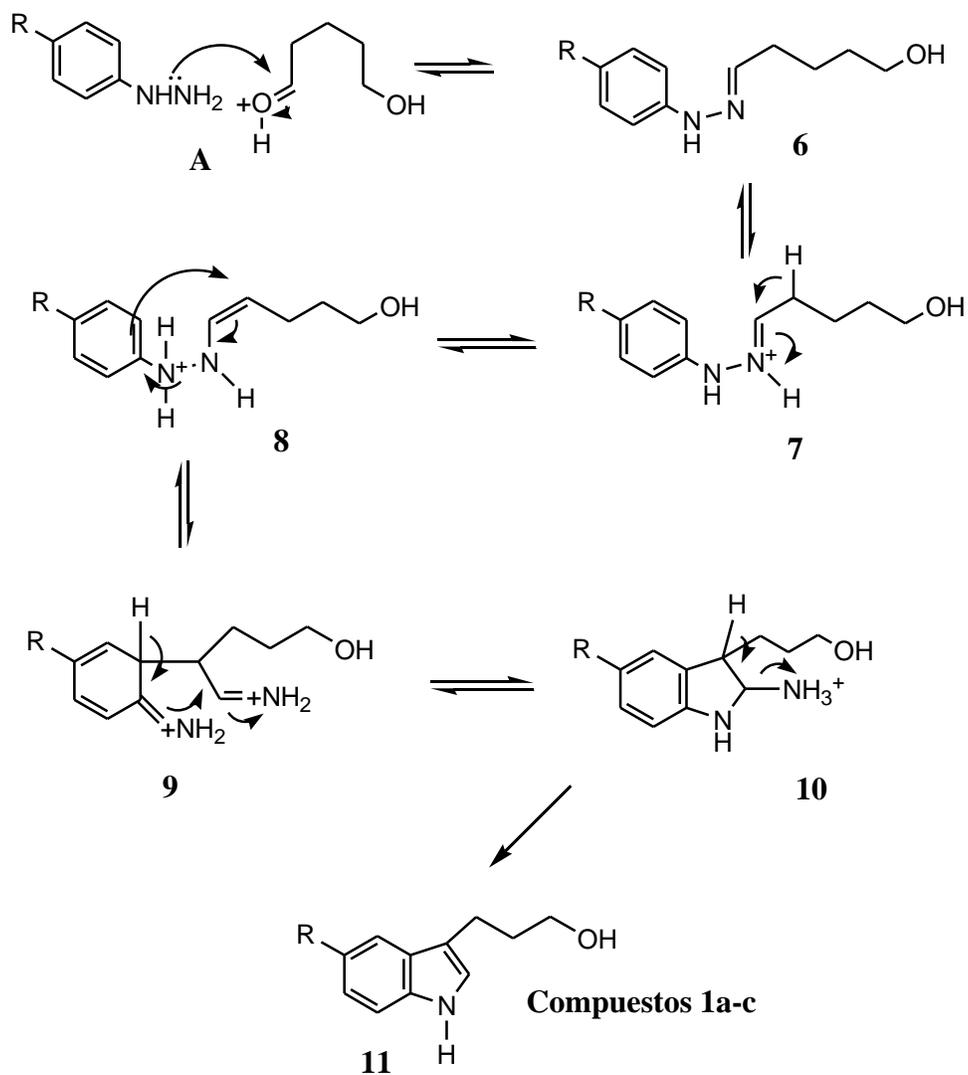
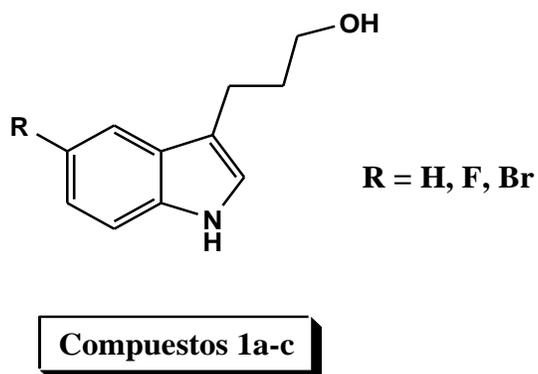


Figura 2.5: Mecanismo propuesto para la síntesis de indoles de Fisher.

Síntesis de 3-(1H-3-indolil)-propanoles 1a-c.



Procedimiento general: Se describe a continuación la marcha experimental para la obtención de los 3 derivados 1a-c.

Por disolución de los respectivos clorhidratos de fenilhidrazinas comerciales en dimetilacetamida (DMA), se agregó H₂SO₄ al 4% p/p seguido de 3,4-dihidropirano (DHP). La mezcla resultante se calentó a reflujo por 2 horas. Transcurrido este tiempo, se adicionó agua destilada (100 mL), la mezcla cruda se extrajo con acetato de etilo (3x 50 mL) y secada con Na₂SO₄ anhidro y concentrada en un evaporador rotatorio. El crudo orgánico fue purificado por cromatografía en columna de gel de sílice utilizando AcOEt como fase móvil. Los 3 indolilpropanoles obtenidos resultaron ser líquidos oleosos de color café claro con rendimientos entre 80 y 90% (**Tabla 2.1**).

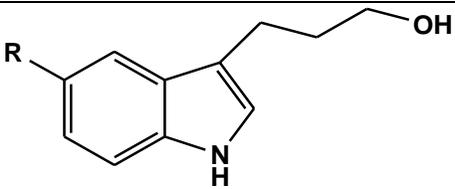
		
Compuesto	R	% Rendimiento
1a	H	90
1b	F	85
1c	Br	80

Tabla 2.1: Compuestos 1a-c con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.

Los productos purificados fueron caracterizados por espectroscopía ¹H-RMN (CDCl₃), observándose para **1a** (**Figura 2.6:** Espectro de protones del compuesto 1a.), dos dobletes a δ: 7,32 y 7,60 ppm para los hidrógenos de C-4 y C-7 y dos tripletes de doblete a δ: 7,10 y 7,18 ppm para los hidrógenos de C-5 y C-6 de la

porción aromática. El protón de C-2 aparece como un fino doblete a δ : 6.93. Apreciándose además una señal singulete a δ : 8,03 ppm para el N-H indólico.

Para la cadena hidroxipropílica, se aprecia una señal triplete entre δ : 2,79 y 2,83 ppm que correspondería al grupo metileno conectado directamente al anillo indólico; un segundo triplete a δ : 3,7 ppm asignable al metileno conectado a la función hidroxilo. El quintuplete entre δ : 1,78 y 1,94 ppm se asignó finalmente al metileno de posición C-2 de la cadena propílica.

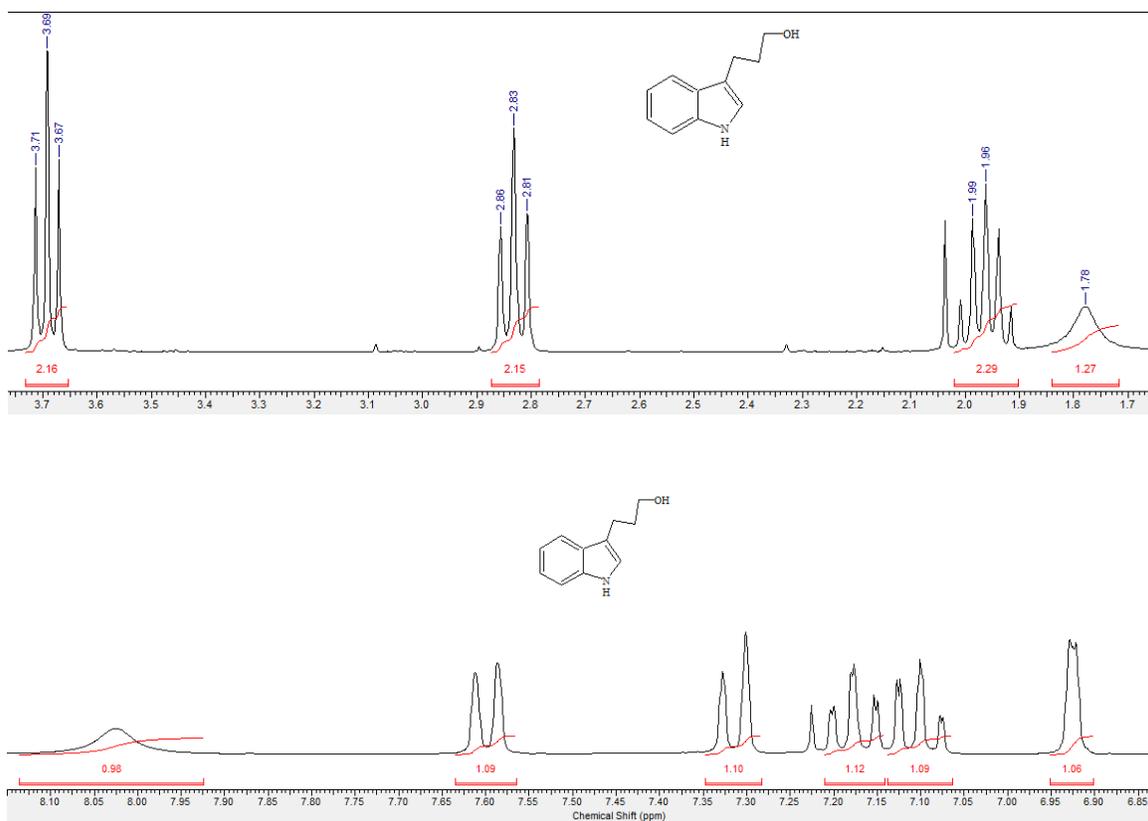


Figura 2.6: Espectro de protones del compuesto 1a.

Los compuestos indólicos análogos 1-b y 1-c presentaron en el sector de campo alto básicamente el mismo patrón de acoplamiento anteriormente descrito.

En el sector aromático se observan ciertas diferencias, con el compuesto 1b en virtud del acoplamiento F-H y en 1c debido a la presencia del Br.

2.1.1.1.1.2 Obtención de los intermediarios 2a-c.

La obtención de estos derivados se basa en tratar los alcoholes **1a-c** con el cloruro del ácido *p*-toluen sulfónico (**Figura 2.7**).

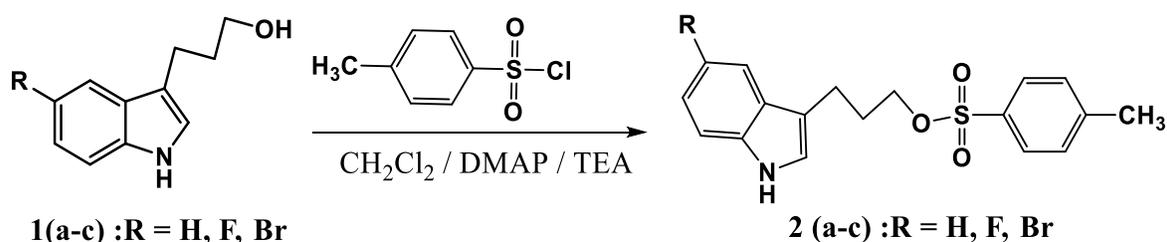
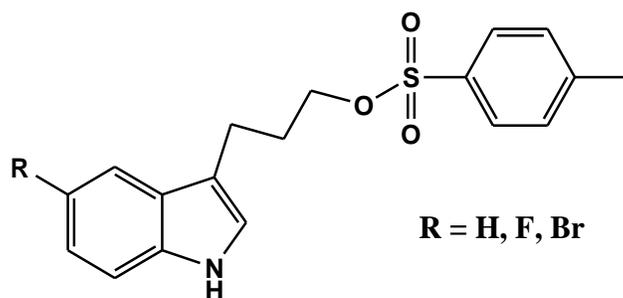


Figura 2.7: Esquema de la reacción de tosilación de los intermediarios 1a-c.

Síntesis de 3-(1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonatos 2a-c.



Compuestos 2a-c

Procedimiento general: Se describe a continuación la marcha experimental para la obtención de los 3 derivados 2a-c.

Se disolvieron los 3-(1H-3-indolil)-propanoles **1a-c** en CH₂Cl₂ seco, más cloruro de *p*-toluensulfonilo y trietilamina anhidra (TEA) en presencia de

concentraciones catalíticas de 4-dimetilaminopiridina. La solución se agitó a temperatura ambiente bajo atmósfera de N₂ por 20 horas. La mezcla resultante fue rotavaporada a sequedad y purificada en columna cromatográfica de gel de sílice con fase móvil AcOEt/n-Hexano (1:2), los productos obtenidos resultaron sólidos de tonalidades café claro con rendimientos entre un 70 a 75% (**Tabla 2.2**).

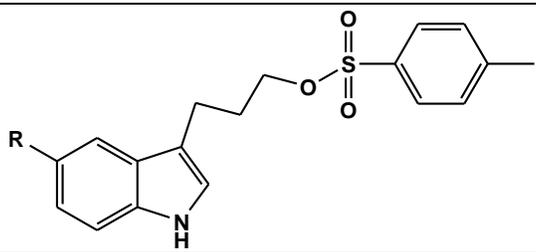
		
Compuesto	R	% Rendimiento
2a	H	70
2b	F	70
2c	Br	75

Tabla 2.2: Compuestos 2a-c con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.

Los productos purificados fueron caracterizados por espectroscopía ¹H-RMN (CDCl₃) (**Figura 2.8**), observándose en campo alto para **2a**, la presencia de los dos tripletes y el quintuplete correspondientes a la cadena de propilo. La formación del producto se aprecia por la desaparición de la señal de OH en δ: 1,7 ppm más la presencia de un singulete en δ: 2,43 correspondiente al CH₃ unido al anillo bencénico. En el sector aromático, se mantiene el patrón de señales del indol con dos tripletes de dobletes, un singulete y dos dobletes, uno de los cuales coincide en δ: 7,3 con el doblete que integra para los 2 protones idénticos vecinos al grupo metilo en las posiciones 3 y 5 del anillo bencénico. Los otros 2 protones idénticos de este sistema aparecen en δ: 7,7 ppm y corresponden a aquellos en posiciones 2 y 6 vecinos al grupo sulfonilo. El grupo NH aparece en δ: 7.98 ppm.

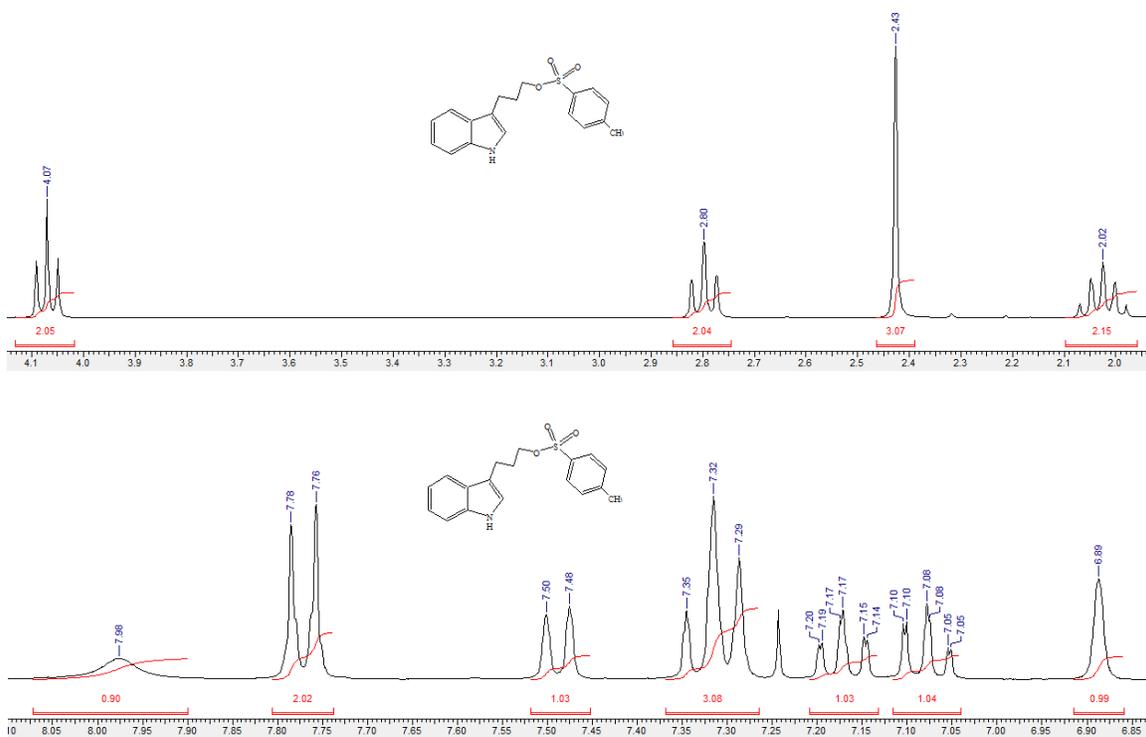


Figura 2.8: Espectro de protones del compuesto 2a.

Los compuestos análogos 2-b y 2-c presentaron en el sector de campo alto básicamente el mismo patrón de acoplamiento anteriormente descrito. En el sector aromático se observan las mismas diferencias correspondientes a la sustitución en C-5 ya sea por el acoplamiento F-H o la presencia del Br.

2.1.1.1.2 Estrategia 2

2.1.1.1.2.1 Obtención de los intermediarios 3a-c.

Esta estrategia se basó en la obtención de los intermediarios **3a-c**, la que tuvo lugar por tratamiento de los tosilatos **2a-c** con N-Boc-piperazina en las condiciones que se exponen (**Figura 2.9**).

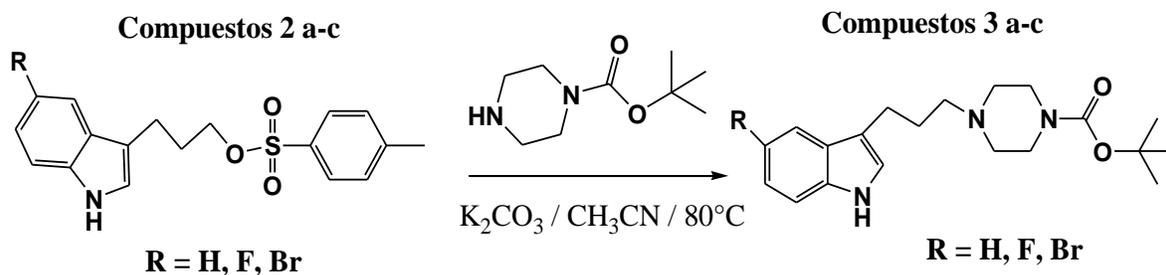
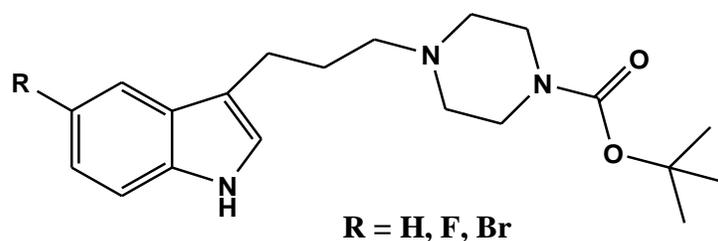


Figura 2.9: Esquema general de la reacción de sustitución nucleofílica bimolecular (SN2) para la obtención de los compuestos 3a-c.

Síntesis de [4-[3-(1*H*-3-indolil)propil]1-piperazinil] carbamatos de *t*-butilo 3a-c.



Compuestos 3a-c

Procedimiento general: Se describe a continuación la marcha experimental para la obtención de los 3 derivados 3(a-c).

Se adicionaron los 3-(1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonatos **2a-c** en CH_3CN seco, N-Boc-piperazina y K_2CO_3 anhidro. La mezcla de reacción se reflujo a una temperatura de 80 °C por 18 horas. Posteriormente a la mezcla orgánica se le adicionó 100 mL de agua y se extrajo con AcOEt (3x 50 mL), se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró en un evaporador rotatorio. El crudo obtenido fue purificado por cromatografía en columna de gel de sílice utilizando AcOEt como fase móvil. Se obtuvieron compuestos sólidos de color blanco para aquellos carbamatos cuyos R

= H, F y de color naranja pálido para R = Br con rendimientos entre 90 y 95% (**Tabla 2.3**Tabla 2.1).

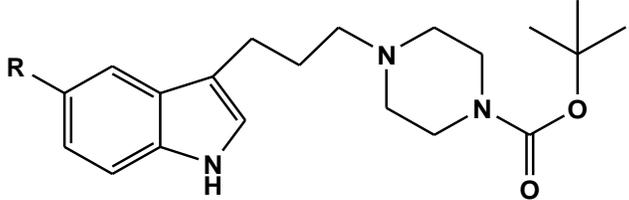
		
Compuesto	R	% Rendimiento
3a	H	95
3b	F	93
3c	Br	90

Tabla 2.3: Compuestos 3a-c con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.

Los productos purificados fueron caracterizados por espectroscopía ^1H -RMN (CDCl_3) (**Figura 2.10**), observándose en campo alto para **3a**, la presencia de los dos tripletes y el quintuplete correspondientes a la cadena de propilo. En dicho espectro se puede apreciar la formación del producto por la desaparición de la señal singulete en δ : 2,43 correspondiente al CH_3 unido al anillo bencénico y la aparición de un singulete en δ : 1,46 ppm que integra para 9 hidrógenos pertenecientes al grupo *t*-butilo más la aparición de 8 nuevos protones que corresponden a los del anillo de piperazina en δ : 2,38 y δ : 3,44. El sector aromático volvió a estar compuesto únicamente por los protones del sistema indólico incluido el grupo NH.

En la técnica de ^{13}C -RMN a δ : 155 se aprecia la aparición de una señal correspondiente al carbonilo de la función carbamato.

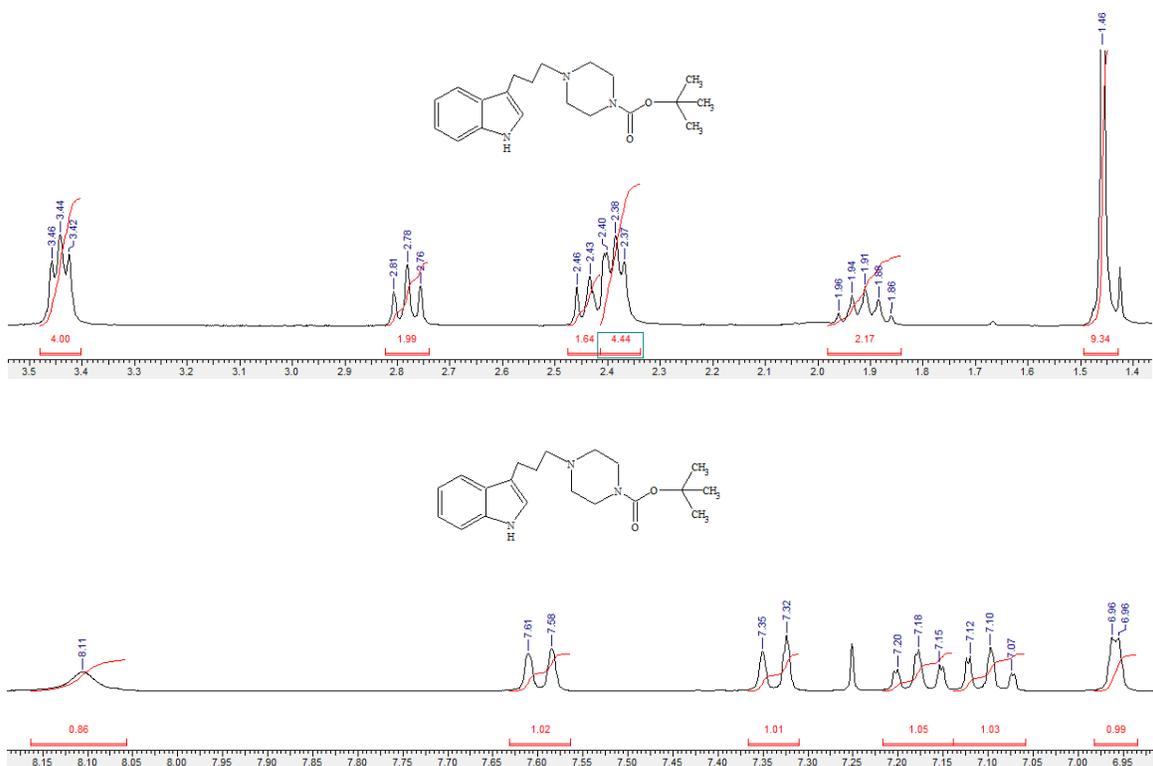


Figura 2.10: Espectro de protones del compuesto 3a.

2.1.1.1.2.2 Obtención de los intermediarios 4a-c.

La reacción de hidrólisis de los compuestos **3a-c** se llevó a cabo con ácido trifluoroacético (TFA) (Figura 2.11), obteniéndose las correspondientes indolilpiperazinas **4a-c**.

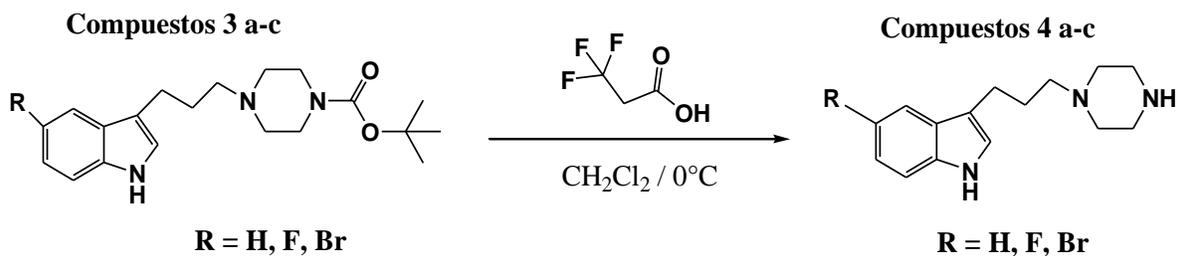


Figura 2.11: Esquema de la reacción de hidrólisis anhidra para la obtención de los compuestos 4a-c.

Mecanismo de reacción:

Hidrólisis del carbamato en medio anhidro

El mecanismo de hidrólisis probable cursaría primariamente con la protonación del oxígeno del grupo t-butilo (paso 1) a causa del ácido trifluoro acético, con posterior ruptura del enlace C-O (paso 2) lo que generaría el carbocatión terciario **(A)**. Posteriormente el anión trifluoro acetato recupera el protón del ácido carbámico (paso 3) generándose una descarboxilación ($-\text{CO}_2$) **(B)**, para finalmente regenerar la amina, la que en presencia del exceso de ácido nos genera el correspondiente trifluoro acetato de amonio (paso 4) **(Figura 2.12)**.

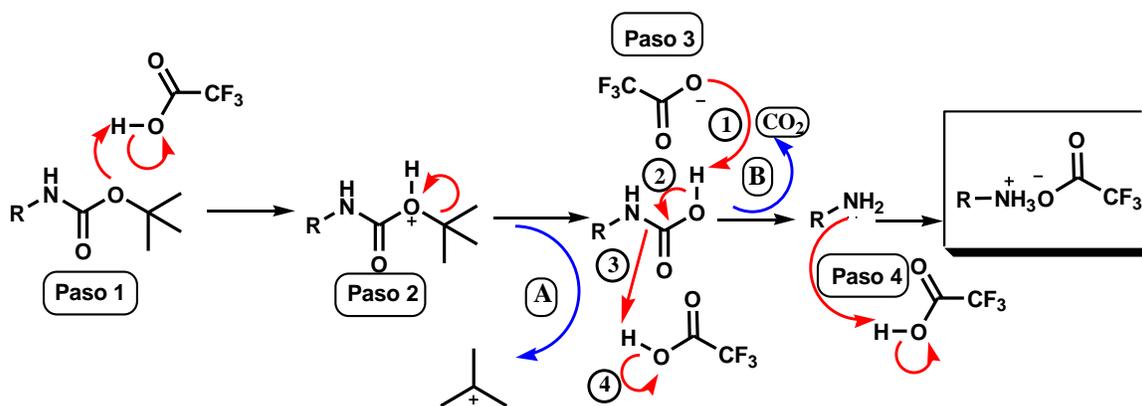
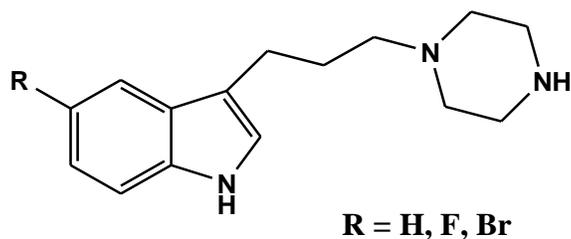


Figura 2.12: Mecanismo de reacción propuesto para el proceso de hidrólisis anhidra de los carbamatos 3a-c.

Síntesis de 3-(3-piperazin-1-il-propil)-1H-indoles 4a-c.



Compuestos 4a-c

Procedimiento general: Se describe a continuación la marcha experimental para la obtención de los 3 derivados 4(a-c).

Se agregaron los carbamatos de *t*-butilo **3a-c** en de CH₂Cl₂ seco, más 12 mL de ácido trifluoroacético (TFA). La mezcla resultante se mantuvo en un baño de hielo a 0°C por 4 horas bajo atmosfera de nitrógeno. Una vez transcurrido este tiempo, la solución se traspasó a un matraz provisto de agitación que contiene CH₂Cl₂ seco (100 mL). A continuación, se agregaron 10 gr de NaHCO₃ (s) para neutralizar el TFA para así evitar la formación de una solución acuosa ácida que nos pueda degradar el anillo indólico, para finalmente adicionar una solución saturada de NaHCO₃ (200 mL).

La solución bifásica fue llevada a un embudo de decantación para separar la fase orgánica de CH₂Cl₂. La fase acuosa remanente, se extrajo con AcOEt (8 x 50 mL), ambos residuos (CH₂Cl₂ y AcOEt) se reúnen en un solo extracto final, el que fue secado con Na₂SO₄ anhidro y concentrado a sequedad en un evaporador rotatorio, para obtener compuestos semisólidos altamente higroscópicos, que no es necesario purificar por columna de gel de sílice, con rendimientos entre un 82 a 86%

(Tabla 2.1), a los cuales se les elimina la humedad mediante la adición de éter etílico y mezcla de hexanos seguidos de continuos procesos de rotavaporación (4 a 5 en total) para posteriormente ser secado en línea de vacío por 1 día.

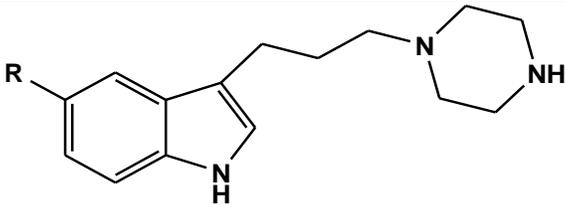
		
Compuesto	R	% Rendimiento
4a	H	82
4b	F	88
4c	Br	86

Tabla 2.4: Compuestos 4a-c con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.

Los compuestos fueron caracterizados por espectroscopía ^1H -RMN con acetona- d_6 para los intermediarios $\text{R} = \text{H}$, F (Figura 2.13) y cloroformo deuterado (CDCl_3) para $\text{R} = \text{Br}$. Para el intermediario **4a**, su formación se aprecia por la desaparición de la señal singulete en singulete en δ : 1,46 ppm que integraba para los 9 hidrógenos pertenecientes al grupo *t*-butilo. Se mantienen las señales alquílicas de campo alto que corresponden a los 8 hidrógenos del anillo piperazínico más las tres señales pertenecientes a los 6 hidrógenos de la cadena propílica, de las cuales una coincide con el **NH** libre de la piperazina en δ : 2,50. El sector aromático sigue estando compuesto únicamente por los protones del sistema indólico incluido el grupo NH. En la técnica de ^{13}C -RMN se aprecia la desaparición de la señal correspondiente al carbonilo de la función carbamato.

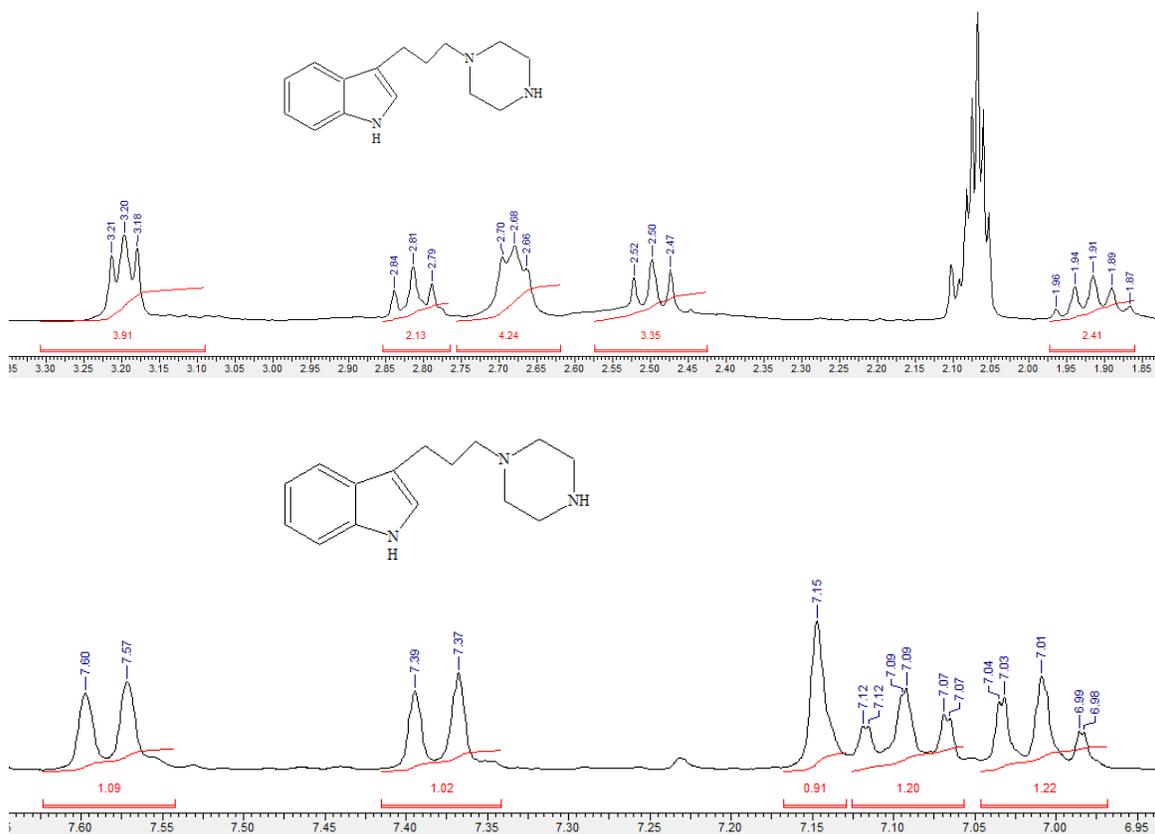


Figura 2.13: Espectro de protones del compuesto 4a.

2.1.1.2 Rutas sintéticas para la obtención de derivados 3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazinas.

2.1.1.2.1 Estrategia 1

Obtención de los intermediarios 5 al 10a-f.

A continuación, se describirá de forma detallada la estrategia sintética para la obtención de los derivados 1-(2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-piperazin-1-il-etanamidas **10a-f** los cuales se utilizan en la estrategia 1 a partir de *o*-nitrofenoles comerciales, los cuales pasan previamente por los intermediarios 8(a-f) para ser ocupados en la estrategia 2 (**Figura 2.14**).

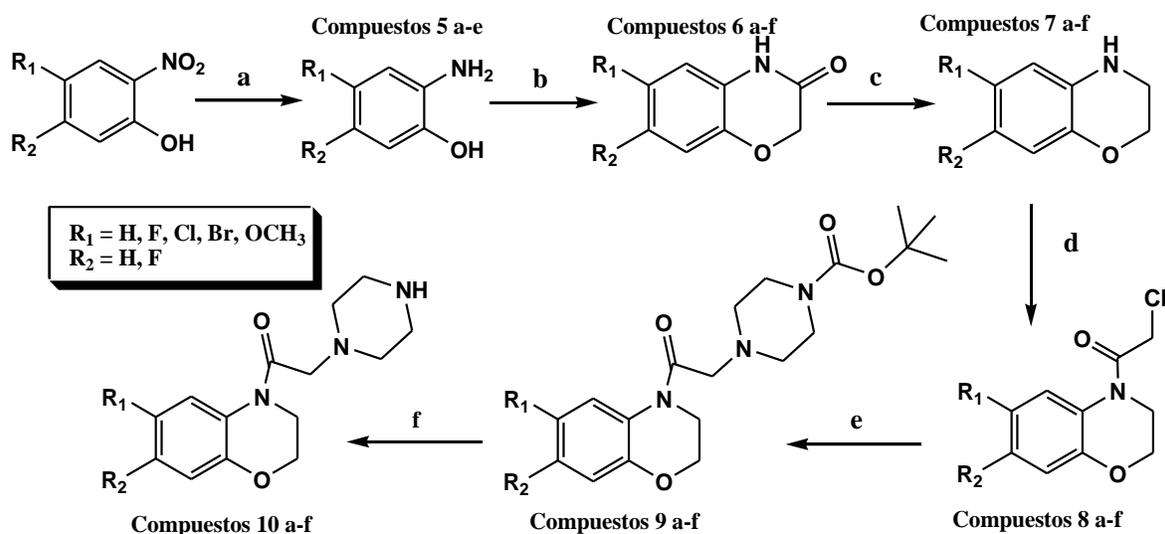


Figura 2.14: Síntesis de los compuestos 5-10. Solventes y reactivos: (a) H₂O, EtOH, AcOH, Fe⁰; (b) CH₃CN, CH₂ClCOCl, K₂CO₃; (c) THF, LiAlH₄; (d) THF, TEA, CH₂ClCOCl; (e) CH₃CN, K₂CO₃, N-Boc piperazina; (f) CH₂Cl₂, TFA.

2.1.1.2.1.1 Obtención de los derivados 5a-e.

A partir de *o*-nitrofenoles (4-5 sustituidos) de origen comercial, se procede a someterlos a condiciones reductoras con un exceso de hierro metálico para lograr obtener los correspondientes derivados *o*-aminofenólicos (4-5 sustituidos) (**Figura 2.15**).

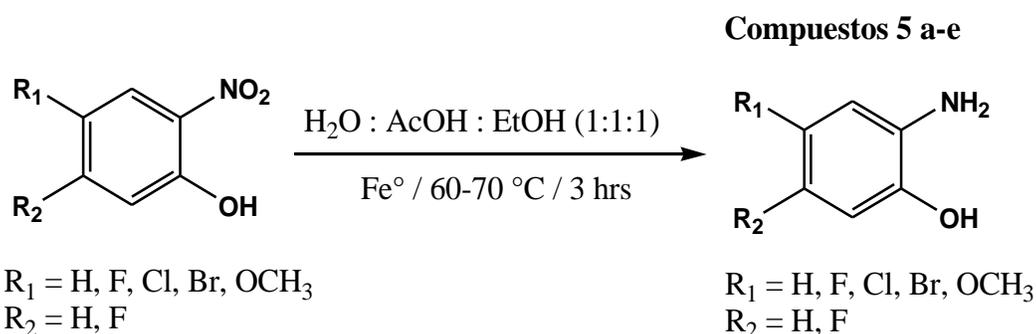
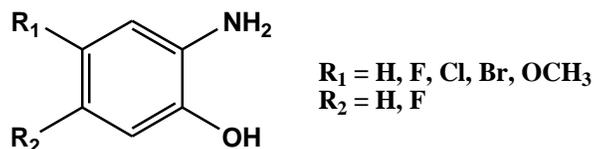


Figura 2.15: Esquema sintético de la reacción reductiva de los *o*-nitrofenoles comerciales.

Síntesis de o-aminofenoles (4-5 sustituidos) 5a-e.



Compuestos 5a-e

Procedimiento general: Se describe a continuación la marcha experimental para la obtención de los 5 derivados 5(a-e).

A una mezcla de agua, ácido acético y etanol (60 mL, 1:1:1), se adicionaron los o-nitrofenoles comerciales y hierro metálico en polvo y se dejó calentar a reflujo por 3hr a 70°C. Una vez finalizado este tiempo, la mezcla se filtró para eliminar el exceso de hierro metálico. La solución resultante se traspasó a un matraz con agitación conteniendo una mezcla de AcOEt/ H₂O (400 mL, 1:1) y se neutralizó con NaHCO₃ en polvo.

La fase orgánica fue separada con la precaución de evitar la agitación, ya que en experiencias previas se producía una importante pérdida de producto, lo que pudo deberse a las propiedades quelantes del hierro sumadas a la posible capacidad de ligante de los o-aminofenoles. El extracto obtenido fue secado con Na₂SO₄ anhidro y se concentró en un evaporador rotatorio. Se obtuvieron sólidos de tonalidades café cromatográficamente puro con rendimientos entre 87 a 99 % **(Tabla 2.5).**

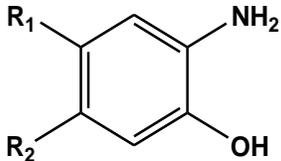
			
Compuesto	R ₁	R ₂	% Rendimiento
5a	F	H	94
5b	H	F	99
5c	Br	H	94
5d	Cl	H	88
5e	OCH ₃	H	95

Tabla 2.5: Compuestos 5a-e con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.

En relación con la reconocida inestabilidad al aire y la luz de los 1,2 y 1,4 aminofenoles y con el fin de evitar oxidaciones del sustrato, se procedió una vez obtenidos a su inmediata reacción con cloruro de 2-clororoacetilo para la formación de los intermediarios **4H-benzo[1,4]oxazin-3-onas 6a-f**.

2.1.1.2.1.2 Obtención de los derivados 6a-f.

Este proceso sintético consiste en el tratamiento con cloruro de 2-cloroacetilo del sustrato comercial *o*-aminofenol más los *o*-aminofenoles sustituidos **5a-e**, provenientes de la reducción con hierro metálico, para dar los derivados heterocíclicos **6a-f (Figura 2.16)**.

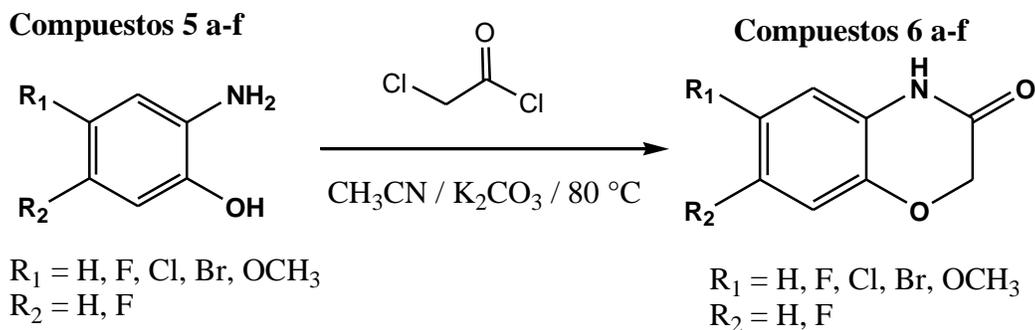
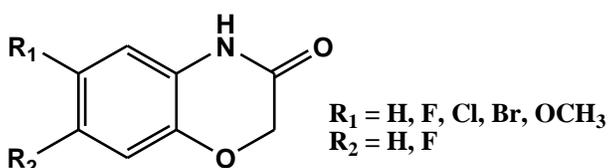


Figura 2.16: Reacción de ciclación para la obtención de las lactamas 6a-f.

Síntesis de 4H-benzo[1,4]oxazin-3-onas 6a-f.



Compuestos 6a-f

Procedimiento general: Se describe a continuación la marcha experimental para la obtención de los 6 derivados 6(a-f).

Se agregaron los *o*-aminofenoles en CH_3CN seco y a continuación cloruro de cloroacetilo. La solución se agitó por 5 min a temperatura ambiente, adicionándose posteriormente K_2CO_3 anhidro, para luego someter a calentamiento a reflujo de 80 °C por 20 hrs. Transcurrido este tiempo, se agregaron 100 mL de agua destilada y se extrajo con diclorometano (5 x 50 mL). La fase orgánica obtenida se lavó con agua ácida (pH 1) (3 x 100 mL) para eliminar los restos de *o*-aminofenol sin reaccionar. La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró en un evaporador rotatorio. Los crudos orgánicos fueron purificados por cromatografía en

columna de gel de sílice, utilizando una mezcla de AcOEt/n-Hex (1:1) como fase móvil. Se obtuvieron sólidos de tonalidades blancas R = H y F, cafés para R = Br y Cl y violeta pálido para R = OCH₃ con rendimientos entre un 89 a 93% (**Tabla 2.6**).

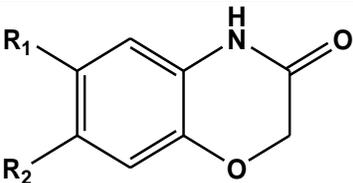
			
Compuesto	R ₁	R ₂	% Rendimiento
6a	H	H	93
6b	H	F	90
6c	F	H	93
6d	Br	H	92
6e	Cl	H	91
6f	OCH ₃	H	89

Tabla 2.6: Compuestos 6a-f con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.

Los compuestos fueron identificados por espectroscopía ¹H-RMN con DMSO-*d*₆. Para el derivado **6a** (**Figura 2.17**), la formación del producto se aprecia por aparición de la señal singulete en δ: 4,6 ppm que integra para 2 hidrógenos pertenecientes al CH₂ en posición 2 (ubicado entre el carbonilo y el oxígeno). En el sector aromático se aprecia un multiplete en δ: 6,88 que integra para los 4 protones aromáticos. Cercano a δ: 10,6 ppm, aparece la señal que corresponde al N-H de la amida. En la técnica de ¹³C-RMN se aprecia la aparición de una señal en los δ: 165 correspondiente al carbonilo de la amida. Para el resto de los derivados de esta serie, el patrón de señales aromáticas y su multiplicidad va variando según el sustituyente sobre el anillo bencénico.

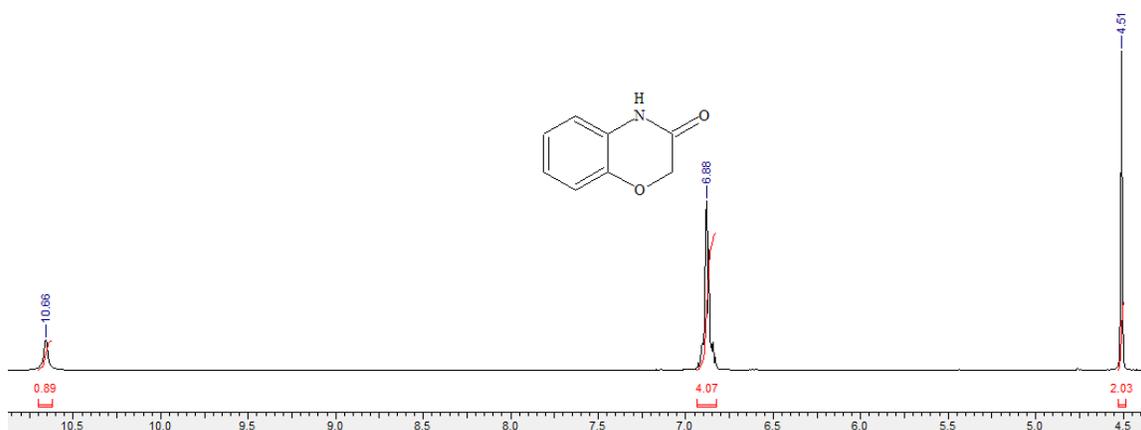


Figura 2.17: Espectro de protones del compuesto 6a.

2.1.1.2.1.3 Obtención de los derivados 7a-f.

A partir de las benzoxazinonas **6a-f** obtenidas, se procede a someterlos a una reacción de reducción del carbonilo lactámico para la obtención de los derivados **7a-f** (**Figura 2.18**).

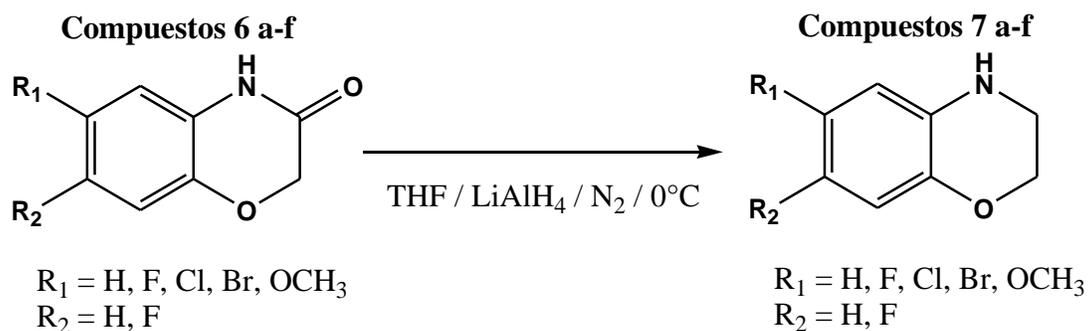
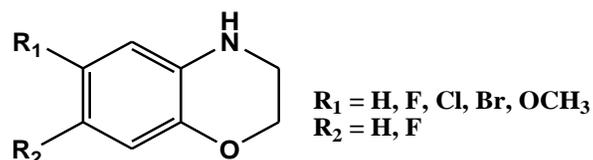


Figura 2.18: Reacción de reducción del carbonilo amídico con $LiAlH_4$ en condiciones anhidras.

Síntesis de 3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazinas 7a-f.



Compuestos 7a-f

Procedimiento general: Se describe a continuación la marcha experimental para la obtención de los 6 derivados 7(a-f).

En una solución heterogénea de tetrahidrofurano (THF) seco y LiAlH₄ soportada en un baño de hielo, se acopló un embudo de adición a presión constante para adicionar gota a gota una solución de THF seco que contenía los derivados **6a-f**, todo esto bajo atmosfera de nitrógeno. Terminada la adición por goteo, la mezcla se dejó con agitación por 2hrs a temperatura ambiente.

Finalizado este tiempo, la mezcla de reacción se cambió a un matraz provisto de agitación más baño de hielo y se neutralizó gota a gota con una mezcla de AcOEt /H₂O (1:1) hasta la aparición de un precipitado coloidal de color blanco. La solución resultante se filtró al vacío y se lavó con 100 mL de AcOEt. La fase orgánica obtenida se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró en evaporador rotatorio. El crudo orgánico fue purificado por cromatografía en columna de gel de sílice, utilizando una mezcla de AcOEt/n-Hexano (1:1) como fase móvil. Se obtuvieron compuestos en estado líquido-oleoso de tonalidades café con rendimientos entre un 87 a un 92% (**Tabla 2.7**).

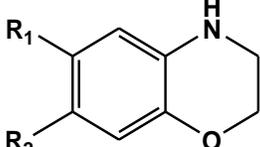
			
Compuesto	R ₁	R ₂	% Rendimiento
7a	H	H	92
7b	H	F	91
7c	F	H	87
7d	Br	H	92
7e	Cl	H	89
7f	OCH ₃	H	91

Tabla 2.7: Compuestos 7a-f con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.

Los compuestos caracterizados por espectroscopía ¹H-RMN (CDCl₃). Para el intermediario **7a**, su formación se aprecia (**Figura 2.19**) gracias a la aparición de una nueva señal de tipo triplete en δ: 3,39 que corresponde al metileno que proviene del carbonilo reducido y al desplazamiento de la señal del NH a δ: 3,5. El sector aromático está compuesto por un doblete en δ: 6,57, un triplete de dobletes en δ: 6,65 y un multiplete en δ: 6,76. En la técnica de ¹³C-RMN se aprecia la desaparición de la señal en los δ: 165 correspondiente al carbonilo de la amida.

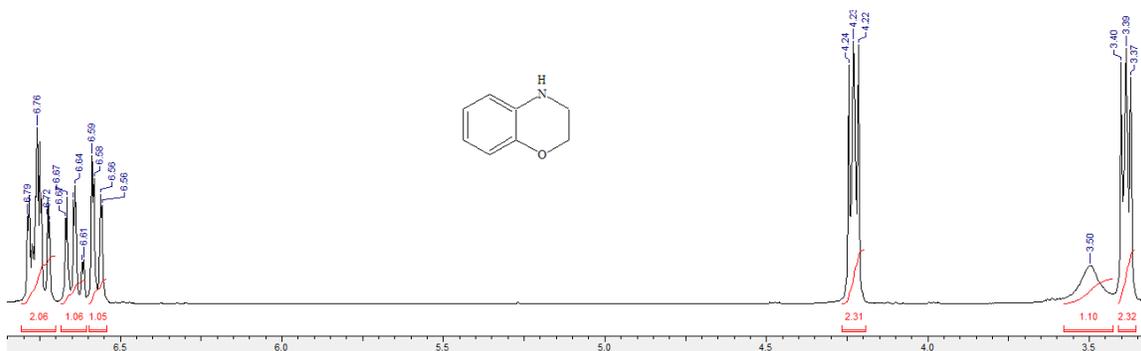


Figura 2.19: Espectro de protones del compuesto 7a.

2.1.1.2.1.4 Obtención de los derivados 8a-f.

Las benzoxazinas **7a-f** obtenidas se procedió a hacerlas reaccionar con cloruro de cloroacetilo para la obtención de las amidas **8 a-f** (Figura 2.20).

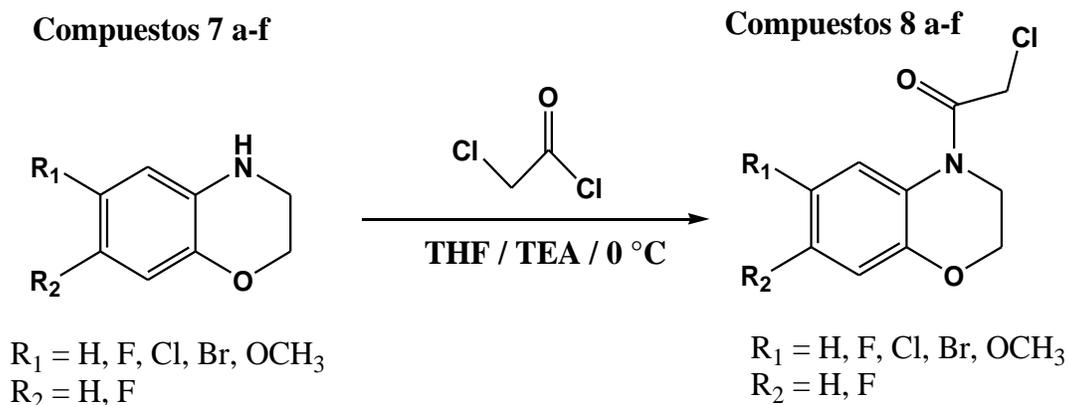
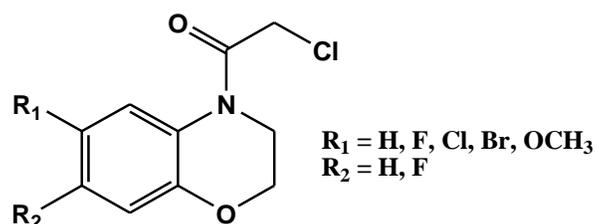


Figura 2.20: Reacción de acilación.

Síntesis de 2-cloro-1-(2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-etanamidas 8a-f.



Compuestos 8a-f

Procedimiento general: Se describe a continuación la marcha experimental para la obtención de los 6 derivados 8(a-f).

Se agregaron las 3,4-dihidro-2*H*-benzo[1,4]oxazinas **7a-f** en THF seco, soportado en un baño de hielo más la presencia de atmosfera de nitrógeno más trietilamina y cloruro de cloroacetilo, dejándose reaccionar por un lapso de 2 horas.

Transcurrido este tiempo, se adicionó agua destilada (100 mL), para después extraer con AcOEt (3 X 100 mL). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro para ser concentrada en un evaporador rotatorio. El crudo orgánico fue purificado por cromatografía en columna de gel de sílice, utilizando como fase móvil una mezcla de AcOEt/n-Hex (1:1). Se obtuvieron compuestos sólidos de color blanco para R = H, F, OCH₃ y café claro para R = Br, Cl con rendimientos entre 74 y 80% (**Tabla 2.8**).

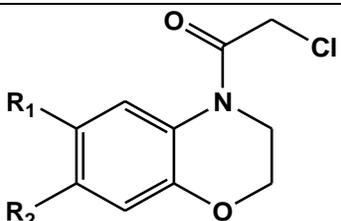
			
Compuesto	R ₁	R ₂	% Rendimiento
8a	H	H	76
8b	H	F	75
8c	F	H	74
8d	Br	H	74
8e	Cl	H	78
8f	OCH ₃	H	80

Tabla 2.8: Compuestos 8a-f con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.

Los compuestos fueron caracterizados por espectroscopía ¹H-RMN (CDCl₃). Para el caso de **8a**, su formación se puede apreciar (**Figura 2.21**) a la desaparición del singulete ancho en δ: 3,5 perteneciente al NH más la aparición de un singulete que se ubica en δ: 4,6 que corresponde al CH₂ ubicado entre el carbonilo y el cloro, se mantienen los 2 tripletes en δ: 3,90 y δ: 4,30 correspondientes al par de metilenos del anillo. En el sector aromático se aprecian un multiplete en δ: 6,89, un doblete en

δ : 7,08 más aparición de un singulete ancho que corresponde a al protón aromático de la posición 5 cuya señal es deformada debido al efecto anisotrópico ejercido por el carbonilo amídico ubicado en posición 4. En la técnica de ^{13}C -RMN se aprecia la aparición de una señal entre los δ : 165 y δ : 171 correspondiente al carbonilo de la amida.

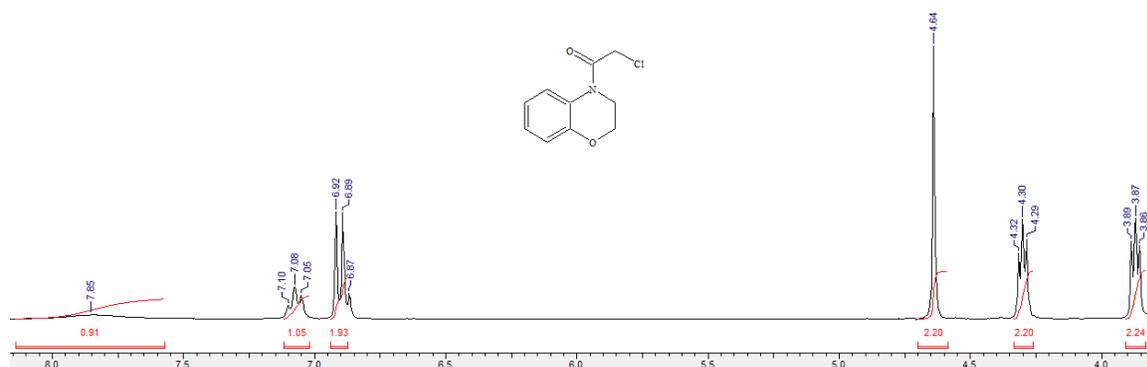


Figura 2.21: Espectro de protones del compuesto 8a.

2.1.1.2.2 Estrategia 2

2.1.1.2.2.1 Síntesis de derivados 9a-f.

Los derivados **8a-f** fueron sometidos a una reacción de sustitución nucleofílica bimolecular ($\text{S}_{\text{N}}2$) para lograr el desplazamiento del cloro α -carbonílico con piperazina-N-Boc para la obtención de los compuestos **9a-f** (Figura 2.22), los que a continuación se someten a desprotección del grupo N-Boc para así obtener los intermediarios 10a-c utilizados en la estrategia 2.

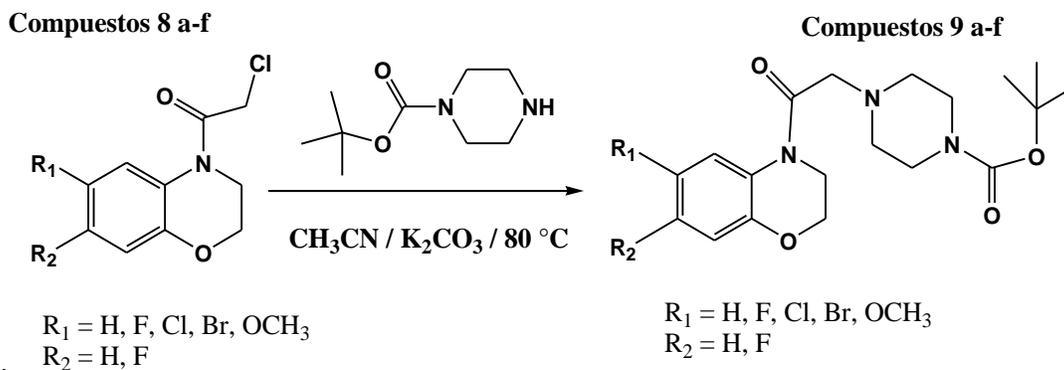
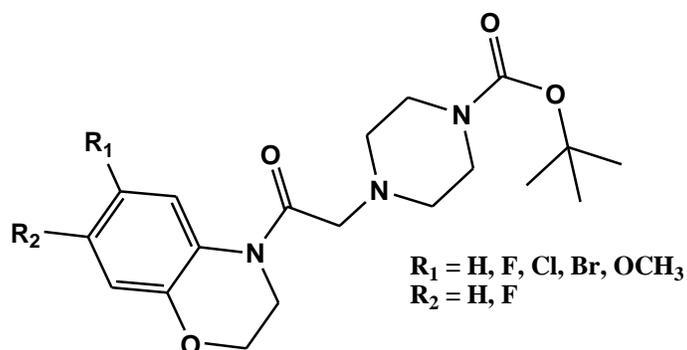


Figura 2.22: Reacción de sustitución nucleofílica (SN2) sobre el cloro α -carbonílico.

Síntesis de [4-[2-(3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4-il)-2-oxo-etil]-1-piperazinil] carbamato de *t*-butilos 9a-f.



Compuestos 9a-f

Procedimiento general: Se describe a continuación la marcha experimental para la obtención de los 6 derivados 9(a-f).

Se pesaron y agregaron las 2-cloro-1-(2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-etanamidas **8a-f** en CH_3CN seco más K_2CO_3 anhidro y N-Boc-piperazina para dejarlos con calentamiento (80°C) a reflujo por 24 hrs.

A la solución resultante se le adicionó agua destilada (100 mL) y se extrajo con AcOEt (100 mL X 3). La fase orgánica fue secada con Na₂SO₄ anhidro y concentrada en un evaporador rotatorio. El crudo orgánico fue purificado por cromatografía en columna de gel de sílice, utilizando AcOEt como fase móvil. Se obtuvieron sólidos de color blanco para R = H, F, Cl, color café claro para R = Br y violeta pálido para R = OCH₃ con rendimientos entre 80 y 84% (**Tabla 2.9**).

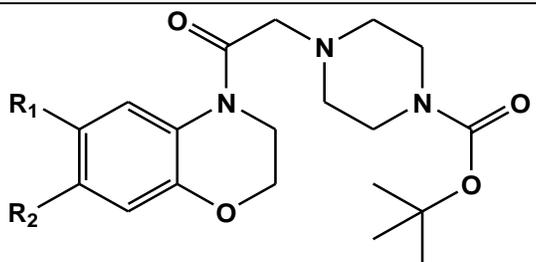
			
Compuesto	R ₁	R ₂	% Rendimiento
9a	H	H	84
9b	H	F	80
9c	F	H	82
9d	Br	H	83
9e	Cl	H	82
9f	OCH ₃	H	81

Tabla 2.9: Compuestos 9a-f con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.

Los compuestos fueron caracterizados por espectroscopía ¹H-RMN (CDCl₃). En lo que respecta al intermediario **9a (Figura 2.23)**, su formación se aprecia a la aparición del singulete en δ: 1,45 que integra para 9 hidrógenos pertenecientes al grupo *t*-butilo más la aparición en la zona de campo alto de 2 tripletes que integran para 4 hidrógenos cada uno en δ: 2,52 y δ: 3,45, correspondientes a aquellos del anillo piperazínico. Se mantienen las señales que denotan la presencia del CH₂ ubicado entre el carbonilo y ahora el nitrógeno de la piperazina en δ: 3,39 más los

2 tripletes correspondientes a los CH₂ del anillo benzoxazínico. En el sector aromático se mantiene la señal singulete ancho que corresponde a al protón aromático de la posición 5 en δ : 7,99. En la técnica de ¹³C-RMN aparece una señal en δ : 154 que corresponde al carbonilo del carbamato, la señal de carbonilo de la amida se asienta ahora sobre los δ : 167.

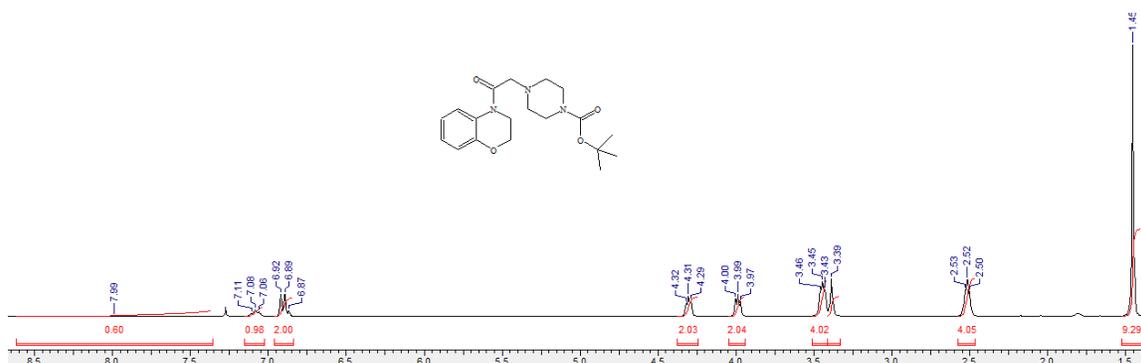


Figura 2.23: Espectro de protones del compuesto 9a.

2.1.1.2.2.2 Síntesis de derivados 10a-c.

Los derivados **9a-c** fueron sometidos a hidrólisis anhidra con ácido trifluoro-acético para lograr la ruptura del grupo N-Boc y así obtener los compuestos **10a-c** (Figura 2.24).

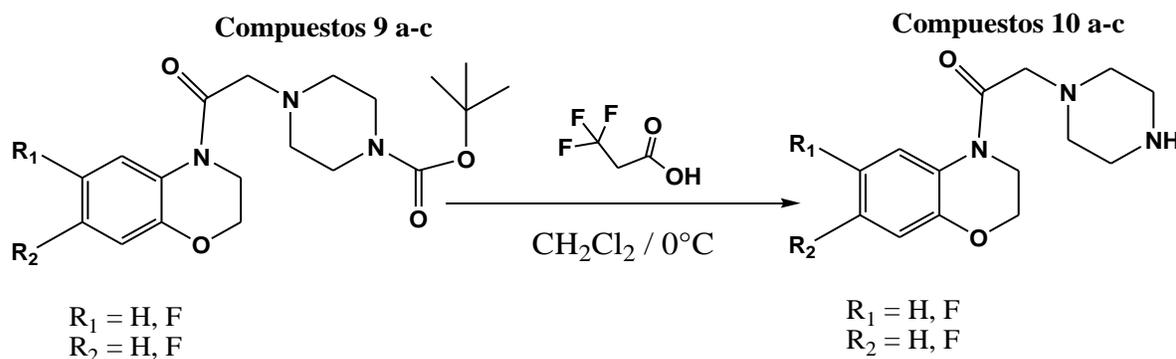
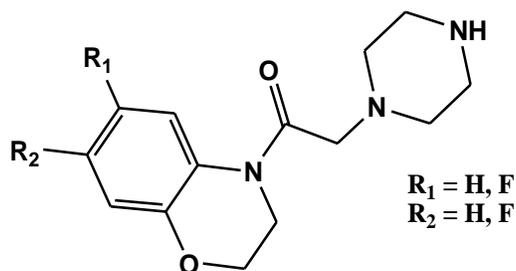


Figura 2.24: Reacción de hidrólisis anhidra de los carbamatos 9 a-c.

Síntesis de 1-(2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-(1-piperazinil) etanamidas 10a-c.



Compuestos 10a-c

Procedimiento general: Se describe a continuación la marcha experimental para la obtención de los 6 derivados 10(a-f).

Se agregaron los [4-[2-(3,4-dihidro-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-4-il)-2-oxo-etil]-1-piperazinil] carbamato de *t*-butilos **9a-c** en CH₂Cl₂ seco más ácido trifluoroacético (TFA) y montado en un baño de hielo a 0°C bajo atmosfera de nitrógeno. La mezcla resultante se hizo reaccionar por 4 horas. A la solución resultante se agregaron 100 mL de CH₂Cl₂ seco y adicionaron 10 gr de NaHCO₃ (s) para neutralizar más 200 mL de solución saturada de NaHCO₃.

La porción orgánica fue separada para posteriormente someter la fase acuosa remanente a extracción con AcOEt (8 x 50 mL). Ambos residuos (CH₂Cl₂ y AcOEt) se reúnen en un solo extracto final, el que fue secado con Na₂SO₄ anhidro y concentrado a sequedad en un evaporador rotatorio, para obtener compuestos semisólidos altamente higroscópicos, que no es necesario purificar por columna de gel de sílice, con rendimientos entre un 82 a 95% (**Tabla 2.10**), a los cuales se les elimina la humedad mediante la adición de éter etílico y mezcla de hexanos

seguidos de continuos procesos de rotavaporación (4 a 5 en total) para posteriormente ser secado en línea de vacío por 1 día.

Compuesto	R ₁	R ₂	% Rendimiento
10a	H	H	82
10b	H	F	95
10c	F	H	93

Tabla 2.10: Compuestos 10a-c con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.

Los compuestos fueron caracterizados por espectroscopía ¹H-RMN con DMSO-*d*₆ para R = H y cloroformo deuterado (CDCl₃) para R = F. Para el compuesto **10a (Figura 2.25)**, se puede apreciar su formación debido a la desaparición del singulete en δ: 1,46. Se mantienen las señales de campo alto que consisten en 2 multipletes que integran para 4 hidrógenos cada uno en δ: 2,37 y δ: 2,69, correspondientes al anillo piperazínico, al igual que el singulete del CH₂ ubicado entre el carbonilo y el otro nitrógeno terciario en δ: 3,29 más los 2 triplete correspondientes a los CH₂ del anillo benzoxazínico. En el sector aromático nuevamente se aprecian las mismas señales incluso la del singulete ancho que corresponde al protón en posición 5 en δ: 7,85. En la técnica de ¹³C-RMN desaparece la señal de carbamato en δ: 154, se mantiene la del carbonilo de amida entre los δ: 167.

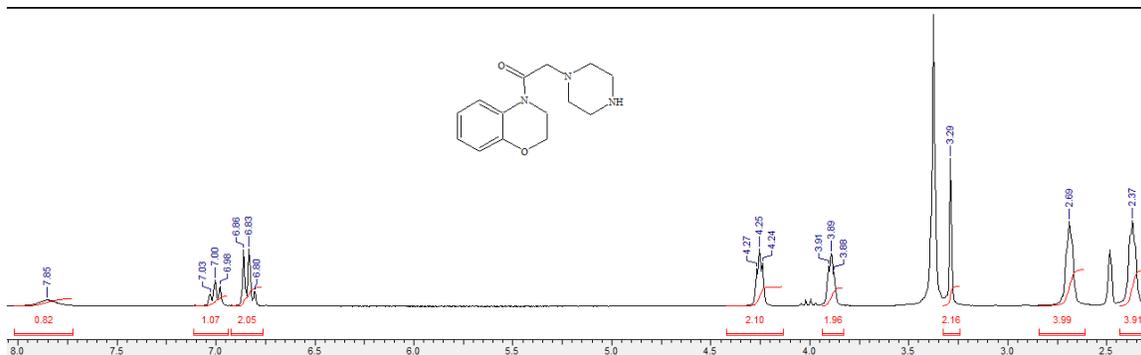


Figura 2.25: Espectro de protones del compuesto 10a.

2.1.1.C. Obtención de la Familia 1A-O.

En razón a la gran funcionalidad y flexibilidad sintética de los ligandos precursores, esta familia fue posible obtenerla a través de dos secuencias sintéticas distintas (**Figura 2.26**). Ambas estrategias sintéticas condujeron a la obtención de 15 compuestos finales (**F1A-O**), que se dividieron de la siguiente manera:

- 9 moléculas sintetizadas según el método de la **ruta o estrategia 1** con rendimientos entre 42 y 89%.
- 6 moléculas sintetizadas según el método de la **ruta o estrategia 2** con rendimientos entre 63 y 91%.

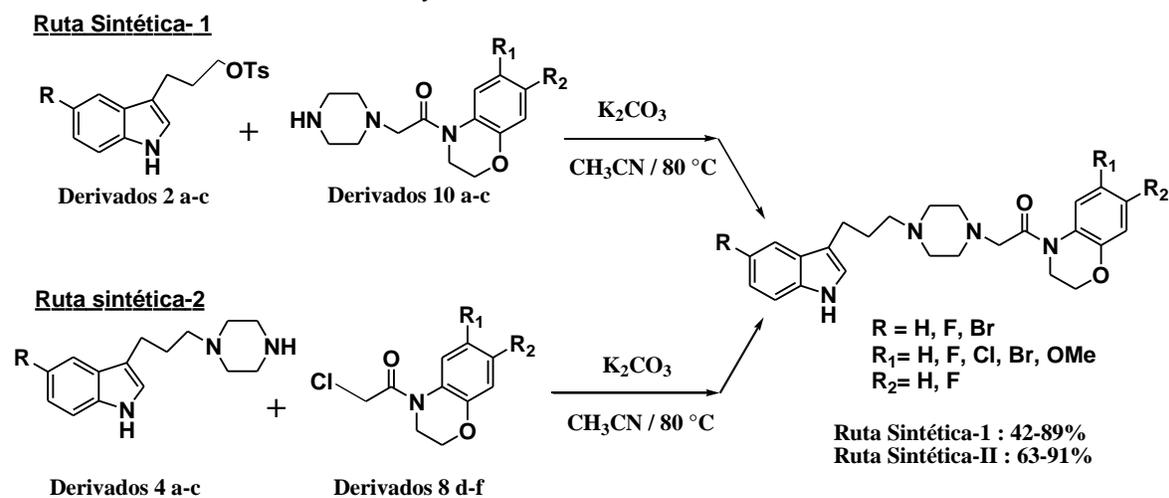
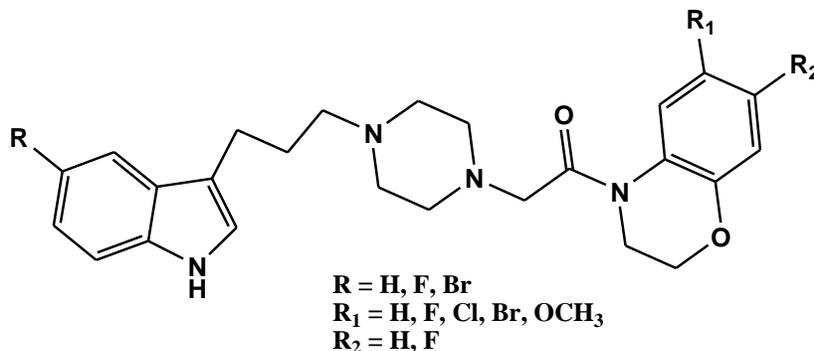


Figura 2.26: Operaciones sintéticas finales de las rutas 1 y 2 para la obtención de la Familia 1.

2.1.1.2.3 Síntesis de 2,3-Dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-{4-[3-(1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil} etanamidas F1A-O.



Compuestos Familia 1A-O

Procedimiento general: Se describe a continuación la marcha experimental para la obtención de los 15 derivados F1(A-O).

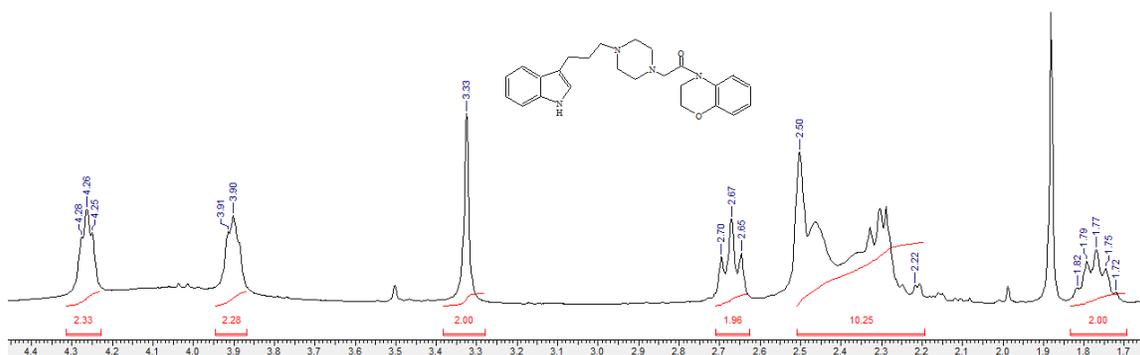
Se pesaron y agregaron los derivados **2a-c** versus los **10a-c** para la **estrategia 1** o los derivados **4a-c** versus los **8d-f** para la **estrategia 2** en CH₃CN seco más K₂CO₃ anhidro.

La mezcla se calentó a reflujo por 24 horas a una temperatura de 80 °C. A la solución resultante se le adicionó agua destilada (100 mL) y fue extraída con AcOEt (4x 50 mL). Los residuos orgánicos fueron secados con Na₂SO₄ anhidro y concentrados en evaporador rotatorio. El crudo orgánico fue purificado por cromatografía en columna de gel de sílice utilizando AcOEt/MeOH (6:1) como fase móvil. Se obtuvieron compuestos sólidos de tonalidades claras al tratar el producto de consistencia semi-sólida obtenido de la columna con mezclas de n-hexano,

ciclohexano y éter etílico, el que ser dejado secando en línea de vacío por un día con rendimientos entre 42 y 91% (**Tabla 2.11**).

Los compuestos fueron caracterizados por espectroscopía $^1\text{H-RMN}$ ($\text{DMSO-}d_6$). La formación del producto **F1A** (**Figura 2.27**) se aprecia en el sector de campo alto, al observar un quintuplete en δ : 1,77 que corresponde al metileno en posición 2 de la cadena propil. El multiplete entre δ : 2,22 a 2,50 corresponde a varias señales que solapan e integran para 10 protones que corresponden a los protones del anillo de piperazina más el CH_2 de la cadena propilo directamente unido al nitrógeno. En el resto de este sector, se aprecian: un triplete en δ : 2,67 que pertenece al metileno de la cadena propil unido al anillo indólico, un singulete en δ : 3,33 al CH_2 ubicado entre el nitrógeno piperazínico y el carbonilo más un multiplete en δ : 3,90 y un triplete en δ : 4,26 que corresponden a los metilenos del sistema benzoxazínico.

En el sector aromático aparecen 7 señales que integran para los 9 protones de los sistemas indol y benzoxazina, manteniéndose el singulete ancho en δ : 7,90 que corresponde al protón en posición 5 de esta última. El protón más desplazado corresponde al NH aromático que aparece en δ : 10,79. En la técnica de $^{13}\text{C-RMN}$ se mantiene la del carbonilo de amida entre alrededor de los δ : 168.



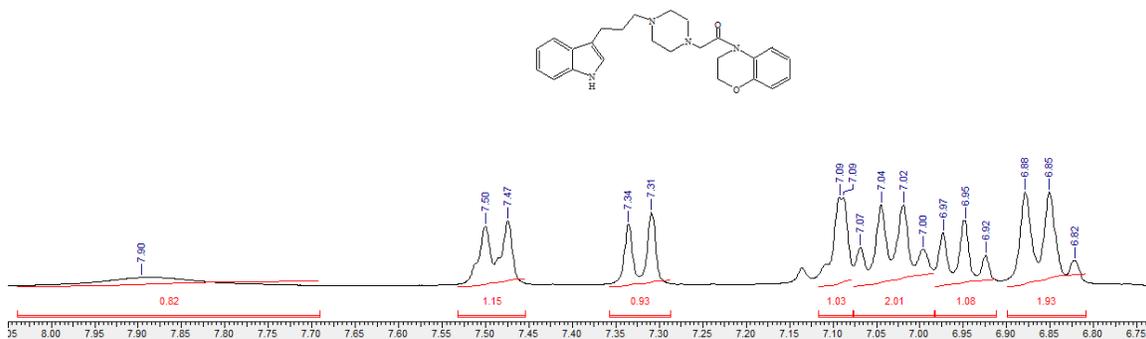


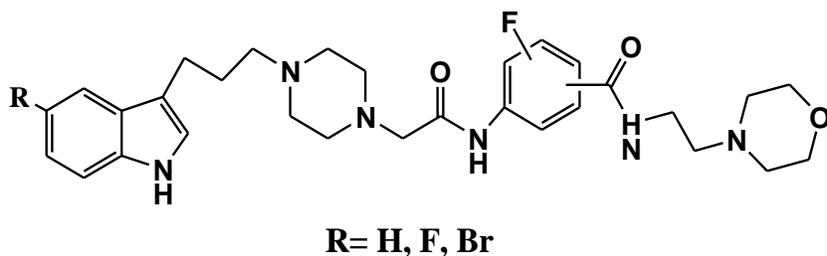
Figura 2.27: Espectro de protones del compuesto F1A.

Compuesto	R	R1	R2	% RENDIMIENTO
F1A	H	H	H	70
F1B	H	H	F	80
F1C	H	F	H	89
F1D	H	Cl	H	72
F1E	H	Br	H	63
F1F	H	OCH ₃	H	79
F1G	F	H	H	78
F1H	F	H	F	65
F1I	F	F	H	62
F1J	F	Cl	H	91
F1K	F	Br	H	75
F1L	F	OCH ₃	H	82
F1M	Br	H	H	42
F1N	Br	H	F	50
F1O	Br	F	H	70

Tabla 2.11: Compuestos F1A-O con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.

2.1.2 Familia II

(2-{4-[3-(1*H*-indol-3-il)-propil]-1-piperazinil}-acetilamino)-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamidás fluoradas.



Al hacer un análisis retrosintético sobre la molécula objetivo, logramos obtener una desconexión entre el nitrógeno de la piperazina y el carbono α -carbonílico del grupo acetilo (**Figura 2.28**).

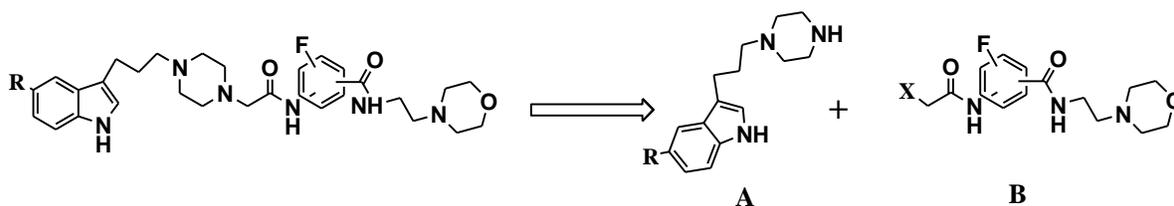


Figura 2.28: Diseño retrosintético para la obtención de la Familia 2.

La desconexión elegida, muestra la síntesis de un derivado piperazín-indólico (**A**) y su posterior conexión a un derivado α -cloro carbonílico (**B**).

La síntesis de derivado (**A**), corresponde a la ya descrita en la obtención de la familia I (**Figura 2.29**).

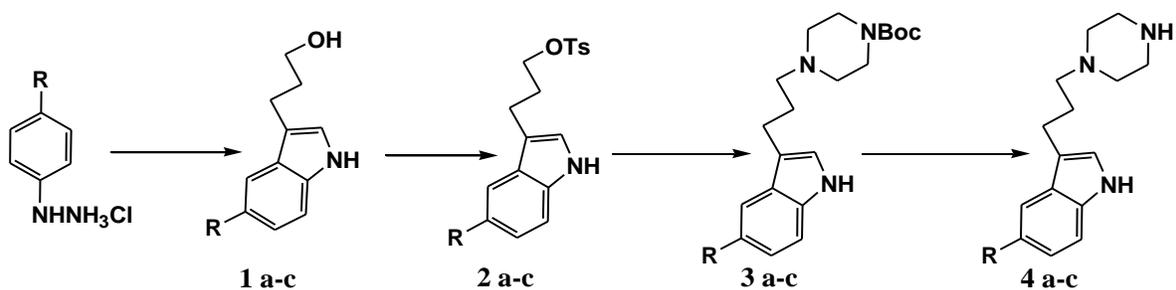


Figura 2.29: Síntesis de los compuestos 1-4. Solventes y reactivos: (a) DMA, dihidropirano, H_2SO_4 4%; (b) CH_2Cl_2 , TEA, TsCl, DMAP; (c) CH_3CN , piperazina N-Boc, K_2CO_3 ; (d) CH_2Cl_2 , TFA.

2.1.2.1 Ruta sintética para la obtención de (2-cloro-acetilamino)-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamidás fluoradas.

A continuación, se describirá la estrategia sintética utilizada para la obtención de los derivados (2-cloro-acetilamino)-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamidás fluoradas a partir de isómeros del ácido flúoro-nitro benzoico (**Figura 2.30**).

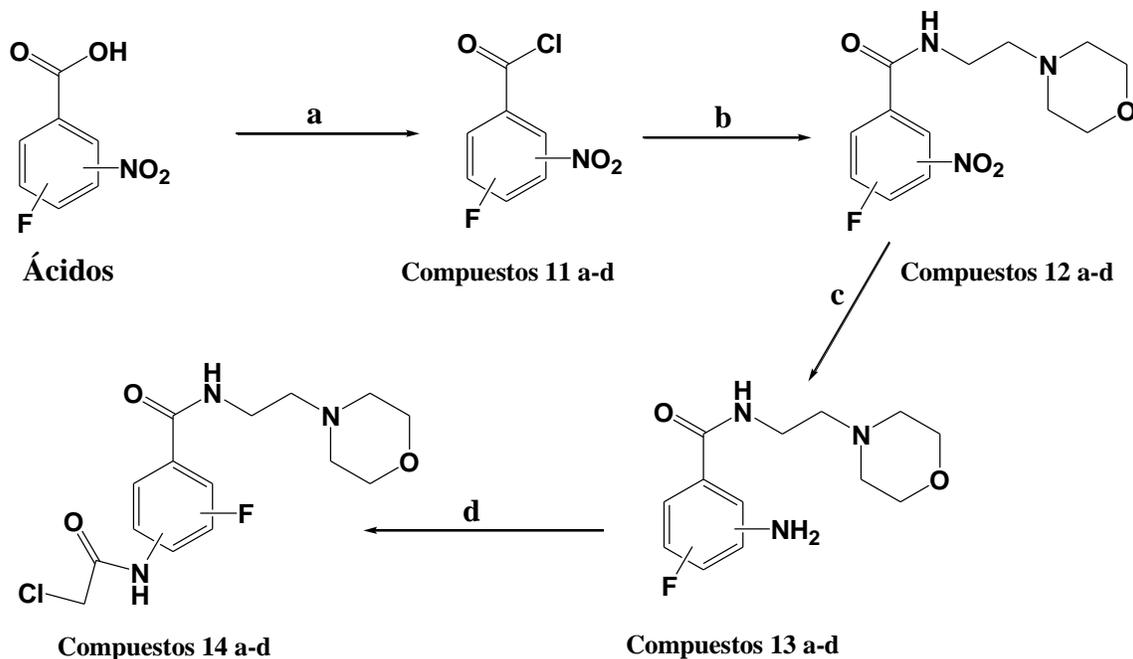


Figura 2.30: Síntesis de los compuestos 11-14. Solventes y reactivos: (a) SOCl_2 ; (b) THF, 2-aminoetil-morfolino; (c) H_2O , AcOH, EtOH, Fe^0 ; (d) THF, CH_2ClCOCl .

Este proceso sintético utilizó 4 isómeros del ácido flúoro-nitro benzoico (Figura 2.31).

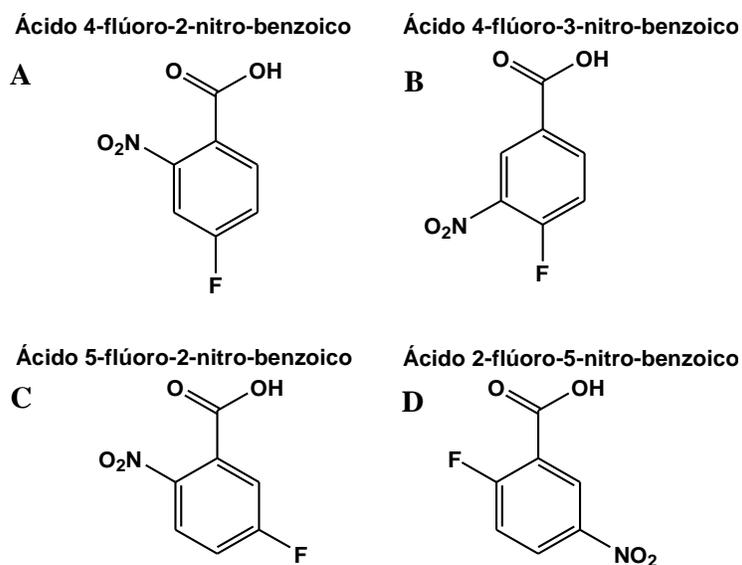


Figura 2.31: Sustratos comerciales del ácido flúor nitro benzoico.

2.1.2.1.1 Síntesis de cloruros de ácido 11a-d.

Durante este proceso, los ácidos comerciales (A, B, C, D) fueron tratados con cloruro de tionilo (SOCl_2) (Figura 2.32).

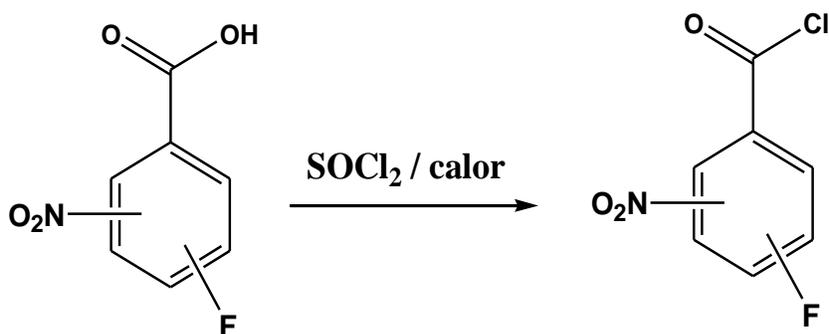


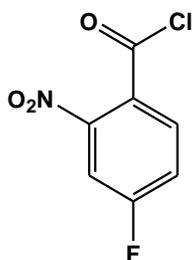
Figura 2.32: Reacción de formación de los cloruros de ácido 11a-d.

Procedimiento general: Se describe a continuación la marcha experimental para la obtención de los 4 derivados 11(a-d).

Se agregaron los ácidos **A**, **B**, **C** y **D** (750 mg; 4,05 mmol) más cloruro de tionilo (20 mL) y se calentó a reflujo por 2 horas a 80°C. La mezcla de reacción fue concentrada en un evaporador rotatorio y se dejó secando en línea de vacío por 24 horas. Transcurrido este lapso, se obtuvieron 825 mg aprox. de un sólido blanco para cada uno, lo que corresponde a un 100% de rendimiento (**Figura 2.33**). Debido a la reconocida sensibilidad e inestabilidad a la humedad ambiental de los cloruros de ácido y con el fin de evitar la degradación del sustrato, se procedió una vez obtenidos a hacerlos reaccionar de forma inmediata.

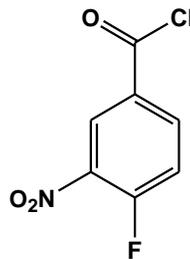
4-flúoro-2-nitro- cloruro de benzoilo

11a



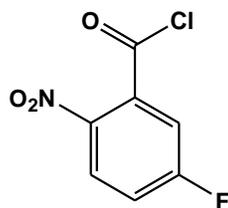
4-flúoro-3-nitro- cloruro de benzoilo

11b



5-flúoro-2-nitro- cloruro de benzoilo

11c



2-flúoro-5-nitro- cloruro de benzoilo

11d

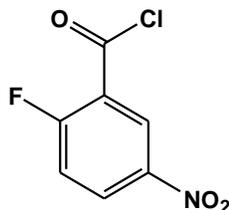


Figura 2.33: Cloruros de ácido 11a-d.

2.1.2.1.2 Síntesis de los derivados 12a-d.

Los derivados **11a-d**, fueron tratados el reactivo comercial 2-morfolin-4-il-etilamina para la obtención de las amidas **12 a-d** (Figura 2.34).

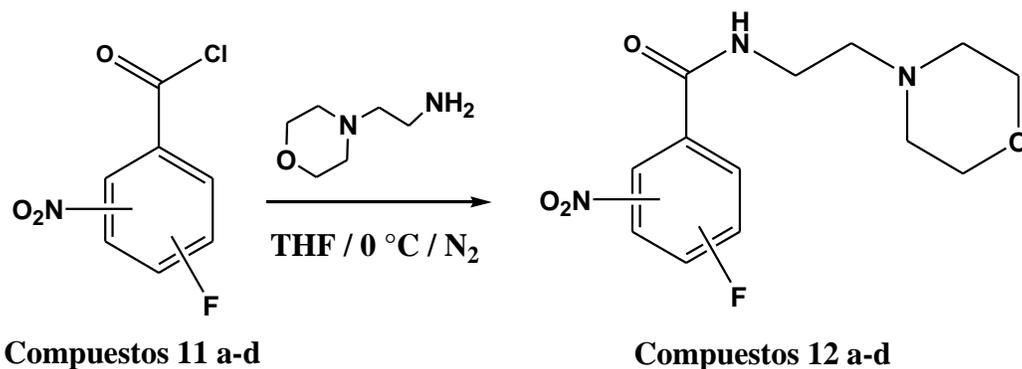
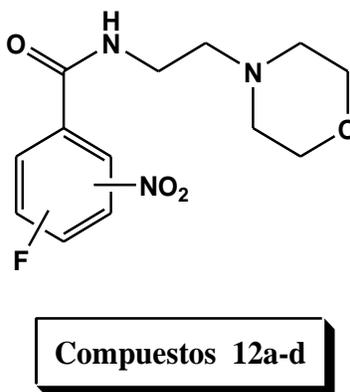


Figura 2.34: Reacción de formación de las benzamidas 12 a-d.

Síntesis de *N*-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamidas flúoro-nitradas 12a-d.



Procedimiento general: Se describe a continuación la marcha experimental para la obtención de los 4 derivados 12(a-d).

Se agregaron los cloruros de benzoilo **11a-d** en THF seco más 2-morfolin-4-il-etilamina. El sistema se montó en un baño de hielo con atmosfera de nitrógeno y se dejó reaccionar durante 2 horas.

A la mezcla resultante se le adicionan 100 mL de solución saturada de NaHCO₃ para extraer con AcOEt (60 mL X 3). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y fue concentrada en un evaporador rotatorio. El crudo orgánico fue purificado por cromatografía en columna de gel de sílice, utilizando como fase móvil una mezcla de AcOEt/MeOH (6:1). Se generaron sólidos de tonalidades amarillo pálido con rendimientos entre 75 a 88% (**Tabla 2.12**).

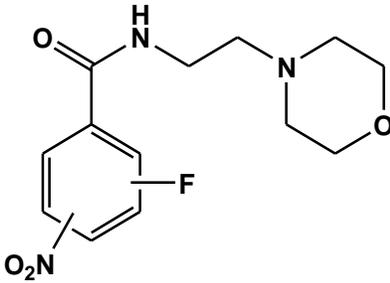
			
Compuesto	Posición-F	Posición-NO ₂	% Rendimiento
12a	4	2	80
12b	4	3	88
12c	5	2	81
12d	2	5	75

Tabla 2.12: Compuestos 12 a-d con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.

Los compuestos fueron caracterizados por espectroscopía ¹H-RMN (Acetona-*d*₆). Tomando como ejemplo el intermediario **12a** (**Figura 2.35**), su formación en el sector de campo alto se aprecia debido a la aparición de 2 triplete que integran para 4 hidrógenos en δ : 2,32 y δ : 3,46 que corresponden a los CH₂

equivalentes en el anillo de morfolina. La cadena etilo muestra un triplete en δ : 2,42 que corresponden al metileno unido al nitrógeno morfolínico y un cuadruplete en δ : 3,35 para el CH₂ unido al nitrógeno de la amida.

En el sector aromático aparecen de forma definida los 3 hidrógenos del anillo bencénico y el NH de la amida solapado con una de estas señales. En la técnica de ¹³C-RMN aparece la señal de carbonilo de amida en δ : 164.

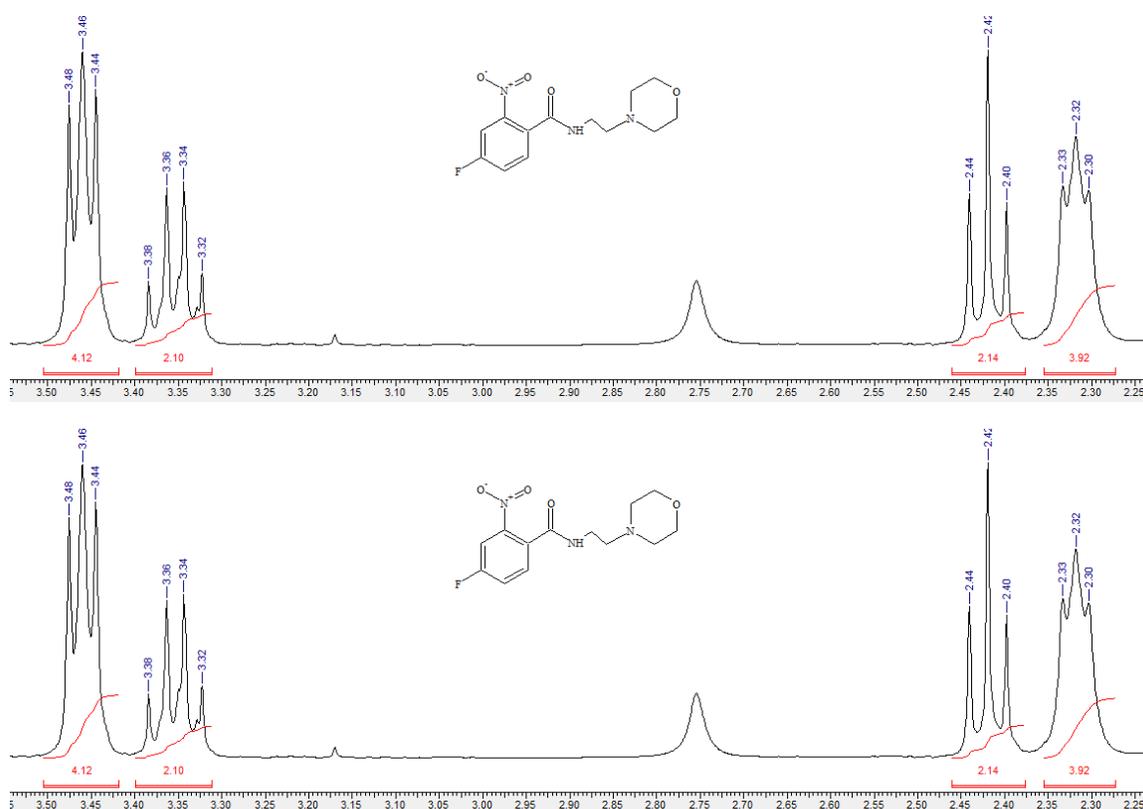


Figura 2.35: Espectro de protones del compuesto 12a.

2.1.2.1.3 Síntesis de los derivados 13a-d.

Los derivados **12a-d**, son tratados en medio de reacción reductivo para la obtención de las aminas **13a-d** (Figura 2.36).

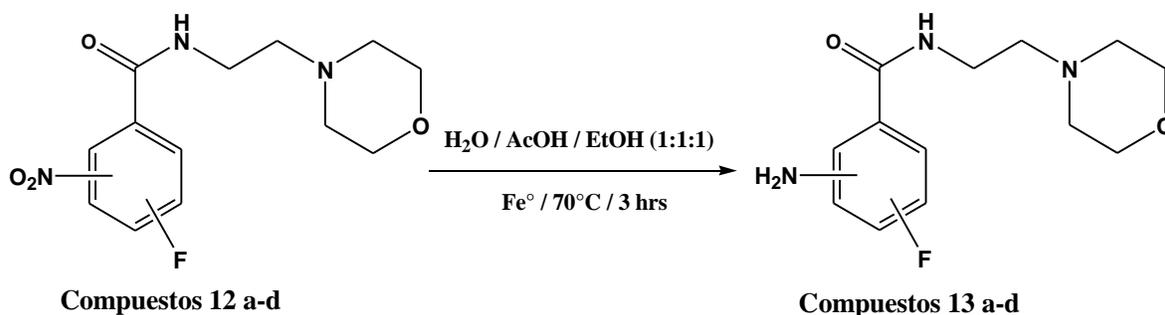
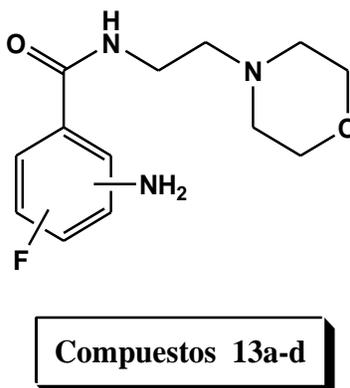


Figura 2.36: Reacción de reducción del grupo nitro.

Síntesis de los derivados *N*-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamidias amino-fluorados

13a-c.



Procedimiento general: Se describe a continuación la marcha experimental para la obtención de los 4 derivados 13(a-d).

Se pesaron y agregaron los derivados **12a-d** en de una mezcla agua - ácido acético - etanol en proporción de 1:1:1 más hierro metálico para dejar calentar por 3hr a 70°C.

La mezcla se filtró para eliminar el exceso de hierro metálico y se traspasó a un matraz conteniendo una mezcla de AcOEt / H₂O (400 mL, 1:1) en donde se neutralizó con NaHCO₃ (s). La fase acuosa se lavó con AcOEt (50 mL x 3).

La suma de los extractos orgánicos fue secada con Na₂SO₄ anhidro y concentrados en evaporador rotatorio. El crudo orgánico se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, utilizando como fase móvil una mezcla de AcOEt/MeOH (6:1). Se obtuvieron sólidos de color blanco-amarillento con rendimientos de un 78 a 98% (**Tabla 2.13**).

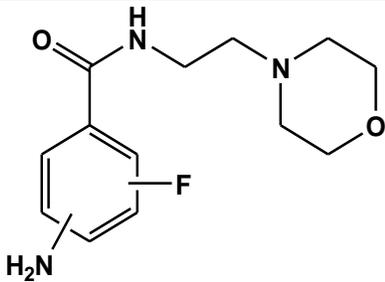
			
Compuesto	Posición-F	Posición-NH ₂	% Rendimiento
13a	4	2	98
13b	4	3	81
13c	5	2	78
13d	2	5	89

Tabla 2.13: Compuestos 13a-d con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.

Los compuestos fueron caracterizados por espectroscopía ¹H-RMN (CDCl₃). Para el compuesto **13a (Figura 2.37)**, en la parte alquílica se mantienen los tres tripletes y el cuadruplete que dan cuenta del sistema etil-morfolina. La formación de este compuesto se aprecia gracias al singulete ancho en δ: 5,72 que integra para 2 hidrógenos pertenecientes al NH₂ que viene de la reducción del NO₂.

En el sector aromático se mantienen las señales de los 3 hidrógenos más la del NH de la amida, pero esta vez a campo más alto con respecto a 12a debido a la

pérdida del efecto aceptor del NO₂ al dador del NH₂. En la técnica de ¹³C-RMN aparece la señal de carbonilo de amida en δ: 168.

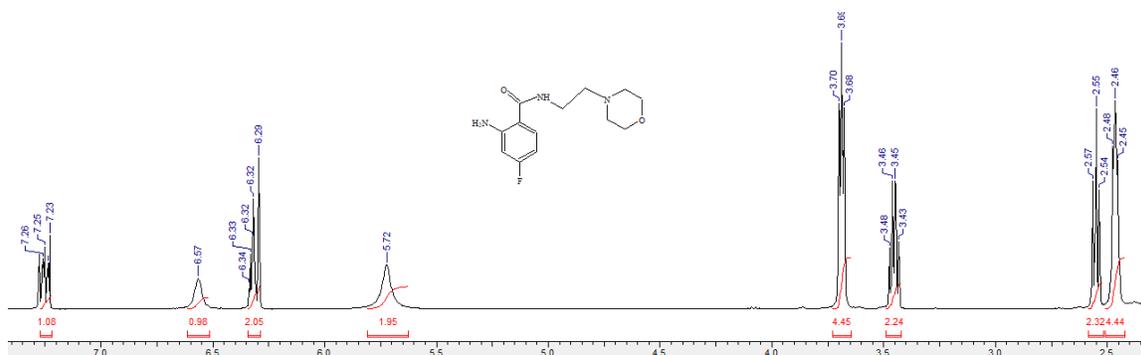


Figura 2.37: Espectro de protones del compuesto 13a.

2.1.2.1.4 Síntesis de los derivados 14a-d.

Los derivados **13a-d**, son tratados con cloruro de cloroacetilo para la obtención de las di-amidas **14a-d** (Figura 2.38).

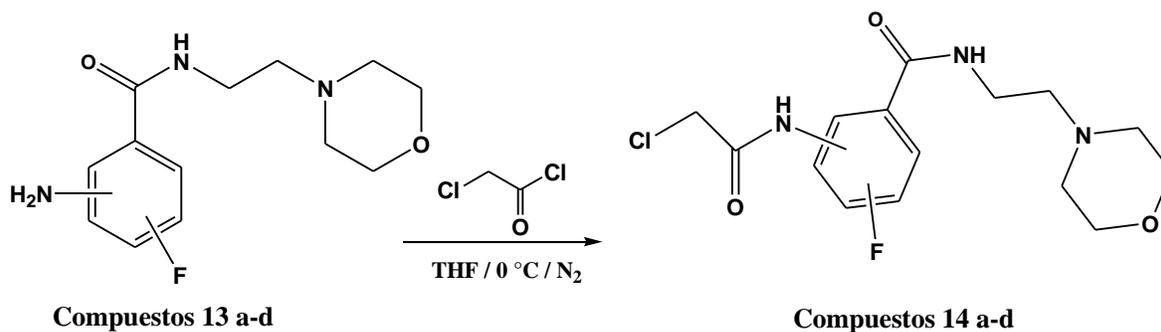
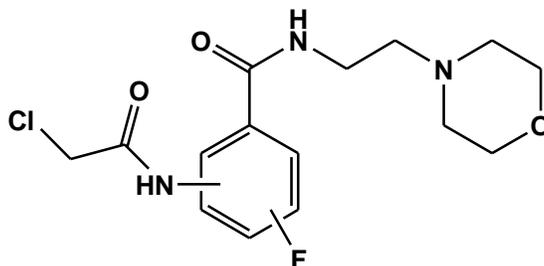


Figura 2.38: Reacción de acetilación de los derivados 13a-d.

Síntesis de los derivados (2-cloro-acetilamino)-N-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamidás fluoradas 14a-d.



Compuestos 14a-d

Procedimiento general: Se describe a continuación la marcha experimental para la obtención de los 4 derivados 14(a-d).

Se pesaron y agregaron los intermediarios **13a-d** en THF seco más cloruro de cloroacetilo. El sistema fue soportado sobre baño de hielo más atmosfera de nitrógeno para reaccionar durante 2 horas.

A la solución resultante se le adicionó una solución saturada de NaHCO_3 (100 mL) y se procedió a extraer con AcOEt (60 mL X 3). La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró en un evaporador rotatorio. El crudo fue purificado por cromatografía en columna de gel de sílice, utilizando una mezcla de AcOEt/MeOH (6:1) como fase móvil. Se obtuvieron sólidos de color blanco con rendimientos entre 93 y 97% (**Tabla 2.14**).

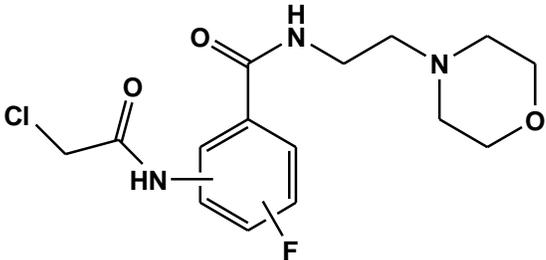
			
Compuesto	Posición-F	Posición-NHR R = COCH ₂ Cl	% Rendimiento
14a	4	2	93
14b	4	3	94
14c	5	2	97
14d	2	5	94

Tabla 2.14: Compuestos 14 a-d con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.

Los compuestos fueron caracterizados por espectroscopía ¹H-RMN (CDCl₃). Tomando como referencia la formación del derivado **14a (Figura 2.39)**, en el sector de campo alto se mantienen nuevamente los tres tripletes más el cuadruplete del sistema etil-morfolino. Se puede apreciar la formación de 14a debido a la aparición de una señal singulete que integra para 2 protones en δ: 4,13 que corresponde al CH₂ del grupo acetilo. La zona aromática consta de 2 dobles dobletes y un triplete de dobletes para los 3 protones aromáticos más una señal en δ: 6,88 para el NH de la benzamida. En la técnica de ¹³C-RMN aparecen dos señales de carbonilo de amida entre δ: 162 y δ: 167.

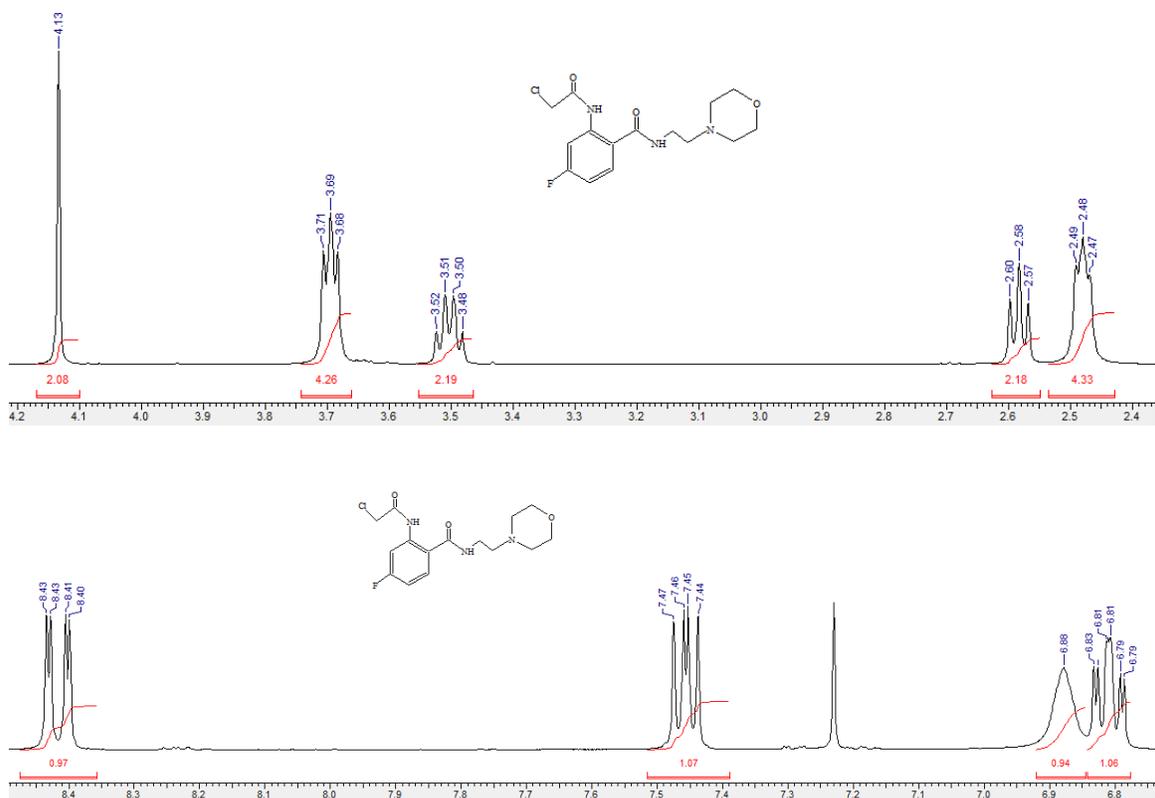


Figura 2.39: Espectro de protones del compuesto 14a.

2.1.2.2 Obtención de la Familia 2A-L.

Para la obtención de los 12 integrantes de esta familia, se procede a conectar los intermediarios mediante una reacción de sustitución nucleofílica bimolecular (S_N2) con el nitrógeno secundario de las piperazinas **14a-d** para desplazar al tosilato en los derivados **4a-c** (Figura 2.40).

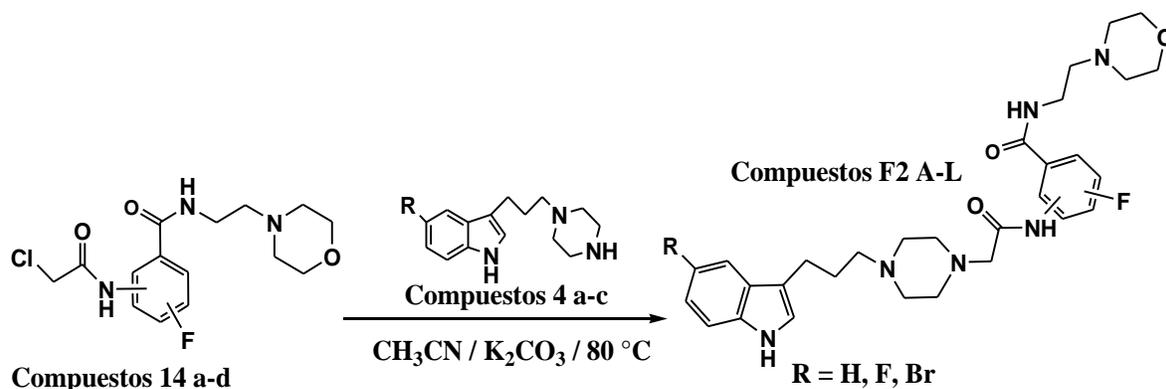
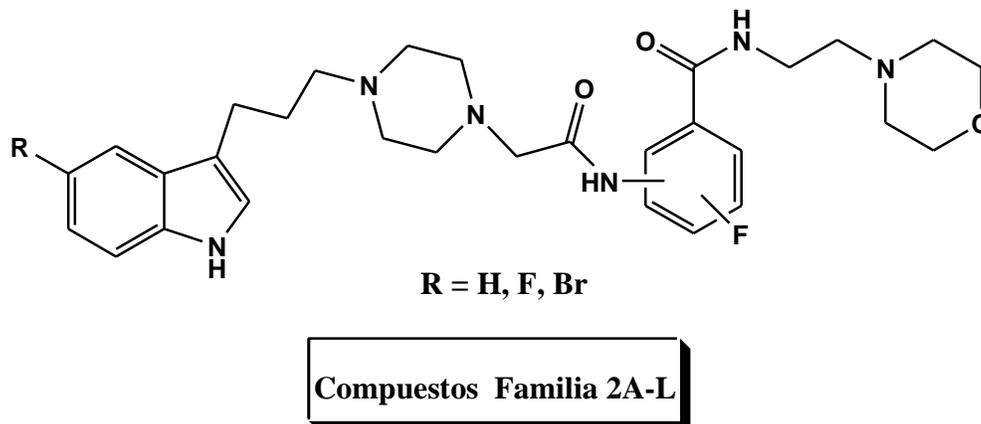


Figura 2.40: Reacción de operación real para la obtención de la Familia 2.

2.1.2.2.1 Síntesis de (2-{4-[3-(1*H*-indol-3-il)-propil]-1-piperazinil}-acetilamino)-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamidias fluoradas F2A-L.

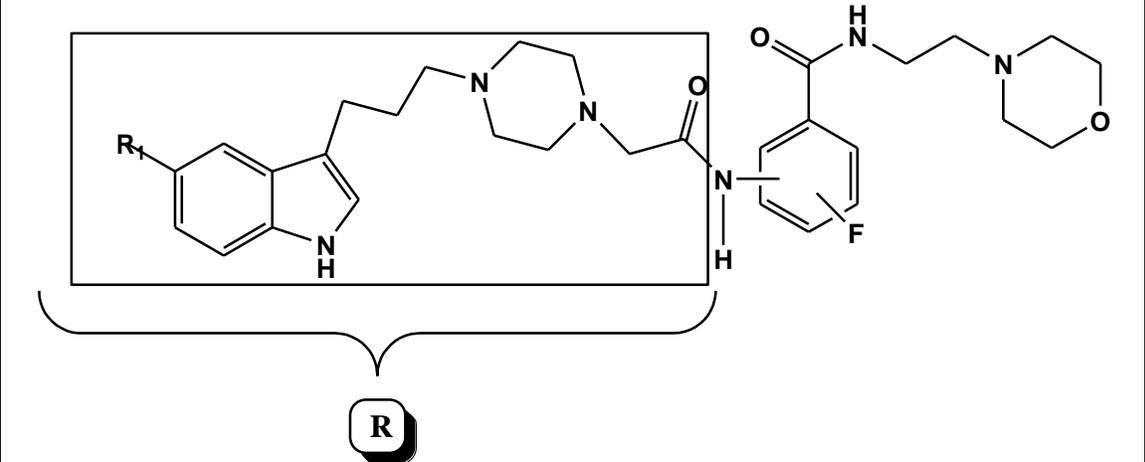


Procedimiento general: Se describe a continuación la marcha experimental para la obtención de los 12 derivados F2(A-L).

Se pesaron y agregaron los intermediarios **4a-c** más los **14a-d** en CH₃CN seco más K₂CO₃ anhidro y se dejaron a reflujo de 80 °C por 24 horas.

A la mezcla resultante se le agregó agua destilada (100 mL), para luego extraer con AcOEt (50mL x 4). Los extractos orgánicos fueron secados con Na₂SO₄ anhidro y se concentrados en un evaporador rotatorio.

El crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice utilizando dos fases móviles distintas con el fin de obtener una mejor separación del producto final respecto de sus contaminantes, en primer lugar, se usó una mezcla binaria de AcOEt/MeOH (6:1) y luego una ternaria de CH₂Cl₂/MeOH/TEA (18:3:1). Se obtuvieron 12 moléculas en estado semisólido las que debieron ser tratadas con mezclas de hexanos / ciclohexano / éter etílico y posteriores procesos de rotavaporación y así ayudar a eliminar el solvente remanente para luego dejar secando en línea de vacío por 24 horas. Después de este procedimiento se logran compuestos de color amarillo claro con rendimientos entre 47 a 85% (**Tabla 2.15**).



Compuesto	R ₁	Posición -F	Posición -NHR	% RENDIMIENTO
F2A	F	4	2	49
F2B	F	4	3	47
F2C	F	5	2	55
F2D	F	2	5	59

F2E	Br	4	2	66
F2F	Br	4	3	54
F2G	Br	5	2	70
F2H	Br	2	5	85
F2I	H	4	2	75
F2J	H	4	3	81
F2K	H	5	2	61
F2L	H	2	5	60

Tabla 2.15: Compuestos F2A-L con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.

Los compuestos fueron caracterizados por espectroscopía $^1\text{H-RMN}$ ($\text{DMSO-}d_6$). En este caso analizaremos al espectro del compuesto **F2A (Figura 2.41)** en donde debemos hacer énfasis en la gran cantidad de multipletes que integran para varios tipos de hidrógenos, lo que se debe al solapamiento de señales debido al fenómeno de desplazamiento químico ya que tenemos una gran cantidad de carbonos metilénicos unidos a átomos de nitrógeno, lo que provoca que sus señales sean coincidentes. Pero sin embargo hay señales puntuales de cada intermediario que se pueden apreciar con claridad: el quintuplete en δ : 1,78 que corresponde al CH_2 en posición 2 de la cadena propilo, un triplete en δ : 2,66 que corresponde al metileno unido al sistema indólico, un singulete que integra para 2 en δ : 3,13 perteneciente al CH_2 ubicado entre el nitrógeno y el carbonilo del acetilo. En el sector aromático aparecen 7 señales para cada uno de los hidrógenos de los anillos indol y benceno, la señal triplete en δ : 8,62 corresponde al NH de la benzamida que presenta un acoplamiento con el CH_2 de la cadena etilo. En el sector de campo bajo aparece el NH indólico en δ : 10,87 y el NH de la acetil-amida en δ : 12,05. En la técnica de $^{13}\text{C-RMN}$ aparecen dos señales de carbonilo de amida entre alrededor de los 163 a 170 ppm.

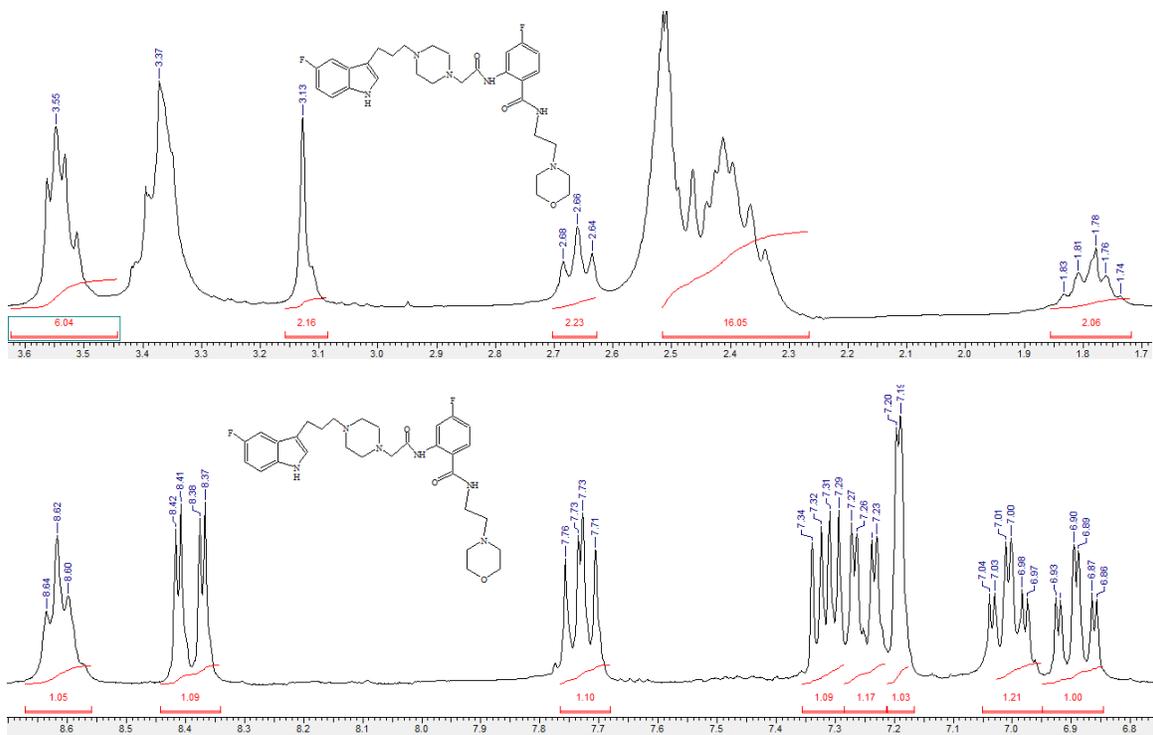
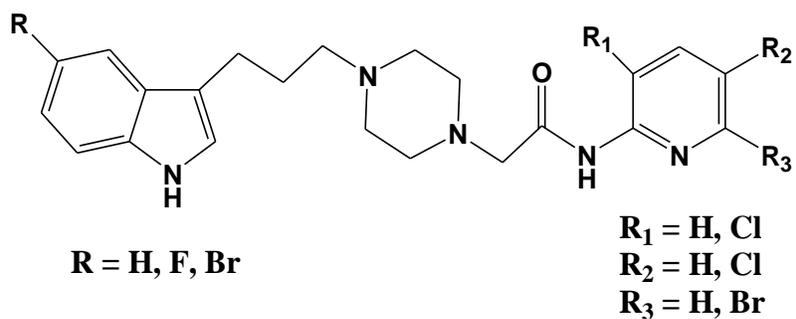


Figura 2.41: Espectro de protones del compuesto F2A.

2.1.3 Familia III

2-{4-[3-(1*H*-3indolil)-propil]-1-piperazinil}-*N*-2-piridinil acetamidas



Al hacer un análisis retrosintético sobre la molécula objetivo, logramos obtener una desconexión entre el nitrógeno de la piperazina y el carbono de la cadena propil (**Figura 2.42**).

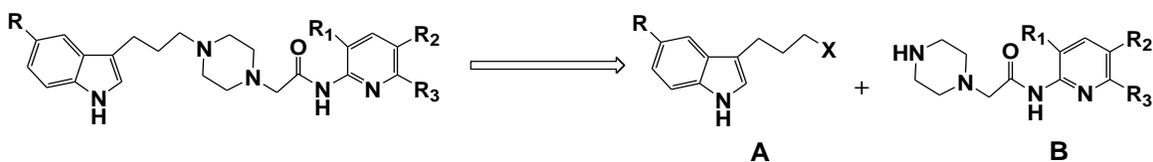


Figura 2.42: Diseño retrosintético para la obtención de la familia 3.

La desconexión elegida, muestra la síntesis de un derivado tosil-indólico (**A**) y su posterior conexión a un derivado piperazin-piridínico (**B**).

La síntesis de derivado (**A**), es exactamente la misma que se describió en la síntesis y desarrollo de la familia I, así que a continuación se mostrará un resumen de su obtención (**Figura 2.43**).

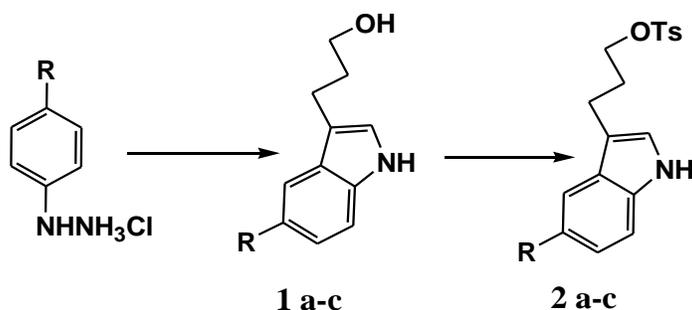


Figura 2.43: Síntesis de los compuestos 1-2. Solventes y reactantes: (a) DMA, dihidropirano, H₂SO₄ 4%; (b) CH₂Cl₂, TEA, TsCl, DMAP.

2.1.3.1 Ruta sintética para la obtención de 2-(1-piperazinil)-N-2-piridinil acetamidas

A continuación, se muestra un resumen de la estrategia sintética para la obtención de los intermediarios avanzados a partir de 2-amino piridinas comerciales (**Figura 2.44**).

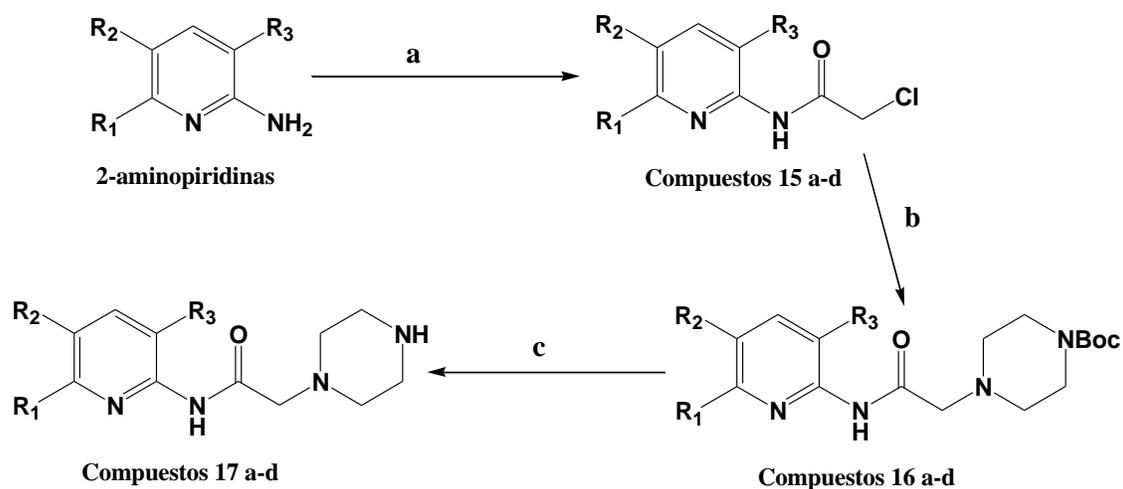


Figura 2.44: Síntesis de los compuestos 1-4. Solventes y reactantes: (a) THF, TEA, CH_2ClCOCl ; (b) CH_3CN , K_2CO_3 , N-Boc piperazina; (c) CH_2Cl_2 , TFA.

En este proceso sintético se utilizó la 2-amino-piridina más 3 derivados halogenados de esta (**Figura 2.45**).

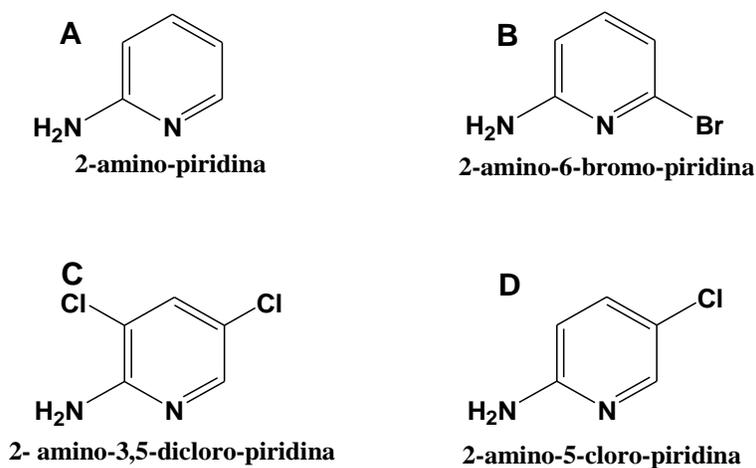


Figura 2.45: Sustratos comerciales precursores de los derivados 15a-d.

2.1.3.1.1 Síntesis de intermediarios 15a-d.

Durante este proceso, las 2-amino-piridinas (**A, B, C, D**), fueron tratadas con cloruro de cloroacetilo (**Figura 2.46**).

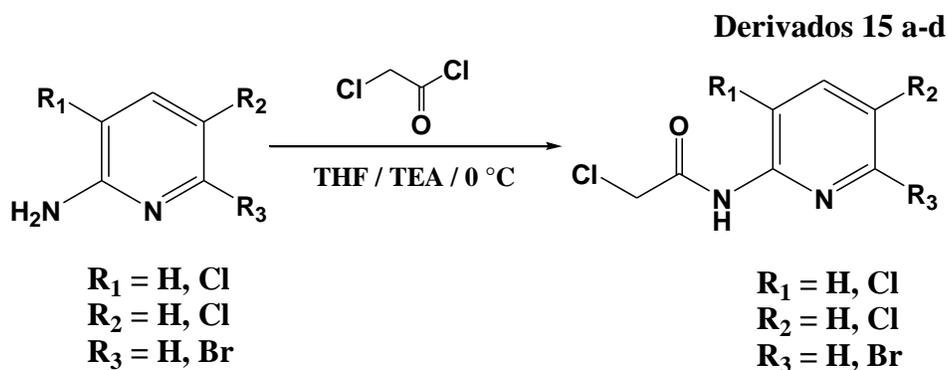
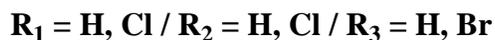
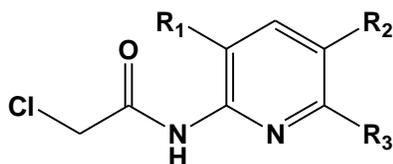


Figura 2.46: Reacción de acetilación para la obtención de derivados 15 a-d.

Síntesis de N-2-piridinil-2-cloro acetamidas 15a-d.



Compuestos 15a-d

Procedimiento general: Se describe a continuación la marcha experimental para la obtención de los 4 derivados 15(a-d).

Se agregaron las 2-amino-piridinas **a-d** en THF seco más trietilamina (TEA) y cloruro de cloroacetilo, el sistema fue soportado en baño de hielo más atmosfera de nitrógeno y se dejó reaccionar durante 2 horas.

A la solución resultante se le agregó agua destilada (100 mL) para luego extraer con AcOEt (100 ml X 3). La fase orgánica fue secada con Na₂SO₄ anhidro y concentrada en un evaporador rotatorio. El crudo de reacción fue purificado por

cromatografía en columna de gel de sílice, utilizando una mezcla de AcOEt/n-Hex (1:1) como fase móvil. Se obtuvieron productos cristalinos de color blanco con rendimientos entre 49 y 89% (**Tabla 2.16**).

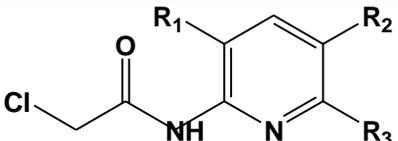
				
Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	% Rendimiento
15a	H	H	H	76
15b	H	H	Br	89
15c	Cl	Cl	H	49
15d	H	Cl	H	69

Tabla 2.16: Compuestos 15 a-d con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.

Los compuestos fueron caracterizados por espectroscopía ¹H-RMN (CDCl₃). Se puede apreciar la formación del compuesto **15a (Figura 2.47)** debido a la aparición de un singulete que integra para 2 protones en δ: 4,13. La zona aromática nos muestra 4 señales muy desapantalladas que corresponden a protones de un sistema piridínico. En δ: 8,87 se aprecia un singulete ancho que corresponde al NH de la amida. En la técnica de ¹³C-RMN aparece una señal de carbonilo de amida cercana a los δ: 164.

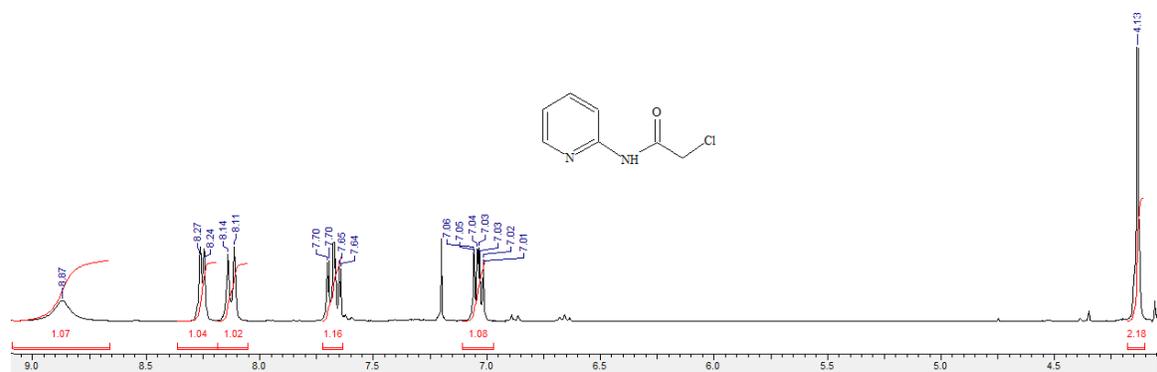


Figura 2.47: Espectro de protones del compuesto 15a.

2.1.3.1.2 Síntesis de intermediarios 16a-d.

Los intermediarios α -cloro carbonílicos **15a-d** fueron tratados con N-Boc-piperazina para la obtención de los derivados **16a-d** (Figura 2.48).

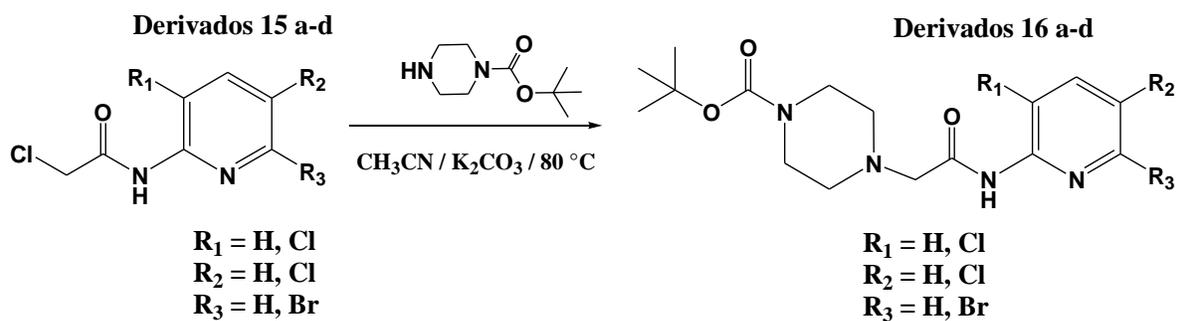
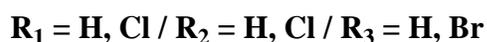
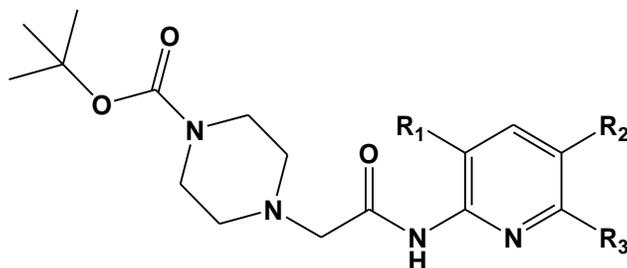


Figura 2.48: Reacción de sustitución nucleofílica bimolecular (SN2) con N-Boc-piperazina.

Síntesis de [4-[(2-piridinil-carbamoil)-metil]-1-piperazinil] carbamatos de *t*-butilo 16a-d.



Compuestos 16a-d

Procedimiento general: Se describe a continuación la marcha experimental para la obtención de los 4 derivados 16(a-d).

Se agregaron las *N*-(2-piridinil)-2-cloro acetamidas **15a-d** en CH₃CN seco más *N*-Boc-piperazina y K₂CO₃ anhidro. Se dejó reaccionar a reflujo a una temperatura de 80°C por 24 hrs.

A la solución de reacción se le adicionó agua destilada (100 mL) y se extrajo con AcOEt (100 mL X 3). La fase orgánica fue secada con Na₂SO₄ anhidro y concentrada en un evaporador rotatorio, el crudo fue purificado por cromatografía en columna de gel de sílice, utilizando AcOEt como fase móvil. Se obtuvieron productos sólidos de color blanco con rendimientos entre 75 y 86% (**Tabla 2.17**).

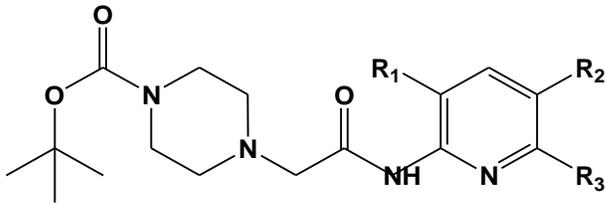
				
Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	% Rendimiento
16a	H	H	H	75
16b	H	H	Br	78
16c	Cl	Cl	H	78
16d	H	Cl	H	86

Tabla 2.17: Compuestos 16a-d con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.

Los compuestos fueron caracterizados por espectroscopía ¹H-RMN (CDCl₃). A continuación, tenemos el espectro del intermediario **16a (Figura 2.49)**. En este se puede apreciar la formación de dicho producto debido a la aparición de varias señales en campo alto. Un singulete que integra para 9 protones en δ: 1,47 correspondientes a la porción *t*-butilo, 2 tripletes en δ: 2,57 y δ: 3,53 que integran para 4 protones cada uno y que corresponden a los dos pares de metilenos que presentan equivalencia del anillo piperazínico más el singulete que integra para 2 protones con un desplazamiento en δ: 3,18 que corresponde al CH₂ del grupo acetilo. La zona aromática presenta las nuevamente 4 señales pertenecientes a los protones de la piridina y un singulete ancho la del NH de la amida en δ: 9,50. En la técnica de ¹³C-RMN aparece la señal de carbonilo de amida cercana entre los 162 y 168 ppm más la señal del carbonilo del carbamato entre δ: 149 a δ: 154.

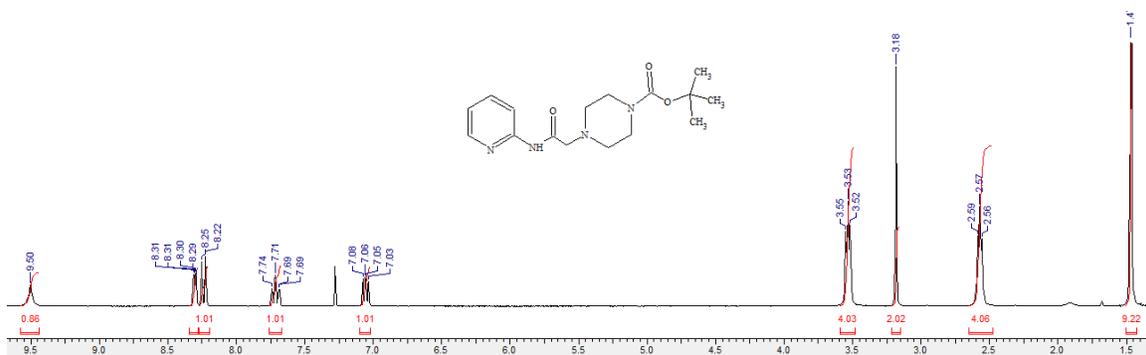


Figura 2.49: Espectro de protones del compuesto 16a.

2.1.3.1.3 Síntesis de intermediarios 17a-d.

Los derivados **16a-d** fueron sometidos a hidrólisis anhidra con ácido trifluoroacético para lograr la ruptura del grupo carbamato y así obtener los compuestos **17a-d** (Figura 2.50).

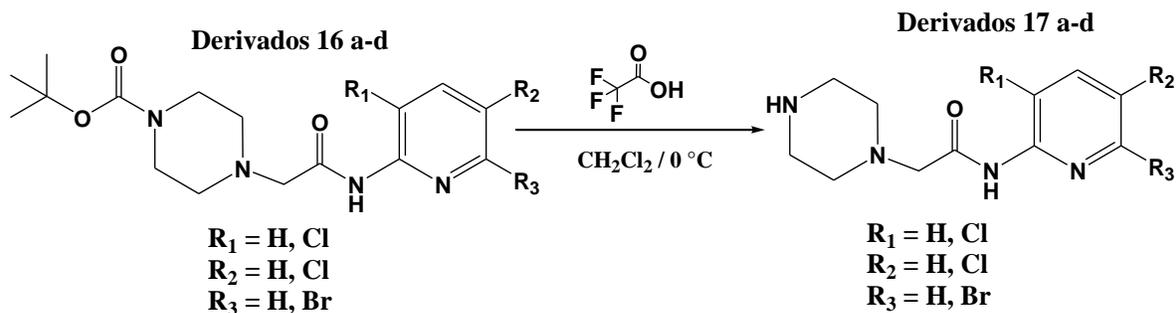
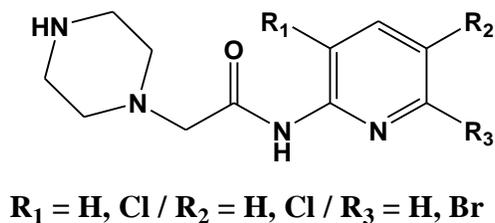


Figura 2.50: Reacción de hidrólisis anhidra para la obtención de intermediarios 17 a-d.

Síntesis de los derivados *N*-(2-piridinil)-2-(1-piperazinil) acetamidas 17a-d.



Compuestos 17a-d

Procedimiento general: Se describe a continuación la marcha experimental para la obtención de los 4 derivados 17(a-d).

Se agregaron los carbamatos **16a-d** en CH₂Cl₂ seco más ácido trifluoroacético. Es sistema fue soportado en baño de hielo y se dejó reaccionar por 4 horas.

Una vez transcurrido este tiempo, a la solución de reacción se le agregaron 100 mL de CH₂Cl₂ y 10 gr de NaHCO₃ (s) para neutralizar el TFA, posteriormente se adicionó una solución saturada de NaHCO₃ (200 mL).

La solución bifásica fue separada y la fase acuosa remanente se extrajo con AcOEt (8 x 50 mL). Finalmente, los residuos de CH₂Cl₂ y AcOEt se reúnen en un solo extracto final, el que fue secado con Na₂SO₄ anhidro y concentrado a sequedad en un evaporador rotatorio. Se obtuvieron productos semisólidos de colores amarillo y cafés pálidos muy higroscópicos que se trataron con mezclas de hexanos / ciclohexano / éter etílico y posteriores procesos de rotavaporación para eliminar el solvente remanente. Se dejaron secar por 1 día en línea de vacío, los rendimientos fluctuaron entre 84 y 92% (**Tabla 2.18**).

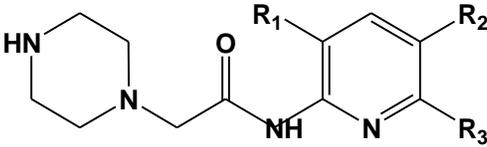
				
Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	% Rendimiento
17a	H	H	H	90
17b	H	H	Br	88
17c	Cl	Cl	H	92
17d	H	Cl	H	84

Tabla 2.18: Compuestos 17a-d con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.

Los compuestos fueron caracterizados por espectroscopía ^1H -RMN (Acetona- d_6). Al analizar el espectro del intermediario **17a** (Figura 2.51), se puede apreciar su formación debido a la desaparición del singulete que integraba para 9 protones en δ : 1,47 correspondientes a la porción *t*-butilo. En campo alto, las señales (2 tripletes y 1 singulete) se mantienen. La zona aromática muestra las 4 señales de los protones de la piridina. En la técnica de ^{13}C -RMN aparece la señal de carbonilo de amida cercana entre los δ : 166 y desaparece la señal del carbonilo del carbamato.

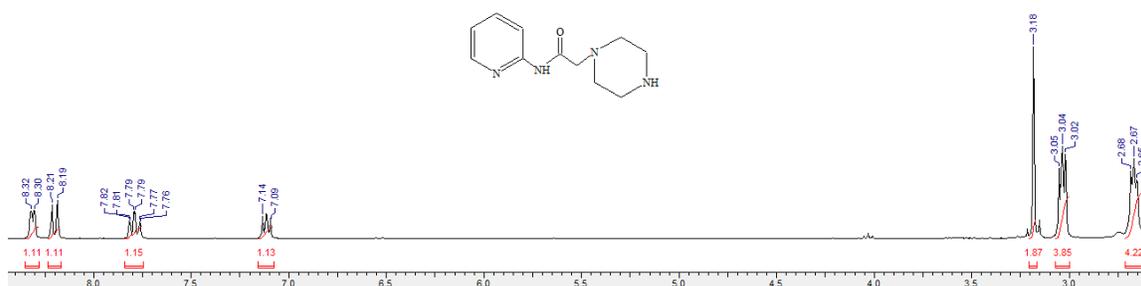


Figura 2.51: Espectro de protones del compuesto 17a.

2.1.3.2 Obtención de la Familia F3A-L.

Para la obtención de los ligandos finales, se procedió a conectar los intermediarios 17a-d a los derivados 2a-c (Figura 2.52).

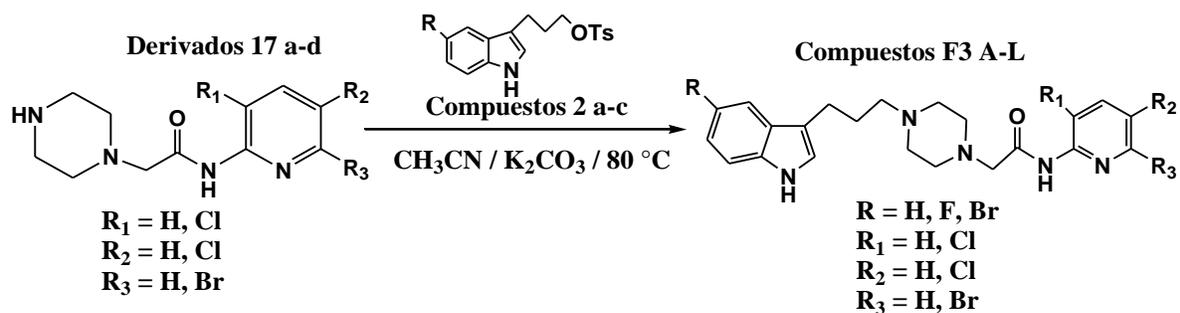
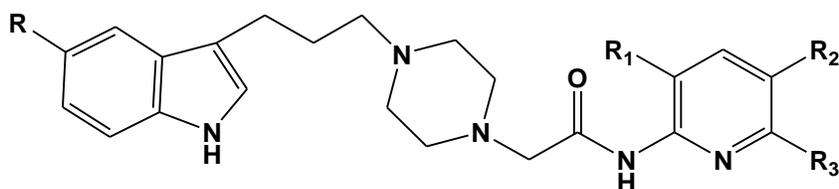


Figura 2.52: Operación sintética final para la obtención de la Familia 3.

2.1.3.2.1 Síntesis de *N*-(2-piridinil)-2-{4-[3-(1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil} acetamidas F3 A-L.



Compuestos Familia 3A-L

Procedimiento general: Se describe a continuación la marcha experimental para la obtención de los 12 derivados F3(A-L).

Se pesaron y agregaron las *N*-(2-piridinil)-2-(1-piperazinil) acetamidas **17a-d**, los 3-(1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonatos **2a-c** en CH₃CN seco más K₂CO₃ anhidro, el sistema se dejó a reflujo a una temperatura de 80 °C por 24 horas.

A la solución resultante se le adicionó agua destilada (100 mL) para luego extraer con AcOEt (50 mL x 4).

Los extractos orgánicos fueron secados con Na₂SO₄ anhidro y posteriormente se concentraron en un evaporador rotatorio. Este crudo fue purificado por cromatografía en columna de gel de sílice utilizando AcOEt/MeOH (6:1) como fase móvil. Se obtuvieron productos semisólidos de colores amarillo claro que se trataron con mezclas de hexanos / ciclohexano / éter etílico y posteriores procesos de rotavaporación para eliminar el solvente remanente. Se dejaron secar por 1 día en línea de vacío, los rendimientos fluctuaron entre 20 y 85% (**Tabla 2.19**).

Compuesto	R	R ₁	R ₂	R ₃	% RENDIMIENTO
F3A	H	H	H	H	32
F3B	H	H	H	Br	55
F3C	H	Cl	Cl	H	43
F3D	H	H	Cl	H	61
F3E	F	H	H	H	28
F3F	F	H	H	Br	85
F3G	F	Cl	Cl	H	46
F3H	F	H	Cl	H	30
F3I	Br	H	H	H	20
F3J	Br	H	H	Br	45
F3K	Br	Cl	Cl	H	62
F3L	Br	H	Cl	H	67

Tabla 2.19: Compuestos F3A-L con sus respectivos rendimientos expresados como porcentaje.

Los compuestos fueron caracterizados por espectroscopía ¹H-RMN (DMSO-*d*₆). En el caso del compuesto **F3A (Figura 2.53)**, en el sector de campo alto y debido al entorno químico hay varias se solapan en un multiplete ubicado entre δ : 2,25 y δ : 2,60 que integra para 10 protones los cuales corresponden a los aquellos vecinos a metilenos unidos a nitrógenos. Sin embargo, hay tres señales que dan cuenta de manera más clara: un multiplete en δ : 1,81 que corresponde al metileno en posición 2 de la cadena propil, un triplete en δ : 2,70 para el CH₂ unido al anillo indólico de esta misma cadena y un singulete en δ : 3,19 para el CH₂ ubicado entre el carbonilo y el nitrógeno piperazínico.

En el sector aromático se ven 7 señales que integran para los 9 protones de ambos sistemas aromáticos, apreciándose en δ : 8,12 y δ : 8,33 los hidrógenos de tipo piridínico. La señal del NH de amida aparece en δ : 9,90 y la del NH indólico en δ :

10,83. En la técnica de ^{13}C -RMN se mantiene la del carbonilo de amida entre alrededor de los δ : 169.

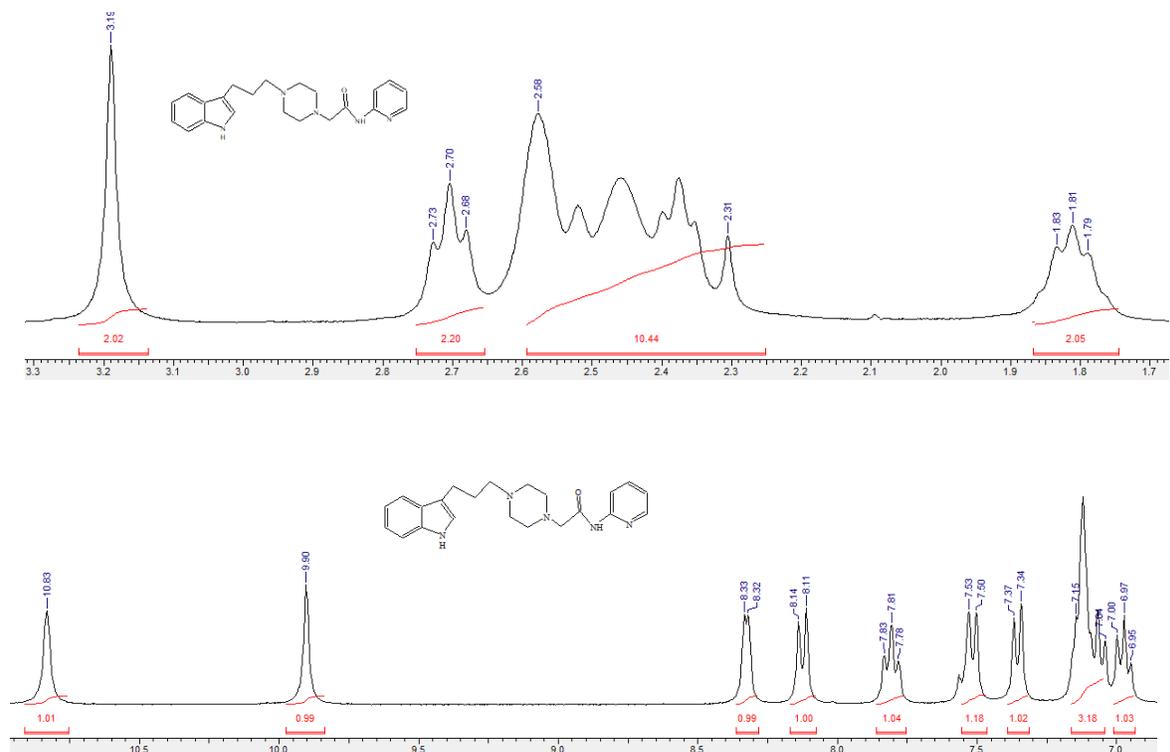


Figura 2.53: Espectro de protones del compuesto F3A.

2.2 Fundamentos de los Ensayos de unión por competencia con radioligandos. Medición de actividad enzimática y estudios acoplamiento molecular inducido.

A continuación, se exponen los resultados obtenidos de los ensayos de unión por competencia con radioligando, medición de actividad enzimática y su correlación teórica-molecular con los estudios de acoplamiento molecular inducido para aquellos ligandos finales pertenecientes a las familias 1, 2 y 3 que presentaron mejores y peores valores de afinidad farmacológica y/o porcentaje de actividad inhibitoria.

2.2.1 Ensayos de afinidad por desplazamiento de radioligandos.

Previa a la descripción metodológica y exposición de los resultados, nos resultará de mucha utilidad comprender los principios y lógica de un ensayo de afinidad.

En farmacología, los estudios de desplazamiento de radioligandos constituyen una herramienta vital para evaluar potenciales ligandos que puedan interaccionar con un receptor. El radioligando lo podemos definir como un compuesto que exhibe marcaje radioactivo y que se une con buena afinidad al receptor. Cuando se trabaja con radioligandos, hay dos tipos de experimentos que podemos llevar a cabo: saturación y desplazamiento.

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

Al realizar este experimento, se pueden conocer valores como el de K_D y B_{max} del receptor en una muestra o tejido específico. El valor de K_D se puede

interpretar como la constante de equilibrio de la disociación del complejo radioligando-receptor **[RLRecep]** y **B_{max}** es la densidad de sitios de unión en los receptores presentes en una preparación particular.

Los experimentos de desplazamiento se utilizan para determinar la afinidad de ligandos no marcados por un receptor definido. El valor de **K_i** sería la constante de equilibrio de la disociación del complejo droga-receptor **[DR]** obtenido para un inhibidor competitivo del receptor y que podría considerarse como una “medida de la fuerza de unión” del ligando a ese receptor. Las afinidades más altas (valores de **K_i** más bajos) denotan uniones más fuertes.

2.2.2 Conceptos básicos en estudios de afinidad.

Los estudios de afinidad por desplazamiento de radioligando, se basan en procesos de equilibrio químico, los cuales están determinados por la ley de acción de masas (**Figura 2.54**).

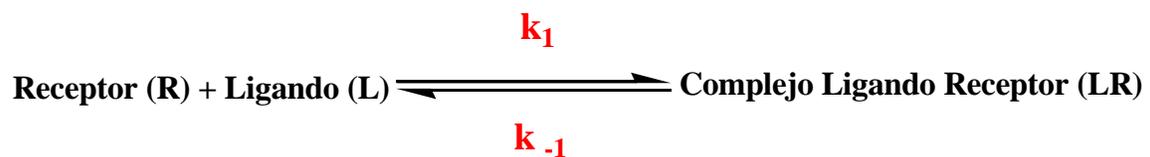


Figura 2.54: Ecuación química en el equilibrio.

La unión de un radioligando (**R_L**) a un receptor (**Recep**) para formar el complejo radioligando-receptor **[RLRecep]** no es un proceso estático, sino más bien que puede ser visto como un proceso cinético del radioligando entrando y saliendo del receptor. La conformación de equilibrio es un punto de energía libre mínima dentro del campo de fuerza del receptor, el cual se alcanza cuando la velocidad de asociación es igual a la velocidad de disociación.

En bioquímica este equilibrio se expresa en términos de la reacción de disociación (K_D). El valor de K_D se obtiene al reordenar la ecuación de la ley de acción de masas según: (Figura 2.55).

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

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

Figura 2.55: Ecuación de la ley de acción de masas, para la cual K_D es la constante de equilibrio del proceso de disociación.

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

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

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

Los estudios de afinidad se realizan en una serie de pasos que se mencionan a continuación (**Figura 2.56**).

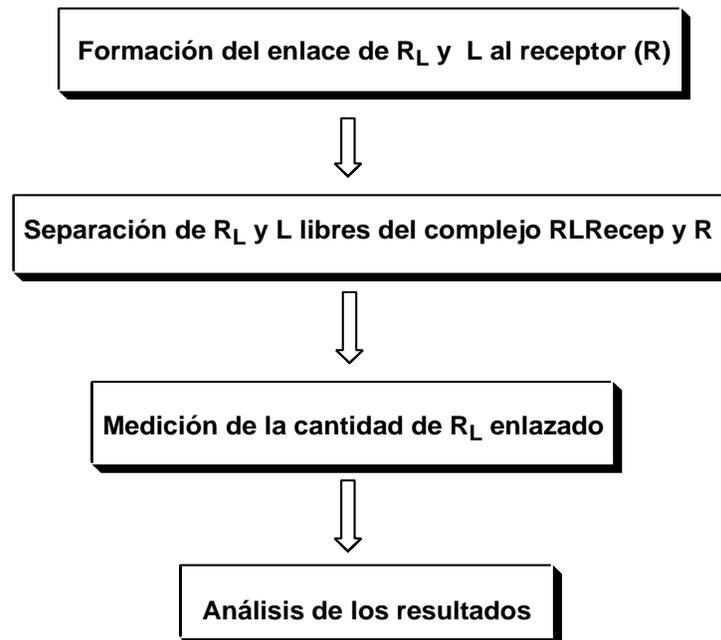


Figura 2.56: Proceso del estudio de afinidad por desplazamiento de radioligando.

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

- ✓ El isótopo de marcaje.
- ✓ La actividad específica y la estabilidad del **R_L**.
- ✓ La concentración de la proteína.
- ✓ La composición del buffer y su pH final.
- ✓ Duración y temperatura de la incubación.

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

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

2.2.3 Ensayos de desplazamiento de un radioligando. Fundamento.

En la presente tesis, se procedió a determinar la afinidad de un ligando no marcado por un receptor, razón por lo cual, fue necesario realizar un ensayo de desplazamiento de **R_L**. En estos experimentos de competición, la concentración del **R_L** es fija, mientras la concentración del ligando no marcado se varia para evaluar la competencia por el enlace con el receptor. El parámetro de enlace obtenido a partir de este experimento es la concentración del ligando no marcado que desplaza el 50 % del **R_L** enlazado, lo que se denomina como “valor de **IC₅₀**”. La **IC₅₀** es influenciada por la concentración y la afinidad del radioligando por el receptor. Si la concentración del **R_L** es muy alta, se necesitarán concentraciones más altas del ligando no marcado para competir con él. Al mismo tiempo, la concentración no puede ser muy baja ya que los datos obtenidos podrían no ser confiables. El valor de **IC₅₀** puede ser convertido a **K_i** usando la ecuación de Cheng y Prusoff (**Figura 2.57**).

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

Figura 2.57: Ecuación de Cheng y Prusoff donde **IC₅₀** es la concentración del ligando no marcado que inhibe el 50% de la unión del radioligando, **[R_L]** es la concentración del radioligando usado y **K_D** es la afinidad del radioligando por el receptor.

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

2.3 Estudios de acoplamiento molecular inducido (Docking) en TSER / D2 / MAO-A.

2.3.1 Métodos.

Para realizar estos estudios de acoplamiento molecular inducido, se seleccionaron aquellos compuestos que presentaron los mejores y peores valores de afinidades de cada familia. Para ello se utilizó la estructura cristalizada del transportador de serotonina humano (hSERT código PDB: 5I73)⁶⁴, el modelo optimizado del receptor de dopamina D2⁶⁵ y la estructura cristalizada de la enzima humana monoamino oxidasa A (hMAO-A código PDB: 2Z5X)⁶⁶.

Los ligandos co-cristalizados (S)-citalopram y harmina fueron utilizados para validar el protocolo en el caso del SERT y la MAO-A respectivamente, para el modelo del receptor D2 se consideró el antipsicótico haloperidol y su modo de unión descrito⁶⁸. Los resultados muestran las poses de acoplamiento más estables para los compuestos analizados.

2.3.1.1 Acoplamiento molecular inducido en SERT.

Los compuestos estudiados en el SERT fueron analizados utilizando como referencia el modo de unión del inhibidor (S)-citalopram, de acuerdo con lo descrito en la estructura cristalizada⁶⁴.

El modo de unión de (S)-citalopram puede describirse dividiendo el sitio de unión en los subsitios A, B y C⁶ (**Figura 2.58**). Las interacciones principales que se observan en la estructura cristalizada se resumen en la figura 4, éstas son⁶⁴:

- 1) El grupo amino se sitúa en el subsitio A e interacciona con Asp98
- 2) Tyr95 establece una interacción catión- π con el grupo amino
- 3) Ser336 participa en la coordinación de los iones Na⁺ y Cl⁻
- 4) En el subsitio B, Tyr176 establece interacciones hidrofóbicas con el grupo fluoro-fenil de (S)-citalopram.
- 5) Phe341 forma interacciones aromáticas con la cara del grupo cianoftalano
- 6) Ser439, Leu443, Ala169 y Ala173 definen una cavidad hidrofóbica que alberga al grupo fluoro-benceno.

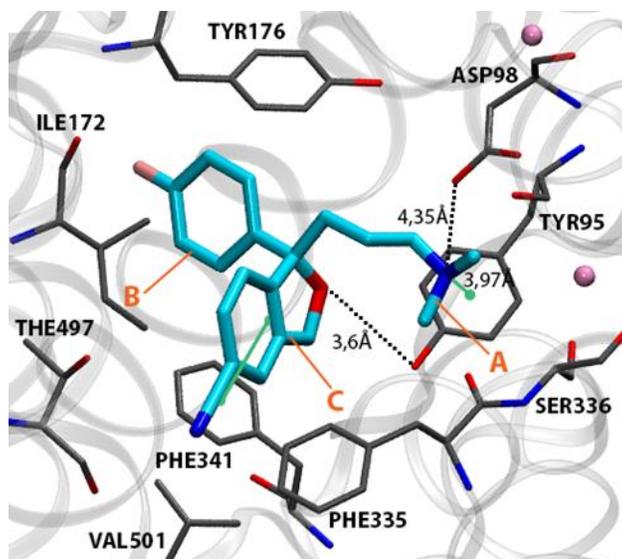


Figura 2.58: Modo de unión descrito para (s)-citalopram (cian) en el sitio de unión central del SERT. Se muestran los residuos cercanos (gris) y los átomos de Na⁺ (esferas rosadas). Las líneas negras punteadas representan puentes salinos y puentes de hidrógeno, las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.

2.3.1.2 Acoplamiento molecular inducido en D2s.

El sitio de unión predicho para dopamina y otros agonistas en el receptor D2 se ubica entre las hélices transmembrana (TM) 3–6 e involucra principalmente un contacto estrecho con Asp114 (TM3) y con los residuos Ser193, Ser194 y Ser197 (TM5). Por otro lado, la unión de antagonistas como haloperidol (**Figura 2.59: Modo de unión e interacciones esenciales predichas para haloperidol (cian) en el sitio de unión del receptor D2. Se muestran los residuos cercanos (gris). Las líneas negras punteadas representan puentes salinos o interacciones débiles.**) involucra las TM 2, 4, 6, 7 y mínimo contacto con la TM5^{73,74,75}; es decir, establecen interacciones con Asp114(TM3) y forman interacciones débiles con residuos de serina (TM5).

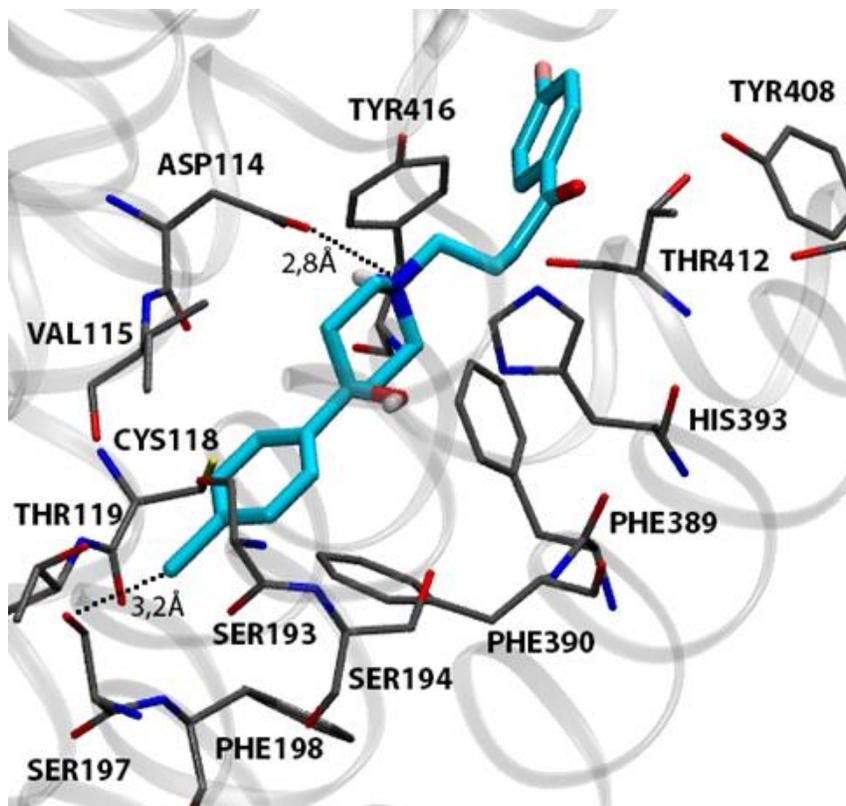


Figura 2.59: Modo de unión e interacciones esenciales predichas para haloperidol (cian) en el sitio de unión del receptor D2. Se muestran los residuos cercanos (gris). Las líneas negras punteadas representan puentes salinos o interacciones débiles.

2.3.1.3 Acoplamiento molecular inducido en MAO-A

La estructura cristalizada de la MAO-A humana es casi idéntica a la MAO-A de rata previamente cristalizada, con la que comparte un 90% de identidad de secuencia y en ambas se conservan los 16 residuos que rodean el sitio de unión^{66,76}. Por esta razón, los acoplamientos moleculares se realizaron solo en el cristal de la enzima humana de mayor resolución (2,2Å). La posición de los anillos aromáticos de harmina (**Figura 2.60**) y otros inhibidores reversibles es altamente conservada; los anillos aromáticos coplanares establecen interacciones de tipo NH- π con Gln215 y a su vez, interacciones aromáticas con Phe352 y Tyr407⁶⁶.

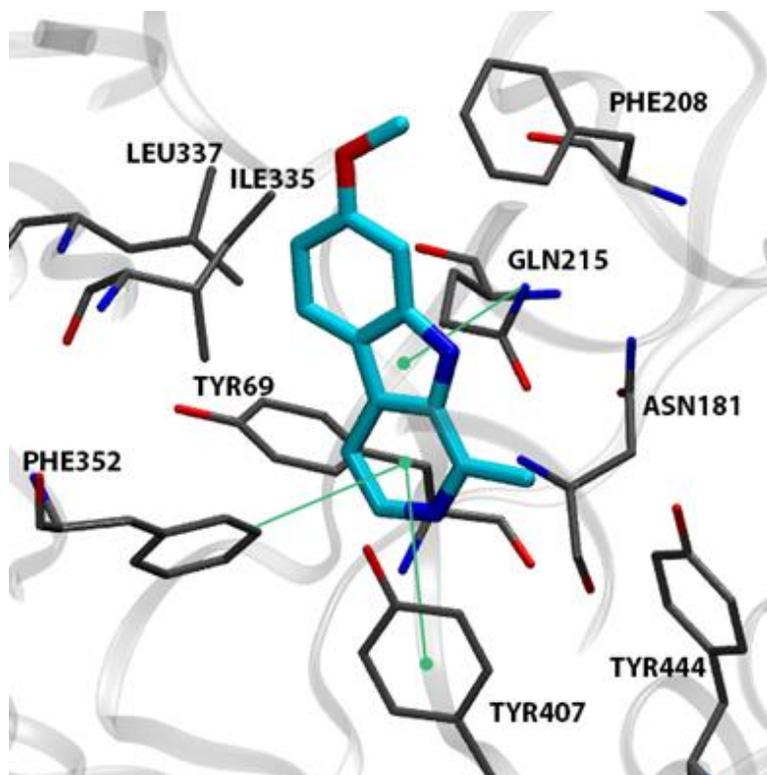


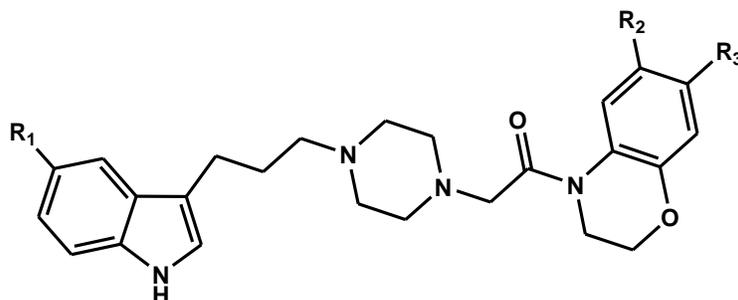
Figura 2.60: Modo de unión descrito para harmina (cian) en el sitio de unión de la MAO-A. Se muestran los residuos cercanos (gris). Las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes

2.4 Resultados y discusiones.

A continuación, se exponen los resultados de los ensayos de desplazamiento por competencia de radioligando y de inhibición enzimática para las familias 1,2,3 en conjunto con los estudios de acoplamiento molecular inducido con el fin de discutir en detalle las interacciones moleculares que fundamentan en principio las mejores y peores afinidades en TSER - D2s o las mejores y peores actividades inhibitorias sobre MAO-A.

2.4.1 Familia 1.

Esta familia consta de 15 compuestos cuya evaluación en **TSER** y **D2s** fue realizada con las estructuras en su estado de base libre. Para el caso del ensayo de inhibición sobre **MAO-A**, se procedió a derivatizarlos como sus clorhidratos. Los valores de K_i están expresados en valores de nanomolar (nM) para los estudios en **TSER** y **D2s** y como porcentaje de inhibición en MAO-A (**Tabla 2.20**).



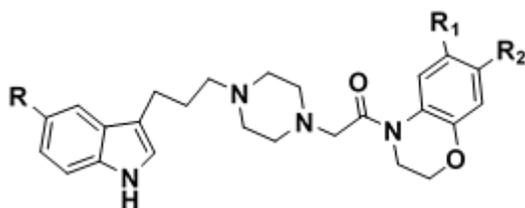
Compuesto	R1	R2	R3	TSER Ki(nM)	D _{2s} Ki(nM)	MAO-A % Inhibición por 100μM
Fluoxetina	-	-	-	3,15±0,32	N.D.	N.D.
Haloperidol	-	-	-	N.D.	3,88±0,44	N.D.
F1A	-H	-H	-H	307,10±30,46	4840±68	27%
F1B	-H	-H	-F	180,80±19,97	4740±131	43%
F1C	-H	-F	-H	68,78±1,02	2387±163	40%
F1D	-H	-Cl	-H	81,39±4,97	1265±182	18%
F1E	-H	-Br	-H	36,57±0,55	910±263	38%
F1F	-H	-OCH ₃	-H	412,20±57,86	4407±647	58%
F1G	-F	-H	-H	9,63±0,31	2315±64	41%
F1H	-F	-H	-F	7,61±0,02	2317±163	0%
F1I	-F	-F	-H	7,51±0,12	1681±79	0%
F1J	-F	-Cl	-H	12,30±2,31	902±4	20%
F1K	-F	-Br	-H	5,63±0,82	1041±232	20%
F1L	-F	-OCH ₃	-H	12,60±1,52	3322±256	52%

F1M	-Br	-H	-H	50,18±2,47	593±62	30%
F1N	-Br	-H	-F	84,44±2,03	307±6	23%
F1O	-Br	-F	-H	34,89±0,32	1152±227	26%

Tabla 2.20: Datos se presentan como el valor promedio \pm EEM de tres experimentos independientes, cada uno por triplicado. Todos los valores de K_i son expresados en rango nM, N.D. no determinado.

Análisis Farmacológico-Estudios de Docking de la Familia 1 en SERT:

Para esta familia de 15 compuestos, se estudiaron por acoplamiento molecular inducido un total de 8 derivados que se muestran a continuación (**Tabla 2.21**).



Compuesto	R	R ₁	R ₂	K _i (nM)
F1A	-H	-H	-H	307,1±30,46
F1B	-H	-H	-F	180,8±19,97
F1F	-H	-OCH ₃	-H	412,2±57,86
F1G	-F	-H	-H	9,63±0,31
F1H	-F	-H	-F	7,61±0,02
F1I	-F	-F	-H	7,51±0,12
F1K	-F	-Br	-H	5,63±0,82
F1L	-F	-OCH ₃	-H	12,60±1,52

Tabla 2.21: Compuestos seleccionados de la familia 1 analizados en los estudios de acoplamiento molecular inducido en TSER.

La familia 1 presentó 6 compuestos que exhibieron afinidades en el rango de 5,63-12,6 nM los cuales presentaron en común la unidad estructural de 5-fluoroindolilpropilpiperazina. La importancia del patrón indólico C-5 fluorado, se pone de manifiesto al comparar F1G a F1L con los 6 derivados indólicos no fluorados F1A al F1E que exhibieron las peores afinidades teniendo ambos el mismo

patrón de sustitución benzoxazínico. Es interesante destacar que el compuesto indólico C-5 no fluorado F1F (R1 = H, R2 = OCH₃, R3 = H) presentó una K_i de 412,20 nM, que disminuyó a valores de K_i = 12.6 nM cuando se incorporó un flúor en C-5 en el anillo de indol, (R1 = F, R2 = OCH₃, R3 = H) (compuesto F1L).

La importancia del flúor en el anillo indólico, átomo estéricamente equivalente al hidrógeno, puede explicarse en términos de su elevada electronegatividad, debido a su efecto inductivo negativo (-I), que genera una deficiencia electrónica en el anillo indólico, y un incremento de la acidez en los hidrógenos vecinos que se estabilizaría con residuos aromáticos π-donores. Se destaca el hecho de que el flúor en virtud de su tamaño atómico y de su elevada electronegatividad es incapaz de sostener un enlace de halógeno, con un residuo aminoacídico vecino. No obstante, se podría postular una probable interacción puente de hidrógeno del átomo de flúor de C-5 indólico con Ser439.

Los estudios de docking fundamentan las afinidades observadas con las interacciones estabilizantes que se describen: una interacción π-π de la porción indólica, con el residuo aromático π-donor de Tyr176, en conjunción con una interacción de tipo iónica o coulombica entre el amino protonado del anillo piperazínico y un residuo de Asp98. Estas interacciones se ven fortalecidas además con una atracción catión-π entre este mismo grupo protonado y el residuo Tyr95 **(Figura 2.61)**.

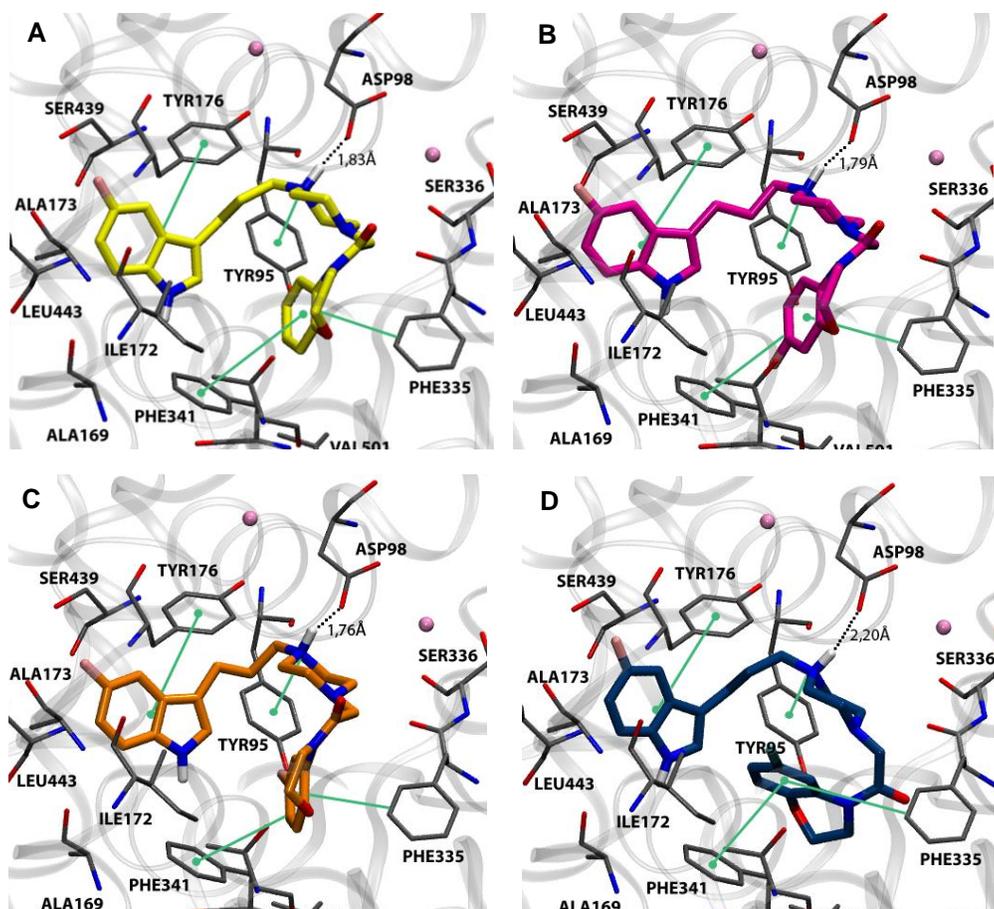


Figura 2.61: Modos de unión e interacciones en el SERT. A. F1G (amarillo), B. F1H (magenta), C. F1I (naranja), D. F1K (azul). Se muestran los residuos cercanos (gris) y los átomos de Na⁺ (esferas rosadas). Las líneas negras punteadas representan puentes salinos o puentes de hidrógeno y las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.

El compuesto C-5 no fluorado y metoxilado F1F, con su valor de $K_i = 412$ nM no logra interactuar eficientemente con los residuos aminoacídicos anteriormente mencionados, presentando una interacción coulombica a una distancia al doble de la observada además se distancia la interacción catión- π posicionándose en virtud de su voluminoso grupo metoxi en un encaje distinto a la C-5 fluorada, como se observa en la figura de docking anexa (**Figura 2.62**).

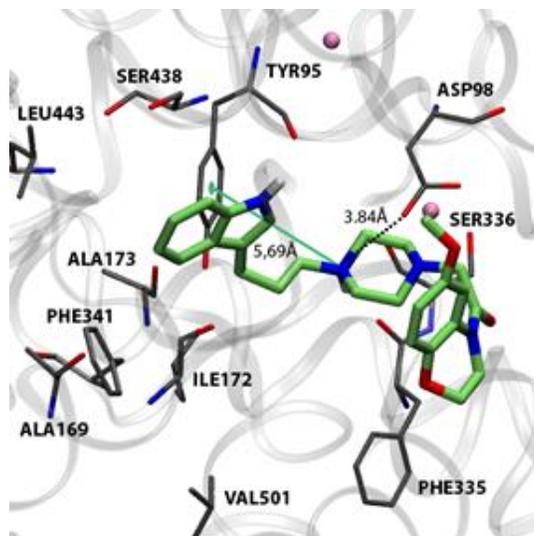


Figura 2.62: Modos de unión e interacciones en el SERT. Compuesto F1F (verde claro). Se muestran los residuos cercanos (gris) y los átomos de Na⁺ (esferas rosadas). Las líneas negras punteadas representan puentes salinos o puentes de hidrógeno y las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.

No obstante, la incorporación de un flúor en C-5 (compuesto F1L) manteniendo la benzoxazina metoxilada, recupera al menos la pose de inserción para la porción piperazinilindólica en el subsitio B asegurándose una buena afinidad. (Figura 2.63).

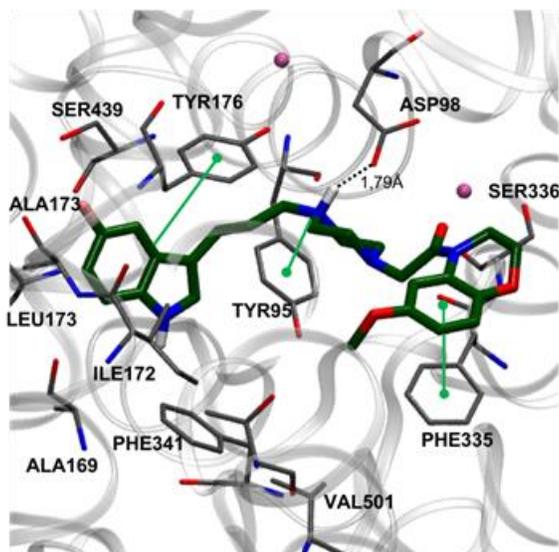


Figura 2.63: Modos de unión e interacciones en el SERT. F1L (verde oscuro). Se muestran los residuos cercanos (gris) y los átomos de Na⁺ (esferas rosadas). Las líneas negras punteadas representan puentes salinos o puentes de hidrógeno y las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.

Por otra parte, al comparar la afinidad de los indoles C-5 bromados (F1M, F1N, F1O) con los derivados fluorados (F1G, F1-H, F1-I), se observa una clara disminución en la afinidad por SERT que varía con un factor entre 5 a 11 veces según la K_i (**Figura 2.64**).

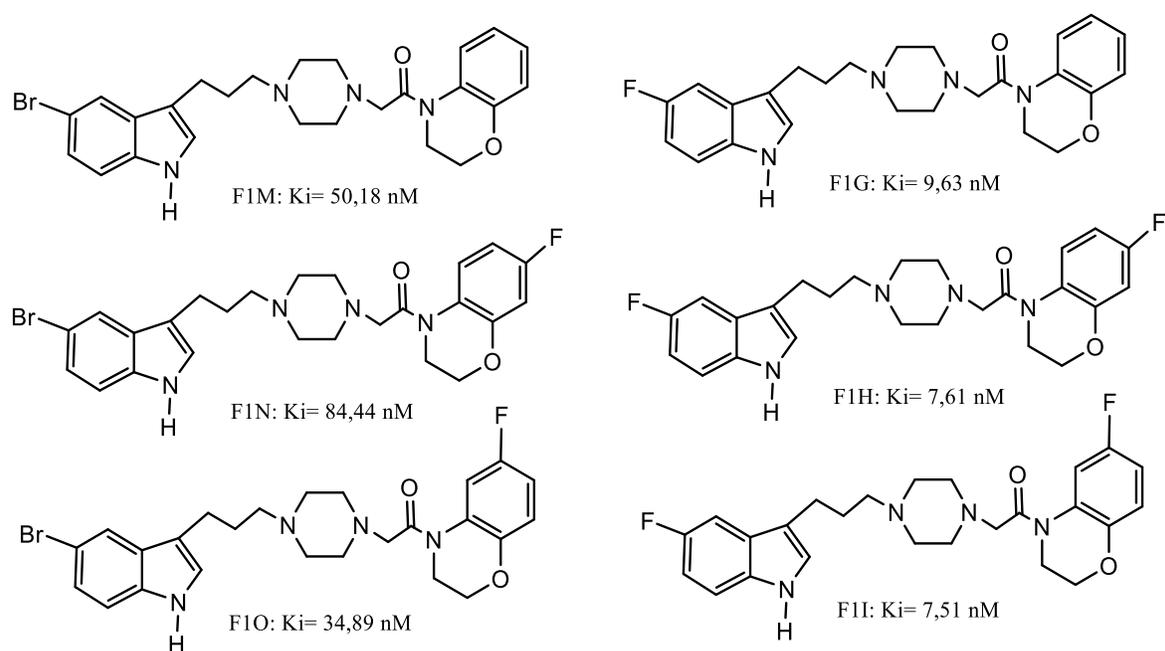


Figura 2.64: Comparación de valores de K_i entre derivados indol-bromados versus indol-fluorados.

Estos valores podrían explicarse en función de la menor electronegatividad del átomo de bromo, que generaría un anillo con una densidad electrónica superior al derivado C-5 fluorado, condición que disminuye la fuerza de la interacción con Tyr176. Respecto de la incidencia del volumen atómico del bromo, el sustituyente en C-5 propiamente tal, no establece ninguna interacción con el receptor por lo que una desestabilización de sus interacciones es poco probable.

En esta misma serie de compuestos, la ausencia de sustituyentes en C-5, derivados (F1A, F1B, F1C, F1D, F1E y F1F) genera una gran disminución de la afinidad principalmente debido a la pérdida de las interacciones fundamentales que

toman lugar en los derivados fluorados, producto de un inserción diferente de esos esqueletos moleculares en la cavidad B y C (**Figura 2.65**).

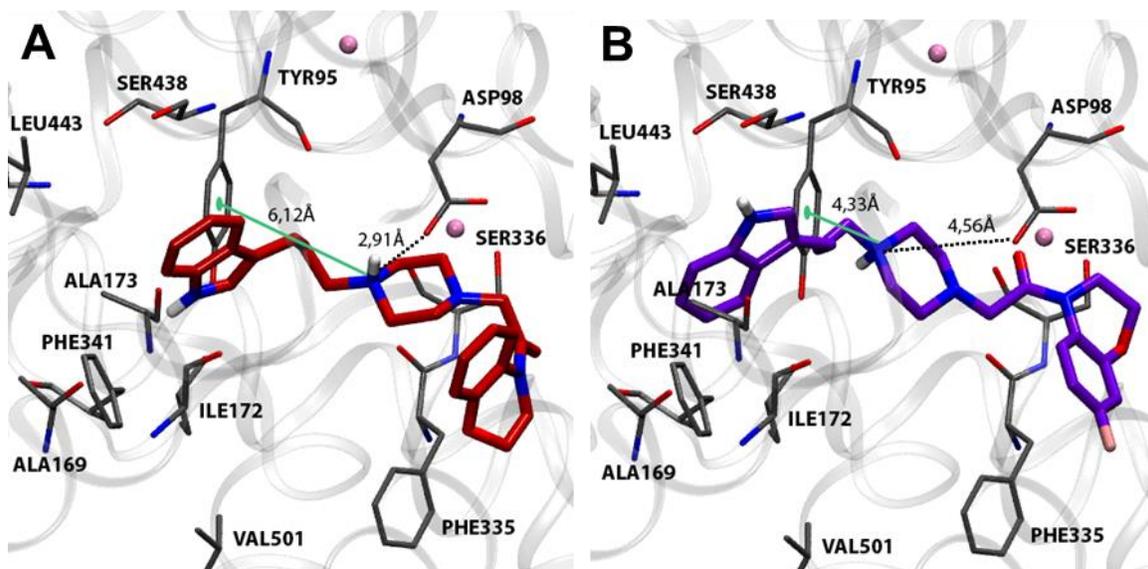
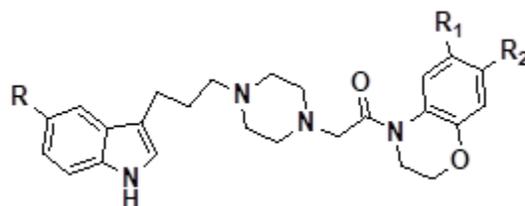


Figura 2.65: Modos de unión e interacciones en el SERT. A. F1A (rojo), B. F1B (violeta). Se muestran los residuos cercanos (gris) y los átomos de Na⁺ (esferas rosadas). Las líneas negras punteadas representan puentes salinos o puentes de hidrógeno y las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.

Análisis Farmacológico-Estudios de Docking de la Familia 1 en D2s:

En esta familia de 15 compuestos, se analizaron por acoplamiento molecular inducido solo 4 estructuras (mejores afinidades y peores actividades) (**Tabla 2.22**).



Compuesto	R	R ₁	R ₂	Ki (nM) (peores y mejores)
F1A	H	H	H	4840±68
F1B	H	H	F	4740±131
F1M	Br	H	H	593±62
F1N	Br	H	F	307±6

Tabla 2.22: Compuestos seleccionados de la familia 1 analizados en estudios de acoplamiento molecular inducido en D2.

Efecto del átomo de flúor a la posición C-7 benzoxazínica.

Los valores de afinidad obtenidos sobre esta diana en general exhibieron magnitudes de Ki mayoritariamente superiores al rango nanomolar. En esta familia se observa que las afinidades tanto de los derivados sin sustitución (F1A) o el C-7 fluorado (F1B) exhibieron las afinidades más bajas Ki = 4840 nM y Ki = 4740 nM respectivamente (**Figura 2.66**), no exhibiendo aparentemente el átomo de flúor en esa posición un rol que incremente la afinidad en esa posición.

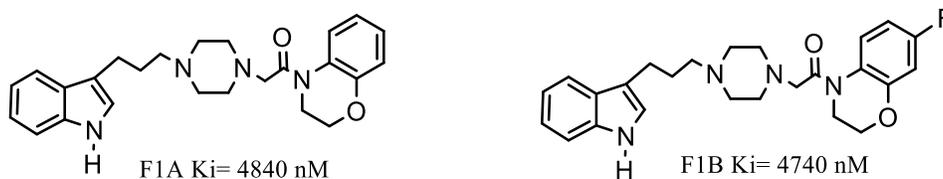


Figura 2.66: Valores de Ki para los derivados de más bajas afinidades.

Esta condición se corrobora al comparar las afinidades obtenidas de los compuestos F1G y F1H donde la porción 5-fluoroindólica se constituye en el principal modulador del incremento de la afinidad de esos compuestos (**Figura 2.67**). La presencia de un átomo fuertemente electrón-atractor en la porción indólica condicionaría una buena interacción con residuos aminoacídicos donores, y/o dejando una posición de anclaje más favorable con los residuos aminoacídicos.

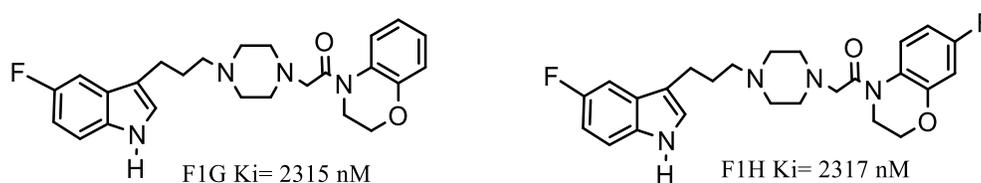


Figura 2.67: Valores de K_i para los derivados 5-fluoro-indólicos F1G y F1H.

Efecto del cambio del átomo de flúor a la posición C-6 benzoxazínica.

El compuesto F1C presenta una sustitución fluorada en C-6 (compuesto F1C) observándose un incremento de la afinidad respecto de su isómero F1B, esta afinidad se incrementa a valores de afinidad $K_i = 1681$ nM al evaluar el compuesto F1I que exhibe además un patrón de fluoración en C-5. Es interesante destacar el valor obtenido para el compuesto F1O, que manteniendo el patrón de fluoración en C-6 en la benzoxazina, incorpora un bromo en C-5 en el anillo de indol lo que conduce un valor de afinidad de $K_i = 1152$ nM (**Figura 2.68**).

La presencia del halógeno en los ligandos juega un rol importante para la bioactividad en este receptor, donde el átomo de bromo proporciona la mejor K_i

probablemente por una formación de puente de halógeno, y/o una mejor posición de interacción del ligando en el sitio receptorial.

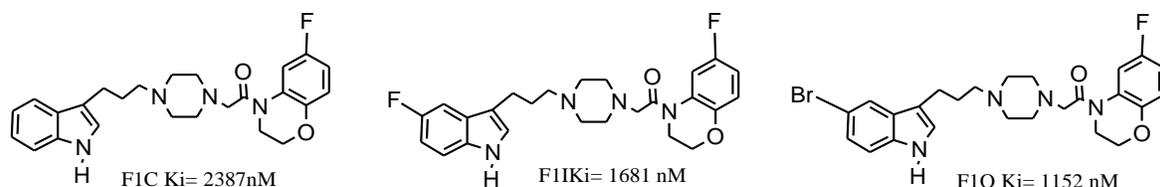


Figura 2.68: Valores de Ki para los derivados 6-fluoro-benzoxazínicos F1C, F1I y F1O.

Resulta interesante destacar el rol dual de la porción indólica C-5 halogenada en exhibir afinidad con este receptor, y a la proteína SERT.

En las estructuras F1C, F1D y F1E se presenta un notorio incremento de la afinidad cuando el sustituyente halogenado se ubica en la posición C-6 del anillo benzoxazínico, esta característica puede vincularse al tamaño del halógeno y cambio de su electronegatividad, lo que estaría favoreciendo una probable interacción “puente de halógeno” (excepto flúor) (**Figura 2.69**).

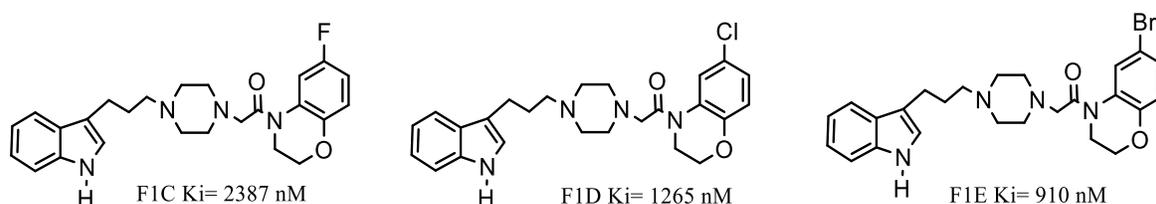


Figura 2.69: Valores de Ki para el subgrupo sin sustituciones en C-5 del indol, pero con halógenos en C-6 de la benzoxazina.

En general, las estructuras que presentaron los valores de afinidad más altos (mayor Ki, peor afinidad) son aquellas que portan un flúor o un grupo OCH₃, en C-6 de la porción benzoxazínica o benzoxazina sin sustitución. Por otra parte, aquellos compuestos que exhibieron las mejores afinidades (menor Ki) presentaron en su

estructura un átomo de halógeno de tamaño de tamaño grande como bromo, ya sea en C-5 del indol o en C-6 de la porción benzoxazínica, siendo las C-5 indolbromadas las que sobresalen en los valores de afinidad.

Los resultados del acoplamiento molecular en el receptor D2 para los ligandos escogidos, mostraron que ninguno de los compuestos analizados logra acomodarse en el sitio de unión para antagonistas de igual manera que el fármaco haloperidol (**Figura 2.70**), sugiriendo que la rigidez que le confiere el grupo carbonilo le impediría lograr una conformación similar a la adoptada por el haloperidol.

Haloperidol, logra posicionarse óptimamente, en virtud de conectarse con un puente salino con Asp114 y un puente de hidrógeno con las serinas de la TM5⁷³, condición que no se logra con nuestros compuestos analizados.

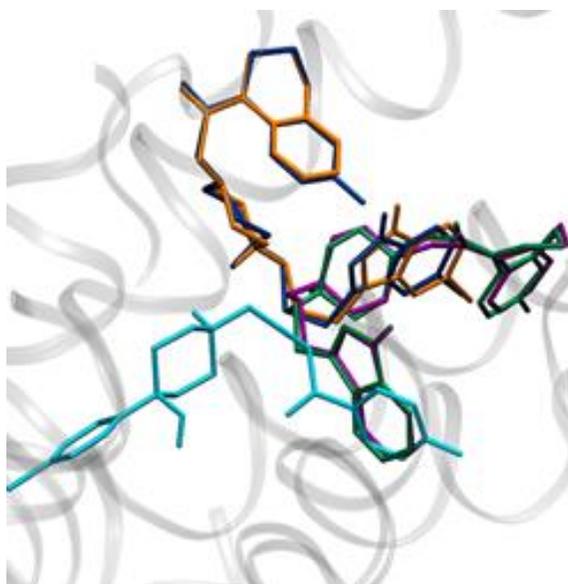
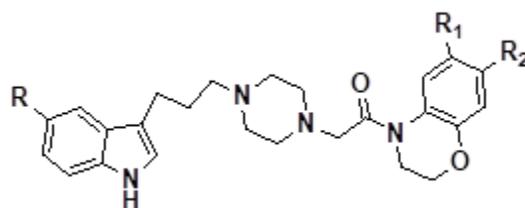


Figura 2.70: Modos de unión superpuestos de haloperidol (cian) con los compuestos analizados de la serie 1; F1A(violeta), F1B (verde), F1M (naranja) y F1N (azul)

Análisis Farmacológico-Estudios de Docking de la Familia 1 en MAO-A:

En esta familia de 15 compuestos, se estudiaron por docking solo 4 estructuras, aquellas que exhibieron mejor y peor actividad. Las dos mejores generaron valores de actividad inhibitoria sobre el 50% que corresponden a aquellos que presentan un grupo metoxilo en C-6 del anillo benzoxazínico. **(Tabla 2.23).**



Compuesto	R	R ₁	R ₂	% inhibición
F1F	H	OCH ₃	H	58
F1H	F	H	F	0
F1I	F	F	H	0
F1L	F	OCH ₃	H	52

Tabla 2.23: Compuestos seleccionados de la familia 1 analizados en los estudios de acoplamiento molecular inducido en MAO-A.

Al análisis del docking se aprecia que el posicionamiento de las estructuras F1F y F1L (activas) y las inactivas F1H y F1I se ubican con la misma distribución espacial **(Figura 2.71)**, exhibiendo las misma interacciones de la harmina: los anillos aromáticos coplanares de ésta, establecen interacciones de tipo catión- π con Gln215 y a su vez, interacciones aromáticas con Phe352 y Tyr407⁶⁶.

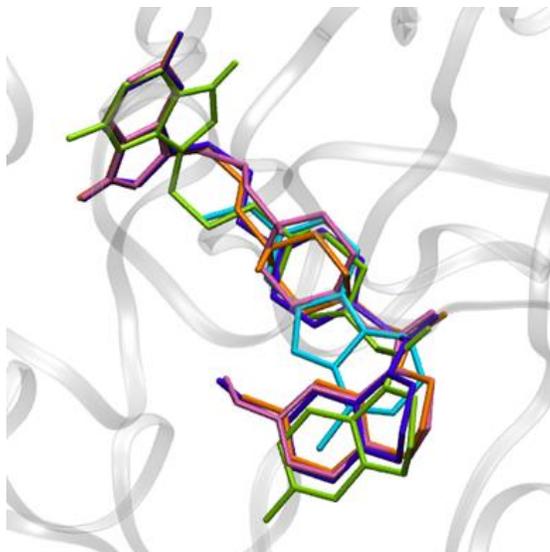


Figura 2.71: Modos de unión superpuestos de harmina (cian) con los compuestos F1F(rosado), F1H (verde), F1I (naranja) y F1L (violeta).

La diferencia en actividad debería ser respondida por la calidad electrónica que condicionan dichos ensamblajes moleculares. Claramente un átomo de flúor en el anillo benzoxazínico ejerce una desprotección electrónica de este anillo aromático, empobreciendo la interacción catión- π con glicina Gln215 desestabilizando el complejo ligando-enzima. Lo contrario se presenta con la incorporación de un grupo metoxilo (donor). Las interacciones aromáticas con Phe352 y Tyr407 tendrían más bien un rol estabilizante secundario (**Figura 2.72**).

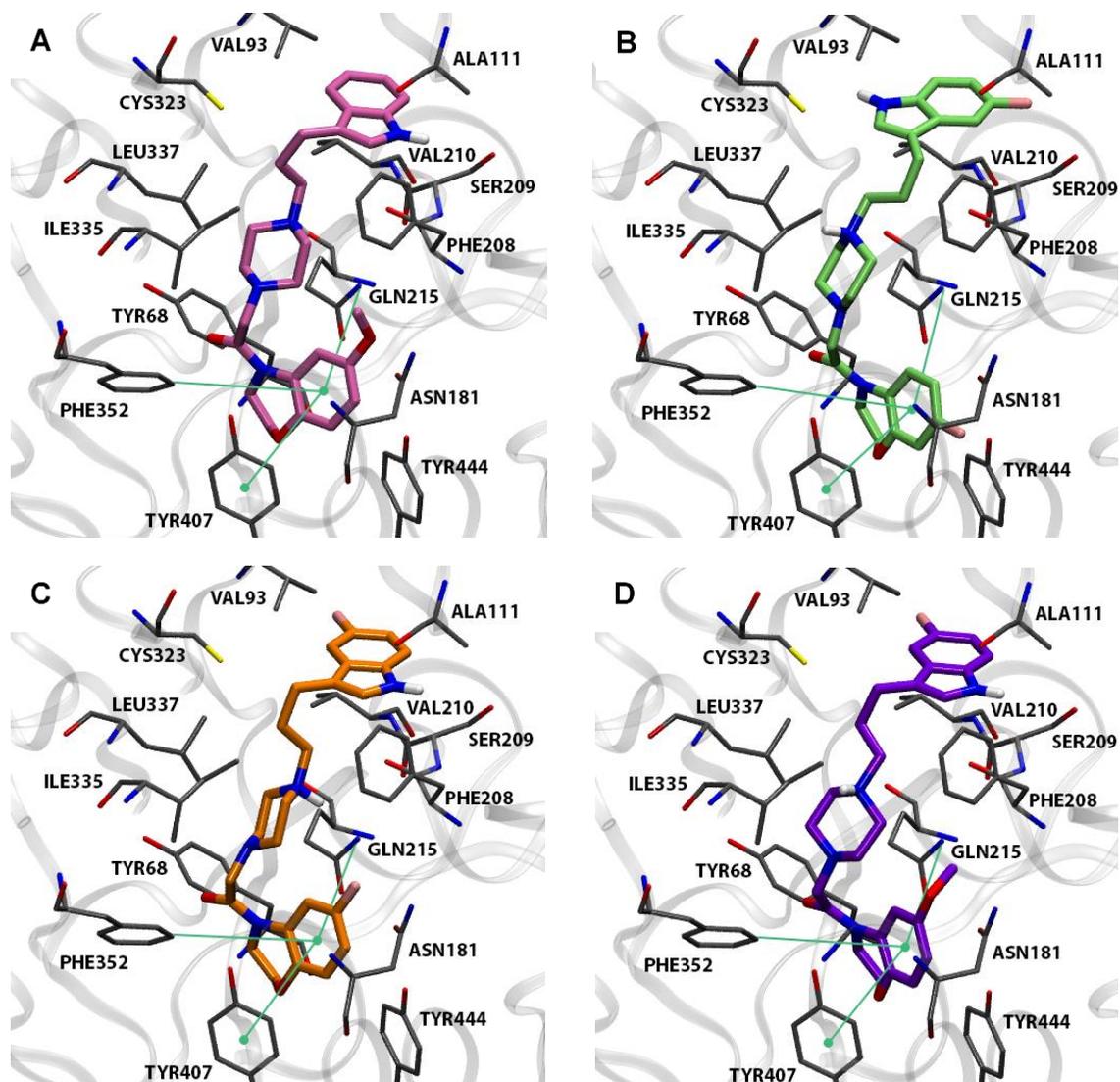
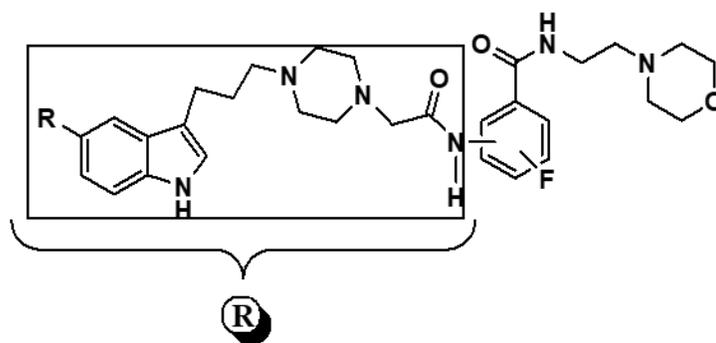


Figura 2.72: Modos de unión e interacciones en la MAO-A. A. F1F (rosado), B. F1H (verde), C. F1I (naranja) y D. F1L (violeta). Se muestran los residuos cercanos (gris). Las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.

2.4.2 Familia 2.

Esta familia consta de 12 compuestos cuya evaluación en **TSER** y **D2_s** fue realizada con las estructuras en su estado de base libre. Para el caso del ensayo de inhibición sobre **MAO-A**, se procedió a derivatizarlos como sus clorhidratos. Los valores de K_i están expresados en valores de nanomolar (nM) para los estudios en **TSER** y **D2_s** y como porcentaje de inhibición en MAO-A (**Tabla 2.24**).

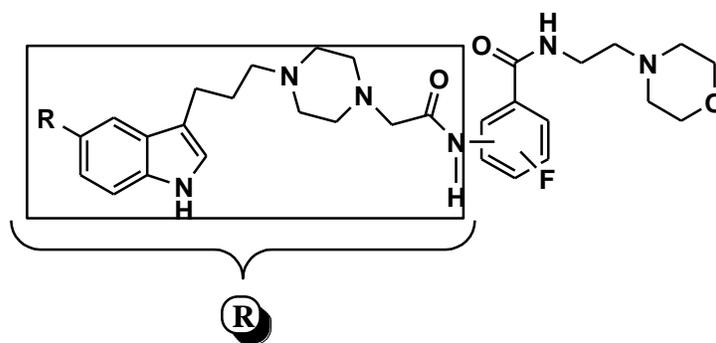


Compuesto	R	Ubicación Porción (Indol-Pip)	Ubicación átomo de F	TSER Ki(nM)	D _{2s} Ki(nM)	MAO-A % Inhibición por 100µM
Fluoxetina	-	-	-	3,15±0,32	N.D.	N.D.
Haloperidol	-	-	-	N.D.	3,88±0,44	N.D.
F2A	F	2	4	16,04±0,21	5455±25	19%
F2B	F	3	4	23,78±0,46	3100±42	42%
F2C	F	5	2	6,83±0,19	592,60±30,22	28%
F2D	F	2	5	98,14±1,24	9060±29	30%
F2E	Br	2	4	222,60±16,44	5619±31	39%
F2F	Br	3	4	58,85±1,14	1832±33	39%
F2G	Br	5	2	12,62±0,42	765±16	16%
F2H	Br	2	5	199,60±14,53	4700±168	9.4%
F2I	H	2	4	9945±383	48910±1279	23%
F2J	H	3	4	109,90±3,26	2339±45	44%
F2K	H	5	2	26,81±0,91	4169±335	34%
F2L	H	2	5	52,16±3,24	2000±34	34%

Tabla 2.24: Datos se presentan como el valor promedio ± EEM de tres experimentos independientes, cada uno por triplicado. Todos los valores de Ki son expresados en rango nM. N.D. no determinado.

Análisis Farmacológico-Estudios de Docking de la Familia 2 en TSER:

Para esta familia de 12 compuestos, se analizan los resultados farmacológicos obtenidos apoyados en los estudios de acoplamiento molecular inducido. Se escogieron 4 compuestos para el estudio, los dos con mejor actividad y los dos con peor actividad dentro de la serie (**Tabla 2.25**).



Compuesto	R	POSICIÓN (I-P)	POSICIÓN F	Ki (nM)
F2C	F	5	2	6,83±0,19
F2E	Br	2	4	222,60±16,44
F2G	Br	5	2	12,62±0,42
F2I	H	2	4	9945±383

Tabla 2.25: Compuestos seleccionados de la serie 2 analizados en los estudios de acoplamiento molecular inducido en TSER.

En esta diana hubo 7 estructuras que presentaron valores de afinidad en un rango entre los 7 a los 59 nM (**F2A, F2B, F2C, F2F, F2G, F2K y F2L**).

Respecto de los compuestos con mejor afinidad F2C y F2G, estos exhiben un patrón C-5 halogenado donde el átomo de flúor juega nuevamente como se esperaba un rol vital, no obstante, su reemplazo por un átomo de bromo es asimismo muy efectivo. En el esqueleto de benzamida se destaca claramente un patrón de sustitución C-5 (para el esqueleto de indolpropilpiperazina) y C-2 para el átomo de flúor en ambos casos (disposición 1,3 de tipo “meta” para los sustituyentes indolilpropilpiperazina y la morfolinoetilbenzamida). Los resultados de los estudios de acoplamiento molecular inducido muestran un modo de unión similar a los compuestos con mejor afinidad de la Familia 1, ocupando los subsitios A y B con el mismo patrón interactivo (**Figura 2.73**). De este modo, el nitrógeno piperazínico puede establecer una interacción iónica con Asp98 y una interacción tipo catión- π con Tyr176 en el subsitio A, mientras que el anillo indólico establece interacciones

aromáticas con y Phe341 en el subsitio B. De manera interesante, la porción etil-morfolinica se extiende hacia el vestíbulo extracelular ocupando lo que se ha descrito como un sitio alostérico⁶⁴. Las interacciones descritas para porción fluorobenzamídica están basadas electrónicamente en un apilamiento π -stacking con el residuo Phe335 por atracción dipolo-dipolo de anillos π -donor (residuo aminoacídico) y π -aceptor (anillo benzamida).

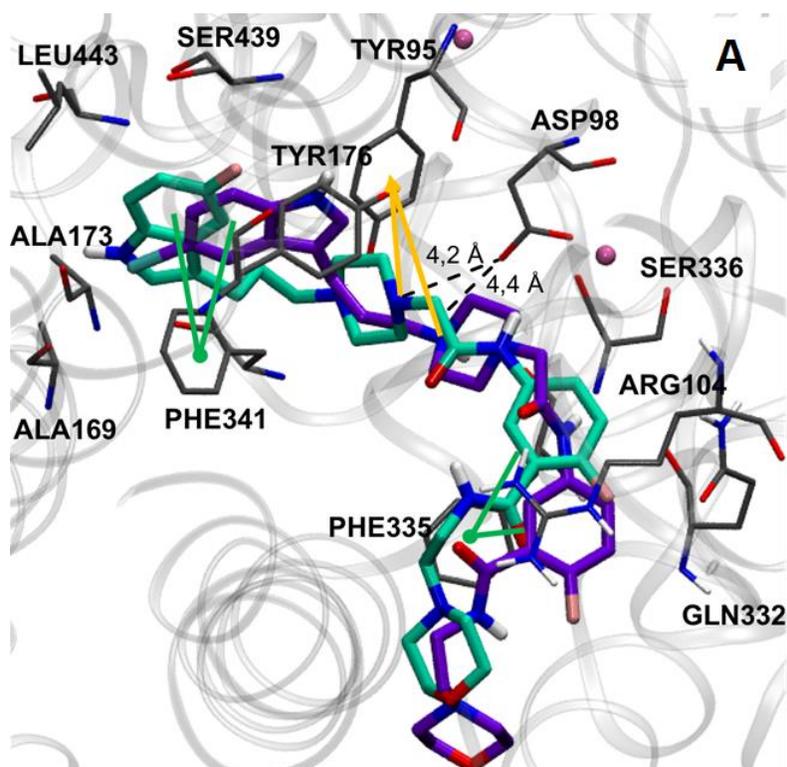


Figura 2.73: F2C (turquesa) y F2G(violeta). Se muestran los residuos cercanos (gris). Las líneas negras punteadas representan puentes salinos, las interacciones catión- π se muestran en amarillo y las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.

Por su parte los compuestos F2A, $K_i = 16$ nM de patrón 2,4 (orto) y F2B $K_i = 23,8$ nM de patrón 3,4 (meta) si bien presentan afinidades en la decena de nM exhiben un patrón de sustitución benzamídico diferente.

La importancia de la presencia del indol fluorado en C-5 se aprecia con el patrón de sustitución 2,4 (orto) ya que los valores de afinidad para F2I con una $K_i = 9945$ nM y F2E con una $K_i = 220$ nM caen a un valor de $K_i = 16$ nM para F2A.

La información entregada por el docking muestra que los compuestos de menor afinidad F2E e F2I ocupan únicamente el subsitio B, donde el anillo indólico establece interacciones aromáticas con Tyr176. En estos compuestos, el nitrógeno piperazínico se ubica alejado de Asp98 y Tyr95 por lo que la interacción iónica con estos aminoácidos es poco probable además de la pérdida de la interacción aromática entre el anillo de la fluorobenzamida y el residuo Phe335 (**Figura 2.74**).

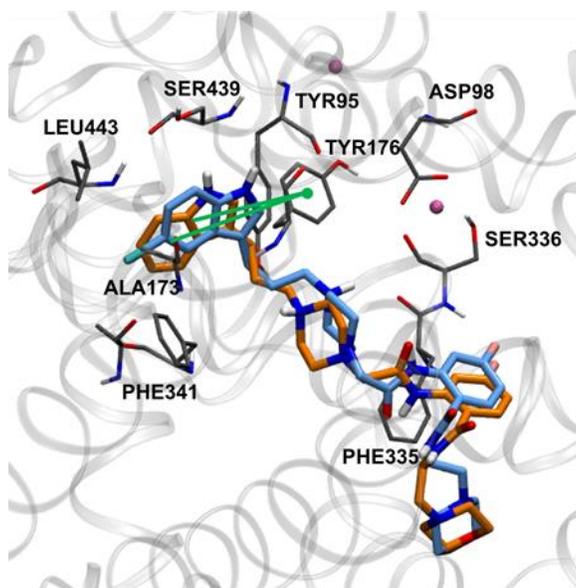


Figura 2.74: F2E (celeste) y F2I (naranja). Se muestran los residuos cercanos (gris). Las líneas de las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.

Las que presentan mejores valores a nivel global, son aquellas que tienen flúor en el indol ya que tres de cuatro (**F2A**, **F2B** y **F2C**) integrantes de este subgrupo logran valores de K_i en la magnitud de la decena nM.

Otro aspecto relevante que se puede observar, es aquel que relaciona la distribución espacial de las estructuras y el mejor valor de afinidad exhibido dentro de cada subgrupo, ya que los valores de mejor afinidad lo presentaron los ligandos F2C, F2G y F2K que poseen un patrón de sustitución 1,3 (tipo “meta” entre la porción benzamida-etil morfolino con la porción indol-piperazínica) (**Figura 2.75**).

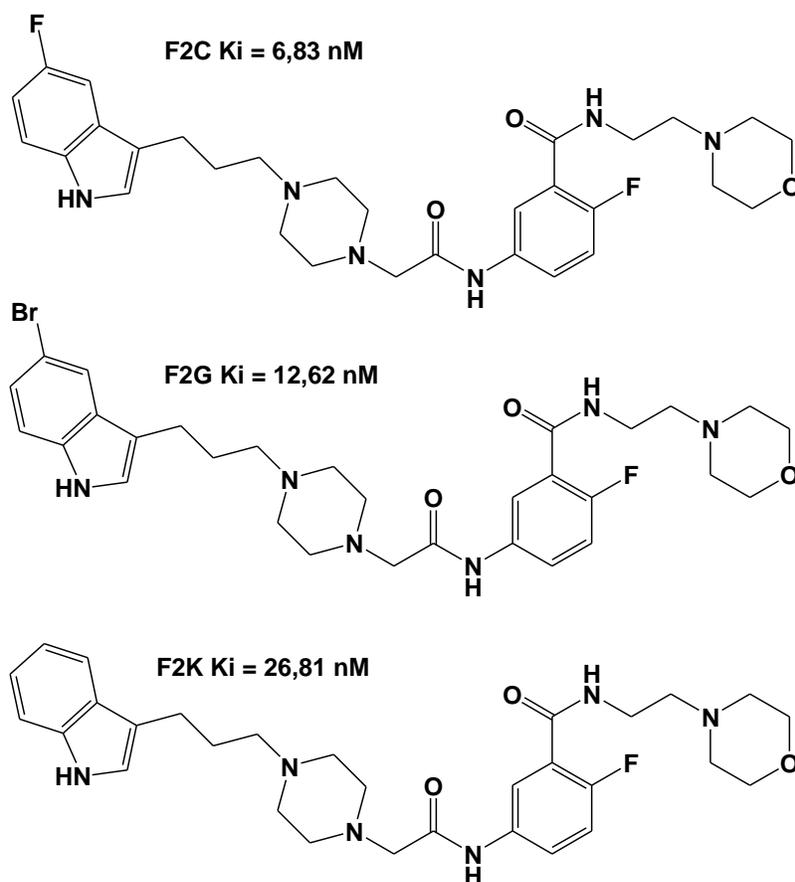


Figura 2.75: Valores de Ki para aquellos ligandos con sustitución 5-2 de tipo meta sobre TSER.

No obstante, la sustitución 3,4 pone en evidencia su importancia con la afinidad exhibida por los compuestos F2B (Ki = 23,78 nM), F2F (Ki = 58,85 nM) y

F2J ($K_i = 109,9$ nM) ya que también presentaría un patrón de sustitución 1,3 entre sus grupos de mayor volumen (**Figura 2.76**).

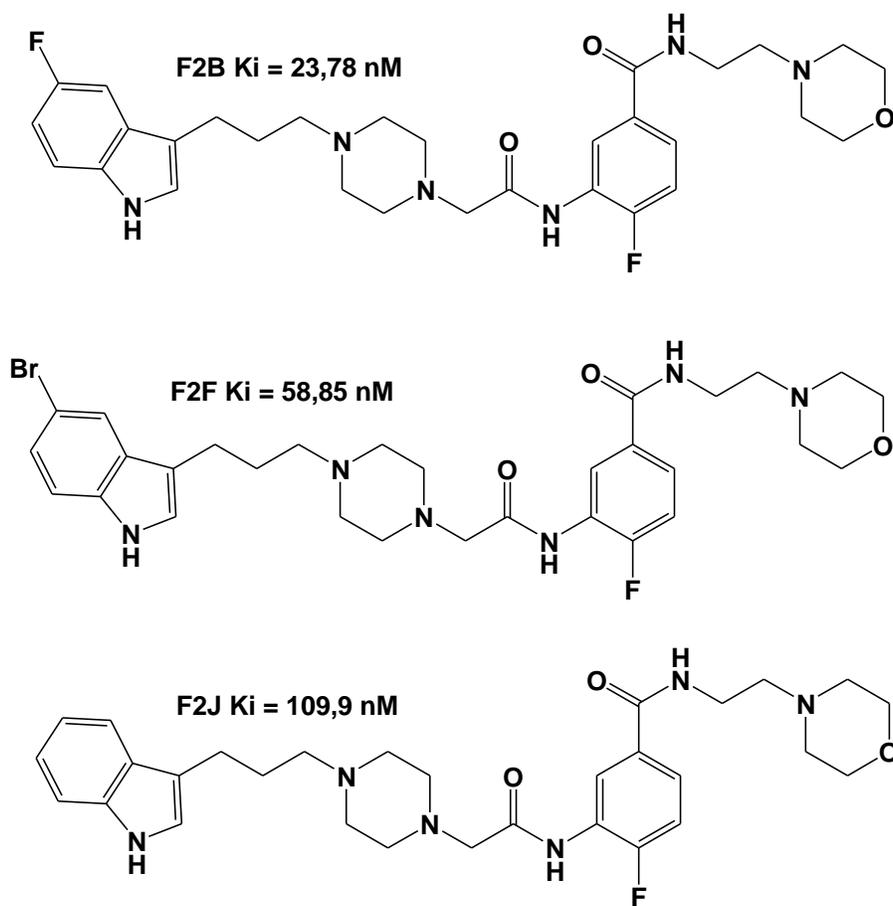
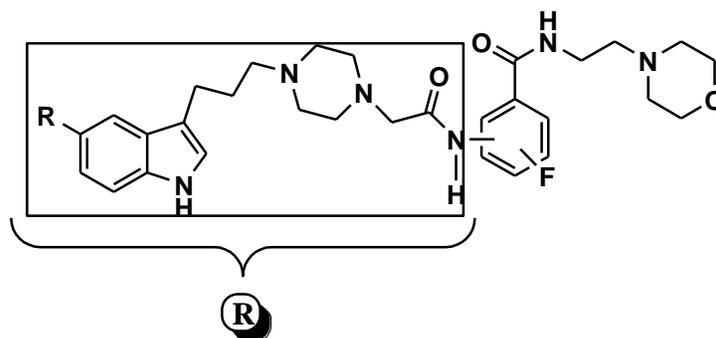


Figura 2.76: Valores de K_i para aquellos ligandos con sustitución 3-4 de tipo meta sobre TSER.

Los resultados sugieren que una disposición “en meta” de los sustituyentes más voluminosos del anillo de fluorobenzamida (F2C, F2G) permite a las moléculas adoptar un giro que posiciona al anillo de piperazina en el subsitio A, mientras que la porción etil-morfolínica puede extenderse hacia el sitio vestibular.

Análisis Farmacológico-Estudios de Docking de la Familia 2 en D2s:

Para esta familia de 12 compuestos, se analizaron por acoplamiento molecular inducido un total de 4 (**Tabla 2.26**).



Compuesto	R	POSICIÓN (I-P)	POSICIÓN F	Ki (nM)
F2C	F	5	2	592,60±30,22
F2D	F	2	5	9060±29
F2E	Br	2	4	5619±31
F2G	Br	5	2	765±16

Tabla 2.26: Compuestos seleccionados de la serie 2 analizados en los estudios de acoplamiento molecular inducido en D2.

Al analizar los valores de afinidad sobre esta diana, se puede apreciar que aquellos que corresponden a los mejores (más bajos), se adjudican a los ligandos con disposición de tipo 1,3 (meta) entre los sustituyentes más voluminosos tal como se puede apreciar en los ligandos F2C con una $K_i = 592,6 \text{ nM}$ y F2G con una $K_i = 765 \text{ nM}$. Asimismo, es importante la presencia de un indol halogenado en C-5, ya que en el caso del compuesto F2K que presenta el mismo patrón de sustitución 1,3 (meta), pero carece de halógenos en C-5 del indol, su K_i sube a 4169 nM (**Figura 2.77**).

Los condicionantes anteriores se expresan claramente en el compuesto F2I con una $K_i = 48910$ nM cuyo anillo indólico no presenta sustitución en C-5 y los sustituyentes benzamídicos se disponen en un patrón 1,2 (orto). En relación con las bajas afinidades obtenidas para esta familia, los estudios de docking constataron que los compuestos con buenas o malas afinidades se disponen de manera distinta a la conformación descrita para haloperidol, lo que probablemente da cuenta de los resultados farmacológicos obtenidos, considerando asimismo el tamaño molecular de los ligandos sumado también a la pérdida de flexibilidad en ellos por la presencia de 2 grupos carbonilo (**Figura 2.78**).

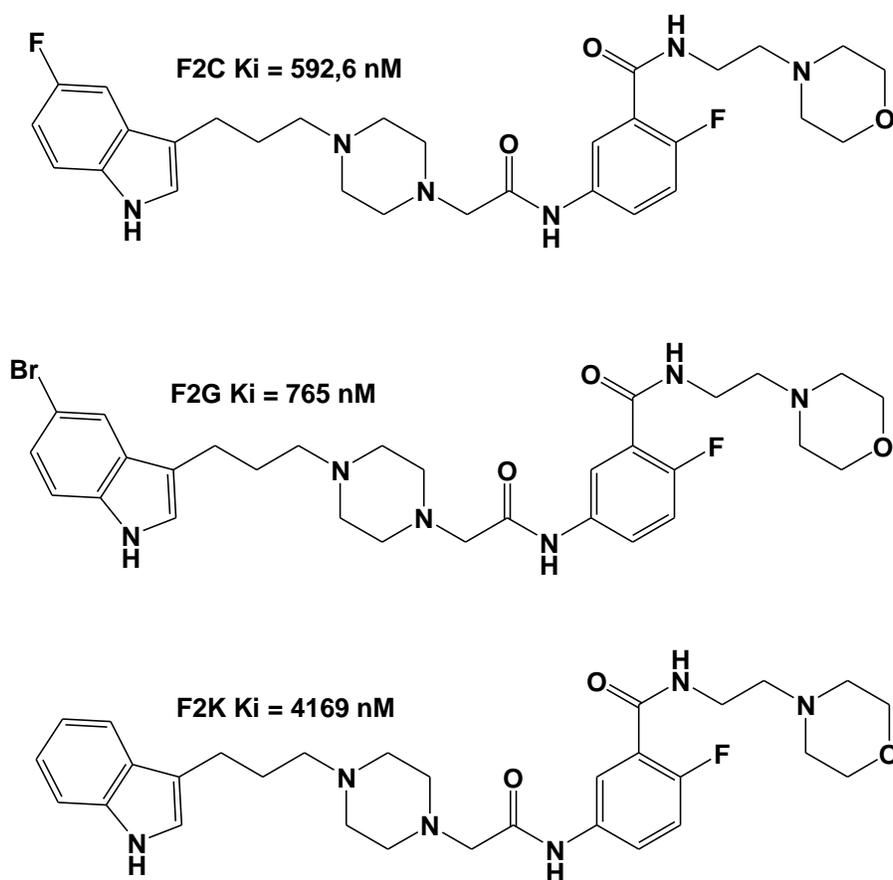


Figura 2.77: Valores de K_i para aquellos ligandos con sustitución 5-2 de tipo meta sobre el receptor D2s.

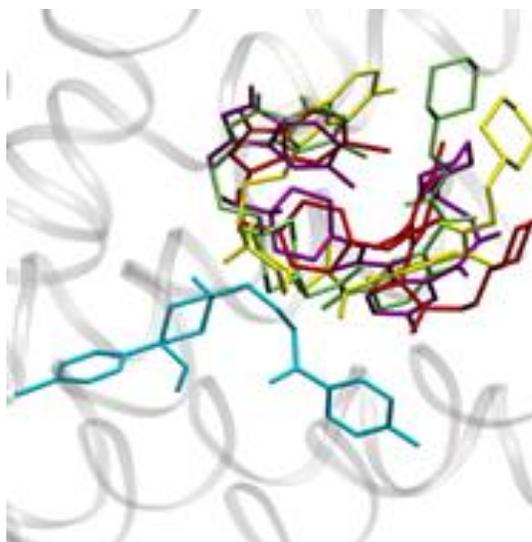
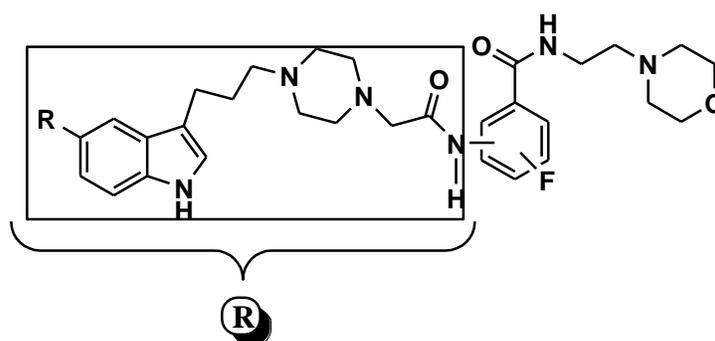


Figura 2.78: La serie 2 F2C (amarillo), F2G (verde), F2E (rojo) e F2I (violeta).

Análisis Farmacológico-Estudios de Docking de la Familia 2 en MAO-A:

Para esta familia de 12 compuestos, se analizaron por acoplamiento molecular inducido un total de 4 (**Tabla 2.27**).



Compuesto	R	POSICIÓN (I-P)	POSICIÓN F	% Inhibición
F2B	F	3	4	42
F2G	Br	5	2	16
F2H	Br	2	5	9
F2J	H	3	4	44

Tabla 2.27: Compuestos seleccionados de la serie 2 analizados en los estudios de acoplamiento molecular inducido en MAO-A.

Los estudios primarios indicaron que ninguna estructura de esta familia alcanzó una actividad inhibitoria del 50%. Los mayores porcentajes de inhibición dentro de cada subgrupo lo exhiben los compuestos F2B = 42%, F2F = 39% y F2J = 44% (**Figura 2.79**), asignables a compuestos con patrón de sustitución 1,3 (meta) no apreciándose una diferencia significativa en la actividad con una C-5 sustitución indólica.

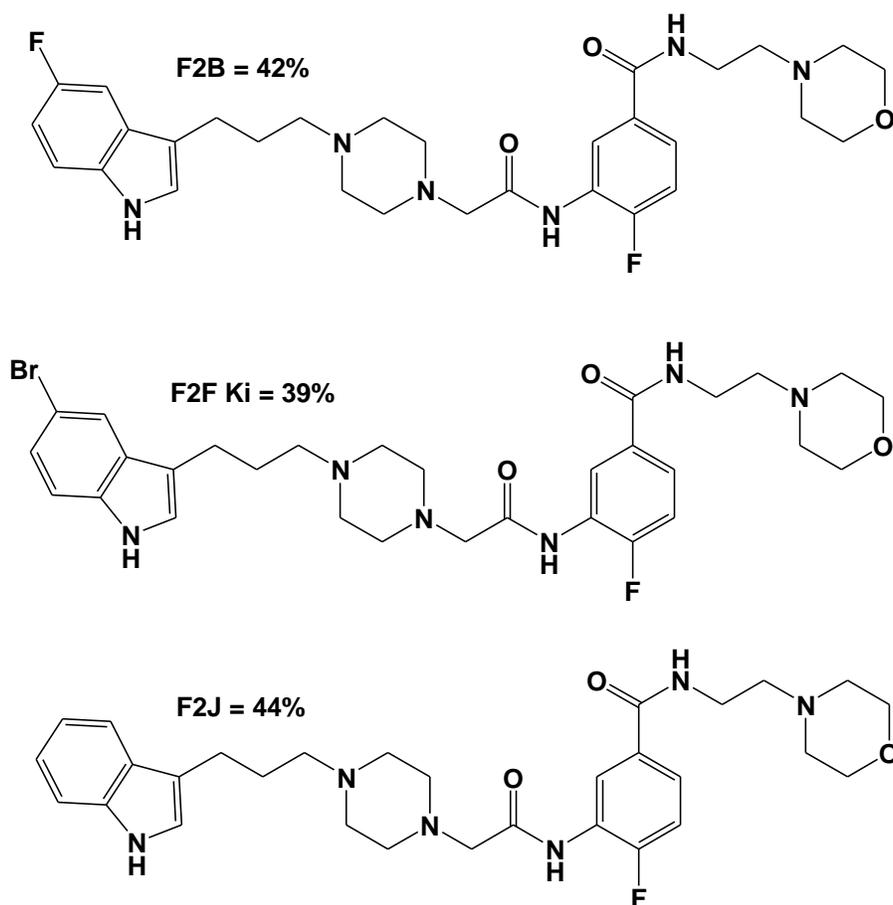


Figura 2.79: Valores de porcentajes de inhibición para los compuestos F2B, F2F y F2J con patrón de sustitución 3,4 (tipo meta).

El estudio de docking para las estructuras F2B y F2J (mejores actividades) mostraron que la porción del anillo de fluorobenzamida logra posicionarse en el sitio de los inhibidores, al establecer tres interacciones aromáticas con los residuos Tyr69, Phe352 y Tyr407, presentando además la sustitución de tipo 1,3 (meta) entre sus sustituyentes más voluminosos, quedando la porción indólica completamente fuera de esta cavidad sin presentar interacciones. **(Figura 2.80).**

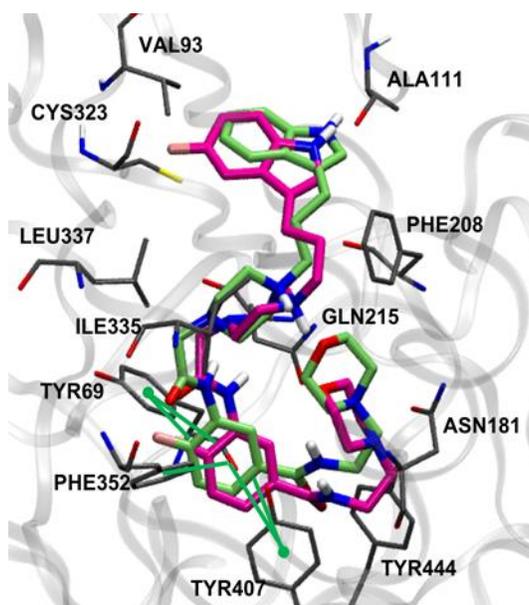


Figura 2.80: Compuestos F2B (magenta) y F2J(verde). Se muestran los residuos cercanos (gris). Las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.

En cuanto a los compuestos F2G = 16% y F2H = 9,4% son los que muestran los más bajos porcentajes de actividad, donde la conformación que adoptan provoca una que el anillo de fluorobenzamida presente menos interacciones aromáticas solo con Tyr407 y Tyr444 **(Figura 2.81).**

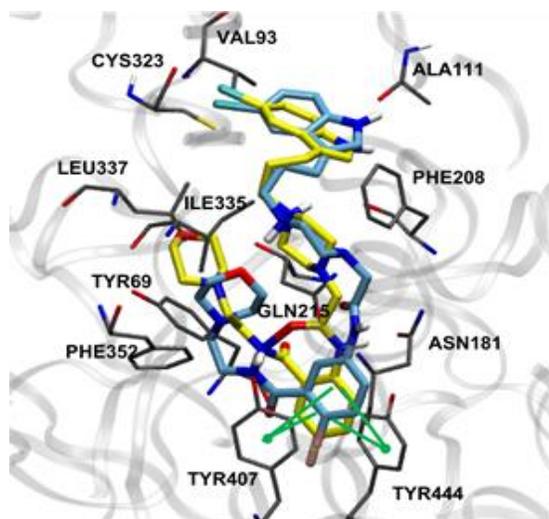
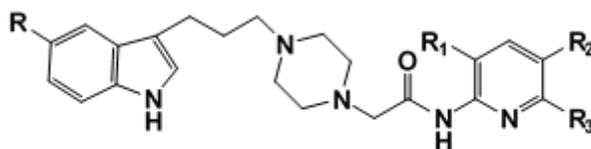


Figura 2.81: Compuestos F2G (celest) y F2H (amarillo). Se muestran los residuos cercanos (gris). Las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.

2.4.3 Familia 3.

Esta familia consta de 12 compuestos cuya evaluación en **TSER** y **D2s** fue realizada con las estructuras en su estado de base libre y como sus clorhidratos en los ensayos de inhibición sobre **MAO-A**. Los valores de K_i están expresados en valores de nanomolar (nM) para los estudios en **TSER** y **D2s** y como porcentaje de inhibición en MAO-A (**Tabla 2.28**).



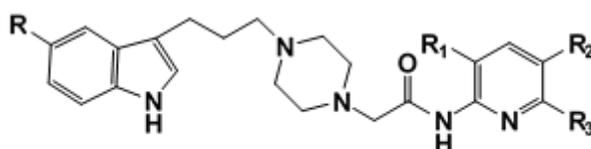
Compuesto	R	R1	R2	R3	TSER K_i (nM)	D _{2s} K_i (nM)	MAO-A %Inhibición por 100 μ M
Fluoxetina	-	-	-	-	3,15 \pm 0,32	N.D.	N.D.
Haloperidol	-	-	-	-	N.D.	3,88 \pm 0,44	N.D.
F3A	H	H	H	H	83,78 \pm 12,64	8469 \pm 151	0%
F3B	H	H	H	Br	33,67 \pm 7,15	1101 \pm 25	11%

F3C	H	Cl	Cl	H	110,1±22,80	5678±64	60%
F3D	H	H	Cl	H	24,37±2,31	3766±125	43%
F3E	F	H	H	H	21,26±2,95	521±14	44%
F3F	F	H	H	Br	3,13±0,33	334±15	50%
F3G	F	Cl	Cl	H	13,10±0,28	1093±38	75%
F3H	F	H	Cl	H	3,16±0,32	638±10	38%
F3I	Br	H	H	H	11,96±0,21	496±79	34%
F3J	Br	H	H	Br	3,88±0,75	516±45	38%
F3K	Br	Cl	Cl	H	210,00±12,71	1816±13	54%
F3L	Br	H	Cl	H	9,64±0,56	1358±17	67%

Tabla 2.28: Datos se presentan como el valor promedio \pm EEM de tres experimentos independientes, cada uno por triplicado. Todos los valores de K_i son expresados en rango nM. N.D. no determinado.

Análisis Farmacológico-Estudios de Docking de la Familia 3 en TSER:

En esta familia se seleccionaron 5 de los 12 compuestos, para su estudio in silico (**Tabla 2.29**).



Compuesto	R	R ₁	R ₂	R ₃	K _i (nM)
F3C	H	Cl	Cl	H	110,10±22,80
F3F	F	H	H	Br	3,13±0,33
F3H	F	H	Cl	H	3,16±0,32
F3J	Br	H	H	Br	3,88±0,75
F3K	Br	Cl	Cl	H	210,00±12,71

Tabla 2.29: Compuestos seleccionados de la familia 3 analizados en los estudios de acoplamiento molecular inducido en TSER.

Para un mejor análisis, se ha seleccionado el subgrupo de 4 compuestos (F3E, F3F, F3G y F3H), que presentan sustitución de flúor en C-5 indólica (**Figura 2.82**) y que posee un rango de valores de afinidad que oscila entre los 3,16 hasta los 21,26 nM.

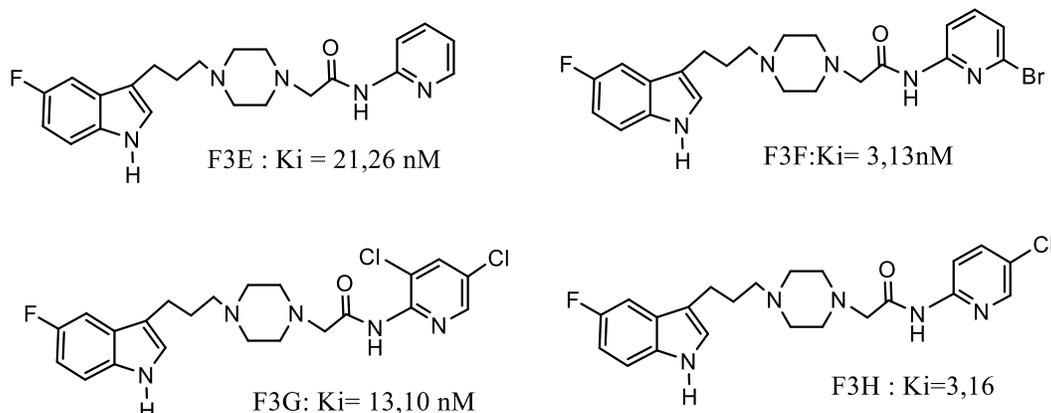


Figura 2.82: Valores de K_i para aquellos ligandos con sustitución C-5 indólica.

Se comprueba nuevamente la importancia del fragmento indólico C-5 fluorado al comparar la afinidad de los compuestos F3C $K_i = 110$ nM ($R = H$, $R_1 = Cl$, $R_2 = Cl$, $R_3 = H$) y F3K $K_i = 210$ nM ($R = Br$, $R_1 = Cl$, $R_2 = Cl$, $R_3 = H$) siendo que el compuesto F3G ($R = F$, $R_1 = Cl$, $R_2 = Cl$, $R_3 = H$) presenta una $K_i = 13,10$ nM.

La familia 3 presenta los mejores valores de afinidad sobre el transportador de serotonina donde 9 de los 12 ligandos exhiben afinidades que no superan los 34 nM.

Es interesante comparar la diferencia entre valores de afinidad para aquellos compuestos que no presentan ninguna sustitución pertenecientes a la Familia 1 **F1A** ($R_1 = H$, $R_2 = H$, $R_3 = H$) con un $K_i = 307,10$ nM y el de la Familia 3 **F3A** (R

= H, R1 = H, R2 = H, R3 = H) con un $K_i = 83,78$ nM, ya que se aprecia un aumento importante en la afinidad por parte de F3A, este aumento estaría ligado directamente a un efecto de tipo electrónico al cambiar el anillo de 1,4-benzoxazina presente en F1A por uno de piridina en F3A.

Los estudios de docking muestran que la porción piridínica se ubica en el subsitio B mientras que la cadena indólica se extiende hacia el vestíbulo extracelular acercándose hacia al sitio alostérico⁶⁴, disponiéndose de manera invertida a lo ya analizado para los ligandos de las Familias 1 y 2, ocupando los subsitios A y B. La **Figura 2.83** muestra una superposición de los 3 mejores ligandos (F3F, F3H y F3J) analizados en docking.

El fragmento piridínico es reconocidamente un anillo π -deficiente que presenta una importante polaridad. No obstante, al estar sustituida con halógenos (Cloro y bromo), se incrementa su hidrofobia, posicionándose en el subsitio B. En los compuestos de mayor actividad (F3F, F3H, F3J) la porción piridínica se inserta más profundo en la cavidad hidrofóbica del subsitio B compuesta por los residuos Ser439, Leu443, Ala169 y Ala173 lo que explicaría la mayor actividad observada.

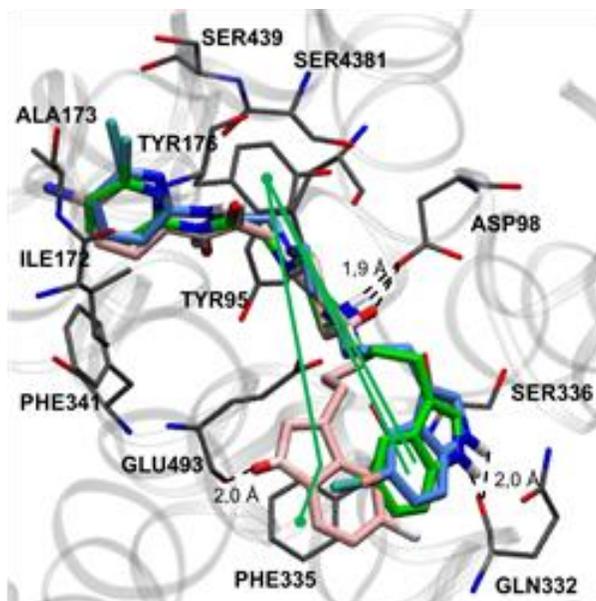


Figura 2.83: Compuestos F3F (azul), F3H (rosado) y F3J (verde). Se muestran los residuos cercanos (gris). Las líneas negras punteadas representan puentes salinos y las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.

Para los compuestos de mayor como los de menor afinidad (**Figura 2.84**) estudiados, el nitrógeno piperazínico puede establecer una interacción iónica con Asp98 en el subsitio A y el anillo indólico puede participar de interacciones aromáticas con Tyr176. En los compuestos de mayor actividad (F3F, F3H, F3J) la porción piridínica se inserta más profundo en la cavidad hidrofóbica del subsitio B compuesta por los residuos Ser439, Leu443, Ala169 y Ala173 lo que podría explicar la mayor actividad observada.

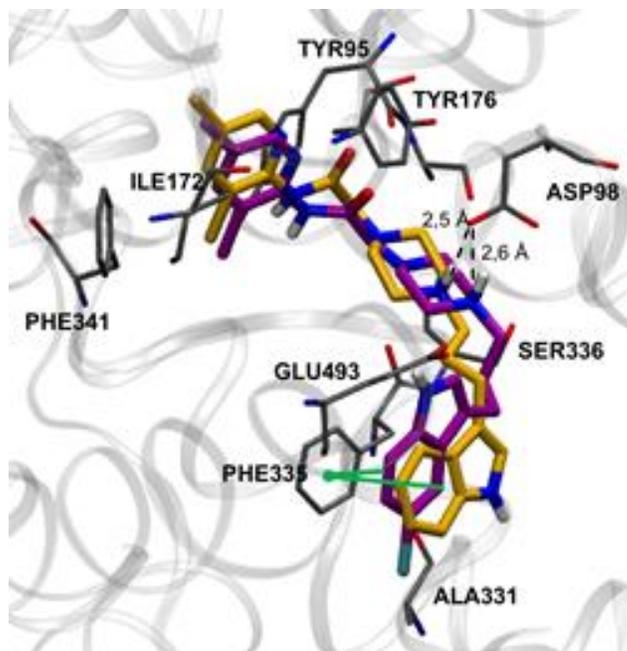
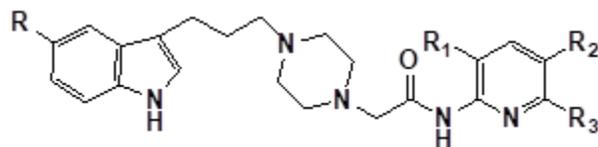


Figura 2.84: Compuestos F3C (amarillo) y F3K (violeta). Se muestran los residuos cercanos (gris). Las líneas negras punteadas representan puentes salinos y las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.

Análisis Farmacológico-Estudios de Docking de la Familia 3 en D2s:

Para esta familia de 12 compuestos, se analizaron por acoplamiento molecular inducido solo 4 derivados (2 de mejor afinidad y 2 de peor afinidad) y que se muestran en la tabla siguiente (**Tabla 2.30**).



Compuesto	R	R ₁	R ₂	R ₃	Ki (nM)
F3A	H	H	H	H	8469±151
F3C	H	Cl	Cl	H	5678±64
F3F	F	H	H	Br	521±14
F3I	Br	H	H	H	496±79

Tabla 2.30: Compuestos seleccionados de la familia 3 analizados en los estudios de acoplamiento molecular inducido en D2.

Al analizar la relación estructura-afinidad sobre esta diana, se puede observar que:

i) El mejor compuesto de la serie resultó ser F3F (R = F, R₁ = H, R₂ = H, R₃ = Br). Las 2 siguientes mejores afinidades correspondieron a aquellas estructuras sustituidas con bromo o flúor en la posición 5 del indol y anillo piridínico no sustituido, (F3E Ki = 521 nM) y (F3I con Ki = 496 nM). Resulta notoria la diferencia en afinidad con el ligando F3A (R = H, R₁ = H, R₂ = H, R₃ = H) con una Ki = 8469 nM poniendo de manifiesto y corroborando la importancia de la sustitución halogenada en C-5 del indol. Este efecto se visualiza en los derivados piridínicos mono halogenados F3B (R = H, R₁ = H, R₂ = H, R₃ = Br) y F3D (R = H, R₁ = H, R₂ = Cl, R₃ = H) que, aunque logran mejorar notablemente sus afinidades no logran valores comparables a F3F.

ii) Las diferencias en los valores de las afinidades se podrían deber al efecto electrónico desapantallante que generan los halógenos en los anillos aromáticos lo que conduciría a mejores interacciones de estos anillos con residuos aminoácidos π-donores y/o la generación de interacciones “puente de halógeno” por parte de cloro o bromo con residuos orgánicos tipo bases de Lewis.

iii) Si analizamos los 12 ligandos subdividiéndolos en tres subgrupos de acuerdo a la sustitución sobre C-5 del indol, se aprecia que la presencia de un átomo de bromo en **R3** del anillo piridínico, aumenta la afinidad en los compuestos F3B (R = H, R1 = H, R2 = H, R3 = Br) con una $K_i = 1101$ nM y F3F (R = F, R1 = H, R2 = H, R3 = Br) con una $K_i = 334$ nM al hacer la comparación de estos con sus antecesores F3A y F3E respectivamente.

iv) En relación con los compuestos diclorados en las posiciones **R1** y **R2** de la piridina (F3C, F3G y F3K), se aprecia que estos son los primeros o segundos valores de más baja afinidad dentro de cada subgrupo incluso al ser comparada con las afinidades de estructuras monocloradas (F3D, F3H y F3L), lo que estaría dejando en evidencia que la dicloración en los compuestos induce un factor estérico en la afinidad.

Los resultados del acoplamiento molecular en el receptor D2 muestran que los ligandos escogidos de esta familia no logran entrar al sitio de unión descrito para haloperidol y establecer la interacción iónica con Asp114 junto con un puente de hidrógeno con alguna de las serinas en la TM5 que son importantes en la unión de antagonistas (**Figura 2.85**). sugiriendo que la presencia del fragmento carbonilo podría estar bloqueando posibles conformaciones espaciales de los compuestos, debido a la rigidez que impone.

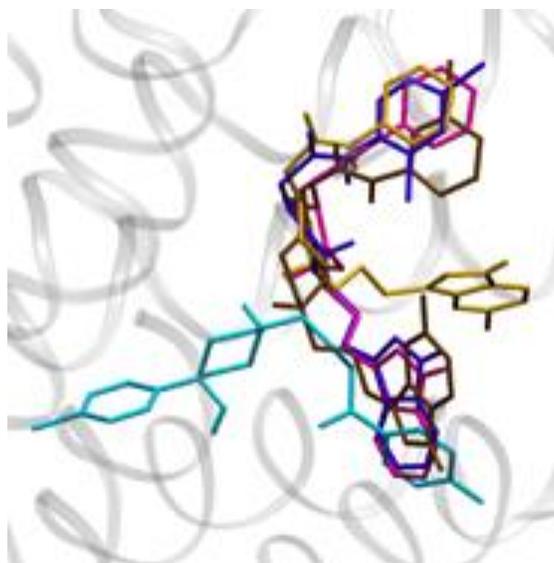
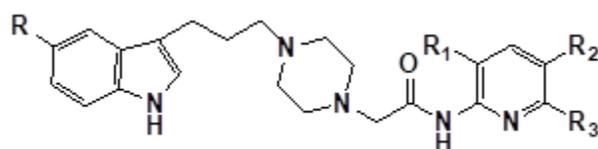


Figura 2.85: Modos de unión superpuestos de haloperidol (cian) con los compuestos analizados de la serie 3: F3A, F3C, F3F y F3G.

Análisis Farmacológico-Estudios de Docking de la Familia 3 en MAO-A:

Para esta familia de 12 compuestos, se analizaron por acoplamiento molecular inducido un total de 4 (**Tabla 2.31**).



Compuesto	R	R ₁	R ₂	R ₃	% de inhibición
F3A	H	H	H	H	0
F3B	H	H	H	Br	11
F3G	F	Cl	Cl	H	75
F3L	Br	H	Cl	H	67

Tabla 2.31: Compuestos seleccionados de la familia 3 analizados en los estudios de acoplamiento molecular inducido en MAO-A.

El análisis de estructura-actividad sobre las actividades inhibitorias exhibidas por los ligandos sobre esta enzima, debe hacerse mediante la subdivisión de los 12 compuestos en 3 grupos según la sustitución C-5 indólica.

características que tienen en común aquellos que logran la actividad inhibitoria. Dentro de cada subgrupo, la actividad inhibitoria mínima es lograda por los ligandos diclorados (**Figura 2.87**).

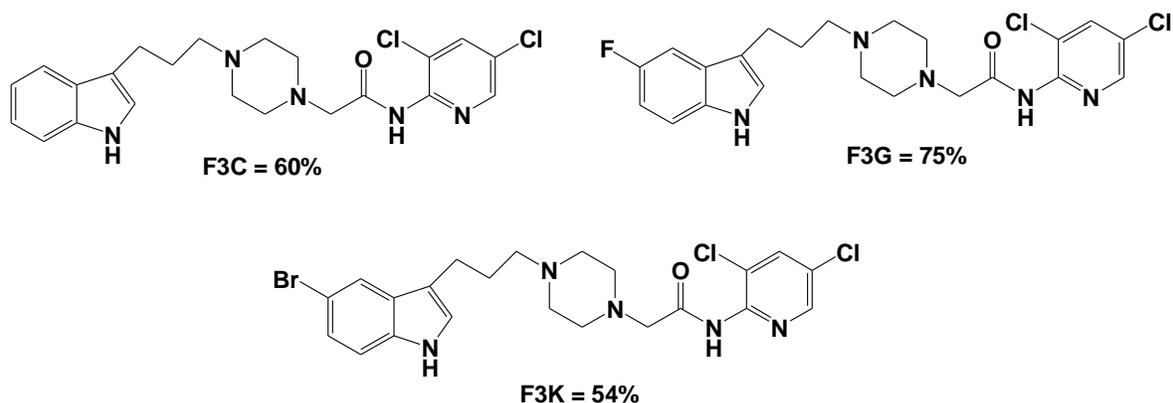


Figura 2.87: Estructuras dicloradas en la piridina con los mejores porcentajes inhibición en cada subgrupo.

Los estudios de acoplamiento molecular inducido muestran que los ligandos analizados se ubican en el sitio activo de la MAO-A de modo que la porción indólica se encuentra en la cavidad de unión de inhibidores mientras que el extremo piridínico se extiende hacia la entrada de la cavidad y la región unida a membrana.

En el caso de los compuestos con mejores actividades (F3G y F3L), el anillo indólico puede participar con un mayor número de interacciones aromáticas con los residuos Tyr407 Tyr444 y Tyr197 (**Figura 2.86**), esta condición se posibilita al exhibir la piridina sustituciones voluminosas como la diclorada en **R1** y **R2** o la bromada en **R3**, lo que conduciría a que el fragmento de indol (el cual puede o no presentar sustituciones en C-5) sea empujado hacia una mayor cantidad de residuos aromáticos que estabilizan su unión en el sitio.

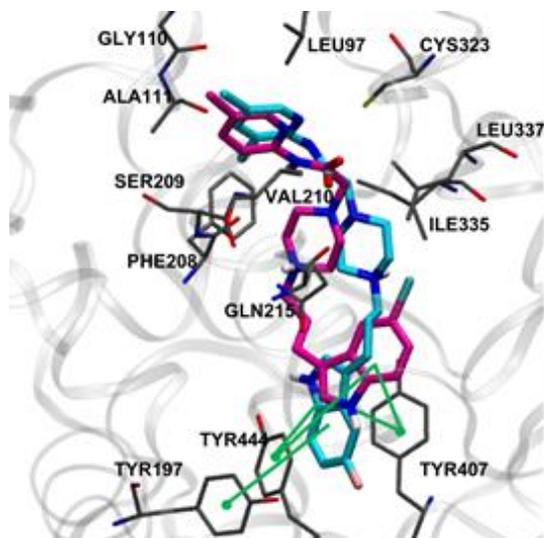


Figura 2.88: Modos de unión para los compuestos F3G (cian) y F3L (magenta). Se muestran los residuos cercanos (gris). Las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.

En el caso de los compuestos con bajas actividades (F3A y F3B), la condición de presentar una piridina sin sustituciones o una estructura global con una sola halogenación, permiten que el nitrógeno piridínico establezca un puente de hidrógeno con el residuo Val210, lo que causa que las estructuras se dispongan de una manera en que la porción indólica sea empujada a un sector en donde va a presentar solo una interacción aromática con el residuo Tyr407 (**Figura 2.89**).

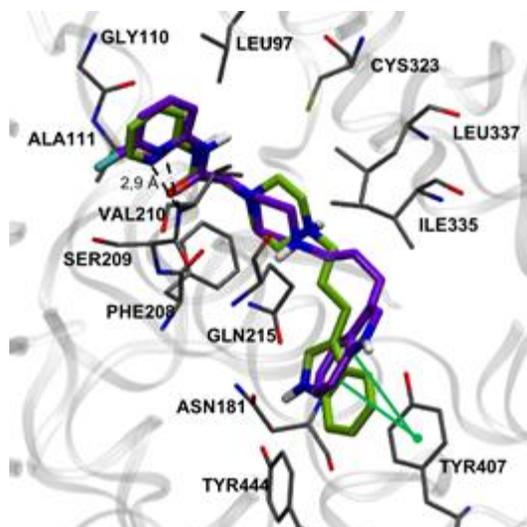


Figura 2.89: A) Modos de unión para los compuestos F3A (verde) y F3B (violeta). Se muestran los residuos cercanos (gris). Las líneas negras punteadas representan puentes de hidrógeno y las interacciones aromáticas se muestran con líneas verdes.

3 CONCLUSIONES

Finalmente se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- Se sintetizaron 39 estructuras heterocíclicas indólicas finales agrupadas en 3 familias definidas como Familias 1, 2 y 3.

Familia 1 (**F1A-O**): Se obtuvieron 15 compuestos finales con rendimientos comprendidos entre 42-91% como derivados de 2,3-Dihidro-benzo [1,4]oxazin-4-il)-2-{4-[3-(1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil} etanamidas,

Familia 2 (**F2A-L**): Se obtuvieron 12 compuestos finales con rendimientos comprendidos entre 47-85% como derivados de (2-{4-[3-(1*H*-indol-3-il)-propil]-1-piperazinil}-acetilamino)-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamidas fluoradas.

Familia 3 (**F3A-L**) Se obtuvieron 12 compuestos finales con rendimientos comprendidos entre 20-85% como derivados de *N*-(2-piridinil)-2-{4-[3-(1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil} acetamidas.

FAMILIA 1.-

- La Familia 1 exhibió 6 compuestos con buenas afinidades en TSER, en un rango de 5,63 a 12,60 nM. Todos estos compuestos presentaron en su estructura una agrupación 3-indolilpropil C-5 fluorada, que resultó ser relevante en su unión al transportador comparado con el fragmento benzoxazínico con que se conecta estructuralmente. Los estudios de docking avalaron los resultados farmacológicos.
- Los ensayos de la Familia 1 en el receptor D2, mostraron afinidades menores en este receptor en el rango de 307 a 4840 nM. Los estudios de docking mostraron que las estructuras de esta familia no se posicionan en el sitio receptorial en forma

análoga al fármaco haloperidol, condicionado probablemente por la rigidez estructural que les confiere la presencia del grupo carbonilo. Las mejores afinidades fueron exhibidas por ligandos bromados en C-5 del indol.

- Al analizar los resultados de la actividad sobre MAO-A de la Familia 1, se comprueba que porción indólica C-5 halogenada, no presenta influencia en la actividad. Sin embargo, la presencia de un grupo donador (OCH₃) en el anillo de benzoxazina condujeron a compuestos con valores inhibitorios igual o superior al 50%.
- Se concluye que la Familia 1 generó productos con afinidades principalmente en TSER.

FAMILIA 2.-

- La Familia 2 exhibió en TSER estructuras con valores de afinidad en un rango de 6,83 a 26,81 nM. Las estructuras con afinidad poseen un fragmento indólico C-5 halogenado más una relación espacial de tipo 1,3 entre los sustituyentes que portan las funciones amídicas (morfolinoetil e indolilpropilpiperazinil).
- La Familia 2 en el receptor D2, presentando un rango de afinidades 592 a 48910 nM. Los resultados de docking están en línea con estos valores al posicionarse estos derivados en forma distinta al fármaco haloperidol probablemente por la rigidización que imponen los 2 carbonilos presentes. Los compuestos más destacados en afinidad corresponden a ligandos bromados o fluorados en C-5 de la porción indólica con un patrón de sustitución 1,3 entre las funciones amídicas.

- La Familia 2 no presentó en MAO-A estructuras que ejercieran una actividad inhibitoria igual o superior al 50%. Los Ligandos con los valores de actividad inhibitoria cercana igual o superior a 50%, presentan una porción indólica C-5 halogenada, conservando una sustitución 1,3 diamídica.
- En resumen, esta Familia 2 careció de estructuras con perfiles de afinidad triple o doble, resultando mayoritariamente con afinidad en TSER.

FAMILIA 3.-

- La Familia 3, dio lugar a las estructuras con los mejores valores de afinidad en TSER, con 6 ligandos en un rango de 3,13 a 13,1 nM y un conjunto de 9 estructuras que no superan los 33,7 nM. La presencia de un fragmento indólico C-5 halogenado conectado a un sistema π -deficiente de piridina presentando sustituciones monocloradas y monobromadas, resultaron claves en la obtención de buenos valores de afinidad. Los estudios de docking muestran que la piridina se posiciona en el subsitio B, desplazando al segmento indólico hacia el sitio vestibular.
- Los valores de afinidad de la Familia 3 sobre el receptor D2 se ubican en un rango de 334 a 8469 nM. Un total de 5 estructuras exhibieron valores inferiores a 650 nM presentando un fragmento indólico C-5 halogenado y un anillo piridínico monohalogenado o no sustituido. Los estudios de docking mostraron modos de unión de todos los ligandos distintos a haloperidol.
- La Familia 3 en ensayos de inhibición de MAO-A, contribuyó con 5 estructuras capaces de inhibir la actividad en un rango de 50 a 75%. Los requisitos estructurales de estas moléculas inhibitorias son la presencia de un fragmento indólico C-5 halogenado acompañado de una piridina monohalogenada o diclorada.

Los estudios de acoplamiento molecular inducido indican que el patrón piridínico diclorado o monohalogenado (bromo o cloro) en compañía de un indol C-5 halogenado, generan los compuestos más activos. La Familia 3 exhibe por tanto algunas estructuras con acción dual (TSER / MAO-A).

3.1 Conclusiones Generales de las 3 familias.

Al analizar los 39 ligandos finales se comprueba que:

- Para la afinidad sobre la proteína TSER, resulta fundamental una porción indólica C-5 halogenada más la existencia de una piperazina con un nitrógeno protonable. Esta afinidad se potencia al conectar esta porción indólica a fragmentos piridínico mono o dihalogenados.
- La afinidad sobre el receptor D2, demanda también una porción indólica C-5 halogenada (mayoritariamente bromada), que se ve potenciada en su afinidad con la incorporación de piridinas sustituidas halogenadas como fragmento conector.
- Si bien los estudios de docking muestran que en el receptor D2, los ligandos de todas las familias se disponen de manera disímil a haloperidol, se podría realizar un cambio del grupo carbonilo para permitir una mayor libertad de movimientos y lograr homologar la unión de haloperidol. Si se lograra dicho efecto, la presencia de un sistema piperazínico con nitrógenos protonables, jugaría un rol clave en la interacción iónica entre el ligando y el residuo Asp114 en la TM3.

- La actividad inhibitoria sobre MAO-A fue lograda en estructuras que mayoritariamente presentaron un anillo indólico C-5 halogenado en asociación con una piridina diclorada o monohalogenada,

Considerando las observaciones y requisitos estructurales ya comentados, proponemos el diseño de una estructura final mejorada, que potencialmente reúna los grupos farmacofóricos que permitan exhibir un potencial efecto farmacológico triple en los blancos propuestos (TSER, D2s y MAO-A).

El esquema final representa el ensamblado molecular propuesto donde fundamentalmente se mantienen las unidades farmacofóricas indolilpiperazínicas y piridínicas cambiando la rigidez de la cadena conectora de alquilamida por una cadena de alquilamina más flexible. **(Figura 3.1).**

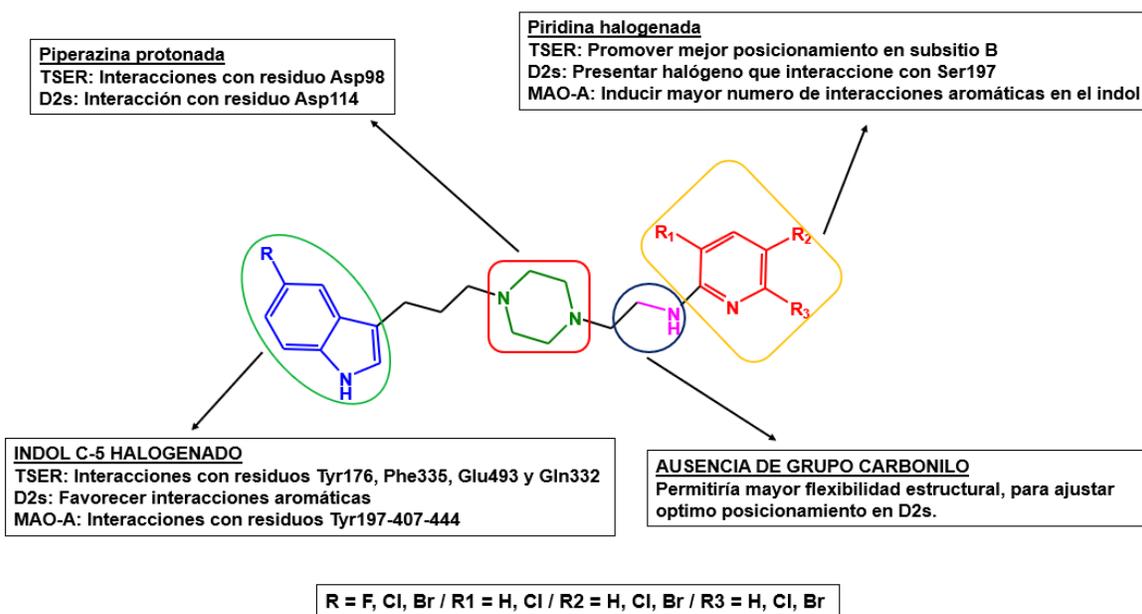


Figura 3.1: Propuesta estructural final de un ligando mejorado con posible actividad triple y de justificación de fragmentos.

4 MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Reactivos, técnicas e instrumentos.

- Los reactivos y solventes utilizados fueron de firma Merck y Sigma-Aldrich, de calidad PA o PS.
- La caracterización de los compuestos obtenidos fue realizada mediante Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear de Protones (^1H -RMN), Carbono (^{13}C -RMN), Puntos de Fusión (pf), Microanálisis Elemental y Espectrometría de Masa de Alta Resolución (EMAR) en algunos casos, (Peak Matching).
- La Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear para protones (^1H -RMN) y carbono (^{13}C -RMN) fue realizada en un espectrómetro Bruker, modelo AVANCE DRX 300 usando como referencia tetrametilsilano (TMS) y los solventes deuterados: cloroformo (CDCl_3), dimetilsulfóxido ($\text{DMSO-}d_6$) y acetona ($\text{Acetona-}d_6$).
- Los desplazamientos (δ) químicos se representan en partes por millón (ppm) respecto al TMS y las constantes de acoplamiento J en Hertz (Hz). Se emplean las siguientes abreviaturas en dichos espectros: singulete (s), doblete (d), doble doblete (dd), triplete (t), triplete de dobletes (td), cuarteto (c), quintuplete (q).
- El Microanálisis Elemental fue realizado en un analizador Fisons EA 1108.
- Para el espectro de masas, las muestras fueron disueltas en 2-propanol e inyectadas en forma directa en el equipo DSA-TOF AxION 2 TOF MS (Perkin Elmer, Shelton, CT, USA), modo positivo. Por lo tanto, se observa ión molecular más un hidrogeno $[\text{M}+1]$.

Se utilizaron las siguientes condiciones para la ionización de las muestras mediante la técnica de APCI/MS (DSA análisis): corriente de corona 4 μ A, la temperatura del calentador a 300°C, gas auxiliar (N₂) presión de 80 psi, gas de secado (N₂) con flujo de 3 L/min a 25°C. La ionización fue utilizada en modo positivo y atrapamiento de moléculas con un voltaje del TOF de 10KV. El voltaje del Capilar de salida fue a 110 V para ionización normal (MS) y para los ensayos de fraccionamiento (MS/MS) se utilizó un CID de 200V. Los espectros de masas fueron adquiridos en un rango entre 100–1000 m/z con la adquisición de 2 espectros/s.

Para la calibración del equipo se utilizó el método lock mass calibration con las siguientes masas m/z 121.0509, m/z 322.0481, m/z 622.0290 y m/z 922.0098.

- Para los estudios de acoplamiento molecular inducido: Las estructuras moleculares de los compuestos fueron construidas en el programa *Spartan'14* (Wavefunction, Inc. Irvine, CA) y sometidos a optimización geométrica con cálculos *ab initio* Hartree-Fock usando la base 6-31G*. Los acoplamientos se realizaron en el programa *AutoDock 4.0*⁴. En todos los casos se utilizó una grilla de 70x70x70 puntos con espaciado entre puntos de 0.375 Å y centrada en los sitios de unión putativos de acuerdo con las coordenadas x, y, z: 33,3 184,5 1,57 (SERT); 0,565 - 9,397 7,361 (D2); y 37,019 28,136 -13,799 (MAO-A). Se realizaron cálculos de 250 corridas con una población inicial de 300 individuos ubicados al azar utilizando el algoritmo genético Lamarckiano (LGA), tasa de mutación 0,02 y de crossover 0,8 respectivamente. Los resultados se agruparon en clusters considerando las coordenadas iniciales del ligando como estructura de referencia y una desviación de mínimos cuadrados (RMSD) de 2,0Å. De las poses obtenidas, se seleccionaron

los complejos con menor energía de unión y las estructuras resultantes fueron analizadas con el programa de visualización *Visual Molecular Dynamic* (VMD).

- La afinidad en TSER fue medida en membranas con transportador de Serotonina humano (Código RBHSTM400UA, Perkin-Elmer, Waltham, USA) en solución tampón a pH 7,4 de Tris HCl 50 mM, 120 mM NaCl y 5 mM KCl fueron incubados con o sin los distintos fármacos en estudio en diferentes concentraciones, con 2nM de [³H]-Paroxetina (actividad específica 20,8 Ci/mmol, Código NET869250UC, Perkin-Elmer) en un volumen final de 500 µL. La unión inespecífica se determinó usando 100 µM de Fluoxetina. Después de 60 min a 27°C, la incubación fue detenida por filtración rápida en filtro Whatman GF/C pre-absorbidos en 0,5% de polietilenimina.

- La afinidad en el receptor D_{2s} se llevó a cabo en membranas con receptor de dopamina D_{2s} humano (Código RBHD2CM400UA, Perkin-Elmer, Waltham, USA) en solución tampón a pH 7,4 de Tris HCl 50 mM, NaCl 120 mM, KCl 5mM, MgCl₂ 5mM y EDTA 1mM fueron incubados con o sin los distintos fármacos en estudio en diferentes concentraciones, con 0.5 nM de [³H]-Metilspiperona (actividad específica 64.1 Ci/mmol, Código NET856250UC, Perkin-Elmer) en un volumen final de 500 µL. La unión inespecífica se determinó usando 10 µM de Haloperidol. Después de 120 min a 27°C, la incubación fue detenida por filtración rápida en filtro Whatman GF/C pre-absorbidos en 0,5% de polietilenimina, los cuales fueron lavados con solución tampón Tris 50 mM pH 7,4, NaCl 154 mM.

- Se midió la radioactividad por espectrometría líquida de centelleo (MicroBeta 2450 microplate counter, PerkinElmer). Los datos fueron graficados por

regresión no lineal dosis inhibidor-respuesta de pendiente variable (Prism 5.01, GraphPad, USA). Para estimar los valores de IC₅₀ y el valor de K_i de los compuestos testeados fue determinado usando la ecuación de Cheng-Prusoff.

- Como fuente de MAO se utilizó una suspensión mitocondrial de cerebro de rata. Para la evaluación de la actividad enzimática se utilizó cromatografía líquida de alta resolución asociada a detección electroquímica (HPLC-ED).
- Suspensión mitocondrial: El cerebro de rata fue obtenido mediante decapitación de ratas Sprague-Dawley (200-220 g) descartándose el cerebelo (Scorza et al., 1997). El tejido fue homogeneizado en un equipo Potter-Elvehjem de vidrio y teflón, en 10 mL de sacarosa 0,32 M. El homogeneizado fue centrifugado a 800 x g durante 10 minutos a 4°C. El sobrenadante fue centrifugado a 10000 x g durante 20 minutos a 4 °C. El pellet obtenido fue resuspendida en el volumen original de solución de sacarosa 0,32 M y se repitió la centrifugación. El nuevo precipitado se resuspendió en 10 mL de tampón de fosfato de sodio 0,1 M pH 7,4.

La suspensión mitocondrial se mantuvo congelada a -80 °C hasta su uso. La actividad inhibidora de los derivados en estudio frente a MAO-A de rata fue determinada utilizando 5-HT como sustrato selectivo (Scorza et al., 1997) y se realizó a modo de screening agregando una solución del ligando de concentración elevada para conocer los posibles candidatos de las familias 1, 2 y 3 que debiesen ser analizados con mayor profundidad en caso de inhibir la actividad de la enzima en un 50% o más.

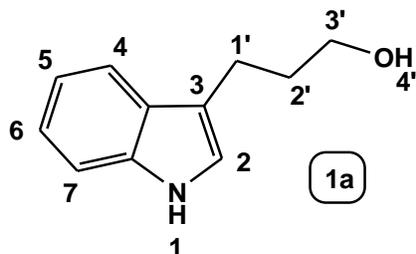
La mezcla de reacción fue preparada utilizando 200 µL de tampón de fosfato de sodio a pH 7.4, posteriormente se adicionó 50 µL de 5-HT 1,0 mM (concentración final 100 µM) y 50 µL del inhibidor que fue preparado en una

concentración inicial de 1mM. La mezcla se incubó durante 5 minutos a 37 °C en un baño termorregulado. La reacción se inició al adicionar a la mezcla 200 µL de suspensión mitocondrial, llegando a un volumen final de 500 µL. Después de 10 minutos se detuvo la reacción adicionando 200 µL de ácido perclórico (HClO₄) 1M. La mezcla se centrifugó a 15000 x g durante 5 minutos a 4 °C. 50 µL del sobrenadante se inyectaron en el cromatógrafo.

4.2 Síntesis

4.2.1 Obtención y caracterización de los derivados 3-(1*H*-3-indolil)-propanoles 1a-c.

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



Se agregó fenilhidrazina clorhidrato (1g; 7 mmol) en dimetilacetamida (DMA) (10 mL), H₂SO₄ al 4% p/p (10 mL) y luego 3,4-dihidropirano (0.63 mL; 7 mmol). Se obtuvieron (1083 mg; 90% de rendimiento) de un líquido oleoso de color café.

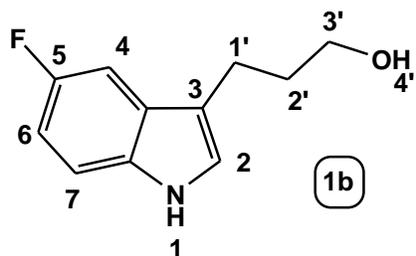
¹H-RMN (CDCl₃): δ 1.78 (s, 1H, H-4'), 1.96 (q, 2H, H-2', *J* = 7.6 Hz), 2.83 (t, 2H, H-1', *J* = 7.5 Hz), 3.69 (t, 2H, H-3', *J* = 6.5 Hz), 6.93 (d, 1H, H-2, *J* = 2.1 Hz), 7.10 (td, 1H, H-5 o H-6, *J*_o = 7.3 Hz, *J*_m = 1.2 Hz), 7.18 (td, 1H, H-6 o H-5, *J*_o = 7.1 Hz, *J*_m = 1.2 Hz), 7.32 (d, 1H, H-4, *J* = 8.0 Hz), 7.60 (d, 1H, H-7, *J* = 7.8 Hz) y 8.03 (s, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 21.4, 32.9, 62.6, 111.2, 115.9, 118.9, 119.2, 121.4, 122.0, 127.5 y 136.4 ppm.

Análisis Elemental calculado para C₁₁H₁₃NO: C (75.40); H (7.48); N (7.99).

Encontrado: C (75.35); H (7.42); N (7.89).

3-(5-Flúor-1H-3-indolil)-propanol (1b)



Reaccionaron 4-flúor-fenilhidrazina clorhidrato (1 g; 6 mmol) y 3,4-dihidropirano (0.54 mL; 6 mmol). Generando (1010 mg; 85% de rendimiento) de un líquido café de aspecto oleoso.

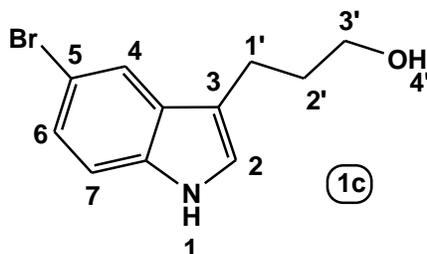
¹H-RMN (CDCl₃): δ 1.79 (s, 1H, H-4'), 1.95 (q, 2H, H-2', $J = 7.6$ Hz), 2.79 (t, 2H, H-1', $J = 7.6$ Hz), 3.7 (t, 2H, H-3', $J = 6.5$ Hz), 6.92 (td, 1H, H-6, $J_o = 9.2$ Hz, $J_m = 2.4$ Hz), 7.02 (d, 1H, H-2, $J = 2.0$ Hz), 7.23 (m, 2H, H-4 y H-7) y 8.11 (s, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 21.3, 32.8, 62.5, 103.8 (d, $^2J_{C-F} = 23.2$ Hz), 110.3 (d, $^2J_{C-F} = 26$ Hz), 111.7 (d, $^3J_{C-F} = 9.4$ Hz), 116.1 (d, $^4J_{C-F} = 4.4$ Hz), 123.2, 127.9 (d, $^3J_{C-F} = 10$ Hz), 132.9 y 157.7 (d, $^1J_{C-F} = 234$ Hz) ppm.

Análisis Elemental calculado para C₁₁H₁₂FNO: C (68.38); H (6.26); N (7.25).

Encontrado: C (68.33); H (6.31); N (7.29).

3-(5-Bromo-1H-3-indolil)-propanol (1c)



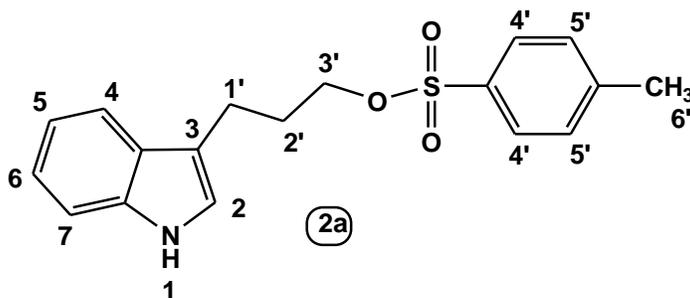
Reaccionaron 4-bromo-fenilhidrazina clorhidrato (1 g; 4.47 mmol) y 3,4-dihidropirano (0.4 mL; 4.47 mmol). Se obtuvieron (910 mg; 80% de rendimiento) de un líquido amarillo oleoso.

¹H-RMN (CDCl₃): δ 1.62 (s, 1H, H-4'), 1.94 (q, 2H, H-2', *J* = 6.5 Hz), 2.79 (t, 2H, H-1', *J* = 7.5 Hz), 3.70 (t, 2H, H-3', *J* = 6.4 Hz), 6.84 (d, 1H, H-7, *J* = 8.1 Hz), 6.98 (d, 1H, H-2, *J* = 2.2 Hz), 7.25 (dd, 1H, H-6, *J*_o = 8.6 Hz, *J*_m = 2.1 Hz), 7.72 (d, 1H, H-4, *J* = 1.7 Hz) y 8.26 (s, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 20.2, 32.8, 59.8, 110.3, 112.8, 113.9, 120.1, 122.7, 123.4, 128.6 y 134.4 ppm.

4.2.2 Obtención y caracterización de los derivados (1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonatos 2a-c.

3-(1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (2a)



Se agregaron 3-(1*H*-3-indolil)-propanol (**1a**) (1,1 g; 6.2 mmol) en CH₂Cl₂ seco (30 mL), cloruro de *p*-toluensulfonilo (1175 mg; 6.2 mmol) y trietilamina (TEA) anhidra (0.85 mL; 6.2 mmol) en presencia de concentraciones catalíticas de 4-dimetilaminopiridina (12 mg; 0.098 mmol). Se obtuvieron (1421 mg; 70% de rendimiento) de un sólido de color café.

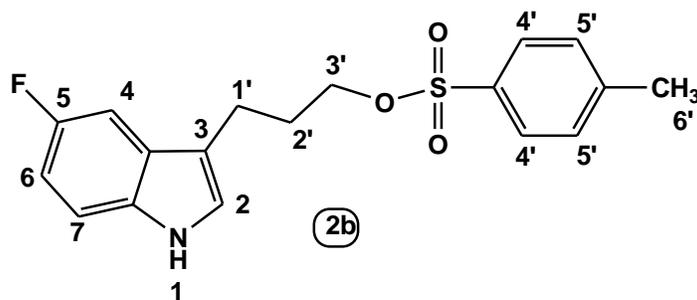
Pf: 84-86 °C.

¹H-RMN (CDCl₃): δ 2.02 (m, 2H, H-2'), 2.43 (s, 3H, H-6'), 2.80 (t, 2H, H-1', *J* = 7.3 Hz), 4.07 (t, 2H, H-3', *J* = 6.2 Hz), 6.89 (s, 1H, H-2), 7.08 (td, 1H, H-5 o H-6, *J*_o = 7.8 Hz, *J*_m = 1.1 Hz), 7.17(td, 1H, H-6 o H-5, *J*_o = 7.0 Hz, *J*_m = 1.1 Hz), 7.32 (t, 3H, H-4, y H-5', *J* = 9.1 Hz), 7.49 (d, 1H, H-4, *J* = 7.8 Hz), 7.77 (d, 2H, H-4', *J* = 8.3 Hz) y 7.98 (s 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 20.9, 21.7, 29.1, 70.1, 111.2, 114.4, 118.7, 119.3, 121.8, 122.0, 127.2, 127.9(2X), 129.9(2X), 133.2, 136.4 y 144.7 ppm.

Análisis Elemental calculado para C₁₈H₁₉NO₃S: C (65.63), H (5.81), N (4.25), S (9.73); Encontrado: C (65.68), H (5.68), N (4.33), S (9.75).

3-(5-Flúor-1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (2b)



Reaccionaron 3-(5-flúor-1*H*-3-indolil)-propanol (**1b**) (1 g; 5 mmol), TEA anhidra (0.72 mL: 5 mmol), cloruro de *p*-toluensulfonilo (953mg; 5.0mmol) y concentraciones catalíticas de 4-dimetilaminopiridina (12 mg; 0.098 mmol). Se obtuvieron (1260 mg; 70% de rendimiento) de un sólido café claro.

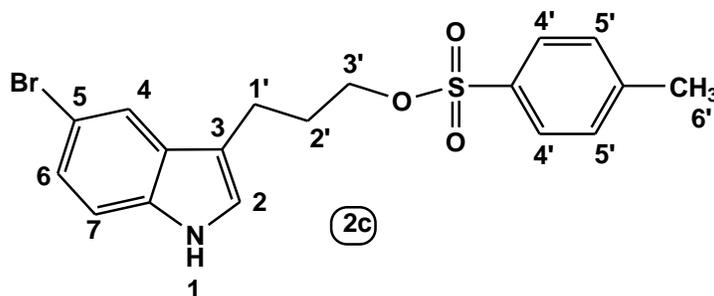
Pf: 75-77 °C.

¹H-RMN (CDCl₃): δ 1.99 (q, 2H, H-2', *J* = 7.3 Hz), 2.43 (s, 3H, H-6'), 2.74 (t, 2H, H-1', *J* = 7.3 Hz), 4.07 (t, 2H, H-3', *J* = 6.2 Hz), 6.90 (m, 2H, H-2 y H-6), 7.09 (dd, 1H, H-4, *J*_o = 9.6 Hz, *J*_m = 2.4 Hz), 7.24 (dd, 1H, H-7, *J*_o = 9.3 y *J*_m = 3.4 Hz), 7.31 (d, 2H, H-5', *J* = 8.0 Hz), 7.77 (d, 2H, H-4', *J* = 8.3 Hz) y 8.03 (s, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 20.8, 21.7, 29.3, 69.9, 103.5 (d, ²*J*_{C-F} = 23.2 Hz), 110.4 (d, ²*J*_{C-F} = 26.5 Hz), 111.8 (d, ³*J*_{C-F} = 9.4 Hz), 114.5 (d, ⁴*J*_{C-F} = 4.4 Hz), 123.6, 127.5 (d, ³*J*_{C-F} = 9.4 Hz), 127.8(2X), 129.9(2X), 133.9, 133.1, 144.8 y 157.7 (d, ¹*J*_{C-F} = 234.4 Hz) ppm.

HRMS: (EI) calculado para C₁₈H₁₈FNO₃S (M⁺): 347.09914. Encontrado: 347.09929.

3-(5-Bromo-1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (2c)



Reaccionaron 3-(5-bromo-1*H*-3-indolil)-propanol (**1c**) (1 g; 3.94 mmol), TEA anhidra (0.57 mL; 3.94 mmol), cloruro de *p*-toluensulfonilo (751 mg; 3.94 mmol) y concentraciones catalíticas de 4-dimetilaminopiridina (12mg; 0.098 mmol). Se obtuvieron (1205 mg; 75% de rendimiento) de un sólido café.

Pf: 77-78 °C.

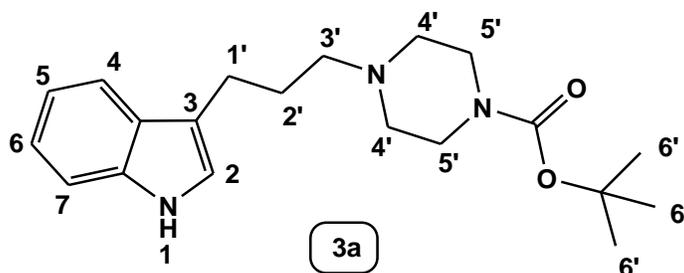
¹H-RMN (CDCl₃): δ 2.0 (q, 2H, H-2', *J* = 7.2 Hz), 2.44 (s, 3H, H-6'), 2.75 (t, 2H, H-1', *J* = 7.3 Hz), 4.07 (t, 2H, H-3', *J* = 6.2 Hz), 6.93 (td, 1H, H-6, *J*_o = 8.6 Hz, *J*_m = 2.2 Hz), 6.97 (d, 1H, H-2, *J* = 2.2 Hz), 7.10 (dd, 1H, H-7, *J* = 8.6 Hz), 7.45 (d, 2H, H-5', *J* = 8.2 Hz), 7.61 (d, 1H, H-4, *J* = 1.7 Hz), 7.77 (d, 2H, H-4', *J* = 8.2 Hz) y 11.1 (s, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 19.7, 20.6, 28.4, 70.0, 110.4, 112.2, 112.8, 120.0, 122.8, 123.6, 127.0(2X), 128.3, 129.6(2X), 132.0, 134.4 y 144.3 ppm.

Análisis Elemental calculado para C₁₈H₁₈BrNO₃S: C (52.95), H (4.44), N (3.43);
Encontrado: C (53.04), H (4.49), N (3.56).

4.2.3 Obtención y caracterización de los derivados [4-[3-(1*H*-3-indolil)propil]1-piperazinil] carbamatos de *t*-butilo 3a-c.

[4-[3-(1*H*-3-indolil)propil]1-piperazinil] carbamato de *t*-butilo (3a)



Se adicionó 3-(1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (**2a**) (1 g; 3.03 mmol) en CH₃CN seco (50 mL), N-Boc-piperazina (564 mg; 3.03 mmol) y K₂CO₃ anhidro (420 mg; 3.03 mmol). La mezcla de reacción se refluxó a una temperatura de 80 °C por 18 horas. Se obtuvieron (991 mg; 95% de rendimiento) de un sólido color blanco.

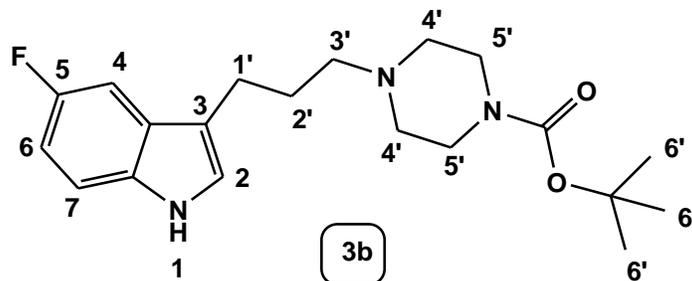
Pf: 101,8-102,8 °C.

¹H-RMN (CDCl₃): δ 1.46 (s, 9H, H-6'), 1.91 (q, 2H, H-2', *J* = 5.2 Hz), 2.38 (t, 4H, H-4', *J* = 5.2 Hz), 2.43 (m, 2H, H-3', *J* = 5.2 Hz), 2.78 (t, 2H, H-1', *J* = 7.5 Hz), 3.44 (t, 4H, H-5', *J* = 5.2 Hz), 6.96 (d, 1H, H-2, *J* = 2.1 Hz), 7.10 (td, 1H, H-6 o H-5, *J*_o = 7.7 Hz y *J*_m = 1.1 Hz), 7.18 (td, 1H, H-5 o H-6, *J*_o = 7.0 Hz, *J*_m = 1.0 Hz), 7.34 (d, 1H, H-7, *J* = 7.9 Hz), 7.60 (d, 1H, H-4, *J* = 7.8 Hz) y 8.11 (s. ancho, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 22.9, 27.3, 28.5 (3X), 43.6 (2X), 53.1 (2X), 58.4, 79.6, 111.1, 116.3, 118.9, 119.1, 121.2, 121.9, 127.5, 136,4 y 154.8 ppm.

HRMS: (EI) calculado para C₂₀H₂₉N₃O₂ (M⁺): 344,2338. Encontrado: 344,2350

[4-[3-(5-Flúor-1*H*-3-indolil)propil]-1-piperazinil] carbamato de *t*-butilo (3b)



Reaccionaron 3-(5-flúor-1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (**2b**) (1 g; 2.87 mmol), N-Boc-piperazina (535 mg; 2.87 mmol) y K₂CO₃ anhidro (397 mg; 2.87 mmol). Se obtuvieron (964 mg; 93% de rendimiento) de un sólido de color blanco marfil.

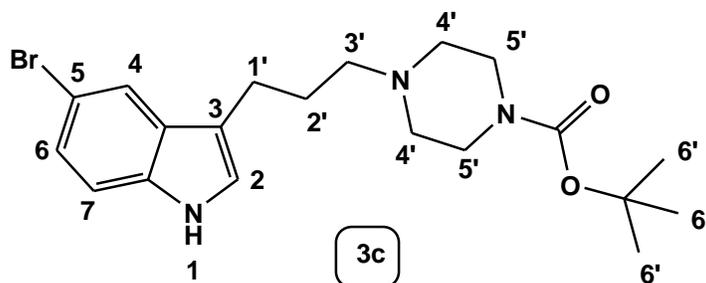
Pf: 137,8-139,0 °C.

¹H-RMN (CDCl₃): δ 1.46 (s, 9H, H-6'), 1.88 (q, 2H, H-2', *J* = 7.7 Hz), 2.35-2.45 (m, 6H, H-3' y H-4'), 2,73 (t, 2H, H-1', *J* = 7,5 Hz), 3.45 (t, 4H, H-5', *J* = 4.5 Hz), 6,92 (td, 1H, H-6, *J*_o = 9,1 Hz, *J*_m = 2,3 Hz), 7,01 (d, 1H, H-2, *J* = 1.8 Hz), 7.20-7,2 (m, 2H, H-4 y H-7), y 8.14 (s, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 22.8, 27.1, 28.5(3X), 43.5(2X), 53.1(2X), 58.2, 79.6, 103.8 (d, ²*J*_{C-F} = 22,6 Hz), 110.2 (d, ²*J*_{C-F} = 26,4 Hz), 111.6 (d, ³*J*_{C-F} = 10 Hz), 116.4 (d, ⁴*J*_{C-F} = 4,5 Hz), 123.0, 127.9 (d, ³*J*_{C-F} = 10 Hz), 132.8, 154.8 y 156.1 (d, ¹*J*_{C-F} = 231 Hz) ppm.

HRMS: (EI) calculado para C₂₀H₂₈FN₃O₂ (M⁺): 362,22439. Encontrado: 362,2257

[4-[3-(5-Bromo-1*H*-3-indolil)propil]-1-piperazinil] carbamato de *t*-butilo (3c)



Reaccionaron 3-(5-bromo-1*H*-3-indolil)propil-4-metilbencensulfonato (**2c**) (1 g; 2.5 mmol), N-Boc-piperazina (465 mg; 2.5 mmol) y K₂CO₃ anhidro (346 mg; 2.5 mmol). Se obtuvieron (931 mg; 90% de rendimiento) de un sólido color anaranjado claro.

Pf: 119,9-121,3 °C.

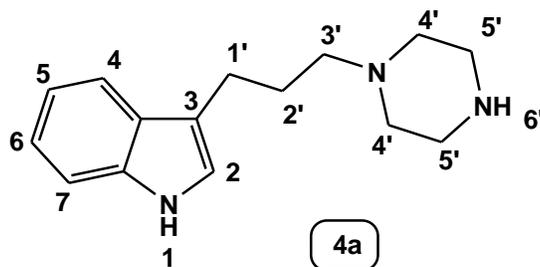
¹H-RMN (CDCl₃): δ 1.46 (s, H-6'), 1.87 (q, 2H, H-2', *J* = 7.4 Hz), 2.39 (m, 6H, H-3' y H-4'), 2.73 (t, 2H, H-1', *J* = 7.5 Hz), 3.45 (m, 4H, H-5'), 6.97 (d, 1H, 2-H, *J* = 2.1 Hz), 7.22 (m, 2H, H-6 y H-7), 7.73 (d, 1H, H-4, *J* = 1.6 Hz) y 8.24 (s, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 22.6, 27.3, 28.5 (3X), 43.6 (2X), 53.1 (2X), 58.1, 79.7, 112.4, 112.5, 116.0, 121.6, 122.5, 124.7, 129.4, 134.9 y 154.8 ppm.

HRMS: (EI) calculado para C₂₀H₂₈BrN₃O₂ (M⁺): 422,14432. Encontrado: 422,1489

4.2.4 Obtención y caracterización de los derivados 3-(3-piperazin-1-il-propil)-1*H*-indoles 4(a-c).

3-(3-piperazin-1-il-propil)-1*H*-indol (4a).



Se pesó y agregó [4-[3-(1*H*-3-indolil)propil]1-piperazinil] carbamato de *t*-butilo (**3a**) (1,5 g; 4.4 mmol) en CH₂Cl₂ seco (20 mL) más ácido trifluoroacético (12 mL). La mezcla resultante se mantuvo en un baño de hielo a 0°C por 4 horas. Se obtuvieron (867 mg; 82% de rendimiento) de un sólido amarillo pálido muy higroscópico que debió ser secado en línea de vacío por 1 día.

¹H-RMN (Acetona-*d*₆): δ 1.91 (q, 2H, H-2', *J* = 7.2 Hz), 2.40-2.53 (m ancho, 3H, H-1' y H-6'), 2.68 (t, 4H, H-4', *J* = 4.8 Hz), 2.81 (t, 2H, H-3', *J* = 7.5 Hz), 3.20 (t, 4H, H-4', *J* = 5.0 Hz), 7.01 (td, 1H, H-5 o H-6, *J*_o = 7.4 Hz, *J*_m = 1.0 Hz), 7.09 (td, 1H, H-6 o

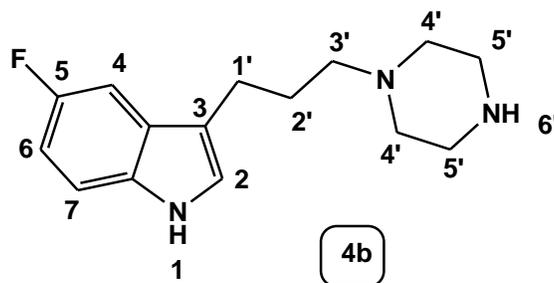
H-5, $J_o = 7.1$ Hz, $J_m = 1.0$ Hz), 7.15 (s, 1H, H-2), 7.38 (d, 1H, H-4, $J = 8.0$ Hz), 7.59 (d, 1H, H-7, $J = 7.8$ Hz) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (Acetona- d_6): δ 27.6, 32.3, 49.1(2X), 56.2(2X), 62.9, 116.4, 120.2, 123.5, 123.6, 126.3, 127.0, 132.9, 141.9 ppm.

Análisis Elemental calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{N}_3$: C, (74.03); H, (8.70); N, (17.27).

Encontrado: C, (74.61); H, (8.58); N, (17.22).

5-Flúor-3-(3-piperazin-1-il-propil)-1H-indol (4b)



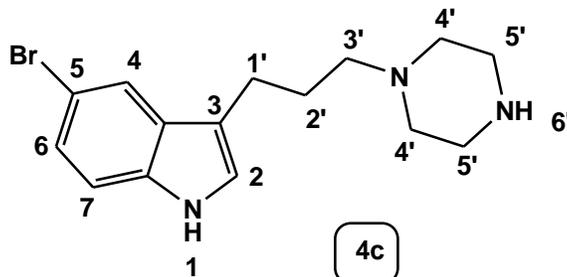
Reaccionaron [4-[3-(5-fluor-1H-3-indolil)propil]-1-piperazinil] carbamato de *t*-butilo (**3b**) (1,5 g; 4.15 mmol) más ácido trifluoro-acético (12 mL). Se obtuvieron (958 mg; 88% de rendimiento).de un sólido café claro.

$^1\text{H-RMN}$ (Acetona- d_6): δ 1.76 (q, 2H, H-2', $J = 7.2$ Hz), 2.37 (t, 2H, H-1', $J = 7.0$ Hz), 2.52-2.68 (m ancho, 7H, H-3', H-4' y H-6'), 3.13 (t, 4H, H-5', $J = 5.0$ Hz), 6.75 (td, 1H, H-6, $J_o = 9.2$ Hz, $J_m = 2.5$ Hz), 7.10 (s, 1H, H-2), 7.14 (dd, 1H, H-7, $J_o = 9.9$ Hz, $J_m = 2.5$ Hz) y 7.38 (dd, 1H, H-4, $J_o = 8.8$ Hz, $J_m = 4.5$ Hz) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (Acetona- d_6): δ 21.4, 25.6, 48.3(2X), 51.6(2X), 56.3, 102.3 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 22.9$ Hz), 108.4 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 26.2$ Hz), 111.8 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 9.8$ Hz), 113.7 (d, $^4J_{\text{C-F}} = 4.6$ Hz), 123.7, 126.7 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 9.4$ Hz), 132.2 y 156 (d, $^1J_{\text{C-F}} = 231$ Hz).

HRMS: (EI) Calculado para $C_{15}H_{21}FN_3$ (M^+) = 262.1719, encontrado: 262.1718.

5-Bromo-3-(3-piperazin-1-il-propil)-1H-indol (4c)



Reaccionaron [4-[3-(5-bromo-1H-3-indolil)propil]-1-piperazinil] carbamato de *t*-butilo (**3c**) (1,5 g; 3.55 mmol) más ácido trifluoro-acético (12 mL). Se obtuvieron (985 mg, 86% de rendimiento) de un sólido café claro.

1H -RMN ($CDCl_3$): δ 1.72 (q, 2H, H-2', $J = 7.9$ Hz), 2.30 (t, 2H, H-3', $J = 7.4$ Hz), 2.57 (m, 4H, H-4'), 2.80 (t, 2H, H-1', $J = 7.8$ Hz), 3.02 (m, 4H, H-5'), 5.43 (s ancho, 1H, H-6'), 7.10-7.16 (m, 2H, H-2 y H-6), 7.33 (d, 1H, H-7, $J = 8.5$ Hz), 7.62 (d, 1H, H-4, $J = 1.6$ Hz) y 11.58 (s ancho, 1H, H-1) ppm.

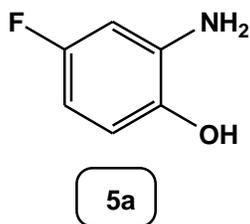
^{13}C -RMN ($CDCl_3$): δ 22.2, 26.9, 45.8(2X), 52.8(2X), 57.2, 110.3, 112.6, 113.3, 120.8, 122.7, 123.3, 129.0 y 135.0 ppm.

Análisis Elemental calculado para $C_{15}H_{20}BrN_3$: C (55.91); H (6.26); N (13.04).

Encontrado: C (55.76); H (6.22); N (12.92).

4.2.5 Obtención de los derivados o-aminofenoles (4-5 sustituidos) 5a-e.

2-amino-4-flúorofenol (5a)

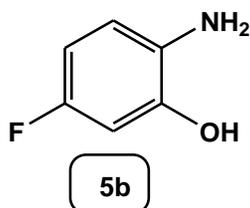


A una mezcla conteniendo agua, ácido acético y etanol (60 mL, 1:1:1), se adicionó 4-flúoro-2-nitrofenol (1 g; 6.4 mmol) y hierro metálico en polvo (1398 mg; 24.96 mmol), La mezcla resultante se dejó calentar por 3hr a 70°C.

Se obtuvo un sólido de color café cromatográficamente puro (762 mg; 94.2% de rendimiento).

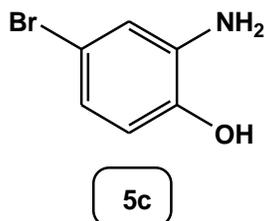
En relación a la reconocida inestabilidad al aire y la luz de los 1,2 y 1,4 aminofenoles y con el fin de evitar oxidaciones del sustrato, se procedió una vez obtenidos a su inmediata reacción con cloruro de 2-clororoacetilo para la formación de los intermediarios **4H-benzo[1,4]oxazin-3-onas**.

2-Amino-5-flúorofenol (5b)



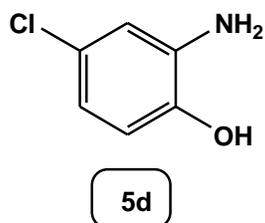
Reaccionaron 5-flúor-2-nitrofenol (1 g; 6.4 mmol) y hierro metálico (1398 mg; 24.96 mmol). Se obtuvieron (800 mg, 98.8% de rendimiento) de un sólido café claro.

2-Amino-4-bromofenol (5c)



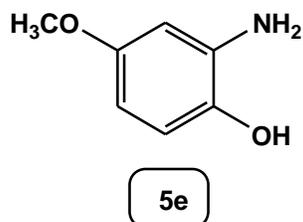
Reaccionaron 4-bromo-2-nitrofenol (1 g; 4.59 mmol) y hierro metálico (1000 mg; 17.9 mmol). Se obtuvieron (813 mg; 94% de rendimiento).de un sólido café.

2-Amino-4-clorofenol (5d)



Reaccionaron 4-cloro-2-nitrofenol (1 g; 5.76 mmol) y hierro metálico (1258 mg; 22.46 mmol). Se obtuvieron (724 mg; 87.5% de rendimiento) de un sólido café.

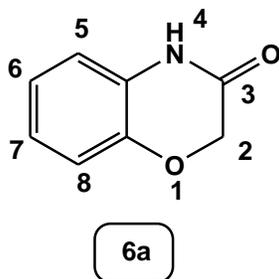
2-Amino-4-metoxifenol (5e)



Reaccionaron 4-metoxi-2-nitrofenol (1 g; 5.9 mmol) y hierro metálico. (1289 mg; 23.01 mmol). Se obtuvieron (779 mg; 94.5% de rendimiento).de un sólido negro.

4.2.6 Obtención y caracterización de los derivados 4H-benzo[1,4]oxazin-3-onas 6a-f.

4H-benzo[1,4]oxazin-3-ona (6a)



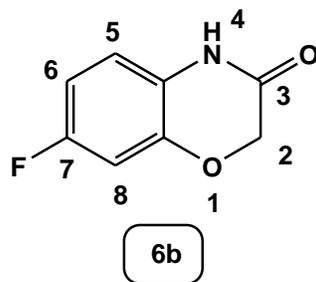
Se agregaron 2-aminofenol (2 g; 18.33 mmol) en CH₃CN seco (70 mL) y cloruro de cloroacetilo (1.48 mL; 18.33 mmol) la solución se agitó por 5 min a temperatura ambiente, adicionándose posteriormente K₂CO₃ anhidro (2533 mg; 18.33 mmol). La mezcla resultante se sometió a reflujo a 80 °C por 20 hrs. Se obtuvieron (2536 mg; 92.7% de rendimiento) de un sólido blanco de aspecto finamente dividido.

Pf: 170,5-171,3 °C.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 4.51 (s, 2H, H-2), 6.82-6.92 (m, 4H, H-5, H-6, H-7 y H-8) y 10.66 (s, 1H, H-4) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 67.2, 116.3, 116.6, 122.8, 123.5, 127.7, 143.7 y 165.4 ppm.

7-Flúoro-4*H*-benzo[1,4]oxazin-3-ona (6b)



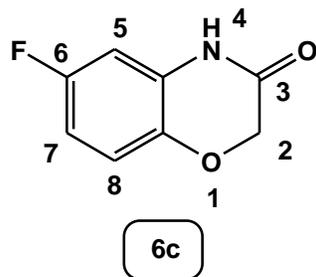
Reaccionaron 2-amino-5-flúorofenol (**5b**) (1,5 g; 11.8 mmol), cloruro de cloroacetilo (0.95 mL; 11.8 mmol) y K_2CO_3 anhidro (1631 mg; 11.8 mmol). Se obtuvieron (1726 mg; 90% de rendimiento) de un sólido blanco.

Pf: 201,3-202,8 °C.

1H -RMN (DMSO- d_6): δ 4.64 (s, 2H, H-2), 6.85 (td, 1H, H-6, $J_o = 8.6$ Hz, $J_m = 2.6$ Hz), 6.90-6.96 (m, 2H, H-5 y H-8) y 10.78 (s, 1H, H-4) ppm.

^{13}C -RMN (DMSO- d_6): δ 67.1, 104.5 (d, $^2J_{C-F} = 26$ Hz), 109.1 (d, $^2J_{C-F} = 23$ Hz), 116.7 (d, $^3J_{C-F} = 10$ Hz), 124.3 (d, $^4J_{C-F} = 3.0$ Hz), 144.5 (d, $^3J_{C-F} = 12$ Hz), 158.2 (d, $^1J_{C-F} = 237$ Hz) y 164.7 ppm.

6-flúoro-4*H*-benzo[1,4]oxazin-3-ona (6c)



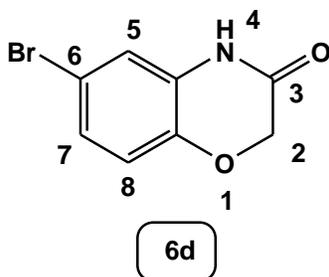
Reaccionaron 4-flúoro-2-nitrofenol (**5a**) (1,5 g; 11.8 mmol), cloruro de cloroacetilo (0.95 mL; 11.8 mmol) y K₂CO₃ anhidro (1631 mg; 11.8 mmol). Se obtuvo un sólido blanco (1785 mg, 93% de rendimiento).

Pf: 205,4-206,2 °C.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 4.61 (s, 2H, H-2), 6.73-6.82 (m, 2H, H-7 y H-8), 7.02 (dd, 1H, H-5, *J*_o = 8.7 Hz, *J*_m = 5.1 Hz), 10.85 (s, 1H, H-4) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 67.2, 103.2 (d, ²*J*_{C-F} = 27 Hz), 109.2 (d, ²*J*_{C-F} = 24 Hz), 117.5 (d, ³*J*_{C-F} = 9 Hz), 128.9 (d, ³*J*_{C-F} = 12 Hz), 140.1 (d, ⁴*J*_{C-F} = 2.3 Hz), 157.7 (d, ¹*J*_{C-F} = 235.5 Hz), 165.4 ppm.

6-Bromo-4*H*-benzo[1,4]oxazin-3-ona (6d)



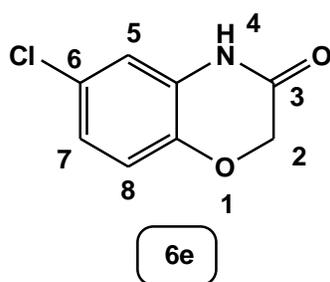
Reaccionaron 2-amino-4-bromofenol (**5c**) (1 g; 5.32 mmol), cloruro de cloroacetilo (0.43 mL; 5.32 mmol) y K₂CO₃ anhidro (735 mg; 5.32 mmol). Finalmente se obtuvieron (1116 mg; 92% de rendimiento) de un sólido café claro.

Pf: 184,8-185,9 °C.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 4.64 (s, 2H, H-2), 6.97 (d, 1H, H-8, *J* = 8.5 Hz), 7.09 (d, 1H, H-5, *J* = 2.3 Hz), 7.12 (dd, 1H, H-7, *J*_o = 8.5 Hz, *J*_m = 2.3 Hz) y 10.87 (s, 1H, H-4) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 67.1, 113.7, 118.4, 118.5, 125.9, 129.5, 143.1 y 165.1 ppm

6-Cloro-4*H*-benzo[1,4]oxazin-3-ona (6e)



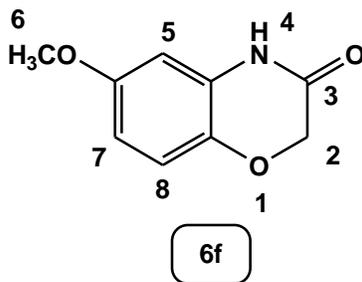
Reaccionaron 2-amino-4-clorofenol (**5d**) (1 g; 6.96 mmol), más cloruro de cloroacetilo (0.56 mL; 6.96 mmol) y K₂CO₃ anhidro (962 mg; 6.96 mmol). Se obtuvieron (1163 mg; 91% de rendimiento) de un sólido café claro.

Pf: 214,7-215,3 °C.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 4.64 (s, 2H, H-2), 6.95-7.01 (m, 3H, H-5, H-7 y H-8) y 10.87 (s, 1H, H-4) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 67.1, 115.7, 118.1, 122.9, 126.2, 129.2, 142.6 y 165.1 ppm

6-Metoxi-4*H*-benzo[1,4]oxazin-3-ona (6f)



Reaccionaron 2-amino-4-metoxifenol (**5e**) (1 g; 7.18 mmol), cloruro de cloroacetilo (0.58 mL; 7.18 mmol) y K₂CO₃ anhidro (992 mg; 7.18 mmol). Finalmente se obtuvieron (1146 mg, 89% de rendimiento) de un sólido violeta claro.

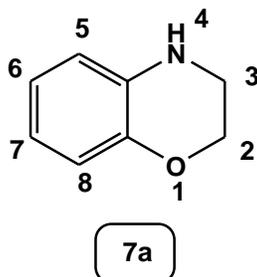
Pf: 164,8-165,9 °C.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 3.73 (s, 3H, H-6), 4.53 (s, 2H, H-2), 6.50-6.58 (m, 2H, H-5 y H-8), 6.92 (m, 1H, H-7) y 10.68 (s, 1H, H-4) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 55.8, 67.3, 102.3, 108.0, 117.0, 128.5, 137.6, 155.1 y 165.8 ppm.

4.2.7 Obtención y caracterización de los derivados 3,4-dihidro-2*H*-benzo[1,4]oxazinas 7a-f.

3,4-dihidro-2*H*-benzo[1,4]oxazina (7a)

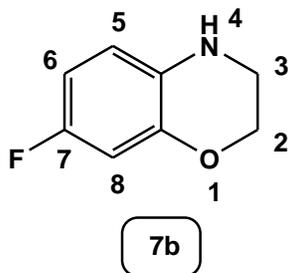


Se agregó LiAlH_4 (1069 mg; 28.16 mmol) en tetrahidrofurano (THF) seco (60 mL), soportado en un baño de hielo y con atmosfera de nitrógeno. A continuación, se acopló un embudo de adición a presión constante para adicionar gota a gota una solución que contenía 4*H*-benzo[1,4]oxazin-3-ona (**6a**) (2 g; 13.41 mmol) disueltos en THF seco (50 mL). Una vez terminada la adición por goteo, la mezcla se dejó con agitación por 2hrs a temperatura ambiente. Se obtuvieron (1667 mg; 92% de rendimiento).de un líquido oleoso de color café.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3): δ 3.39 (s, 2H, H-2, $J = 4.5$ Hz), 3.50 (s, 1H, H-4) 4.23 (s, 2H, H-3, $J = 4.4$ Hz), 6.77 (dd, 1H, H-5, $J_o = 7.6$ Hz, $J_m = 1.8$ Hz), 6.65 (td, 1H, H-6 o H-7, $J_o = 7.7$ Hz, $J_m = 1.6$ Hz) y 6.71-6.80 (m, 2H, H-7 o H-6 y H-8) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3): δ 40.9, 65.1, 115.6, 116.7, 118.7, 121.2, 133.6, 144.1 ppm.

7-Flúoro-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazina (7b)

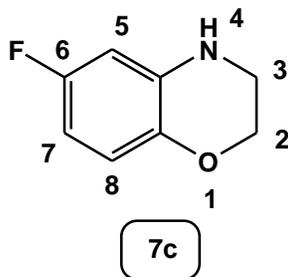


Reaccionaron 7-flúoro-4H-benzo[1,4]oxazin-3-ona (**6b**) (1,5 g; 9 mmol) y LiAlH_4 (717 mg; 18.9 mmol). Se obtuvieron (1251 mg; 91 % de rendimiento) de un líquido oleoso café claro.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3): δ 3.37 (t, 2H, H-3 $J = 4.5$ Hz), 3.60 (s, 1H, H-4), 4.23 (t, 2H, H-2, $J = 4.4$ Hz) y 6.43-6.56 (m, 3H, H-5, H-6 y H-8) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3): δ 41.0, 65.5, 104.3 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 26$ Hz), 107.5 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 22$ Hz), 115.9 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 9$ Hz), 129.7 (d, $^4J_{\text{C-F}} = 2$ Hz), 144.7 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 11$ Hz) y 156.3 (d, $^1J_{\text{C-F}} = 236$ Hz) ppm.

6-Flúoro-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazina (7c)

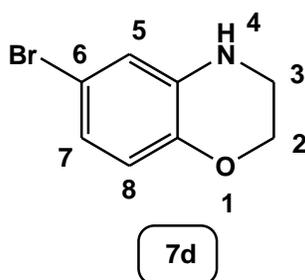


Reaccionaron agregaron 6-flúoro-4H-benzo[1,4]oxazin-3-ona (**6c**) (1,5 g; 9 mmol) y LiAlH₄ (717 mg; 18.9 mmol). Se obtuvieron (1200 mg; 87% de rendimiento) de un líquido café claro.

¹H-RMN (CDCl₃): δ 3.36 (t, 2H, H-3 $J = 4.5$ Hz), 3.77 (s, 1H, H-4), 4.17 (t, 2H, H-2, $J = 4.3$ Hz), 6.24-6.34 (m, 2H, H-7 y H-8 Ar) y 6.67 (dd, 1H, H-5, $J_o = 5.4$ Hz, $J_m = 4.3$ Hz) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 40.7, 67.2, 101.8 (d, $^2J_{C-F} = 26$ Hz), 104.2 (d, $^2J_{C-F} = 23$ Hz), 117.0 (d, $^3J_{C-F} = 10$ Hz), 134.5 (d, $^3J_{C-F} = 11$ Hz), 139.9 (d, $^4J_{C-F} = 2.2$ Hz) y 157.7 (d, $^1J_{C-F} = 237$ Hz) ppm.

6-Bromo-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazina (7d)

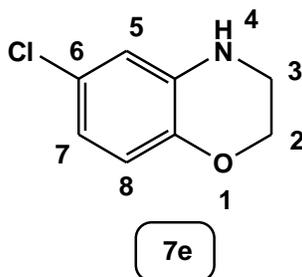


Reaccionaron 6-bromo-4*H*-benzo[1,4]oxazin-3-ona (**6d**) (1,5 g; 6.6 mmol) y LiAlH₄ (526 mg; 13.86 mmol). Se obtuvieron (1288 mg; 92% de rendimiento) de un líquido café.

¹H-RMN (CDCl₃): δ 3.39 (t, 2H, H-2, *J* = 4.5 Hz), 3.81 (s, 1H, H-4), 4.21 (t, 2H, H-3, *J* = 4.3 Hz), 6.63 (d, 1H, H-8, *J* = 8.3 Hz) y 6.68-6.75 (m, 2H, H-5 y H-7) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 40.6, 65.0, 113.2, 117.6, 118.1, 121.2, 135.1 y 143.1ppm.

6-Cloro-3,4-dihidro-2*H*-benzo[1,4]oxazina (7e)

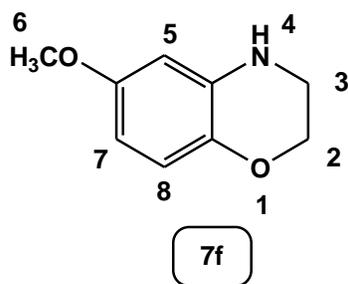


Reaccionaron 6-cloro-4*H*-benzo[1,4]oxazin-3-ona (**6e**) (1,5 g; 8.17 mmol) y LiAlH₄ (651 mg; 17.16 mmol). Finalmente se obtuvieron (1233 mg; 89% de rendimiento) de un líquido café claro.

¹H-RMN (CDCl₃): δ 3.39 (t, 2H, H-2, *J* = 4.5 Hz), 3.81 (s, 1H, H-4), 4.21 (t, 2H, H-3, *J* = 4.4 Hz), 6.53-6.60 (m, 2H, H-5 y H-7) y 6.68 (d, 1H, H-8, *J* = 8.3 Hz) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 40.6, 65.0, 114.9, 117.6, 118.2, 125.9, 134.6 y 142.6 ppm.

6-Metoxi-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazina (7f)



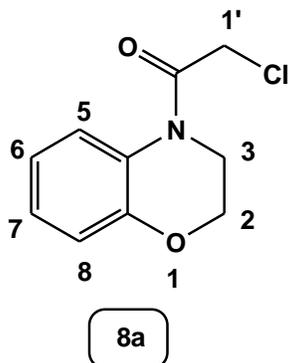
Reaccionaron 6-metoxi-4H-benzo[1,4]oxazin-3-ona (**6f**) (1,5 g; 8.4 mmol) y LiAlH₄ (669 mg; 17.64 mmol). Se obtuvieron (1251 mg; 91% de rendimiento) de un líquido café oscuro.

¹H-RMN (CDCl₃): δ 3.39 (t, 2H, H-2, *J* = 4.5 Hz), 3.71 (s, 3H, H-6), 3.78 (s, 1H, H-4), 4.19 (t, 2H, H-3, *J* = 4.3 Hz), 6.17 (d, 1H, H-5, *J* = 2.8 Hz), 6.21 (dd, 1H, H-7, *J*_o = 8.6 Hz, *J*_m = 2.8 Hz) y 6.68 (d, 1H, H-8, *J* = 8.7 Hz) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 41.1, 55.6, 65.0, 101.4, 103.5, 116.9, 134.1, 138.3 y 154.4 ppm.

4.2.8 Obtención y caracterización de los derivados 2-cloro-1-(2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-etanamidas 8a-f.

2-cloro-1-(2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-etanamida (8a)



Se agregaron 3,4-dihidro-2*H*-benzo[1,4]oxazina (**7a**) (2684 mg; 19.86 mmol) en THF seco (60 mL), trietilamina (TEA) (2.38 mL; 19.86 mmol) y cloruro de cloroacetilo (1.61 mL; 19.86 mmol). El sistema fue soportado en un baño de hielo más la presencia de atmosfera de nitrógeno, dejándose reaccionar por un lapso de 2 horas. Se obtuvieron (3180 mg; 76% de rendimiento) de un sólido blanco.

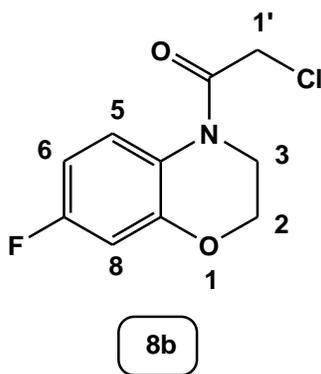
Pf: 104,2-102,5 °C.

H-RMN (CDCl₃): δ 3.87 (t, 2H, H-3, *J* = 4.8 Hz), 4.30 (t, 2H, H-2, *J* = 4.4 Hz), 4.64 (s, 2H, H-1'), 6.85-6.93 (m, 2H, H-6 y H-8), 7.08 (t, 1H, H-7, *J* = 7.5 Hz) y 7.85 (s ancho, 1H, H-5) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 40.2, 43.7, 66.1, 115.4, 116.8, 118.9, 122.2, 135.6, 143.1 y 165.2 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₁₀H₁₀ClNO₂ (M⁺) = 212,04784, encontrado: 212,0512.

2-Cloro-1-(7-flúoro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il) etanamida (8b)



Reaccionaron 7-flúoro-3,4-dihidro-2*H*-benzo[1,4]oxazina (**7b**) (1485 mg; 9.69 mmol), trietilamina (1.16 mL; 9.69 mmol) y cloruro de cloroacetilo (0.79 mL; 9.69

mmol). Finalmente se obtuvieron (1669 mg; 75% de rendimiento) de un sólido blanco.

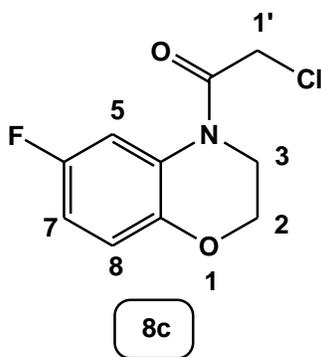
Pf: 99,8-100,4 °C.

¹H-RMN (CDCl₃): δ 3.97 (t, 2H, H-3, *J* = 4.8 Hz), 4.29 (s, 2H, H-1'), 4.35 (t, 2H, H-2, *J* = 4.3 Hz), 6.60-6.70 (m, 2H, H-6 y H-8) y 7.96 (s ancho, 1H, H-5) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 41.1, 46.5, 66.5, 105.4 (d, ²*J*_{C-F} = 26 Hz), 106.5 (d, ²*J*_{C-F} = 22 Hz), 114.9 (d, ³*J*_{C-F} = 9 Hz), 129.1 (d, ⁴*J*_{C-F} = 2 Hz), 143.8 (d, ³*J*_{C-F} = 11 Hz), 155.3 (d, ¹*J*_{C-F} = 236 Hz) y 171.0 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₁₀H₉ClFNO₂ (M⁺) = 230,03841, encontrado: 230,0394.

2-Cloro-1-(6-flúoro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-etanamida (8c)



Reaccionaron 6-flúoro-3,4-dihidro-2*H*-benzo[1,4]oxazina (**7c**) (1485 mg; 9.69 mmol), trietilamina (1.16 mL; 9.69 mmol) y cloruro de cloroacetilo (0.79 mL; 9.69 mmol). Se obtuvieron (1645 mg; 74% de rendimiento) de un sólido blanco.

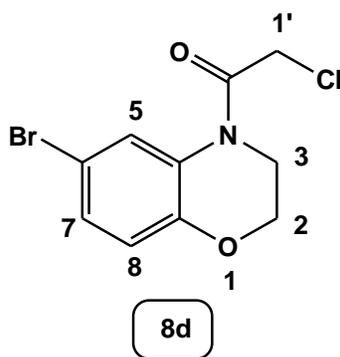
Pf: 99,1-100,8 °C.

¹H-RMN (CDCl₃): δ 3.87 (t, 2H, H-3, *J* = 4.8 Hz), 4.28 (t, 2H, H-2 *J* = 4.7 Hz), 4.70 (s, 2H, H-1'), 6.91-6.96 (m, 2H, H-7 y H-8) y 7.87 (s ancho, 1H, H-5) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 40.1, 44.0, 65.6, 110.2 (d, ²*J*_{C-F} = 26 Hz), 112.6 (d, ²*J*_{C-F} = 23 Hz), 118.2 (d, ³*J*_{C-F} = 10 Hz), 126.4 (d, ³*J*_{C-F} = 11 Hz), 143.2 (d, ⁴*J*_{C-F} = 2.2 Hz), 155.6 (d, ¹*J*_{C-F} = 237 Hz) y 165.6 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₁₀H₉ClFNO₂ (M⁺) = 230,03841, encontrado: 230,0387.

2-Cloro-1-(6-bromo-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-etanamida (8d)



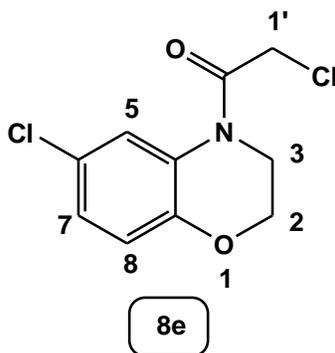
Reaccionaron 6-bromo-3,4-dihidro-2*H*-benzo[1,4]oxazina (**7d**) (1 g; 4.67 mmol), trietilamina (0.56 mL 4.67 mmol) y cloruro de cloroacetilo (0.38 mL; 4.67 mmol). Finalmente se obtuvieron (1020 mg; 74% de rendimiento) de un sólido café claro.

Pf: 97,4-98,3 °C.

¹H-RMN (CDCl₃): δ 3.94 (t, 2H, H-3, *J* = 4.7 Hz), 4.29 (s, 2H, H-1'), 4.34 (t, 2H, H-2, *J* = 4.6 Hz), 6.82 (d, 1H, H-8, *J* = 8.7 Hz), 7.22 (dd, 1H, H-7, *J*_o = 9.5 Hz, *J*_m = 1.5 Hz) y 7.79 (s ancho, 1H, H-5) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3): δ 41.6, 45,3 67.1, 115.1, 118.6, 119.3, 127.6, 133.8, 147.9 y 168.4 ppm.

2-Cloro-1-(6-cloro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-etanamida (8e)



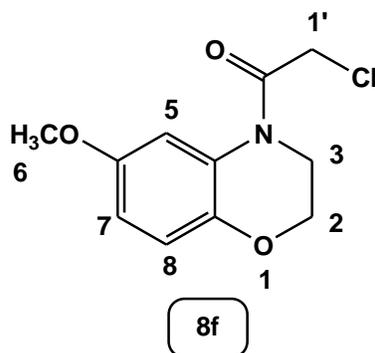
Reaccionaron 6-cloro-3,4-dihidro-2*H*-benzo[1,4]oxazina (**7e**) (1 g; 5.45 mmol), trietilamina (0.63 mL; 5.45 mmol) y cloruro de cloroacetilo (0.44 mL; 5.45 mmol). Se obtuvieron (1058 mg; 78% de rendimiento) de un sólido café claro.

Pf: 95,3-96,8 °C.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3): δ 3.94 (t, 2H, H-3, $J = 4.5$ Hz), 4.29 (s, 2H, H-1'), 4.34 (t, 2H, H-2, $J = 4.6$ Hz), 6.86 (d, 1H, H-8, $J = 8.8$ Hz), 7.08 (dd, 1H, H-7, $J_o = 8.6$ Hz, $J_m = 1.2$ Hz) y 7.92 (s ancho, 1H, H-5) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3): δ 41.6, 44.8, 66.2, 116.3, 119.6, 123.2, 127.5, 138.4, 145.7 y 164.9 ppm.

2-Cloro-1-(6-metoxi-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-etanamida (8f)



Reaccionaron 6-metoxi-3,4-dihidro-2*H*-benzo[1,4]oxazina (**7f**) (1 g; 5.6 mmol), trietilamina (0.67 mL 5.6 mmol) y cloruro de cloroacetilo (0.45 mL; 5.6 mmol), lo que condujo a la obtención de un sólido blanco (1078 mg; 80% de rendimiento).

Pf: 94,8-95,9 °C.

¹H-RMN (CDCl₃): δ 3.78 (s, 3H, H-6), 3.96 (m, 2H, H-3), 4.30 (t, 2H, H-2, *J* = 4.7 Hz), 4.33 (s, 2H, H-1'), 6.39 (s ancho, 1H, H-5), 6.72 (dd, 1H, H-7, *J*_o = 8.9 Hz, *J*_m = 2.6 Hz) y 6.86 (d, 1H, H-8, *J* = 9.0 Hz) ppm.

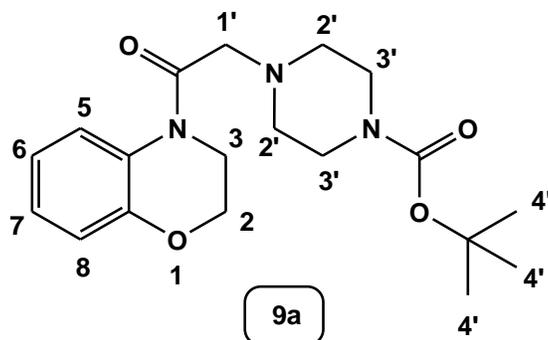
¹³C-RMN (CDCl₃): δ 41.5, 44.8, 662, 102.7, 107.8, 117.4, 138.1, 142.3, 157.1 y 164.9 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₁₁H₁₂ClNO₃ (M⁺) = 242,0584, encontrado: 242,0633.

4.2.9 Obtención y caracterización de los derivados [4-[2-(3,4-dihidro-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-4-il)-2-oxo-etil]-piperazina-1-il] carbamatos de *t*-butilo 9a-f.

[4-[2-(3,4-dihidro-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-4-il)-2-oxo-etil]-1-piperazinil]

carbamato de *t*-butilo (9a)



Se pesaron y agregaron 2-cloro-1-(2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-etanamida (**8a**) (1,5 g; 7.09 mmol) en CH₃CN seco (60 mL), K₂CO₃ anhidro (980 mg; 7.09 mmol) y N-Boc-piperazina (1321 mg; 7.09 mmol). Esta mezcla se dejó a reflujo a una temperatura de 80°C por 24 hrs. Se obtuvieron (2152 mg; 84% de rendimiento) de un producto sólido de color blanco.

Pf: 133,0-134,0 °C.

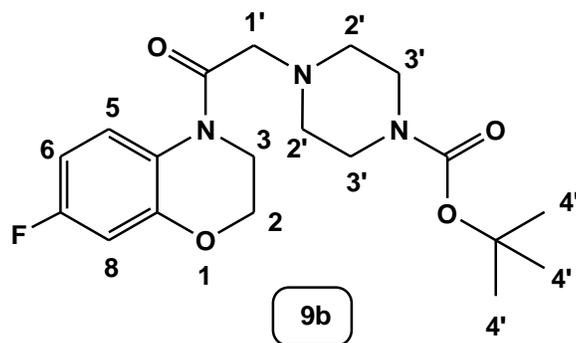
¹H-RMN (CDCl₃): δ 1.45 (s, 9H, H-4'), 2.52 (t, 4H, H-3', *J* = 4.8 Hz), 3.39 (s, 2H, H-1'), 3.45 (t, 4H, H-2', *J* = 4.5 Hz), 3.99 (t, 2H, H-3, *J* = 4.8 Hz), 4.31 (t, 2H, H-2, *J* = 4.4 Hz), 6.91 (m, 2H, H-6 y H-8), 7.08 (t, 1H, H-7, *J* = 7.3 Hz) y 7.99 (s ancho, 1H, H-5) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 27.9(3X), 42.6 43.2(2X), 52.4(2X), 55.4, 66.4, 79.3, 116.8, 119.7, 123.5, 125.6, 146.3, 154.2, 167.3 y 167.5 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₁₉H₂₇N₃O₄ (M⁺) = 362,20799, encontrado: 362,2113.

[4-[2-(7-Flúoro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-oxo-etil]-1-piperazinil]

carbamato de *t*-butilo (9b)



Reaccionaron 2-cloro-1-(7-flúoro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-etanamida (**8b**) (1,5 g; 6.53 mmol), N-Boc-piperazina (1216 mg; 6.53 mmol), y K₂CO₃ anhidro (902 mg; 6.53 mmol). Se obtuvieron (1983 mg; 80% de rendimiento) de un sólido blanco.

Pf: 126,6-128,5 °C.

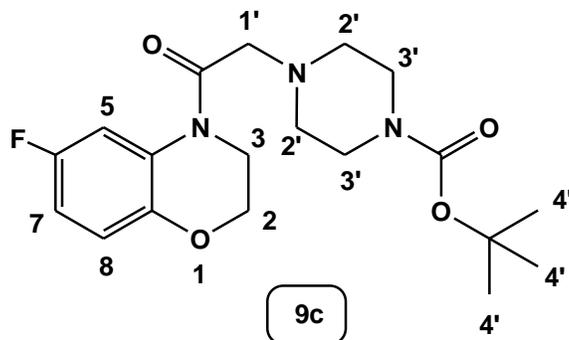
¹H-RMN (CDCl₃): δ 1.46 (s, 9H, H-4'), 2.51 (t, 4H, H-2', *J* = 4.9 Hz), 3.35 (s, 2H, H-1'), 3.45 (t, 4H, H-3', *J* = 4.8 Hz), 3.97 (t, 2H, H-3, *J* = 4.8 Hz), 4.30 (t, 2H, H-2, *J* = 4.1 Hz), 6.58-6.66 (m, 2H, H-6 y H-8) y 8.03 (s ancho, 1H, H-5) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 27.9(3X), 42.5 43.2(2X), 52.4(2X), 62.1, 66.4, 79.3, 103.8 (d, ²*J*_{C-F} = 27 Hz), 106.7 (d, ²*J*_{C-F} = 22.5 Hz), 121.8 (d, ³*J*_{C-F} = 9.3 Hz), 124.6 (d, ⁴*J*_{C-F} = 8.2 Hz), 147.3(d, ³*J*_{C-F} = 6 Hz), 154.2, 155.6 (d, ¹*J*_{C-F} = 222 Hz) y 167 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₁₉H₂₆FN₃O₄ (M⁺) = 380,19856, encontrado: 380,2047.

[4-[2-(6-Flúoro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-oxo-etil]-1-piperazinil]

carbamato de *t*-butilo (9c)



Reaccionaron 2-cloro-1-(6-flúoro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-etanamida (**8c**) (1,5 g; 6.53 mmol), N-Boc-piperazina (1216 mg; 6.53 mmol) y K₂CO₃ anhidro (902 mg; 6.53 mmol). Se obtuvieron (2033 mg; 82% de rendimiento) de un sólido blanco.

Pf: 113,4-114,5 °C.

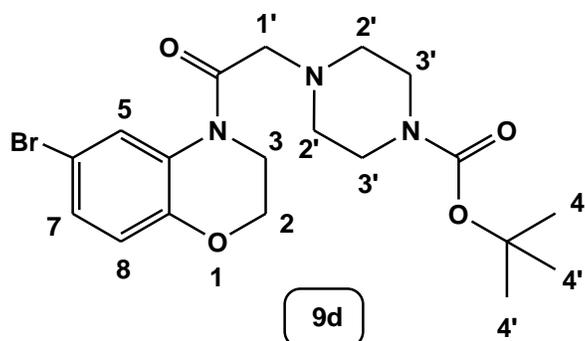
¹H-RMN (CDCl₃): δ 1.46 (s, 9H, H-4'), 2.53 (t, 4H, H-2', *J* = 4.8 Hz), 3.35 (s, 2H, H-1'), 3.46 (t, 4H, H-3', *J* = 4.8 Hz), 3.98(t, 2H, H-3, *J* = 4.9 Hz), 4.27 (t, 2H, H-2, *J* = 4.4 Hz), 6.77-6.87 (m, 2H, H-6 y H-8) y 7.82 (s ancho, 1H, H-5) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 27.9(3X), 42.5 43.4(2X), 52.3(2X), 62.1, 65.6, 79.3, 110.1 (d, ²*J*_{C-F} = 28.5 Hz), 112.2 (d, ²*J*_{C-F} = 23.6 Hz), 117.1 (d, ³*J*_{C-F} = 9.3 Hz), 125.65 (d, ⁴*J*_{C-F} = 4.9 Hz), 142.2 (d, ³*J*_{C-F} = 9.3 Hz), 154.2, 155.5 (d, ¹*J*_{C-F} = 238 Hz) y 167.1 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₁₉H₂₆FN₃O₄ (M⁺) = 380,19856, encontrado: 380,2043.

[4-[2-(6-Bromo-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-oxo-etil]-1-piperazinil]

carbamato de *t*-butilo (9d)



Reaccionaron 2-cloro-1-(6-bromo-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-etanamida (**8d**) (1,5 g; 5.16 mmol), N-Boc-piperazina (961 mg; 5.16 mmol) y K₂CO₃ anhidro (713 mg; 5.16 mmol). Se obtuvieron (1887 mg; 83% de rendimiento) de un sólido café claro.

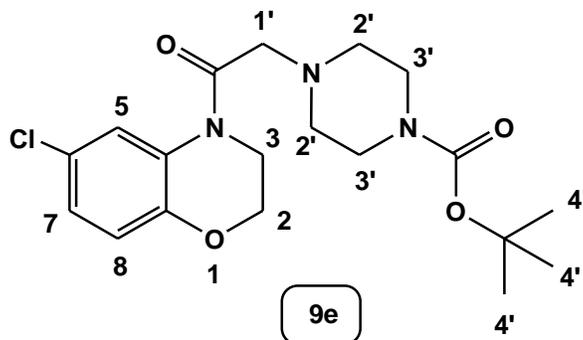
Pf: 133,8-134,7 °C.

¹H-RMN (CDCl₃): δ 1.46 (s, 9H, H-4'), 2.54 (t, 4H, H-2', *J* = 4.4 Hz), 3.32 (s, 2H, H-1'), 3.46 (t, 4H, H-3', *J* = 4.7 Hz), 3.97 (t, 2H, H-3, *J* = 4.9 Hz), 4.29 (t, 2H, H-2, *J* = 4.4 Hz), 6.84 (d, 1H, H-8, *J* = 8.6 Hz), 7.03 (dd, 1H, H-7, *J_o* = 8.7 Hz, *J_m* = 2.1 Hz) y 7.91 (s ancho, 1H, H-5) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 27.9(3X), 42.5 43.4(2X), 52.2(2X), 62.1, 66, 79.3, 114.9, 117.6, 123.3, 124.4, 125.5, 126.4, 144.7, 154.2 y 167.1 ppm.

[4-[2-(6-cloro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-oxo-etil]-1-piperazinil]

carbamato de *t*-butilo (9e)



Reaccionaron 2-cloro-1-(6-cloro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-etanamida (**8e**) (1500 mg; 6.1 mmol), N-Boc-piperazina (1136 mg; 6.1 mmol) y K_2CO_3 anhidro (843 mg; 6.1 mmol). Se obtuvieron (1979 mg; 82% de rendimiento) de un sólido blanco marfil.

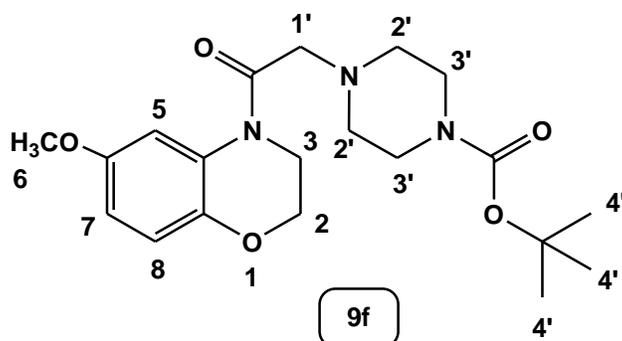
Pf: 132,0-133,5 °C.

1H -RMN ($CDCl_3$): δ 1.46 (s, 9H, H-4'), 2.54 (m, 4H, H-2'), 3.31 (s, 2H, H-1'), 3.47 (t, 4H, H-3', $J = 4.7$ Hz), 3.97 (t, 2H, H-3, $J = 4.9$ Hz), 4.28 (t, 2H, H-2, $J = 4.5$ Hz), 6.79 (d, 1H, H-8, $J = 8.7$ Hz), 7.17 (dd, 1H, H-7, $J_o = 8.7$ Hz, $J_m = 2.1$ Hz) y 8.09 (s ancho, 1H, H-5) ppm.

^{13}C -RMN ($CDCl_3$): δ 27.9(3X), 42.6 43.7(2X), 52.2(2X), 62.8, 66.1, 79.3, 111.4, 118.1, 126.2, 126.8, 128.5, 145.2, 154.2 y 167 ppm.

[4-[2-(6-metoxi-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-oxo-etil]-1-piperazinil]

carbamato de *t*-butilo (9f)



Reaccionaron 2-cloro-1-(6-metoxi-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-etanamida (**8f**) (2,5 g; 10.34 mmol), N-Boc-piperazina (1925 mg; 10.34 mmol) y K_2CO_3 anhidro (1430 mg; 10.34 mmol). Se obtuvieron (3277 mg; 81% de rendimiento) de un sólido violeta claro.

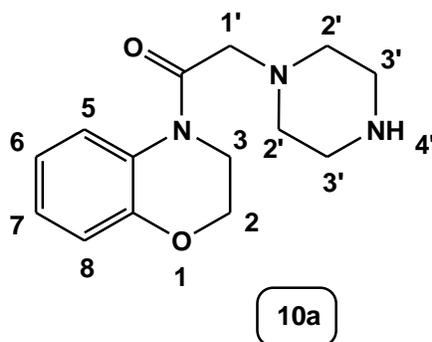
Pf: 109,8-111,1 °C.

1H -RMN ($CDCl_3$): δ 1.46 (s, 9H, H-4'), 2.53 (t, 4H, H-2', $J = 4.9$ Hz), 3.38 (s, 2H, H-1'), 3.45 (t, 4H, H-3', $J = 4.8$ Hz), 3.76 (s, 3H, H-6), 3.97 (t, 2H, H-3, $J = 4.8$ Hz), 4.25 (t, 2H, H-2, $J = 4.4$ Hz), 6.67 (dd, 1H, H-7, $J_o = 8.9$ Hz, $J_m = 2.9$ Hz), 6.83 (d, 1H, H-8, $J = 8.9$ Hz) y 7.92 (s ancho, 1H, H-5) ppm.

^{13}C -RMN ($CDCl_3$): δ 27.9(3X), 42.6 43.2(2X), 52.4(2X), 55.3, 62.9, 65.8, 79.3, 108.6, 111.9, 116.9, 125.7, 140.3, 152.2, 154.4 y 167 ppm.

4.2.10 Obtención y caracterización de los derivados 1-(2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-piperazin-1-il-etanamidas 10a-c.

1-(2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-(1-piperazinil) etanamida (10a)

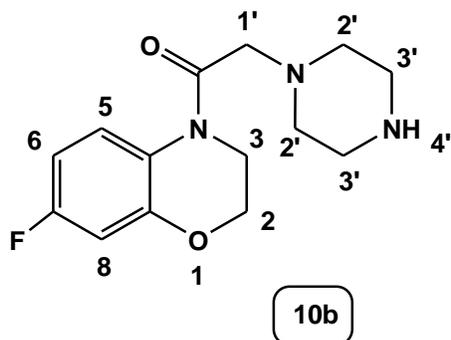


Se pesó y agregó [4-[2-(3,4-dihidro-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-4-il)-2-oxo-etil]-1-piperazinil] carbamato de *t*-butilo (**9a**) (2 g; 5.53 mmol) en CH₂Cl₂ seco (20 mL) más 12 mL de ácido trifluoro-acético. El sistema fue montado en un baño de hielo a 0°C, dejándose reaccionar por 4 horas. Se obtuvieron (867 mg; 82% de rendimiento) de un sólido altamente higroscópico de color amarillo muy claro y totalmente puro, que debió dejarse secar en línea de vacío por 1 día.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 2.37 (m, 4H, H-2'), 2.69 (m, 4H, H-3'), 3.29 (s, 2H, H-1'), 3.89 (t, 2H, H-3, *J* = 4.4 Hz), 4.25 (t, 2H, H-2, *J* = 4.1 Hz), 6.85 (m, 2H, H-6 y H-8), 7.0 (t, 1H, H-7, *J* = 7.6 Hz) y 7.85 (s ancho, 1H, H-5) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 40.5, 45.2(2X), 53.2(2X), 62.0, 66.1, 73.5, 116.7, 119.6, 123.8, 125.1, 146.2 y 167.79 ppm.

1-(7-Flúoro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-(1-piperazinil) etanamida (10b)

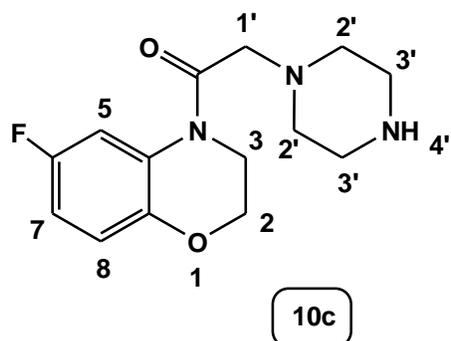


Se adicionaron [4-[2-(7-flúoro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-oxo-etil]-1-piperazinil] carbamato de *t*-butilo (**9b**) (2 g; 5.27 mmol) y 12 mL de ácido trifluoroacético. Se obtuvieron (1398 mg; 95% de rendimiento) de un sólido café claro.

¹H-RMN (CDCl₃): δ 2.57 (m, 4H, H-2'), 2.94 (t, 4H, H-3', *J* = 4.4 Hz), 3.18 (s ancho, 1H, H-4'), 3.33 (s, 2H, H-1'), 3.97 (t, 2H, H-3, *J* = 4.8 Hz), 4.31 (t, 2H, H-2, *J* = 4.2 Hz), 6.59-6.65 (m, 2H, H-6 y H-8) y 8.0 (s ancho, 1H, H-5) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 45.6(2X), 53.8(2X), 60.4, 66.9, 77.3, 104.2 (d, ²*J*_{C-F} = 24 Hz), 107.2 (d, ²*J*_{C-F} = 23 Hz), 114.5 (d, ⁴*J*_{C-F} = 7 Hz), 125.1 (d, ³*J*_{C-F} = 9.4 Hz), 143.4 (d, ³*J*_{C-F} = 15 Hz), 155.7 (d, ¹*J*_{C-F} = 250 Hz) y 171.2 ppm.

1-(6-Flúoro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-(1-piperazinil) etanamida (10c)



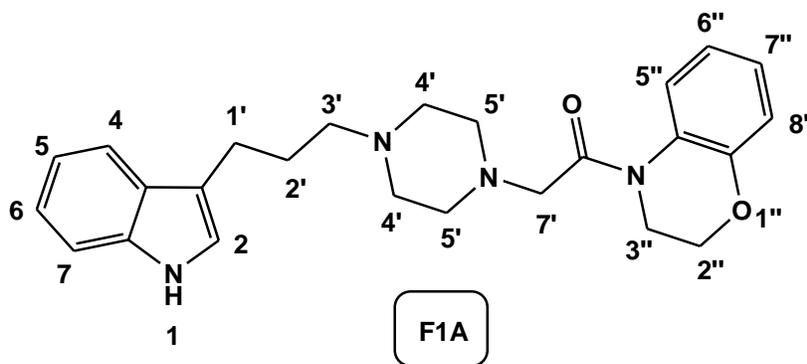
Se adicionaron [4-[2-(6-flúoro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-oxo-etil]-1-piperazinil] carbamato de *t*-butilo (**9c**) (2 g; 5.27 mmol) y 12 mL de ácido trifluoroacético. Se obtuvieron (1369 mg; 93% de rendimiento) de un sólido café claro.

¹H-RMN (CDCl₃): δ 2.62 (m, 4H, H-2'), 2.99 (t, 4H, H-3', *J* = 4.6 Hz), 3.35 (s, 2H, H-1'), 3.97 (m, 3H, H-3 y H-4'), 4.28 (t, 2H, H-2, *J* = 4.5 Hz), 6.76-6.87 (m, 2H, H-7 y H-8) y 7.71 (s ancho, 1H, H-5)ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 45.6(2X), 53.8(2X), 60.4, 66.9, 77.2, 110.6 (d, ²*J*_{C-F} = 28 Hz), 112.8 (d, ²*J*_{C-F} = 32 Hz), 117.6 (d, ³*J*_{C-F} = 9.4 Hz), 126.1 (d, ³*J*_{C-F} = 11 Hz), 142.8 (d, ⁴*J*_{C-F} = 6.6 Hz), 157.6(d, ¹*J*_{C-F}= 237 Hz) y 171.2 ppm.

4.2.11 Obtención y caracterización de los derivados 2,3-Dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-{4-[3-(1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil} etanamidas .derivados F1A-O)

1-(2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-{4-[3-(1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-etanamida (F1A)



Se pesaron y agregaron 3-(1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (**2a**) (254 mg; 0.77 mmol) en CH₃CN seco (50 mL), 1-(2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-(1-piperazinil) etanamida (**10a**) (200 mg; 0.77 mmol) y K₂CO₃ anhidro (106 mg;

0.77 mmol). La mezcla se calentó a reflujo por 24 horas a una temperatura de 80 °C. Se generaron (217 mg; 70% de rendimiento) de un sólido de color amarillo claro, el que se dejó secando en línea de vacío por un día.

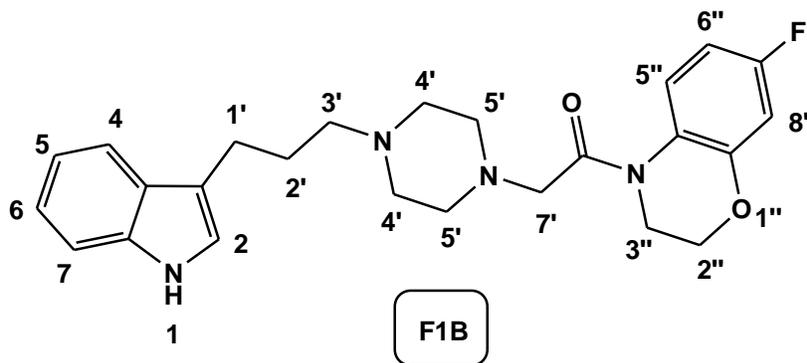
Pf: 124,3-125,8 °C.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 1.77 (q, 2H, H-2', *J* = 7.0 Hz), 2.22-2.50 (m, 10H, H-3', H-4' y H-5'), 2.67 (t, 2H, H-1', *J* = 7.4 Hz), 3.33 (s, 2H, H-7'), 3.90 (t, 2H, H-3'', *J* = 3.8 Hz), 4.26 (t, 2H, H-2'', *J* = 3.7 Hz), 6.85 (m, 2H, H-6'' y H-8''), 6.95 (t, 1H, H-7'', *J* = 7.7 Hz), 7.03 (m, 2H, H-5 y H-6), 7.09 (d, 1H, H-2, *J* = 1.4 Hz), 7.33 (d, 1H, H-4, *J* = 7.8 Hz), 7.49 (d, 1H, H-7, *J* = 7.7 Hz), 7.90 (s ancho, 1H, H-5'') y 10.79 (s ancho, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 22.9, 27.6, 39.2, 40.8, 53.0(2X), 53.2(2X), 58.0, 66.6, 111.8, 114.8, 117.2, 118.5, 118.7, 120.1, 121.2, 122.6, 124.3, 126.0, 127.7, 128.5, 136.7, 146.7 y 168.3 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₂₅H₃₀N₄O₂ (M⁺) = 419,5313, encontrado: 419,2426.

1-(7-Flúoro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-{4-[3-(1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil} etanamida (F1B).



Reaccionaron 3-(1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (**2a**) (237 mg; 0.72 mmol), 1-(7-flúoro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-(1-piperazinil) etanamida (**10b**) (200 mg; 0.72 mmol) y K₂CO₃ anhidro (100 mg; 0.72 mmol). La reacción generó (242 mg; 80% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

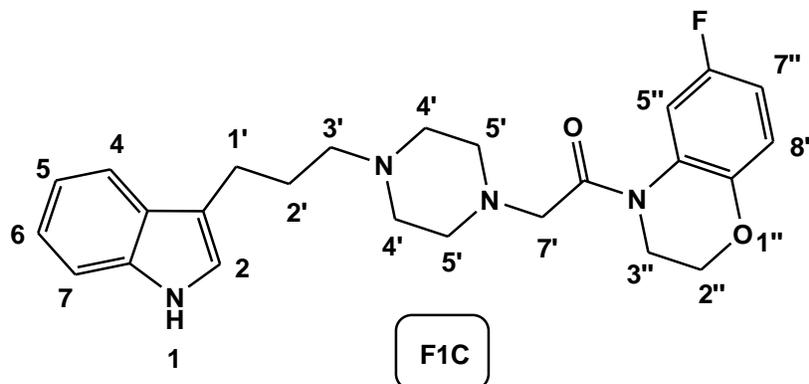
Pf: 124,0-125,3 °C.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 1.76 (q, 2H, H-2', *J* = 7.3 Hz), 2.22-2.48 (m, 10H, H-3', H-4' y H-5'), 2.67 (t, 2H, H-1', *J* = 7.4 Hz), 3.31 (s, 2H, H-7'), 3.90 (m, 2H, H-3''), 4.29 (m, 2H, H-2''), 6.68-6.78 (m, 2H, H-6'' y H-8''), 6.95 (t, 1H, H-5 o H-6, *J* = 7.1 Hz), 7.04 (t, 1H, H-6 o H-5, *J* = 7.0 Hz), 7.09 (d, 1H, H-2, *J* = 1.8 Hz), 7.32 (d, 1H, H-4, *J* = 8.0 Hz), 7.49 (d, 1H, H-7, *J* = 7.7 Hz), 7.92 (s ancho, 1H, H-5'') y 10.83 (s ancho, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 22.8, 27.6, 39.2, 40.6, 53.0(2X), 53.3(2X), 58.1, 67.2, 104.0 (d, ²*J*_{C-F} = 26 Hz), 106.9 (d, ²*J*_{C-F} = 23 Hz), 111.8, 114.8, 118.6 (d, ³*J*_{C-F} = 18 Hz), 121.2, 122.6, 125.6 (d, ⁴*J*_{C-F} = 9 Hz), 127.7, 136.7, 143.2, 147.8 (d, ³*J*_{C-F} = 13 Hz), 159.5 (d, ¹*J*_{C-F} = 240 Hz) y 171.0 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₂₅H₂₉FN₄O₂ (M⁺) = 437,5318, encontrado: 437,2351.

1-(6-Flúoro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-{4-[3-(1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-etanamida (F1C)



Se pesaron y agregaron 3-(1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (**2a**) (237 mg; 0.72 mmol), 1-(6-flúoro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-(1-piperazinil)etanamida (**10c**) (200 mg; 0.72 mmol) y K₂CO₃ anhidro (100 mg; 0.72 mmol). Se obtuvieron (269 mg; 89% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

Pf: 123,8-125,1 °C.

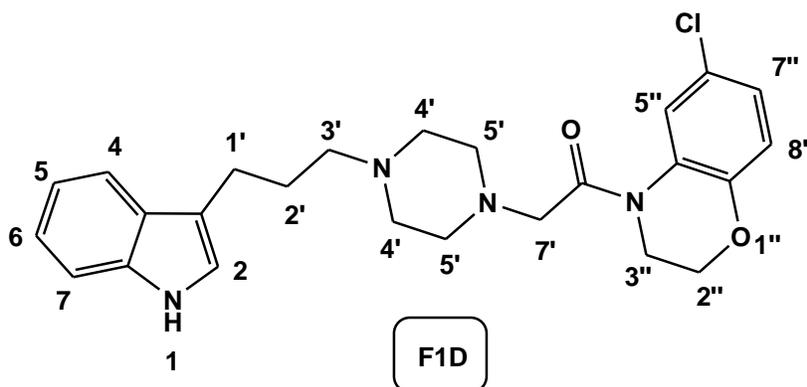
¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 1.83 (q, 2H, H-2', *J* = 7.1 Hz), 2.30-2.54 (m, 10H, H-3', H-4' y H-5'), 2.73 (t, 2H, H-1', *J* = 7.4 Hz), 3.40 (s, 2H, H-7'), 3.98 (t, 2H, H-3'', *J* = 4.0 Hz), 4.30 (t, 2H, H-2'', *J* = 3.7 Hz), 6.91-6.97 (m, 2H, H-7'' y H-8''), 7.01 (td, 1H, H-5 o H-6, *J*_o = 7.3 Hz, *J*_m = 1.0 Hz), 7.11 (td, 1H, H-6 o H-5, *J*_o = 7.0 Hz, *J*_m = 1.1 Hz), 7.15 (d, 1H, H-2, *J* = 2.1 Hz), 7.38 (d, 1H, H-4, *J* = 8.0 Hz), 7.55 (d, 1H, H-7, *J* = 7.7 Hz), 7.95 (d ancho, 1H, H-5'', *J* = 11.7 Hz) y 10.81 (s ancho, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 22.9, 27.6, 39.3, 40.5, 53.0(2X), 53.3(2X), 58.1, 66.1, 110.3 (d, ²*J*_{C-F} = 29 Hz), 111.9 (d, ²*J*_{C-F} = 25 Hz), 114.8, 117.9 (d, ³*J*_{C-F} = 9 Hz), 118.5,

118.7, 121.2 122.6 126.9(d, $^3J_{C-F} = 12$ Hz), 127.7, 136.7, 143.3 (d, $^4J_{C-F} = 2$ Hz), 155.5 (d, $^1J_{C-F} = 239$ Hz) y 168.7 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $C_{25}H_{29}FN_4O_2$ (M+) = 437,5318, encontrado: 437,2384.

(6-cloro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-{4-[3-(1H-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-etanamida (F1D)



Se pesaron y agregaron 3-(3-piperazin-1-il-propil)-1H-indol (**4a**) (224 mg; 0.92 mmol) en CH_3CN seco (50 mL) y provisto de agitación, 2-cloro-1-(6-cloro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-etanamida (**8e**) (227 mg; 0.92 mmol) y K_2CO_3 anhidro (127 mg; 0.92 mmol). La mezcla se calentó a reflujo por 24 horas a una temperatura de 80 °C. Se obtuvieron (290 mg; 71.6% de rendimiento) de un sólido de color amarillo claro, el cual debió ser dejado por un día secando en línea de vacío.

Pf: 135,3-136,1 °C.

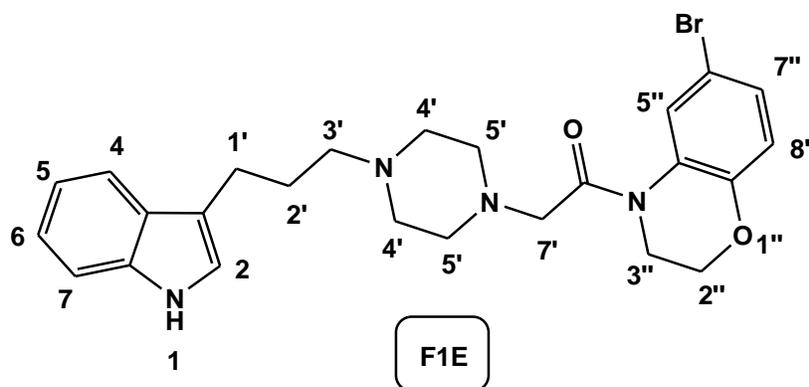
1H -RMN (DMSO- d_6): δ 1.78 (q, 2H, H-2', $J = 7.0$ Hz), 2.20-2.52 (m, 10H, H-3', H-4' y H-5'), 2.68 (t, 2H, H-1', $J = 7.3$ Hz), 3.32 (s, 2H, H-7'), 3.91 (t, 2H, H-3'', $J = 3.7$ Hz), 4.27 (t, 2H, H-2'', $J = 3.8$ Hz), 6.90 (d, 1H, H-8'', $J = 8.8$ Hz), 6.96 (t, 1H, H-5 o H-6, $J = 7.3$ Hz), 7.02-7.12 (m, 3H, 2-H, H-6 o H-5 y H-7''), 7.34 (d, 1H, H-4, $J = 8.0$

Hz), 7.50 (d, 1H, H-7, $J = 7.8$ Hz), 8.09 (s ancho, 1H, H-5'') y 10.75 (s ancho, 1H, H-1) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 22.9, 27.6, 39.3, 40.5, 52.9(2X), 53.2(2X), 58.0, 66.4, 111.8, 114.9, 118.5, 118.6, 118.7, 121.2, 122.6, 123.5, 123.6, 125.2, 127.6, 127.7, 136.8, 145.5 y 168.6 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{ClN}_4\text{O}_2$ (M^+) = 453,9864, encontrado: 453,2036.

(6-Bromo-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-{4-[3-(1H-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-etanamida (F1E)



Reaccionaron 3-(3-piperazin-1-il-propil)-1H-indol (**4a**) (241 mg; 0.99 mmol), 2-cloro-1-(6-bromo-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-etanamida (**8d**) (287 mg; 0.99 mmol) y K_2CO_3 anhidro (137 mg; 0.99 mmol). Se obtuvieron (298 mg; 62.6% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

Pf: 132,7-134,1 °C.

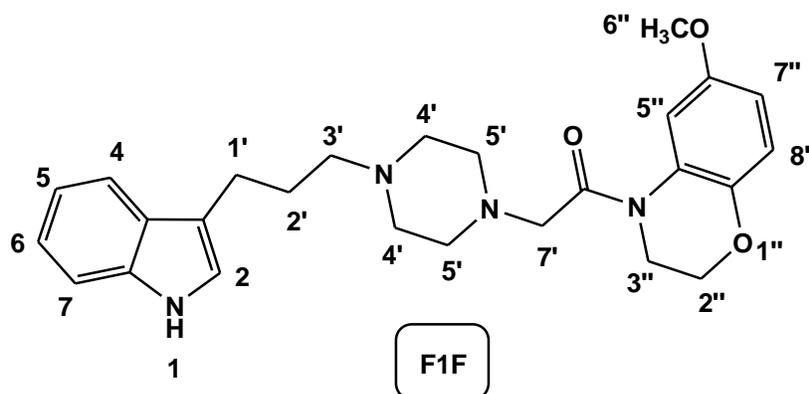
$^1\text{H-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 1.77 (q, 2H, H-2', $J = 6.7$ Hz), 2.27-2.51 (m, 10H, H-3', H-4' y H-5'), 2.68 (t, 2H, H-1', $J = 7.3$ Hz), 3.32 (s, 2H, H-7'), 3.91 (m, 2H, H-3''), 4.27 (t,

2H, H-2'', $J = 3.8$ Hz), 6.86 (d, 1H, H-8'', $J = 8.8$ Hz), 6.96 (td, 1H, H-5 o H-6, $J_o = 7.3$ Hz, $J_m = 1.0$ Hz), 7.05 (td, 1H, H-6 o H-5, $J_o = 7.3$ Hz, $J_m = 1.0$ Hz), 7.10 (d, 1H, H-2, $J = 1.9$ Hz), 7.19 (dd, 1H, H-7'', $J_o = 8.7$ Hz, $J_m = 2.1$ Hz), 7.33 (d, 1H, H-4, $J = 8.0$ Hz), 7.50 (d, 1H, H-7, $J = 7.8$ Hz), 8.20 (s ancho, 1H, H-5'') y 10.77 (s ancho, 1H, H-1) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 22.9, 27.6, 39.3, 40.5, 52.9(2X), 53.2(2X), 58.0, 66.5, 111.1, 111.8, 114.8, 118.5, 118.7, 119.1, 121.2, 122.6, 125.4, 126.3, 127.6, 128.1, 136.7, 146.0 y 168.6 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{BrN}_4\text{O}_2$ (M^+) = 498,4373, encontrado: 498,1604.

(6-Metoxi-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-{4-[3-(1H-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-etanamida (F1F)



Reaccionaron 3-(3-piperazin-1-il-propil)-1H-indol (**4a**) (282 mg; 1.16 mmol), 2-cloro-1-(6-metoxi-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-etanamida (**8f**) (280 mg; 1.16 mmol) y K_2CO_3 anhidro (160 mg; 1.16 mmol). La reacción generó (400 mg; 79% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

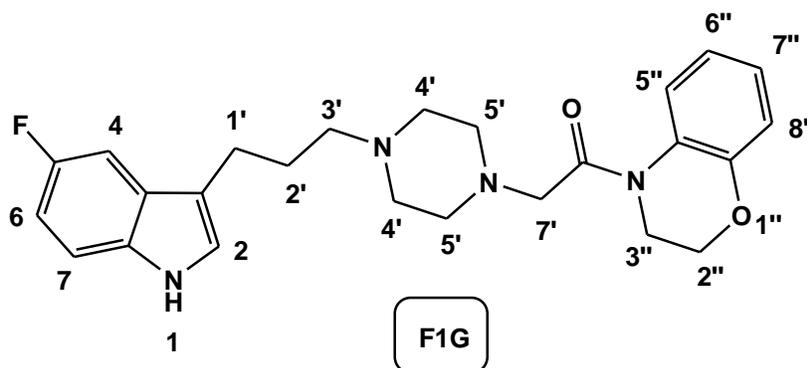
Pf: 123,6-125,1 °C.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 1.75 (q, 2H, H-2', *J* = 7.0 Hz), 2.23-2.49 (m, 10H, H-3', H-4' y H-5'), 2.65 (t, 2H, H-1', *J* = 7.4 Hz), 3.31 (s, 2H, H-7'), 3.65 (s, 3H, H-6''), 3.86 (t, 2H, H-3'', *J* = 3.8 Hz), 4.18 (t, 2H, H-2'', *J* = 3.8 Hz), 6.63 (dd, 1H, H-7'', *J*_o = 8.9 Hz, *J*_m = 2.3 Hz), 6.79 (d, 1H, H-8'', *J* = 8.9 Hz), 6.94 (t, 1H, H-5 o H-6, *J* = 7.0 Hz), 7.03 (t, 1H, H-6 o H-5, *J* = 6.9 Hz), 7.08 (d, 1H, H-2, *J* = 1.9 Hz), 7.31 (d, 1H, H-4, *J* = 8.0 Hz), 7.48 (d, 1H, H-7, *J* = 7.8 Hz), 7.61 (s ancho, 1H, H-5'') y 10.74 (s ancho, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 22.8, 27.6, 39.3, 40.5, 53.0(2X), 53.2(2X), 55.8, 58.0, 66.1, 109.3, 111.7, 114.8, 117.3, 118.4, 118.7, 121.1, 122.5, 126.8, 127.4, 127.6, 136.7, 140.7, 152.6 y 168.3 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₂₆H₃₂N₄O₃ (M⁺) = 449,5673, encontrado: 449,2539.

1-(2,3-Dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-{4-[3-(5-flúoro-1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-etanamida (F1G)



Reaccionaron 3-(5-flúoro-1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (**2b**) (268 mg; 0.77 mmol), 1-(2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-(1-piperazinil)etanamida

(10a) (200 mg; 0.77 mmol) y K_2CO_3 anhidro (106 mg; 0.77 mmol). Se obtuvieron (252 mg; 78% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

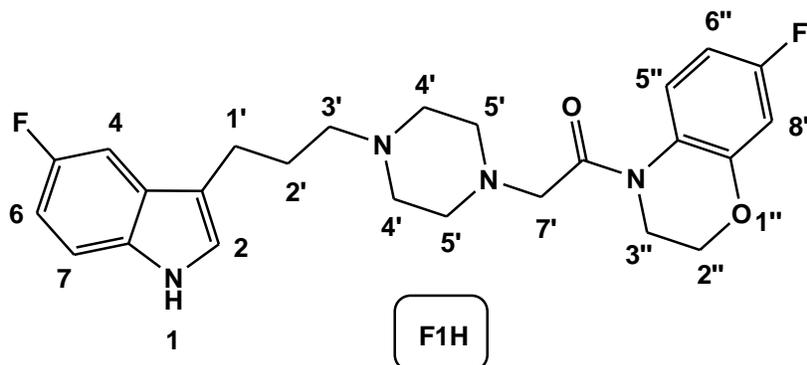
Pf: 168,4-171,3 °C.

1H -RMN (DMSO- d_6): δ 1.76 (q, 2H, H-2', $J = 6.9$ Hz), 2.30-2.51 (m, 10H, H-3', H-4' y H-5'), 2.63 (t, 2H, H-1', $J = 7.3$ Hz), 3.34 (s, 2H, H-7'), 3.89 (m, 2H, H-3''), 4.26 (t, 2H, H-2'', $J = 3.6$ Hz), 6.75 (td, 1H, H-6, $J_o = 10.4$ Hz, $J_m = 2.7$ Hz), 6.80-6.91 (m, 2H, H-6'' y H-8''), 7.01 (t, 1H, H-7'', $J = 7.4$ Hz), 7.18 (d, 1H, H-2, $J = 1.8$ Hz), 7.23 (dd, 1H, H-7, $J_o = 10.2$ Hz, $J_m = 2.3$ Hz), 7.30 (dd, 1H, H-4, $J_o = 8.9$ Hz, $J_m = 4.5$ Hz), 7.88 (s ancho, 1H, H-5'') y 10.89 (s, 1H, H-1) ppm.

^{13}C -RMN (DMSO- d_6): δ 22.6, 27.2, 39.3, 40.5, 52.7(2X), 53.1(2X), 58.1, 66.6, 103.4 (d, $^2J_{C-F} = 23$ Hz), 109.3(d, $^2J_{C-F} = 26$ Hz), 112.6 (d, $^3J_{C-F} = 9$ Hz), 115.0 (d, $^4J_{C-F} = 5$ Hz), 117.2, 120.1, 124.3, 124.9, 125.7, 126.6, 127.8 (d, $^3J_{C-F} = 10$ Hz), 133.4, 146.7, 157.0 (d, $^1J_{C-F} = 231$ Hz) y 168.2 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $C_{25}H_{29}FN_4O_2$ (M+) = 437,5318, encontrado: 437,2250.

1-(7-Flúoro-2,3-dihidro-benzof[1,4]oxazin-4-il)-2-{4-[3-(5-flúoro-1H-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-etanamida (F1H)



Reaccionaron 3-(5-flúor-1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (**2b**) (251 mg; 0.72 mmol), 1-(7-flúoro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-(1-piperazinil) etanamida (**10b**) (200 mg; 0.72 mmol) y K₂CO₃ anhidro (100 mg; 0.72 mmol). Se obtuvieron (205 mg; 65% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

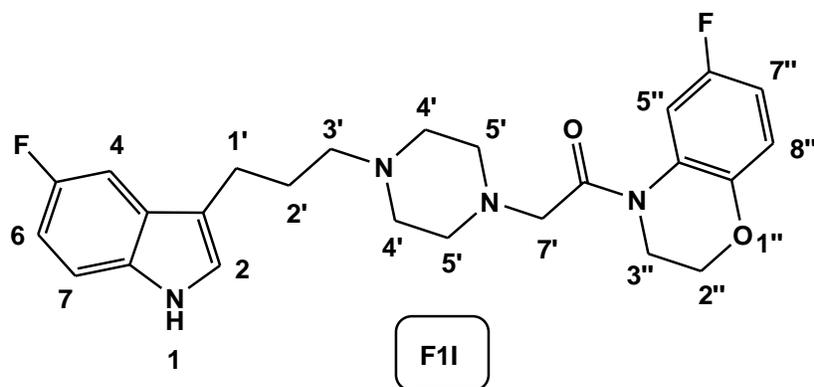
Pf: 168,1-169,9 °C.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 1.75 (q, 2H, H-2', *J* = 7.0 Hz), 2.25-2.52 (m, 10H, H-3', H-4' y H-5'), 2.64 (t, 2H, H-1', *J* = 7.4 Hz), 3.35 (s, 2H, H-7'), 3.92 (t, 2H, H-3'', *J* = 3.8 Hz), 4.25 (t, 2H, H-2'', *J* = 3.7 Hz), 6.85-6.93 (m, 3H, H-6, H-6'' y H-8''), 7.19 (d, 1H, H-2, *J* = 2.1 Hz), 7.24 (dd, 1H, H-7, *J*_o = 10.2 Hz, *J*_m = 2.3 Hz), 7.31 (dd, 1H, H-4, *J*_o = 8.8 Hz, *J*_m = 4.5 Hz), 7.92 (d ancho, 1H, H-5'', *J* = 9.6 Hz) y 10.88 (s, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 22.7, 27.5, 39.3, 40.5, 52.9(2X), 53.2(2X), 57.8, 66.1, 103.4 (d, ²*J*_{C-F} = 23 Hz), 109.3 (d, ²*J*_{C-F} = 26 Hz), 110.3 (d, ²*J*_{C-F} = 28 Hz), 112.0 (d, ²*J*_{C-F} = 25 Hz), 112.6 (d, ³*J*_{C-F} = 9.9 Hz), 115.1 (d, ⁴*J*_{C-F} = 4.9 Hz), 117.9 (d, ³*J*_{C-F} = 9 Hz), 124.9, 126.9 (d, ³*J*_{C-F} = 9 Hz), 127.9 (d, ³*J*_{C-F} = 9.9 Hz), 133.3, 143.0 (d, ⁴*J*_{C-F} = 2.3 Hz), 155.5 (d, ¹*J*_{C-F} = 234 Hz), 157.0 (d, ¹*J*_{C-F} = 231 Hz) y 168.7 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₂₅H₂₈F₂N₄O₂ (M+) = 455,5222, encontrado: 455,2258.

1-(6-Flúoro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-{4-[3-(5-flúoro-1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-etanamida (F1I)



Reaccionaron 3-(5-flúor-1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (**2b**) (251 mg; 0.72 mmol), 1-(6-flúoro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-(1-piperazinil)etanamida (**10c**) (200 mg; 0.72 mmol) y K₂CO₃ anhidro (100 mg; 0.72 mmol). La reacción generó (196 mg; 62% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

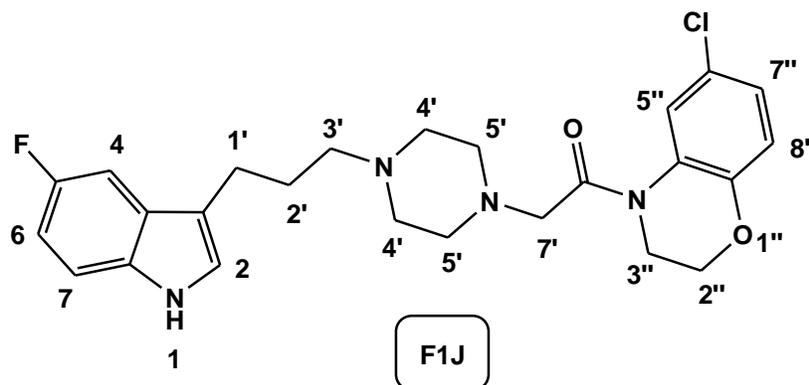
Pf: 166,8-168,1 °C.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 1.75 (q, 2H, H-2', *J* = 7.0 Hz), 2.22-2.55 (m, 10H, H-3', H-4' y H-5'), 2.64 (t, 2H, H-1', *J* = 7.4 Hz), 3.35 (s, 2H, H-7'), 3.92 (t, 2H, H-3'', *J* = 3.8 Hz), 4.25 (t, 2H, H-2'', *J* = 3.7 Hz), 6.83-6.94 (m, 3H, H-6, H-7'' y H-8''), 7.19 (d, 1H, H-2, *J* = 2.1 Hz), 7.24 (dd, 1H, H-7, *J*_o = 10.2 Hz, *J*_m = 2.3 Hz), 7.31 (dd, 1H, H-4, *J*_o = 8.8 Hz, *J*_m = 4.5 Hz), 7.92 (d ancho, 1H, H-5'', *J* = 9.6 Hz) y 10.88 (s, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 22.7, 27.5, 39.3, 40.5, 52.9(2X), 53.2(2X), 57.8, 66.1, 103.4(d, ²*J*_{C-F} = 23 Hz), 109.3 (d, ²*J*_{C-F} = 26 Hz), 110.3 (d, ^{2''}*J*_{C-F} = 28 Hz), 112.0 (d, ^{2'''}*J*_{C-F} = 24.7 Hz), 112.6 (d, ³*J*_{C-F} = 9.9 Hz), 115.1 (d, ⁴*J*_{C-F} = 4.9 Hz), 117.9(d, ^{3''}*J*_{C-F} = 8.8 Hz), 124.9, 126.9 (d, ^{3'}*J*_{C-F} = 13 Hz), 127.9(d, ^{3'''}*J*_{C-F} = 9.9 Hz), 133.3, 143.0 (d, ^{4'}*J*_{C-F} = 2.2 Hz), 155.5 (d, ¹*J*_{C-F} = 234 Hz), 157.0 (d, ¹*J*_{C-F} = 231 Hz) y 168.6 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $C_{25}H_{28}F_2N_4O_2$ (M^+) = 455,5222, encontrado: 455,2285.

1-(6-Cloro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-{4-[3-(5-flúoro-1H-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-etanamida (F1J)



Reaccionaron 5-flúoro-3-(3-piperazin-1-il-propil)-1H-indol (**4b**) (340 mg; 1.3 mmol), 2-cloro-1-(6-cloro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-etanamida (**8e**) (320 mg; 1.3 mmol) y K_2CO_3 anhidro 180 mg (1.3 mmol). Se obtuvieron (540 mg; 91% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

Pf: 120,5-122,8 °C.

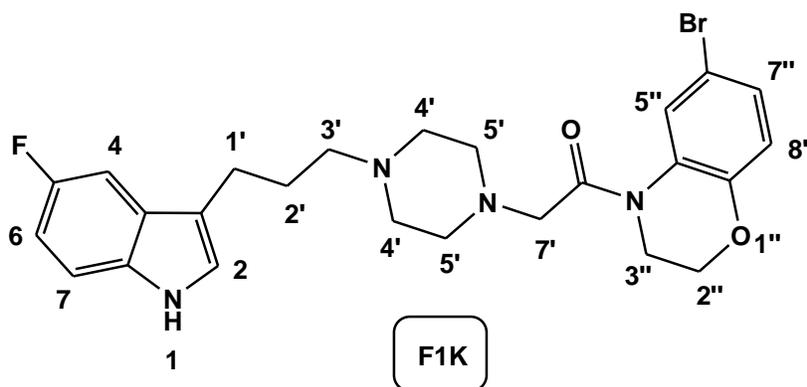
1H -RMN (DMSO- d_6): δ 1.75 (q, 2H, H-2', $J = 7.1$ Hz), 2.21-2.50 (m, 10H, H-3', H-4' y H-5'), 2.64 (t, 2H, H-1', $J = 7.4$ Hz), 3.33 (s, 2H, H-7'), 3.91 (t, 2H, H-3'', $J = 3.7$ Hz), 4.27 (t, 2H, H-2'', $J = 3.7$ Hz), 6.85-6.92 (m, 2H, H-6 y H-8''), 7.07 (dd, 1H, H-7'', $J_o = 8.7$ Hz, $J_m = 2.3$ Hz), 7.19 (d, 1H, H-2, $J = 1.7$ Hz), 7.24 (dd, 1H, H-7, $J_o = 10.2$ Hz, $J_m = 2.3$ Hz), 7.31 (dd, 1H, H-4, $J_o = 8.9$ Hz, $J_m = 4.7$ Hz), 8.07 (s ancho, 1H, H-5'') y 10.88 (s ancho, 1H, H-1) ppm.

^{13}C -RMN (DMSO- d_6): δ 22.7, 27.5, 39.3, 40.5, 52.9(2X), 53.2(2X), 57.8, 66.4, 103.4 (d, $^2J_{C-F} = 23$ Hz), 109.3 (d, $^2J_{C-F} = 26.3$ Hz), 112.6 (d, $^3J_{C-F} = 9.9$ Hz), 114.4, 115.1

(d, $^4J_{C-F} = 5.4$ Hz), 118.7, 123.5, 124.8, 125.2, 127.5, 127.9 (d, $^3J_{C-F} = 9.3$ Hz), 133.3, 145.5, 157.0 (d, $^1J_{C-F} = 231$ Hz), 168.6 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $C_{25}H_{28}ClFN_4O_2$ (M+) = 471,9769, encontrado: 471,1977.

1-(6-Bromo-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-{4-[3-(5-flúoro-1H-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-etanamida (F1K)



Reaccionaron 5-flúor-3-(3-piperazin-1-il-propil)-1H-indol (**4b**) (784 mg; 3 mmol) 2-cloro-1-(6-bromo-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-etanamida (**8d**) (870 mg; 3 mmol) y K_2CO_3 anhidro (415 mg; 3 mmol). Se obtuvieron (1130 mg; 75.3% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

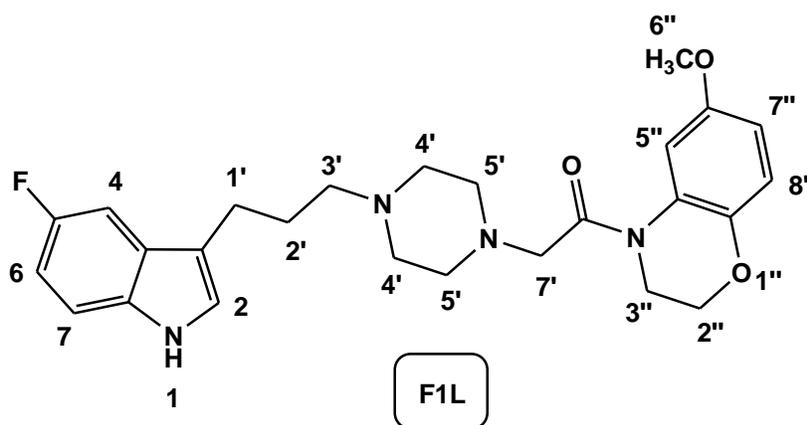
Pf: 102,8-103,9 °C.

1H -RMN (DMSO- d_6): δ 1.80 (q, 2H, H-2', $J = 7.0$ Hz), 2.26-2.56 (m, 10H, H-3', H-4' y H-5'), 2.69 (t, 2H, H-1', $J = 7.3$ Hz), 3.38 (s, 2H, H-7'), 3.97 (t, 2H, H-3'', $J = 3.4$ Hz), 4.33 (t, 2H, H-2'', $J = 3.6$ Hz), 6.89-6.99 (m, 2H, H-6 y H-8''), 7.13 (dd, 1H, H-7'', $J_o = 8.7$ Hz, $J_m = 2.3$ Hz), 7.24 (d, 1H, H-2, $J = 1.9$ Hz), 7.30 (dd, 1H, H-7, $J_o = 10.2$ Hz, $J_m = 2.3$ Hz), 7.37 (dd, 1H, H-4, $J_o = 8.8$ Hz, $J_m = 4.5$ Hz), 8.13 (s ancho, 1H, H-5'') y 10.93 (s ancho, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 22.7, 27.5, 39.3, 40.5, 52.9(2X), 53.2(2X), 57.9, 66.4, 103.4 (d, ²J_{C-F} = 23.1 Hz), 109.3 (d, ²J_{C-F} = 26 Hz), 112.6 (d, ³J_{C-F} = 9.9 Hz), 115.1 (d, ⁴J_{C-F} = 4.9 Hz), 118.7, 123.4, 123.5, 124.8, 125.3, 127.6, 127.9 (d, ³J_{C-F} = 9.3 Hz), 133.3, 145.5, 157.0 (d, ¹J_{C-F} = 231 Hz) y 168.6 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₂₅H₂₈BrFN₄O₂ (M⁺) = 516,4278, encontrado: 516,4250.

1-(6-Metoxi-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-{4-[3-(5-flúoro-1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-etanamida (F1L)



Reaccionaron 5-flúoro-3-(3-piperazin-1-il-propil)-1*H*-indol (**4b**) (379 mg; 1.45 mmol), 2-cloro-1-(6-metoxi-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-etanamida (**8f**) (350 mg; 1.45 mmol) y K₂CO₃ anhidro (200 mg; 1.45 mmol). Se obtuvieron (535 mg; 81.6% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

Pf: 94,5-97,3 °C.

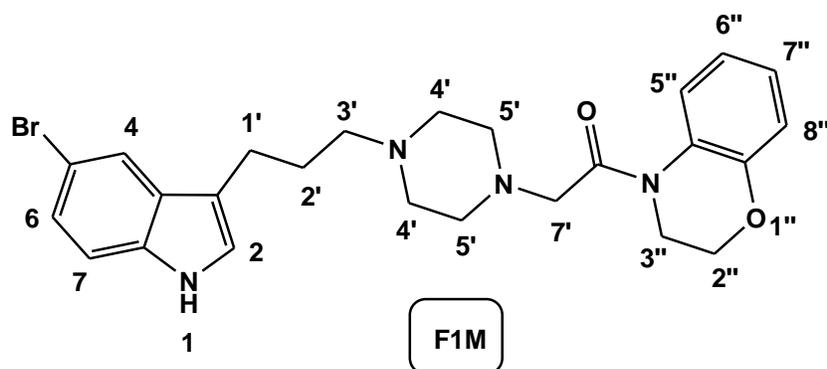
¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 1.75 (q, 2H, H-2', *J* = 7.0 Hz), 2.23-2.50 (m, 10H, H-3', H-4', y H-5'), 2.64 (t, 2H, H-1', *J* = 7.4 Hz), 3.34 (s, 2H, H-7'), 3.68 (s, 3H, H-6''), 3.89 (t, 2H, H-3'', *J* = 4.5 Hz), 4.21 (t, 2H, H-2'', *J* = 3.9 Hz), 6.65 (dd, 1H, H-7'', *J*_o = 8.9 Hz,

$J_m = 2.9$ Hz), 6.81 (d, 1H, H-8'', $J = 8.9$ Hz), 6.89 (td, 1H, H-6, $J_o = 9.2$ Hz, $J_m = 2.5$ Hz), 7.19 (d, 1H, H-2, $J = 2.2$ Hz), 7.25 (dd, 1H, H-7, $J_o = 10.1$ Hz, $J_m = 2.5$ Hz), 7.32 (dd, 1H, H-4, $J_o = 8.8$ Hz, $J_m = 4.6$ Hz), 7.62 (s ancho, 1H, H-5'') y 10.88 (s ancho, 1H, H-1) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 22.7, 27.6, 39.3, 40.5, 53.1(2X), 53.3(2X), 55.9, 57.9, 66.2, 103.4 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 23.2$ Hz), 109.29 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 26$ Hz), 109.31, 112.6 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 10$ Hz), 115.2 (d, $^4J_{\text{C-F}} = 4.4$ Hz), 117.4, 124.9, 126.9, 127.9 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 10$ Hz), 128.6, 133.4, 140.7, 152.7, 157.0 (d, $^1J_{\text{C-F}} = 231$ Hz) y 168.4 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{FN}_4\text{O}_3$ (M+) = 467,5577, encontrado: 467,2491.

1-(2,3-Dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-{4-[3-(5-bromo-1H-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-etanamida (F1M)



Reaccionaron 3-(5-bromo-1H-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (**2c**) (314 mg; 0.77 mmol), 1-(2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-(1-piperazinil)etanamida (**10a**) (200 mg; 0.77 mmol) y K_2CO_3 anhidro (106 mg; 0.77 mmol). Se generaron (157 mg; 42% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

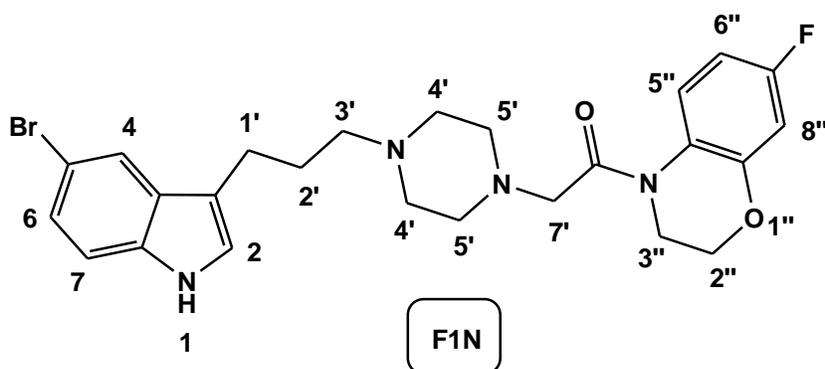
Pf: 90,5-92,4 °C.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 1.74 (q, 2H, H-2', *J* = 7.1 Hz), 2.25-2.51 (m, 10H, H-3', H-4' y H-5'), 2.65 (t, 2H, H-1', *J* = 7.1 Hz), 3.34 (s, 2H, H-7'), 3.90 (t, 2H, H-3'', *J* = 7.1 Hz), 4.27 (t, 2H, H-2'', *J* = 7.1 Hz), 6.81-6.90 (m, 2H, H-6'' y H-8''), 7.02 (t, 1H, H-7'', *J* = 7.6 Hz), 7.10-7.20 (m, 2H, H-2 y H-6), 7.30 (d, 1H, H-7, *J* = 8.5 Hz), 7.68 (d, 1H, H-4, *J* = 1.6 Hz), 7.85 (s ancho, 1H, H-5'') y 11.04 (s, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 22.4, 27.6, 39.3, 40.5, 52.9(2X), 53.2(2X), 57.6, 66.6, 111.2, 113.9, 114.7, 117.2, 120.1, 121.1, 123.6, 124.3, 124.5, 126.6, 128.5, 129.6, 135.3, 146.7 y 168.2 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₂₅H₂₉BrN₄O₂ (M⁺) = 498,4374, encontrado: 498,1694.

1-(7-Flúoro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-{4-[3-(5-bromo-1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-etanamida (F1N)



Reaccionaron 3-(5-bromo-1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (**2c**) (294 mg 0.72 mmol), 1-(7-flúoro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-(1-piperazinil) etanamida (**10b**), (200 mg; 0.72 mmol) y K₂CO₃ anhidro (100 mg; 0.72 mmol). Se obtuvieron (180 mg; 50% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

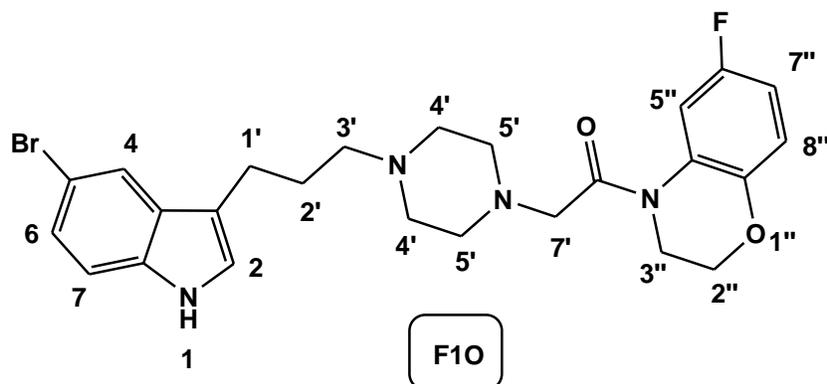
Pf: 96,1-98,1 °C.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 1.73 (q, 2H, H-2', *J* = 6.6 Hz), 2.18-2.51 (m, 10H, H-3', H-4' y H-5'), 2.64 (t, 2H, H-1', *J* = 7.0 Hz), 3.32 (s, 2H, H-7'), 3.90 (m, 2H, H-3''), 4.29 (m, 2H, H-2''), 6.65-6.81 (m, 2H, H-6'' y H-8''), 7.10-7.20 (m, 2H, H-2 y H-6), 7.30 (d, 1H, H-7, *J* = 8.5 Hz), 7.68 (d, 1H, H-4, *J* = 1.0 Hz), 7.95 (s ancho, 1H, H-5'') y 11.05 (s, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 22.4, 27.6, 39.3, 40.5, 52.9(2X), 53.2(2X), 57.6, 66.6, 110.3 (d, ²*J*_{C-F} = 28.5 Hz), 111.2, 112.0 (d, ²*J*_{C-F} = 25 Hz), 113.8, 114.7, 117.9 (d, ³*J*_{C-F} = 8.8 Hz), 121.1, 123.6, 124.4, 126.9 (d, ³*J*_{C-F} = 12 Hz), 129.6, 135.3, 143.0 (d, ⁴*J*_{C-F} = 2.3 Hz), 155.5 (d, ¹*J*_{C-F} = 233 Hz) y 168.7 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₂₅H₂₈BrFN₄O₂ (M+) = 516,4278, encontrado: 516,1527.

1-(6-Flúoro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-{4-[3-(5-bromo-1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-etanamida (F10)



Reaccionaron 3-(5-bromo-1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (**2c**) (294 mg; 0.72 mmol), 1-(6-flúoro-2,3-dihidro-benzo[1,4]oxazin-4-il)-2-(1-piperazinil) etanamida (**10c**) (200 mg; 0.72 mmol) y K₂CO₃ anhidro (100 mg; 0.72 mmol). Se obtuvieron (251 mg; 70% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

Pf: 97,2-98,8 °C.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 1.74 (q, 2H, H-2', *J* = 6.7 Hz), 2.21-2.52 (m, 10H, H-3', H-4' y H-5'), 2.65 (t, 2H, H-1', *J* = 7.0 Hz), 3.35 (s, 2H, H-7'), 3.92 (m, 2H, H-3''), 4.24 (m, 2H, H-2''), 6.84-6.93 (m, 2H, H-7'' y H8''), 7.10-7.21 (m, 2H, H-2 y H-6), 7.30 (d, 1H, H-7, *J* = 8.6 Hz), 7.68 (s, 1H, H-4), 7.85 (d ancho, 1H, H-5'', *J* = 7.8 Hz) y 11.04 (s, 1H, H-1) ppm.

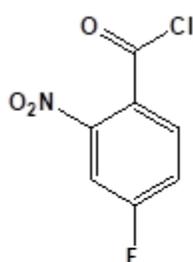
¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 22.4, 27.6, 39.3, 40.5, 52.9(2X), 53.2(2X), 57.7, 66.1, 110.3 (d, ²*J*_{C-F} = 28.5 Hz), 111.2, 112.0 (d, ²*J*_{C-F} = 22.5 Hz), 113.8, 114.7, 117.9 (d, ³*J*_{C-F} = 8.8 Hz), 121.1, 123.6, 124.4, 126.9 (d, ³*J*_{C-F} = 12.1 Hz), 129.6, 135.3, 143.0 (d, ⁴*J*_{C-F} = 2.2 Hz), 155.5 (d, ¹*J*_{C-F} = 233 Hz) y 168.7 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₂₅H₂₈BrFN₄O₂ (M+) = 516,4278, encontrado: 516,1522.

4.2.12 Obtención de cloruros de ácido 11a-d.

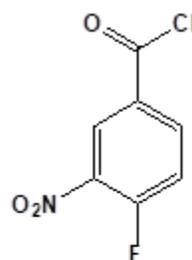
4-flúoro-2-nitro- cloruro de benzoilo

11a



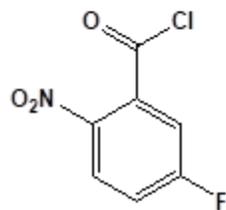
4-flúoro-3-nitro- cloruro de benzoilo

11b



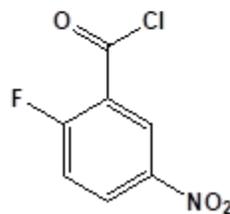
5-flúoro-2-nitro- cloruro de benzoilo

11c



2-flúoro-5-nitro- cloruro de benzoilo

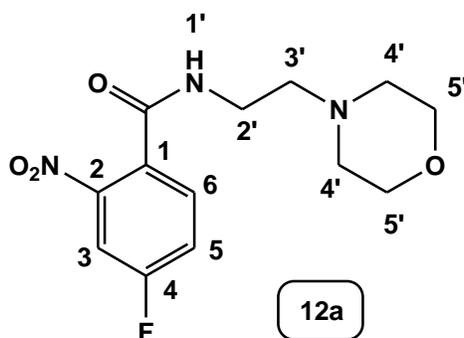
11d



Se agregaron los ácidos **A**, **B**, **C** y **D** (750 mg; 4.05 mmol) y cloruro de tionilo (20 mL) y se calentó a reflujo por 2 horas a 80°C. La mezcla de reacción fue concentrada en un evaporador rotatorio y se dejó secando en línea de vacío por 24 horas. Transcurrido este lapso, se obtuvieron 825 mg aprox. de un sólido blanco para cada uno, lo que corresponde a un 100% de rendimiento. Debido a la reconocida sensibilidad e inestabilidad a la humedad ambiental de los cloruros de ácido y con el fin de evitar la degradación del sustrato, se procedió una vez obtenidos a hacerlos reaccionar de forma inmediata.

4.2.13 Obtención y caracterización de los derivados *N*-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamidás flúoro-nitrados 12a-d.

4-Flúoro-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-2-nitro-benzamida (12a)



Se agregaron 4-flúoro-2-nitro-cloruro de benzoílo (**11a**) (828 mg; 4.07 mmol) en THF seco (50 mL) más 2-morfolin-4-il-etilamina (0.53 mL; 4.07 mmol). El cual fue montado en un baño de hielo con atmosfera de nitrógeno y se dejó reaccionar durante 2 horas. Se generaron (963 mg; 80% de rendimiento) de un sólido blanco-amarillento.

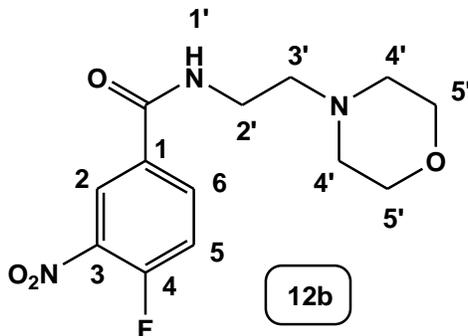
Pf: 149,8-151,5 °C.

¹H-RMN (ACETONA-*d*₆): δ 2.32 (t, 4H, H-4', *J* = 4.6 Hz), 2.42 (t, 2H, H-3', *J* = 6.3 Hz), 3.35 (c, 2H, H-2', *J* = 6.3 Hz), 3.46 (t, 4H, H-5', *J* = 4.5 Hz), 7.45 (td, 1H, H-5, *J*_o = 8.2 Hz, *J*_m = 2.5 Hz), 7.59 (dd, 1H, H-6, *J*_o = 8.5 Hz, *J*_m = 5.5 Hz), 7.65 (s ancho, 1H, H-1') y 7.70 (dd, 1H, H-3, *J*_o = 8.5 Hz, *J*_m = 2.6 Hz) ppm.

¹³C-RMN (ACETONA-*d*₆): δ 36.1, 53(2X), 56.6, 66(2X), 111.3 (d, ²*J*_{C-F} = 27 Hz), 119.6 (d, ²*J*_{C-F} = 22 Hz), 129.1 (d, ⁴*J*_{C-F} = 3.3 Hz), 130.5 (d, ³*J*_{C-F} = 9 Hz), 148.1 (d, ³*J*_{C-F} = 8.2 Hz), 161.7 (d, ¹*J*_{C-F} = 251 Hz) y 164.2 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₁₃H₁₆FN₃O₄ (M⁺) = 298,1203, encontrado: 298,1178.

4-Flúoro-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-3-nitro-benzamida (12b)



Reaccionaron 4-flúoro-3-nitro- cloruro de benzoílo (**11b**) (553 mg; 2.72 mmol) y 2-morfolin-4-il-etilamina (0.35 mL; 2.72 mmol). Se obtuvieron (712 mg; 88% de rendimiento) de un sólido blanco-amarillento.

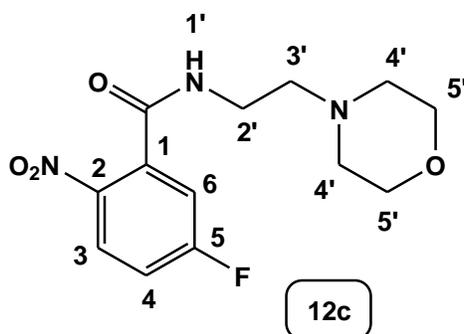
Pf: 132,5-133,5 °C.

¹H-RMN (ACETONA-*d*₆): δ 2.32 (t, 4H, H-4', *J* = 4.4 Hz), 2.43 (t, 2H, H-3', *J* = 6.6 Hz), 3.37-3.50 (m, 6H, H-2' y H-5'), 7.48 (m, 1H, H-5), 7.92 (s ancho, 1H, H-1'), 8.16 (m, 1H, H-2) y 8.45 (dd, 1H, H-6, *J*_o = 7.2 Hz, *J*_m = 2.3 Hz) ppm.

¹³C-RMN (ACETONA-*d*₆): δ 36.4, 53.1(2X), 56.9, 66.1(2X), 118.1 (d, ²*J*_{C-F} = 21.4 Hz), 124.6 (d, ⁴*J*_{C-F} = 1.6 Hz), 131.6 (d, ³*J*_{C-F} = 3.8 Hz), 134.2 (d, ²*J*_{C-F} = 9.9 Hz), 150.4 (d, ³*J*_{C-F} = 3.9 Hz), 156.2 (d, ¹*J*_{C-F} = 266 Hz) y 163 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₁₃H₁₆FN₃O₄ (M⁺) = 298,1203, encontrado: 298,1201.

5-Flúoro-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-2-nitro-benzamida (12c)



Reaccionaron 5-flúoro-2-nitro-cloruro de benzoílo (**11c**) (803 mg; 3.94 mmol) y 2-morfolin-4-il-etilamina (0.51 mL; 3.94 mmol). Se obtuvieron (951 mg; 81% de rendimiento) de un sólido blanco-amarillento.

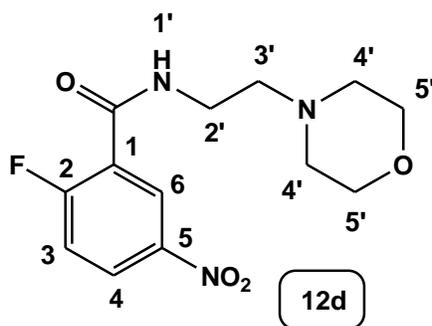
Pf: 103,4-104,5 °C.

¹H-RMN (ACETONA-*d*₆): δ 2.33 (t, 4H, H-4', *J* = 4.6 Hz), 2.44 (t, 2H, H-3', *J* = 6.3 Hz), 3.36 (m, 2H, H-2'), 3.46 (t, 4H, H-5', *J* = 4.5 Hz), 7.23-7.37 (m, 2H, H-3 y H-4), 7.67 (s ancho, 1H, H-1') y 8.02 (dd, 1H, H-6, *J*_o = 9.1 Hz, *J*_m = 4.8 Hz) ppm.

¹³C-RMN (ACETONA-*d*₆): δ 36.1, 53(2X), 56.5, 66(2X), 115.6 (d, ²J_{C-F} = 25.3 Hz), 116.5 (d, ²J_{C-F} = 23.6 Hz), 126.8 (d, ³J_{C-F} = 9.9 Hz), 135.97 (d, ³J_{C-F} = 8.8 Hz), 143 (d, ⁴J_{C-F} = 3.3 Hz), 163.92, 163.93 (d, ¹J_{C-F} = 256 Hz) ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₁₃H₁₆FN₃O₄ (M⁺) = 298,1203, encontrado: 298,1216.

2-Flúoro-N-(2-morfolin-4-il-etil)-5-nitro-benzamida (12d)



Reaccionaron 2-flúoro-5-nitro- cloruro de benzoílo (**11d**) (825 mg; 4.05 mmol) y 2-morfolin-4-il-etilamina (0.53 mL; 4.05 mmol). Se obtuvieron (902 mg; 75% de rendimiento) de un sólido blanco-amarillento.

Pf: 126,4-127,2 °C.

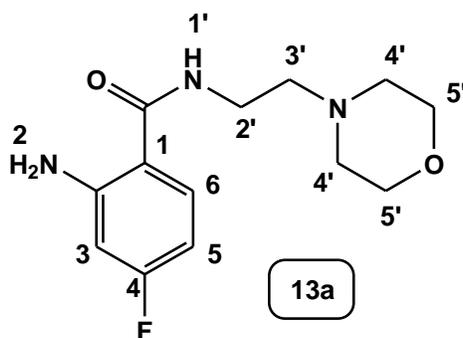
¹H-NMR (ACETONA-*d*₆): δ 2.35 (t, 4H, H-4', *J* = 4.5 Hz), 2.46 (t, 2H, H-3', *J* = 6.3 Hz), 3.43 (c, 2H, H-2', *J* = 6.5 Hz), 3.49 (t, 4H, H-5', *J* = 4.5 Hz), 7.43 (m, 1H, H-3), 7.66 (s ancho, 1H, H-1'), 8.30 (m, 1H, H-4) y 8.56 (dd, 1H, H-6, *J*_o = 6.3 Hz, *J*_m = 3 Hz) ppm.

¹³C-NMR (ACETONA-*d*₆): δ 36.1, 52.9(2X), 56.2, 66.1(2X), 117.4 (d, ²J_{C-F} = 26.9 Hz), 123.6 (d, ²J_{C-F} = 16.5 Hz), 126.3 (d, ⁴J_{C-F} = 4.9 Hz), 127.5 (d, ³J_{C-F} = 11 Hz), 144(d, ³J_{C-F} = 9 Hz), 160.4 y 162.8 (d, ¹J_{C-F} = 259 Hz) ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $C_{13}H_{16}FN_3O_4$ (M^+) = 298,1203, encontrado: 298,1207.

4.2.14 Obtención y caracterización de los derivados *N*-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamidias amino-fluorados 13a-d.

2-amino-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-4-flúoro-benzamida (13a)



A una mezcla conteniendo agua, ácido acético y etanol (60 mL, 1:1:1), se pesaron y agregaron 4-flúoro-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-2-nitro-benzamida (**12a**) (1 g; 3.36 mmol) más hierro metálico (734 mg; 13.1 mmol) y se dejó calentar por 3hr a 70°C. Se obtuvieron (891 mg; 98% de rendimiento) de un sólido blanco-amarillento.

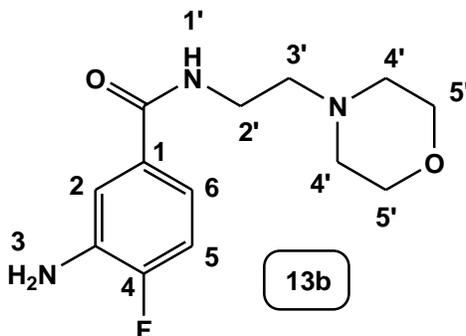
Pf: 120,3-121,7 °C.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3): δ 2.46 (t, 4H, H-4', $J = 4.4$ Hz), 2.55 (t, 2H, H-3', $J = 6.1$ Hz), 3.46 (c, 2H, H-2', $J = 5.6$ Hz), 3.69 (t, 4H, H-5', $J = 4.7$ Hz), 5.72 (s ancho, 2H, H-2), 6.28-6.35 (m, 2H, H-3 y H-5), 6.57 (s ancho, 1H, H-1') y 7.25 (dd, 1H, H-6, $J_o = 9.3$ Hz, $J_m = 3.2$ Hz) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3): δ 36.7, 53.3(2X), 56.7, 66.9(2X), 102.3 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 24.2$ Hz), 103.9 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 23$ Hz), 112.41 (d, $^4J_{\text{C-F}} = 2.2$ Hz), 129.3 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 11$ Hz), 151.1 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 11.7$ Hz), 165.3 (d, $^1J_{\text{C-F}} = 249$ Hz), 168.6 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $C_{13}H_{18}FN_3O_2$ (M^+) = 268,1461, encontrado: 268,1434.

3-Amino-N-(2-morfolin-4-il-etil)-4-flúoro-benzamida (13b)



Reaccionaron 4-flúoro-N-(2-morfolin-4-il-etil)-3-nitro-benzamida (**12b**) (1 g; 3.36 mmol) y hierro metálico (734 mg; 13.1 mmol). Se generaron (726 mg; 81% de rendimiento) de un sólido blanco-amarillento.

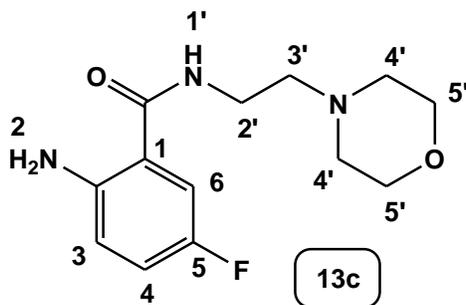
Pf: 147,4-149,1 °C.

1H -RMN (DMSO- d_6): δ 2.40-2.51 (m, 4H, H-4'), 2.57 (s ancho, 2H, H-3'), 3.40 (c, 2H, H-2', $J = 6.6$ Hz), 3.63 (t, 4H, H-5', $J = 4.3$ Hz), 5.39 (s ancho, 2H, H-3), 6.99-7.15 (m, 2H, H-2 y H-4), 7.31 (dd, 1H, H-6, $J_o = 8.9$ Hz, $J_m = 1.6$ Hz) y 6.57 (t ancho, 1H, H-1', $J = 5.2$ Hz), ppm.

^{13}C -RMN (DMSO- d_6): δ 36.9, 53.7(2X), 57.8, 66.6(2X), 115.0 (d, $^2J_{C-F} = 30$ Hz), 115.1 (d, $^3J_{C-F} = 3.3$ Hz), 116 (d, $^3J_{C-F} = 6$ Hz), 131.73 (d, $^4J_{C-F} = 2.8$ Hz), 136.7 (d, $^2J_{C-F} = 13.2$ Hz), 152.5 (d, $^1J_{C-F} = 242$ Hz), 168.3 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $C_{13}H_{18}FN_3O_2$ (M^+) = 268,1461, encontrado: 268,1455.

2-Amino-N-(2-morfolin-4-il-etil)-5-flúoro-benzamida (13c)



Reaccionaron 5-flúoro-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-2-nitro-benzamida (**12c**) (1 g; 3.36 mmol) y de hierro metálico (734 mg; 13.1 mmol). Se obtuvieron (697 mg; 78% de rendimiento) de un sólido blanco-amarillento.

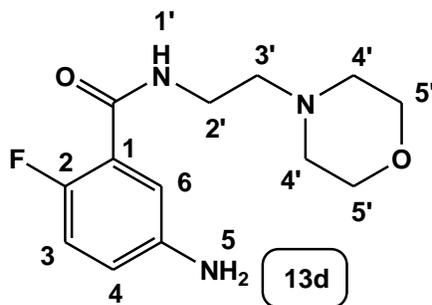
Pf: 104,8- 105,6°C.

¹H-NMR (CDCl₃): δ 2.47 (t, 4H, H-4', $J = 4.4$ Hz), 2.55 (t, 2H, H-3', $J = 6.1$ Hz), 3.47 (c, 2H, H-2', $J = 5.6$ Hz), 3.69 (t, 4H, H-5', $J = 4.6$ Hz), 5.28 (s ancho, 2H, H-2), 6.55-6.63 (m ancho, 2H, H-3 y H-1'), 6.93 (td, 1H, H-6, $J_o = 8.6$ Hz, $J_m = 2.9$ Hz) y 7.0 (dd, 1H, H-4, $J_o = 9.1$ Hz, $J_m = 2.7$ Hz) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃): δ 35.9, 53.3(2X), 56.8, 67(2X), 113.1 (d, $^2J_{C-F} = 23$ Hz), 116.6 (d, $^3J_{C-F} = 5.1$ Hz), 118.4 (d, $^3J_{C-F} = 7.3$ Hz), 119.5 (d, $^2J_{C-F} = 23$ Hz), 144.84 (d, $^4J_{C-F} = 1.5$ Hz) y 155.5 (d, $^1J_{C-F} = 236$ Hz), 168.3 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₁₃H₁₈FN₃O₂ (M⁺) = 268,1461, encontrado: 268,1476.

5-Amino-N-(2-morfolin-4-il-etil)-2-flúoro-benzamida (13d)



Se agregaron 2-flúoro-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-5-nitro-benzamida (**12d**) (1 g; 3.36 mmol) y hierro metálico (734 mg; 13.1 mmol). Se obtuvieron (798 mg; 89% de rendimiento) de un sólido blanco-amarillento.

Pf: 106,8-107,9 °C.

¹H-NMR (CDCl₃): δ 2.37 (t, 4H, H-4', *J* = 4.4 Hz), 2.45 (t, 2H, H-3', *J* = 6.1 Hz), 3.24-3.50 (m ancho, 4H, H-5 y H-2'), 3.59 (t, 4H, H-5', *J* = 4.7 Hz), 6.59 (m, 1H, H-6), 6.78 (m, 1H, H-3), 7.23 (dd, 1H, H-4, *J*_o = 6.4 Hz, *J*_m = 3.2 Hz) y 7.28 (s ancho, 1H, H-1')

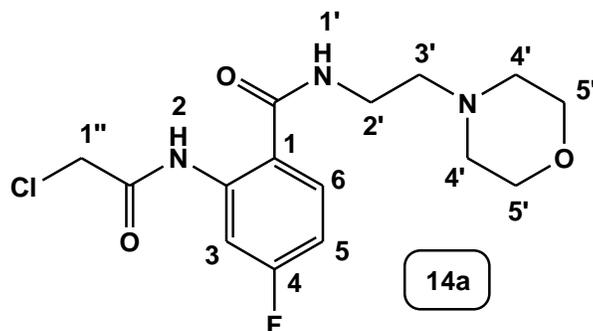
ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃): δ 36.3, 53.2(2X), 56.5, 67(2X), 116.6 (d, ²*J*_{C-F} = 26.4 Hz), 117.01 (d, ⁴*J*_{C-F} = 1.5 Hz), 119.1 (d, ³*J*_{C-F} = 8.8 Hz), 121.3 (d, ²*J*_{C-F} = 13.2 Hz), 143.1 (d, ³*J*_{C-F} = 2.2 Hz), 154.2 (d, ¹*J*_{C-F} = 238 Hz) y 163.4 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₁₃H₁₈FN₃O₂ (M⁺) = 268,1461, encontrado: 268,1457.

4.2.15 Obtención y caracterización de los derivados (2-cloroacetilamino)-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamidás fluoradas 14a-d.

2-(2-cloroacetilamino)-4-flúoro-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamidá (14a)



Se pesaron y agregaron 2-amino-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-4-flúoro-benzamidá (**13a**) (400 mg; 1.5 mmol) en THF seco (60 mL) más cloruro de cloroacetilo (0.12 mL; 1.5 mmol). La mezcla fue soportada sobre baño de hielo con atmósfera de nitrógeno y se dejaron reaccionar durante 2 horas. Se obtuvieron (479 mg; 93% de rendimiento) de un sólido blanco.

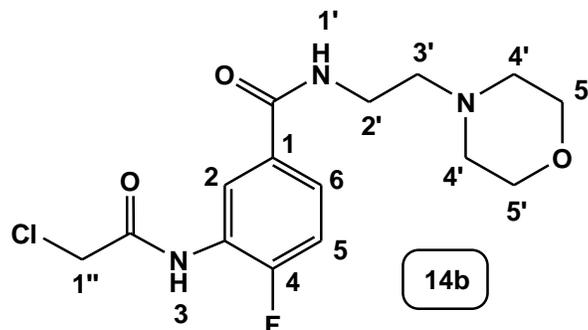
Pf: 124,8-126,3 °C.

¹H-RMN (CDCl₃): δ 2.48 (t, 4H, H-4', *J* = 4.4 Hz), 2.58 (t, 2H, H-3', *J* = 5.9 Hz), 3.51 (c, 2H, H-2', *J* = 5.4 Hz), 3.69 (t, 4H, H-5', *J* = 4.6 Hz), 4.13 (s, 2H, H-1''), 6.81 (td, 1H, H-5, *J*_o = 7.7 Hz, *J*_m = 2.7 Hz), 6.88 (s ancho, 1H, H-1'), 7.46 (dd, 1H, H-5, *J*_o = 8.8 Hz, *J*_m = 6.1 Hz), 8.42 (dd, 1H, H-3, *J*_o = 11.6 Hz, *J*_m = 2.7 Hz) y 12.24 (s ancho, 1H, H-2) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 36, 43.2, 53.3(2X), 56.5, 66.9(2X), 108.7 (d, ²*J*_{C-F} = 28 Hz), 110.6 (d, ²*J*_{C-F} = 22 Hz), 116.77 (d, ⁴*J*_{C-F} = 3.7 Hz), 128.4 (d, ³*J*_{C-F} = 10.3 Hz), 141 (d, ³*J*_{C-F} = 12.5 Hz), 164.7 (d, ¹*J*_{C-F} = 252 Hz), 165.5 y 167.8 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₁₅H₁₉ClFN₃O₃ (M⁺) = 344,1177, encontrado: 344,1173.

3-(2-Cloro-acetilamino)-4-flúoro-N-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida (14b)



Reaccionaron 3-amino-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-4-flúoro-benzamida (**13b**) (400 mg; 1.5 mmol) y cloruro de cloroacetilo (0.12 mL; 1.5 mmol). Se obtuvieron (482 mg; 94% de rendimiento) de un sólido blanco.

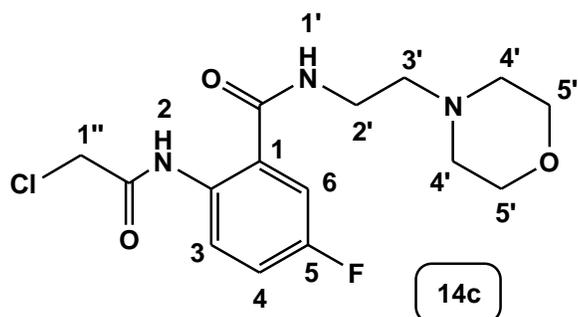
Pf: 129,1-130,8 °C.

¹H-RMN (CDCl₃): δ 2.48 (t, 4H, H-4', *J* = 4.4 Hz), 2.57 (t, 2H, H-3', *J* = 6.1 Hz), 3.50 (c, 2H, H-2', *J* = 5.6 Hz), 3.71 (t, 4H, H-5', *J* = 4.7 Hz), 4.20 (s, 2H, H-1''), 6.89 (s ancho, 1H, H-1'), 7.14-7.19 (m, 1H, H-5), 7.64-7.68 (m, 1H, H-2), 8.57 (s ancho, 1H, H-3) y 8.67 (dd, 1H, H-6, *J*_o = 7.3 Hz, *J*_m = 2 Hz) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 36.2, 42.9, 53.3(2X), 56.6, 66.9(2X), 115.4 (d, ²*J*_{C-F} = 19.8 Hz), 119.54 (d, ⁴*J*_{C-F} = 1.5 Hz), 125.2 (d, ³*J*_{C-F} = 8.8 Hz), 125.4 (d, ²*J*_{C-F} = 11 Hz), 131.42 (d, ³*J*_{C-F} = 2.9 Hz), 154.3 (d, ¹*J*_{C-F} = 250 Hz), 164.1 y 166 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₁₅H₁₉ClFN₃O₃ (M⁺) = 344,1177, encontrado: 344,1188.

2-(2-Cloro-acetilamino)-5-flúoro-N-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida (14c)



Reaccionaron 2-amino-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-5-flúoro-benzamida (**13c**) (400 mg; 1.5 mmol) y cloruro de cloroacetilo (0.12 mL; 1.5 mmol). Se obtuvieron (496 mg, 96.6% de rendimiento) de un sólido blanco.

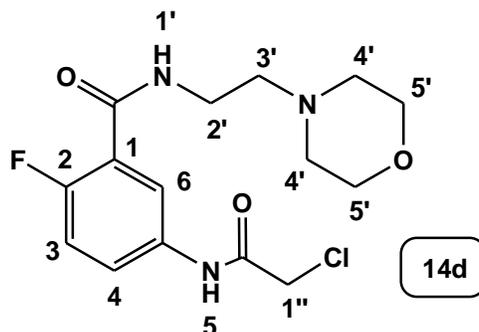
Pf: 98,5-99,8 °C.

¹H-RMN (CDCl₃): δ 2.55 (t, 4H, H-4', *J* = 4.4 Hz), 2.65 (t, 2H, H-3', *J* = 6.1 Hz), 3.57 (c, 2H, H-2', *J* = 5.6 Hz), 3.77 (t, 4H, H-5', *J* = 4.7 Hz), 4.20 (s, 2H, H-1''), 6.93 (s ancho, 1H, H-1'), 7.19-7.27 (m, 2H, H-4 y H-6), 8.61 (dd, 1H, H-3, *J*_o = 8.9 Hz, *J*_m = 5.1 Hz) y 11.8 (s ancho, 1H, H-2) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 36.1, 43.1, 53.3(2X), 56.5, 66.9(2X), 113.3 (d, ²*J*_{C-F} = 24 Hz), 119.2 (d, ⁴*J*_{C-F} = 22 Hz), 122.73 (d, ³*J*_{C-F} = 5.9 Hz), 123.6 (d, ²*J*_{C-F} = 7.3 Hz), 134.78 (d, ³*J*_{C-F} = 2.9 Hz), 158.2 (d, ¹*J*_{C-F} = 245 Hz), 165.1 y 167.3 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₁₅H₁₉ClFN₃O₃ (M⁺) = 344,1177, encontrado: 344,1204.

5-(2-Cloro-acetilamino)-2-flúoro-N-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida (14d)



Reaccionaron 5-amino-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-2-flúoro-benzamida (**13d**) (400 mg; 1.5 mmol) y cloruro de cloroacetilo (0.12 mL; 1.5 mmol). Se obtuvieron (483 mg; 94% de rendimiento) de un sólido blanco.

Pf: 144,1-145,1 °C.

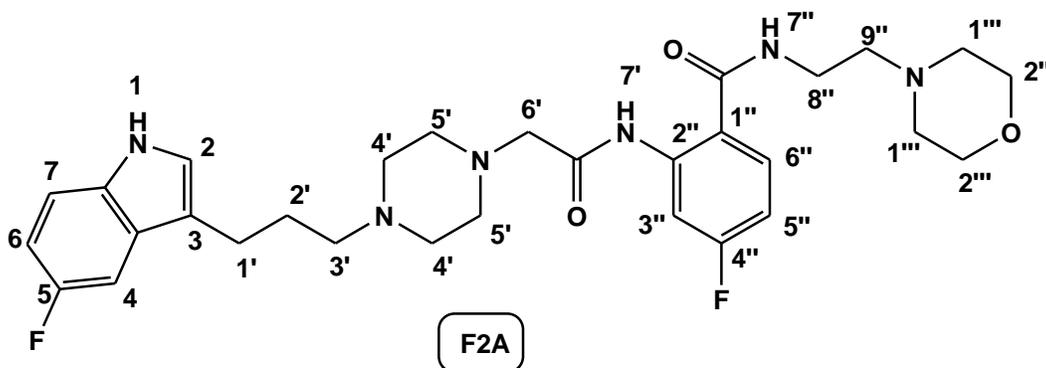
¹H-RMN (CDCl₃): δ 2.48 (t, 4H, H-4', $J = 4.2$ Hz), 2.57 (t, 2H, H-3', $J = 5.9$ Hz), 3.54 (c, 2H, H-2', $J = 5.4$ Hz), 3.69 (t, 4H, H-5', $J = 4.4$ Hz), 4.15 (s, 2H, H-1''), 7.05-7.13 (m, 1H, H-3), 7.47 (s ancho, 1H, H-1'), 7.9 (dd, 1H, H-4, $J_o = 6.5$ Hz, $J_m = 2.7$ Hz), 8.03-8.09 (m, 1H, H-6) y 8.70 (s ancho, 1H, H-5) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 36.4, 42.9, 53.2(2X), 56.3, 67(2X), 116.9 (d, $^2J_{C-F} = 26.4$ Hz), 121.5 (d, $^2J_{C-F} = 13.2$ Hz), 123.07 (d, $^4J_{C-F} = 2.2$ Hz), 125.2 (d, $^3J_{C-F} = 8.8$ Hz), 133.87 (d, $^3J_{C-F} = 2.9$ Hz), 157.4 (d, $^1J_{C-F} = 246$ Hz), 162.6 y 164.4 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₁₅H₁₉ClFN₃O₃ (M⁺) = 344,1177, encontrado: 344,1193.

4.2.16 Obtención y caracterización de los derivados (2-{4-[3-(1*H*-indol-3-il)-propil]-1-piperazinil}-acetilamino)-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamidás fluoradas F2A-L.

4-flúoro-2-(2-{4-[3-(5-flúoro-1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-acetilamino)-*N*-(2-morfolin-4-il-etil) benzamida (F2A)



Se pesaron y agregaron 5-flúoro-3-(3-piperazin-1-il-propil)-1*H*-indol (**4b**) (152 mg; 0.58 mmol) en CH₃CN seco (50 mL) más 2-(2-cloro-acetilamino)-4-flúoro-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida (**14a**) (199 mg; 0.58 mmol) y K₂CO₃ anhidro (80 mg; 0.58 mmol). Se dejaron refluja a 80 °C por 24 horas. Se obtuvieron (158 mg; 49% de rendimiento).de un sólido de color amarillo claro, el que, se debió secarse en línea de vacío por 24 horas.

Pf: 91,3-93,1 °C.

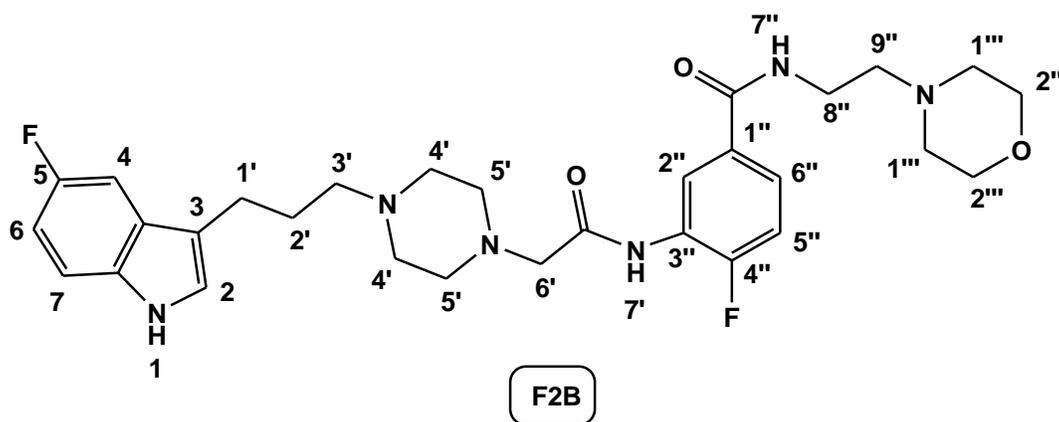
¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 1.78 (q, 2H, H-2', *J* = 7.4 Hz), 2.26-2.56 (m, 16H, H-3', H-4', H-5', H-9'' y H-1'''), 2.66 (t, 2H, H-1', *J* = 7.3 Hz), 3.13 (s, 2H, H-6'), 3.45-3.62 (m, 6H, H-8' y H-2'''), 6.90 (td, 1H, H-6, *J*_o = 9.2 Hz, *J*_m = 2.5 Hz), 7.01 (td, 1H, H-5'', *J*_o = 8.4 Hz, *J*_m = 2.7 Hz), 7.20 (d, 1H, H-2, *J* = 2.1 Hz), 7.25 (dd, 1H, H-7, *J*_o = 10.2 Hz, *J*_m = 2.5 Hz), 7.32 (dd, 1H, H-4, *J*_o = 8.8 Hz, *J*_m = 4.7 Hz), 7.68-7.76 (m, 1H, H-3''),

8.40 (dd, 1H, H-6''), $J_o = 12.3$ Hz, $J_m = 2.6$ Hz), 8.62 (t, 1H, H-7''), $J = 5.5$ Hz), 10.87 (s, 1H, H-1) y 12.24 (s ancho, 1H, H-7')

$^{13}\text{C-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 22.2, 27.0, 36.4, 52.4(2X), 53.0(2X), 53.2(2X), 57.1, 57.5, 61.8, 66.1(2X), 102.7 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 23.1$ Hz), 106.5 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 28.2$ Hz), 108.8 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 26$ Hz), 109.1 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 22.3$ Hz), 112.1 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 9.5$ Hz) 114.7 (d, $^4J_{\text{C-F}} = 4.8$ Hz), 118.2 (d, $^4J_{\text{C-F}} = 2.9$ Hz), 124.3, 127.4 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 9.5$ Hz), 130.2(d, $^3J_{\text{C-F}} = 9.9$ Hz), 132.9, 140.2 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 12.1$ Hz), 156.5 (d, $^1J_{\text{C-F}} = 231$ Hz), 163.3 (d, $^1J_{\text{C-F}} = 246$ Hz), 166.8 y 169.8 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_3$ (M^+) = 569,3051, encontrado: 569,3053.

4-Flúoro-3-(2-{4-[3-(5-flúoro-1H-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-acetilamino)-N-(2-morfolin-4-il-etil) benzamida (F2B)



Reaccionaron 5-flúoro-3-(3-piperazin-1-il-propil)-1H-indol (**4b**) (152 mg; 0.58 mmol), 3-(2-cloro-acetilamino)-4-flúoro-N-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida (**14b**) (199 mg; 0.58 mmol) y K_2CO_3 anhidro (80 mg; 0.58 mmol). Se obtuvieron (150 mg; 47% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

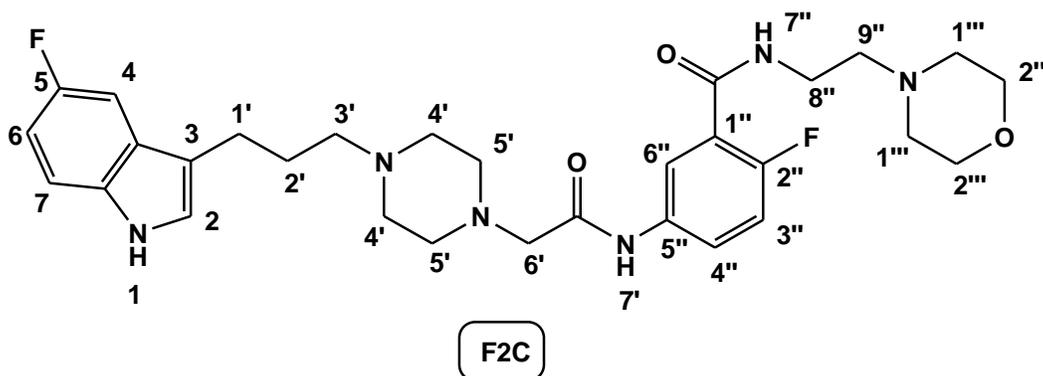
Pf: 92,2-93,9 °C.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 1.78 (q, 2H, H-2', *J* = 7.4 Hz), 2.27-2.56 (m, 16H, H-3', H-4', H-5', H-9'' y H-1'''), 2.66 (t, 2H, H-1', *J* = 7.3 Hz), 3.19 (s, 2H, H-6'), 3.33-3.36 (m, 2H, H-8'), 3.57 (t, 4H, H-2'', *J* = 4.4 Hz), 6.89 (td, 1H, H-6, *J*_o = 9.2 Hz, *J*_m = 2.5 Hz), 7.20 (d, 1H, H-2, *J* = 1.9 Hz), 7.26 (dd, 1H, H-7, *J*_o = 10.1 Hz, *J*_m = 2.4 Hz), 7.29-7.42 (m, 2H, H-4 y H-5''), 7.59-7.67 (m, 1H, H-2''), 8.40-8.50 (m, 2H, H-6'' y H-7''), 9.68 (s ancho, 1H, H-7') y 10.87(s, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 22.7, 27.5, 37.1, 53.3(2X), 53.4(2X), 53.7(2X), 57.7, 57.9, 61.6, 66.7(2X), 103.4 (d, ²*J*_{C-F} = 23.5 Hz), 109.3 (d, ^{2''}*J*_{C-F} = 26.4 Hz), 112.6 (d, ^{3'}*J*_{C-F} = 9.5 Hz), 115.17 (d, ⁴*J*_{C-F} = 4.4 Hz), 115.6 (d, ^{2'}*J*_{C-F} = 19.8 Hz), 123 (d, ^{4'}*J*_{C-F} = 6.6 Hz), 124.5 (d, ³*J*_{C-F} = 8.1 Hz), 124.9, 126.2 (d, ^{2'''}*J*_{C-F} = 11.7 Hz), 127.9 (d, ^{3''}*J*_{C-F} = 9.5 Hz), 131.64 (d, ³*J*_{C-F} = 2.9 Hz), 133.4, 155.3 (d, ¹*J*_{C-F} = 248 Hz), 157.0 (d, ^{1'}*J*_{C-F} = 230.4 Hz). 165.6 y 169.1 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₃₀H₃₈F₂N₆O₃ (M⁺) = 569,3051, encontrado: 569,3042.

2-Flúoro-5-(2-{4-[3-(5-flúoro-1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-acetilamino)-*N*-(2-morfolin-4-yl-etil) benzamida (F2C)



Reaccionaron 5-flúor-3-(3-piperazin-1-il-propil)-1*H*-indol (**4b**) (152 mg; 0.58 mmol), 5-(2-cloro-acetilamino)-2-flúoro-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida (**14d**) (199 mg; 0.58 mmol) y K₂CO₃ anhidro (80 mg; 0.58 mmol). Se obtuvieron (178 mg; 55% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

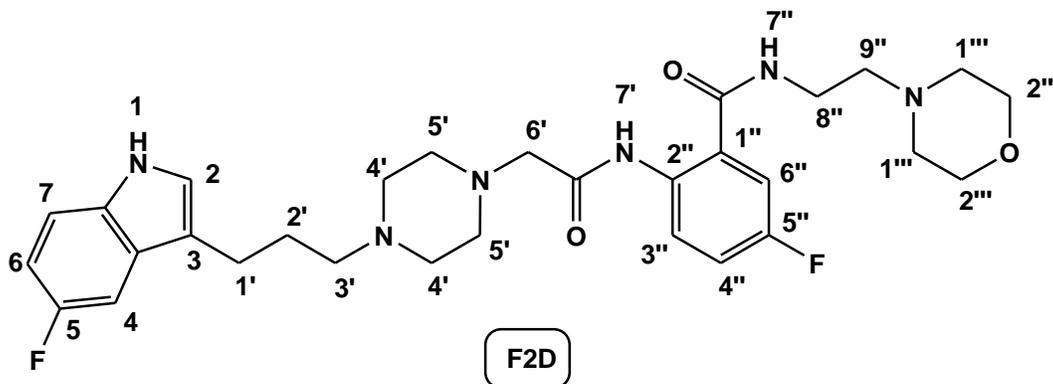
Pf: 91,8-93,2 °C.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 1.76 (q, 2H, H-2', *J* = 7.4 Hz), 2.32 (t, 2H, H-3', *J* = 6.9 Hz), 2.36-2.56 (m, 14H, H-4', H-5', H-9'' y H-1'''), 2.65 (t, 2H, H-1', *J* = 7.3 Hz), 3.11 (s, 2H, H-6'), 3.36-3.42 (m, 2H, H-8''), 3.57 (t, 4H, H-2''', *J* = 4.5 Hz), 6.89 (td, 1H, H-6, *J*_o = 8.2 Hz, *J*_m = 2.6 Hz), 7.17-7.28 (m, 3H, H-2, H-7 y H-3''), 7.31 (dd, 1H, H-4, *J*_o = 8.8 Hz, *J*_m = 4.6 Hz), 7.73-7.81 (m, 1H, H-6''), 7.92 (dd, 1H, H-4'', *J*_o = 6.5 Hz, *J*_m = 2.8 Hz), 8.13-8.24 (m, 1H, H-7''), 9.90 (s ancho, 1H, H-7') y 10.89 (s, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 22.7, 27.6, 37, 53.1(2X), 53.4(2X), 53.7(2X), 57.4, 57.9, 62.3, 66.7(2X), 103.4 (d, ²*J*_{C-F} = 22.7 Hz), 109.3 (d, ^{2'}*J*_{C-F} = 26.5 Hz), 112.6 (d, ^{3''}*J*_{C-F} = 9.9 Hz), 115.2 (d, ⁴*J*_{C-F} = 4.4 Hz), 116.7 (d, ^{2''}*J*_{C-F} = 23.8 Hz), 121.33(d, ^{4'}*J*_{C-F} = 2.2 Hz), 123.6 (d, ^{2'''}*J*_{C-F} = 8.3 Hz), 124.2 (d, ³*J*_{C-F} = 9.5 Hz), 124.9, 127.9 (d, ^{3'''}*J*_{C-F} = 9.4 Hz), 133.6, 135.46 (d, ³*J*_{C-F} = 3.3 Hz), 155.4 (d, ¹*J*_{C-F} = 245 Hz), 157 (d, ¹*J*_{C-F} = 231 Hz), 163.7 y 168.9 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₃₀H₃₈F₂N₆O₃ (M⁺) = 569,3051, encontrado: 569,3044.

5-Flúoro-2-(2-{4-[3-(5-flúoro-1H-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-acetilamino)-N-(2-morfolin-4-il-etil) benzamida (F2D)



Reaccionaron 5-flúoro-3-(3-piperazin-1-il-propil)-1H-indol (**4b**) (152 mg; 0.58 mmol), 2-(2-cloro-acetilamino)-5-flúoro-N-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida (**14c**) (199 mg; 0.58 mmol) y K_2CO_3 anhidro (80 mg; 0.58 mmol). Se obtuvieron (188 mg; 59% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

Pf: 94,2-95,4 °C.

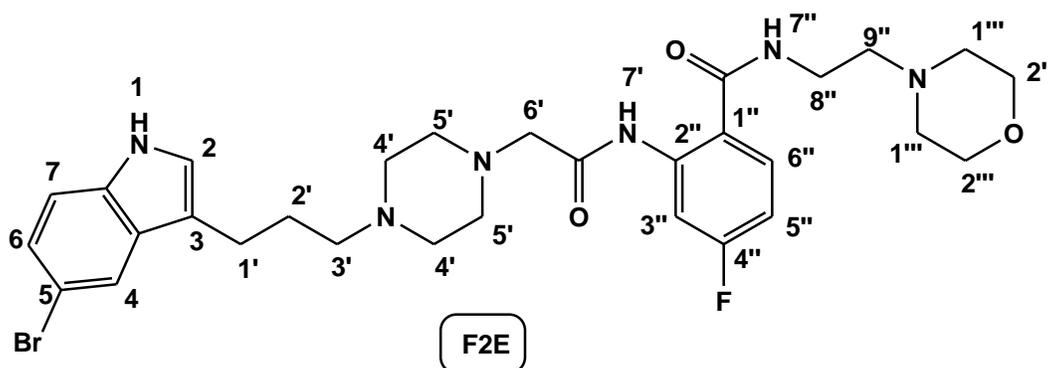
1H -RMN (DMSO- d_6): δ 1.79 (q, 2H, H-2', $J = 7.2$ Hz), 2.32-2.51 (m, 16H, H-3', H-4', H-5', H-9'' y H-1'''), 2.66 (t, 2H, H-1', $J = 7.3$ Hz), 3.10 (s, 2H, H-6'), 3.50-3.60 (m, 6H, H-8'' y H-2'''), 6.89 (td, 1H, H-6, $J_o = 9.2$ Hz, $J_m = 2.5$ Hz), 7.20 (d, 1H, H-2, $J = 2.0$ Hz), 7.25 (dd, 1H, H-7, $J_o = 10.1$ Hz, $J_m = 2.5$ Hz), 7.29-7.40 (m, 2H, H-4 y H-4''), 7.49 (dd, 1H, H-3'', $J_o = 9.5$ Hz, $J_m = 3.0$ Hz), 8.53 (dd, 1H, H-6'', $J_o = 9.2$ Hz, $J_m = 5.4$ Hz), 8.69 (t, 1H, H-7'', $J = 5.4$ Hz), 10.89(s, 1H, H-1) y 11.62(s ancho, 1H, H-7') ppm.

^{13}C -RMN (DMSO- d_6): δ 22.2, 26.9, 36.4, 52.4(2X), 52.9(2X), 53.2(2X), 57, 57.4, 61.7, 66.1(2X), 102.9 (d, $^2J_{C-F} = 22.3$ Hz), 108.8 (d, $^2J_{C-F} = 26.3$ Hz), 112.1 (d, $^3J_{C-F}$

= 9.9 Hz), 114.5 (d, $^2 J_{C-F} = 23.8$ Hz), 114.6 (d, $^4 J_{C-F} = 5$ Hz), 118 (d, $^{2''} J_{C-F} = 22$ Hz), 122.1 (d, $^3 J_{C-F} = 7$ Hz), 123.8 (d, $^{3''} J_{C-F} = 6.2$ Hz), 124.3, 127.4 (d, $^{3'''} J_{C-F} = 9.5$ Hz), 132.9, 134.4 (d, $^4 J_{C-F} = 2.2$ Hz), 152.4 (d, $^1 J_{C-F} = 231$ Hz), 156.5 (d, $^1 J_{C-F} = 223$ Hz), 166.3 y 169 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $C_{30}H_{38}F_2N_6O_3$ (M+) = 569,3051, encontrado: 569,3048.

4-Flúoro-2-(2-{4-[3-(5-bromo-1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-acetilamino)-*N*-(2-morfolin-4-il-etil) benzamida (F2E)



Reaccionaron 5-bromo-3-(3-piperazin-1-il-propil)-1*H*-indol (**4c**) (187 mg; 0.58 mmol), 2-(2-cloro-acetilamino)-4-flúoro-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida (**14a**) (199 mg; 0.58 mmol) y K_2CO_3 anhidro (80 mg; 0.58 mmol). Se obtuvieron (236 mg 66% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

Pf: 92,1-93,8 °C.

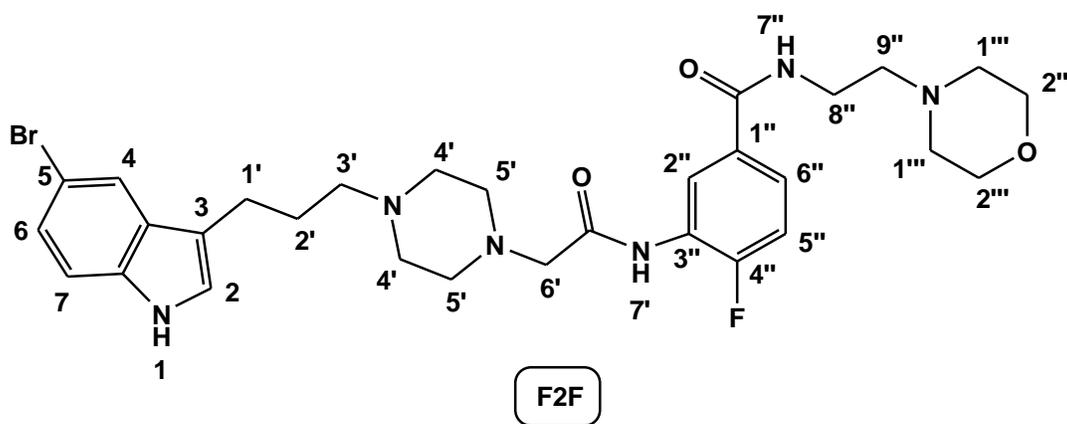
1H -RMN (DMSO- d_6): δ 1.78 (q, 2H, H-2', $J = 7.4$ Hz), 2.35 (t, 2H, H-3', $J = 6.9$ Hz), 2.38-2.52 (m, 14H, H-4', H-5', H-9' y H-1'''), 2.67 (t, 2H, H-1', $J = 7.3$ Hz), 3.13 (s, 2H, H-6'), 3.40-3.42 (m, 2H, H-8''), 3.54 (t, 4H, H-2''', $J = 4.5$ Hz), 7.0 (td, 1H, H-5'', $J_o = 8.3$ Hz, $J_m = 2.8$ Hz), 7.12-7.20 (m, 2H, H-2 y H-6), 7.31 (d, 1H, H-7, $J = 8.6$ Hz),

7.62 (d, 1H, H-4, $J = 1.7$ Hz), 7.77 (dd, 1H, H-3'', $J_o = 8.8$ Hz, $J_m = 6.6$ Hz), 8.39 (dd, 1H, H-6'', $J_o = 12.3$ Hz, $J_m = 2.7$ Hz), 8.70 (t, 1H, H-7'', $J = 5.4$ Hz), 11.1 (s, 1H, H-1) y 12.1 (s ancho, 1H, H-7') ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 22.8, 27.4, 36.9, 52.6(2X), 52.7(2X), 53.7(2X), 56.2, 57.6, 62.2, 66.6(2X), 107.1 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 26.5$ Hz), 109.7 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 22.7$ Hz), 111.2, 113.3, 118.6 (d, $^4J_{\text{C-F}} = 4.9$ Hz), 118.7 121.6, 123.7, 124.4, 129.6, 130.8 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 9.9$ Hz), 135.4, 140.7 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 12.2$ Hz), 163.8 (d, $^1J_{\text{C-F}} = 246$ Hz), 167.3 y 170.4 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{BrFN}_6\text{O}_3$ (M^+) = 629,2251, encontrado: 629,2236

4-Flúoro-3-(2-{4-[3-(5-bromo-1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-acetilamino)-*N*-(2-morfolin-4-il-etil) benzamida (F2F)



Reaccionaron 5-bromo-3-(3-piperazin-1-il-propil)-1*H*-indol (**4c**) (187 mg; 0.58 mmol), 3-(2-cloro-acetilamino)-4-flúoro-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida (**14b**) (199 mg; 0.58 mmol) y K_2CO_3 anhidro (80 mg; 0.58 mmol). Se obtuvieron (193 mg; 54% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

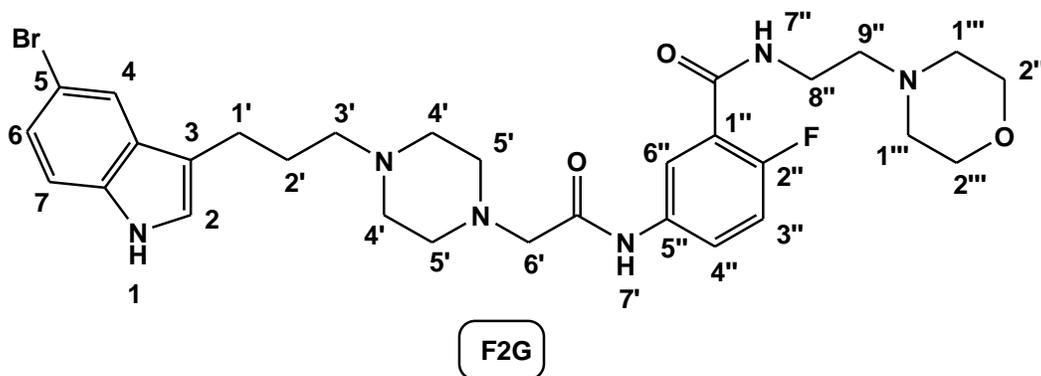
Pf: 85,2-86,8 °C.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 1.78 (q, 2H, H-2', *J* = 6.5 Hz), 2.30-2.55 (m, 16H, H-3', H-4', H-5', H-9'' y H-1'''), 2.68 (t, 2H, H-1', *J* = 7.3 Hz), 3.20 (s, 2H, H-6'), 3.40-3.44 (m, 2H, H-8''), 3.57 (t, 4H, H-2'', *J* = 4.4 Hz), 7.13-7.21 (m, 2H, H-2 y H-6), 7.31 (d, 1H, H-7, *J* = 10.1 Hz), 7.34-7.42 (m, 1H, H-5''), 7.59-7.67 (m, 1H, H-2''), 7.62 (d, 1H, H-4, *J* = 1.6 Hz), 8.37-8.52(m, 2H, H-6'' y H-7''), 9.69 (s ancho, 1H, H-7') y 11.0 (s, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 22.2, 26.9, 36.4, 52.4(2X), 52.9(2X), 53.2(2X), 57, 57.4, 61.7, 66.1(2X), 111.3, 113.8, 114.7, 115.6 (d, ²J_{C-F} = 21 Hz), 121.1, 123.1, 123.28 (d, ⁴J_{C-F} = 2.9 Hz), 123.7, 124.5 (d, ³J_{C-F} = 9.5 Hz), 126.2 (d, ²J_{C-F} = 11 Hz), 129.7, 131.63 (d, ³J_{C-F} = 3.7 Hz), 135.7, 155.3 (d, ¹J_{C-F} = 248 Hz), 165.6 y 169 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₃₀H₃₈BrFN₆O₃ (M⁺) = 629,2251, encontrado: 629,2231.

2-Flúoro-5-(2-{4-[3-(5-bromo-1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-acetilamino)-*N*-(2-morfolin-4-yl-etil) benzamida (F2G)



Se pesaron y agregaron 5-bromo-3-(3-piperazin-1-il-propil)-1*H*-indol (**4c**) (187 mg; 0.58 mmol), 5-(2-cloro-acetilamino)-2-flúoro-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-

benzamida (**14d**) (199 mg; 0.58 mmol) y K_2CO_3 anhidro (80 mg; 0.58 mmol). Se obtuvieron (249 mg; 70% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

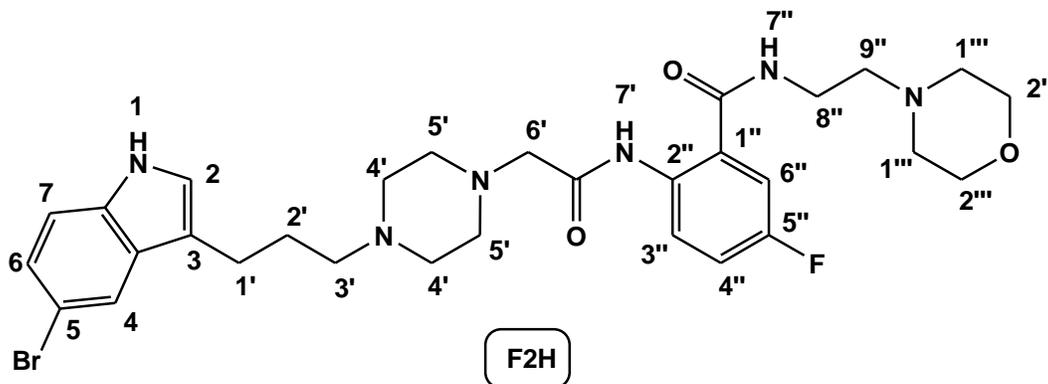
Pf: 73,2-74,5 °C.

1H -RMN (DMSO- d_6): δ 1.79 (q, 2H, H-2', $J = 7.2$ Hz), 2.32-2.51 (m, 16H, H-3', H-4', H-5', H-9'' y H-1'''), 2.66 (t, 2H, H-1', $J = 7.3$ Hz), 3.10 (s, 2H, H-6'), 3.50-3.60 (m, 6H, H-8'' y H-2'''), 6.89 (td, 1H, H-6, $J_o = 9.2$ Hz, $J_m = 2.5$ Hz), 7.20 (d, 1H, H-2, $J = 2.0$ Hz), 7.25 (dd, 1H, H-7, $J_o = 10.1$ Hz, $J_m = 2.5$ Hz), 7.29-7.40 (m, 2H, H-4 y H6''), 7.49 (dd, 1H, H-4'', $J_o = 9.5$ Hz, $J_m = 3.0$ Hz), 8.53 (dd, 1H, H-3'', $J_o = 9.2$ Hz, $J_m = 5.4$ Hz), 8.69 (t, 1H, H-7'', $J = 5.4$ Hz), 10.89 (s, 1H, H-1) y 11.62 (s ancho, 1H, H-7') ppm.

^{13}C -RMN (DMSO- d_6): δ 22.4, 27.5, 36.9, 52.9(2X), 53(2X), 53.6(2X), 57.4, 57.6, 62.1, 66.7(2X), 111.3, 113.8, 114.7, 116.7 (d, $^2J_{C-F} = 23.5$ Hz), 121.1, 121.35 (d, $^3J_{C-F} = 3.7$ Hz), 123.61 (d, $^3J_{C-F} = 7.3$ Hz), 123.67, 124.2 (d, $^2J_{C-F} = 15.4$ Hz), 124.5, 129.6, 135.4, 135.43 (d, $^4J_{C-F} = 2.2$ Hz), 155.4 (d, $^1J_{C-F} = 245$ Hz), 163.7 y 168.9 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $C_{30}H_{38}BrFN_6O_3$ (M+) = 629,2251, encontrado: 629,2233.

5-Flúoro-2-(2-{4-[3-(5-bromo-1*H*-3-indolil)-propil]-1piperazinil}-acetilamino)-*N*-(2-morfolin-4-il-etil) benzamida (F2H)



Reaccionaron 5-bromo-3-(3-piperazin-1-il-propil)-1*H*-indol (**4c**) (187 mg; 0.58 mmol), 2-(2-cloro-acetilamino)-5-flúoro-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida (**14c**) (199 mg; 0.58 mmol) y K_2CO_3 anhidro (80 mg; 0.58 mmol). Se obtuvieron (303 mg; 85% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

Pf: 73,8-74,7 °C.

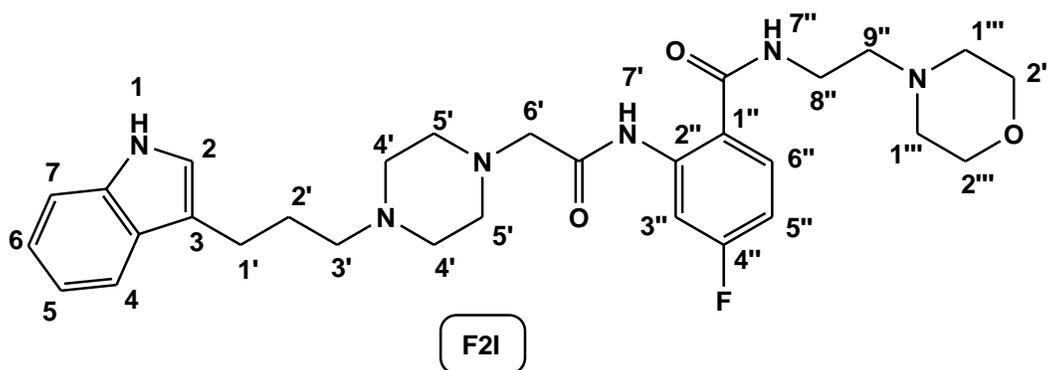
¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 1.71-1.84 (m, 2H, H-2'), 2.25-2.56 (m, 16H, H-3', H-4', H-5', H-9'' y H-1'''), 2.67 (t, 2H, H-1', *J* = 7.2 Hz), 3.14 (s, 2H, H-6'), 3.40-3.43 (m, 2H, H-8''), 3.57 (t, 4H, H-2''', *J* = 4.5 Hz), 7.13-7.27 (m, 3H, H-2 y H-6 y H-3''), 7.31 (d, 1H, H-7, *J* = 8.5 Hz), 7.69 (d, 1H, H-4, *J* = 1.7 Hz), 7.73-7.81 (m, 1H, H-6''), 7.92 (dd, 1H, H-4'', *J*_o = 6.4 Hz, *J*_m = 2.7 Hz), 8.15-8.22 (m, 1H, H-7''), 9.9 (s ancho, 1H, H-7') y 11 (s, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 22.4, 27.5, 36.9, 52.8(2X), 53.3(2X), 53.7(2X), 57.5, 57.7, 62.2, 66.6(2X), 111.3, 113.8, 114.7, 115.1 (d, ²*J*_{C-F} = 24.2 Hz), 118.5 (d, ²*J*_{C-F} = 21.3

Hz), 121.1, 122.6 (d, $^3J_{C-F} = 7.3$ Hz), 123.7, 124.3 (d, $^3J_{C-F} = 5.9$ Hz), 124.4, 129.6, 134.9 (d, $^4J_{C-F} = 2.2$ Hz), 135.4, 157.3 (d, $^1J_{C-F} = 241$ Hz), 166.9 y 169.5 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $C_{30}H_{38}BrFN_6O_3$ (M⁺) = 629,2251, encontrado: 629,2235.

4-Flúoro-2-(2-{4-[3-(1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-cetilamino)-*N*-(2-morfolin-4-il-etil) benzamida (F2I)



Reaccionaron 3-(3-piperazin-1-il-propil)-1*H*-indol (**4a**) (150 mg; 0.62 mmol), 2-(2-cloro-acetilamino)-4-flúoro-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida (**14a**) (213 mg (0.62 mmol) y K_2CO_3 anhidro (86 mg; 0.62 mmol). Se obtuvieron (249 mg; 75% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

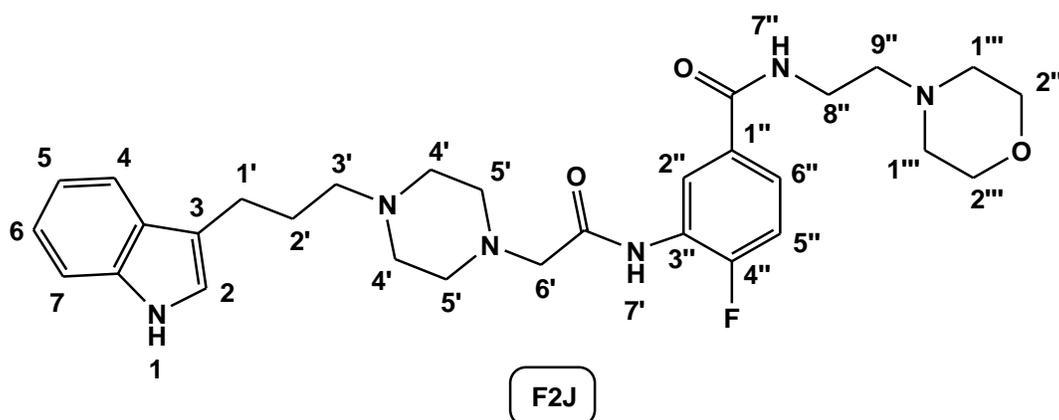
Pf: 80,5-81,8 °C.

1H -RMN (DMSO- d_6): δ 1.86 (m, 2H, H-2'), 2.25-2.49 (m, 12H, H-3', H-4', H-9'' y H-1'''), 2.58 (m, 4H, H-5'), 2.7 (t, 2H, H-1', $J = 7.4$ Hz), 3.15 (s, 2H, H-6'), 3.35-3.40 (m, 2H, H-8''), 3.54 (t, 4H, H-2'', $J = 4.3$ Hz), 6.93-7.09 (m, 3H, H-5 y H-6 y H-5''), 7.12 (d, 1H, H-2, $J = 1$ Hz), 7.33 (d, 1H, H-7, $J = 8$ Hz), 7.51 (d, 1H, H-4, $J = 7.8$ Hz), 7.76 (dd, 1H, H-3'', $J_o = 8.6$ Hz, $J_m = 6.7$ Hz), 8.39 (dd, 1H, H-6'', $J_o = 12.3$ Hz, $J_m = 2.6$ Hz), 8.68 (t, 1H, H-7'', $J = 5$ Hz), 10.8 (s, 1H, H-1) y 12.1 (s ancho, 1H, H-7') ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 22.5, 27.7, 36.9, 52.9(2X), 53.5(2X), 53.7(2X), 55.4, 57.6, 62.3, 66.6(2X), 107 (d, ²J_{C-F} = 28 Hz), 109.7 (d, ²J_{C-F} = 22 Hz), 111.8, 114.5, 118.6 (d, ⁴J_{C-F} = 2.9 Hz), 121.3, 122.6, 127.6, 130.8 (d, ³J_{C-F} = 10.9 Hz), 134, 136.8, 140.8 (d, ³J_{C-F} = 12.5 Hz), 141.4, 163.8 (d, ¹J_{C-F} = 245 Hz), 167.3 y 170.3 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₃₀H₃₉FN₆O₃ (M⁺) = 551,3145, encontrado: 551,3127.

4-Flúoro-3-(2-{4-[3-(1*H*-3-indolil)-propil]-1piperazinil}-acetilamino)-*N*-(2-morfolin-4-il-etil) benzamida (F2J)



Reaccionaron 3-(3-piperazin-1-il-propil)-1*H*-indol (**4a**) (150 mg; 0.62 mmol), 3-(2-cloro-acetilamino)-4-flúoro-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida (**14b**) (213 mg; 1.45 mmol) y K₂CO₃ anhidro (86 mg; 0.62 mmol). Se obtuvieron (268 mg; 81% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

Pf: 70,2-71,9 °C.

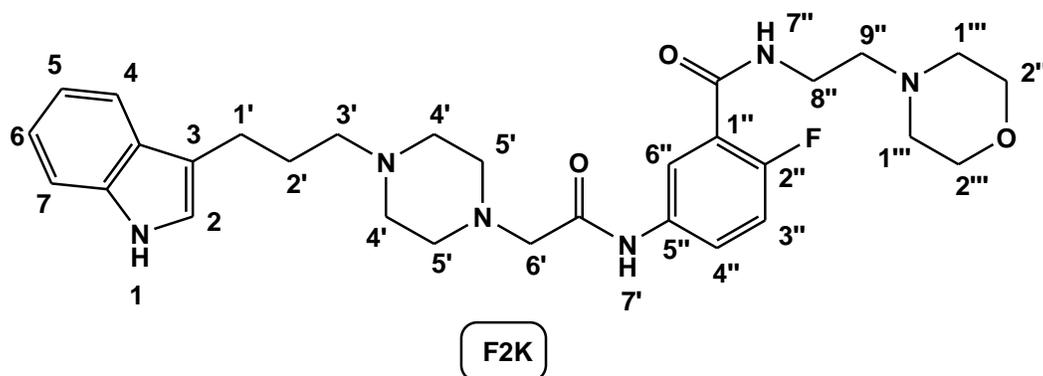
¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 1.81 (q, 2H, H-2', *J* = 7.5 Hz), 2.21-2.53 (m, 16H, H-3', H-4', H-5', H-9'' y H-1'''), 2.7 (t, 2H, H-1', *J* = 7.4 Hz), 3.19 (s, 2H, H-6'), 3.38-3.40 (m, 2H, H-8''), 3.57 (t, 4H, H-2''', *J* = 4.5 Hz), 6.96 (td, 1H, H-5 o H-6, *J*_o = 7.5 Hz, *J*_m = 1 Hz),

7.06 (td, 1H, H-6 o H-5, $J_o = 7.4$ Hz, $J_m = 1$ Hz), 7.11 (d, 1H, H-2, $J = 2.1$ Hz), 7.32-7.40 (m, 2H, H-7 y H-5''), 7.51 (d, 1H, H-4, $J = 7.7$ Hz), 7.61-7.66 (m, 1H, H-2''), 8.40-8.52(m, 2H, H-6'' y H-7''), 9.69(s ancho, 1H, H-7') y 10.8(s, 1H, H-1) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 22.4, 27.1, 36.6, 52.8(2X), 52.9(2X), 53.2(2X), 57.2, 57.5, 61.1, 66.2(2X), 111.3, 114.3, 115.1 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 20.1$ Hz), 118.1 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 10.6$ Hz), 120.7, 122.1, 122.4, 123.0, 124.0 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 8.1$ Hz), 125.7 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 11.8$ Hz), 127.2, 131.1 (d, $^4J_{\text{C-F}} = 3.3$ Hz), 136.3, 154.7 (d, $^1J_{\text{C-F}} = 249$ Hz), 165.1 y 168.5 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{39}\text{FN}_6\text{O}_3$ (M^+) = 551,3145, encontrado: 551,3138.

2-Flúoro-5-(2-{4-[3-(1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-acetilamino)-*N*-(2-morfolin-4-yl-etil)-benzamida (F2K)



Reaccionaron 3-(3-piperazin-1-il-propil)-1*H*-indol (**4a**) (150 mg; 0.62 mmol), 5-(2-cloro-acetilamino)-2-flúoro-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida (**14d**) (213 mg; 0.62 mmol) y K_2CO_3 anhidro (86 mg; 0.62 mmol). Se obtuvieron (200 mg; 60.7% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

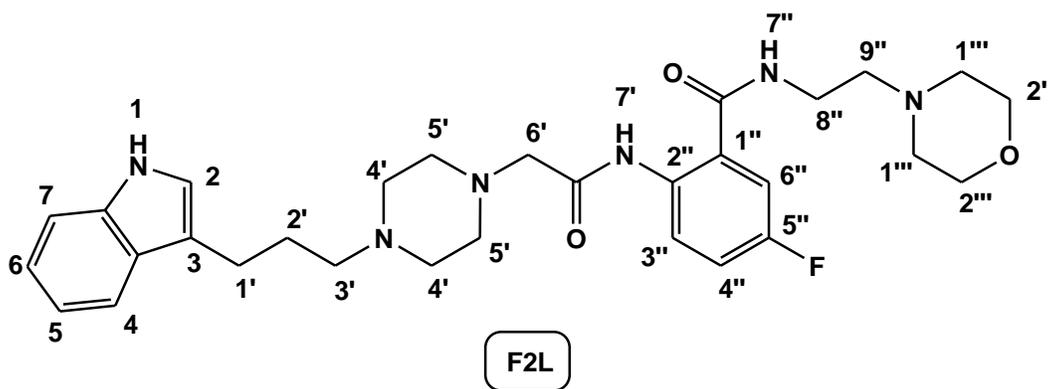
Pf: 69,7-71,5 °C.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 1.81 (q, 2H, H-2', *J* = 6.8 Hz), 2.25-2.54 (m, 16H, H-3', H-4', H-5', H-9'' y H-1'''), 2.7 (t, 2H, H-1', *J* = 7.2 Hz), 3.13(s, 2H, H-6'), 3.39 (c, 2H, H-8'', *J* = 6.4 Hz), 3.58 (t, 4H, H-2''', *J* = 4.2 Hz), 6.96 (t, 1H, H-5 o H-6, *J* = 7.2 Hz), 7.06 (t, 1H, H-6 o H-5, *J* = 6.9 Hz), 7.11(d, 1H, H-2, *J* = 1.2 Hz), 7.24 (t, 1H, H-3'', *J* = 9.8 Hz), 7.34 (d, 1H, H-4, *J* = 8.0 Hz), 7.51 (d, 1H, H-7, *J* = 7.7 Hz), 7.76-7.81 (m, 1H, H-6''), 7.94 (dd, 1H, H-4'', *J*_o = 6.3 Hz, *J*_m = 2.6 Hz), 8.15-8.22 (m, 1H, H-7''), 9.90 (s ancho, 1H, H-7') y 10.8 (s, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 22.9, 27.5, 37.0, 53.0(2X), 53.2(2X), 53.7(2X), 57.4, 57.9, 62.2, 66.7(2X), 111.8, 114.8, 116.7 (d, ²*J*_{C-F} = 24.2 Hz), 118.5, 118.7, 121.2, 121.37 (d, ⁴*J*_{C-F} = 2.2 Hz), 112.6, 123.6 (d, ³*J*_{C-F} = 8.1 Hz), 124.1 (d, ²*J*_{C-F} = 16.1 Hz), 127.7, 135.44 (d, ³*J*_{C-F} = 2.9 Hz), 136.8, 155.4(d, ¹*J*_{C-F} = 245 Hz), 163.7 y 168.9 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₃₀H₃₉FN₆O₃ (M⁺) = 551,3145, encontrado: 551,3128.

5-Flúoro-2-(2-{4-[3-(1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}-acetilamino)-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida (F2L)



Reaccionaron-(3-piperazin-1-il-propil)-1*H*-indol (**4a**) (200 mg; 0.82 mmol), 2-(2-cloro-acetilamino)-5-flúoro-*N*-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida (**14c**) (281 mg; 0.82

mmol) y K_2CO_3 anhidro (113 mg; 0.82 mmol). Se obtuvieron (263 mg 60% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

Pf: 68,1-69,6 °C.

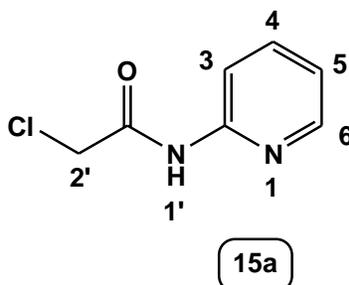
1H -RMN (DMSO- d_6): δ 1.80'(q, 2H, H-2', $J = 7.6$ Hz), 2.30-2.52 (m, 16H, H-3', H-4', H-5', H-9'' y H-1'''), 2.69 (t, 2H, H-1', $J = 7.4$ Hz), 3.18 (s, 2H, H-6'), 3.70-3.41 (m, 2H, H-8''), 3.56 (t, 4H, H-2''', $J = 4.5$ Hz), 6.96 (td, 1H, H-5 o H-6, $J_o = 7.8$ Hz, $J_m = 1.0$ Hz), 7.05 (td, 1H, H-6 o H-5, $J_o = 7$ Hz, $J_m = 1.1$ Hz), 7.11 (d, 1H, H-2, $J = 2.1$ Hz), 7.33 (t, 1H, H-4'', $J = 8.4$ Hz), 7.39 (d, 1H, H-4, $J = 8.7$ Hz), 7.50 (d, 1H, H-7, $J = 7.8$ Hz), 7.59-7.66 (m, 1H, H-3''), 8.40-8.48 (m, 2H, H-6'' y H-7''), 9.68 (s ancho, 1H, H-7') y 10.75 (s, 1H, H-1) ppm.

^{13}C -RMN (DMSO- d_6): δ 22.9, 27.7, 37.1, 53.3(2X), 53.4(2X), 53.8(2X), 57.8, 58.1, 61.6, 66.7(2X), 111.7, 113.4, 114.9, 115.6(d, $^2J_{C-F} = 19.4$ Hz), 118.6(d, $^2J_{C-F} = 17.7$ Hz), 121.2, 122.6, 123.0, 124.5(d, $^3J_{C-F} = 8.3$ Hz), 126.2(d, $^3J_{C-F} = 11.6$ Hz), 127.7, 131.63 (d, $^4J_{C-F} = 2.8$ Hz), 136.7, 155.3 (d, $^1J_{C-F} = 249$ Hz), 165.5 y 169.1 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $C_{30}H_{39}FN_6O_3$ (M+) = 551,3145, encontrado: 551,3134.

4.2.17 Obtención y caracterización de los derivados *N*-2-piridinil-2-cloro acetamidas 15a-d.

N-(2-piridinil)-2-cloro acetamida (15a)



Se agregaron 2-amino-piridina (**A**) (3 g; 31.87 mmol) en THF seco (60 mL), trietilamina (TEA) (4.51 mL; 31.87 mmol) y cloruro de cloroacetilo (2.44 mL; 31.87 mmol). El sistema se soportó en baño de hielo con atmosfera de nitrógeno y se dejó reaccionar durante 2 horas. Se obtuvieron (4152 mg; 76% de rendimiento) de un producto cristalino blanco.

Pf: 122,5-123,8 °C.

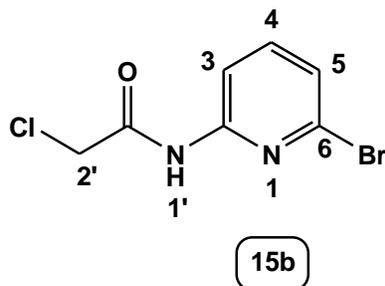
¹H-RMN (CDCl₃): δ 4.20 (s, 2H, H-2'), 7.00-7.07 (m, 1H, H-5), 7.63-7.71 (m, 1H, H-4), 8.13 (d, 1H, H-3, *J* = 8.4 Hz), 8.23-8.28 (m, 1H, H-6) y 8.87 (s ancho, 1H, H-1')

ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 42.8, 114.0, 120.6, 138.7, 148.0, 150.4 y 164.5 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₇H₇ClN₂O (M⁺) =171,0320, encontrado: 171,0311.

N-(6-bromo-2-piridinil)-2-cloro acetamida (15b)



Reaccionaron 2-amino-6-bromo-piridina (**B**) (2 g; 11.56 mmol), TEA (1.63 mL; 11.56 mmol) y cloruro de cloroacetilo (0.88 mL; 11.56 mmol). Se obtuvieron (2574 mg; 89% de rendimiento) de un sólido blanco.

Pf: 90,1-91,5 °C.

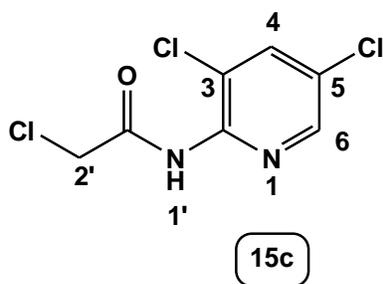
¹H-RMN (CDCl₃): δ 4.20 (s, 2H, H-2'), 7.29 (dd, 1H, H-3, J_o = 7.8 Hz, J_m = 0.6 Hz), 7.60 (t, 1H, H-4, J = 7.9 Hz), 8.18 (d, 1H, H-5, J = 8.1 Hz) y 8.82 (s ancho, 1H, H-1')

ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 42.7, 112.4, 124.6, 139.5, 140.7, 150.4 y 164.6 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₇H₆BrClN₂O (M⁺) =248,9425, encontrado: 248,9538.

N-(3,5-dicloro-2-piridinil)-2-cloro acetamida (15c)



Reaccionaron 2- amino-3,5-dicloro-piridina (**C**) (2 g; 12.27 mmol), TEA (1.7 mL; 12.27 mmol) y cloruro de cloroacetilo (0.93 mL; 12.27 mmol). Se obtuvieron (1435 mg; 49% de rendimiento) de un sólido blanco.

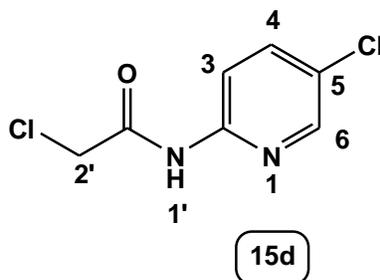
Pf: 158,5-160,0 °C.

¹H-RMN (CDCl₃): δ 4.38 (s, 2H, H-2'), 7.79 (t, 1H, H-4, *J* = 2.2 Hz), 8.36 (d, 1H, H-6, *J* = 2.2 Hz) y 8.81 (s ancho, 1H, H-1') ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃): δ 43.5, 121.9, 128.3, 137.7, 145.1, 145.5 y 164.2 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₇H₅Cl₃N₂O (M+) = 238,9540, encontrado: 238,9624.

N-(5-cloro-2-piridinil)-2-cloro acetamida (15d)



Reaccionaron 2-amino-5-cloro-piridina (**D**) (2 g; 15.56 mmol), TEA (2.2 mL; 15.56 mmol) y cloruro de cloroacetilo (1.2 mL; 15.56 mmol). Se obtuvieron (2190 mg; 69% de rendimiento) de un sólido blanco.

Pf: 137,5-139,0 °C.

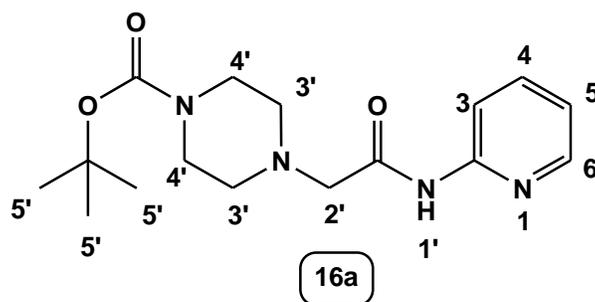
¹H-RMN (CDCl₃): δ 4.21 (s, 2H, H-2'), 7.70 (dd, 1H, H-4, *J*_o = 8.9 Hz, *J*_m = 2.6 Hz), 8.19 (t, 1H, H-3, *J* = 8.8 Hz), 8.28(d, 1H, H-6, *J* = 2.6 Hz) y 8.86 (s ancho, 1H, H-1') ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3): δ 42.7, 114.6, 127.8, 138.2, 146.8, 148.7 y 164.4 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $\text{C}_7\text{H}_6\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}$ (M^+) = 204,9929, encontrado: 204,9976.

4.2.18 Obtención y caracterización de los derivados [4-[(2-piridinil-carbamoil)-metil]-1-piperazinil] carbamatos de *t*-butilo 16a-d.

[4-[(2-piridinil-carbamoil)-metil]-1-piperazinil] carbamato de *t*-butilo (16a)



Se agregaron *N*-(2-piridinil)-2-cloro acetamida (**15a**) (4152 mg; 24.34 mmol) en CH_3CN seco (60 mL) más *N*-Boc-piperazina (4533 mg; 24.34 mmol) y K_2CO_3 anhidro (3364 mg; 24.34 mmol). Se dejó reaccionar a reflujo a una temperatura de 80°C por 24 hrs. Se obtuvieron (5810 mg; 75% de rendimiento) de un producto sólido de color blanco.

Pf: 87,3-88,0 $^\circ\text{C}$.

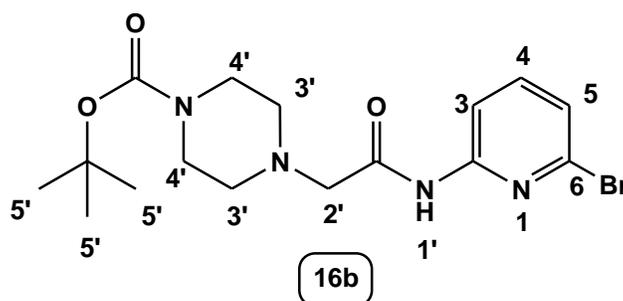
$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3): δ 1.47 (s, 9H, H-5'), 2.57 (t, 4H, H-3', $J = 4.9$ Hz), 3.18 (s, 2H, H-2'), 3.53 (t, 4H, H-4', $J = 4.9$ Hz), 7.02-7.09 (m, 1H, H-5), 7.68-7.75 (m, 1H, H-4), 8.24 (d, 1H, H-3, $J = 8.4$ Hz), 8.28-8.32 (m, 1H, H-6) y 9.50 (s ancho, 1H, H-1') ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3): δ 28.4(3X), 43.5, 53.3(2X), 62.3(2X), 80.0, 113.9, 120.0, 138.4, 148.0, 150.9, 154.6 y 168.8 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_3$ (M^+) = 321,1921, encontrado: 321,1956.

[4-[(6-Bromo-2-piridinil-carbamoyl)-metil]-1-piperazinil] carbamato de *t*-butilo

(16b)



Reaccionaron *N*-(6-bromo-2-piridinil)-2-cloro acetamida (**15b**) (1000 mg; 4.01 mmol), *N*-Boc-piperazina (747 mg; 6.53 mmol) y K_2CO_3 anhidro (554 mg; 4.01 mmol). Se obtuvieron (1252 mg; 78% de rendimiento) de un sólido blanco.

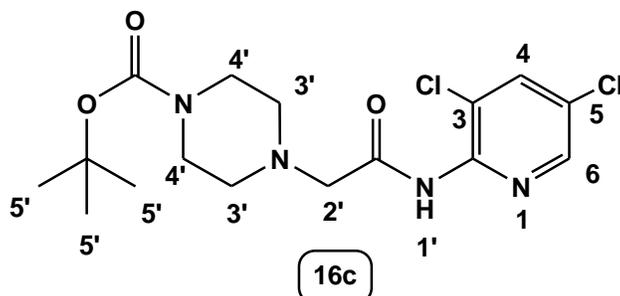
Pf: 137,0-138,0 °C.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3): δ 1.47 (s, 9H, H-5'), 2.55 (t, 4H, H-3', $J = 4.9$ Hz), 3.17 (s, 2H, H-2'), 3.54 (t, 4H, H-4', $J = 4.9$ Hz), 7.24 (d, 1H, H-3, $J = 7.7$ Hz), 7.56 (t, 1H, H-4, $J = 8.0$ Hz), 8.21 (d, 1H, H-5, $J = 8.1$ Hz), y 9.48 (s ancho, 1H, H-1') ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3): δ 23.7(3X), 39.0, 48.6(2X), 57.6(2X), 75.3, 107.6, 119.1, 134.7, 135.8, 146.2, 149.9 y 164.2 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{BrN}_4\text{O}_3$ (M^+) = 399,1026, encontrado: 399,1081.

[4-[(3,5-Dicloro-2-piridinil-carbamoil)-metil]-1-piperazinil] carbamato de *t*-butilo (16c)



Reaccionaron *N*-(3,5-dicloro-2-piridinil)-2-cloro acetamida (**15c**) (1000 mg; 4.18 mmol), *N*-Boc-piperazina (779 mg; 4.18 mmol) y K_2CO_3 anhidro (578 mg; 4.18 mmol). Se obtuvieron (1264 mg; 78% de rendimiento) de un sólido blanco.

Pf: 133,4-135,0 °C.

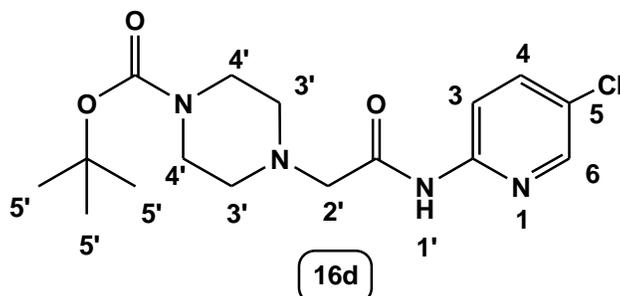
1H -RMN ($CDCl_3$): δ 1.47 (s, 9H, H-5'), 2.63 (t, 4H, H-3', $J = 4.9$ Hz), 3.25 (s, 2H, H-2'), 3.53 (t, 4H, H-4', $J = 4.9$ Hz), 7.76 (d, 1H, H-4, $J = 2.3$ Hz), 8.39 (d, 1H, H6, $J = 2.3$ Hz) y 10.16 (s ancho, 1H, H-1') ppm.

^{13}C -RMN ($CDCl_3$): δ 23.6(3X), 38.9, 48.5(2X), 57.5(2X), 75.4, 116.1, 122.4, 132.6, 140.9, 141.0, 149.8 y 162.6 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $C_{16}H_{22}Cl_2N_4O_3$ (M^+) = 389,1141, encontrado: 389,1198.

[4-[(5-Cloro-2-piridinil-carbamoi)-metil]-1-piperazinil] carbamato de t-butilo

(16d)



Reaccionaron *N*-(5-cloro-2-piridinil)-2-cloro acetamida (**15d**) (1000 mg; 4.88 mmol), *N*-Boc-piperazina (909 mg; 4.88 mmol) y K_2CO_3 anhidro (674 mg; 6.53 mmol). Se obtuvieron (1494 mg; 86.3% de rendimiento) de un sólido blanco.

Pf: 128,5-129,4 °C.

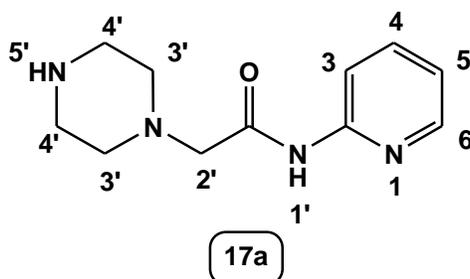
1H -RMN ($CDCl_3$): δ 1.47 (s, 9H, H-5'), 2.57 (t, 4H, H-3', $J = 4.9$ Hz), 3.18 (s, 2H, H-2'), 3.53 (t, 4H, H-4', $J = 4.9$ Hz), 7.67 (d, 1H, H-4, $J_o = 8.8$ Hz, $J_m = 2.6$ Hz), 8.21-8.26 (m, 2H, H-3 y H-6), y 9.55 (s ancho, 1H, H-1') ppm.

^{13}C -RMN ($CDCl_3$): δ 23.6(3X), 38.7, 48.6(2X), 57.4(2X), 75.3, 109.8, 122.2, 133.3, 141.8, 144.4, 149.9 y 164.0 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $C_{16}H_{23}ClN_4O_3$ (M^+) = 355,1531, encontrado: 355,1583.

4.2.19 Obtención y caracterización de los derivados *N*-(2-piridinil)-2-(1-piperazinil) acetamidas 17a-d.

N-(2-piridinil)-2-(1-piperazinil) acetamida (17a)



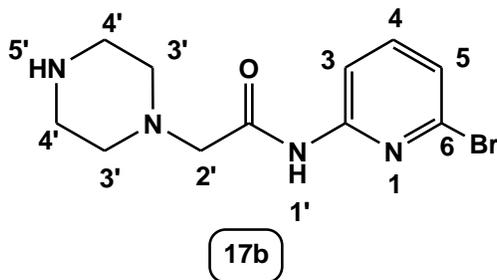
Se agregaron [4-[(2-piridinil-carbamoil)-metil]-1-piperazinil] carbamato de *t*-butilo (**16a**) (2 g; 6.24 mmol) en CH₂Cl₂ seco (20 mL) más ácido trifluoro-acético (12 mL). El sistema fue montado en baño de hielo y se dejó reaccionar por 4 horas. Se obtuvieron (1230 mg; 90% de rendimiento) de un sólido amarillo pálido y altamente higroscópico que se dejó secar por 1 día en línea de vacío.

¹H-RMN (Acetona-*d*₆): δ 2.67 (t, 4H, H-3', *J* = 4.8 Hz), 3.04 (t, 4H, H-4', *J* = 4.7 Hz), 3.18 (s, 2H, H-2'), 7.09-7.15 (m, 1H, H-5), 7.75-7.83 (m, 1H, H-4), 8.20 (d, 1H, H-3, *J* = 8.4 Hz) y 8.28-8.34 (m, 1H, H-6) ppm.

¹³C-RMN (Acetona-*d*₆): δ 50.5(2X), 58.7(2X), 67.5, 118.2, 120.5, 124.7, 143.2, 153.4 y 166.2 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₁₁H₁₆N₄O (M⁺) = 221,1396, encontrado: 221,1442.

N-(6-bromo-2-piridinil) 2-(1-piperazinil) acetamida (17b)



Reaccionaron [4-[(6-bromo-2-piridinil-carbamoil)-metil]-1-piperazinil] carbamato de *t*-butilo (**16b**) (1485 mg; 3.72 mmol) y ácido trifluoro-acético (12 mL).

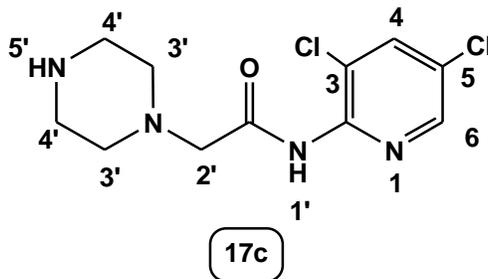
Se obtuvieron (983 mg; 88% de rendimiento) de un sólido café claro.

¹H-RMN (Acetona-*d*₆): δ 2.75 (t, 4H, H-3', *J* = 5.0 Hz), 3.13 (t, 4H, H-4', *J* = 4.7 Hz), 3.25 (s, 2H, H-2'), 7.34 (d, 1H, H-3, *J* = 7.7 Hz) y 7.74 (t, 1H, H-4, *J* = 7.8 Hz), 8.21 (d, 1H, H-5, *J* = 8.2 Hz) ppm.

¹³C-RMN (Acetona-*d*₆): δ 50.0(2X), 57.8(2X), 67.3, 117.0, 120.5, 124.4, 128.5, 146.2 y 166.2 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₁₁H₁₅BrN₄O (M⁺) = 299,0502, encontrado: 299,0553.

N-(3,5-dicloro-2-piridinil)-2-(1-piperazinil) acetamida (17c)



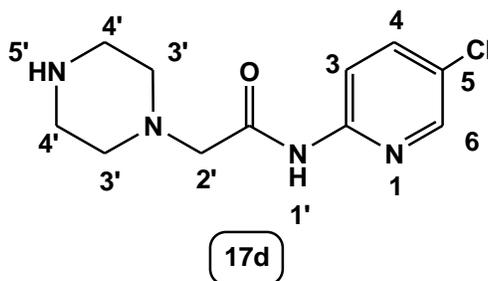
Reaccionaron [4-[(3,5-dicloro-2-piridinil-carbamoil)-metil]-1-piperazinil] carbamato de *t*-butilo (**16c**) (1,5 g; 3.85 mmol) y ácido trifluoro-acético (12 mL). Se obtuvieron (1023 mg; 92% de rendimiento) de un sólido café claro.

¹H-RMN (Acetona-*d*₆): δ 2.57 (t, 4H, H-3', *J* = 4.9 Hz), 2.89 (t, 4H, H-4', *J* = 4.7 Hz), 3.08 (s, 2H, H-2'), 7.96 (d, 1H, H-4, *J* = 2.3 Hz) y 8.31 (d, 1H, H-6, *J* = 2.3 Hz) ppm.

¹³C-RMN (Acetona-*d*₆): δ 50.6(2X), 58.6(2X), 67.5, 124.4, 127.5, 132.1, 142.7, 150.6 y 166.1 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₁₁H₁₄Cl₂N₄O (M⁺) = 289,0617, encontrado: 289,0658.

N-(5-cloro-2-piridinil)-2-(1-piperazinil) acetamida (17d)



Reaccionaron [4-[(5-cloro-2-piridinil-carbamoil)-metil]-1-piperazinil] carbamato de *t*-butilo (**16d**) (1500 mg; 4.23 mmol) y ácido trifluoro-acético (12 mL). Se obtuvieron (907 mg; 84% de rendimiento) de un sólido café claro.

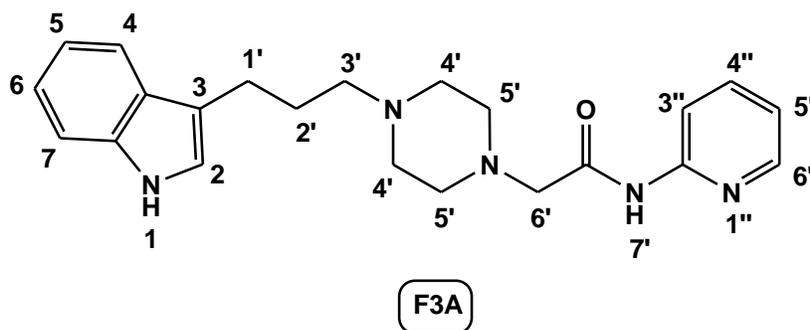
¹H-RMN (Acetona-*d*₆): δ 2.68 (t, 4H, H-3', *J* = 4.9 Hz), 3.04 (t, 4H, H-4', *J* = 4.9 Hz), 3.21 (s, 2H, H-2'), 7.86 (d, 1H, H-4, *J*_o = 8.9 Hz, *J*_m = 2.6 Hz), 8.25 (d, 1H, H-3, *J* = 8.9 Hz) y 8.31 (d, 1H, H-6, *J* = 2.5 Hz) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (Acetona- d_6): δ 50.4(2X), 58.5(2X), 67.3, 119.2, 124.4, 131.1, 143.0, 151.7 y 166.6 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{ClN}_4\text{O}$ (M^+) = 255,1007, encontrado: 255,1060.

4.2.20 Obtención y caracterización de los derivados *N*-(2-piridinil)- 2-{4-[3-(1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil} acetamidas F3A-L.

N-(2-piridinil)- 2-{4-[3-(1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil} acetamida (F3A)



Se pesaron y agregaron *N*-(2-piridinil)- 2-(1-piperazinil) acetamida (**17a**) (300 mg; 1.36 mmol) en CH_3CN seco (50 mL) más 3-(1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (**2a**) (448 mg; 1.36 mmol) y K_2CO_3 anhidro (188 mg; 1.36 mmol), el sistema se conectó a un refrigerante para reaccionar por 24 horas a una temperatura de 80 °C. Se obtuvieron (163 mg; 32% de rendimiento) de un sólido de color amarillo claro que se dejó secando en línea de vacío por 24 horas.

Pf: 90,3-92,5 °C.

$^1\text{H-RMN}$ ($\text{DMSO-}d_6$): δ 1.81 (m, 2H, H-2'), 2.25-2.58 (m, 10H, H-3', H-4' y H-5'), 2.70 (t, 2H, H-1', $J = 7.0$ Hz), 3.19 (s, 2H, H-6'), 6.97 (t, 1H, H-6, $J = 7.2$ Hz), 7.04-7.18

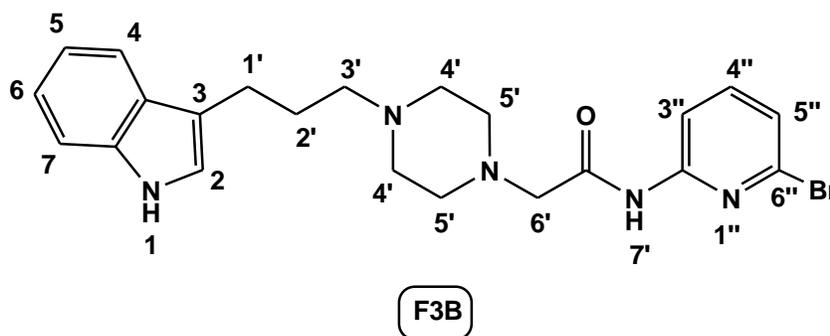
(m, 3H, H-2, H-5 y H-5''), 7.36 (d, 1H, H-4, $J = 7.9$ Hz), 7.52 (d, 1H, H-7, $J = 7.9$ Hz), 7.81 (t, 1H, H-4'', $J = 7.3$ Hz), 8.13 (d, 1H, H-3'', $J = 8.3$ Hz), 8.33 (d, 1H, H-6'', $J = 3.7$ Hz), 9.90 (s ancho, 1H, H-7') y 10.83 (s, 1H, H-1) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 22.4, 27.1, 52.8(2X), 52.9(2X), 57.5, 61.2, 111.4, 113.0, 114.4, 118.1, 118.3, 119.7, 120.8, 122.2, 127.2, 136.3, 138.4, 148.1, 151.1 y 169.0 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}$ (M^+) = 378,2288, encontrado: 378,2352.

***N*-(6-bromo-2-piridinil)-2-{4-[3-(1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil} acetamida**

(F3B)



Reaccionaron *N*-(6-bromo-2-piridinil)-2-(1-piperazinil) acetamida (**17b**) (200 mg; 0.67 mmol), 3-(1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (**2a**) (220 mg; 0.67 mmol) y K_2CO_3 anhidro (93 mg; 0.67 mmol). Se obtuvieron (168 mg; 55% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

Pf: 113,8-114,9 °C.

$^1\text{H-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 1.79 (q, 2H, H-2', $J = 7.4$ Hz), 2.28-2.55 (m, 10H, H-3', H-4' y H-5'), 2.69 (t, 2H, H-1', $J = 7.4$ Hz), 3.19 (s, 2H, H-6'), 6.96 (t, 1H, H-5 o H-6, $J =$

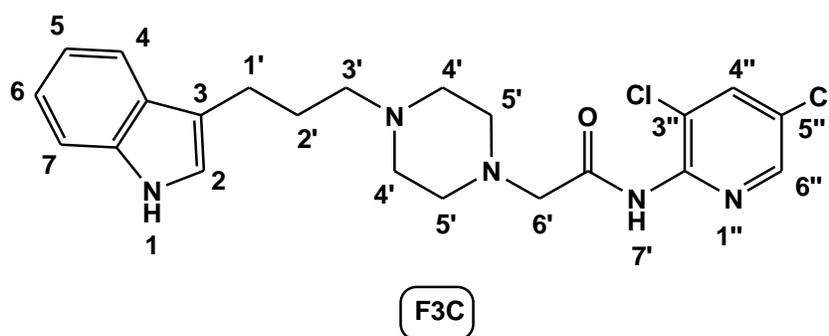
7.8 Hz), 7.05 (t, 1H, H-6 o H-5, $J = 7.9$ Hz), 7.11 (d, 1H, H-2, $J = 2$ Hz), 7.31-7.37 (m, 2H, H-4 y H-5''), 7.50 (d, 1H, H-7, $J = 7.7$ Hz), 7.74 (t, 1H, H-4'', $J = 7.9$ Hz), 8.11 (d, 1H, H-3'', $J = 8.5$ Hz), 10.24 (s ancho, 1H, H-7') y 10.76 (s, 1H, H-1) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 22.4, 27.2, 52.8(2X), 52.9(2X), 57.6, 61.2, 111.3, 112.1, 114.4, 118.1, 118.3, 120.8, 122.1, 123.2, 127.2, 136.3, 138.9, 141.5, 151.5 y 169.3 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{BrN}_5\text{O}$ (M^+) = 456,1393, encontrado: 456,1494.

N-**(3,5-dicloro-2-piridinil)-2**-**{4-[3-(1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}** acetamida

(F3C)



Reaccionaron *N*-(3,5-dicloro-2-piridinil)-2-(1-piperazinil) acetamida (**17c**) (200 mg; 0.69 mmol), 3-(1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (**2a**) (227 mg; 0.69 mmol) y K_2CO_3 anhidro (95 mg; 0.69 mmol). Se obtuvieron (159 mg; 43% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

Pf: 95,8-97,3 °C.

$^1\text{H-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 1.76 (q, 2H, H-2', $J = 7.7$ Hz), 2.32 (t, 2H, H-3', $J = 7.0$ Hz), 2.36-2.62 (m, 8H, H-4' y H-5'), 2.66 (t, 2H, H-1', $J = 7.4$ Hz), 3.05 (s, 2H, H-6'), 6.85

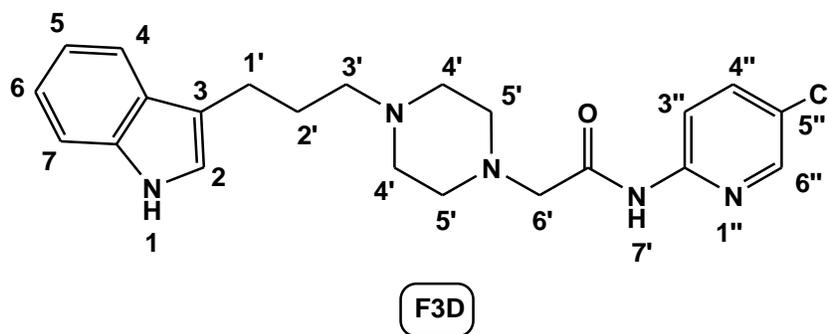
(td, 1H, H-5 o H-6, $J_o = 7.8$ Hz, $J_m = 1.2$ Hz), 6.94 (td, 1H, H-6 o H-5, $J_o = 7.0$ Hz, $J_m = 1.2$ Hz), 6.99 (d, 1H, H-2, $J = 2.0$ Hz), 7.22 (d, 1H, H-4, $J = 8.0$ Hz), 7.43 (d, 1H, H-7, $J = 7.8$ Hz), 7.90 (d, 1H, H-4'', $J = 2.3$ Hz), 8.22 (d, 1H, H-6'', $J = 2.3$ Hz) y 9.60-10.20 (s ancho, 2H, H-1 y H-7') ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 22.5, 27.1, 53.0(2X), 53.1(2X), 57.6, 61.8, 111.2, 111.3, 115.1, 118.3, 118.4, 121.1, 121.8, 121.9, 127.1, 127.8, 136.7, 137.3, 145.2 y 167.4 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{O}$ (M^+) = 446,1509, encontrado: 446,1543.

***N*-(5-cloro-2-piridinil)-2-{4-[3-(1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil} acetamida**

(F3D)



Reaccionaron *N*-(5-cloro-piridin-2-il)-2-(1-piperazinil) acetamida (**17d**) (200 mg; 0.79 mmol), 3-(1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (**2a**) (260 mg; 0.79 mmol) y K_2CO_3 anhidro (109 mg; 0.79 mmol). La reacción condujo a la obtención (198 mg; 61% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

Pf: 128,2-129,8 °C.

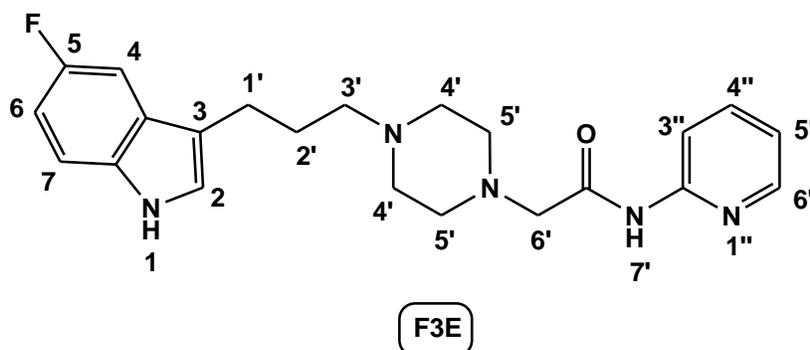
¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 1.73-1.90 (m, 2H, H-2'), 2.29-2.60 (m, 10H, H-3', H-4' y H-5'), 2.70 (t, 2H, H-1', *J* = 6.9 Hz), 3.20 (s, 2H, H-6'), 6.97 (t, 1H, H-5 o H-6, *J* = 7.3 Hz), 7.03-7.15 (m, 2H, H-2 y H-5 o H-6), 7.35 (d, 1H, H-4, *J* = 7.9 Hz), 7.51 (d, 1H, H-7, *J* = 7.5 Hz), 7.93(d, 1H, H-4'', *J* = 8.7 Hz), 8.16 (d, 1H, H-3'', *J* = 8.7 Hz), 8.38 (s, 1H, H-6''), 10.10 (s ancho, 1H, H-7') y 10.82 (s, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 22.4, 27.1, 52.7(2X), 52.9(2X), 57.5, 61.1, 111.3, 114.1, 114.4, 118.1, 118.3, 120.8, 122.1, 125.3, 127.2 136.3, 138.1, 146.5, 149.8 y 169.1 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₂₂H₂₆ClN₅O (M⁺) = 412,1898, encontrado: 412,1973.

***N*-(2-piridinil)-2-{4-[3-(5-flúoro-1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil} acetamida**

(F3E)



Reaccionaron *N*-(2-piridinil)-2-(1-piperazinil) acetamida (**17a**) (300 mg; 1.36 mmol), 3-(5-flúoro-1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (**2b**) (472 mg; 1.36 mmol) y K₂CO₃ anhidro (189 mg; 1.36 mmol). Se obtuvieron (151 mg 28% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

Pf: 121,1-122,8 °C.

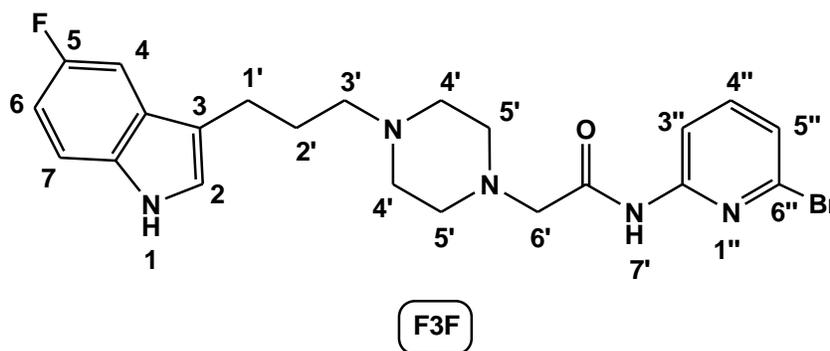
¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 1.77 (q, 2H, H-2', *J* = 7.1 Hz), 2.34 (t, 2H, H-3', *J* = 6.9 Hz), 2.38-2.60 (m, 8H, H-4' y H-5'), 2.65 (t, 2H, H-1', *J* = 7.3 Hz), 3.18 (s, 2H, H-6'), 6.89 (td, 1H, H-6, *J*_o = 9.2 Hz, *J*_m = 2.4 Hz), 7.12 (td, 1H, H-5'', *J*_o = 6.1 Hz, *J*_m = 1 Hz), 7.20 (d, 1H, H-2, *J* = 1.9 Hz), 7.25 (dd, 1H, H-7, *J*_o = 10.1 Hz, *J*_m = 2.3 Hz), 7.32 (dd, 1H, H-4, *J*_o = 8.8 Hz, *J*_m = 4.6 Hz), 7.75-7.85 (m, 1H, H-4''), 8.11 (d, 1H, H-3'', *J* = 8.4 Hz), 8.32 (dd, 1H, H-6'', *J*_o = 4.8 Hz, *J*_m = 1 Hz), 9.88 (s ancho, 1H, H-7') y 10.91 (s, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 22.2, 27.1, 52.8(2X), 52.9(2X), 57.4, 61.2, 102.9 (d, ²*J*_{C-F} = 22.7 Hz), 108.8 (d, ²*J*_{C-F} = 26.0 Hz), 112.2 (d, ³*J*_{C-F} = 9.4 Hz), 113.0, 114.7 (d, ⁴*J*_{C-F} = 4.9 Hz), 119.7, 123.4, 127.5 (d, ³*J*_{C-F} = 9.9 Hz), 132.9, 138.4, 148.1, 151.1, 156.6 (d, ¹*J*_{C-F} = 230 Hz) y 169.0 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₂₂H₂₆FN₅O (M⁺) = 396,2194, encontrado: 396,2260.

***N*-(6-bromo-2-piridinil)-2-{4-[3-(5-flúoro-1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil} acetamida (F3F)**

acetamida (F3F)



Reaccionaron *N*-(6-bromo-2-piridinil)-2-(1-piperazinil) acetamida (**17b**) (200 mg; 0.67 mmol), 3-(5-flúor-1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (**2b**) (232 mg;

0.67 mmol) y K_2CO_3 anhidro (93 mg; 0.67 mmol). Se obtuvieron (268 mg; 85% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

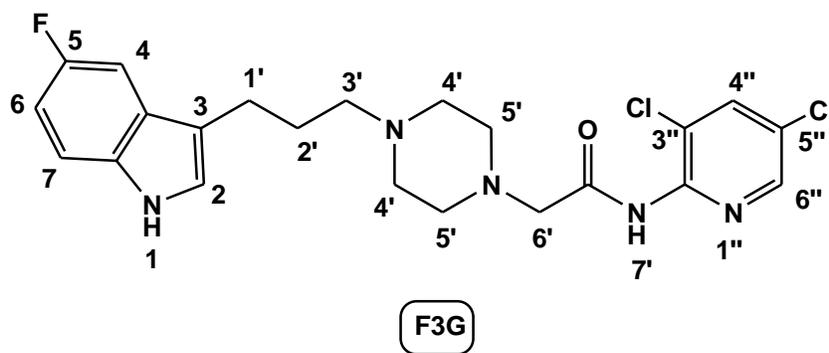
Pf: 88,1-89,5 °C.

1H -RMN (DMSO- d_6): δ 1.80-1.94 (m, 2H, H-2'), 2.51 (t, 2H, H-3', $J = 2$ Hz), 2.53-2.80 (m, 10H, H-1', H-4' y H-5'), 3.25 (s, 2H, H-6'), 6.90 (td, 1H, H-6, $J_o = 9.2$ Hz, $J_m = 2.5$ Hz), 7.23 (d, 1H, H-2, $J = 1.8$ Hz), 7.27 (dd, 1H, H-7, $J_o = 10.2$ Hz, $J_m = 2.4$ Hz), 7.30-7.38 (m, 2H, H-4 y H-5''), 7.75 (t, 1H, H-4'', $J = 8.0$ Hz), 8.10 (d, 1H, H-3'', $J = 8.1$ Hz), 10.34 (s ancho, 1H, H-7') y 10.94 (s, 1H, H-1) ppm.

^{13}C -RMN (DMSO- d_6): δ 22.5, 26.1, 51.8(2X), 52.6(2X), 57.1, 61.1, 103.4 (d, $^2J_{C-F} = 22.7$ Hz), 109.4 (d, $^2J_{C-F} = 26.4$ Hz), 112.7 (d, $^3J_{C-F} = 9.5$ Hz), 114.2, 114.55 (d, $^4J_{C-F} = 4.4$ Hz), 123.7, 125.0, 127.8 (d, $^3J_{C-F} = 9.5$ Hz), 133.4, 139.3, 142.0, 157.1, 156.6 (d, $^1J_{C-F} = 231$ Hz) y 169.6 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $C_{22}H_{25}BrFN_5O$ ($M+$) = 474,1299, encontrado: 474,1370.

***N*-(3,5-dicloro-2piridinil)-2-{4-[3-(5-flúoro-1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil} acetamida (F3G)**



Reaccionaron *N*-(3,5-dicloro-2-piridinil)-2-(1-piperazinil) acetamida (**17c**) (200 mg; 0.69 mmol), 3-(5-flúor-1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (**2b**) (239 mg; 0.69 mmol) y K₂CO₃ anhidro (95 mg; 0.69 mmol). Se obtuvieron (148 mg; 46% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

Pf: 103,4-104,5 °C.

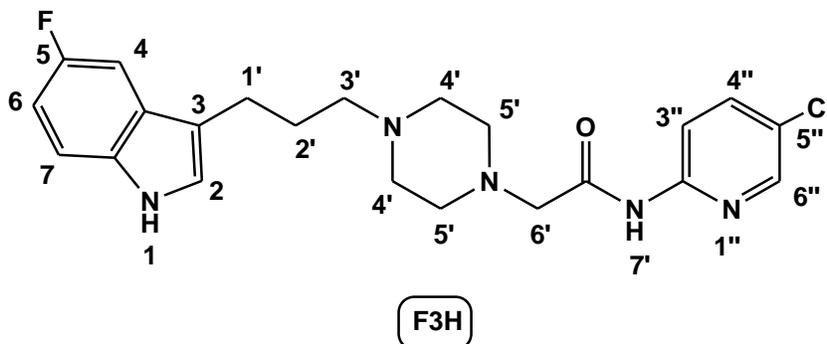
¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 1.70-1.84 (m, 2H, H-2'), 2.33 (t, 2H, H-3', *J* = 6.3 Hz), 2.36-2.58 (m, 8H, H-4' y H-5'), 2.65 (t, 2H, H-1', *J* = 6.6 Hz), 3.17 (s, 2H, H-6'), 6.89 (t, 1H, H-6, *J* = 9.1 Hz), 7.19 (s, 1H, H-2), 7.25 (d, 1H, H-7, *J* = 10.0 Hz), 7.32 (dd, 1H, H-4, *J*_o = 8.4 Hz, *J*_m = 4.5 Hz), 8.28 (s, 1H, H-4''r), 8.46 (s, 1H, H-6''), 10.17 (s ancho, 1H, H-7') y 10.91 (s, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 22.2, 27.1, 52.7(2X), 52.8(2X), 57.4, 61.3, 102.9 (d, ²*J*_{C-F} = 22.7 Hz), 108.8 (d, ²*J*_{C-F} = 26.0 Hz), 112.2 (d, ³*J*_{C-F} = 9.4 Hz), 114.7 (d, ⁴*J*_{C-F} = 4.9 Hz), 124.4, 124.7, 127.4 (d, ³*J*_{C-F} = 9.9 Hz), 127.6, 132.9, 137.8, 145.3, 146.6 156.6(d, ¹*J*_{C-F} = 231 Hz) y 168.2 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₂₂H₂₄Cl₂FN₅O (M+) = 464,1414, encontrado: 464,1364.

N-(5-cloro-2-piridinil)-2-{4-[3-(5-flúoro-1H-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}

acetamida (F3H).



Reaccionaron *N*-(5-cloro-2-piridinil)-2-(1-piperazinil) acetamida (**17d**) (200 mg; 0.79 mmol), 3-(5-flúoro-1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (**2b**) (274 mg; 0.79 mmol) y K₂CO₃ anhidro (109 mg; 0.79 mmol). Se obtuvieron (100 mg; 30% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

Pf: 136,8-138,4 °C.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆): δ 1.77 (q, 2H, H-2', *J* = 7.4 Hz), 2.33 (t, 2H, H-3', *J* = 6.9 Hz), 2.36-2.49 (m, 4H, H-4'), 2.53-2.61 (m, 4H, H-5'), 2.65 (t, 2H, H-1', *J* = 7.4 Hz), 3.19 (s, 2H, H-6'), 6.89 (td, 1H, H-6, *J*_o = 9.2 Hz, *J*_m = 2.5 Hz), 7.20 (d, 1H, H-2, *J* = 2.1 Hz), 7.25 (dd, 1H, H-7, *J*_o = 10.1 Hz, *J*_m = 2.5 Hz), 7.32 (dd, 1H, H-4, *J*_o = 8.8 Hz, *J*_m = 4.6 Hz), 7.93 (dd, 1H, H-4'', *J*_o = 8.9 Hz, *J*_m = 2.6 Hz), 8.14 (d, 1H, H-3'', *J* = 8.9 Hz), 8.37 (dd, 1H, H-6'', *J* = 2.2 Hz), 10.08 (s ancho, 1H, H-7') y 10.89 (s, 1H, H-1) ppm.

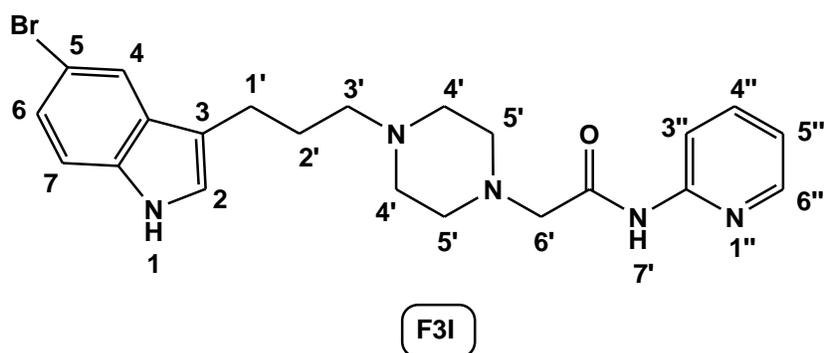
¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 22.2, 27.1, 52.8(2X), 52.9(2X), 57.4, 61.1, 102.9 (d, ²*J*_{C-F} = 22.7 Hz), 108.8 (d, ²*J*_{C-F} = 26.0 Hz), 112.2 (d, ³*J*_{C-F} = 9.9 Hz), 114.1, 114.7 (d, ⁴*J*_{C-F} =

4.9 Hz), 124.4, 125.3, 127.5 (d, $^3J_{C-F} = 9.4$ Hz), 132.9, 138.1, 146.5, 149.8, 156.6 (d, $^1J_{C-F} = 231$ Hz) y 169.1 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $C_{22}H_{25}ClFN_5O$ (M+) = 430,1804, encontrado: 430,1771.

N-(2-piridinil)-2-{4-[3-(5-bromo-1H-3-indolil)-propil]-1-piperazinil} acetamida

(F3I)



Reaccionaron *N*-(2-piridinil)-2-(1-piperazinil) acetamida (**17a**) (300 mg; 1.36 mmol), 3-(5-bromo-1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (**2c**) (555 mg; 1.36 mmol) y K_2CO_3 anhidro (188 mg; 1.36 mmol). Se obtuvieron (127 mg; 20% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

Pf: 97,8-98,9 °C.

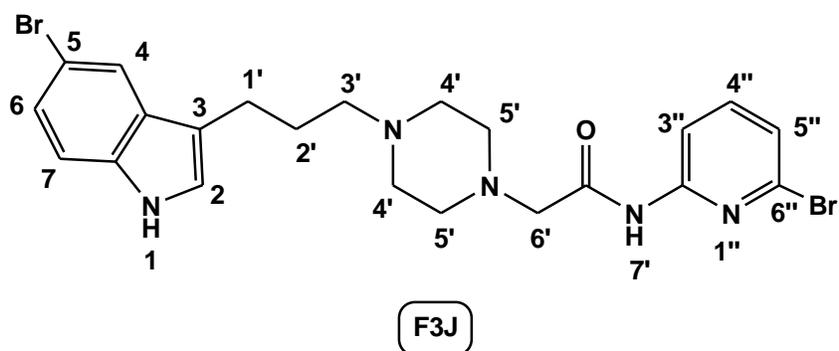
1H -RMN (DMSO- d_6): δ 1.75 (q, 2H, H-2', $J = 7.2$ Hz), 2.33 (t, 2H, H-3', $J = 6.9$ Hz), 2.35-2.50 (m, 4H, H-4'), 2.51-2.62 (m, 4H, H-5'), 2.68 (t, 2H, H-1', $J = 7.4$ Hz), 3.18 (s, 2H, H-6'), 7.08-7.21 (m, 3H, H-2, H-5 y H-5''), 7.31 (d, 1H, H-7, $J = 8.8$ Hz), 7.72 (d, 1H, H-4, $J = 1.8$ Hz), 7.81 (t, 1H, H-4'', $J = 7.4$ Hz), 8.13 (d, 1H, H-3'', $J = 8.5$ Hz), 8.33 (d, 1H, H-6'', $J = 3.8$ Hz), 10.15 (s ancho, 1H, H-7') y 11.03 (s, 1H, H-1) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 22.1, 27.7, 53.3(2X), 53.4(2X), 57.4, 62.0, 111.4, 112.4, 114.0, 115.1, 120.8, 123.4, 123.8, 124.6, 129.9, 135.8, 139.1, 142.2, 151.9 y 169.4 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{BrN}_5\text{O}$ (M^+) = 456,1393, encontrado: 456,1377.

N-(6-bromo-2-piridinil)-2-{4-[3-(5-bromo-1H-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}

acetamida (F3J)



Reaccionaron *N*-(6-bromo-2-piridinil)-2-(1-piperazinil) acetamida (**17b**) (300 mg; 1 mmol), 3-(5-bromo-1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (**2c**) (408 mg; 1 mmol) y K_2CO_3 anhidro (138 mg; 1 mmol). Se obtuvieron (239 mg; 45% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

Pf: 128,4-130,1 °C.

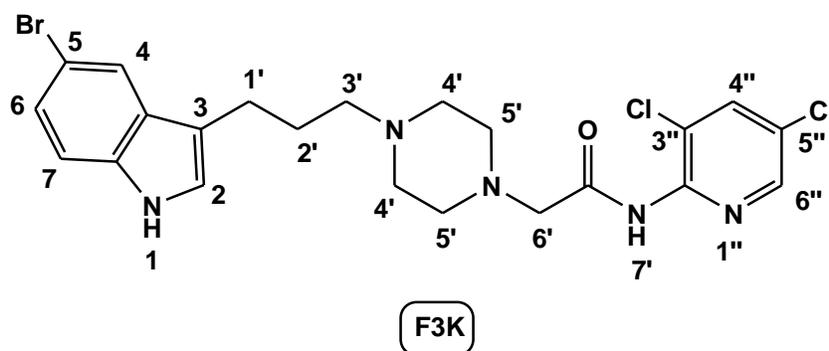
$^1\text{H-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 1.76 (q, 2H, H-2', $J = 7.0$ Hz), 2.31 (t, 2H, H-3', $J = 6.7$ Hz), 2.36-2.49 (m, 4H, H-4'), 2.52-2.61 (m, 4H, H-5'), 2.66 (t, 2H, H-1', $J = 7.3$ Hz), 3.19 (s, 2H, H-6'), 7.12-7.21 (m, 2H, H-2 y H-6), 7.31 (d, 1H, H-7, $J = 8.6$ Hz), 7.35 (d, 1H, H-5'', $J = 7.6$ Hz), 7.69 (d, 1H, H-4, $J = 1.7$ Hz), 7.75 (t, 1H, H-4'', $J = 7.9$ Hz), 8.11(d, 1H, H-3'', $J = 8.1$ Hz), 10.24 (s ancho, 1H, H-7') y 11.0 (s, 1H, H-1) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 22.4, 27.6, 53.1(2X), 53.3(2X), 57.6, 61.6, 111.2, 112.5, 113.8, 114.8, 121.1, 123.6, 123.7, 124.4, 129.7, 135.4, 139.3, 142.0, 152.0 y 169.7 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{Br}_2\text{N}_5\text{O}$ (M^+) = 536,0498, encontrado: 536,0479.

***N*-(3,5-dicloro-2-piridinil)-2-{4-[3-(5-bromo-1*H*-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}**

acetamida (F3K)



Reaccionaron *N*-(3,5-dicloro-2-piridinil)-2-(1-piperazinil) acetamida (**17c**) (200 mg; 0.69 mmol), 3-(5-bromo-1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (**2c**) (282 mg; 0.69 mmol) y K_2CO_3 anhidro (95 mg; 0.69 mmol). Se obtuvieron (224 mg; 62% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

Pf: 165,3-167,4 °C.

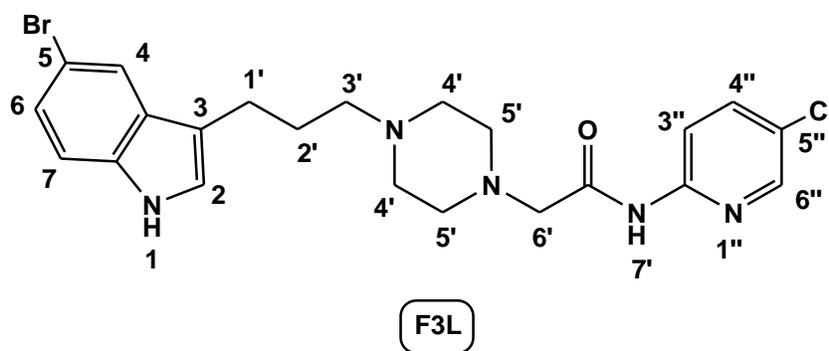
$^1\text{H-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 1.77 (q, 2H, H-2', $J = 7.6$ Hz), 2.33 (t, 2H, H-3', $J = 6.5$ Hz), 2.39-2.50 (m, 4H, H-4'), 2.53-2.62 (m, 4H, H-5'), 2.67 (t, 2H, H-1', $J = 7.3$ Hz), 3.17 (s, 2H, H-6'), 7.13-7.21 (m, 2H, H-2 y H-6), 7.31 (d, 1H, H-7, $J = 8.9$ Hz), 7.69 (d, 1H, H-4, $J = 1.8$ Hz), 8.30 (t, 1H, H-4'', $J = 2.3$ Hz), 8.47 (d, 1H, H-6'', $J = 2.3$ Hz), 10.16 (s ancho, 1H, H-7') y 11.01 (s, 1H, H-1) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 22.4, 27.6, 53.1(4X), 57.6, 61.7, 111.3, 113.8, 114.8, 121.1, 123.8, 124.5, 125.2, 128.1, 129.6, 135.4, 138.2, 145.8, 147.0 y 168.7 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{BrCl}_2\text{N}_5\text{O}$ (M^+) = 526,0613, encontrado: 526,0607.

N-(5-cloro-2-piridinil)-2-{4-[3-(5-bromo-1H-3-indolil)-propil]-1-piperazinil}

acetamida



Reaccionaron *N*-(5-cloro-2-piridinil)-2-(1-piperazinil) acetamida (**17d**) (200 mg; 0.79 mmol), 3-(5-bromo-1*H*-3-indolil)-propil-4-metilbencensulfonato (**2c**) (322 mg; 0.79 mmol) y K_2CO_3 anhidro (109 mg; 0.79 mmol). Se obtuvieron (257 mg; 67% de rendimiento) de un sólido amarillo claro.

Pf: 78,4-79,9 °C.

$^1\text{H-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 1.76 (q, 2H, H-2', $J = 7.0$ Hz), 2.28-2.46 (m, 6H, H-3' y H-4'), 2.53-2.62 (m, 4H, H-5'), 2.67 (t, 2H, H-1', $J = 7.2$ Hz), 3.20 (s, 2H, H-6'), 7.12-7.20 (m, 2H, H-2 y H-6), 7.31 (d, 1H, H-7, $J = 8.5$ Hz), 7.69 (d, 1H, H-4, $J = 1.6$ Hz), 7.93 (dd, 1H, H-4'', $J_o = 8.9$ Hz, $J_m = 2.6$ Hz), 8.14 (t, 1H, H-3'', $J = 8.9$ Hz), 8.38 (d, 1H, H-6'', $J = 2.4$ Hz), 10.09 (s ancho, 1H, H-7') y 11.03 (s, 1H, H-1) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆): δ 22.4, 27.5, 53.1(2X), 53.3(2X), 57.6, 61.5, 111.2, 113.8, 114.6, 114.7, 121.1, 123.7, 124.5, 125.8, 129.7, 135.4, 138.6, 146.9, 150.3 y 169.6 ppm.

HRMS: (EI) Calculado para C₂₂H₂₅BrClN₅O (M+) = 490,1004, encontrado: 490,0993.

5 BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization. Media centre: Mental disorders. <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs396/en/>> [consulta: 13 de noviembre de 2016].
2. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med.* 2006;3(11):e442.
3. Goldberg DP, Lecrubier Y (1995). Form and frequency of mental disorders across centres. In: Üstün TB, Sartorius N, eds. *Mental illness in general health care: an international study.* Chichester, John Wiley & Sons on behalf of WHO: 323-334. <http://www.who.int/whr/2001/chapter2/en/index2.html>. [consulta: 13 de noviembre de 2016].
4. Belmaker RH, Agam G. Major depressive disorder. *N Engl J Med.* 2008; 358(1):55-68.
5. Otte C, Gold SM, Penninx BW, Pariante CM, Etkin A, Fava M, Mohr DC, Schatzberg AF. Major depressive disorder. *Nat Rev Dis Primers.* 2016;2:16065.
6. Ogilvie AD, Battersby S, Bubb VJ, Fink G, Harmar AJ, Goodwin GM, Smith CA. Polymorphism in serotonin transporter gene associated with susceptibility to major depression. *Lancet.* 1996;347(9003):731-3.
7. Lambert G, Johansson M, Agren H, Friberg P. Reduced brain norepinephrine and dopamine release in treatment-refractory depressive illness: evidence in support of the catecholamine hypothesis of mood disorders. *Arch Gen Psychiatry.* 2000;57(8):787-93.
8. Ruhé HG, Mason NS, Schene AH. Mood is indirectly related to serotonin, norepinephrine and dopamine levels in humans: a meta-analysis of monoamine depletion studies. *Mol Psychiatry.* 2007;12(4):331-59.
9. Fabbri C, Serretti A. Pharmacogenetics of major depressive disorder: top genes and pathways toward clinical applications. *Curr Psychiatry Rep.* 2015;17(7):50.
10. Zhang K, Zhu Y, Zhu Y, Wu S, Liu H, Zhang W, Xu C, Zhang H, Hayashi T, Tian M. Molecular, Functional, and Structural Imaging of Major Depressive Disorder. *Neurosci Bull.* 2016;32(3):273-85.
11. Slattery DA, Hudson AL, Nutt DJ. Invited review: the evolution of antidepressant mechanisms. *Fundam Clin Pharmacol.* 2004;18(1):1-21.
12. Steinbusch HW. Distribution of serotonin-immunoreactivity in the central nervous system of the rat-cell bodies and terminals. *Neuroscience.* 1981;6(4):557-618.
13. Jacobs BL, Azmitia EC. Structure and function of the brain serotonin system. *Physiol Rev.* 1992;72(1):165-229.
14. Krishnan V, Nestler EJ. The molecular neurobiology of depression. *Nature.* 2008;455(7215):894-902.
15. Oades RD, Halliday GM. Ventral tegmental (A10) system: neurobiology. 1. Anatomy and connectivity. *Brain Res.* 1987;434(2):117-65.

16. Soskin DP, Holt DJ, Sacco GR, Fava M. Incentive salience: novel treatment strategies for major depression. *CNS Spectr.* 2013;18(6):307-14.
17. Wise RA. Forebrain substrates of reward and motivation. *J Comp Neurol.* 2005;493(1):115-21.
18. Cimarusti DL, Saito K, Vaughn JE, Barber R, Roberts E, Thomas PE. Immunocytochemical localization of dopamine-beta-hydroxylase in rat locus coeruleus and hypothalamus. *Brain Res.* 1979;162(1):55-67.
19. Berridge CW, Waterhouse BD. The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Res Brain Res Rev.* 2003;42(1):33-84.
20. Bauer EP. Serotonin in fear conditioning processes. *Behav Brain Res.* 2015;277:68-77.
21. Lammel S, Lim BK, Malenka RC. Reward and aversion in a heterogeneous midbrain dopamine system. *Neuropharmacology.* 2014;76 Pt B:351-9.
22. Südhof TC. Neurotransmitter release: the last millisecond in the life of a synaptic vesicle. *Neuron.* 2013;80(3):675-90.
23. Trimbuch T, Rosenmund C. Should I stop or should I go? The role of complexin in neurotransmitter release. *Nat Rev Neurosci.* 2016;17(2):118-25.
24. Pytliak M, Vargová V, Mechírová V, Felšöci M. Serotonin receptors - from molecular biology to clinical applications. *Physiol Res.* 2011;60(1):15-25.
25. Köhler S, Cierpinsky K, Kronenberg G, Adli M. The serotonergic system in the neurobiology of depression: Relevance for novel antidepressants. *J Psychopharmacol.* 2016;30(1):13-22.
26. Krystal JH, Neumeister A. Noradrenergic and serotonergic mechanisms in the neurobiology of posttraumatic stress disorder and resilience. *Brain Res.* 2009;1293:13-23.
27. De Mei C, Ramos M, Litaka C, Borrelli E. Getting specialized: presynaptic and postsynaptic dopamine D2 receptors. *Curr Opin Pharmacol.* 2009;9(1):53-8.
28. Knab AM, Lightfoot JT. Does the difference between physically active and couch potato lie in the dopamine system? *Int J Biol Sci.* 2010;6(2):133-50
29. Torres GE, Gainetdinov RR, Caron MG. Plasma membrane monoamine transporters: structure, regulation and function. *Nat Rev Neurosci.* 2003;4(1):13-25.
30. Invernizzi RW, Garattini S. Role of presynaptic alpha2-adrenoceptors in antidepressant action: recent findings from microdialysis studies. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2004;28(5):819-27.
31. Kristensen AS, Andersen J, Jørgensen TN, Sørensen L, Eriksen J, Loland CJ, Strømgaard K, Gether U. SLC6 neurotransmitter transporters: structure, function, and regulation. *Pharmacol Rev.* 2011;63(3):585-640.
32. Zhong H, Sánchez C, Caron MG. Consideration of allosterism and interacting proteins in the physiological functions of the serotonin transporter. *Biochem Pharmacol.* 2012;83(4):435-42.
33. McHugh PC, Buckley DA. The structure and function of the dopamine transporter and its role in CNS diseases. *Vitam Horm.* 2015;98:339-69.

34. Mandela P, Ordway GA. The norepinephrine transporter and its regulation. *J Neurochem.* 2006;97(2):310-33.
35. German CL, Baladi MG, McFadden LM, Hanson GR, Fleckenstein AE. Regulation of the Dopamine and Vesicular Monoamine Transporters: Pharmacological Targets and Implications for Disease. *Pharmacol Rev.* 2015;67(4):1005-24.
36. Sitte HH, Freissmuth M. Amphetamines, new psychoactive drugs and the monoamine transporter cycle. *Trends Pharmacol Sci.* 2015;36(1):41-50.
37. Shulman KI, Herrmann N, Walker SE. Current place of monoamine oxidase inhibitors in the treatment of depression. *CNS Drugs.* 2013;27(10):789-97.
38. Shih JC, Chen K, Ridd MJ. Monoamine oxidase: from genes to behavior. *Annu Rev Neurosci.* 1999;22:197-217.
39. Hirschfeld RM. The epidemiology of depression and the evolution of treatment. *J Clin Psychiatry.* 2012;73 Suppl 1:5-9.
40. Tatsumi M, Groshan K, Blakely RD, Richelson E. Pharmacological profile of antidepressants and related compounds at human monoamine transporters. *Eur J Pharmacol.* 1997;340(2-3):249-58.
41. Bymaster FP, McNamara RK, Tran PV. New approaches to developing antidepressants by enhancing monoaminergic neurotransmission. *Expert Opin Investig Drugs.* 2003;12(4):531-43.
42. Thomas SJ, Shin M, McInnis MG, Bostwick JR. Combination therapy with monoamine oxidase inhibitors and other antidepressants or stimulants: strategies for the management of treatment-resistant depression. *Pharmacotherapy.* 2015;35(4):433-49.
43. Fava M, Rankin MA, Wright EC, Alpert JE, Nierenberg AA, Pava J, Rosenbaum JF. Anxiety disorders in major depression. *Compr Psychiatry.* 2000;41(2):97-102.
44. Stein MB, Kennedy C. Major depressive and post-traumatic stress disorder comorbidity in female victims of intimate partner violence. *J Affect Disord.* 2001;66(2-3):133-8.
45. Coplan JD, Aaronson CJ, Panthangi V, Kim Y. Treating comorbid anxiety and depression: Psychosocial and pharmacological approaches. *World J Psychiatry.* 2015;5(4):366-78.
46. Baer L, Trivedi MH, Huz I, Rush AJ, Wisniewski SR, Fava M. Prevalence and impact of obsessive-compulsive symptoms in depression: a STAR*D report. *J Clin Psychiatry.* 2015;76(12):1668-74.
47. Millan MJ. The role of monoamines in the actions of established and "novel" antidepressant agents: a critical review. *Eur J Pharmacol.* 2004;500(1-3):371-84.
48. Millan MJ. Dual- and triple-acting agents for treating core and co-morbid symptoms of major depression: novel concepts, new drugs. *Neurotherapeutics.* 2009;6(1):53-77.
49. Enna SJ, Williams M. Challenges in the search for drugs to treat central nervous system disorders. *J Pharmacol Exp Ther.* 2009;329(2):404-11.
50. Zimmermann GR, Lehár J, Keith CT. Multi-target therapeutics: when the whole is greater than the sum of the parts. *Drug Discov Today.* 2007;12(1-2):34-42.
51. Bansal Y, Silakari O. Multifunctional compounds: smart molecules for multifactorial diseases. *Eur J Med Chem.* 2014;76:31-42.

52. Weinstock M, Poltyrev T, Bejar C, Youdim MB. Effect of TV3326, a novel monoamine-oxidase cholinesterase inhibitor, in rat models of anxiety and depression. *Psychopharmacology (Berl)*. 2002;160(3):318-24.
53. Weinreb O, Amit T, Bar-Am O, Youdim MB. A novel anti-Alzheimer's disease drug, ladostigil neuroprotective, multimodal brain-selective monoamine oxidase and cholinesterase inhibitor. *Int Rev Neurobiol*. 2011;100:191-215.
54. Weinstock M, Gorodetsky E, Poltyrev T, Gross A, Sagi Y, Youdim M. A novel cholinesterase and brain-selective monoamine oxidase inhibitor for the treatment of dementia comorbid with depression and Parkinson's disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2003; 27(4):555-61.
55. Cabib S, Puglisi-Allegra S. Stress, depression and the mesolimbic dopamine system. *Psychopharmacology (Berl)*. 1996;128(4):331-42.
56. Fukunaga K, Shioda N. Novel dopamine D2 receptor signaling through proteins interacting with the third cytoplasmic loop. *Mol Neurobiol*. 2012;45(1):144-52.
57. Lindgren N, Usiello A, Goiny M, Haycock J, Erbs E, Greengard P, Hokfelt T, Borrelli E, Fisone G. Distinct roles of dopamine D2L and D2S receptor isoforms in the regulation of protein phosphorylation at presynaptic and postsynaptic sites. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(7):4305-9.
58. Admon R, Kaiser RH, Dillon DG, Beltzer M, Goer F, Olson DP, Vitaliano G, Pizzagalli DA. Dopaminergic Enhancement of Striatal Response to Reward in Major Depression. *Am J Psychiatry*. 2016 Oct 24:appiajp201616010111.
59. Hernán Pessoa-Mahana, Christian González-Lira, Angélica Fierro, Gerald Zapata-Torres, C. David Pessoa-Mahana, Javiera Ortiz-Severin, Patricio Iturriaga-Vásquez, Miguel Reyes-Parada, Paul Silva-Matus, Claudio Saitz-Barría, Ramiro Araya-Maturana. Synthesis, docking and pharmacological evaluation of novel homo- and hetero-bis 3-piperazinylpropylindole derivatives at SERT and 5-HT1A receptor. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 21 (2013) 7604–7611.
60. Robert R. Luedtke, Yogesh Mishra, Qi Wang, Suzy A. Griffin, Cathy Bell-Horner, Michelle Taylor, Suwanna Vangveravong, Glenn H. Dillon, Ren-Qi Huang, David E. Reichert and Robert H. Mach. Comparison of the Binding and Functional Properties of Two Structurally Different D2 Dopamine Receptor Subtype Selective Compounds. *ACS Chem. Neurosci*. [dx.doi.org/10.1021/cn300142q](https://doi.org/10.1021/cn300142q)
61. Alessandro Bonifazi, Hideaki Yano, Michael P. Ellenberger, Ludovic Muller, Vivek Kumar, Mu-Fa Zou, Ning Sheng Cai, Adrian M. Guerrero, Amina S. Woods, Lei Shi and Amy Hauck Newman. Novel Bivalent Ligands Based on the Sumanriole Pharmacophore Reveal Dopamine D2 Receptor (D2R) Biased Agonism. *J. Med. Chem.* 2017, 60, 2890-2907.
62. Dietmar Weichert, Markus Stanek, Harald Hübner, Peter Gmeiner. Structure-guided development of dual b2 adrenergic/dopamine D2 receptor agonists. *Bioorg. Med. Chem.* (2016).

63. Bhupinder Kumar, Sheetal, Anil K. Mantha and Vinod Kumar. Recent developments on the structure–activity relationship studies of MAO inhibitors and their role in different neurological disorders. *RSC Adv.*, 2016, 6, 42660–42683.
64. Coleman, J. A., Green, E. M. & Gouaux, E. X-ray structures and mechanism of the human serotonin transporter. *Nature* **532**, 334–339 (2016).
65. Platania, C. B. M., Salomone, S., Leggio, G. M., Drago, F. & Bucolo, C. Homology Modeling of Dopamine D2 and D3 Receptors: Molecular Dynamics Refinement and Docking Evaluation. *PLoS One* **7**, e44316 (2012).
66. Son, S.-Y. *et al.* Structure of human monoamine oxidase A at 2.2-Å resolution: The control of opening the entry for substrates/inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **105**, 5739–5744 (2008).
67. Morris, G. M. *et al.* Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *J. Comput. Chem.* **19**, 1639–1662 (1998).
68. Kalani, M. Y. S. *et al.* The predicted 3D structure of the human D2 dopamine receptor and the binding site and binding affinities for agonists and antagonists. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **101**, 3815–20 (2004).
69. Wang, H. *et al.* Structural basis for action by diverse antidepressants on biogenic amine transporters. *Nature* **503**, 141–5 (2013).
70. Andersen, J. *et al.* Mutational mapping and modeling of the binding site for (S)-citalopram in the human serotonin transporter. *J. Biol. Chem.* **285**, 2051–63 (2010).
71. Sørensen, L. *et al.* Interaction of antidepressants with the serotonin and norepinephrine transporters: mutational studies of the S1 substrate binding pocket. *J. Biol. Chem.* **287**, 43694–707 (2012).
72. Barker, E. L. *et al.* High affinity recognition of serotonin transporter antagonists defined by species-scanning mutagenesis. An aromatic residue in transmembrane domain I dictates species-selective recognition of citalopram and mazindol. *J. Biol. Chem.* **273**, 19459–68 (1998).
73. Kalani, M. Y. S. *et al.* The predicted 3D structure of the human D2 dopamine receptor and the binding site and binding affinities for agonists and antagonists. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **101**, 3815–20 (2004).
74. Goddard, W. A. & Abrol, R. 3-Dimensional structures of G protein-coupled receptors and binding sites of agonists and antagonists. *J. Nutr.* **137**, 1528S–1538S; discussion 1548S (2007).
75. Ekhteiari Salmas, R., Serhat Is, Y., Durdagi, S., Stein, M. & Yurtsever, M. A QM protein–ligand investigation of antipsychotic drugs with the dopamine D2 Receptor (D2R). *J. Biomol. Struct. Dyn.* **1–10** (2017). doi:10.1080/07391102.2017.1365772.
76. Ma, J. *et al.* Structure of Rat Monoamine Oxidase A and Its Specific Recognitions for Substrates and Inhibitors. *J. Mol. Biol.* **338**, 103–114 (2004).