



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE POSTGRADO

**SÍNTESIS DE DERIVADOS DE
FENILETILAMINA COMO POTENCIALES
INHIBIDORES DE LA ENZIMA
MONOAMINO-OXIDASA (MAO).**

POR

ALEJANDRA GALLARDO GODOY

**TESIS ENTREGADA A LA UNIVERSIDAD DE CHILE COMO REQUISITO
PARCIAL PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS CON
MENCION EN QUÍMICA**

**DIRECTORES DE TESIS: DR. BRUCE K. CASSELS N.
DR. MARIANO CASTILLO V.
DR. MIGUEL REYES P.**

Santiago, Enero 2003



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE POSTGRADO

INFORME DE APROBACIÓN TESIS DE DOCTORADO

Se informa a la escuela de postgrado de la Facultad de Ciencias que la tesis de Doctorado presentada por la candidata

ALEJANDRA GALLARDO GODOY

Ha sido aprobada por la comisión de evaluación de tesis como requisito para optar al grado de Doctor en Ciencias con mención en Química en el examen de defensa rendido el día 08 de enero del 2003

Director de tesis:

Dr. Bruce K. Cassels N. _____

Dr. Mariano Castillo V. _____

Dr. Miguel Reyes Parada _____

Comisión evaluadora de Tesis

Dr. Mehrdad Yazdani-Pedram _____

Dr. Ricardo Tapia _____

Dra. Cecilia Rojas _____

Dr. Hernán Pessoa _____

Tiene cable para lámpara?...Paralelo?...No, paralampara!
(*Journal of life*, (08)-06, 1972)

RESUMEN

El trabajo realizado consistió principalmente en la síntesis de una extensa serie de moléculas, con un patrón conteniendo a la estructura básica de una feniletilamina con diversos sustituyentes sobre el anillo aromático, y su evaluación como inhibidores de la enzima monoamino oxidasa (MAO), para evaluar los requerimientos estructurales de este tipo de moléculas como inhibidores de esta enzima.

Estos derivados incorporaron sustituyentes de diversa naturaleza en distintas posiciones del anillo aromático. Principalmente se trabajó cambiando el sustituyente unido a un azufre en posición *para* con respecto a la cadena lateral aminada. El largo de la cadena se varió tomando en cuenta: posibles limitaciones estéricas en la interacción con el sitio activo de la enzima así como también grados de lipofilia, factor importante al momento de atravesar membranas lipídicas y de establecer interacciones hidrofóbicas con la proteína. Otras variaciones incluyeron la introducción de grupos metilos y etilos en el carbono- α de la cadena lateral. Finalmente en la mayoría de los casos se metiló el nitrógeno amínico con el fin de comparar las propiedades farmacológicas de los compuestos *N*-metilados con los de las aminas primarias análogas.

Las rutas sintéticas empleadas constituyeron extensiones de aquellas que se encontraron en la literatura científica, en particular la ruta correspondiente a los compuestos de la familia 2-(4-*alquiltio*-2,5-dimetoxifenil)-etilaminas. No obstante, con aquellas familias de compuestos para las cuales no se contaba con información previa fue necesario plantear nuevos enfoques sintéticos para la final obtención de los productos.

Estos compuestos fueron evaluados como inhibidores de ambas isoformas (A y B) de la MAO. Ninguno de los compuestos evaluados tuvo una actividad IMAO-B interesante, por lo tanto, se abandonó la posibilidad de obtener potenciales fármacos antiparkinsonianos.

Sin embargo, en la mayoría de los casos se obtuvieron valores muy sobresalientes de inhibición de MAO-A. En el caso de los derivados con patrón de sustitución 2,4,5, la

mayor inhibición se alcanzó con el grupo *n*-propiltio en la posición *para* del anillo aromático. En esta serie se destaca un importante aumento en la potencia inhibidora en los compuestos *N*-metilados.

Mas aún, la familia de los compuestos con patrón de sustitución 2,4,6 presentó los compuestos de mayor potencia IMAO-A alcanzando valores de IC₅₀ en el rango nanomolar. Se suma a lo anterior que estos compuestos resultaron ser tambien reversibles y selectivos, características esenciales a la hora de diseñar posibles nuevos fármacos antidepresivos.

Disciplina: Química Orgánica. **Subdisciplina:** Química Médica.

ABSTRACT

This research consisted primarily of the synthesis of an extensive series of molecules based upon the basic structure of phenylethylamine and their assay as monoamine oxidase inhibitors, as a way of expanding our knowledge of the structural requirements for inhibitors of this enzyme.

These compounds bear different kinds of substituents at various positions on the aromatic ring. The main variations apply to the substituent bonded to a sulfur atom at the *para* position with regard to the amine side chain. The length of the alkyl chain was varied, taking into account possible steric limitations in its interaction with the active site of the enzyme, as well as its lipophilicity, a factor important for hydrophobic interactions involved in crossing lipid membranes and with the target protein itself. Other modifications include the introduction of methyl and ethyl groups on the carbon α to the amine on the side chain. Finally, in most cases the nitrogen was also methylated in order to compare the pharmacological properties of the *N*-methylated drugs with their primary amine parent compounds.

The synthetic routes employed were extensions of those found in the scientific literature, especially the ones leading to compounds belonging to the 2-(4-alkylthio-2,5-dimethoxyphenyl)-ethylamines family. However, for those families of compounds for which literature precedents did not exist, it was necessary to develop new synthetic schemes.

Some of these compounds were assayed as inhibitors of both isoforms (A and B) of monoamine oxidase, leading to the finding that in the case of the derivatives with the 2,4,5 substitution pattern the strongest inhibition was observed for the compound with an *n*-propylthio substituent at the *para* position. In addition, it was noted that the *N*-methylated compounds showed a marked increase in inhibitory potency compared to their parent compounds.

The family of compounds with the 2,4,6 substitution pattern showed better IC_{50} values than their 2,4,5 counterparts, highlighting the importance of the position of the substituents on the aromatic ring in the design of these molecules as possible drugs.

INDICE DE CONTENIDOS

LISTA DE TABLAS xiii

LISTA DE ECUACIONES..... xiv

LISTA DE FIGURAS xv

LISTA DE ABREVIATURAS..... xvii

INTRODUCCION..... 1

Monoamino-oxidasa, antecedentes generales.....	1
Mecanismo de reacción.....	3
Especificidad de sustrato.....	3
Inhibidores de la MAO.....	4
Inhibidores reversibles.....	6
Inhibidores irreversibles.....	7
Feniletilamina (FEA), molécula tipo.....	8

MATERIALES Y MÉTODOS..... 12

QUIMICA 12

EVALUACION BIOQUIMICA..... 12

Metodología general..... 12

Obtención de la suspensión mitocondrial..... 13

Determinación de la actividad de MAO-A.....	13
Determinación de la actividad de MAO-B.....	14
Condiciones cromatográficas	14
Determinación de la reversibilidad en la inhibición de la enzima.....	17
Efecto de la preincubación de la enzima con el inhibidor.....	17
Ensayos de afinidad en receptores de serotonina 5-HT _{1A} , 5-HT _{2A} y 5-HT _{2C}	18
Ensayos de inhibición utilizando un método radioquímico para MAO-A, MAO-B y SSAO.....	19
Cálculo de la actividad específica:	22
Obtención de la suspensión mitocondrial:.....	22
Método espectrofotométrico para la determinación de actividades de MAO (A y B) y SSAO.....	23

RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... 24

QUIMICA	24
Familia 2,4,5.....	24
Ruta sintética para la obtención de derivados 2,4,5	27
5-MeSFEA y 5-MeSANF.....	29
Ruta sintética para la obtención de 5-MeSFEA y 5-MeSANF.....	30
Familia 2,4,6.....	33
Ruta sintética para la obtención de derivados 2,4,6	33
Otros compuestos del patrón 2,4,6	39
4-metiltiofenilpropilamina (PrNH ₂)	40
BIOQUIMICA.....	41
Familia 2,4,5.....	41
Familia 2,4,6.....	46
Compuesto PrNH ₂	49
Determinación de la reversibilidad en la inhibición de la enzima.....	50
Efecto de la preincubación de la enzima con el inhibidor.....	50
Resultados de los ensayos de afinidad en receptores 5-HT _{1A} , 5-HT _{2A} y 5-HT _{2C}	52
Resultados de los ensayos de inhibición para MAO-A, MAO-B y SSAO.....	56
Resultados de la determinación de actividades de MAO-A, MAO-B y SSAO.....	56

CONCLUSIONES GENERALES 59

ANEXO 1..... 61

SÍNTESIS DE LA FAMILIA 2,4,5 61

Cloruro de 2,5-Dimetoxibencensulfonilo (1)	61
2,5-Dimetoxibencenotiol (2)	62
Procedimiento general para la preparación de 2-alkiltio-1,4-dimetoxibencenos (3A-G).....	62
1,4-Dimetoxi-2-metiltiobenceno (3A).....	63
1,4-Dimetoxi-2-etiltiobenceno (3B)	63
1,4-Dimetoxi-2- <i>n</i> -propiltiobenceno (3C)	63
1,4-Dimetoxi-2- <i>i</i> -propiltiobenceno (3D).....	63
2- <i>n</i> -Butiltio-1,4-dimetoxibenceno (3E).....	64
1,4-Dimetoxi-2- <i>n</i> -pentiltiobenceno (3F)	64
1,4-Dimetoxi-2-feniltiobenceno (3G)	64
Procedimiento general para la preparación de benzaldehidos (4A-G)	65
2,5-Dimetoxi-4-metiltiobenzaldehido (4A).....	65
2,5-Dimetoxi-4-etiltiobenzaldehido (4B).....	66
2,5-Dimetoxi-4- <i>n</i> -propiltiobenzaldehido (4C)	66
2,5-Dimetoxi-4- <i>i</i> -propiltiobenzaldehido (4D).....	66
4- <i>n</i> -Butiltio-2,5-dimetoxibenzaldehido (4E).....	66
2,5-Dimetoxi-4- <i>n</i> -pentiltiobenzaldehido (4F)	67
1,4-Dimetoxi-2-feniltiobenzaldehido (4G).....	67
Procedimiento general para la preparación de los arilnitroetenos (5A-G)	67
1-(2,5-Dimetoxi-4-metiltiofenil)-2-nitroeteno (5A).....	67
1-(2,5-Dimetoxi-4-etiltiofenil)-2-nitroeteno (5B)	68
1-(2,5-Dimetoxi-4- <i>n</i> -propiltiofenil)-2-nitroeteno (5C)	68
1-(2,5-Dimetoxi-4- <i>i</i> -propiltiofenil)-2-nitroeteno (5D)	68
1-(4- <i>n</i> -Butiltio-2,5-dimetoxifenil)-2-nitroeteno (5E)	68

1-(2,5-Dimetoxi-4- <i>n</i> -pentiltiofenil)-2-nitroeteno (5F)	69
1-(2,5-Dimetoxi-4-feniletiltio)-2-nitroeteno (5G)	69
Procedimiento general para la preparación de arilnitropropenos (6A-G)	69
1-(2,5-Dimetoxi-4-metiltiofenil)-2-nitro-1-propeno (6A)	69
1-(2,5-Dimetoxi-4-etiltiofenil)-2-nitro-1-propeno (6B)	70
1-(2,5-Dimetoxi-4- <i>n</i> -propiltiofenil)-2-nitro-1-propeno (6C)	70
1-(2,5-Dimetoxi-4- <i>i</i> -propiltiofenil)-2-nitro-1-propeno (6D)	70
1-(4- <i>n</i> -Butiltio-2,5-dimetoxifenil)-2-nitro-1-propeno (6E)	70
1-(2,5-Dimetoxi-4- <i>n</i> -pentiltiofenil)-2-nitro-1-propeno (6F)	71
1-(2,5-Dimetoxi-4-feniletiltio)-2-nitro 1-propeno (6G)	71
Procedimiento general para la preparación de los arilnitrobutenos (7A-C)	71
1-(2,5-Dimetoxi-4-metiltiofenil)-2-nitro-1-buteno (7A)	71
1-(2,5-Dimetoxi-4-etiltiofenil)-2-nitro-1-buteno (7B)	72
1-(2,5-Dimetoxi-4- <i>n</i> -propiltiofenil)-2-nitro-1-buteno (7C).....	72
Procedimiento general para la preparacion de las aminas	72
Clorhidrato de 1-(2,5-dimetoxi-4-metiltiofenil)-etilamina (MeSF EA)	73
Clorhidrato de 1-(2,5-dimetoxi-4-etiltiofenil)-etilamina (EtSF EA)	73
Clorhidrato de 1-(2,5-dimetoxi-4- <i>n</i> -propiltiofenil)-etilamina (<i>n</i> -PrSF EA)	73
Clorhidrato de 1-(2,5-dimetoxi-4- <i>i</i> -propiltiofenil)-etilamina (<i>i</i> -PrSF EA).....	74
Clorhidrato de 1-(4- <i>n</i> -butiltio-2,5-dimetoxifenil)-etilamina (<i>n</i> -BuSF EA)	74
Clorhidrato de 1-(2,5-dimetoxi-4- <i>n</i> -pentiltiofenil)-etilamina (<i>n</i> -PnSF EA).....	74
Clorhidrato de (±)-1-(2,5-dimetoxi-4-metiltiofenil)-2-aminopropano (MeSANF)	75
Clorhidrato de (±)-1-(2,5-dimetoxi-4-etiltiofenil)-2-aminopropano (EtSANF).....	75
Clorhidrato de (±)-1-(2,5-dimetoxi-4- <i>n</i> -propiltiofenil)-2-aminopropano (<i>n</i> -PrSANF).....	75
Clorhidrato de (±)-1-(2,5-dimetoxi-4- <i>i</i> -propiltiofenil)-2-aminopropano (<i>i</i> -PrSANF).....	76
Clorhidrato de (±)-1-(4- <i>n</i> -butiltio-2,5-dimetoxifenil)-2-aminopropano (<i>n</i> -BuSANF).....	76
Clorhidrato de (±)-1-(2,5-dimetoxi-4- <i>n</i> -pentiltiofenil)-2-aminopropano (<i>n</i> -PnSANF).....	76
Clorhidrato de (±)-1-(2,5-dimetoxi-4-feniletiltiofenil)-2-aminopropano (FeEtSANF).....	77
Clorhidrato de (±)-1-(2,5-dimetoxi-4-metiltiofenil)-2-aminobutano (MeSαEt).....	77
Clorhidrato de (±)-1-(2,5-dimetoxi-4-etiltiofenil)-2-aminobutano (EtSαEt)	77
Clorhidrato de (±)-1-(2,5-dimetoxi-4- <i>n</i> -propiltiofenil)-2-aminobutano (<i>n</i> -PrSαEt)	78

Procedimiento general para la obtención de los derivados <i>N</i> -formilos	78
<i>N</i> -Formil-1-(2,5-dimetoxi-4-metiltiofenil)-etilamina (8A)	78
<i>N</i> -Formil-1-(2,5-dimetoxi-4-etiltiofenil)-etilamina (8B).....	78
<i>N</i> -Formil-1-(2,5-dimetoxi-4- <i>n</i> -propiltiofenil)-etilamina (8C).....	79
(±)- <i>N</i> -Formil-1-(2,5-dimetoxi-4-metiltiofenil)-2-aminopropano (9A).....	79
(±)- <i>N</i> -Formil-1-(2,5-dimetoxi-4-etiltiofenil)-2-aminopropano (9B).....	79
(±)- <i>N</i> -Formil-1-(2,5-dimetoxi-4- <i>n</i> -propiltiofenil)-2-aminopropano (9C)	79
(±)- <i>N</i> -Formil-1-(2,5-dimetoxi-4-metiltiofenil)-2-aminobutano (10A).....	80
(±)- <i>N</i> -Formil-1-(2,5-dimetoxi-4-etiltiofenil)-2-aminobutano (10B).....	80
(±)- <i>N</i> -Formil-1-(2,5-dimetoxi-4- <i>n</i> -propiltiofenil)-2-aminobutano (10C)	80
Procedimiento general para la reducción de las <i>N</i> -Formamidas	80
Clorhidrato de <i>N</i> -metil-1-(2,5-dimetoxi-4-metiltiofenil)-etilamina (MeSFEANMe)	81
Clorhidrato de <i>N</i> -metil-1-(2,5-dimetoxi-4-etiltiofenil)-etilamina (EtSFEANMe)	81
Clorhidrato de <i>N</i> -metil-1-(2,5-dimetoxi-4- <i>n</i> -propiltiofenil)-etilamina (<i>n</i> -PrSFEANMe)	81
Clorhidrato de (±) <i>N</i> -metil-1-(2,5-dimetoxi-4-metiltiofenil)-2-aminopropano (MeSANFNMe).....	82
Clorhidrato de (±)- <i>N</i> -metil-1-(2,5-dimetoxi-4-etiltiofenil)-2-aminopropano (EtSANFNMe)	82
Clorhidrato de (±)- <i>N</i> -metil-1-(2,5-dimetoxi-4- <i>n</i> -propiltiofenil)-2-aminopropano (<i>n</i> -PrSANFNMe).....	82
Clorhidrato de (±)- <i>N</i> -metil-1-(2,5-dimetoxi-4-metiltiofenil)-2-aminobutano (MeS α EtNMe).....	83
Clorhidrato de (±)- <i>N</i> -metil-1-(2,5-dimetoxi-4-etiltiofenil)-2-aminobutano (EtS α EtNMe).....	83
Clorhidrato de (±) <i>N</i> -metil-1-(2,5-dimetoxi-4- <i>n</i> -propiltiofenil)-2-aminobutano (<i>n</i> -PrS α EtNMe).....	83
SÍNTESIS DE 5-MeSFEA Y 5-MeSANF	84
2,4-Dimetoxitioanisol (19)	84
2,4-Dimetoxi-5-metiltiobenzaldehido (20).....	84
1-(2,4-Dimetoxi-5-metiltiofenil)-2-nitroeteno (21).....	84
1-(2,4-Dimetoxi-5-metiltiofenil)-2-nitro-1-propeno (22).....	85
Clorhidrato de 1-(2,4-dimetoxi-5-metiltiofenil)-etilamina (5-MeSFEA).....	85
Clorhidrato de (±)-1-(2,4-dimetoxi-5-metiltiofenil)-2-aminopropano (5-MeSANF).....	85
SÍNTESIS DE LA FAMILIA 2,4,6	86
3,5-Dimetoxifenol (11).....	86

<i>O</i> -(3,5-Dimetoxifenil)-dimetiltiocarbamato (12)	86
<i>S</i> -(3,5-Dimetoxifenil)-dimetiltiocarbamato (13)	87
3,5-Dimetoxibencenotiol (14)	87
1,3-Dimetoxi-5-metiltiobenceno (15A).....	87
1,3-Dimetoxi-5-etiltiobenceno (15B)	88
Procedimiento general para la preparación de los aldehidos (16A, 16B).....	88
2,6-Dimetoxi-4-metiltiobenzaldehido (16A).....	88
2,6-Dimetoxi-4-etiltiobenzaldehido (16B)	89
1-(2,6-Dimetoxi-4-metiltiofenil)-2-nitroeteno (17A).....	89
1-(2,6-Dimetoxi-4-etiltiofenil)-2-nitroeteno (17B)	89
1-(2,6-Dimetoxi-4-metiltiofenil)-2-nitro-1-propeno (18A).....	89
1-(2,6-Dimetoxi-4-etiltiofenil)-2-nitro-1-propeno (18B)	90
Clorhidrato de 1-(2,6-dimetoxi-4-metiltiofenil)-etilamina (2,4,6-MeSFEA).....	90
Clorhidrato de 1-(2,6-dimetoxi-4-etiltiofenil)-etilamina (2,4,6-EtSFEA).....	90
Clorhidrato de (±)-1-(2,6-dimetoxi-4-metiltiofenil)-2-aminopropano (2,4,6-MeSANF).....	90
Clorhidrato de (±)-1-(2,6-dimetoxi-4-etiltiofenil)-2-aminopropano (2,4,6-EtSANF).....	91
SÍNTESIS DE 2-Cloro-(4,6-dimetoxifenil)-isopropilamina (2-cloro)	91
2 Cloro-4,6-dimetoxibenzaldehido (40)	91
2-Cloro-4,6-dimetoxifenil-2-nitro-1-propeno (41).....	91
Clorhidrato de (±)-2-cloro-4,6-dimetoxifenil-2-aminopropano (2-cloro)	92
SÍNTESIS DE 2,4,6-trimetoxifenilisopropilamina (2,4,6-MeO).....	92
2,4,6-trimetoxibenzaldehido (70)	92
2,4,6-trimetoxifenil-2-nitro-1-propeno (71)	92
Clorhidrato de (±)-2,4,6-trimetoxifenil-2-aminopropano (2,4,6-MeO).....	92
SÍNTESIS DE 6-MeSFEA Y 6-MeSANF	93
2,4-Dimetoxi-6-metiltiobenzaldehido (50).....	93
1-(2,4-Dimetoxi-6-metiltiofenil)-2-nitroeteno (51).....	93
1-(2,4-Dimetoxi-6-metiltiofenil)-2-nitro-1-propeno (52).....	93
Clorhidrato de 1-(2,4-dimetoxi-6-metiltiofenil)-etilamina (6-MeSFEA).....	93
Clorhidrato de (±)-1-(2,4-dimetoxi-6-metiltiofenil)-2-aminopropano (6-MeSANF).....	94
SÍNTESIS DE 4-metiltiofenilpropilamina (PrNH₂).....	94

3-(4-Metiltiofenil)-acrilonitrilo (100).....	94
3-(4-Metiltiofenil)-propionitrilo (101)	95
Clorhidrato de 3-(4-Metiltiofenil)-propilamina (PrNH ₂).....	95

ANEXO 2..... 96

Espectros de ¹ H-RMN para los compuestos de la tabla I.....	96
Espectros de ¹ H-RMN para compuestos de la tabla II	99
Espectros de ¹ H-RMN para los compuestos de la tabla III	100
Espectros de ¹ H-RMN para los compuestos de la tabla IV	104
Espectros de ¹ H-RMN para los compuestos de la tabla V.....	105
Espectros de ¹ H-RMN para los compuestos de la tabla VI	107
Espectros de ¹ H-RMN para los compuestos de la tabla VII.....	109
Espectros de ¹ H-RMN para los compuestos de la tabla VIII.....	110
Espectros de ¹ H-RMN para el compuesto PrNH ₂	114

ANEXO 3..... 115

Curvas de inhibición de MAO-A para los compuestos del grupo III.....	115
Curvas de inhibición de MAO-A para los compuestos del grupo IV.....	117
Curvas de inhibición de MAO-A para los compuestos del grupo V	118
Curvas de inhibición de MAO-A para los compuestos del grupo VI.....	119
Curvas de inhibición de MAO-A para los compuestos del grupo VIII	120
Curva de inhibición de MAO-A para el compuesto PrNH ₂	121
Ejemplos de curvas concentración-desplazamiento en el receptor 5HT _{1A}	122
Ejemplos de curvas concentración-desplazamiento en el receptor 5HT _{2A}	127
Ejemplos de curvas concentración-desplazamiento en el receptor 5HT _{2C}	132
Curvas de inhibición utilizando un método radioquímico para MAO-A, MAO-B y SSAO.....	137

REFERENCIAS 138

LISTA DE TABLAS

TABLA	Página
0. Factores de conversión y coeficientes de extracción de 5-HT, FEA y Bz.....	22
I. Patrón de sustitución de los compuestos correspondientes al grupo I.....	25
II. Patrón de sustitución de los compuestos correspondientes al grupo II.....	25
III. Patrón de sustitución de los compuestos correspondientes al grupo III.....	25
IV. Patrón de sustitución de los compuestos correspondientes al grupo IV.....	26
V. Patrón de sustitución de los compuestos correspondientes al grupo V.....	26
VI. Patrón de sustitución de los compuestos correspondientes al grupo VI.....	26
VII. Patrón de sustitución de los compuestos correspondientes al grupo VII.....	29
VIII. Patrón de sustitución de los compuestos correspondientes al grupo VIII.....	33
IX. Valores de IC ₅₀ de MAO A y B para los compuestos del grupo III.....	41
X. Valores de IC ₅₀ de MAO A y B para los compuestos del grupo V.....	43
XI. Valores de IC ₅₀ de MAO A y B para los compuestos del grupo IV y VI.....	45
XII. Valores de IC ₅₀ de MAO A y B para algunos compuestos del grupo VIII.....	46
XIII. Resultados de reversibilidad de algunos compuestos representativos.....	50
XIV. Resultados de experimentos de preincubación para compuestos representativos....	51
XV. Resultados de afinidad sobre los receptores de 5-HT _{1A} , 5-HT _{2A} y 5-HT _{2C} de los compuestos del grupo I.....	52
XVI. Resultados de afinidad sobre los receptores de 5-HT _{1A} , 5-HT _{2A} y 5-HT _{2C} de los compuestos del grupo II.....	52
XVII. Resultados de afinidad sobre los receptores de 5-HT _{1A} , 5-HT _{2A} y 5-HT _{2C} de los compuestos del grupo III.....	53
XVIII. Resultados de afinidad sobre los receptores de 5-HT _{1A} , 5-HT _{2A} y 5-HT _{2C} de los compuestos del grupo IV.....	53
XIX. Resultados de afinidad sobre los receptores de 5-HT _{1A} , 5-HT _{2A} y 5-HT _{2C} de los compuestos del grupo V.....	53
XX. Resultados de afinidad sobre los receptores de 5-HT _{1A} , 5-HT _{2A} y 5-HT _{2C} de los compuestos del grupo VI.....	54

XXI.	Resultados de afinidad sobre los receptores de 5-HT _{1A} , 5-HT _{2A} y 5-HT _{2C} de los compuestos del grupo VII	54
XXII.	Resultados de afinidad sobre los receptores de 5-HT _{1A} , 5-HT _{2A} y 5-HT _{2C} de los compuestos del grupo VIII.....	54
XXIII.	Resultados de actividad sobre MAO (A y B) y SSAO del compuesto PrNH ₂	56
XXIV.	Valores de IC ₅₀ de MAO (A y B) para el compuesto PrNH ₂	49

LISTA DE ECUACIONES

ECUACIÓN	Página
1) Reacción de metabolización de monoaminas por MAO	3
2) Reacción acoplada catalizada por ADH	3
3) Ecuación para la obtención de las IC ₅₀	16
4) Ecuación utilizada para calcular la actividad especifica	22

LISTA DE FIGURAS

FIGURA.....	Página
1. Estructura química de los neurotransmisores 5-HT, NA y DA	1
2. Estructura química de la tiramina y triptamina.....	2
3. Ejemplos de inhibidores reversibles de MAO-A (RIMAs).....	6
4. Ejemplos de IIMA e IIMB.....	7
5. Estructura química de la feniletilamina y anfetamina.....	8
6. Ejemplo de un cromatograma para un IMAO-A	15
7. Ejemplo de un cromatograma para un supuesto IMAO-B.....	16
8. Estructura química de los derivados del grupo I	25
9. Estructura química de los derivados del grupo II	25
10. Estructura química de los derivados del grupo III	25
11. Estructura química de los derivados del grupo IV	26
12. Estructura química de los derivados del grupo V.....	26
13. Estructura química de los derivados del grupo VI	26
14. Resumen de la ruta sintética utilizada para la obtención de los compuestos de las tablas I, II, III, IV, V y VI.....	27
15. Estructura química de los derivados del grupo VII.....	29
16. Resumen de la ruta sintética para la obtención de los compuestos del grupo VII	30
17. Mecanismo de formación del bencino	31
18. Calculos mecano-cuánticos del bencino	31
19. Mecanismo propuesto para la formación del 2,4-dimetoxitioanisol.....	32
20. Estructura química de los derivados del grupo VIII	33
21. Ruta fallida propuesta para la síntesis de los compuestos del grupo VIII.....	34
22. Resumen de la ruta sintética para la obtención de los compuestos de la Tabla VIII... ..	35
23. Mecanismo de reacción para la formación de 3,5-dimetoxifenol	36
24. Formación de <i>O</i> -(3,5-dimetoxifenil)-dimetiltiocarbamato	36
25. Formación de <i>S</i> -(3,5-dimetoxifenil)-dimetiltiocarbamato	37

26.	Rutas emprendidas en la formilación de 1,3-dimetoxi-5-alquiltiobenceno	38
27.	Formilación del 1,3-dimetoxi-5-alquiltiobenceno.....	38
28.	Ruta sintética para obtener el 2-cloro-4,6-dimetoxifenilisopropilamina.....	39
29.	Ruta sintética para obtener el 4-metiltiofenilpropilamina.....	40
30.	Influencia del largo de la cadena lineal unida al azufre en la posición <i>para</i> sobre la actividad de MAO-A.....	41
31.	Comparación de IC ₅₀ para moléculas con distintos patrones de sustitución.....	44
32.	Comparación de IC ₅₀ para moléculas con distintos patrones de sustitución.....	47
33.	Comparacion de los valores experimentales IC ₅₀ utilizando los parametros σ de Hammett, π de Hansch y E_s de Taft	48
34.	Representación grafica de la actividad enzimática a distintas concentraciones de sustrato PrNH ₂ en MAO-B.....	57
35.	Representación grafica de la actividad enzimática a distintas concentraciones de sustrato PrNH ₂ en SSAO	58

LISTA DE ABREVIATURAS

- ACN = MeCN = acetonitrilo
ADH = aldehído deshidrogenasa
ANF = anfetamina
Ar = arilo, anillo aromático
Bu = butilo
n-BuLi = *n*-butil litio
Bz = benzilamina
°C = grados Celsius
CCF = cromatografía en capa fina
CH₂Cl₂ = diclorometano
(CH₃)₂NC(S)Cl = cloruro de dimetiltiocarbamoilo
Cl₂CHOMe = 1,1-diclorometil-metil eter
Cpm = cuentas por minuto
DA = dopamina
d₂H₂O = agua bidestilada
DMAPAA = ácido 4-dimetilamino-fenilacético
DMAPEA = 4-dimetilamino-feniletilamina
DMEDA = *N, N*-dimetiletilendiamina
DMF = *N, N*-Dimetilformamida
DMSO = Dimetilsulfóxido
EC₅₀ = dosis efectiva al 50%
EDTA = ácido etilendiamina tetraacetico
Et = etilo
Et₂O = éter etílico
EtOH = etanol
FEA(s) = feniletilamina(s)
¹H-RMN = resonancia magnética nuclear de protones
5-HT = serotonina = 5-hidroxitriptamina
5-HIAA = ácido 5-hidroxiindolacético

HCl = ácido clorhídrico
HClO₄ = ácido perclórico
HCO₂Et = formiato de etilo
HOSO₂Cl = ácido clorosulfónico
H₂SO₄ = ácido sulfúrico
HPLC-DE = cromatografía líquida de alta presión con detector electroquímico
IC₅₀ = concentración de droga que produce el 50% de inhibición de la enzima
IIMA = inhibidor irreversible de la monoamino-oxidasa A
IIMB = inhibidor irreversible de la monoamino-oxidasa B
IMAO = inhibidor de la monoamino-oxidasa
IPA – alcohol isopropílico
K_m = constante de Michaelis
KOH = hidróxido de potasio
LDA = di-isopropil amido de litio
LiAlH₄ = hidruro de litio y aluminio
MAO = monoamino-oxidasa
MAO-A = isoforma A de la monoamino-oxidasa
MAO-B = isoforma B de la monoamino-oxidasa
Me = metilo
MeBr = bromuro de metilo
MeOH = metanol
Me₂S = dimetil sulfuro
Me₂SO₄ = sulfato de metilo
MgCl₂ = cloruro de magnesio
MgSO₄ = sulfato de magnesio
MPP⁺ = ion 1-metil-4-fenil-dihidropiridinico
MPTP = 1-metil-4-fenil-1,2,5,6-tetrahidro-piridina
MTA = 4-metiltio-anfetamina
nA = nano amperes (10⁻⁹ amperes)
NA = noradrenalina o norepinefrina
NaBH₄ = borohidruro de sodio

NaCl = cloruro de sodio

NaH = hidruro de sodio

NaOH = hidróxido de sodio

Na₂SO₄ = sulfato de sodio

NE = sin efecto

NH₄OAc = acetato de amonio

NMMA = *N*-metil-4-metiltio-anfetamina

p.f. = punto de fusión

Pn = pentilo

POCl₃ = oxiclорuro de fosforo

PPO = 2,5-feniloxazol

Pr = propilo

RIMA = Inhibidor reversible de la monoamino-oxidasa A

SM = suspensión mitocondrial

SNC = sistema nervioso central

SnCl₄ = cloruro de estaño

SSAO = amino-oxidasa sensible a semicarbazida

THF = tetrahidrofurano

TMEDA = *N, N, N', N'*-tetrametiletildiamina

V = volt

V_{max} = velocidad máxima

v/v = volumen por volumen

INTRODUCCION

Monoamino-oxidasa, antecedentes generales

La monoamino-oxidasa [Amina: O₂ oxidoreductasa (desaminante)(conteniendo flavina) EC: 1.4.3.4] (MAO), es desde hace años uno de los puntos clave de la investigación neuroquímica. Ello se debe por una parte a su implicancia en la regulación de los niveles de las aminas biogénicas en el sistema nervioso central y periférico, ya que es la principal enzima en el metabolismo de neurotransmisores clásicos tales como serotonina (5-HT), noradrenalina (NA) y dopamina (DA) que aparecen jugando un rol central en variados desórdenes neurológicos y psiquiátricos, y en particular por su relación, al menos aparente, con una serie de alteraciones neurológicas tan importantes y poco aclaradas como la depresión y las enfermedades de Parkinson y Alzheimer.

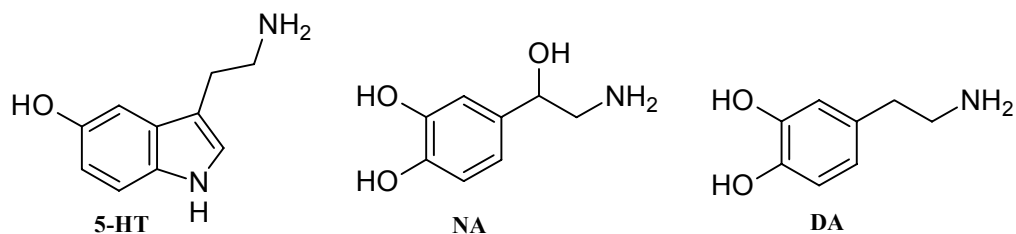


Figura 1: Estructura química de los neurotransmisores serotonina (5-HT), noradrenalina ó norepinefrina (NA) y dopamina (DA)

La MAO es una flavoproteína integral de la membrana externa de la mitocondria de las neuronas y células gliales² aunque también se ha detectado una cierta actividad de MAO en la fracción microsomal¹ y citosólica³. Desde los históricos trabajos de Johnston⁴ se conoce la existencia de dos isoformas de la enzima MAO-A y MAO-B, diferenciables entre sí por su distinta sensibilidad ante inhibidores y sustratos.

Sumadas al rol de metabolizar neurotransmisores clásicos, hay pruebas de que la MAO tiene una importante función como destructora de otras varias aminas que se encuentran en la dieta o se generan en el metabolismo y que producen efectos indeseables si alcanzan concentraciones suficientemente elevadas, incluyéndose entre éstas la tiramina y la triptamina.

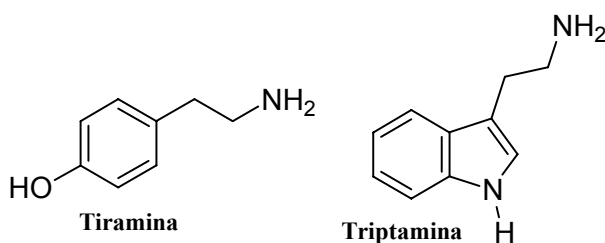
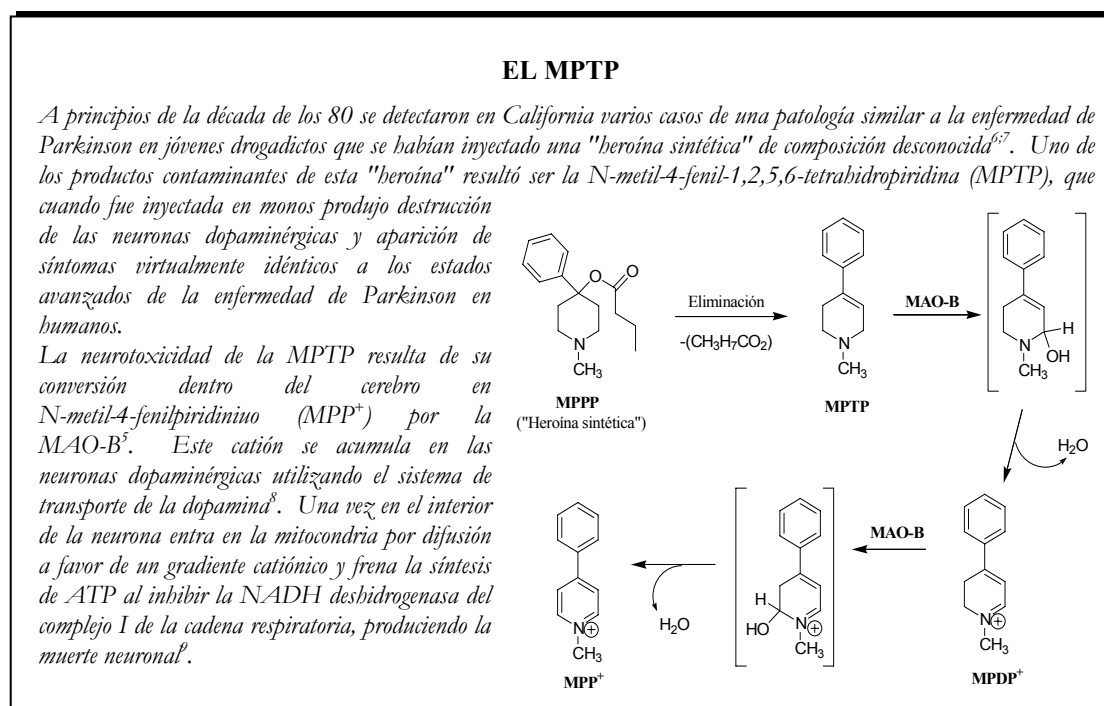


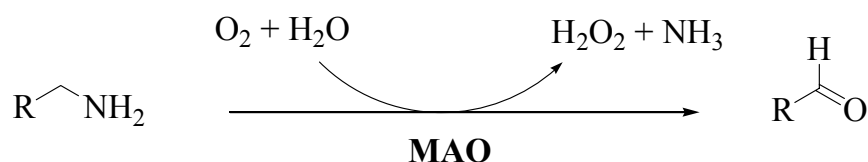
Figura 2: Estructura química de las aminas tiramina y triptamina

Además, la MAO es capaz de metabolizar una gran variedad de aminas primarias, secundarias o terciarias y se podría hablar de otros "sustratos atípicos" de esta enzima, tales como la 1-metil-4-fenil-1,2,5,6-tetrahidropiridina (MPTP), neurotoxina que es convertida por la MAO-B en su forma activa, el ión 1-metil-4-fenil-piridinio (MPP^+)⁵.



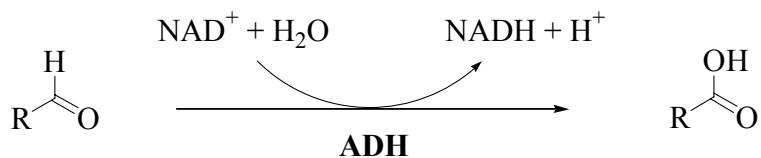
Mecanismo de reacción

La reacción de biodegradación de las monoaminas catalizada por la MAO¹⁰, y que genera los correspondientes aldehídos y amoníaco, está representada en la ecuación [1], donde la forma no protonada de la amina es el sustrato real de la enzima y R puede ser un grupo alifático o aromático.



Ecuación 1: Reacción de metabolización de monoaminas por MAO

El paso metabólico anterior, está seguido de una reacción catalizada por la enzima aldehído deshidrogenasa (ADH), generando el metabolito ácido estable de cada monoamina, como lo indica la ecuación [2]:



Ecuación 2: Reacción acoplada catalizada por ADH.

Especificidad de sustrato

En 1968 se produjo un punto de inflexión en la investigación sobre la MAO al describir Johnston, de acuerdo a criterios farmacológicos, la existencia de dos actividades diferentes englobadas dentro del nombre MAO:

La forma A (MAO-A) que tiene como sustrato preferente a la serotonina¹¹ y la noradrenalina, es inhibida selectiva e irreversiblemente por concentraciones nanomolares de *clorgilina*⁴.

La forma **B** (MAO-B) que tiene como sustrato preferente a la benzilamina¹¹ y bajas concentraciones de feniletilamina y es selectiva e irreversiblemente inhibida por concentraciones nanomolares de *l-deprenil* también llamado *selegilina*⁴. La MAO-B es sensible a *clorgilina* a concentraciones 1000 veces más elevadas que la MAO-A, del orden de micromolar.

Es necesario destacar que, con respecto a los sustratos de MAO-A y MAO-B, éstas no muestran especificidad absoluta. Así por ejemplo, ambas isoformas exhiben grados variables de actividad frente a las catecolaminas, en particular la dopamina¹².

A pesar de todo lo expuesto, hoy se sabe que la mayoría de los sustratos, incluso aquellos a los que se había calificado de específicos de una de las dos isoformas, pueden ser metabolizados por ambas a concentraciones más elevadas que su *K_m*.

Inhibidores de la MAO

Debido a sus potenciales utilidades terapéuticas siempre ha existido un notable interés en el estudio de los inhibidores de la MAO (IMAOs). De hecho, la investigación desarrollada en este campo ha sido uno de los motores que ha impulsado el estudio de esta enzima. En un primer momento se les adjudicó a los IMAOs una clara utilidad en el tratamiento de la depresión¹³⁻¹⁵. No obstante su uso muy difundido, las primeras generaciones de IMAOs producían una serie de efectos colaterales, encontrándose entre los más generalizados las crisis hipertensivas (ver cuadro "La iproniazida y el queso").

Sin embargo, a partir del descubrimiento de las isoformas de la MAO se desarrolló el interés por producir una nueva generación de IMAOs, con características reversibles, pero además selectivos con respecto a una u otra isoforma de la enzima. Por otro lado, debido a que las propiedades antidepressivas de los IMAOs han sido relacionadas a un aumento en la disponibilidad de 5-HT y/o NA^{16;17}, es claro que el interés en la búsqueda de nuevos inhibidores reversibles y selectivos está dirigido a la isoforma A de la enzima que metaboliza preferentemente estos sustratos. Recientes

estudios¹⁸ indican que el tratamiento repetido con IMAO-A pero no con IMAO-B, produce un aumento en la eficacia de la neurotransmisión serotoninérgica.

Estas nuevas generaciones de fármacos, que inhiben selectiva y reversiblemente la MAO-A, son capaces de controlar los síntomas de la depresión con limitados efectos secundarios en la terapia clínica, a diferencia de sus predecesores irreversibles.

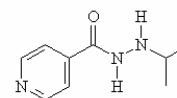
La disminución de las crisis hipertensivas en pacientes se basa en que, en presencia de un IMAO selectivo para la isoforma A, la amina bioactiva tiramina presente en la dieta (que es sustrato de las dos isoformas), puede ser metabolizada por la isoforma libre de inhibición, en este caso la MAO-B.

Por otro lado, la inhibición selectiva de la MAO-B por fármacos tales como la *selegilina* (*l-deprenil*) ha demostrado ser una promisoriosa aproximación al tratamiento de la enfermedad de Parkinson^{6,12}.

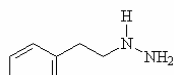
LA IPRONIAZIDA Y EL QUESO

El descubrimiento de las posibilidades de los IMAOs en la terapia antidepresiva y su posterior desarrollo ha tenido una larga historia con periodos de altas expectativas pero también de grandes decepciones.

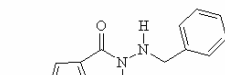
Todo comenzó cuando se observó que la iproniazida, droga originalmente propuesta para el tratamiento de la tuberculosis, mostraba unos interesantes efectos secundarios que incluían euforia y estados de excitación. N.S. Kline (1958), al tratar con esta droga a pacientes depresivos observó que tenía una marcada actividad antidepresiva, resultados corroborados por otros grupos y que llevaron a la iproniazida a ser comercializada bajo la marca registrada Marsilid como el primer antidepresivo moderno. Esto, unido a la demostración



Iproniazida, Marsilid®
(No selectivo)



Fenelzina, Nardil®
(No selectivo)



Isocarboxazida, Marplan®
(No selectivo)

de que la iproniazida era un potente inhibidor de la MAO tanto in vivo como in vitro, desató una guerra científico-comercial que hizo explotar a finales de los años cincuenta la denominada "primera generación de IMAOs", que incluye entre sus miembros la propia iproniazida, la fenelzina o la isocarboxazida. Todos ellos son inhibidores irreversibles e inespecíficos de la MAO y fueron utilizados como antidepresivos.

A principio de los años sesenta se comenzaron a detectar pacientes con agudas crisis hipertensivas, en algunos casos mortales. Estas crisis eran producidas porque la inhibición de la MAO intestinal favorecía el incremento sanguíneo de aminas procedentes de la dieta, principalmente tiramina, que estimulaban los terminales adrenérgicos produciendo episodios de fuerte elevación de la presión sanguínea. Muchos alimentos, sobre todo aquellos que han sido sometidos a procesos de fermentación, son ricos en tiramina. Un ejemplo clásico es el queso, por lo que a estos episodios hipertensivos se les denomina "efecto queso" (cheese effect). Anderson y col.¹⁹ han publicado una buena revisión sobre este particular.

El efecto queso y la aparición de otras drogas, como los antidepresivos tricíclicos, supusieron la retirada del mercado de muchos IMAOs y el comienzo de un largo periodo de abandono terapéutico. Este abandono fue, sin embargo, relativo puesto que durante ese periodo se describió la existencia de dos isoformas de la MAO (MAO-A y MAO-B)⁴, así como que la inhibición de la forma A era la responsable de los efectos antidepresivos observados en los años cincuenta²⁰. De ahí se pasó a la búsqueda de inhibidores de la MAO-A reversibles (los denominados abreviadamente RIMA), que pudiesen evitar los indeseables efectos de los primeros IMAOs. Estos RIMA forman la "nueva generación" que incluye entre otros miembros la brofaromina²¹ y la moclobemida²². En ellos se han depositado grandes esperanzas en la lucha contra la depresión, una de las enfermedades mentales más comunes hoy en día.

A continuación, examinaremos brevemente tanto los inhibidores reversibles como los irreversibles de la MAO.

Inhibidores reversibles

Los inhibidores de este tipo forman complejos con la enzima los cuales pueden revertirse fácilmente, tanto *in vitro* (dilución, diálisis) como *in vivo* (eliminación o metabolismo del inhibidor), al no existir interacciones covalentes entre ambos.

Existen inhibidores reversibles de varios tipos: competitivos, acompetitivos y mixtos. De todos ellos, los competitivos son los más comúnmente utilizados como fármacos. Concretamente en los últimos años se han realizado considerables esfuerzos en diseñar inhibidores reversibles específicos de la MAO-A que permitan su utilización como antidepresivos pero evitando los efectos nocivos secundarios, tales como crisis hipertensivas, hepatotoxicidad, etc. Entre ellos podemos citar, *moclobemida*, *brofaromina*, *amiflamina*, etc. Para una revisión ver Cesura y Pletscher^{23;24}.

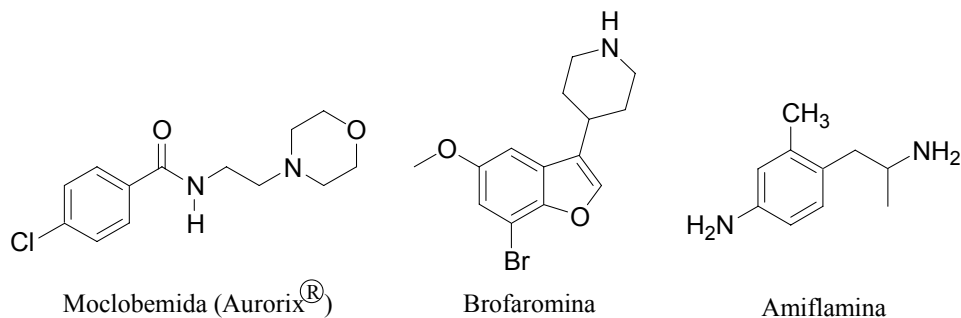


Figura 3: Ejemplos de inhibidores reversibles selectivos de MAO-A (RIMAs)

Por otra parte, los inhibidores reversibles de la MAO-B son mucho menos selectivos que los de la MAO-A, quizás debido a diferencias en el centro activo de ambas isoformas de la enzima según postularon Fowler y Ross²⁵. Según los estudios llevados a cabo con diversos sustratos, parece confirmarse que en el centro activo de la MAO-A existen una zona hidrofóbica y una zona electrofílica, la última de las cuales estaría ausente en el centro activo de la MAO-B. Así, los inhibidores de la forma A

presentarían impedimentos estéricos a la hora de unirse a la forma B, pero no a la inversa, pues los inhibidores de la MAO-B no encontrarían ninguna dificultad para unirse a la zona hidrofóbica que está presente en ambas formas enzimáticas y, por lo tanto, serían menos selectivos.

Inhibidores irreversibles

Son compuestos que inhiben la actividad de MAO mediante un mecanismo denominado "suicida", que pasa primero por la formación de un complejo no covalente entre el inhibidor y la enzima (EI), tras lo cual aparece una segunda fase irreversible en la cual dicho complejo es transformado por la propia enzima para dar lugar a un complejo covalente (EI*), cuya formación es dependiente del tiempo.



Esta inhibición no se revierte por dilución ni diálisis, mientras que *in vivo* solo se pueden suprimir los efectos de estos inhibidores por la generación de nuevas moléculas de enzima, una vez que el exceso de inhibidor libre ha sido eliminado. En el caso concreto de la MAO, se ha visto que la vida media de la enzima varía entre los diversos órganos con unos valores entre 2.5-3.5 y 10-13 días en el hígado y cerebro de rata respectivamente²⁶. Las diferencias de vida media entre la MAO-A y B en el hígado de rata parecen ser mínimas, mientras que en el intestino la MAO-A es recambiada mucho más rápidamente, presentando una vida media de 2 días frente a los 7.7 días de la MAO-B²⁷. Los ejemplos mas conocidos de inhibidores irreversibles tanto de MAO-A como de MAO-B, son *clorgilina* y *L-deprenil* o *selegilina* respectivamente.

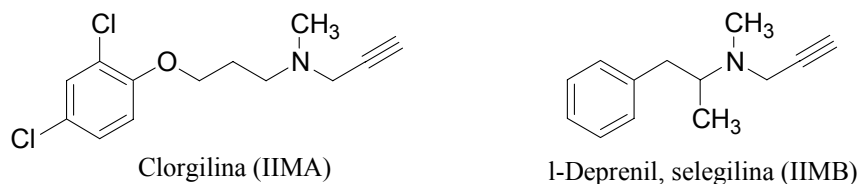


Figura 4: Ejemplos de inhibidores irreversibles selectivos de MAO-A (IIMA) y MAO-B (IIMB)

El potencial clínico de los IMAOs en diversas patologías psiquiátricas y neurodegenerativas ha generado una intensa búsqueda de moléculas selectivas, reversibles. Sin embargo, salvo los trabajos realizados por un grupo de investigación relacionado con la industria farmacéutica²⁸⁻³⁰, no existen hasta ahora referencias bibliográficas o estudios sobre series moleculares suficientemente extensas y racionales que permitan extraer conclusiones respecto de los requisitos estructurales de este tipo de fármacos y que permitan una mejor comprensión de los mecanismos moleculares que regulan la interacción de la enzima con sustratos e inhibidores.

Feniletilamina (FEA), molécula tipo

La FEA es una estructura químicamente simple que está presente en una gran variedad de moléculas biológicamente activas de origen natural, tales como neurotransmisores (catecolaminas), estimulantes centrales (efedrina, catinona) y alucinógenos (mescalina).

La FEA consta de un anillo bencénico, separado de un grupo amino por dos átomos de carbono saturados y carece de efectos centrales luego de su inyección sistémica, ya que es rápidamente metabolizada a nivel hepático. Sin embargo, la simple adición de un grupo metilo al carbono α de la molécula, como se muestra en la figura 5, genera la anfetamina (ANF), compuesto resistente al metabolismo enzimático, característica que le permite su permanencia en el organismo y que facilita su pasaje al sistema nervioso central (SNC)³¹.



Figura 5: Estructura química de la feniletilamina y anfetamina

Los derivados de feniletilamina no han dejado de tener importancia en el ámbito de la química médica y/o desarrollo de fármacos³². Es más, han inspirado la síntesis de nuevos inhibidores selectivos para cada una de las isoformas de MAO como por ejemplo *amiflamina* (MAO-A) y *selegilina* (MAO-B) entre otros ya mencionados.

En este sentido, se conoce que el sitio de interacción de la enzima acepta una amplia gama de estructuras químicas derivadas de FEA con distintos patrones de sustitución. Por lo tanto, el estudio de las FEAs como moléculas “prototipo” es una poderosa y eficaz herramienta para la exploración del sitio activo de la enzima y en consecuencia el desarrollo de nuevos fármacos más efectivos, seguros y selectivos.

A pesar de lo anteriormente expuesto la información con que se cuenta con respecto a modificaciones sistemáticas de la molécula de FEA, ya sea en el anillo aromático o en posiciones cercanas a él, es escasa y fragmentaria²⁸⁻³⁰. Esta es una de las razones por las cuales se dio inicio a esta investigación. Nuestro objetivo fue entonces el desarrollo sintético de una serie de moléculas, análogos estructurales con patrón de referencia correspondiente a la feniletilamina. Las variaciones introducidas incluyeron tanto la naturaleza de los sustituyentes, como también la posición de éstos en el anillo aromático. Más aún, se propuso la variación de la cadena lateral con la introducción de grupos metilos y etilos en el carbono α como una manera de estudiar los efectos estéricos y lipofílicos de éstos con respecto a la actividad inhibitoria de la MAO. Finalmente, en la mayoría de los casos se metiló el nitrógeno amínico con el fin de comparar las propiedades farmacológicas de los compuestos *N*-metilados con los de las aminas primarias análogas.

Todo lo anterior se hizo para evaluar la hipótesis planteada al inicio de esta investigación, en la cual se postula que derivados de FEAs con distintas sustituciones en el anillo aromático, en particular análogos sustituidos en las posiciones 2,4,5 y grupos alquiltio en la posición *para*, diseñados a partir de compuestos recientemente descritos y que presentan una muy buena actividad farmacológica como inhibidores de la MAO³³, debieran poseer actividad como inhibidores potentes y selectivos de una u otra isoforma de la MAO. Además, a pesar de que no se tenían referencias con respecto al patrón de sustitución 2,4,6, se esperaba que los compuestos que lo incorporaran en sus estructuras

mantuvieran las características de interacción con la enzima, de forma similar a sus análogos sustituidos en las posiciones 2,4,5 del anillo aromático, ya que ambas familias conservan el patrón estructural de feniletilamina, diferenciándose sólo en las posiciones en las cuales se encuentran ubicados dichos sustituyentes.

Por último, se esperaba que la *N*-metilación cambiara significativamente las propiedades farmacológicas de estas moléculas, ya que se tenían ciertos antecedentes³³ en los cuales la adición de grupos metilo en la amina terminal desfavorecía la interacción entre estos compuestos y el sitio de unión con la enzima manifestándose en altos valores de IC₅₀. Sin embargo, los valores de IC₅₀ obtenidos en los experimentos bioquímicos, utilizando los compuestos sintetizados en este trabajo mostraron una tendencia opuesta.

A pesar de que no existe información suficiente como para dar una explicación satisfactoria a este hecho si se pueden esbozar ciertas características fisicoquímicas que denotan diferencias entre unos compuestos y otros. Estas diferencias serán estudiadas con más detalle en el capítulo de resultados y discusión.

Como información complementaria, se realizaron experimentos de afinidad utilizando radioligandos en receptores de serotonina 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} debido a que se ha reportado que algunos de los mejores candidatos como fármacos antidepresivos (además de las IMAO-A), también serían los agonistas o agonistas parciales del receptor 5-HT_{1A}. Por otro lado, se ha medido con prometedores resultados que modificaciones en la función de los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} producirían efectos como antidepresivos de largo plazo, reguladores de la temperatura, reguladores de las funciones sexuales y del sueño. Mas aún, se ha evaluado su acción contra los desórdenes obsesivos-compulsivos, y como antibulímicos⁵⁹. Los resultados demostraron que compuestos con el patrón estructural de feniletilemina y anfetamina son buenos ligandos de estos receptores, en la mayoría de los casos en concentraciones nanomolares.

Por otro lado, estudios pioneros en la oxidación de tiramina o bencilamina sobre tejidos adiposos revelaron la presencia de MAO y otra amino-oxidasa resistente al

bloqueo por los inhibidores clásicos de MAO. Esta enzima era inhibida por semicarbazida, por lo cual fue llamada amino-oxidasa sensible a semicarbazida (SSAO)^{60;61}. Después de esto la presencia de SSAO ha sido validada en ratas y en humanos⁶². Recientemente se ha estudiado el aumento de la actividad de SSAO plasmática en pacientes con arteriosclerosis, insuficiencia cardíaca al corazón, infarto cerebral y diabetes⁶³. Especial interés tiene este último punto ya que se ha reportado que sustratos de la enzima SSAO en combinación con muy bajas concentraciones de *vanadato* imitan los efectos “tipo insulina” en ratas⁶⁴. Esto quiere decir que aumenta considerablemente el transporte de glucosa. Estos experimentos fueron realizados con bencilamina como sustrato la cual tiene una *Km* de aproximadamente 50 μ M para esta enzima. Por lo tanto se ha postulado que sustratos de la SSAO podrían considerarse como potenciales drogas antidiabéticas. Se realizaron experimentos utilizando esta enzima, especialmente sobre el compuesto PrNH₂, encontrándose resultados sorprendentes que abren un sinnúmero de proyecciones a futuro. Estos resultados serán discutidos en detalle más adelante.

MATERIALES Y MÉTODOS

QUIMICA

El detalle de las síntesis para cada producto se muestra en el ANEXO 1.

EVALUACION BIOQUIMICA

Metodología general

A pesar de que existe una serie de métodos para determinar la actividad de MAO^{34;35}, la mayoría de ellos presentan limitaciones debidas a problemas de sensibilidad o selectividad. En esta propuesta se utilizó la técnica de cromatografía líquida de alta presión con detección electroquímica (HPLC-DE), que permite cuantificar sustratos y metabolitos. Estudios recientes³³ han demostrado que éste es un método sencillo y sensible, con alta selectividad entre ambas isoformas de la enzima y la posibilidad de detectar simultáneamente la desaparición de sustrato y la aparición de metabolitos. Esta metodología elimina los riesgos tanto para el investigador como para el medio ambiente que implican los trabajos con sustratos radioactivos y además reduce notablemente los costos, permitiendo así evaluaciones en serie.

Obtención de la suspensión mitocondrial

Se utilizó como fuente de enzima una suspensión mitocondrial obtenida de cerebro de rata³⁶. Los animales fueron sacrificados por decapitación y se extrajo el cerebro descartándose el cerebelo. Posteriormente, el tejido fue homogeneizado en un homogeneizador Potter-Elvehjem de vidrio y teflón, en 10 mL de una solución de sacarosa 0.32 M.

El homogeneizado fue centrifugado a 800 x g (102 RAD) durante 10 minutos a 4 °C. El sobrenadante (conteniendo las mitocondrias) fue centrifugado a 10000 x g durante 20 minutos a 4 °C. El "pellet" obtenido fue resuspendido en el volumen original de solución de sacarosa 0.32 M y se repitió la centrifugación. El nuevo "pellet" obtenido fue nuevamente resuspendido en 10 mL de tampón de fosfato de sodio 0.1 M y pH 7.4 y dividido en alícuotas de 1 mL las que se almacenaron congelados a -20 °C.

Determinación de la actividad de MAO-A

La actividad mitocondrial de la isoforma A de MAO fue determinada por HPLC-DE, utilizando como sustrato selectivo serotonina (5-HT).

Para determinar la inhibición de MAO-A, la mezcla de incubación consistió en una solución de 200 µL de tampón de fosfato de sodio a pH 7.4, 50 µL de 5-HT 25 µM y el inhibidor a ser evaluado en concentraciones apropiadas (10^{-4} a 10^{-9} en la mayoría de los casos). Esta mezcla se incubó durante 10 min a 37 °C en un baño termostático con agitación constante, con los tubos abiertos. La reacción comenzó al agregar 200 µL de suspensión mitocondrial, llegando a un volumen final de 500 µL y se detuvo al agregar 200 µL de HClO₄ 1M. La mezcla se centrifugó a 15000 x g durante 5 minutos a 4 °C y 50 µL del sobrenadante se inyectaron en el cromatógrafo. Las condiciones cromatográficas se describen más adelante.

Determinación de la actividad de MAO-B

La actividad mitocondrial de la MAO-B fue determinada por HPLC-DE, utilizando como sustrato selectivo 4-dimetilaminofeniletilamina³⁷ (DMAPEA).

En los experimentos de inhibición de MAO-B, la mezcla de incubación consistió en 105 μL de solución tampón de fosfato de sodio a pH 7.4; 100 μL de solución de aldehído deshidrogenasa (1mg/5mL) y 100 μL de β -nicotinamida dinucleótido (β -NAD 16.5mg/5mL), 25 μL de solución de DMAPEA 100 μM , 50 μL del inhibidor a ser evaluado a concentraciones apropiadas (en general se utilizaron concentraciones 10^{-4} a 10^{-7} μM) y 120 μL de la suspensión mitocondrial.

La reacción enzimática fue iniciada al agregar la suspensión mitocondrial. Las mezclas fueron incubadas por 8 minutos a 37 °C en un baño con agitación constante en tubos abiertos. La reacción fue detenida al agregar 200 μL HClO_4 1M. La mezcla se centrifugó a 15000 x g durante 5 minutos a 4 °C y 50 μL del sobrenadante se inyectaron en el sistema de HPLC. Las condiciones cromatográficas se describen a continuación.

Condiciones cromatográficas

Previo a cada experimento se inyectó en el cromatógrafo una solución estándar que contenía cantidades conocidas de cada una de las sustancias a medir.

MAO-A: Para el análisis de las muestras se utilizó una columna LichroCART C₁₈ (ODS 250 mm x 4.0 mm, USA) un detector amperométrico (Merck-Recipe L3500A) equipado con un electrodo de trabajo de carbono vítreo y un cromato-integrador (Merck-Hitachi D2500). El flujo de la fase móvil fue de 1 mL/min y su preparación fue la siguiente (para un volumen de 500 mL): se disolvieron en agua de calidad para HPLC 15.75 g de ácido cítrico y se aforó hasta llegar a un volumen de 445 mL; se agregó suficiente NaOH 12.0 M para alcanzar un pH = 3.0, se adicionaron 100 mg de SOS y la solución se agitó por unos minutos. La solución se filtró en un sistema de microfiltro utilizando papel de

poro de 0.2 μm , el matraz se tapó y se dejó al vacío por aproximadamente 20 minutos, se filtró nuevamente a través de una frita de poro N° 5 pasando la solución a la correspondiente botella, se tapó y se dejó al vacío por otros 20 minutos. Se verificó la ausencia de burbujas sonicando la solución por un minuto. Una vez desgasada la fase móvil se adicionó lentamente y por las paredes 35 mL de ACN y 20 mL de THF, ambos de calidad para HPLC. La sensibilidad del detector se ajustó en 50 nA, y el potencial de oxidación del electrodo de trabajo fue fijado a 0.75 V frente a un electrodo de referencia de Ag/AgCl. Todas las medidas se realizaron por triplicado, dando cuenta del error “intra-día”. Los experimentos se realizaron por lo menos tres veces en días distintos, utilizando suspensión mitocondrial de diferentes animales, dando cuenta así del error “inter-día”.

La figura 6 muestra los picos cromatográficos obtenidos por HPLC-DE para un experimento de IMAO-A usando 5-HT como sustrato. El primer cromatograma corresponde al experimento control que se realizó sin inhibidor y con una cantidad estandarizada de sustrato (los blancos se realizaron sin suspensión mitocondrial). Las alturas de los picos cromatográficos de 5-HT y su metabolito principal, el ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) fueron utilizadas para calcular la actividad de la MAO-A. El segundo cromatograma corresponde al experimento en presencia de una sustancia que resultó ser inhibidora de esta isoforma de la enzima. Por lo tanto la enzima se ve inhibida de metabolizar el sustrato, por lo cual el pico correspondiente al metabolito no se distingue de la línea base.

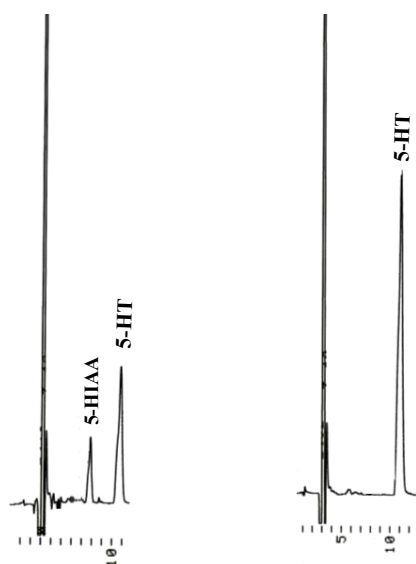


Figura 6: Ejemplo de un cromatograma para un IMAO-A
a) situación control y b) IMAO-A

Todos los valores de IC_{50} de MAO (A y B), fueron calculados con respecto al control a partir de la ecuación 3 y las curvas de inhibición construidas utilizando el programa Graph Pad Prism 3.0.

$$\%Inhibición = 100 - \frac{[(D)*100]}{[control]}$$

Ecuación 3: Ecuación para la obtención de las IC_{50}

MAO-B: Para el análisis de las muestras se utilizó una columna Macrosphere 5μ RPC₁₈ (ODS 250 mm x 4.0 mm, USA), un detector amperométrico (Merck-Recipe L3500A) equipado con un electrodo de trabajo de carbono vítreo y un cromato-integrador (Merck-Hitachi D2500). El flujo de la fase móvil fue de 1 mL/min y su composición fue la siguiente (para un volumen de 500 mL): 15.75 g de ácido cítrico, 469 mL de agua de calidad para HPLC, suficiente NaOH 12.0 M para alcanzar un pH = 3.0, 100 mg de SOS, 23 mL de ACN y 8 mL de THF, tomando las precauciones ya descritas para desgasar. La sensibilidad del detector se ajustó en 50 nA, y el potencial de oxidación del electrodo de trabajo fue fijado a 0.75 V frente a un electrodo de referencia de Ag/AgCl.

En la figura 7 se muestran ejemplos de los cromatogramas obtenidos en las mediciones de un supuesto inhibidor de la MAO-B. El primer cromatograma corresponde al experimento control, en el cual no se incluyó el “inhibidor” y sólo presenta los picos correspondientes al sustrato DMAPEA y su principal metabolito el ácido 4-dimetilaminofenilacético (DMAPAA). El compuesto resultó ser no inhibidor de la MAO-B, por lo tanto, el pico correspondiente al metabolito se conservó intacto.

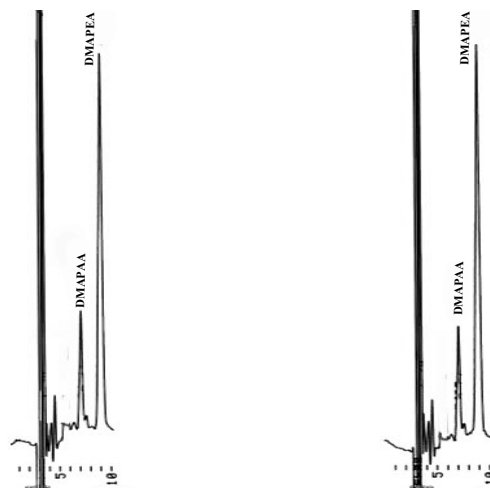


Figura 7: Ejemplo de un cromatograma para un supuesto IMAO-B
a) situación control y b) resultado del experimento

Determinación de la reversibilidad en la inhibición de la enzima.

Se consideró una muestra representativa de moléculas para la realización del estudio de reversibilidad. Estas fueron elegidas de acuerdo a los distintos patrones de sustitución aromática.

La reversibilidad del proceso inhibitorio para MAO-A fue estudiada mediante la incubación de la enzima con el inhibidor y el posterior lavado repetido de la suspensión mitocondrial (SM). Las mezclas fueron incubadas por 10 minutos a 37 °C con las drogas a evaluar en concentraciones apropiadas. Las preparaciones fueron posteriormente lavadas tres veces con 500 µL de tampón de fosfato de sodio 0.1M y pH 7.4 (centrifugando y resuspendiendo cada vez). La SM se resuspendió finalmente en 450 µL de buffer y se incubó por 10 minutos con 50 µL de sustrato. La actividad de MAO fue medida en las mismas condiciones descritas previamente. En los experimentos control el inhibidor fue reemplazado por un volumen igual de buffer y se procedió de la misma manera.

Efecto de la preincubación de la enzima con el inhibidor.

Dado que las moléculas estudiadas son derivadas de fenilisopropilamina, fue necesario estudiar si la inhibición observada era dependiente del tiempo de interacción enzima-inhibidor. Esto se debe a que algunos IMAO irreversibles, tales como *l-deprenil* o *clorgilina* presentan una clara dependencia del tiempo respecto de su capacidad inhibitoria, lo que implica que luego de una preincubación con la enzima, la potencia inhibitoria es significativamente mayor⁴. Si bien estos IMAO irreversibles incorporan en sus estructuras grupos que forman enlaces covalentes con la enzima y estos grupos no están presentes en los compuestos aquí presentados, se consideró necesario realizar estos experimentos.

Por otro lado, estos estudios permitieron verificar la calidad de posibles sustratos de algunas de las moléculas estudiadas. Así, un compuesto que sea sustrato de la enzima generará un perfil de acción similar al de un inhibidor (ya que compite con el sustrato por el sitio activo). En este caso, luego de la preincubación y debido al metabolismo del sustrato por la MAO, su efecto como “inhibidor” debiera ser mucho menor, mientras que el efecto de un inhibidor “clásico” no debiera disminuir luego de preincubarlo con la enzima.

Este ensayo fue realizado mediante la preincubación por 30 minutos a 37 °C de 200 µL de buffer de fosfato de sodio 0.1M y pH 7.4, 50 µL de droga en concentraciones apropiadas y 200 µL de suspensión mitocondrial. Después de incubar durante 30 minutos se agregaron 50 µL de serotonina y la mezcla se incubó por 10 minutos adicionales. La actividad de MAO fue medida en las mismas condiciones descritas previamente. Los experimentos control se realizaron sin preincubación, con lo cual se asegura que la inhibición corresponde a los valores medidos con anterioridad.

Ensayos de afinidad utilizando radioligandos en receptores de serotonina 5-HT_{1A}⁵⁷, 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C}⁵⁸.

Para determinar las afinidades de los compuestos por estos subtipos de receptores se utilizaron células de ovario de hámster chino (CHO) o de fibroblasto NIH3T3 transfectadas para expresar el receptor serotoninérgico deseado. La B_{max} de los receptores en las células GF-6 (receptor 5-HT_{2A} de rata), en las células CHO (receptor 5-HT_{1A} humano) y PΦ (receptor 5-HT_{2C} de rata) fue de 5000 fmol/mg.

Los ensayos de afinidad fueron llevados a cabo en un volumen total de 500 µL utilizando los ligandos radiactivos [³H]-ketanserina (63.3 Ci/mmol) para el receptor 5-HT_{2A}; [³H]-mesulergina (82.7 Ci/mmol) para el receptor 5-HT_{2C} y [³H]-8OH-DPAT (129.0 Ci/mmol) para el receptor 5-HT_{1A}. La afinidad no específica, que representa todas las uniones excepto las uniones con el receptor, fue definida como la

radioactividad medida en la presencia de ligandos “fríos” cinanserina (50 μL , 10 μM) para el receptor 5-HT_{2A}, mianserina (50 μL , 10 μM) para el receptor 5-HT_{2C} y serotonina (50 μL , 10 μM) para el receptor 5-HT_{1A}. Para medir la afinidad total se agregó agua bi destilada a la celda de reacción.

Las células conteniendo los receptores fueron resuspendidas en buffer (50 mM Tris, 0.5 mM EDTA, 10mM MgCl₂; pH 7.4) y 50 μL de esta suspensión fue agregada a cada celda que ya contenía 350 μL de buffer (50 mM Tris, 0.5 mM EDTA, 10mM MgCl₂; pH 7.4), 50 μL del correspondiente radioligando (50 μL , 2.5 nM) y 50 μL del compuesto correspondiente en distintas concentraciones.

La reacción fue llevada a cabo a 25 °C por 60 minutos y terminada por filtración rápida empleando un equipo Packard 96-well harvester con GF/B Uni-filters (Packard instrument Corp.). El equipo fue previamente lavado con buffer frío (10mM Tris, 154 mM NaCl) durante 30 minutos. Los filtros utilizados fueron previamente incubados por 30 minutos con 0.3% PEI (polietilenimina) y después de filtrar se dejaron secando por 24 horas tras lo cual fue agregado microscint-*O* (Packard instrument Corp.). La radioactividad fue medida utilizando un equipo TopCount scintillation counter (Packard instrument Corp.). Los datos fueron analizados con el programa Graph Pad Prism 3.

Ensayos de inhibición utilizando un método radioquímico para MAO-A, MAO-B y SSAO.

La actividad de la MAO (A y B) fue determinada radioquímicamente por el método de Fowler y Tipton⁶⁵. En este método se utilizan sustratos marcados con ¹⁴C y la sensibilidad que se consigue es muy elevada.

Para determinar la actividad de SSAO se utilizó el mismo método pero debido a que el sustrato usado (Bz* = [¹⁴C]bencilamina) para caracterizar esta actividad, también es sustrato de la MAO-B, previamente se inhibió la actividad de MAO-B incubando la suspensión mitocondrial con *deprenil* 1mM durante 30 min a 37 °C.

Los sustratos radiactivos utilizados para MAO-A, MAO-B y SSAO fueron sulfato de 5-hidroxi [cadena lateral 2-¹⁴C]triptamina creatinina (5-HT*; 100 μM; 2.5 μCi/mmol) obtenida de Amersham (Amersham, U.K.), clorhidrato de [etil-1-¹⁴C]feniletilamina (PEA*; 20 μM; 2.5 μCi/mmol) obtenida de New England Nuclear (Stevenage, U.K.) y clorhidrato de [7-¹⁴C] bencilamina (Bz*; 50 μM; 2.5 μCi/mmol) (Amersham, U.K.) respectivamente. A estas concentraciones los sustratos son selectivos para cada enzima, con la salvedad mencionada para SSAO⁶⁶.

Se realizaron ensayos a t = 0 min (sin preincubación) y t = 30 min (con preincubación), para de esta manera verificar si hay inhibición dependiente del tiempo y además contar con alguna pista sobre posibles roles de estas moléculas como sustratos de estas enzimas.

El procedimiento utilizado en los ensayos de t = 0 min consistió en agregar la enzima al tubo que ya contiene el inhibidor y el sustrato, dejando incubar por 30 minutos, tras lo cual la reacción se terminó agregando ácido cítrico y el producto formado se separa y su concentración se mide mediante un contador de centelleo líquido. Esta separación se realiza a pH ácido en presencia de un solvente orgánico, al que pasa el producto, mientras que la amina que funciona como sustrato, cargada positivamente en estas condiciones, permanece en la fase acuosa. El procedimiento utilizado en el ensayo de t = 30 min consistió en preincubar el inhibidor y la enzima durante 30 minutos, agregando después de este tiempo el sustrato e incubando nuevamente por 30 minutos. La separación y conteo del producto se realizaron de la misma manera anterior.

En este trabajo se utilizaron tubos de plástico de fondo plano, de 5 mL de capacidad. La incubación de la enzima y el sustrato se realizó en un baño a 37°C con agitación constante. La mezcla de reacción contenía:

Ensayo a t = 0 min:

160 μL de tampón de fosfato de potasio, 50 mM, pH 7.2

25 μL de sustrato (¹⁴C)

20 μL de inhibidor a distintas concentraciones

20 μL de suspensión mitocondrial (200μg)

Esta mezcla se incubó por 30 minutos en el caso de 5-HT y 4 minutos en el caso de PEA a 37 °C. Para parar la reacción, se agregó a cada tubo 100 µL de ácido cítrico 2M. Los blancos utilizados contenían la misma mezcla pero el citrato se añadió antes que la enzima. En el control se sustituyó el inhibidor por agua bi destilada.

La extracción del producto formado se realizó agregando a cada tubo 4 mL de una solución de tolueno/acetato de etilo 1:1 (v/v) con 0.6% de PPO (reactivo de centelleo). Los tubos se agitaron para mezclar bien las fases orgánica y acuosa, después de lo cual fueron congelados durante aproximadamente 30 minutos a -80 °C. La fase orgánica se separó por decantación y se midió su radioactividad en un contador Beckman LS 8000.

Para el ensayo a $t = 30$ min se utilizó:

160 µL de tampón fosfato de potasio, 50 mM, pH 7.2

20 µL de inhibidor a distintas concentraciones

20 µL de suspensión mitocondrial (200µg)

Esta mezcla se preincubó durante 30 minutos en ambos casos (5-HT* y PEA*) a 37 °C. Después de este tiempo se agregó 20 µL de sustrato (^{14}C) y se incubó por 30 minutos en el caso de 5-HT y 4 minutos en el caso de PEA a 37 °C. Para parar la reacción, se agregó a cada tubo 100 µL de ácido cítrico 2M. Los blancos utilizados contenían la misma mezcla pero el citrato se añadió antes que el sustrato. En el control se sustituyó el inhibidor por agua bi destilada.

En todos los casos cada punto se realizó por duplicado y cada curva se repitió al menos en tres ocasiones y en cada caso la actividad se expresó como porcentaje de actividad remanente respecto al control.

Cálculo de la actividad específica:

La actividad específica en este trabajo se expresa generalmente en pmol/min mg de proteína. Para calcularla a partir de las cpm obtenidas en las mediciones de radioactividad se utilizó la siguiente ecuación:

$$cpm \times \frac{100}{X} \times Y \times \frac{1}{t(\text{min})} \times \frac{1}{S.M.} \times \frac{1000 \mu L}{P}$$

Ecuación 4: Ecuación utilizada para calcular la actividad específica.

Donde *X* es el coeficiente de extracción de los productos de la reacción en la fase orgánica (Tabla XXIII), *Y* es el factor de conversión de *cpm* en el pool de producto y *P* la concentración de proteína en la suspensión mitocondrial en mg/mL.

Tabla 0. Factores de conversión y coeficientes de extracción de los sustratos⁶⁷ serotonina, feniletilamina y bencilamina. Los valores de *Y* varían en función de la actividad del sustrato

Sustrato	Y (pmol/cpm)	X (% extracción)R
5-HT	0.9	74.4
FEA	0.18	92.5
Bz	0.045	86.8

Obtención de la suspensión mitocondrial:

Se utilizó como fuente de enzima una suspensión mitocondrial obtenida de hígado de ratas Sprague-Dawley (200 a 250 grs) en ayunas por 24 horas. El homogeneizado de hígado fue preparado en 10 vol (p/v) de buffer de fosfato (50mM, pH 7.2) usando un homogeneizador Dounce. La fracción mitocondrial fue preparada por un

método de centrifugación estándar⁶⁸. El pellet fue resuspendido en el mismo buffer y las alícuotas fueron congeladas a -80 °C para su almacenamiento.

La concentración de proteína fue determinada por el método de Bradford con seroalbúmina de bovina (BSA) como estándar.

Método espectrofotométrico para la determinación de actividades de MAO-A, MAO-B y SSAO.

Se utilizó el método acoplado espectrofotométrico (H₂O₂) de Holt⁶⁹ para la determinación de las actividades de las amino oxidasas. Este método se basa en la medición continua espectrofotométrica de la producción de H₂O₂ en homogeneizados de tejidos. Se utilizó un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 2 UV/Vis.

Los reactivos utilizados para la preparación de la mezcla cromogénica se detallan a continuación:

10 mM ácido vainílico (Sigma V 2250),

10 mM 4-aminoantipirina (Sigma A 4382)

40 U/mL peroxidasa (Sigma P 8250)

Las soluciones de cada uno de los reactivos anteriores se prepararon en buffer de fosfato de potasio 0.2 M, pH 7.6.

La mezcla cromogénica se preparó fresca, mezclando 1 mL de la solución anterior de ácido vainílico, 0.5 mL de la solución de 4-aminoantipirina, 1 mL de la solución de peroxidasa y 2.5 mL de buffer de fosfato de potasio 0.2 M, pH 7.6.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

QUIMICA

Familia 2,4,5

La mayor cantidad de las moléculas sintetizadas fueron aquellas con un patrón de sustitución llamado 2,4,5. Se les llamó de esta forma como una manera de resumir los nombres, generalmente muy largos, de los compuestos que presentan una gran variedad de distintos sustituyentes, pero siempre en las posiciones 2,4,5 del anillo aromático.

Dentro de esta familia se sintetizó una vasta serie de compuestos (Tablas I, II, III, IV, V, VI), la mayoría de ellos nuevos, es decir, compuestos no descritos en la literatura científica. Los resultados de los ensayos como IMAO's de algunos de estos compuestos nos permitieron corroborar parte de la hipótesis planteada en un comienzo de la investigación, así como también nos proporcionaron respuestas inesperadas con respecto a análisis cualitativos y cuantitativos de las relaciones entre estructura química y actividad inhibitoria de MAO. Los efectos del largo y volumen del sustituyente unido al azufre, la presencia o ausencia de un grupo metilo o etilo en el carbono α de la cadena lateral y la monometilación del grupo amino, fueron algunos de los factores estudiados en esta familia de moléculas. Los grupos alquilos unidos al azufre fueron elegidos como una manera de explorar la interacción de éstos con el sitio activo de la enzima, así como también los efectos sobre la lipofilia, que tiene relación con la capacidad de estas moléculas para atravesar membranas lipídicas.

Dentro de este marco se presentarán los resultados en grupos de compuestos. Esta división se llevará a cabo con respecto al sustituyente unido al azufre. Los grupos en la posición *para* fueron entonces: metiltio, etiltio, *n*-propiltio, *i*-propiltio, *n*-butiltio, *n*-pentiltio y 2-feniletiltio.

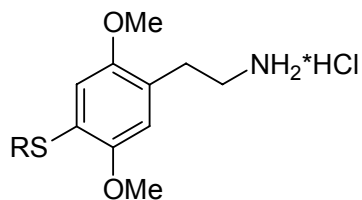


Figura 8: Estructura química de los derivados del Grupo I

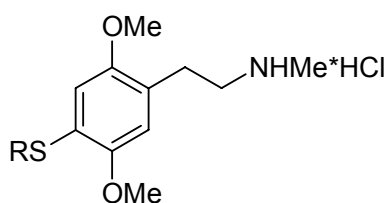


Figura 9: Estructura química de los derivados del Grupo II

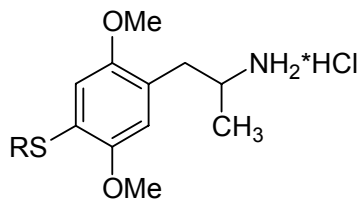


Figura 10: Estructura química de los derivados del Grupo III

Tabla I. Patrón de sustitución de los compuestos correspondientes al grupo I.

Grupo I	R
MeSF EA	CH ₃
EtSF EA	CH ₃ CH ₂
<i>n</i> -PrSF EA	CH ₃ CH ₂ CH ₂
<i>i</i> -PrSF EA	(CH ₃) ₂ CH
<i>n</i> -BuSF EA	CH ₃ (CH ₂) ₃
<i>n</i> -PnSF EA	CH ₃ (CH ₂) ₄

Tabla II. Patrón de sustitución de los compuestos correspondientes al grupo II.

Grupo II	R
MeSF EA NMe	CH ₃
EtSF EA NMe	CH ₃ CH ₂
<i>n</i> -PrSF EA NMe	CH ₃ CH ₂ CH ₂

Tabla III. Patrón de sustitución de los compuestos correspondientes al grupo III.

Grupo III	R
MeS ANF	CH ₃
EtS ANF	CH ₃ CH ₂
<i>n</i> -PrS ANF	CH ₃ CH ₂ CH ₂
<i>n</i> -BuS ANF	CH ₃ (CH ₂) ₃
<i>n</i> -PnS ANF	CH ₃ (CH ₂) ₄
<i>i</i> -PrS ANF	(CH ₃) ₂ CH
FeEtS ANF	C ₆ H ₅ (CH ₂) ₂

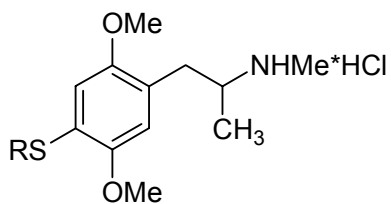


Figura 11: Estructura química de los derivados del Grupo IV

Tabla IV. Patrón de sustitución de los compuestos correspondientes al grupo IV.

Grupo IV	R
MeSANFNMe	CH ₃
EtSANFNMe	CH ₃ CH ₂
<i>n</i> -PrSANFNMe	CH ₃ CH ₂ CH ₂

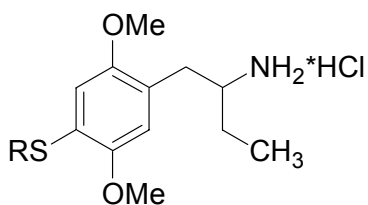


Figura 12: Estructura química de los derivados del Grupo V

Tabla V. Patrón de sustitución de los compuestos correspondientes al grupo V.

Grupo V	R
MeSαEt	CH ₃
EtSαEt	CH ₃ CH ₂
<i>n</i> -PrSαEt	CH ₃ CH ₂ CH ₂

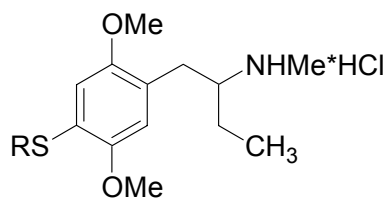


Figura 13: Estructura química de los derivados del Grupo VI

Tabla VI. Patrón de sustitución de los compuestos correspondientes al grupo VI.

Grupo VI	R
MeSαEtNMe	CH ₃
EtSαEtNMe	CH ₃ CH ₂
<i>n</i> -PrSαEtNMe	CH ₃ CH ₂ CH ₂

Ruta sintética para la obtención de derivados 2,4,5

Los compuestos finales (grupos I, II, III, IV, V y VI), obtenidos como clorhidratos fueron sintetizados como se muestra a continuación en la figura 14:

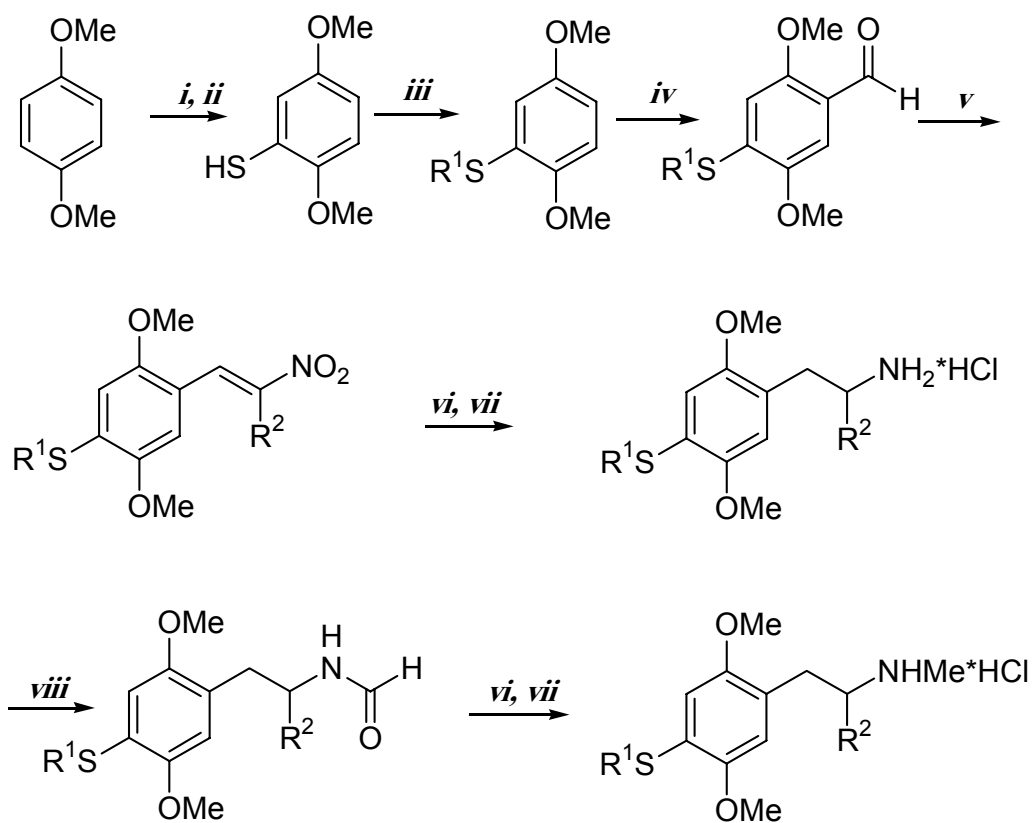


Figura 14: Resumen de la ruta sintética utilizada para la obtención de los compuestos de la Tablas I, II, III, IV, V y VI.

Reactivos y condiciones i) HOSO₂Cl/CH₂Cl₂; ii) Zn/HCl 30%v/v (~60 °C); iii) KOH/R¹X (~60 °C); iv) POCl₃/N-metilformanilida (40-50 °C); v) R²NO₂/Base/Reflujo; vi) LiAlH₄/THF/Reflujo; vii) HCl; viii) HCO₂Et/Reflujo.

La reacción que da inicio a esta ruta sintética corresponde a la sulfonación del 1,4-dimetoxibenceno utilizando exceso de ácido clorosulfónico en CH_2Cl_2 . La posterior reducción de este grupo dio óptimos rendimientos cercanos al 100% cuando se utilizó zinc en polvo y HCl al 30 % v/v. Es necesario destacar que el rendimiento informado en la literatura científica³⁸ no sobrepasaba el 45%, utilizando zinc en polvo y H_2SO_4 25% (v/v).

Los distintos *S*-alquilderivados fueron obtenidos, con muy buen rendimiento (70 a 90%), en reacciones de sustitución, utilizando los correspondientes halogenuros de alquilo e hidróxido de potasio como base, salvo en el caso de los metiltio derivados en cuya preparación, además de MeBr se probó también sulfato de metilo como agente alquilante. En la comparación de estos dos métodos se encontró una diferencia en rendimiento favorable a este último de 40%, diferencia que puede ser atribuida a la volatilidad del MeBr.

En la mayoría de los casos se utilizó la reacción de formilación de Vilsmeier, con muy buenos resultados, para la obtención de los aldehídos³⁹. En aquellos casos en los cuales no se obtuvo rendimientos satisfactorios se empleó un método alternativo, utilizando diclorometil metil éter como agente formilante⁴⁰. Se observó siempre en el espectro de ^1H -RMN de los productos, el pico alrededor de ~ 10.40 ppm, característico del protón del grupo aldehído.

Se utilizó la reacción de condensación de Knoevenagel entre los aldehídos y los distintos nitroalcanos para la obtención de los arilnitroalquenos deseados, en general como productos de color naranja en forma de agujas con un rendimiento variable entre 60 y 99%.

Las condiciones para las reacciones de condensación que generaron como productos los 1-aril-2-nitrobutenos fueron distintas a las utilizadas para obtener el resto de los arilnitroalquenos. El catalizador de acetato de amonio no fue satisfactorio, por lo que fue reemplazado por *N,N*-dimetiletildiamina (DMEDA). Además se utilizó tolueno como solvente, lo que permitió eliminar el agua producida en la reacción, alcanzándose rendimientos máximos entre 45 y 50%.

Después de la reducción de los arilnitroalquenos con LiAlH_4 se obtuvo cada amina libre correspondiente, la cual se utilizó inmediatamente para la formación del clorhidrato como producto final. Una porción de cada clorhidrato fue neutralizada con base acuosa y extraída la amina libre con CH_2Cl_2 . La amina libre se mantuvo a reflujo con formiato de etilo durante aproximadamente 24 h, luego de lo cual se aislaron las correspondientes *N*-formamidas, que al ser reducidas con LiAlH_4 generaron los *N*-metil derivados deseados. Los productos *N*-metilados finales fueron obtenidos como clorhidratos, después de neutralizar cada amina libre con HCl concentrado.

5-MeSFEA y 5-MeSANF.

Como veremos más adelante (figura 22), la ruta que originalmente se había propuesto para la síntesis de los compuestos con patrón 2,4,6 no generó el intermediario que necesitábamos, pero sí nos condujo inesperadamente al 2,4-dimetoxitioanisol (**b**). Con este material de partida emprendimos la síntesis de un nuevo grupo de moléculas.

Es necesario destacar que la decisión de proseguir con la síntesis de estos compuestos no fue aleatoria sino más bien implicada dentro del marco teórico de nuestra hipótesis, debido a que el patrón de sustitución en el anillo aromático de estas moléculas se ajusta perfectamente a este marco. Por último contribuyó de manera inesperada a la discusión farmacológica que se esperaba realizar.

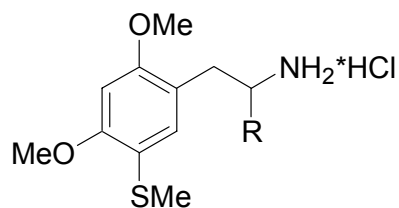


Figura 15: Estructura química de los derivados del Grupo VII

Tabla VII. Patrón de sustitución de los compuestos correspondientes al grupo VII.

Grupo VII	R
5-MeSFEA	H
5-MeSANF	CH_3

Ruta sintética para la obtención de 5-MeSFEA y 5-MeSANF.

Se tenían ciertos antecedentes³⁸ que nos hacían pensar que la reacción entre 1,3-dimetoxi-5-clorobenceno y dimetilsulfuro conduciría a la formación de 1,3-dimetoxi-5-metiltiobenceno. No obstante esta información, el producto obtenido en reiterados intentos con un rendimiento en torno al 80% fue el 1,3-dimetoxi-4-metiltiobenceno (**b**) como se muestra en la figura 16. Gracias a ello se buscó y se encontró un nuevo camino no descrito anteriormente en la literatura para la síntesis en un paso del compuesto (**b**), utilizando Me_2S como agente dador del grupo metiltio y LDA como base responsable de la formación de un intermediario bencino. Existe en la literatura³⁹ una metodología utilizando 5 pasos para la obtención del compuesto (**b**).

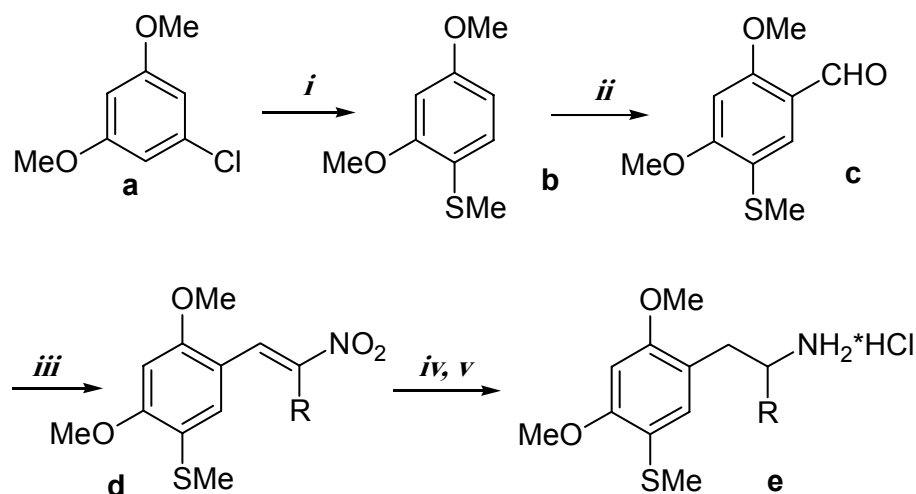


Figura 16: Resumen de la ruta sintética para la obtención de los compuestos del grupo VII.

Reactivos y condiciones i) $\text{Me}_2\text{S}/\text{LDA}$ ($-10\text{ }^\circ\text{C}$); ii) POCl_3/n -metilformanilida; iii) $\text{RNO}_2/\text{Base}/\text{Reflujo}$; iv) $\text{LiAlH}_4/\text{THF}/\text{Reflujo}$; v) HCl

La primera reacción en nuestra ruta sintética corresponde a la formación clásica de un bencino como se muestra en la figura 17, en donde la eliminación del cloro es mediada a través de la sustracción de un protón del anillo aromático por LDA.

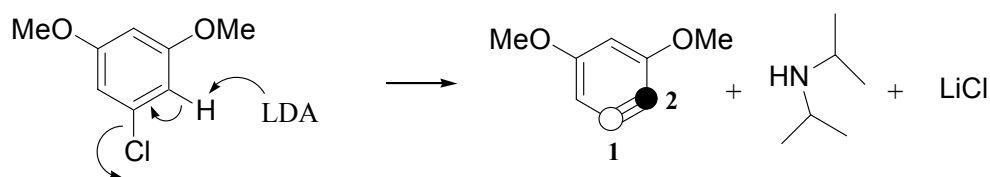


Figura 17: mecanismo de formación del bencino con LDA

Con el objeto de intentar una predicción de la regioquímica de la reacción, se realizaron cálculos mecánico cuánticos al nivel B3LYP/6-31G* utilizando el programa *Gaussian98*. El análisis de la estructura electrónica reveló que el carbono 1 posee un menor carácter electronegativo respecto del carbono 2. Más aún, un análisis topológico de localización de la densidad electrónica realizado sobre el 1,3-dimetoxi-5-clorobenceno muestra que la posición 2 concentra una alta densidad de carga, representada por la región azul oscura en torno a este sitio (figura 18). Por lo tanto, se puede deducir que el carbono 1 debería ser más susceptible a un ataque nucleofílico por el Me_2S .

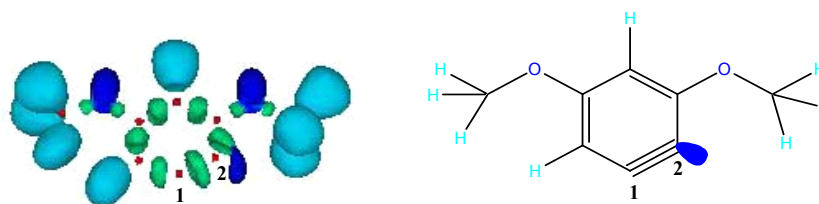


Figura 18: izquierda, densidad electrónica calculada con B3LYP/6-31G*; derecha, bencino demostrativo

Sin embargo, los resultados experimentales mostraron lo contrario. Esto quiere decir que la adición del nucleófilo Me_2S se realizó en la posición 2. Para explicar este inesperado fenómeno se ha propuesto el siguiente mecanismo que toma en cuenta la distribución de cargas del intermediario:

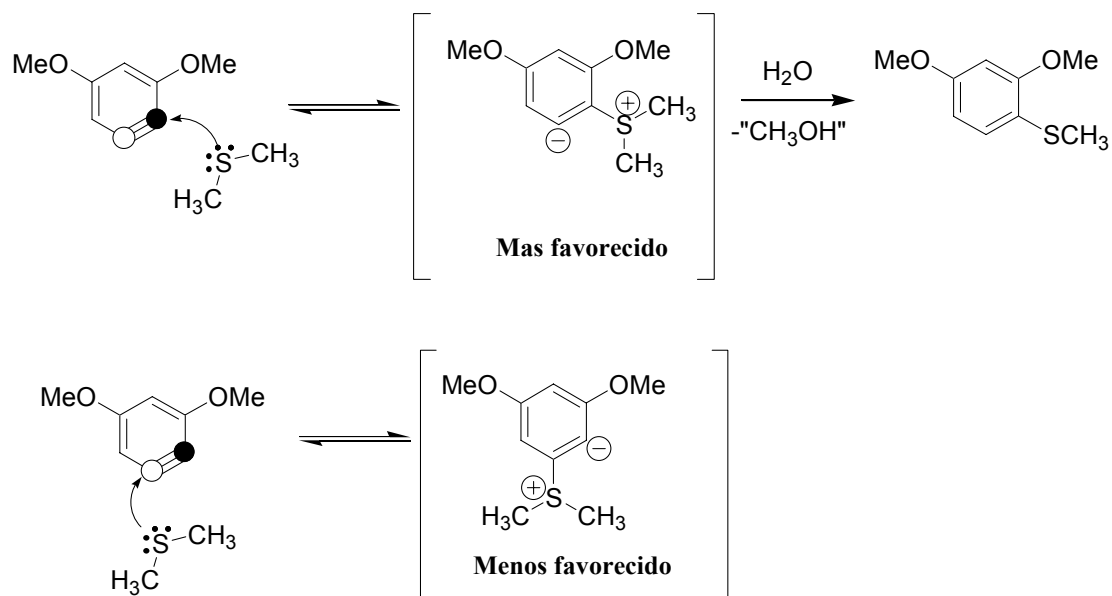


Figura 19: mecanismo propuesto para la formación del 2,4-dimetoxitioanisol

Se ha propuesto que el Me_2S ataca en la posición *orto* porque el intermediario formado está más favorecido en términos de estabilización de carga. Esta estabilización de carga es debida a la habilidad de los grupos metoxilos para transferir densidad electrónica a las posiciones *orto* y *para*, estabilizando así la carga positiva en el azufre (figura 19, molécula más favorecida) y desestabilizando una posible carga formal negativa sobre el anillo aromático en esta misma posición (figura 19, molécula menos favorecida). Aunque no se han estudiado en detalle los productos laterales de esta reacción, parece congruente que el desplazamiento de uno de los grupos metilo en el azufre se produce por el ataque de una molécula de agua formando metanol.

Las subsecuentes reacciones para la formación de los productos finales siguieron rutas ya descritas con anterioridad.

Familia 2,4,6

La próxima serie corresponde a los compuestos con variados sustituyentes en las posiciones 2,4,6 del anillo aromático, principalmente con cloro, metiltilio, etiltio y metoxilo. Uno de los compuestos más interesantes desde el punto de vista bioquímico fue el 1-(2-cloro-4,6-dimetoxifenil)-2-aminopropano (2-cloro).

Tabla VIII. Patrón de sustitución de los compuestos correspondientes al grupo VIII.

Grupo VIII	R ₁	R ₂	R ₃
2,4,6-MeSFEA	SCH ₃	OCH ₃	H
2,4,6-EtSFEA	SC ₂ H ₅	OCH ₃	H
2,4,6-MeSANF	SCH ₃	OCH ₃	CH ₃
2,4,6-EtSANF	SC ₂ H ₅	OCH ₃	CH ₃
2,4,6-MeO	OCH ₃	OCH ₃	CH ₃
2-cloro	OCH ₃	Cl	CH ₃
6-MeSFEA	OCH ₃	SCH ₃	H
6-MeSANF	OCH ₃	SCH ₃	CH ₃

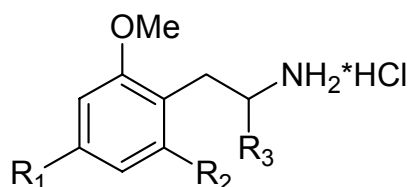


Figura 20: Estructura química de los derivados del Grupo VIII

Ruta sintética para la obtención de derivados 2,4,6

Esta serie nos planteó un acertijo químico que, con mucha dificultad, y después de largo tiempo fue resuelto con éxito. Las rutas fallidas, que se mostrarán más adelante, nos demuestran un aspecto de la química de mucho interés, como lo es la regioselectividad de algunas reacciones, así como también la dudosa credibilidad de algunas bibliografías.

Al comenzar este trabajo de tesis se tenían ciertos antecedentes³⁸ que nos hicieron pensar que la obtención de los productos finales con patrón de sustitución 2,4,6 podría haber procedido como se muestra a continuación (figura 21).

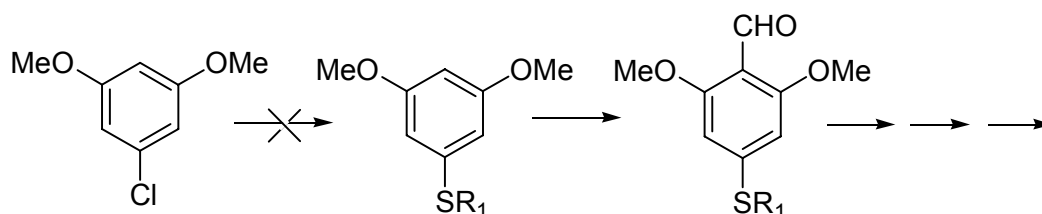


Figura 21: Ruta fallida propuesta inicialmente para la síntesis de los compuestos del Grupo VIII

Sin embargo, debido a que la reacción de sustitución inicial propuesta, que se muestra en la figura 21, no generó el producto deseado, sino más bien se obtuvieron los productos del Grupo VII, fue necesario buscar rutas sintéticas alternativas para la preparación de los correspondientes intermediarios. Se barajaron varias alternativas hasta que finalmente después de muchos esfuerzos sintéticos se logró llegar a los 5-alkiltio-1,3-dimetoxibencenos (**F**), de acuerdo a la ruta descrita en la primera parte de la figura 22.

Se comenzó esta síntesis con la metilación del floroglucinol (**A**) disuelto en MeOH y tratado con H₂SO₄, con lo cual se obtuvo los tres productos de alquilación esperados. Una vez separados éstos, se pudo demostrar que el producto mayoritario fue el dialquilado deseado (**B**).

Esta reacción podría pasar desapercibida, ya que a primera vista no reviste ninguna singularidad. No obstante, al inicio de la síntesis se contaba con al menos 3 referencias⁴¹⁻⁴³ dando cuenta de rendimientos cercanos al 100% utilizando floroglucinol, base y Me₂SO₄ como agente alquilante, lo cual parecería obvio si pensamos que el alcohol podría fácilmente ser desprotonado con base y posteriormente alquilado. Después de varios intentos sin obtener ningún resultado positivo, se decidió cambiar el plan de acción, trabajando esta etapa sintética en medio ácido en vez de un medio

básico, gracias a lo cual se pudieron obtener rendimientos de alrededor de 50% para el compuesto dialquilado.(B)

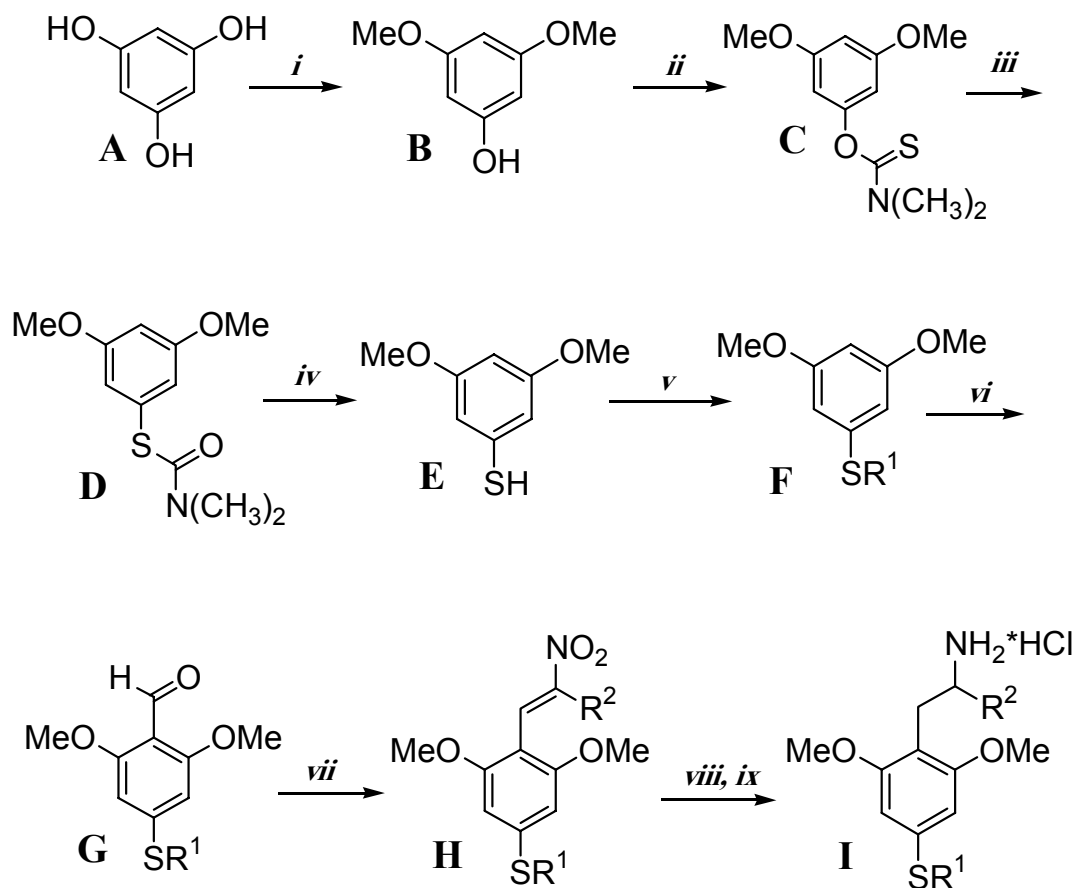


Figura 22: Resumen de la ruta sintética para la obtención de los compuestos de la Tabla VIII.

Reactivos y condiciones: i) MeOH/H₂SO₄/Reflujo; ii) NaH/(CH₃)₂NC(S)Cl (~60 °C);

iii) ~300 °C/6-8 horas; iv) KOH/MeOH/Reflujo; v) R¹X/KOH (~60 °C);

vi) *n*-BuLi/TMEDA/DMF; vii) R²NO₂/Base/Reflujo; viii) LiAlH₄/THF/Reflujo; ix) HCl

Este resultado puede ser explicado tomando en cuenta la considerable evidencia que muestra que el floroglucinol reacciona en muchos casos como un ceto-tautómero⁴⁴. El hecho de que el mono y el di éter se formen en la reacción de alcoholes con floroglucinol en presencia de ácido clorhídrico, indica que es la forma ceto la especie que reacciona en este caso particular. Esto podría ser la explicación de nuestro

infructuoso primer intento tratando floroglucinol en solución alcalina caliente. Todavía no queda claro como algunos autores, como los mencionados anteriormente, pudieron obtener rendimientos cercanos al 100% utilizando estas condiciones. Se propone que la reacción procede a través del intermediario hemiacetal de acuerdo a la figura 23:

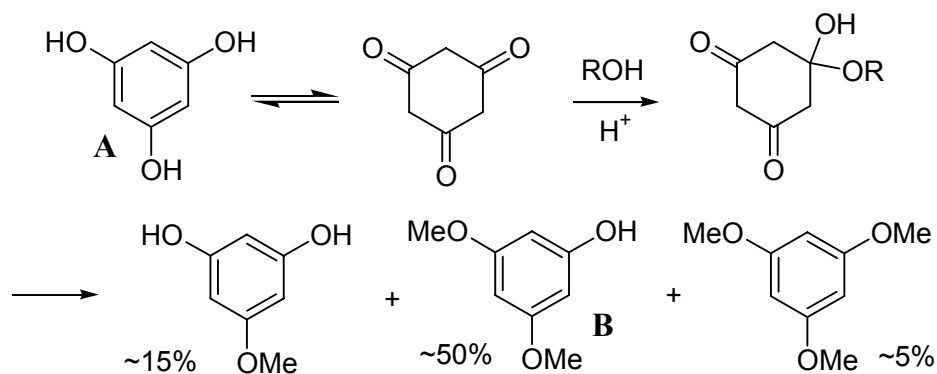


Figura 23: Mecanismo de reacción para la formación de 3,5-dimetoxifenol

La formación del correspondiente fenóxido de sodio con NaH y posterior adición de cloruro de dimetiltiocarbamoilo en DMF generó como producto el *O*-(3,5-dimetoxifenil)-dimetiltiocarbamato (C)⁴⁵.

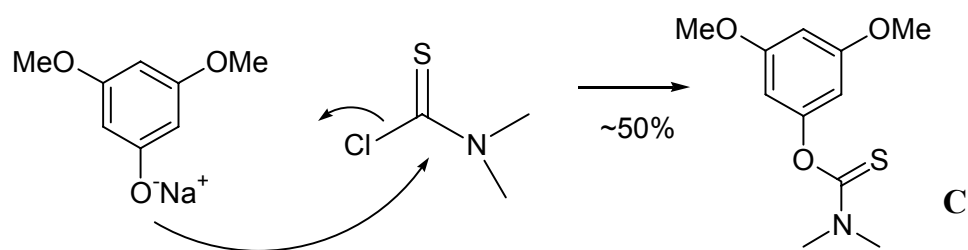


Figura 24: Formación de *O*-(3,5-dimetoxifenil)-dimetiltiocarbamato

El paso clave siguiente fue el rearrreglo térmico de Newman-Kwart^{46;47} del compuesto anterior para dar el isómero *S*-(3,5-dimetoxifenil)-dimetiltiocarbamato (D). Se observó que el espectro de ¹H-RMN para el compuesto reaccionante muestra dos singuletes cuya integración corresponde a 3H para cada uno, muy bien resueltos, que se

asignan a los grupos *N*-metilos, mientras que el producto muestra este mismo grupo como un único pico agudo que integra a 6H, corrido a campos más altos que el doblete inicial. Esto se atribuiría a la diferencia en la barrera de energía de rotación del grupo *N,N*-dimetilo, la cual es más alta en el caso del reactante, donde este grupo está impedido estéricamente, implicando así una inequivalencia química de los grupos metilos. Este fenómeno nos proporcionó un método relativamente simple para distinguir ambos compuestos.

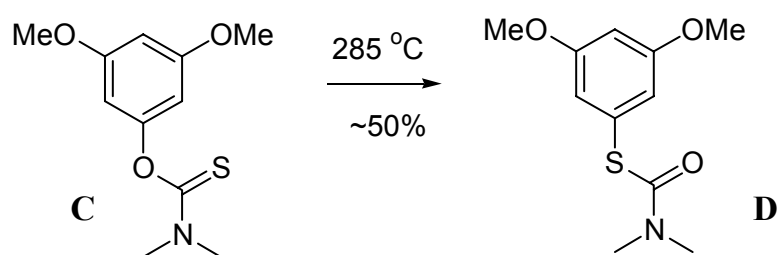


Figura 25: Formación de *S*-(3,5-dimetoxifenil)-dimetiltiocarbamato

El compuesto **(D)** fue posteriormente hidrolizado a reflujo con KOH en MeOH, obteniéndose finalmente el tiol deseado **(E)** como producto en un 95 % de rendimiento. Las subsecuentes alquilaciones fueron llevadas a cabo con los correspondientes halogenuros de alquilo y base para generar los 5-alkiltio-1,3-dimetoxibencenos **(F)** deseados, compuestos singularmente difíciles de obtener ya que tienen un patrón de sustitución aromático poco usual.

Después de haber logrado la síntesis de **(F)** se pensó que el dilema estaba resuelto y que el siguiente paso, la formilación en la posición deseada, vale decir entre los grupos metoxilos, no revestiría mayor problema. Al respecto se pensó que el azufre sería mejor director *para* en este caso, debido al mayor efecto estérico producido por ser el átomo más voluminoso.

Sin embargo, en esta etapa nuevamente se presentó un desafío químico importante, debido a que todas las reacciones de formilación practicadas a esta molécula: de Vilsmeier (con *N*-metilformanilida y POCl₃); con Cl₂CHOMe y SnCl₄; con *n*-BuLi/DMF, generaban única o mayoritariamente el producto no deseado, es decir, con

el grupo aldehído en la posición incorrecta, entre uno de los grupos metoxilo y el grupo alquiltio, como se muestra a continuación en la figura 26.

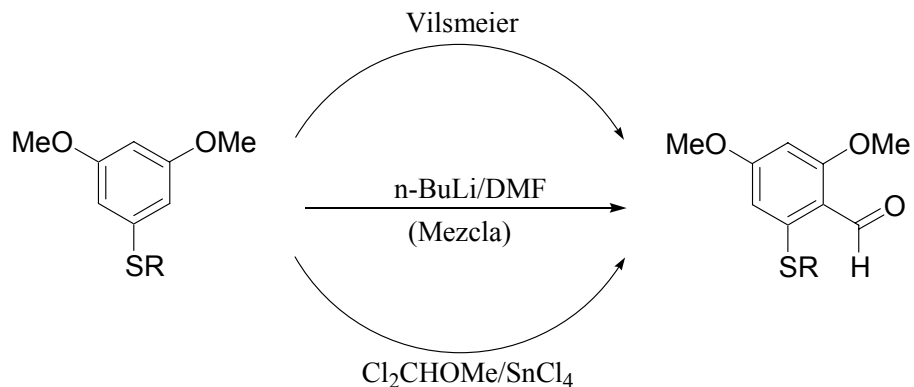


Figura 26: Rutas emprendidas en la formilación de 1,3-dimetoxi-5-alquiltiobenceno

Finalmente este problema fue resuelto utilizando una reacción de litación regioselectiva (*n*-BuLi) en presencia del catalizador TMEDA y posterior formilación con DMF, como se muestra en la figura 27, alcanzándose rendimientos de hasta un 80% en el caso del 2,6-dimetoxi-4-etiltiobenzaldehído. Luego se utilizó nuevamente la condensación de Knoevenagel para obtener los arilnitroalquenos deseados (**H**), los que fueron reducidos con LiAlH_4 e inmediatamente utilizados para la formación de sus clorhidratos (**I**).

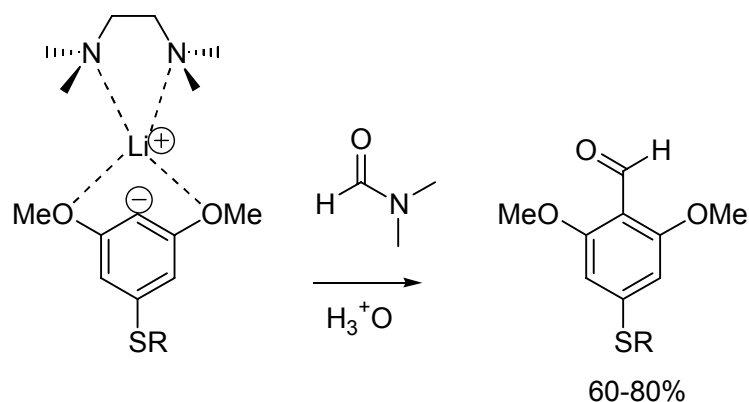


Figura 27: Formilación del 3,5-dimetoxi-alquiltiobenceno

Otros compuestos del patrón 2,4,6

La síntesis de los compuestos restantes del Grupo VIII que se muestran en la figura 28, comenzó con la formilación clásica utilizando la reacción de Vilsmeier de los correspondientes sustratos: 1,3-dimetoxi-5-clorobenceno, 1,3,5-trimetoxibenceno y 1,3-dimetoxi-5-metiltiobenceno. La condensación de estos sustratos con el nitroalcano correspondiente y posterior reducción con LiAlH_4 generaron las aminas, las que fueron inmediatamente convertidas en sus respectivos clorhidratos para ser almacenadas y para los ensayos bioquímicos. Un resumen de la ruta sintética empleada se muestra en la figura 28.

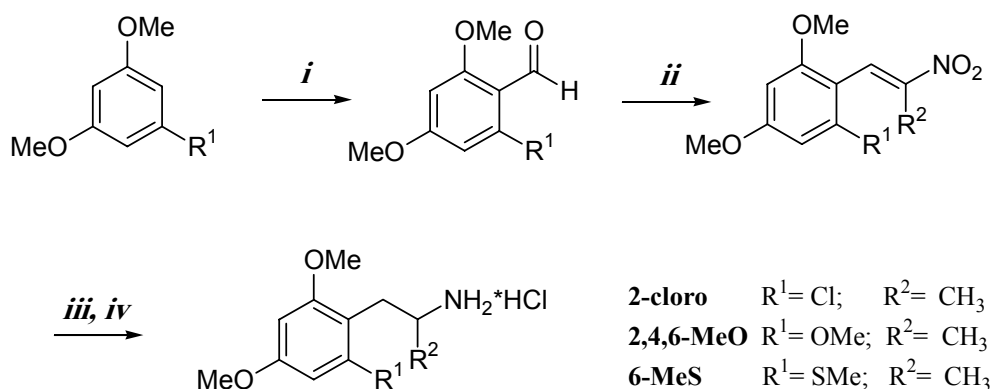


Figura 28: Ruta sintética para obtener los compuestos 2-cloro, 2,4,6-MeO y 6-MeS

Reactivos y condiciones: i) Vilsmeier; ii) $\text{R}^2\text{CH}_2\text{NO}_2/\text{Base}/\text{Reflujo}$; iii) $\text{LiAlH}_4/\text{Et}_2\text{O}/\text{Reflujo}$; iv) $\text{HCl}/\text{Et}_2\text{O}$

4-metiltiofenilpropilamina (PrNH₂)

La figura 29 muestra la ruta utilizada para preparar el compuesto PrNH₂, comenzando desde 4-metiltio benzaldehído. La reacción de condensación fue una variación de un método publicado⁴⁸, para la síntesis de 4-metoxicinamonitrilo (**1**). La condensación entre el aldehído y el acetonitrilo catalizada por KOH en polvo, proporcionó una mezcla en la proporción 4:1 de *trans*:*cis* del compuesto 4-metiltiocinamonitrilo, el cual fue utilizado sin previa separación de los isómeros. Aunque existen un par de referencias para la síntesis del intermediario (**1**) por otras metodologías^{49;50}, la simplicidad y el bajo costo del método elegido prevaleció finalmente sobre las otras rutas. No se obtuvo el producto (**2**) directamente de la reducción del compuesto **1** por LiAlH₄ y por lo tanto se debió usar una secuencia de dos pasos utilizando NaBH₄ y LiAlH₄ sucesivamente, obteniéndose el compuesto PrNH₂ (*via* **2**) con muy buen rendimiento global.

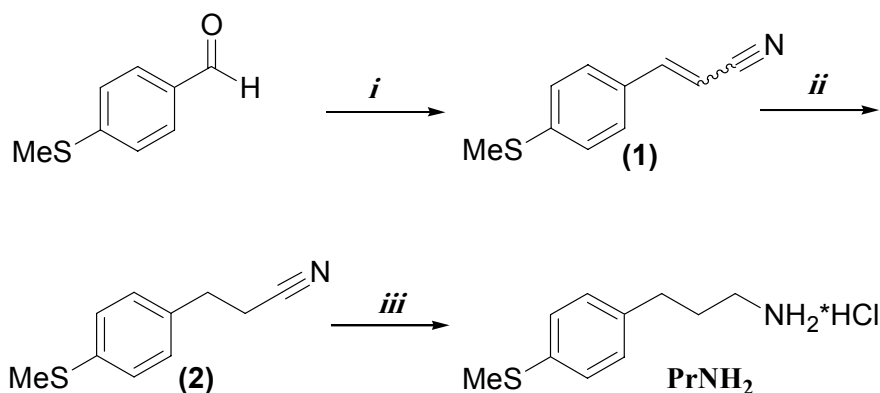


Figura 29: Ruta sintética para obtener el 4-metiltiofenilpropilamina (PrNH₂)

Reactivos y condiciones: (i) KOH, MeCN, reflujo; (ii) NaBH₄, MeOH, py, reflujo; (iii) a. LiAlH₄, THF, reflujo; b. HCl, IPA, Et₂O.

BIOQUIMICA

Familia 2,4,5

Gracias a la síntesis y evaluación de algunos de estos compuestos, se logró obtener una preciada serie sistemática que nos entregó valiosa información, con respecto a la relación entre la estructura química y su actividad como inhibidores de la MAO (A y B). En la tabla siguiente se muestran los resultados de los ensayos bioquímicos correspondientes a los compuestos del Grupo III, cuyo esqueleto representa el patrón de amfetamina, que como ya vimos en la figura 5, se diferencia de la feniletilamina por la adición de un grupo metilo en el carbono alfa (C- α metilo)

Tabla IX. Valores de IC₅₀ de MAO A y B para los compuestos del grupo III. Las cifras en paréntesis son datos de literatura³³, NE= sin efecto

Grupo III	IC ₅₀ (MAO-A), μM	IC ₅₀ (MAO-B), μM
MeSANF	5.25 \pm 0.80 (5.13)	NE(NE)
EtSANF	3.83 \pm 0.20 (3.23)	NE(NE)
<i>n</i> -PrSANF	2.45 \pm 0.50	>100
<i>n</i> -BuSANF	2.94 \pm 0.60	>100
<i>n</i> -PnSANF	14.35 \pm 0.54	>100
<i>i</i> -PrSANF	27.29 \pm 1.20	NE
FeEtSANF	108.56 \pm 10.35	>100

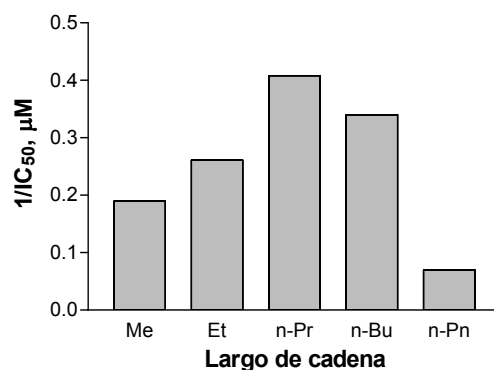


Figura 30: Influencia del largo de la cadena lineal de carbonos unida al azufre en *para* sobre la inhibición de la MAO-A.

Como se observa en la figura 30, las relaciones estructura actividad de los compuestos del grupo III, que contienen el esqueleto de anfetamina, muestran que a medida que aumenta el largo lineal de la cadena de carbonos unida al azufre en posición *para*, también se produce un aumento en la actividad como inhibidores de la MAO-A. Este aumento en la actividad como inhibidores de la MAO-A se ve representado por la disminución en los valores de IC_{50} (mientras menor es el valor de IC_{50} de un compuesto, este es considerado un IMAO-A más “potente”)

Por otro lado, el largo ideal de esta cadena alquílica correspondió finalmente al *n*-propilo y al *n*-butilo. No obstante la inexistencia de datos cristalográficos de la enzima, este resultado podría ser explicado en términos del aumento en la lipofilia del sustituyente unido al azufre y/o por una mejor interacción “estérica” entre estos compuestos y el sitio de unión con la enzima. Sustituyentes con cadenas de carbono lineales más largas producen una disminución en la actividad inhibidora de la MAO-A. Esto muestra por qué no fue necesario seguir sintetizando compuestos con cadenas lineales más largas.

En la tabla IX se muestran también los resultados de IC_{50} para los compuestos con los sustituyentes *iso*-propilo y 2-feniletilo. Los bajos valores de inhibición (altos valores de IC_{50}) arrojados por estos compuestos podrían ser explicados principalmente por el gran efecto estérico de los sustituyentes en *para*. Es interesante notar, que la enzima puede acomodar sustituyentes tan largos como *n*-butilo (lineal) sin que disminuya apreciablemente la potencia. Esto sugiere, que la enzima tiene una baja tolerancia hacia sustituyentes ramificados.

Por último, ninguna de estas moléculas actuó como inhibidor de la MAO-B (NE = sin efecto), al menos en un rango de concentraciones que las haga interesantes como potenciales fármacos (<100 μ M).

***El aumento lineal del tamaño de la cadena alquílica en posición para de los derivados de anfetamina incrementa la actividad inhibitoria de las moléculas sobre la MAO-A.
El efecto máximo se logra cuando el sustituyente es n-propilto***

Como se observa en la tabla X, al aumentar el volumen de la cadena lateral amina, en otras palabras al sustituir el grupo metilo en el carbono alfa de la anfetamina por un etilo (C- α etilo), la actividad como inhibidores de la MAO-A disminuyó en comparación de sus contrapartes anfetaminas (tabla IX).

Este efecto de pérdida de potencia se observó en todos los casos, especialmente al comparar el compuesto MeS α Et con un IC₅₀ de 30.90 μ M (menos potente) versus el compuesto MeSANF con un IC₅₀ de 5.25 μ M (más potente), la actividad IMAO-A disminuyó 6 veces. De igual forma que en la tabla IX los valores de IC₅₀ disminuyeron (lo que implica un aumento en la potencia) en relación al largo del sustituyente alquiltio en posición *para*, con *n*-propilo siendo nuevamente el más potente. Estos compuestos tampoco mostraron efecto como inhibidores de la MAO-B.

Tabla X. Valores de IC₅₀ de MAO A y B para los compuestos del grupo V.

Grupo V	IC₅₀ (MAO-A), μM	IC₅₀ (MAO-B), μM
MeSαEt	30.90 \pm 1.70	NE
EtSαEt	11.79 \pm 2.13	NE
<i>n</i>-PrSαEt	7.65 \pm 1.24	>100

El aumento en el volumen del sustituyente sobre el carbono α de la cadena lateral, induce una disminución en la actividad inhibitoria de las moléculas sobre la MAO-A.

En la tabla XI, se muestran los valores de IC₅₀ de los compuestos correspondientes a los grupos IV y VI. Los resultados indican que para el caso de estos compuestos la metilación del grupo amina terminal induce un incremento de la potencia como IMAO-A. En el caso de los compuestos de grupo IV, la actividad inhibitoria aumentó hasta 7 veces, en comparación con sus contrapartes no *N*-metiladas (*n*-PrANF =

2.45 μM , *n*-PrANFNMe = 0.36 μM). De la misma forma, la actividad de los compuestos del grupo VI, aumentó en el mismo rango en comparación con aquellos del grupo IV (*n*-PrSaEt = 7.65 μM , *n*-PrSaEtNMe = 1.40 μM).

Estos resultados son muy interesantes ya que representan una tendencia opuesta a la que se ha observado en los valores de IMAO-A, respecto de la *N*-sustitución en otros derivados de anfetaminas^{33,70,71}. Por ejemplo, como se observa en la figura 31, el compuesto NMMTA (*N*-metil-4-metiltiofenilisopropilamina) tiene un IC_{50} de 0.86 μM lo que refleja una disminución apreciable de la potencia en comparación con su análogo no *N*-metilado MTA, con un IC_{50} de 0.25 μM (Reyes-Parada, M.; comunicación personal).

Otra diferencia notable se observa al comparar la pareja MDA (3,4-metilendioxi-anfetamina) con un IC_{50} de 9.3 μM versus MDMA (*N*-metil-3,4-metilendioxi-anfetamina) con un IC_{50} de 30 μM ⁽³³⁾.

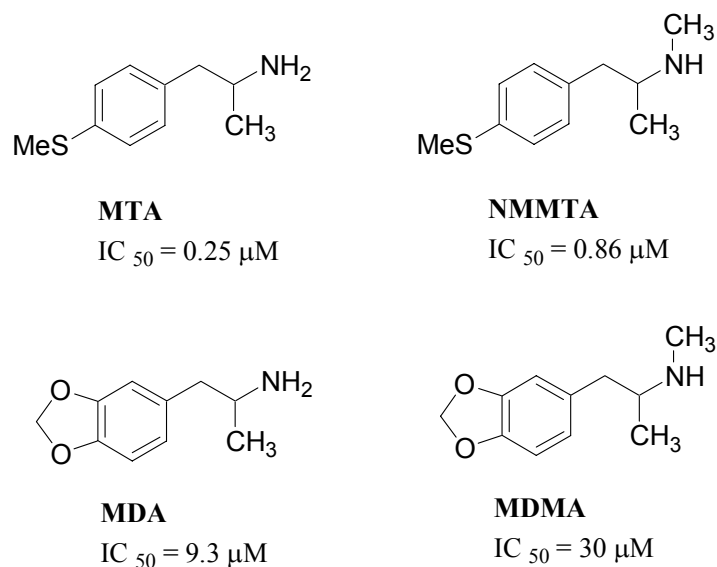


Figura 31: Comparación de valores de IC_{50} para moléculas con distintos patrones de sustitución.

No se tiene evidencia de por qué se observa esta diferencia entre los compuestos de la familia 2,4,5 y aquellos con otros patrones de sustitución en el anillo aromático, pero podría sugerirse que la forma de unión de los compuestos “más sustituidos” se

produce de una manera distinta. Estos grupos de moléculas (IV y VI) tampoco mostraron una actividad interesante en cuanto a la inhibición de MAO-B.

Tabla XI. Valores de IC_{50} de MAO A y B para los compuestos del grupo V.

Grupos IV y VI	IC_{50} (MAO-A), μM	IC_{50} (MAO-B), μM
MeSANFNMe	1.86 \pm 0.24	NE
EtSANFNMe	1.44 \pm 0.07	NE
<i>n</i>-PrSANFNMe	0.36 \pm 0.03	>100
MeSαEtNMe	15.55 \pm 1.39	NE
EtSαEtNMe	4.5 \pm 0.90	NE
<i>n</i>-PrSαEtNMe	1.40 \pm 0.08	>100

En los compuestos con patrón de sustitución 2,4,5 la N-metilación aumenta la actividad IMAO-A.

Familia 2,4,6

En la tabla XII se muestran los resultados correspondientes a algunos de los compuestos del grupo VIII. En este grupo aparecieron los más potentes inhibidores encontrados en este trabajo.

Tabla XII. Valores de IC₅₀ de MAO A y B para algunos de los compuestos del grupo VIII.

Grupo VIII	IC ₅₀ (MAO-A), μM	IC ₅₀ (MAO-B), μM
2,4,6-MeSANF	0.32 ± 0.045	>100
2,4,6-EtSANF	0.082 ± 0.002	NE
2,4,6-MeO	0.46 ± 0.08	>100
2-cloro	0.071 ± 0.013	NE

La primera consecuencia después de mirar los datos de la tabla XII es que definitivamente el patrón de sustitución aromática 2,4,6 juega un rol esencial en la diferencia entre los valores de IC₅₀ correspondiente a este grupo, comparado con los compuestos con patrón de sustitución 2,4,5 (tabla IX).

Otro factor a considerar es que al parecer el grupo 2,4,6 sigue la misma tendencia del 2,4,5 con respecto a la sustitución en *para*, esto es, cadenas lineales más largas que un carbono son mejores inhibidores. En este grupo VIII el compuesto con el grupo en *para* 4-etiltio es 4 veces más potente que el 4-metiltio y se podría esperar, por lo tanto, que la potencia del compuesto 4-*n*-propiltio fuera aún mayor. Un trabajo futuro definitivamente contemplaría la síntesis de análogos con el grupo *n*-propiltio en posición *para*, un sustituyente cloro en *orto* y probablemente un grupo *N*-metilo.

El patrón de sustitución 2,4,6 aumenta en forma importante la potencia IMAO-A en comparación a la familia 2,4,5.

En la figura siguiente se muestran algunos valores de IC_{50} correspondientes a compuestos sintetizados en este trabajo y se incluye el valor de IC_{50} del compuesto TMA-2 obtenido de literatura³³.

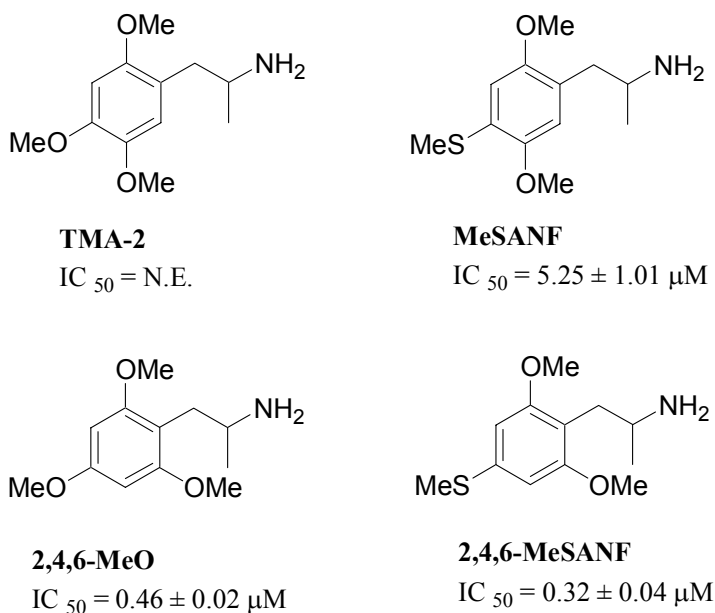


Figura 32: Comparación de valores de IC_{50} para moléculas con distintos patrones de sustitución. N.E.= sin efecto

De la figura 32 lo primero que podemos observar es que la potencia IMAO-A aumenta al cambiar un átomo de oxígeno unido al anillo aromático en posición *para*, con un átomo de azufre. Esta diferencia es aún mas drástica en compuestos de la familia 2,4,5. Un muy buen ejemplo lo constituyen la dupla entre TMA-2 y MeSANF, en el caso del primer compuesto no hay inhibición de la MAO-A, en cambio al sustituir el metoxilo por un metiltio en *para* el valor de IC_{50} aparece en el rango micromolar ($IC_{50} = 5.25 \mu\text{M}$). Lo segundo que se observa de la figura 32 es que el patrón de sustitución 2,4,6 es mucho mejor en términos de actividad inhibitoria de la MAO-A en comparación del patrón de sustitución 2,4,5 encontrándose valores de IC_{50} en el rango nanomolar inclusive.

Estos resultados están de acuerdo con estudios que han indicado que la potencia como IMAO-A disminuye cuando existen sustituyentes en posiciones adyacentes al

sustituyente en posición *para*³³. No obstante, este trabajo demuestra que sustituciones en posiciones más alejadas del grupo en *para* no disminuyen la potencia.

Además, si agregamos al análisis anterior datos de relación estructura actividad de algunos de los compuestos anteriores (figura 32) con la molécula *para* monosustituida MTA (figura 31) podemos observar que al agregar grupos metoxilos en posición 2,5 (MeSANF) sobre el anillo aromático la potencia disminuye 20 veces, no así si estos mismos grupos metoxilos están ubicados en posiciones más alejadas del sustituyente en *para* (2,4,6-MeS) donde la potencia se mantiene.

Estos resultados abren todo un espectro de nuevas posibilidades desde el punto de vista de modificaciones estructurales (en posiciones 2 y 6) orientadas a aumentar la potencia y/o selectividad de nuevos compuestos. Así por ejemplo el compuesto 2-cloro-4,6-dimetoxi-anfetamina (2-cloro) resultó ser el más potente de los inhibidores evaluados, siendo además el más potente inhibidor selectivo y reversible de MAO-A que se registra hasta ahora la literatura científica.

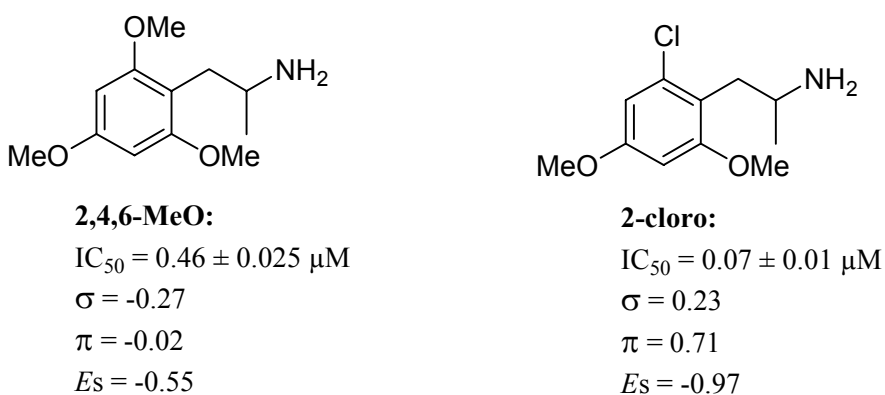


Figura 33: Comparación de los valores experimentales IC_{50} , parámetros σ de Hammett, π de Hansch y E_s de Taft para las moléculas 2,4,6-MeO y 2-cloro

Este importante aumento en la potencia de la molécula 2-cloro se trata de explicar haciendo una comparación de sus propiedades fisicoquímicas con respecto a su análogo no halogenado 2,4,6-MeO. Como se muestra en la figura 33 y según los valores del parámetro σ de Hammett, que corresponde al efecto electrónico del sustituyente ($\sigma > 0$ = atractor; $\sigma < 0$ = dador) y el parámetro π de Hansch, que corresponde a la lipofilia del sustituyente ($\pi > 0$ = hidrofóbico; $\pi < 0$ = hidrofílico). El átomo de cloro es entonces

un sustituyente atractor de electrones y bastante hidrofóbico en comparación con el grupo metoxilo, que según estos parámetros es un dador de electrones e hidrofílico. Además si comparamos los volúmenes de ambos sustituyentes según el parámetro de volumen de Taft (E_s) el sustituyente cloro es más voluminoso que el metoxilo. Todos estos parámetros están referidos al hidrógeno como cero en todos los casos.

Estas son algunas de las características del átomo de cloro que podrían favorecer la interacción de este compuesto con el sitio activo de la enzima, dado que el compuesto 2-cloro es casi 7 veces más potente que el 2,4,6-MeO.

La potencia IMAO-A entre los compuestos con patrón de sustitución 2,4,6 es equivalente a sus análogos monosustituídos en posición para, pero la potencia disminuye en comparación a la familia 2,4,5.

Compuesto PrNH₂

En la tabla XXIV se muestran los resultados correspondientes a los experimentos de inhibición del compuesto PrNH₂ con MAO-A y MAO-B.

Tabla XXIV. Valores de IC₅₀ de MAO (A y B) para el compuesto PrNH₂.

	IC ₅₀ (MAO-A), μM	IC ₅₀ (MAO-B), μM
PrNH₂	1.80 ± 0.30	>100

La buena capacidad inhibidora de MAO-A mostrada por este compuesto deja de manifiesto la capacidad para acomodar cadenas laterales amínicas más largas de lo normal, en comparación con la feniletilamina que sólo cuenta con dos carbonos entre el anillo aromático y el grupo amina terminal. Una vez más sorprende la versatilidad del sitio de unión de la enzima.

Determinación de la reversibilidad en la inhibición de la enzima.

La tabla XIII muestra los resultados de reversibilidad en la inhibición de la MAO-A para algunas moléculas representativas. La inhibición de MAO-A después de preincubar 10 minutos con los compuestos fue en todos los casos revertida completamente después de tres lavados de la preparación. Esto significa que las familias de compuestos utilizados corresponderían al tipo de inhibidor reversible. El efecto de la *clorgilina* (IIMAO-A) seguía presente después de al menos 3 o 4 lavados.

Tabla XIII. Resultados de reversibilidad de algunos compuestos representativos.

Compuesto [M]	% INHIBICIÓN	
	ANTES DE LAVAR	DESPUÉS DE LAVAR
Clorgilina [10 ⁻⁴]	100 %	100 %
MTA [10 ⁻⁷]	48 %	0 %
2,4,6-EtSANF [10 ⁻⁷]	30 %	0 %
n-PrSANF [10 ⁻⁷]	20 %	0 %
2-cloro [10 ⁻⁷]	58 %	0 %
PrNH₂ [10 ⁻⁵]	75 %	0 %

Efecto de la preincubación de la enzima con el inhibidor.

La tabla XIV muestra los efectos de la preincubación entre la MAO-A y algunos inhibidores a 0 y 30 minutos. Todos los compuestos inhibieron la actividad enzimática independientemente del tiempo, ya que el grado de inhibición se mantuvo relativamente constante incluso después de 30 minutos. Este resultado indica que la inhibición de MAO-A por estos compuestos no es dependiente del tiempo, corroborando así, que los compuestos aquí probados son inhibidores reversibles de MAO-A. En el caso de la *clorgilina* como se esperaba para un inhibidor irreversible, la inhibición observada

después de 30 minutos de incubación fue significativamente mayor que aquella observada sin preincubación.

Tabla XIV. Resultados de experimentos de preincubación para algunos compuestos representativos

Compuesto	% DE INHIBICIÓN MAO-A TIEMPO DE PREINCUBACIÓN (min)	
	0	30
Clorgilina [10 ⁻⁷]	17.9 ± 0.2	75.0 ± 4.0
MTA [10 ⁻⁷]	42.2 ± 8.3	66.1 ± 5.1
2,4,6-EtSANF [10 ⁻⁷]	23.7 ± 5.2	33.0 ± 3.2
<i>n</i> -PrSANF [10 ⁻⁷]	15.7 ± 5.2	20.0 ± 3.8

Adicionalmente estos resultados mostraron que la inhibición no se debió a una competencia de sustratos, ya que los inhibidores no fueron metabolizados por la enzima, sino que los resultados fueron el fruto de una verdadera inhibición de la actividad enzimática. Este resultado fue corroborado utilizando el método espectrofotométrico para algunos compuestos representativos de todos los grupos (resultados no mostrados). Se realizaron ensayos utilizando una concentración de cada compuesto que correspondía a concentraciones representativas de los sustratos para cada isoforma de la MAO (A y B). En el caso de MAO-A se utilizó una concentración de 100 µM de cada compuesto (K_m de serotonina = 100 µM) y en el caso de MAO-B se utilizó una concentración de 300 µM (K_m de bencilamina = 300 µM). Los resultados mostraron que a estas concentraciones los compuestos estudiados no eran sustratos de la MAO a excepción de la PrNH₂ como veremos más adelante.

Resultados de los ensayos de afinidad utilizando radioligandos en receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C}.

Se ha reportado que algunos de los mejores candidatos como fármacos antidepresivos (además de las IMAO-A), también serían los agonistas o agonistas parciales del receptor 5-HT_{1A}. Por otro lado, se ha medido con prometedores resultados que modificaciones en la función de los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} producirían efectos como antidepresivos de largo plazo, reguladores de la temperatura, reguladores de las funciones sexuales y del sueño. Mas aún, se ha evaluado su acción contra los desórdenes obsesivos-compulsivos, y como antibulímicos⁵⁹.

Las tablas siguientes muestran los resultados de los ensayos de radioligandos aplicados a algunas de las moléculas estudiadas.

Tabla XV. Resultados de afinidad sobre los receptores de serotonina 1A, 2A y 2C de los compuestos del grupo I.

Grupo I	<i>K_i</i> 5-HT_{1A}, nM	<i>K_i</i> 5-HT_{2A}, nM	<i>K_i</i> 5-HT_{2C}, nM
MeSFEA	379 ± 36	73.6 ± 5.8	88.0 ± 5.5
EtSFEA	396 ± 63	18.7 ± 3.0	15.1 ± 1.9
<i>n</i>-PrSFEA	465 ± 12	12.8 ± 2.2	8.1 ± 0.8
<i>n</i>-BuSFEA	556 ± 7.5	11.5 ± 2.1	11.8 ± 0.7
<i>n</i>-PnSFEA	664 ± 82	2.1 ± 0.2	5.8 ± 0.4
<i>i</i>-PrSFEA	529 ± 35	67.8 ± 7.1	28.5 ± 3.6

Tabla XVI. Resultados de afinidad sobre los receptores de serotonina 1A, 2A y 2C de los compuestos del grupo II.

Grupo II	<i>K_i</i> 5-HT_{1A}, nM	<i>K_i</i> 5-HT_{2A}, nM	<i>K_i</i> 5-HT_{2C}, nM
MeSFEANMe	463 ± 22	400.6 ± 57.1	352.1 ± 52.1
EtSFEANMe	226 ± 5	187.6 ± 22.5	60.3 ± 3.8
<i>n</i>-PrSFEANMe	334 ± 35	98.4 ± 10.8	36.7 ± 5.6

Tabla XVII. Resultados de afinidad sobre los receptores de serotonina 1A, 2A y 2C de los compuestos del grupo III.

Grupo III	<i>K_i</i>5-HT_{1A}, nM	<i>K_i</i>5-HT_{2A}, nM	<i>K_i</i>5-HT_{2C}, nM
MeSANF	5762 ± 738	221.6 ± 28.7	97.5 ± 7.2
EtSANF	3956 ± 174	34.2 ± 3.4	24.2 ± 4.6
<i>n</i>-PrSANF	5235 ± 627	20.4 ± 3.4	9.1 ± 1.5
<i>n</i>-BuSANF	5767 ± 848	10.3 ± 1.7	18.2 ± 2.8
<i>n</i>-PnSANF	6570 ± 637	1.2 ± 0.2	6.5 ± 0.3
<i>i</i>-PrSANF	5844 ± 658	52.3 ± 6.8	62.5 ± 5.5
FeEtSANF	5691 ± 973	0.6 ± 0.1	3.6 ± 0.7

Tabla XVIII. Resultados de afinidad sobre los receptores de serotonina 1A, 2A y 2C de los compuestos del grupo IV.

Grupo IV	<i>K_i</i>5-HT_{1A}, nM	<i>K_i</i>5-HT_{2A}, nM	<i>K_i</i>5-HT_{2C}, nM
MeSANFNMe	6376 ± 371	772.9 ± 84.6	564.5 ± 9.4
EtSANFNMe	2256 ± 115	171.6 ± 18.0	170.9 ± 9.4
<i>n</i>-PrSANFNMe	3997 ± 126	149.2 ± 19.5	104.0 ± 14.5

Tabla XIX. Resultados de afinidad sobre los receptores de serotonina 1A, 2A y 2C de los compuestos del grupo V.

Grupo V	<i>K_i</i>5-HT_{1A}, nM	<i>K_i</i>5-HT_{2A}, nM	<i>K_i</i>5-HT_{2C}, nM
MeSaEt	5414 ± 489	492.7 ± 63.7	640.6 ± 82.2
EtSaEt	3344 ± 33.8	115.8 ± 12.8	109.0 ± 8.7
<i>n</i>-PrSaEt	3535 ± 550	69.3 ± 8.3	40.6 ± 6.0

Tabla XX. Resultados de afinidad sobre los receptores de serotonina 1A, 2A y 2C de los compuestos del grupo VI.

Grupo VI	<i>K_i</i> 5-HT_{1A}, nM	<i>K_i</i> 5-HT_{2A}, nM	<i>K_i</i> 5-HT_{2C}, nM
MeSaEtNMe	2560 ± 156	573.8 ± 37.0	1730 ± 70.3
EtSaEtNMe	1321 ± 69	225.6 ± 14.0	782.3 ± 104.2
<i>n</i>-PrSaEtNMe	1326 ± 67	137.6 ± 16.9	343.6 ± 30.8

Tabla XXI. Resultados de afinidad sobre los receptores de serotonina 1A, 2A y 2C de los compuestos del grupo VII.

Grupo VII	<i>K_i</i> 5-HT_{1A}, nM	<i>K_i</i> 5-HT_{2A}, nM	<i>K_i</i> 5-HT_{2C}, nM
5-MeFEA	679.3 ± 93.3	59.7 ± 6.6	94.5 ± 11.5
5-MeANF	6562.6 ± 790.8	84.0 ± 10.4	97.4 ± 10.9

Tabla XXII. Resultados de afinidad sobre los receptores de serotonina 1A, 2A y 2C para algunos de los compuestos del grupo VIII.

Grupo VIII	<i>K_i</i> 5-HT_{1A}, nM	<i>K_i</i> 5-HT_{2A}, nM	<i>K_i</i> 5-HT_{2C}, nM
2,4,6-MeSFEA	38.1 ± 5.8	84.2 ± 14	86.4 ± 4.1
2,4,6-EtSFEA	73.7 ± 3.0	32.0 ± 2.9	24.0 ± 1.4
2,4,6-MeSANF	1514 ± 160	74.3 ± 12.0	186.3 ± 31.7
2,4,6-EtSANF	1430 ± 98	35.9 ± 2.2	47.2 ± 7.7
6-MeSFEA	124.3 ± 10.8	332.0 ± 45.1	357.6 ± 44.5

Como se puede apreciar en las tablas anteriores, la afinidad de estos compuestos resultó ser bastante buena por estos receptores, estando todas ellas en el rango nanomolar y micromolar. Estos resultados están de acuerdo con algunos estudios que demuestran que derivados de feniletilaminas con similares patrones de sustitución son ligandos de estos receptores^{31,72}.

Las afinidades por el receptor 5-HT_{1A} son marcadamente mayores en las feniletilaminas con respecto a las fenilisopropilaminas y fenilisobutilaminas. Este aumento se observó especialmente en el patrón de sustitución 2,4,6. De acuerdo a lo observado, el grupo alquiltio preferentemente debe posicionarse en *para*, ya que al cambiar este sustituyente a *orto*, la afinidad disminuyó 3 veces (2,4,6-MeSFEA versus 6-MeSFEA).

Al observar los efectos sobre el receptor 5-HT_{1A} las feniletilaminas y anfetaminas con patrón de sustitución 2,4,5 mostraron que al agregar un *N*-metilo las afinidades no disminuyeron mucho en comparación a sus análogos no metilados, e incluso mejoraron en algunos casos. Sin embargo, la *N*-metilación de las fenilisobutilaminas (C α -etil) aumentó la afinidad en todos los casos (tabla XIX versus tabla XX).

Con respecto a los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} no se encontró la misma diferencia tan clara entre los valores de afinidad para los patrones de sustitución 2,4,5 y 2,4,6. Muy por el contrario, se observaron diferencias radicales. Las afinidades por estos receptores de las feniletilaminas fueron tan buenas como en el caso de las fenilisopropilaminas.

Otra diferencia clara consistió en que la *N*-metilación disminuyó marcadamente la afinidad de todos los compuestos por los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C}. Además la afinidad disminuyó al alargar la cadena lateral (α -etilo).

Un punto interesante a considerar, es que existe una tendencia contraria entre los resultados correspondientes a la inhibición de MAO-A y la afinidad de 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C}. En el caso de los receptores la afinidad disminuye con la *N*-metilación y en el caso de la inhibición enzimática la actividad aumenta. Este resultado nos favorece, ya que las moléculas con mejores IC₅₀ en MAO-A tendrían menor afinidad por estos receptores y por lo tanto tendrían menor tendencia a producir efectos secundarios relacionados con su interacción con los receptores 5-HT₂.

Resultados de los ensayos de inhibición utilizando un método radioquímico para MAO-A, MAO-B y SSAO.

Como se mencionó anteriormente existen otras técnicas para medir la inhibición de la enzima MAO, entre ellas se encuentra la metodología que utiliza sustratos radioactivos. A pesar de que ésta es una de las metodologías más utilizadas internacionalmente para la obtención de valores de actividad IMAO, su alto costo y riesgo fueron las razones por las cuales finalmente se decidió a trabajar con la metodología HPLC-DE. Sin embargo, se consideró importante aprender la técnica implicada en estos ensayos de inhibición radioquímicos. Es por esta razón, que se realizaron algunos experimentos de inhibición utilizando como ejemplo el compuesto PrNH₂.

Tabla XXIII. Resultados de actividad sobre MAO-A, MAO-B y SSAO del compuesto PrNH₂.

t=0 min	IC₅₀ (MAO-A) μM	IC₅₀ (MAO-B) μM	IC₅₀ (SSAO) μM
PrNH₂	5.75 ± 0.45	> 100	> 100

Este compuesto tiene un comportamiento similar, en términos de inhibición en las isoenzimas MAO-A y B, pertenecientes a hígado de rata con respecto a aquellas pertenecientes a cerebro de rata.

Resultados de la determinación de actividades de MAO-A, MAO-B y SSAO utilizando un método espectrofotométrico.

MAO-A: Se utilizó suspensión mitocondrial de hígado de rata (10 mg/mL) previamente incubada por 30 minutos a 37 °C con *l-deprenil* (10⁻⁶ M) para evitar posibles interacciones con MAO-B.

Los resultados del análisis de las pendientes de las curvas obtenidas mostraron la incapacidad de la MAO-A para metabolizar el compuesto PrNH₂. En otras palabras,

este compuesto no es un sustrato de la MAO-A. Se realizaron al menos tres experimentos con concentraciones de droga que variaba entre 10 μM y 500 μM sin obtener ningún resultado positivo.

MAO-B: Se utilizó suspensión mitocondrial de hígado de rata (10 mg/mL) previamente incubada por 30 minutos a 37 °C con *clorgilina* (10^{-6} M) para evitar posibles interacciones con MAO-A.

Los resultados del análisis de las pendientes de las curvas obtenidas demostraron que la PrNH₂ es sustrato relativamente afin de la MAO-B, como lo demuestra la figura 34 en la que se puede observar una K_m cercana a los 100 μM , cabe recordar, que la bencilamina tiene una K_m cercana a los 300 μM para esta enzima.

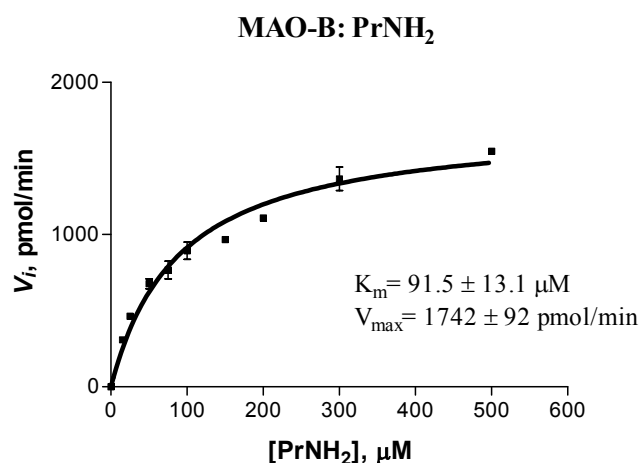


Figura 34: Representación gráfica de la actividad enzimática a distintas concentraciones de sustrato PrNH₂ en MAO-B

SSAO: Como se mencionó al inicio de este trabajo, estudios pioneros en la oxidación de tiramina o bencilamina sobre tejidos adiposos revelaron la presencia de MAO y otra amino-oxidasa resistente al bloqueo por los inhibidores clásicos de MAO. Esta enzima era inhibida por semicarbazida, por lo cual fue llamada amino-oxidasa sensible a semicarbazida (SSAO). Recientemente se ha estudiado el aumento de la actividad de SSAO plasmática en pacientes con arteriosclerosis, insuficiencia cardíaca al

corazón, infarto cerebral y diabetes. Especial interés tiene este último punto ya que se ha reportado que sustratos de la enzima SSAO en combinación con muy bajas concentraciones de *vanadato* imitan los efectos “tipo insulina” en ratas. Esto quiere decir que aumenta considerablemente el transporte de glucosa. Por lo tanto, se ha postulado que sustratos de la SSAO podrían considerarse como potenciales drogas antidiabéticas.

En los experimentos realizados se utilizó suspensión mitocondrial de microsomas de pulmón bovino (10 mg/mL). El ensayo se realizó en las mismas condiciones descritas anteriormente y los resultados del análisis de las pendientes de las curvas obtenidas demostraron que la PrNH_2 es un excelente sustrato de la SSAO, con una K_m calculada de $8.3 \mu\text{M}$.

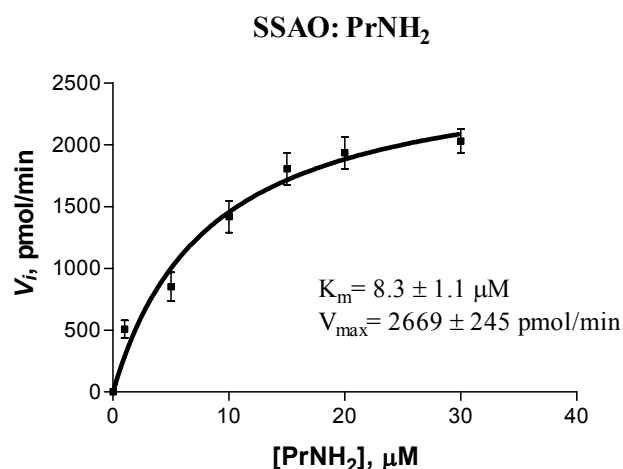


Figura 35: Representación gráfica de la actividad enzimática a distintas concentraciones de sustrato PrNH_2 en SSAO

Este resultado no deja de sorprender al considerar que el mejor sustrato conocido hasta ahora para la SSAO es la bencilamina que tiene una K_m de $50 \mu\text{M}$ en estas mismas condiciones. Estos resultados abren insospechadas posibilidades de proyectos a futuro, principalmente síntesis de derivados de PrNH_2 , para establecer relaciones estructura-actividad sobre SSAO, con el fin de encontrar mejores sustratos de la SSAO y posibles nuevas drogas antidiabéticas entre otros.

CONCLUSIONES GENERALES

- Mediante la metodología descrita en este trabajo se logró diseñar una ruta para la síntesis de la familia 2,4,6. Estos compuestos contienen un patrón de sustitución sobre el anillo aromático muy inusual y difícil de obtener.
- Se materializó la síntesis del compuesto 2,4-dimetoxi-metiltiobenceno en un paso utilizando el bencino. La síntesis de este compuesto en literatura es desarrollada a través de por lo menos cinco pasos intermedios.
- Ninguno de los compuestos estudiados presentó actividad interesante como IMAO-B. Muchos de ellos definitivamente no tuvieron actividad hacia esta isoforma y en aquellos compuestos que sí presentaron algún grado de inhibición, la concentración necesaria para producir esta inhibición era demasiado elevada como para proponerlos como potenciales fármacos IMAO-B.
- Varios de los compuestos sintetizados son inhibidores potentes y selectivos de la MAO-A, como por ejemplo en la familia 2,4,5 se destacó el *n*-PrSANF alcanzando valores micromolares de IC₅₀ y en la familia 2,4,6 los compuestos 2,4,6-MeSANF y 2-cloro con valores de IC₅₀ en el rango nanomolar.
- En aquellos inhibidores que presentan sustituyentes alquiltio en posición 4 (los más potentes en comparación a los alquiloxi), la potencia IMAO-A es máxima cuando el sustituyente es *n*-propiltio.
- Sustituyentes con un número mayor o menor de átomos de carbono, o con cadenas ramificadas en posición *para*, disminuyen la potencia como IMAO-A.
- El patrón de sustitución 2,4,5 induce una disminución de la potencia como IMAO-A con respecto a fenilisopropilaminas monosustituidas en 4 (MTA). Sin embargo, el patrón de sustitución 2,4,6 no modifica la potencia con respecto a MTA.
- Por ende, moléculas con patrón de sustitución 2,4,6 son más potentes IMAO-A que aquellas con un patrón de sustitución 2,4,5.

- En los compuestos estudiados pertenecientes a la familia 2,4,5 la metilación del grupo amino induce un incremento en la potencia IMAO-A, alcanzándose rangos nanomolares en el caso del compuesto *n*-PrSANFNMe ($IC_{50} = 0.36 \pm 0.03 \mu M$).
- El aumento del volumen de la cadena amina, debido al alargamiento de un carbono sobre el C α , pasando de metilo en el patrón de anfetamina a C α -etilo, induce una disminución de la potencia IMAO-A.
- Las moléculas ensayadas son inhibidores reversibles de MAO-A.
- En ninguno de los compuestos estudiados, además de la PrNH₂, se presentó actividad como sustrato de MAO-A y/o MAO-B.
- La inhibición no fue dependiente del tiempo de interacción enzima-sustrato en los casos estudiados.
- Los compuestos derivados de feniletilamina evaluados tuvieron alta afinidad por los receptores de serotonina 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C}, llegando en la mayoría de los casos a rangos nanomolares.
- La afinidad por los receptores 5-HT_{1A} disminuyó 10 veces al agregar un grupo metilo en el carbono α de la cadena lateral amina (anfetaminas).
- El compuesto PrNH₂ presentó una alta actividad como sustrato de la enzima SSAO, además de una actividad considerable como sustrato hacia la MAO-B y ninguna actividad como sustrato hacia la MAO-A.

ANEXO 1

QUIMICA, PROCEDIMIENTO GENERAL. Los espectros de ^1H -RMN fueron obtenidos en un espectrómetro Bruker AMX 300 o DRX 500. Los corrimientos químicos son expresados en partes por millón (ppm) con referencia a Me_4Si . Los datos de ^1H RMN son mostrados en orden de multiplicidad (s, singlete; d, doblete; t, triplete; c, cuádruplete; q, quintuplete; s, sextuplete; m multiplete); los números de protones y las constantes de acoplamiento aproximadas en Hertz (Hz). Análisis elemental (C, H, N, S, Cl) fueron llevadas a cabo usando un instrumento Perkin-Elmer 240 B o 240 C y los resultados están entre $\pm 0.4\%$ de los valores teóricos. Los datos de espectroscopía de masa fueron obtenidos con un espectrómetro de masas de ionización química Finnigan 4000, usando metano como gas de transporte. Cromatografía de capa fina (CCF) fue realizada en condiciones estándar usando placas de sílica gel 60-F₂₅₄, 0.2 mm ancho (Merck).

SÍNTESIS DE LA FAMILIA 2,4,5

Cloruro de 2,5-Dimetoxibencensulfonilo (1)

De acuerdo al método descrito por Shulgin³⁸ 1,4-dimetoxibenceno (100.0 g, 0.72 mol) fue disuelto en CH_2Cl_2 (500 mL) con agitación a temperatura ambiente. Después de agregar gota a gota ácido clorosulfónico (200 mL, 3.0 mol) y cuando la mezcla de reacción se estabilizó, al cesar el desprendimiento vigoroso de HCl, se agregó 1 L de agua, al principio muy lentamente. Se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 100 mL), los extractos se reunieron con la fase orgánica original, se secaron (Na_2SO_4 anhidro) y se concentraron. El resultado fue un polvo amarillo que no necesitó mayor purificación (116.1 g, 68.3%), con un punto de fusión de 110-113 °C (lit. 109-112 °C³⁹). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7.47 (d, 1H, $J = 3.1$ Hz, ArH), 7.22–7.27 (dd, 1H, $J = 6.0$ Hz, $J' = 3.0$ Hz, ArH), 7.08 (d, 1H, $J = 10$ Hz, ArH), 4.02 (s, 3H, OCH_3), 3.84 (s, 3H, OCH_3)

2,5-Dimetoxibencenotiol (2)

A una solución de 600 mL de HCl al 30% v/v en un vaso de precipitado de 3 L, con agitación, se adicionó el compuesto **1** (120.0 g, 0.51 mol). Se calentó la mezcla heterogénea lentamente hasta alcanzar los 35°C y se adicionó lentamente y en pequeñas porciones Zn en polvo (180.0 g, 2.75 mol), cuidando que la temperatura no sobrepasara los 60-70 °C. Después de una hora de agitación manteniendo la temperatura en 60 °C se retornó la mezcla de reacción a temperatura ambiente, se filtró y los residuos metálicos se lavaron con CH₂Cl₂. Se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 100 mL), se agregaron 2 L de agua a la fase acuosa y se extrajeron nuevamente con CH₂Cl₂ (3 x 100 mL), los extractos orgánicos se reunieron y se secaron (Na₂SO₄ anhidro). Después de concentrar, el tiol fue obtenido por destilación (75 – 80 °C / 0.1 Torr) como un aceite incoloro (86.0 g, 100%)³⁹. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 6.85 (d, 1H, J = 3.0 Hz, ArH), 6.78 (d, 1H, J = 9.0 Hz, ArH), 6.65 (dd, 1H, J = 9.0 Hz, J' = 3.0 Hz, ArH), 3.92 (s, 1H, SH), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 3.75 (s, 3H, OCH₃)

Procedimiento general para la preparación de 2-alkiltio-1,4-dimetoxibencenos (3A-G)

En un balón de 500 mL provisto de agitación magnética, embudo de adición, condensador y bajo flujo de N₂ se adicionó lentamente **2** (10 mmol) sobre KOH (20 mmol) disuelto en 30 mL de MeOH y se dejó agitar la mezcla de reacción por una hora. Luego se adicionó lentamente 20 mmol del halogenuro de alquilo apropiado, cuidando de mantener la temperatura de la reacción en aproximadamente 60°C. Después que la adición se completó, se dejó agitar la mezcla de reacción hasta que retornó a temperatura ambiente. Se agregó 200 mL de agua y se extrajo la fase acuosa con CH₂Cl₂ (3 x 50 mL), se secó la fase orgánica con Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó el solvente. El producto se destiló obteniéndose en la mayoría de los casos un aceite incoloro. En aquellos casos en donde el producto es un sólido, éste fue recristalizado en EtOH. Un método alternativo usando 20 mmol de Me₂SO₄ como agente alquilante se utilizó para la preparación del 2,5-dimetoxitioanisol (10 mmol) bajo las condiciones ya descritas.

1,4-Dimetoxi-2-metiltiobenceno (3A)

Este compuesto fue obtenido de **2** como un aceite incoloro que una vez destilado a 80–85 °C / 0.1 Torr, cristalizó: p.f. 33-34 °C (lit. 33-34 °C³⁹). Usando MeBr como agente alquilante se obtuvo 89% de rendimiento y usando como agente alquilante Me₂SO₄ se obtuvo 100% de rendimiento. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 6.76 (d, 1H, J = 9.0 Hz, ArH), 6.75 (d, 1H, J = 3.0 Hz, ArH), 6.64 (dd, 1H, J = 6.0 Hz, J' = 3.0 Hz, ArH), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 2.43 (s, 3H, CH₃S)

1,4-Dimetoxi-2-etiltiobenceno (3B)

Este compuesto fue obtenido de **2** como un aceite incoloro. Se usó bromuro de etilo como agente alquilante y se obtuvo 100% de rendimiento⁵¹. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 6.83 (d, 1H, J = 3.0 Hz, ArH), 6.77 (d, 1H, J = 9.0 Hz, ArH), 6.67 (dd, 1H, J = 6.0 Hz, J' = 3.0 Hz, ArH), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 2.91 (c, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S), 1.33 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S)

1,4-Dimetoxi-2-*n*-propiltiobenceno (3C)

Este compuesto fue obtenido de **2** como un aceite incoloro. Se usó 1-bromopropano como agente alquilante y se obtuvo 100% de rendimiento. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 6.80 (d, 1H, J = 3.0 Hz, ArH), 6.73 (d, 1H, J = 9.0 Hz, ArH), 6.63 (dd, 1H, J = 6.0 Hz, J' = 3.0 Hz, ArH), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 2.84 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S), 1.67 (sext, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S), 1.02 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S)

1,4-Dimetoxi-2-*i*-propiltiobenceno (3D)

Este compuesto fue obtenido de **2** como un aceite incoloro. Se utilizó 2-yodopropano como agente alquilante y se obtuvo 100% de rendimiento, destila a 75–80 °C / 0.05 Torr. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 6.93 (d, 1H, J = 3.0 Hz, ArH), 6.81 (d, 1H, J = 9.0 Hz, ArH), 6.75 (dd, 1H, J = 6.0 Hz, J' = 3.0 Hz, ArH), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 3.50 (m, 1H, (CH₃)₂CHS), 1.32 (d, 6H, J = 7.0 Hz, (CH₃)₂CHS)

2-*n*-Butiltio-1,4-dimetoxibenceno (3E)

Este compuesto fue obtenido de **2** como un aceite incoloro que una vez destilado, 105-110 °C / 0.1 Torr, cristalizó como polvo blanco p.f. 36-37 °C⁵¹. Se utilizó 1-yodobutano como agente alquilante y se obtuvo 96% de rendimiento. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 6.83 (d, 1H, J = 3.0 Hz, ArH), 6.77 (d, 1H, J = 9.0 Hz, ArH), 6.67 (dd, 1H, J = 6.0 Hz, J' = 3.0 Hz, ArH), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 2.89 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃(CH₂)2CH₂S), 1.67 (q, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂CH₂S), 1.48 (sext, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂(CH₂)₂S), 0.93 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃(CH₂)₃S)

1,4-Dimetoxi-2-*n*-pentiltiobenceno (3F)

Este compuesto fue obtenido de **2** como un aceite incoloro que una vez destilado, 105-110 °C / 0.1 Torr, cristalizó como polvo blanco p.f. 38-39 °C (lit. 38-39 °C⁵²). Se utilizó 1-bromopentano como agente alquilante y se obtuvo 100% de rendimiento. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 6.82 (d, 1H, J = 3.0 Hz, ArH), 6.76 (d, 1H, J = 9.0 Hz, ArH), 6.66 (dd, 1H, J = 6.0 Hz, J = 3.0 Hz, ArH), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 2.88 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃(CH₂)3CH₂S), 1.68 (q, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃(CH₂)2CH₂CH₂S), 1.43 (q, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂(CH₂)₂S), 1.35 (sext, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂(CH₂)₃S), 0.91 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃(CH₂)₄S)

1,4-Dimetoxi-2-feniletitiobenceno (3G)

Este compuesto fue obtenido de **2** como un aceite incoloro. Se utilizó 1-bromo-2-feniletano como agente alquilante y se obtuvo 98% de rendimiento, destila a 95-100 °C / 0.1 Torr. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 7.40 (m, 3H, Ar(1)H), 7.30 (m, 5H, Ar(2)H), 3.90 (s, 3H, OCH₃), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.30 (t, 2H, J = 7.0 Hz, Ar(2)CH₂CH₂S), 3.05 (t, 2H, J = 7.0 Hz, Ar(2)CH₂CH₂S). CIMS 275 (MH⁺)

Procedimiento general para la preparación de benzaldehidos (4A-G)

Se utilizó la reacción de formilación de Vilsmeier (método-1) para la obtención de la mayoría de los aldehidos. En un matraz de Erlenmeyer de 100 mL con agitación manual se calentó por 5–10 minutos a 40–50 °C una mezcla de 60 mmol de POCl₃ y 60 mmol de *N*-metilformanilida. Una vez que se visualizó un cambio de color en la mezcla, se agregó 20 mmol del correspondiente alquiltiobenceno **3 (A-G)**. La mezcla anterior se calentó por 15 minutos a no más de 70 °C, se retiró del calor y rápidamente se agregó 100 g de hielo picado y se dejó agitar por 1 hora. Se filtraron los sólidos, se lavaron con agua fría, y se recristalizó el producto en EtOH.

Se utilizó un método alternativo (método-2) para aquellas reacciones de formilación que dieron bajos rendimientos usando la reacción de Vilsmeier. Se enfrió en un baño de hielo, con agitación y bajo atmósfera de N₂, una solución de 30.0 mmol del correspondiente alquiltiobenceno **3 (A)** en 40 mL de CH₂Cl₂ seco. Se agregó gota a gota en el curso de aproximadamente 2 minutos 50.0 mmol de SnCl₄ (la solución se tornó opaca) y después de una hora de agitación se agregó gota a gota en el curso de aproximadamente 5 minutos 30 mmol de Cl₂CHOMe y se retornó la mezcla de reacción a temperatura ambiente agitando por una hora adicional. La mezcla de reacción se vertió sobre 15.0 g de hielo picado y después de agitar por una hora la fase acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 50 mL), la fase orgánica se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se evaporó el solvente. El producto se purificó por recristalización en MeOH.

2,5-Dimetoxi-4-metiltiobenzaldehido (4A)

Este compuesto fue obtenido de **3A** como un polvo amarillo en 73% de rendimiento usando el método-1 y en 89% de rendimiento usando el método-2: p.f. 98-100 °C^{39;40}. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 10.36 (s, 1H, CHO), 7.26 (s, 1H, ArH), 6.71 (s, 1H, ArH), 3.93 (s, 3H, OCH₃), 3.90 (s, 3H, OCH₃), 2.49 (s, 3H, CH₃S)

2,5-Dimetoxi-4-etiltiobenzaldehido (4B)

Este compuesto fue obtenido de **3B** como cristales gruesos de color ámbar en un 88% de rendimiento usando el método-1: p.f. 87-88 °C (lit. 86-88 °C³⁸). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 10.34 (s, 1H, CHO), 7.21 (s, 1H, ArH), 6.74 (s, 1H, ArH), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 2.98 (c, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S), 1.39 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂)

2,5-Dimetoxi-4-*n*-propiltiobenzaldehido (4C)

Este compuesto fue obtenido de **3C** como polvo amarillo en un 99% de rendimiento usando el método-1: p.f. 78-79 °C (lit. 76-77 °C³⁸). ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 10.42 (s, 1H, CHO), 7.31 (s, 1H, ArH), 6.83 (s, 1H, ArH), 3.98 (s, 3H, OCH₃), 3.95 (s, 3H, OCH₃), 3.00 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S), 1.85 (sext, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S), 1.17 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S)

2,5-Dimetoxi-4-*i*-propiltiobenzaldehido (4D)

Este compuesto fue obtenido de **3D** como polvo amarillo en un 78% de rendimiento usando el método-1: p.f. 89-90°C. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 10.38 (s, 1H, CHO), 7.27 (s, 1H, ArH), 6.88 (s, 1H, ArH), 3.92 (s, 3H, OCH₃), 3.90 (s, 3H, OCH₃), 3.61 (m, 1H, (CH₃)₂CHS), 1.41 (d, 6H, J = 7.0 Hz, (CH₃)₂CHS)

4-*n*-Butiltio-2,5-dimetoxibenzaldehido (4E)

Este compuesto fue obtenido de **3E** como polvo amarillo en un 86% de rendimiento usando el método-1: p.f. 72-73°C. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 10.37 (s, 1H, CHO), 7.27 (s, 1H, ArH), 6.78 (s, 1H, ArH), 3.93 (s, 3H, OCH₃), 3.90 (s, 3H, OCH₃), 2.97 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃(CH₂)₂CH₂S), 1.75 (q, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂CH₂S), 1.54 (sext, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂(CH₂)₂S), 0.98 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃(CH₂)₃S)

2,5-Dimetoxi-4-*n*-pentiltiobenzaldehido (4F)

Este compuesto fue obtenido de **3F** como polvo amarillo en un 100% de rendimiento usando el método-1: p.f. 104-105°C. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 10.36 (s, 1H, CHO), 7.25 (s, 1H, ArH), 6.77 (s, 1H, ArH), 3.92 (s, 3H, OCH₃), 3.90 (s, 3H, OCH₃), 2.96 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃(CH₂)₃CH₂S), 1.76 (q, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃(CH₂)₂CH₂CH₂S), 1.49 (q, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂(CH₂)₂S), 1.38 (sext, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂(CH₂)₃S), 0.98 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃(CH₂)₄S)

1,4-Dimetoxi-2-feniltiobenzaldehido (4G)

Este compuesto fue obtenido de **3J** como un polvo amarillo pálido en un 90% de rendimiento, p.f. 102-105 °C. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 10.42 (s, 1H, CHO), 7.40 (m, 2H, Ar(1)H), 7.32 (m, 5H, Ar(2)H), 3.95 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.29 (t, 2H, J = 7.0 Hz, Ar(2)CH₂CH₂S), 3.09 (t, 2H, J = 7.0 Hz, Ar(2)CH₂CH₂S). CIMS 303 (MH⁺)

Procedimiento general para la preparación de los arilnitroetenos (5A-G)

Una solución de 10.0 mmol del correspondiente aldehido en 50 mL de nitrometano se calentó hasta aproximadamente 60 °C, luego de lo cual se agregaron 6.0 mmol de NH₄OAc anhidro y se mantuvo a reflujo por 2 horas (se comprobó el término de la reacción por CCF). Después de retornar la mezcla de reacción a temperatura ambiente se evaporó la mitad del solvente/reactivo y se dejó cristalizar. Se recristalizó en EtOH caliente.

1-(2,5-Dimetoxi-4-metiltiofenil)-2-nitroeteno (5A)

Este compuesto fue obtenido de **4A** como cristales de color naranja intenso en forma de agujas en un 97% de rendimiento: p.f. 160-164 °C (lit. 165-166 °C⁴⁰). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.13 (d, 1H, J = 13.5 Hz, ArCH), 7.83 (d, 1H, J = 13.5 Hz, CHNO₂), 6.83 (s, 1H, ArH), 6.71 (s, 1H, ArH), 3.95 (s, 3H, OCH₃), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 2.50 (s, 3H, SCH₃)

1-(2,5-Dimetoxi-4-etiltiofenil)-2-nitroeteno (5B)

Este compuesto fue obtenido de **4B** como cristales de color naranja intenso en forma de agujas en un 86% de rendimiento: p.f. 153-154 °C (lit. 151-154 °C³⁸). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.05 (d, 1H, J = 13.5 Hz, ArCH), 7.76 (d, 1H, J = 13.5 Hz, CHNO₂), 6.76 (s, 1H, ArH), 6.71 (s, 1H, ArH), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 2.92 (c, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S), 1.33 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S)

1-(2,5-Dimetoxi-4-*n*-propiltiofenil)-2-nitroeteno (5C)

Este compuesto fue obtenido de **4C** como cristales de color naranja intenso en forma de agujas en un 98% de rendimiento: p.f. 121-123°C (lit. 120-121°C³⁸). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.04 (d, 1H, J = 13.5 Hz, ArCH), 7.75 (d, 1H, J = 13.5 Hz, CHNO₂), 6.75 (s, 1H, ArH), 6.69 (s, 1H, ArH), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 2.85 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S), 1.70 (sext, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S), 1.01 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S)

1-(2,5-Dimetoxi-4-*i*-propiltiofenil)-2-nitroeteno (5D)

Este compuesto fue obtenido de **4D** como cristales de color naranja en forma de escamas en un 89% de rendimiento: p.f. 123-125 °C. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 8.13 (d, 1H, J = 13.5 Hz, ArCH), 7.87 (d, 1H, J = 13.5 Hz, CHNO₂), 6.89 (s, 1H, ArH), 6.86 (s, 1H, ArH), 3.94 (s, 3H, OCH₃), 3.90 (s, 3H, OCH₃), 3.62 (m, 1H, (CH₃)₂CHS), 1.39 (d, 6H, J = 7.0 Hz, (CH₃)₂CHS)

1-(4-*n*-Butiltio-2,5-dimetoxifenil)-2-nitroeteno (5E)

Este compuesto fue obtenido de **4E** como cristales de color naranja en un 91% de rendimiento: p.f. 130-131 °C. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 8.13 (d, 1H, J = 13.5 Hz, ArCH), 7.84 (d, 1H, J = 13.5 Hz, CHNO₂), 6.84 (s, 1H, ArH), 6.78 (s, 1H, ArH), 3.94 (s, 3H, OCH₃), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 2.97 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃(CH₂)₂CH₂S), 1.74 (q, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂CH₂S), 1.53 (sext, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂(CH₂)₂S), 0.98 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃(CH₂)₃S)

1-(2,5-Dimetoxi-4-*n*-pentiltiofenil)-2-nitroeteno (5F)

Este compuesto fue obtenido de **4F** como cristales de color naranja en un 83% de rendimiento: p.f. 128-129 °C. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 8.13 (d, 1H, J = 13.5 Hz, ArCH), 7.84 (d, 1H, J = 13.5 Hz, CHNO₂), 6.84 (s, 1H, ArH), 6.78 (s, 1H, ArH), 3.94 (s, 3H, OCH₃), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 2.96 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃(CH₂)₃CH₂S), 1.74 (q, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃(CH₂)₂CH₂CH₂S), 1.48 (q, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂(CH₂)₂S), 1.38 (sext, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂(CH₂)₃S), 0.93 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃(CH₂)₄S)

1-(2,5-Dimetoxi-4-feniletio)-2-nitroeteno (5G)

Este compuesto fue obtenido de **3J** como un polvo amarillo pálido en un 78% de rendimiento, p.f. 153-155 °C. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.18 (d, 1H, J = 13.5 Hz, ArCH), 7.90 (d, 1H, J = 13.5 Hz, CHNO₂), 7.39 (m, 2H, Ar(2)H), 7.31 (m, 3H, Ar(2)H), 6.91 (s, 1H, Ar(1)H), 6.85 (s, 1H, Ar(1)), 3.99 (s, 3H, OCH₃), 3.97 (s, 3H, OCH₃), 3.27 (t, 2H, J = 7.0 Hz, Ar(2)CH₂CH₂S), 3.07 (t, 2H, J = 7.0 Hz, Ar(2)CH₂CH₂S)

Procedimiento general para la preparación de arilnitropropenos (6A-G)

Una solución de 10.0 mmol del correspondiente aldehído (**4A-G**) en 50 mL de nitroetano se calentó hasta aproximadamente 60 °C, luego de lo cual se agregaron 6.0 mmol de NH₄OAc anhidro y se mantuvo a reflujo por 3-5 horas (se comprobó el término de la reacción por CCF). Después de retornar la mezcla de reacción a temperatura ambiente se evaporó la mitad del solvente/reactivo y se dejó cristalizar. Se recristalizó en EtOH caliente.

1-(2,5-Dimetoxi-4-metiltiofenil)-2-nitro-1-propeno (6A)

Este compuesto fue obtenido de **4A** como cristales de color naranja intenso en forma de agujas en un 73% de rendimiento: p.f. 134-136 °C (lit. 137-138 °C⁴⁰). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.28 (s, 1H, ArCH), 6.78 (s, 1H, ArH), 6.73 (s, 1H, ArH), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 2.50 (s, 3H, SCH₃), 2.42 (s, 3H, CH₃CNO₂)

1-(2,5-Dimetoxi-4-etiltiofenil)-2-nitro-1-propeno (6B)

Este compuesto fue obtenido de **4B** como cristales de color naranja intenso en forma de agujas en un 85% de rendimiento: p.f. 110-111 °C (lit. 110-112 °C³⁸). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.20 (s, 1H, ArCH), 6.74 (s, 1H, ArH), 6.71 (s, 1H, ArH), 3.79 (s, 6H, 2 x OCH₃), 2.91 (c, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S), 2.35 (s, 3H, CH₃CNO₂), 1.31 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S)

1-(2,5-Dimetoxi-4-*n*-propiltiofenil)-2-nitro-1-propeno (6C)

Este compuesto fue obtenido de **4C** como cristales de color naranja en forma de agujas en un 69% de rendimiento: p.f. 83-85 °C (lit. 83-84 °C³⁸). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.19 (s, 1H, ArCH), 6.73 (s, 1H, ArH), 6.71 (s, 1H, ArH), 3.79 (s, 6H, 2 x OCH₃), 2.86 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S), 2.34 (s, 3H, CH₃CNO₂), 1.68 (sext, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S), 1.01 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S)

1-(2,5-Dimetoxi-4-*i*-propiltiofenil)-2-nitro-1-propeno (6D)

Este compuesto fue obtenido de **4D** como cristales de color naranja en forma de agujas en un 85% de rendimiento: p.f. 99-100 °C. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 8.27 (s, 1H, ArCH), 6.92 (s, 1H, ArH), 6.80 (s, 1H, ArH), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 3.59 (m, 1H, (CH₃)₂CHS), 2.43 (s, 3H, CH₃CNO₂), 1.37 (d, 6H, J = 7.0 Hz, (CH₃)₂CHS)

1-(4-*n*-Butiltio-2,5-dimetoxifenil)-2-nitro-1-propeno (6E)

Este compuesto fue obtenido de **4E** como cristales de color naranja en un 90% de rendimiento: p.f. 64-65 °C. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 8.28 (s, 1H, ArCH), 6.81 (s, 1H, ArH), 6.78 (s, 1H, ArH), 3.87 (s, 6H, 2 x OCH₃), 2.96 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃(CH₂)₂CH₂S), 2.43 (s, 3H, CH₃CNO₂), 1.70 (q, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂CH₂S), 1.52 (sext, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂(CH₂)₂S), 0.97 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃(CH₂)₃S)

1-(2,5-Dimetoxi-4-*n*-pentiltiofenil)-2-nitro-1-propeno (6F)

Este compuesto fue obtenido de **4F** como cristales de color amarillo en un 71% de rendimiento: p.f. 63-65 °C. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 8.28 (s, 1H, ArCH), 6.81 (s, 1H, ArH), 6.79 (s, 1H, ArH), 3.87 (s, 6H, 2 x OCH₃), 2.95 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃(CH₂)₃CH₂S), 2.43 (s, 3H, CH₃CNO₂), 1.73 (q, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃(CH₂)₂CH₂CH₂S), 1.47 (q, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂(CH₂)₂S), 1.37 (sext, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂(CH₂)₃S), 0.93 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃(CH₂)₄S)

1-(2,5-Dimetoxi-4-feniletio)-2-nitro 1-propeno (6G)

Este compuesto fue obtenido de **3J** como un polvo amarillo pálido en un 85% de rendimiento, p.f. 112-114 °C. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.33 (s, 1H, ArCH), 7.38 (m, 2H, Ar(2)H), 7.31 (m, 3H, Ar(2)H), 6.89 (s, 1H, Ar(1)H), 6.85 (s, 1H, Ar(1)H), 3.94 (s, 3H, OCH₃), 3.91 (s, 3H, OCH₃), 3.25 (t, 2H, J = 7.0 Hz, Ar(2)CH₂CH₂S), 3.08 (t, 2H, J = 7.0 Hz, Ar(2)CH₂CH₂S), 2.47 (s, 3H, CH₃CHNO₂)

Procedimiento general para la preparación de los arilnitrobutenos (7A-C)

Se disolvió 10.0 mmol del correspondiente aldehído (**4A-C**) en 100 mL de tolueno, se agregaron 16.0 mmol de nitropropano y 2.9 mmol de DMEDA y se mantuvo a reflujo bajo una trampa de Dean-Stark por 48 horas. Se evaporó la mitad del solvente y se dejó cristalizar. Se recrystalizó en EtOH caliente

1-(2,5-Dimetoxi-4-metiltiofenil)-2-nitro-1-buteno (7A)

Este compuesto fue obtenido de **4A** como cristales naranja algodonosos en un 50 % de rendimiento: p.f. 98–100 °C^{53;53}. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.24 (s, 1H, ArCH), 6.91 (s, 1H, ArH), 6.79 (s, 1H, ArH), 3.88 (s, 6H, 2 x OCH₃), 2.86 (c, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CNO₂), 2.49 (s, 3H, CH₃S), 1.29 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CNO₂)

1-(2,5-Dimetoxi-4-etiltiofenil)-2-nitro-1-buteno (7B)

Este compuesto fue obtenido de **4B** como cristales naranja claro en un 54 % de rendimiento: p.f. 75-78 °C. ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 8.23 (s, 1H, ArCH), 6.81 (s, 1H, ArH), 6.80 (s, 1H, ArH), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 2.98 (c, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S), 2.86 (c, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CNO₂), 1.38 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S), 1.29 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CNO₂)

1-(2,5-Dimetoxi-4-*n*-propiltiofenil)-2-nitro-1-buteno (7C)

Este compuesto fue obtenido de **4C** como cristales naranja algodonoso en un 55 % de rendimiento: p.f. 55-56 °C. ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 8.23 (s, 1H, ArCH), 6.80 (s, 1H, ArH), 6.79 (s, 1H, ArH), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 2.93 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S), 2.85 (c, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CNO₂), 1.82-1.69 (m, 2H, CH₃CH₂CH₂S), 1.29 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S), 1.08 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CNO₂)

Procedimiento general para la preparacion de las aminas

En un balón de tres bocas de 1 L, provisto de agitador magnético, embudo de adición, condensador y bajo atmósfera de N₂, se agregó lentamente 50.0 mmol de LiAlH₄ sobre 200 mL de THF seco y con muy buena agitación. Se calentó el sistema anterior en un baño de silicona hasta alcanzar aproximadamente 60 °C y se agregó gota a gota 10.0 mmol del correspondiente arilnitroalqueno (**5A-F**), (**6A-G**), (**7A-C**) disuelto en 50 mL de THF seco. Se mantuvo la reacción a reflujo con adecuada agitación por 36 horas, después de lo cual se retornó a temperatura ambiente y se continuó la agitación por 24 horas. Se destruyó el exceso de hidruro agregando gota a gota con mucha precaución 1.9 mL de agua diluida en 50 mL de THF, seguida de 1.9 mL de NaOH al 15% y finalmente 5.7 mL de agua. Cuando la mezcla de reacción retornó a temperatura ambiente se filtró el sólido blanco de sales de aluminio y se lavó con THF, se secó con MgSO₄ anhidro y se evaporó el solvente al vacío. En todos los casos la amina obtenida se purificó por destilación al vacío. El aceite destilado fue disuelto en una mínima

cantidad de 2-propanol, neutralizando gota a gota con HCl concentrado disuelto en 2-propanol hasta que se llegó a un pH aproximado de 5.5-6.0. Se diluyó con Et₂O seco y se dejó cristalizar el clorhidrato.

Clorhidrato de 1-(2,5-dimetoxi-4-metiltiofenil)-etilamina (MeSF EA)

Este compuesto fue obtenido de **5A** como un fino polvo blanco con un 52 % de rendimiento: p.f. 238-240 °C (lit. 240-241 °C⁴⁰). ¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 6.94 (s, 2H, ArH), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.22 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₂NH₂), 2.96 (t, 2H, J = 7.0 Hz, ArCH₂), 2.47 (s, 3H, CH₃S). Análisis Elemental (CHNSCl). Teórico (C 50.10%; H 7.00%; N 5.30%; S 12.15%; Cl 13.40%); Experimental (C 50.25%; H 6.81%; N 5.44%; S 12.50%; Cl 13.20%)

Clorhidrato de 1-(2,5-dimetoxi-4-etiltiofenil)-etilamina (EtSF EA)

Este compuesto fue obtenido de **5B** como un fino polvo blanco con un 55 % de rendimiento: p.f. 208-209 °C. ¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 6.97 (s, 1H, ArH), 6.90 (s, 1H, ArH), 3.78 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.17 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₂NH₂), 2.93-2.87 (m, 4H, CH₃CH₂S y ArCH₂), 1.19 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S). Análisis Elemental (CHNS). Teórico (C 51.88%; H 7.26%; N 5.04%; S 11.54%); Experimental (C 51.83%; H 7.12%; N 5.32%; S 11.92%)

Clorhidrato de 1-(2,5-dimetoxi-4-*n*-propiltiofenil)-etilamina (*n*-PrSF EA)

Este compuesto fue obtenido de **5C** como un fino polvo blanco con un 55 % de rendimiento: p.f. 186-189 °C. ¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 6.91 (s, 1H, ArH), 6.83 (s, 1H, ArH), 3.72 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.09 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₂NH₂), 2.86-2.78 (m, 4H, CH₃CH₂CH₂S y ArCH₂), 1.49 (sext, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S), 0.84 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S). Análisis Elemental (CHNS). Teórico (C 53.13%; H 8.23%; N 4.77%; S 10.91%); Experimental (C 53.35%; H 7.58%; N 5.00%; S 9.93%)

Clorhidrato de 1-(2,5-dimetoxi-4-*i*-propiltiofenil)-etilamina (*i*-PrSF EA)

Este compuesto fue obtenido de **5D** como un fino polvo blanco con un 80 % de rendimiento: p.f. 194-195 °C. ¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 7.05 (s, 1H, ArH), 6.93 (s, 1H, ArH), 3.78 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.46 (m, 1H, (CH₃)₂CHS), 3.18 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₂NH₂), 2.93 (t, 2H, J = 7.0 Hz, ArCH₂), 1.18 (d, 6H, J = 7.0 Hz, (CH₃)₂CHS). Análisis Elemental (CHNSCl). Teórico (C 53.50%; H 7.60%; N 4.80%; S 10.99%; Cl 12.15%); Experimental (C 53.58%; H 7.77%; N 4.74%; S 11.12%; Cl 12.09%)

Clorhidrato de 1-(4-*n*-butiltio-2,5-dimetoxifenil)-etilamina (*n*-BuSF EA)

Este compuesto fue obtenido de **5E** como un fino polvo blanco con un 83 % de rendimiento: p.f. 180-181 °C. ¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 6.94 (s, 1H, ArH), 6.88 (s, 1H, ArH), 3.78 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.17 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₂NH₂), 2.90 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂CH₂S), 2.88 (t, 2H, J = 7.0 Hz, ArCH₂), 1.52 (q, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂CH₂S), 1.35 (sext, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂CH₂S), 0.82 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂CH₂S). Análisis Elemental (CHNSCl). Teórico (C 54.98%; H 7.91%; N 4.58%; S 10.48%; Cl 11.59%); Experimental (C 54.98%; H 8.10%; N 4.52%; S 10.49%; Cl 11.45%)

Clorhidrato de 1-(2,5-dimetoxi-4-*n*-pentiltiofenil)-etilamina (*n*-PnSF EA)

Este compuesto fue obtenido de **5F** como un fino polvo blanco con un 82 % de rendimiento: p.f. 176-178 °C. ¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 6.97 (s, 1H, ArH), 6.91 (s, 1H, ArH), 3.80 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.18 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₂NH₂), 2.92 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃(CH₂)₃CH₂S), 2.90 (t, 2H, J = 7.0 Hz, ArCH₂), 1.55 (q, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃(CH₂)₂CH₂CH₂S), 1.38-1.20 (m, 4H, CH₃CH₂(CH₂)₃S y CH₃CH₂CH₂(CH₂)₂S), 0.79 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃(CH₂)₄S). Análisis Elemental (CHNSCl). Teórico (C 56.32%; H 8.19%; N 4.38%; S 10.02%; Cl 11.08%); Experimental (C 56.27%; H 8.41%; N 4.31%; S 10.27%; Cl 10.92%)

Clorhidrato de (±)-1-(2,5-dimetoxi-4-metiltiofenil)-2-aminopropano (MeSANF)

Este compuesto fue obtenido de **6A** como un fino polvo blanco con un 78% de rendimiento: p.f. 200-202 °C (lit. 204-205 °C⁴⁰). ¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 6.93 (s, 1H, ArH), 6.91 (s, 1H, ArH), 3.84 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.63 (sext, 1H, J = 7.0 Hz, CH₃CHNH₂), 2.92 (d, 2H, J = 7.0 Hz, ArCH₂), 2.47 (s, 3H, CH₃S), 1.28 (d, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CHNH₂). Análisis Elemental (CHNSCl). Teórico (C 51.90%; H 7.26%; N 5.04%; S 11.50%; Cl 12.80%); Experimental (C 52.11%; H 7.23%; N 5.14%; S 11.90%; Cl 12.50%)

Clorhidrato de (±)-1-(2,5-dimetoxi-4-etiltiofenil)-2-aminopropano (EtSANF)

Este compuesto fue obtenido de **6B** como un fino polvo blanco con un 71% de rendimiento: p.f. 127-129 °C (lit. 128-130 °C³⁸). ¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 7.05 (s, 1H, ArH), 6.95 (s, 1H, ArH), 3.87 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.66 (sext, 1H, J = 7.0 Hz, CH₃CHNH₂), 3.00 (c, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S), 2.94 (d, 2H, J = 7.0 Hz, ArCH₂), 1.31 (d, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CHNH₂), 1.28 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S). Análisis Elemental (CHNS). Teórico (C 53.50%; H 7.60%; N 4.80%; S 10.99%); Experimental (C 53.42%; H 7.60%; N 5.11%; S 10.38%)

Clorhidrato de (±)-1-(2,5-dimetoxi-4-*n*-propiltiofenil)-2-aminopropano (*n*-PrSANF)

Este compuesto fue obtenido de **6C** como un fino polvo blanco con un 69% de rendimiento: p.f. 135-142 °C. ¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 6.84 (s, 1H, ArH), 6.80 (s, 1H, ArH), 3.75 (s, 3H, 2 x OCH₃), 3.57 (sext, 1H, J = 7.0 Hz, CH₃CHNH₂), 2.83-2.71 (m, 4H, CH₃CH₂CH₂S y ArCH₂), 1.55 (sext, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S), 1.22 (d, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CHNH₂), 0.90 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S). Análisis Elemental (CHNS). Teórico (C 54.98%; H 7.91%; N 4.58%; S 10.48%); Experimental (C 54.51%; H 8.12%; N 5.01%; S 10.06%)

Clorhidrato de (\pm)-1-(2,5-dimetoxi-4-*i*-propiltiofenil)-2-aminopropano (*i*-PrSANF)

Este compuesto fue obtenido de **6D** como un fino polvo blanco con un 76% de rendimiento: p.f. 143-145 °C. ^1H RMN (300 MHz, D_2O): δ 7.05 (s, 1H, ArH), 6.90 (s, 1H, ArH), 3.78 (s, 6H, 2 x OCH_3), 3.60 (sext, 1H, $J = 7.0$ Hz, CH_3CHNH_2), 3.46 (m, 1H, $(\text{CH}_3)_2\text{CHS}$), 2.88 (d, 2H, $J = 7.0$ Hz, ArCH_2), 1.25 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH_3CHNH_2), 1.18 (d, 6H, $J = 7.0$ Hz, $(\text{CH}_3)_2\text{CHS}$). Análisis Elemental (CHNSCl). Teórico (C 54.98%; H 7.91%; N 4.58%; S 10.48%; Cl 11.59%); Experimental (C 54.82%; H 7.97%; N 4.48%; S 10.67%; Cl 11.43)

Clorhidrato de (\pm)-1-(4-*n*-butiltio-2,5-dimetoxifenil)-2-aminopropano (*n*-BuSANF)

Este compuesto fue obtenido de **6E** como un fino polvo blanco con un 62% de rendimiento: p.f. 117-118 °C. ^1H RMN (300 MHz, D_2O): δ 6.96 (s, 1H, ArH), 6.86 (s, 1H, ArH), 3.78 (s, 6H, 2 x OCH_3), 3.57 (sext, 1H, $J = 7.0$ Hz, CH_3CHNH_2), 2.90 (t, 2H, $J = 7.0$ Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 2.86 (d, 2H, $J = 7.0$ Hz, ArCH_2), 1.52 (q, 2H, $J = 7.0$ Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 1.35 (sext, 2H, $J = 7.0$ Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 1.22 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH_3CHNH_2), 0.82 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$). Análisis Elemental (CHNSCl). Teórico (C 56.32%; H 8.19%; N 4.38%; S 10.02%; Cl 11.08%); Experimental (C 56.34%; H 8.43%; N 4.32%; S 10.04%; Cl 10.90%)

Clorhidrato de (\pm)-1-(2,5-dimetoxi-4-*n*-pentiltiofenil)-2-aminopropano (*n*-PnSANF)

Este compuesto fue obtenido de **6F** como un fino polvo blanco con un 68% de rendimiento: p.f. 115-116 °C. ^1H RMN (300 MHz, D_2O): δ 6.92 (s, 1H, ArH), 6.86 (s, 1H, ArH), 3.77 (s, 6H, 2 x OCH_3), 3.59 (sext, 1H, $J = 7.0$ Hz, CH_3CHNH_2), 2.87 (t, 2H, $J = 7.0$ Hz, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{S}$), 2.86 (d, 2H, $J = 7.0$ Hz, ArCH_2), 1.53 (q, 2H, $J = 7.0$ Hz, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 1.36-1.17 (m, 4H, $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}_2)_3\text{S}$ y $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_3\text{S}$), 1.23 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH_3CHNH_2), 0.78 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{S}$). Análisis Elemental (CHNSCl). Teórico (C 57.55%; H 8.45%; N 4.19%; S 9.60%; Cl 10.62%); Experimental (C 57.17%; H 8.64%; N 4.08%; S 9.79%; Cl 10.40%)

Clorhidrato de (±)-1-(2,5-dimetoxi-4-feniletiofenil)-2-aminopropano (FeEtSANF)

Este compuesto fue obtenido de **6J** como un fino polvo blanco con un 30% de rendimiento: p.f. 134-136 °C. ¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 7.34 (m, 2H, Ar(2)H), 7.25 (m, 3H, Ar(2)H), 6.95 (s, 1H, Ar(1)H), 6.89 (s, 1H, Ar(1)H), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 3.64 (sext, 1H, J = 7.0 Hz, CH₃CHNH₂), 3.25 (t, 2H, J = 7.0 Hz, Ar(2)CH₂CH₂S), 2.96-2.88 (m, 4H, Ar(2)CH₂CH₂S y Ar(1)CH₂), 1.30 (d, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CHNH₂). Análisis Elemental (CHNS). Teórico (C 62.02%; H 7.12%; N 3.81%; S 8.72%); Experimental (C 61.81%; H 9.12%; N 3.68%; S 8.94%)

Clorhidrato de (±)-1-(2,5-dimetoxi-4-metiltiofenil)-2-aminobutano (MeSαEt)

Este compuesto fue obtenido de **7A** como un fino polvo blanco con un 60% de rendimiento: p.f. 223–224 °C. ¹H RMN (500 MHz, D₂O): δ 6.94 (s, 1H, ArH), 6.91 (s, 1H, ArH), 3.84 (s, 3H, 2 x OCH₃), 3.46 (m, 1H, CH₃CH₂CHNH₂), 3.03-2.84 (dd, dd, 2H, J = 7.0 Hz, ArCH₂), 2.47 (s, 3H, CH₃S), 1.66 (m, 2H, CH₃CH₂CHNH₂), 1.01 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CHNH₂). Análisis Elemental (CHNSCl). Teórico (C 53.50%; H 7.60%; N 4.80%; S 10.90%; Cl 12.15%); Experimental (C 53.73%; H 7.60%; N 4.85%; S 11.24%; Cl 11.94%)

Clorhidrato de (±)-1-(2,5-dimetoxi-4-etiltiofenil)-2-aminobutano (EtSαEt)

Este compuesto fue obtenido de **7B** como un fino polvo blanco con un 63% de rendimiento: p.f. 177-182 °C. ¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 6.87 (s, 1H, ArH), 6.80 (s, 1H, ArH), 3.75 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.38 (m, 1H, CH₃CH₂CHNH₂), 2.92-2.72 (m, 4H, CH₃CH₂S y ArCH₂), 1.59 (m, 2H, CH₃CH₂CHNH₂), 1.17 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S), 0.94 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CHNH₂). Análisis Elemental (CHNS). Teórico (C 54.98%; H 7.91%; N 4.58%; S 10.48%); Experimental (C 54.62%; H 8.20%; N 5.04%; S 10.11%)

Clorhidrato de (±)-1-(2,5-dimetoxi-4-*n*-propiltiofenil)-2-aminobutano (*n*-PrSaEt)

Este compuesto fue obtenido de **7C** como un fino polvo blanco con un 60% de rendimiento: p.f. 174-177 °C. ¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 6.99 (s, 1H, ArH), 6.89 (s, 1H, ArH), 3.80 (s, 3H, 2 x OCH₃), 3.42 (m, 1H, CH₃CH₂CHNH₂), 3.00-2.79 (m, 4H, ArCH₂ y CH₃CH₂CH₂S), 1.691.54 (m, 4H, CH₃CH₂CHNH₂ y CH₃CH₂CH₂S), 0.97 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S), 0.93 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CHNH₂). Análisis Elemental (CHNS). Teórico (C 55.97%; H 8.77%; N 4.35%; S 9.96%); Experimental (C 56.30%; H 8.17%; N 4.61%; S 10.01%)

Procedimiento general para la obtención de los derivados *N*-formilos

Se disolvió 10 mmol del correspondiente clorhidrato en 100 mL de NaOH 30% y se extrajo con 3x50 mL de CH₂Cl₂, se secó con MgSO₄ anhidro y se evaporó el solvente. La amina libre extraída se mantuvo a reflujo por 24 horas con 15 mL de formiato de etilo. Se retornó la reacción a temperatura ambiente, se evaporó el reactivo/solvente y se recristalizó el producto en MeOH.

***N*-Formil-1-(2,5-dimetoxi-4-metiltiofenil)-etilamina (**8A**)**

Este compuesto fue obtenido de **1a** como un fino polvo blanco con un 80% de rendimiento: p.f. 123–124 °C. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.13 (s, 1H, *N*-CHO), 6.77 (s, 1H, ArH), 6.67 (s, 1H, ArH), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 3.55 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₂NH₂), 2.83 (t, 2H, J = 7.0 Hz, ArCH₂), 2.45 (s, 3H, SCH₃)

***N*-Formil-1-(2,5-dimetoxi-4-etiltiofenil)-etilamina (**8B**)**

Este compuesto fue obtenido de **1b** como un fino polvo blanco con un 97% de rendimiento: p.f. 115-113 °C. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.10 (s, 1H, *N*-CHO), 6.78 (s, 1H, ArH), 6.70 (s, 1H, ArH), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 2.92 (c, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S), 1.33 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S)

***N*-Formil-1-(2,5-dimetoxi-4-*n*-propiltiofenil)-etilamina (8C)**

Este compuesto fue obtenido de **1c** como un fino polvo blanco con un 86% de rendimiento: p.f. 108-105 °C. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.06 (s, 1H, *N*-CHO), 6.78 (s, 1H, ArH), 6.60 (s, 1H, ArH), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 3.46 (m, 2H, CH₂NH₂), 2.82-2.70 (m, 4H, CH₃CH₂CH₂S y ArCH₂), 1.59 (sext, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S), 0.96 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S)

(±)-*N*-Formil-1-(2,5-dimetoxi-4-metiltiofenil)-2-aminopropano (9A)

Este compuesto fue obtenido de **2a** como un fino polvo blanco con un 84% de rendimiento: p.f. 142-144 °C. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.05 (s, 1H, *N*-CHO), 6.78 (s, 1H, ArH), 6.65 (s, 1H, ArH), 4.27 (m, 1H, CH₃CHNH₂), 3.83 (s, 3H, 2 x OCH₃), 2.75 (d, 2H, J = 7.0, ArCH₂), 2.45 (s, 3H, CH₃S), 1.20 (d, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CHNH₂)

(±)-*N*-Formil-1-(2,5-dimetoxi-4-etiltiofenil)-2-aminopropano (9B)

Este compuesto fue obtenido de **2b** como un fino polvo blanco con un 77% de rendimiento: p.f. 130-134 °C; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.00 (s, 1H, *N*-CHO), 6.76 (s, 1H, ArH), 6.68 (s, 1H, ArH), 4.22 (m, 1H, CH₃CHNH₂), 3.80 (s, 3H, 2 x OCH₃), 2.78-2.64 (m, 4H, CH₃CH₂S y ArCH₂), 1.34 (d, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CHNH₂), 1.30 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S)

(±)-*N*-Formil-1-(2,5-dimetoxi-4-*n*-propiltiofenil)-2-aminopropano (9C)

Este compuesto fue obtenido de **2c** como un fino polvo blanco con un 86% de rendimiento: p.f. 120-123 °C. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 7.98 (s, 1H, *N*-CHO), 6.78 (s, 1H, ArH), 6.59 (s, 1H, ArH), 4.19 (m, 1H, CH₃CHNH₂), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 2.80-2.60 (m, 4H, CH₃CH₂CH₂S y ArCH₂), 1.60 (sext, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S), 1.14 (d, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CHNH₂), 0.96 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S)

(±)-*N*-Formil-1-(2,5-dimetoxi-4-metiltiofenil)-2-aminobutano (10A)

Este compuesto fue obtenido de **3a** como un fino polvo blanco con un 75% de rendimiento: p.f. 147-148 °C. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.09 (s, 1H, *N*-CHO), 6.76 (s, 1H, ArH), 6.66 (s, 1H, ArH), 4.14 (m, 1H, CH₃CHNH₂), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 2.82-2.76 (m, 2H, ArCH₂), 2.44 (s, 3H, SCH₃), 1.59 (m, 2H, CH₃CH₂CHNH₂), 0.98 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CHNH₂)

(±)-*N*-Formil-1-(2,5-dimetoxi-4-etiltiofenil)-2-aminobutano (10B)

Este compuesto fue obtenido de **3b** como un fino polvo blanco con un 86% de rendimiento: p.f. 128-132 °C. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.01 (s, 1H, *N*-CHO), 6.77 (s, 1H, ArH), 6.61 (s, 1H, ArH), 4.09 (m, 1H, CH₃CH₂CHNH₂), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 2.84 (cuad, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S), 2.77-2.57 (m, 2H, ArCH₂), 1.51 (m, 2H, CH₃CH₂CHNH₂), 1.22 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S), 0.90 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CHNH₂)

(±)-*N*-Formil-1-(2,5-dimetoxi-4-*n*-propiltiofenil)-2-aminobutano (10C)

Este compuesto fue obtenido de **3c** como un fino polvo blanco con un 91% de rendimiento: p.f. 117-119 °C. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.04 (s, 1H, *N*-CHO), 6.79 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 4.10 (m, 1H, CH₃CH₂CHNH₂), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 3.00-2.79 (m, 4H, ArCH₂ y CH₃CH₂CH₂S), 1.68-1.58 (m, 4H, CH₃CH₂CHNH₂ y CH₃CH₂CH₂S), 0.98-0.92 (m, 6H, CH₃CH₂CH₂S y CH₃CH₂CHNH₂)

Procedimiento general para la reducción de las *N*-Formamidas

De la misma manera y utilizando las mismas proporciones molares que en la reducción de los arilnitroalquenos a aminas se realizó la reducción de 10 mmol de los derivados *N*-formilo a las correspondientes aminas secundarias. Sus respectivos clorhidratos se obtuvieron de la misma manera que con las aminas primarias.

Clorhidrato de *N*-metil-1-(2,5-dimetoxi-4-metiltiofenil)-etilamina (MeSF₂EANMe)

Este compuesto fue obtenido de **8A** como un fino polvo blanco con un 83% de rendimiento: p.f. 170-172 °C. ¹H RMN (500 MHz, D₂O): δ 6.91 (s, 1H, ArH), 6.90 (s, 1H, ArH), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 3.25 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₂NH₂), 2.98 (t, 2H, J = 7.0 Hz, ArCH₂), 2.70 (s, 3H, NCH₃), 2.46 (s, 3H, SCH₃). Análisis Elemental (CHNSCl). Teórico (C 51.90%; H 7.26%; N 5.00%; S 11.50%; Cl 12.80%); Experimental (C 51.56%; H 7.24%; N 5.04%; S 11.74%; Cl 12.59%)

Clorhidrato de *N*-metil-1-(2,5-dimetoxi-4-etiltiofenil)-etilamina (EtSF₂EANMe)

Este compuesto fue obtenido de **8B** como un fino polvo blanco con un 88% de rendimiento: p.f. 145-147 °C. ¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 6.88 (s, 1H, ArH), 6.84 (s, 1H, ArH), 3.76 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.18 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₂NH₂), 2.92-2.82 (m, 4H, ArCH₂ y CH₃CH₂S), 2.64 (s, 3H, NCH₃), 1.17 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S). Análisis Elemental (CHNS). Teórico (C 53.50%; H 7.60%; N 4.80%; S 10.99%); Experimental (C 53.13%; H 7.86%; N 5.17%; S 10.72%)

Clorhidrato de *N*-metil-1-(2,5-dimetoxi-4-*n*-propiltiofenil)-etilamina (*n*-PrSF₂EANMe)

Este compuesto fue obtenido de **8C** como un fino polvo blanco con un 67% de rendimiento: p.f. 145-149 °C. ¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 6.93 (s, 1H, ArH), 6.87 (s, 1H, ArH), 3.76 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.19 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₂NH₂), 2.91 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S), 2.85 (t, 2H, J = 7.0 Hz, ArCH₂), 2.63 (s, 3H, NCH₃), 1.55 (sext, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S), 0.91 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CH₂S). Análisis Elemental (CHNS). Teórico (C 54.98%; H 7.91%; N 4.58%; S 10.48%); Experimental (C 55.67%; H 8.15%; N 4.89%; S 10.19%)

Clorhidrato de (\pm)-*N*-metil-1-(2,5-dimetoxi-4-metiltiofenil)-2-aminopropano (MeSANFNMe)

Este compuesto fue obtenido de **9A** como un fino polvo blanco con un 77% de rendimiento: p.f. 130–131 °C. ^1H RMN (500 MHz, D_2O): δ 6.93 (s, 1H, ArH), 6.91 (s, 1H, ArH), 3.84 (s, 6H, 2 x OCH_3), 3.52 (m, 1H, CH_3CHNH_2), 3.03-2.87 (dd, dd, 2H, $J = 7.0$ Hz, Ar CH_2), 2.68 (s, 3H, NCH_3), 2.46 (s, 3H, CH_3S), 1.24 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH_3CHNH_2). Análisis Elemental (CHNSCl). Teórico (C 53.50%; H 7.60%; N 4.80%; S 10.90%; Cl 12.15%); Experimental (C 52.64%; H 7.75%; N 4.81%; S 11.02%; Cl 11.99%)

Clorhidrato de (\pm)-*N*-metil-1-(2,5-dimetoxi-4-etiltiofenil)-2-aminopropano (EtSANFNMe)

Este compuesto fue obtenido de **9b** como un fino polvo blanco con un 88% de rendimiento: p.f. 130-134 °C. ^1H RMN (300 MHz, D_2O): δ 6.96 (s, 1H, ArH), 6.87 (s, 1H, ArH), 3.78 (s, 6H, 2 x OCH_3), 3.48 (m, 1H, CH_3CHNH_2), 3.00-2.79 (m, 4H, Ar CH_2 y $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{S}$), 2.64 (s, 3H, NCH_3), 1.21-1.17 (m, 6H, CH_3CHNH_2 y $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{S}$). Análisis Elemental (CHNS). Teórico (C 54.98%; H 7.91%; N 4.58%; S 10.48%); Experimental (C 54.76%; H 7.86%; N 4.84%; S 9.91%)

Clorhidrato de (\pm)-*N*-metil-1-(2,5-dimetoxi-4-*n*-propiltiofenil)-2-aminopropano (*n*-PrSANFNMe)

Este compuesto fue obtenido de **9c** como un fino polvo blanco con un 67% de rendimiento: p.f. 124-125 °C. ^1H RMN (300 MHz, D_2O): δ 6.88 (s, 1H, ArH), 6.82 (s, 1H, ArH), 3.76 (s, H, 2 x OCH_3), 3.47 (sext, 1H, $J = 7.0$ Hz, CH_3CHNH_2), 2.97-2.74 (m, 4H, Ar CH_2 y $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 2.63 (s, 3H, NCH_3), 1.54 (sext, 2H, $J = 7.0$ Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 1.17 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH_3CHNH_2), 0.90 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$). Análisis Elemental (CHNS). Teórico (C 56.32%; H 8.19%; N 4.38%; S 10.02%); Experimental (C 55.90%; H 8.09%; N 4.64%; S 10.19%)

Clorhidrato de (±)-*N*-metil-1-(2,5-dimetoxi-4-metiltiofenil)-2-aminobutano (MeSαEtNMe)

Este compuesto fue obtenido de **10a** como un fino polvo blanco con un 71% de rendimiento: p.f. 152–154 °C. ¹H RMN (500 MHz, D₂O): δ 6.93 (s, 1H, ArH), 6.91 (s, 1H, ArH), 3.84 (s, 3H, 2 x OCH₃), 3.40 (m, 1H, CH₃CH₂CHNH₂), 2.98 (d, 2H, J = 7.0 Hz, ArCH₂), 2.68 (s, 3H, NCH₃), 2.46 (s, 3H, CH₃S), 1.67 (m, 2H, CH₃CH₂CHNH₂), 0.99 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CHNH₂). Análisis Elemental (CHNSCl). Teórico (C 54.98%; H 7.90%; N 4.60%; S 10.48%; Cl 11.60%); Experimental (C 55.30%; H 7.76%; N 4.76%; S 10.11%; Cl 11.79%)

Clorhidrato de (±)-*N*-metil-1-(2,5-dimetoxi-4-etiltiofenil)-2-aminobutano (EtSαEtNMe)

Este compuesto fue obtenido de **10b** como un fino polvo blanco con un 92% de rendimiento: p.f. 137-139 °C. ¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 7.10 (s, 1H, ArH), 7.04 (s, 1H, ArH), 3.95 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.52 (m, 1H, CH₃CH₂CHNH₂), 3.10 (m, 4H, CH₃CH₂S y ArCH₂), 2.82 (s, 3H, NCH₃), 1.79 (m, 2H, CH₃CH₂CHNH₂), 1.36 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S), 1.10 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CHNH₂). Análisis Elemental (CHNS). Teórico (C 56.32%; H 8.19%; N 4.38%; S 10.02%); Experimental (C 55.92%; H 8.45%; N 4.80%; S 9.93%)

Clorhidrato de (±)-*N*-metil-1-(2,5-dimetoxi-4-*n*-propiltiofenil)-2-aminobutano (*n*-PrSαEtNMe)

Este compuesto fue obtenido de **10c** como un fino polvo blanco con un 84% de rendimiento: p.f. 134-137 °C. ¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 6.94 (s, 1H, ArH), 6.85 (s, 1H, ArH), 3.78 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.36 (q, 1H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂CHNH₂), 2.92-2.85 (m, 4H, ArCH₂ y CH₃CH₂CH₂S), 2.65 (s, 3H, NCH₃), 1.66-1.53 (m, 4H, CH₃CH₂CHNH₂ y CH₃CH₂CH₂S), 0.94 (m, 6H, CH₃CH₂CH₂S y CH₃CH₂CHNH₂). Análisis Elemental (CHNS). Teórico (C 57.55%; H 8.45%; N 4.19%; S 9.60%); Experimental (C 57.04%; H 8.06%; N 3.83%; S 9.15%)

SÍNTESIS DE 5-MeSFEA Y 5-MeSANF

2,4-Dimetoxitioanisol (19)

Con muy buena agitación, en un baño de hielo ($-10\text{ }^{\circ}\text{C}$) y bajo atmósfera de N_2 se agregaron 48.0 mmol de 1,3-dimetoxi-5-clorobenceno disuelto en 30 mL de Et_2O anhidro, sobre 61.0 mmol de Me_2S en 100 mL de Et_2O anhidro. La mezcla anterior se dejó agitando por 30 min después de lo cual se adicionó lentamente 0.51 mol de LDA. Se permitió a la mezcla de reacción retornar a temperatura ambiente y se dejó agitando por otros 30 min. La suspensión amarilla se vertió sobre 100 mL de H_2SO_4 10% v/v, se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con 3 x 75 mL CH_2Cl_2 , se secó con NaSO_4 anhidro, se evaporó el solvente y el producto se destiló a presión reducida ($80\text{-}85\text{ }^{\circ}\text{C}$ / 0.08 Torr). Se obtuvo un aceite incoloro que solidificó en un 76 % de rendimiento. Una muestra analítica se obtuvo al recrystalizar el sólido en Et_2O a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, punto de fusión: $31\text{-}33\text{ }^{\circ}\text{C}$ (lit. $35\text{-}37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ³⁹). ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 6.77 (d, 1H, $J = 9.0\text{ Hz}$, ArH), 6.76 (d, 1H, $J = 3.0\text{ Hz}$, ArH), 6.65 (dd, 1H, $J = 9.0\text{ Hz}$, $J' = 3.0\text{ Hz}$, ArH), 3.86 (s, 3H, OCH_3), 3.79 (s, 3H, OCH_3), 2.43 (s, 3H, CH_3S)

2,4-Dimetoxi-5-metiltiobenzaldehido (20)

Se utilizó la reacción de Vilsmeier clásica en la formilación de **19** (descrita con anterioridad). El producto fue obtenido después de recrystalizar en EtOH en un 99% de rendimiento como un polvo amarillo, con punto de fusión $91\text{-}94\text{ }^{\circ}\text{C}$. ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 10.36 (s, 1H, CHO), 7.25 (s, 1H, ArH), 6.71 (s, 1H, ArH), 3.94 (s, 3H, OCH_3), 3.90 (s, 3H, OCH_3), 2.50 (s, 3H, CH_3S)

1-(2,4-Dimetoxi-5-metiltiofenil)-2-nitroeteno (21)

Este compuesto fue obtenido de **20**, siguiendo el mismo procedimiento ya descrito. El producto fue obtenido como microcristales naranja en un 93% de rendimiento: p.f. $161\text{-}162\text{ }^{\circ}\text{C}$. ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 8.14 (d, 1H, $J = 13.5\text{ Hz}$, ArCHCHNO_2), 7.80

(d, 1H, J = 13.5 Hz, ArCHCHNO₂), 6.71 (s, 1H, ArH), 6.83 (s, 1H, ArH), 3.96 (s, 3H, OCH₃), 3.90 (s, 3H, OCH₃), 2.50 (s, 3H, CH₃S)

1-(2,4-Dimetoxi-5-metiltiofenil)-2-nitro-1-propeno (22)

Este compuesto fue obtenido de **20** como cristales naranja en un 82% de rendimiento: p.f. 133-134 °C (lit. 112-113 °C³⁹). ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 8.29 (s, 1H, ArCHCNO₂), 6.79 (s, 1H, ArH), 6.74 (s, 1H, ArH), 3.89 (s, 6H, 2 x OCH₃), 2.50 (s, 3H, CH₃S), 2.44 (s, 3H, CH₃CNO₂)

Clorhidrato de 1-(2,4-dimetoxi-5-metiltiofenil)-etilamina (5-MeSFEA)

Este compuesto fue obtenido de **21** utilizando el procedimiento general para reducción de arilnitroalquenos descrito anteriormente. El producto se obtuvo como un fino polvo blanco con un 70% de rendimiento: p.f. 239-240 °C. ¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 6.90 (s, 2H, ArH), 3.81 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.18 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₂NH₂), 2.92 (t, 2H, J = 7.0 Hz, ArCH₂), 2.43 (s, 3H, CH₃S). Análisis Elemental (CHNSCl). Teórico (C 50.09%; H 6.88%; N 5.31%, S 12.15%, Cl 13.44); Experimental (C 49.89%; H 6.97%, N 5.25%; S 12.10%, Cl 13.30%).

Clorhidrato de (±)-1-(2,4-dimetoxi-5-metiltiofenil)-2-aminopropano (5-MeSANF)

Este compuesto fue obtenido de **22** como un fino polvo blanco con un 67% de rendimiento: p.f. 197-199 °C (lit. 140.5-142 °C³⁹). ¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 6.89 (s, 1H, ArH), 6.87 (s, 1H, ArH), 3.81 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.59 (sext, 1H, J = 7.0 Hz, ArCH₂CHNH₂), 2.87 (d, 2H, J = 7.0 Hz, ArCH₂), 2.43 (s, 3H, CH₃S), 1.24 (d, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CHNH₂). Análisis Elemental (CHNSCl). Teórico (C 51.88%; H 7.26%; N 5.04%, S 11.54%, Cl 12.76); Experimental (C 52.03%; H 7.40%, N 4.96%; S 11.56%, Cl 12.66%).

SÍNTESIS DE LA FAMILIA 2,4,6

3,5-Dimetoxifenol (11)

Se agregó 0.41 mol de H₂SO₄ concentrado gota a gota a una solución de 0.32 mol de floroglucinol en 200 mL de MeOH, sin que la temperatura excediera de los 80 °C aproximadamente. Cuando la adición terminó se calentó a reflujo por 24 horas, se regresó la reacción a temperatura ambiente y se evaporó el exceso de MeOH obteniéndose un residuo aceitoso negro que destiló a (120-130 °C / 0.1 Torr). Se recuperó un aceite incoloro que consistía en una mezcla de los tres *O*-alquilados. La separación de los tri- y di-*O*-metilado se realizó basificando con K₂CO₃ 10% y extrayendo la fase acuosa con 3 x 75 mL de tolueno en donde se encontraban. Para recuperar el material de partida junto con el producto mono-*O*-metilado, después de la extracción con tolueno se extrajo la fase acuosa con Et₂O o CH₂Cl₂, acidificando la fase acuosa con HCl 10% hasta pH ~5.5 extrayendo nuevamente con CH₂Cl₂.

La separación del dimetoxifenol se realizó pasando el primer extracto por columna cromatográfica (gel de sílice 60 G Merck, hexano / acetato de etilo 4:1 como eluyente). El producto se obtuvo como un aceite incoloro, que solidificó a baja temperatura, en un 47% de rendimiento, punto de fusión de 38-40 °C; (lit. 32-34 °C⁵⁴). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6.08 (t, 1H, J = 2.0 Hz, ArH), 6.03 (d, 2H, J = 2.0 Hz, ArH), 5.53 (s.a., 1H, ArOH), 3.74 (s, 6H, 2 x OCH₃)

O-(3,5-Dimetoxifenil)-dimetiltiocarbamato (12)

Se agregó en pequeñas porciones 0.60 mol de NaH a una solución bien agitada a -10 °C de 0.50 mol de **11** en 200 mL de DMF seco. Una vez que la evolución de gas (H₂) cesó se agregó de una sola vez el cloruro de *N,N*-dimetilcarbamoilo disuelto en 100 mL de DMF seco. Después que la adición se completó se calentó la reacción a no más de 60 °C durante 6 horas (se controló la formación del producto por CCF). Se retornó la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se basificó con 500 mL de KOH 5%. La solución se saturó con salmuera y se extrajo con 3 x 75 mL CH₂Cl₂. Se evaporó el solvente y el residuo se lavó con 3 x 500 mL de agua para eliminar el resto de DMF. Se destiló el

producto (140-160°C/ 0.02 Torr) y se obtuvo un aceite amarillo que cristalizó en EtOH frío como un polvo blanco en un 47% de rendimiento, punto de fusión de 76-77 °C⁴⁵. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 6.36 (t, 1H, J = 2.0 Hz, ArH), 6.25 (d, 2H, J = 2.0 Hz, ArH), 3.77 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.45 (s, 3H, CH₃N), 3.32 (s, 3H, CH₃N)

S-(3,5-Dimetoxifenil)-dimetiltiocarbamato (13)

Se calentó a reflujo en baño de silicona a 285 °C por 8 horas 0.15 mol de **12**, después de lo cual se regresó la reacción a temperatura ambiente. El producto se obtuvo por destilación (115-120 °C / 0.02 Torr) como un aceite incoloro que cristalizó en un 88% de rendimiento, punto de fusión 36-38 °C. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 6.67 (d, 2H, J = 2.0 Hz, ArH), 6.48 (t, 1H, J = 2.0 Hz, ArH), 3.78 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.05 (s, 6H, (CH₃)₂N)

3,5-Dimetoxibencenotiol (14)

Bajo atmósfera de N₂ y con buena agitación se disolvieron 10.0 mmol de **13** en 30 mL de MeOH, se agregaron 60.0 mmol de KOH y se calentó a reflujo por una hora (controlando el avance de la reacción por CCF). Se regresó la mezcla de reacción a temperatura ambiente, se acidificó con HCl 20% hasta llegar aproximadamente a pH ~ 1 a 2, se extrajo la fase acuosa con 3 x 50 mL CH₂Cl₂, se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó el solvente. Se purificó el residuo destilando a presión reducida (80-85°C / 0.1 Torr). El producto se obtuvo como un aceite incoloro en un 100% de rendimiento. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 6.43 (d, 2H, J = 2.0 Hz, ArH), 6.27 (t, 1H, J = 2.0 Hz, ArH), 3.76 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.50 (s, 1H, SH)

1,3-Dimetoxi-5-metiltiobenceno (15A)

Utilizando el procedimiento ya descrito anteriormente, este compuesto fue obtenido como un aceite incoloro que destiló a (80-85 °C / 0.03 Torr). Con Me₂SO₄ como agente alquilante se obtuvo 98% de rendimiento y con yoduro de metilo como agente alquilante

se obtuvo 80% de rendimiento⁴⁵. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 6.40 (d, 2H, J = 2.0 Hz, ArH), 6.23 (t, 1H, J = 2.0 Hz, ArH), 3.76 (s, 6H, 2 x OCH₃), 2.45 (s, 3H, CH₃S)

1,3-Dimetoxi-5-etiltiobenceno (15B)

Utilizando el procedimiento ya descrito anteriormente, este compuesto fue obtenido como un aceite incoloro que destiló a (80-85 °C / 0.1 Torr). Se utilizó bromuro de etilo como agente alquilante y se obtuvo 80 % de rendimiento. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 6.48 (d, 2H, J = 2.0 Hz, ArH), 6.28 (t, 1H, J = 2.0 Hz, ArH), 3.79 (s, 6H, 2 x OCH₃), 2.95 (c, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S), 1.34 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S)

Procedimiento general para la preparación de los aldehidos (16A, 16B)

A una solución, bien agitada en baño de acetona / hielo seco (-78 °C) y bajo atmósfera de N₂, de 10.0 mmol de TMEDA y 10.0 mmol del correspondiente alquiltiobenceno (**15A-B**) disuelto en 30 mL de Et₂O seco, se agregó muy lentamente 600 mmol de *n*-BuLi en 2.5 M hexano y se siguió agitando por 1 hora mientras se retornó la reacción a temperatura ambiente. Se agregó muy lentamente 20.0 mmol de DMF seco y se dejó agitar por 1 hora adicional. La mezcla se vertió sobre H₂SO₄ 5 % v/v, se separó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo con 3 x 75 mL de Et₂O, se combinaron las fases orgánicas y se secó con Na₂SO₄ anhidro, se evaporó el solvente y el producto se purificó por destilación al vacío y en el caso de **16A** se recristalizó en MeOH.

2,6-Dimetoxi-4-metiltiobenzaldehido (16A)

Este compuesto fue obtenido de **15A** como un aceite amarillo que destiló a (145-150 °C / 0.04 Torr) y que luego solidificó con un punto de fusión 81-82 °C. El producto se obtuvo después de recristalizar en MeOH en un 60% de rendimiento. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 10.40 (s, 1H, CHO), 6.40 (s, 2H, ArH), 3.90 (s, 6H, 2 x OCH₃), 2.54 (s, 3H, CH₃S). Análisis Elemental (CHS). Teórico (C 56.59%; H 5.70%; S 15.10%); Experimental (C 55.91%; H 5.77%; S 14.83%). ESIMS 213 (MH⁺)

2,6-Dimetoxi-4-etiltiobenzaldehido (16B)

Este compuesto fue obtenido de **15B** como un aceite amarillo que solidificó con un punto de fusión 85-86 °C en un 87% de rendimiento. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 10.40 (s, 1H, CHO), 6.43 (s, 2H, ArH), 3.89 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.05 (c, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S), 1.40 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S). ESIMS 227 (MH⁺)

1-(2,6-Dimetoxi-4-metiltiofenil)-2-nitroeteno (17A)

Utilizando el procedimiento ya descrito anteriormente para la condensación con nitrometano, este compuesto fue obtenido de **16A** como cristales de color amarillo brillante en forma de agujas en un 94% de rendimiento: p.f. 155-156 °C. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 8.50 (d, 1H, J = 13.5 Hz, ArCHCHNO₂), 8.02 (d, 1H, J = 13.5 Hz, ArCHCHNO₂), 6.43 (s, 2H, ArH), 3.94 (s, 6H, 2 x OCH₃), 2.55 (s, 3H, CH₃S)

1-(2,6-Dimetoxi-4-etiltiofenil)-2-nitroeteno (17B)

Utilizando el procedimiento ya descrito anteriormente para la condensación con nitrometano, este compuesto fue obtenido de **16B** como microcristales de color naranja fuerte en un 97% de rendimiento: p.f. 116-117 °C. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 8.50 (d, 1H, J = 13.5 Hz, ArCHCHNO₂), 8.02 (d, 1H, J = 13.5 Hz, ArCHCHNO₂), 6.47 (s, 2H, ArH), 3.93 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.04 (c, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S), 1.41 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S)

1-(2,6-Dimetoxi-4-metiltiofenil)-2-nitro-1-propeno (18A)

Utilizando el procedimiento ya descrito anteriormente para la condensación con nitroetano, este compuesto fue obtenido de **16A** como cristales algodonosos en un 80% de rendimiento p.f. 147-149 °C. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7.99 (s, 1H, ArCHCNO₂), 6.52 (s, 2H, ArH), 3.90 (s, 6H, 2 x OCH₃), 2.60 (s, 3H, CH₃S), 2.15 (s, 3H, CH₃CNO₂)

1-(2,6-Dimetoxi-4-etiltiofenil)-2-nitro-1-propeno (18B)

Utilizando el procedimiento ya descrito anteriormente para la condensación con nitroetano, este compuesto fue obtenido de **16B** como cristales algodonosos de color naranja en un 82% de rendimiento: p.f. 77-78 °C. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7.92 (s, 1H, ArCHCNO₂), 6.52 (s, 2H, ArH), 3.84 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.01 (c, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S), 2.10 (s, 3H, CH₃CNO₂), 1.39 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S)

Clorhidrato de 1-(2,6-dimetoxi-4-metiltiofenil)-etilamina (2,4,6-MeSFEA)

Utilizando el procedimiento ya descrito anteriormente para la obtención de las aminas con LiALH₄, este compuesto fue obtenido de **7A** como un fino polvo blanco con un 62% de rendimiento: p.f. 242-243 °C. ¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 6.62 (s, 2H, ArH), 3.80 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.08 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₂NH₂), 2.91 (t, 2H, J = 7.0 Hz, ArCH₂), 2.49 (s, 3H, CH₃S). Análisis Elemental (CHNSCl). Teórico (C 50.09%; H 6.88%; N 5.31%; S 12.15%; Cl 13.44%); Experimental (C 50.44%; H 6.98%; N 5.35%; S 11.97%; Cl 13.38%)

Clorhidrato de 1-(2,6-dimetoxi-4-etiltiofenil)-etilamina (2,4,6-EtSFEA)

Utilizando el procedimiento ya descrito anteriormente para la obtención de las aminas con LiALH₄, este compuesto fue obtenido de **7B** como un fino polvo blanco con un 55% de rendimiento: p.f. 215-216 °C. ¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 6.66 (s, 2H, ArH) 3.79 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.07 (t, 2H, J = 7.0 Hz, CH₂NH₂), 2.98 (c, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S), 2.91 (t, 2H, J = 7.0 Hz, ArCH₂), 1.23 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S). Análisis Elemental (CHNS). Teórico (C 51.88%; H 7.26%; N 5.04%; S 11.54%); Experimental (C 51.73%; H 7.49%; N 5.35%; S 11.20%)

Clorhidrato de (±)-1-(2,6-dimetoxi-4-metiltiofenil)-2-aminopropano (2,4,6-MeSANF)

Utilizando el procedimiento ya descrito anteriormente para la obtención de las aminas con LiALH₄, este compuesto fue obtenido de **8A** como un fino polvo blanco con un 58% de rendimiento: p.f. 248-246 °C. ¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 6.62 (s, 2H, ArH), 3.80

(s, 6H, 2 x OCH₃), 3.50 (sext, 1H, J = 7.0 Hz, CHNH₂), 2.85 (d, 2H, J = 7.0 Hz, ArCH₂), 2.50 (s, 3H, CH₃S), 1.22 (d, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CHNH₂). Análisis Elemental (CHNS). Teórico (C 51.88%; H 7.26%; N 5.04%; S 11.54%); Experimental (C 51.70%; H 7.42%; N 5.38%; S 11.28%)

Clorhidrato de (±)-1-(2,6-dimetoxi-4-etiltiofenil)-2-aminopropano (2,4,6-EtSANF)

Utilizando el procedimiento ya descrito anteriormente para la obtención de las aminas con LiAlH₄, este compuesto fue obtenido de **6B** como un fino polvo blanco con un 48% de rendimiento: p.f. 165-166 °C. ¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 6.65 (s, 2H, ArH), 3.77 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.49 (sext, 1H, J = 7.0 Hz, CHNH₂), 2.98 (c, 2H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S), 2.84 (d, 2H, J = 7.0 Hz, ArCH₂), 1.23 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂S), 1.22 (d, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CHNH₂). Análisis Elemental (CHNS). Teórico (C 53.50%; H 7.60%; N 4.80%; S 10.99%); Experimental (C 53.43%; H 7.78%; N 5.17%; S 10.74%)

SÍNTESIS DE 2-Cloro-(4,6-dimetoxifenil)-isopropilamina (2-cloro)

2 Cloro-4,6-dimetoxibenzaldehido (40)

Se utilizó la reacción de Vilsmeier clásica en la formilación de 1,3-dimetoxi-5-clorobenceno (descrita con anterioridad). El producto fue obtenido después de recristalizar en MeOH en un 78% de rendimiento como un polvo amarillo, con punto de fusión 75-80 °C (lit. 75-80°C^{55;56}). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 10.40 (s, 1H, CHO), 6.60 (s, 1H, ArH), 6.40 (s, 1H, ArH), 3.90 (s, 3H, OCH₃), 3.85 (s, 3H, OCH₃)

2-Cloro-4,6-dimetoxifenil-2-nitro-1-propeno (41)

Utilizando la reacción de condensación anteriormente descrita, este compuesto fue obtenido de **40** como cristales naranja en un 82% de rendimiento: p.f. 121-124 °C. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 7.85 (s, 1H, ArCH), 6.61 (d, 1H, J = 2.0 Hz, ArH), 6.40 (d, 1H, J = 2.0 Hz, ArH), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 2.10 (s, 3H, CH₃CNO₂)

Clorhidrato de (±)-2-cloro-4,6-dimetoxifenil-2-aminopropano (2-cloro)

Utilizando la reacción de reducción anteriormente descrita, este compuesto fue obtenido de **41** como microcristales blancos en un 45% de rendimiento: p.f. 190-193 °C. ¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 6.70 (d, 1H, J = 2.0 Hz, ArH), 6.52 (d, 1H, J = 2.0 Hz, ArH), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 3.57 (sex, 1H, CH₃CHNH₂), 2.98 (d, 2H, J = 7.0 Hz, ArCH₂), 1.30 (d, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃CNH₂). Análisis Elemental (CHNS). Teórico (C 49.64%; H 6.44%; N 5.26%); Experimental (C 49.89%; H 6.70%; N 5.29%)

SÍNTESIS DE 2,4,6-trimetoxifenilisopropilamina (2,4,6-MeO)

2,4,6-trimetoxibenzaldehído (70)

Se utilizó la reacción de Vilsmeier clásica en la formilación de 1,3,5-trimetoxibenceno (descrita con anterioridad). El producto fue obtenido después de recristalizar en MeOH en un 85% de rendimiento como un polvo amarillo, con punto de fusión 119-121 °C. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 10.40 (s, 1H, CHO), 6.60 (s, 2H, ArH), 3.90 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.85 (s, 3H, OCH₃)

2,4,6-trimetoxifenil-2-nitro-1-propeno (71)

Utilizando la reacción de condensación anteriormente descrita, este compuesto fue obtenido de **70** como cristales naranja en un 82% de rendimiento: p.f. 144-147 °C. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 7.95 (s, 1H, ArCH), 6.15 (s, 2H, ArH), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.80 (s, 6H, 2 x OCH₃), 2.10 (s, 3H, CH₃CNO₂)

Clorhidrato de (±)-2,4,6-trimetoxifenil-2-aminopropano (2,4,6-MeO)

Utilizando la reacción de reducción anteriormente descrita, este compuesto fue obtenido de **71** como microcristales blancos en un 45% de rendimiento: p.f. 208-212 °C. ¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 6.30 (s, 2H, ArH), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 3.75 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.49 (sex, 1H, CH₃CHNH₂), 2.80 (d, 2H, J = 7.0 Hz, ArCH₂), 1.20 (d, 3H, J =

7.0 Hz, $\underline{\text{CH}_3\text{CHNH}_2}$). Análisis Elemental (CHNS). Teórico (C 55.06%; H 7.70%; N 5.25%); Experimental (C 54.73%; H 7.84%; N 5.58%)

SÍNTESIS DE 6-MeSFEA Y 6-MeSANF

2,4-Dimetoxi-6-metiltiobenzaldehido (50)

Se utilizó la reacción de Vilsmeier clásica en la formilación de **15A** (descrita con anterioridad). El producto fue obtenido después de recrystalizar en EtOH en un 90% de rendimiento como un polvo amarillo, con punto de fusión 120-123 °C. ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 10.45 (s, 1H, CHO), 6.40 (s, 1H, ArH), 6.25 (s, 1H, ArH), 3.90 (s, 6H, 2 x OCH_3), 2.40 (s, 3H, CH_3S). ESIMS 213 (MH^+)

1-(2,4-Dimetoxi-6-metiltiofenil)-2-nitroeteno (51)

Este compuesto fue obtenido de **50**, siguiendo el mismo procedimiento ya descrito. El producto fue obtenido como agujas amarillas en un 83% de rendimiento: p.f. 142-143 °C. ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 8.58 (d, 1H, $J = 13.5$ Hz, ArCHCHNO_2), 7.99 (d, 1H, $J = 13.5$ Hz, ArCHCHNO_2), 6.50 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz, ArH), 6.30 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz, ArH), 3.95 (s, 3H, OCH_3), 3.85 (s, 3H, OCH_3), 2.50 (s, 3H, CH_3S)

1-(2,4-Dimetoxi-6-metiltiofenil)-2-nitro-1-propeno (52)

Este compuesto fue obtenido de **50** como cristales naranja en un 82% de rendimiento: p.f. 143-148 °C. ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7.90 (s, 1H, ArCH), 6.43 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz, ArH), 6.31 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz, ArH), 3.85 (s, 3H, OCH_3), 2.80 (s, 3H, CH_3O), 2.45 (s, 3H, CH_3S), 2.07 (s, 3H, $\underline{\text{CH}_3\text{CNO}_2}$)

Clorhidrato de 1-(2,4-dimetoxi-6-metiltiofenil)-etilamina (6-MeSFEA)

Este compuesto fue obtenido de **51** utilizando el procedimiento general para reducción de arilnitroalquenos descrito anteriormente. El producto se obtuvo como un fino polvo

blanco con un 62% de rendimiento: p.f. 228-229 °C. ^1H RMN (300 MHz, D_2O): δ 6.39 (d, 1H, $J = 2$ Hz, ArH), 6.28 (d, 1H, $J = 2$ Hz, ArH), 3.81 (s, 3H, OCH_3), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 2.83 (m, 4H, CH_2NH_2 y ArCH_2), 2.43 (s, 3H, CH_3S). Análisis Elemental (CHNSCl). Teórico (C 50.09%; H 6.88%; N 5.31%, S 12.15%, Cl 13.44%); Experimental (C 50.15%; H 6.97%; N 5.28%, S 12.20%, Cl 13.36%).

Clorhidrato de (\pm)-1-(2,4-dimetoxi-6-metiltiofenil)-2-aminopropano (6-MeSANF)

Este compuesto fue obtenido de **52** como un fino polvo blanco con un 52% de rendimiento: p.f. 195-200 °C. ^1H RMN (300 MHz, D_2O): δ 6.50 (s, 1H, ArH), 6.45 (s, 1H, ArH), 3.81 (s, 3H, OCH_3), 3.78 (s, 3H, OCH_3), 3.55 (sext, 1H, $J = 7.0$ Hz, $\text{ArCH}_2\text{CHNH}_2$), 2.94 (m, 2H, ArCH_2), 2.45 (s, 3H, CH_3S), 1.27 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH_3CHNH_2). Análisis Elemental (CHNS). Teórico (C 51.88%; H 7.26%; N 5.04%; S 11.54%); Experimental (C 51.68%; H 7.47%; N 5.28%; S 11.07%)

SÍNTESIS DE 4-metiltiofenilpropilamina (PrNH_2)

3-(4-Metiltiofenil)-acrilonitrilo (100)

A una suspensión de KOH (1.5 g, 26.7 mmol; como polvo fino) en 20 mL de acetonitrilo se agregó 4-metiltiobenzaldeido (4.0 g, 26.0 mmol). La mezcla de reacción se calentó 15 min a reflujo con agitación magnética, después de lo cual fue vertida sobre 50 g de hielo picado. La fase orgánica fue separada y lavada con agua. Se evaporó el solvente a presión reducida resultando en un aceite amarillo grueso, que fue purificado con destilación (145-150 °C/ 0.02 Torr) para dar 3.4 g (75% rendimiento) de una mezcla *E/Z* en proporción 4:1 (por análisis de ^1H RMN). ^1H NMR (E, CDCl_3): δ 7.40 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, Ar-3-H, Ar-5-H), 7.30 (d, $J = 12.6$ Hz, 1H, ArCHCHCN), 7.20 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, Ar-2-H, Ar-6-H), 5.80 (d, $J = 12.6$ Hz, 1H, ArCHCHCN), 2.50 (s, 3H, CH_3S).

3-(4-Metiltiofenil)-propionitrilo (101)

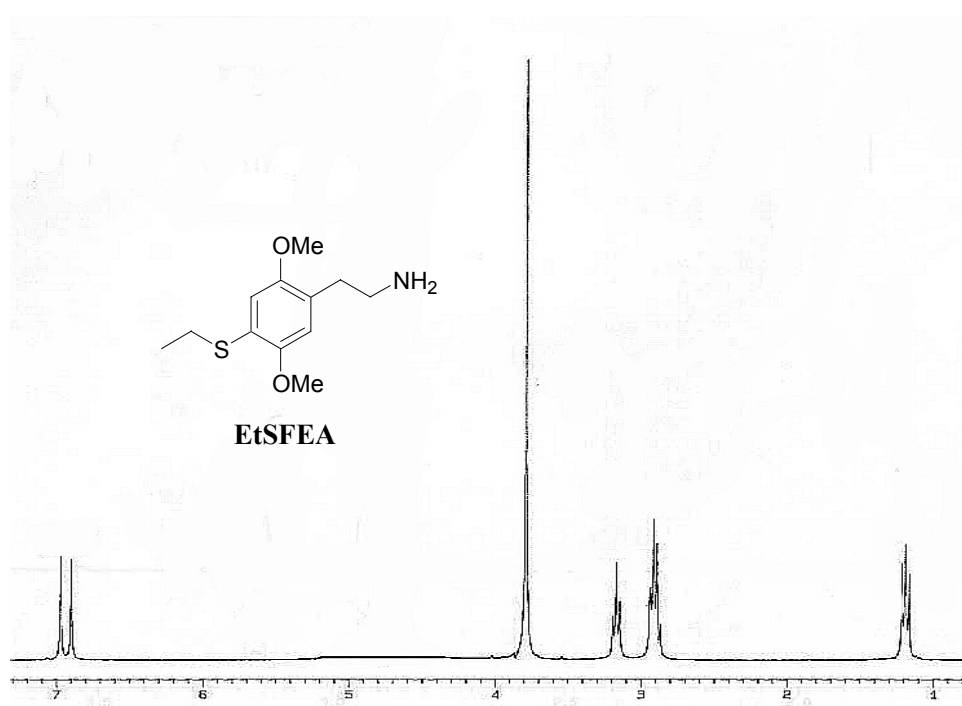
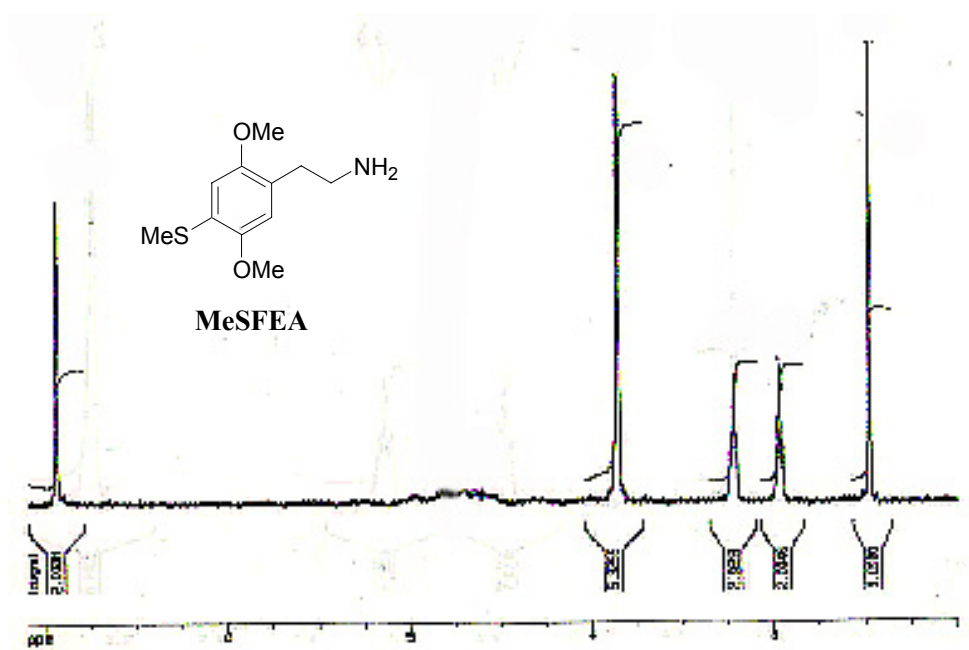
A una solución bien agitada de **100** (1.0 g, 5.7 mmol) en 10 mL de piridina y 3 mL de MeOH, se agregó en porciones NaBH₄ (0.22 g, 5.7 mmol). La mezcla de reacción fue calentada a reflujo por 3 h. Después de enfriar se vertió sobre 100 mL de 10% v/v HCl en agua con hielo. La solución fue extraída con 2 x 50mL de CH₂Cl₂, la fase orgánica fue separada y el solvente removido bajo presión reducida obteniéndose un aceite incoloro, el cual fue purificado usando destilación (123-125 °C/ 0.02 Torr) para dar 700 mg (70% rendimiento). ¹H RMN (CDCl₃): δ 7.24 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, Ar-3-H, Ar-5-H), 7.15 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, Ar-2-H, Ar-6-H), 2.91 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, ArCH₂CH₂CN), 2.60 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, ArCH₂CH₂CN), 2.47 (s, 3H, CH₃S). Análisis Elemental (C₁₀H₁₁NS): Teórico: (C, 67.76%; H, 6.25%; N, 7.90%; S, 18.09%). Experimental (C 68.05%; H 6.11%; N, 7.84%; S, 18.16%).

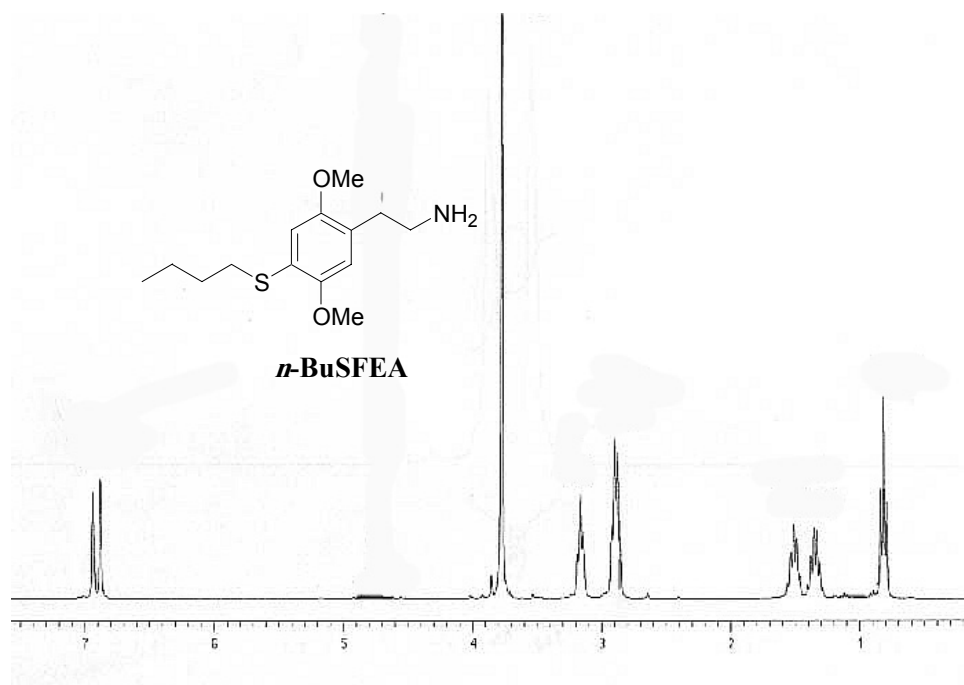
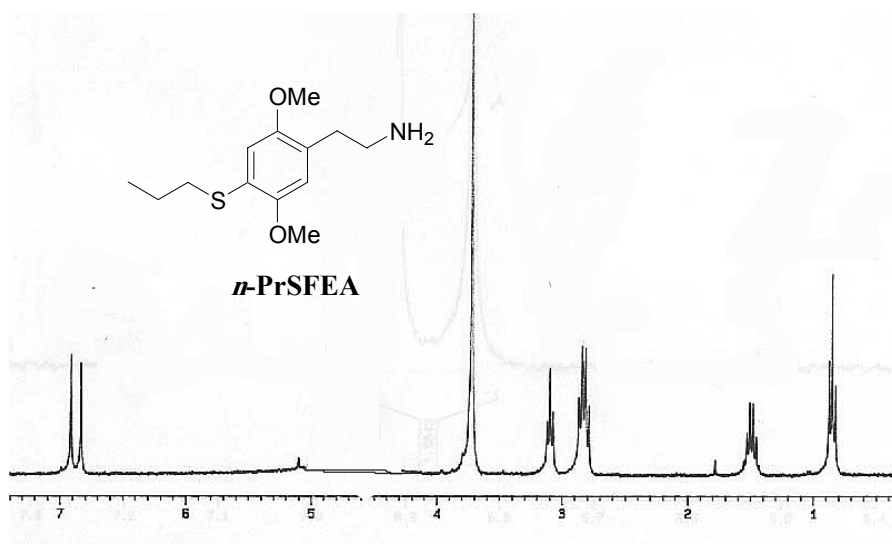
Clorhidrato de 3-(4-Metiltiofenil)-propilamina (PrNH₂)

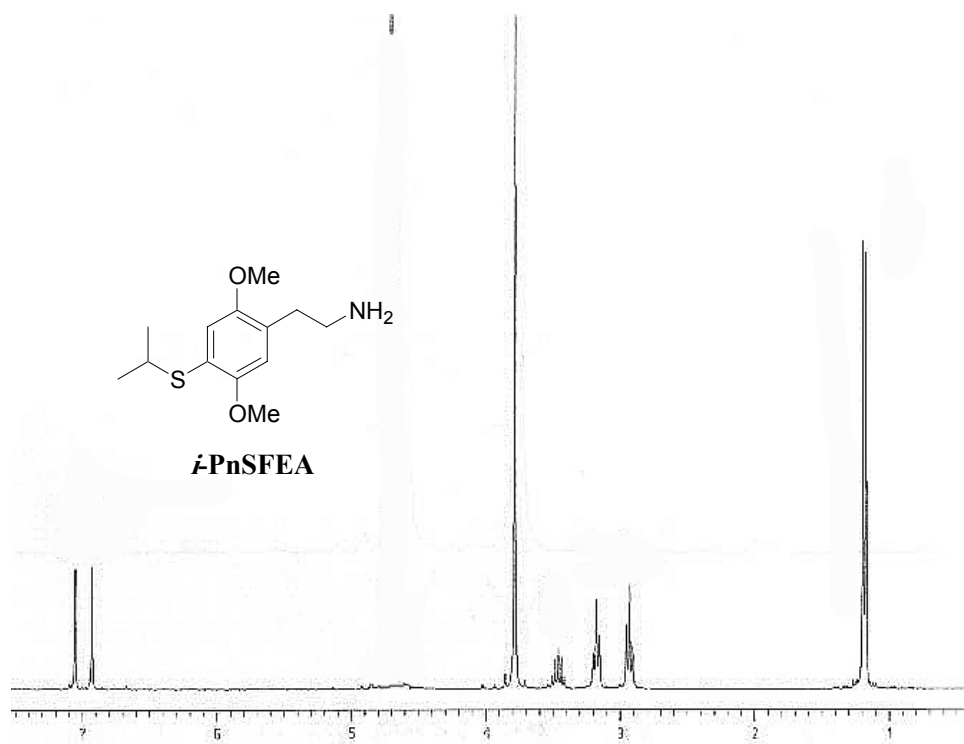
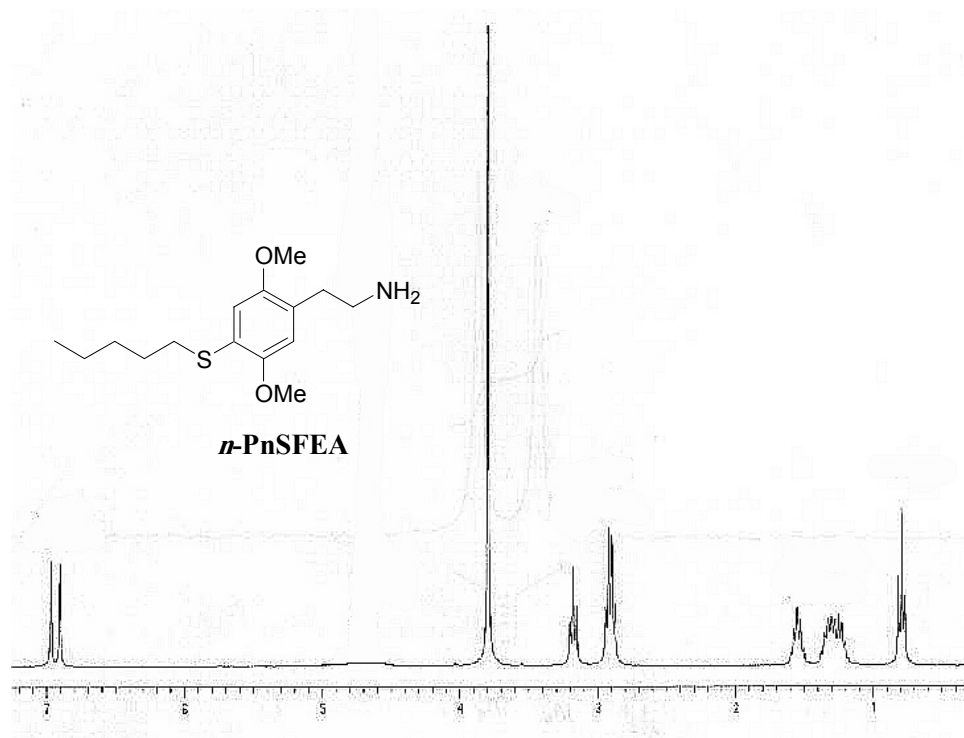
Una solución de **101** (1.0 g, 5.6 mmol) en 5 mL de THF fue agregada gota a gota a una suspensión de LiAlH₄ (0.5 g, 13.0 mmol) en 10 mL de THF recién destilado. La mezcla de reacción fue calentada a reflujo por 6 h. El exceso de LiAlH₄ fue descompuesto por adición de 0.5 mL de agua destilada, 0.5 mL 15% p/v NaOH y 1.5 mL de agua destilada sucesivamente. El sólido fue filtrado y lavado con 3 x 10mL de THF. El solvente fue removido al vacío y el residuo fue purificado por destilación a presión reducida (110-115 °C/ 0.02 Torr). El aceite resultante fue cristalizado como clorhidrato, usando HCl en IPA/Et₂O para dar 300 mg de microcristales blancos (61% rendimiento). ¹H RMN (D₂O): δ 7.29 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, Ar-3-H, Ar-5-H), 7.21 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, Ar-2-H, Ar-6-H), 2.95 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, ArCH₂CH₂CH₂NH₂), 2.65 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, ArCH₂CH₂CH₂NH₂), 2.45 (s, 3H, CH₃S), 1.88-1.90 (m, 4H, ArCH₂CH₂CH₂NH₂). Análisis Elemental (C₁₀H₁₅NS.HCl): Teórico (C, 55.16%; H, 7.41%; N, 6.43%; S, 14.73%); Experimental: (C 55.15%; H 7.39%; N, 6.48%; S, 14.81%)

ANEXO 2

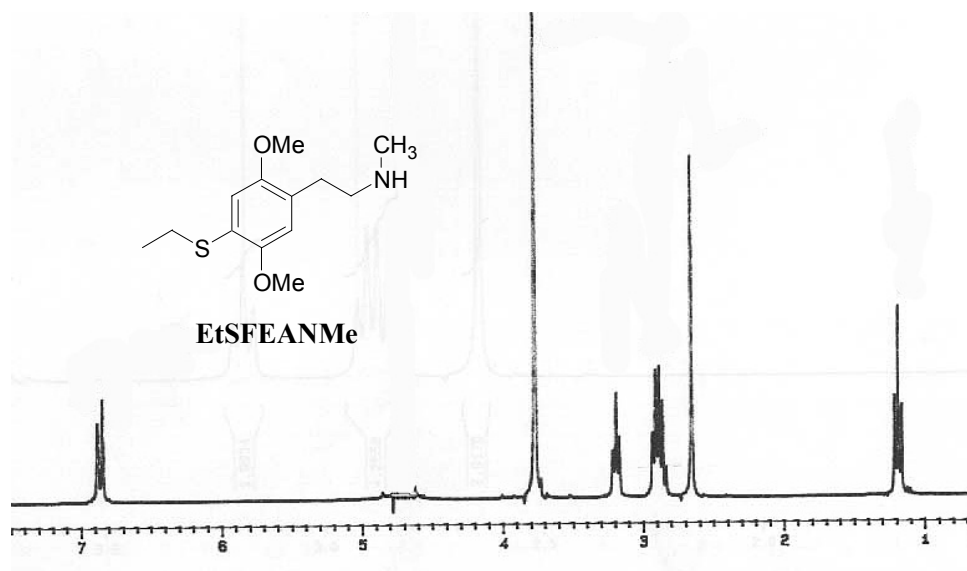
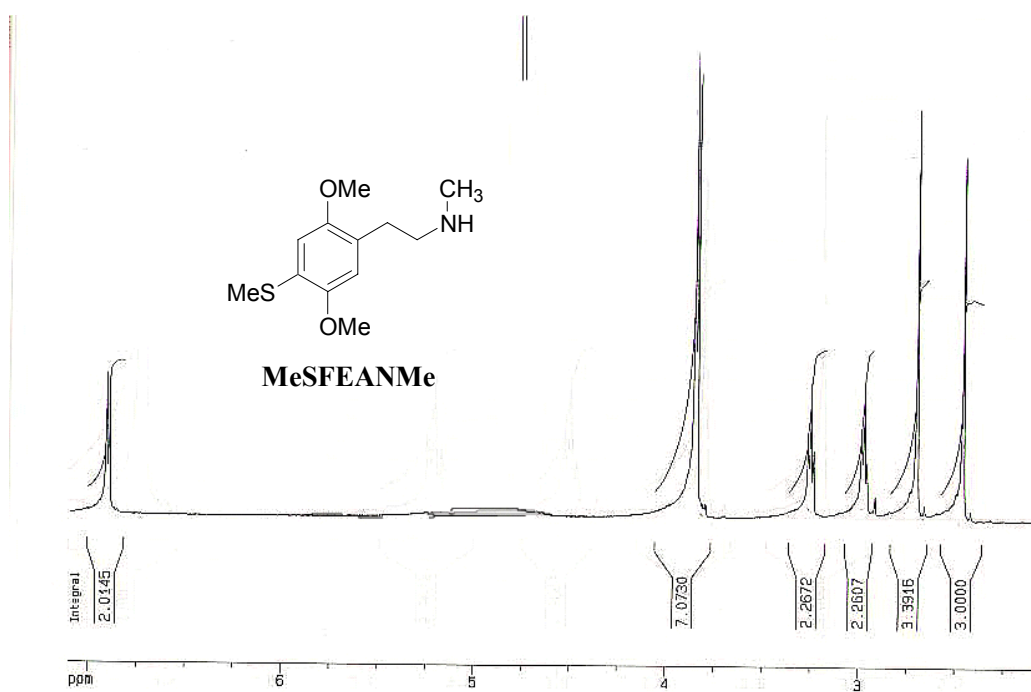
Espectros de ^1H -RMN para los productos finales, como sales clorhidratos, de los compuestos de la tabla I

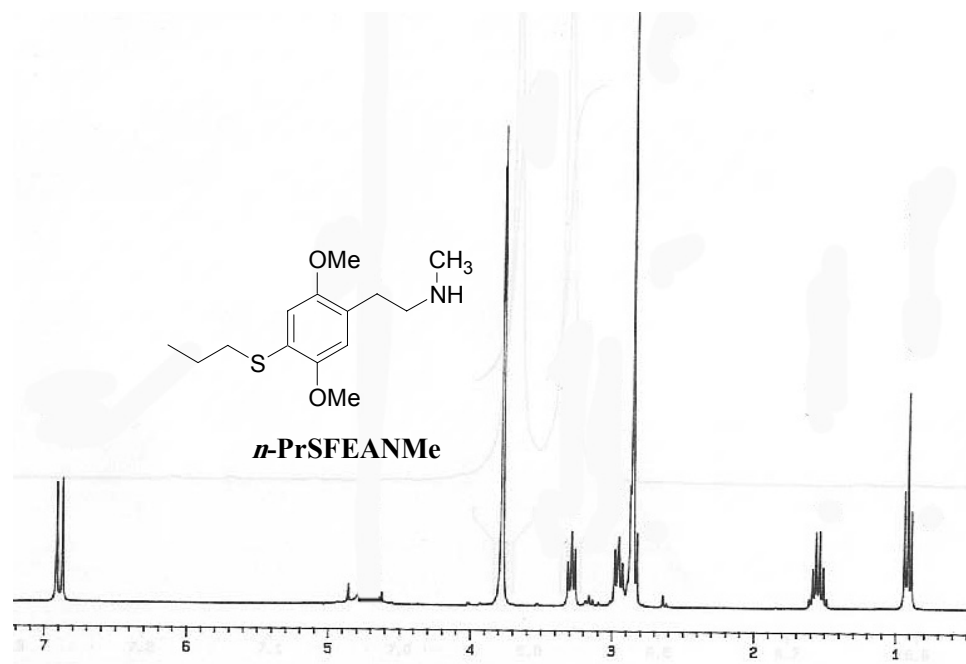




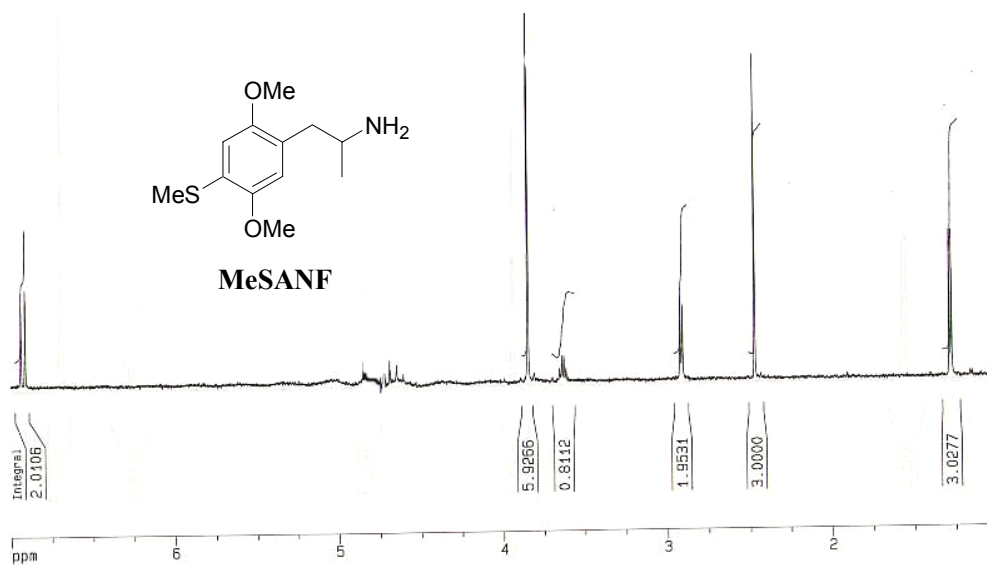


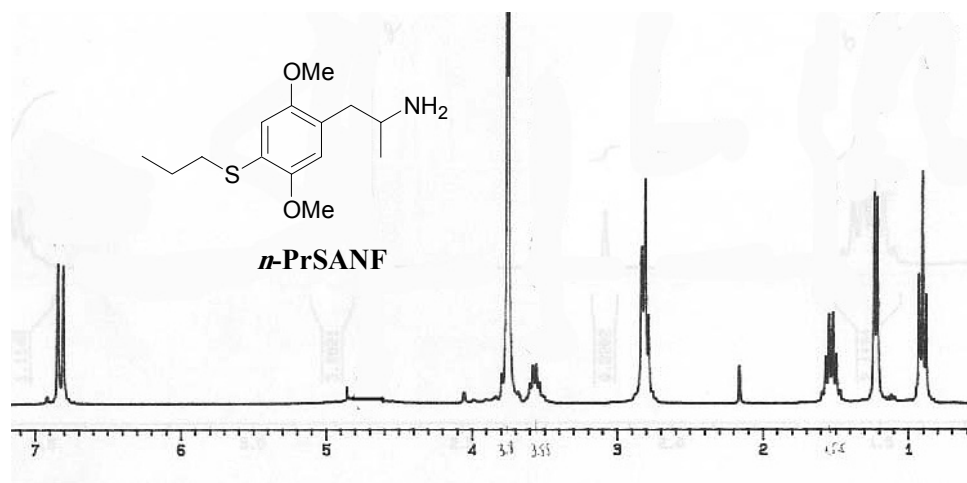
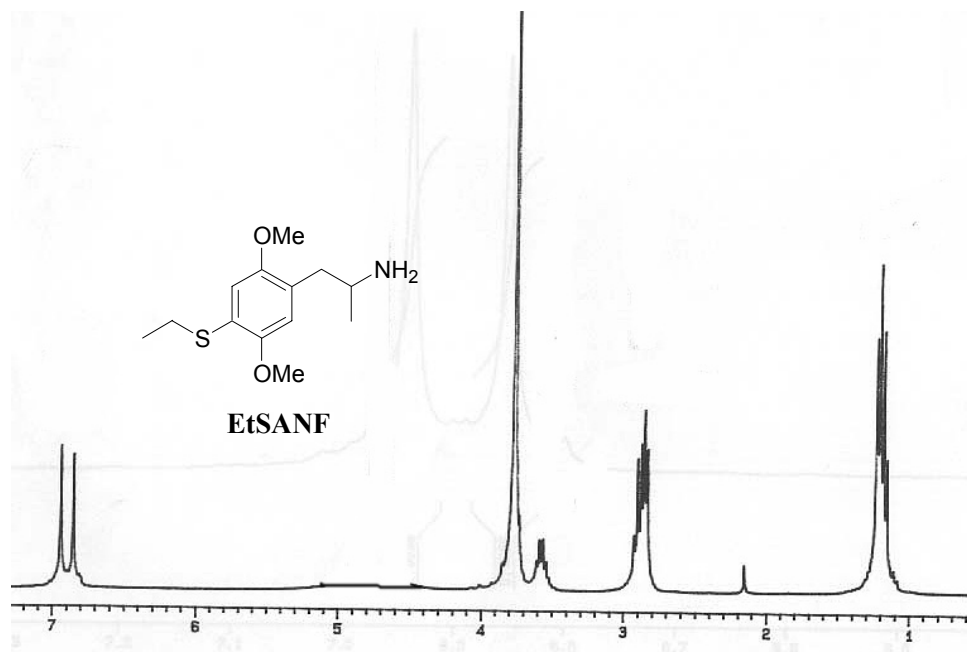
Espectros de ^1H -RMN para los productos finales, como sales clorhidratos, de los compuestos de la tabla II

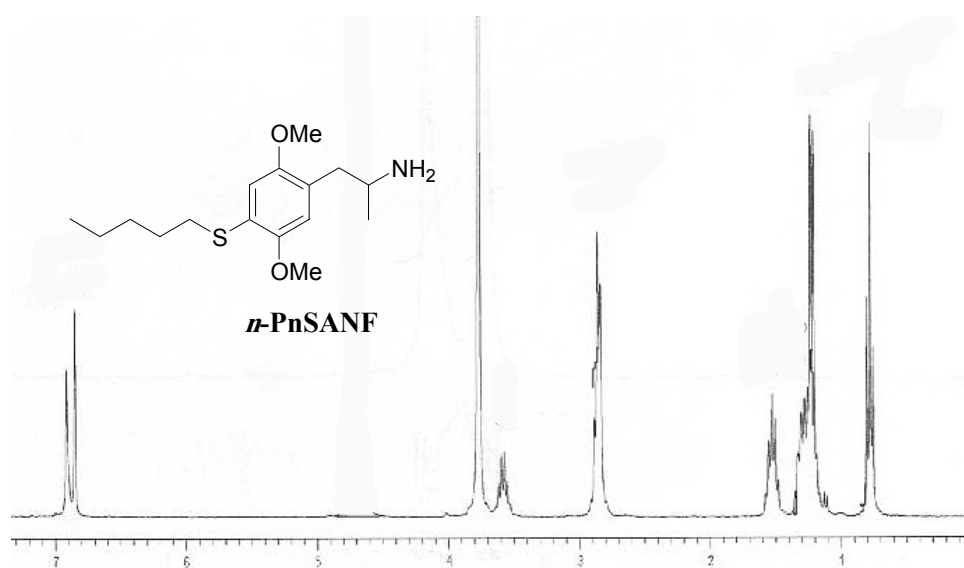
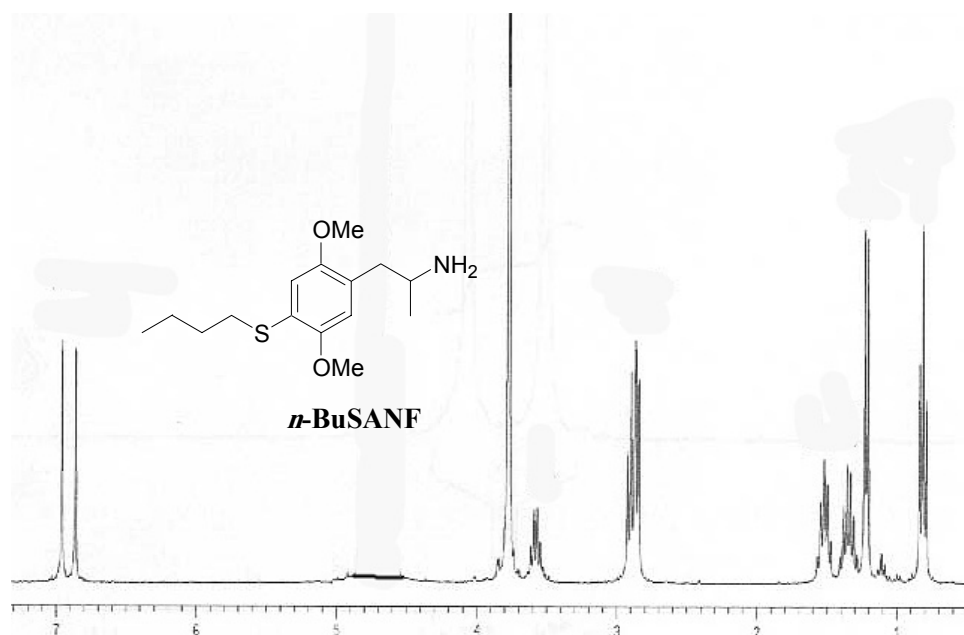


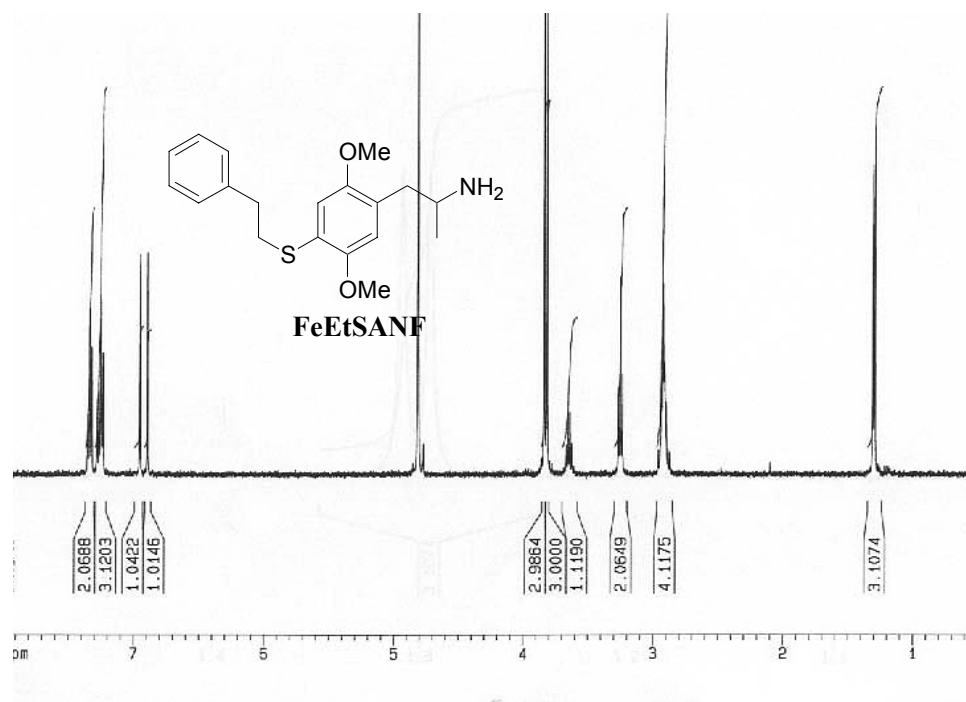
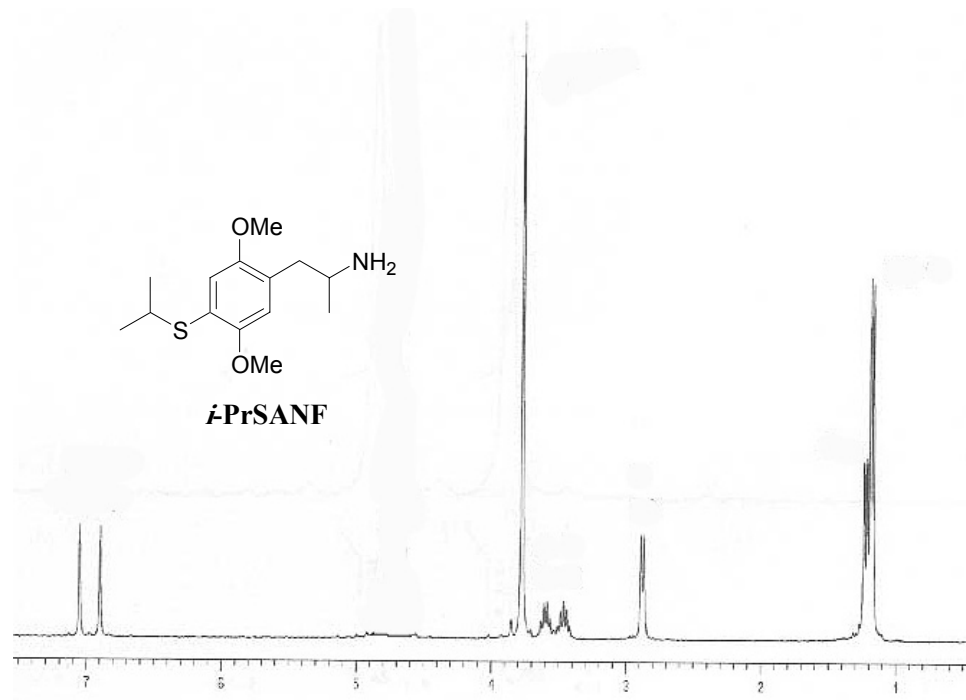


Espectros de ¹H-RMN para los productos finales, como sales clorhidratos, de los compuestos de la tabla III

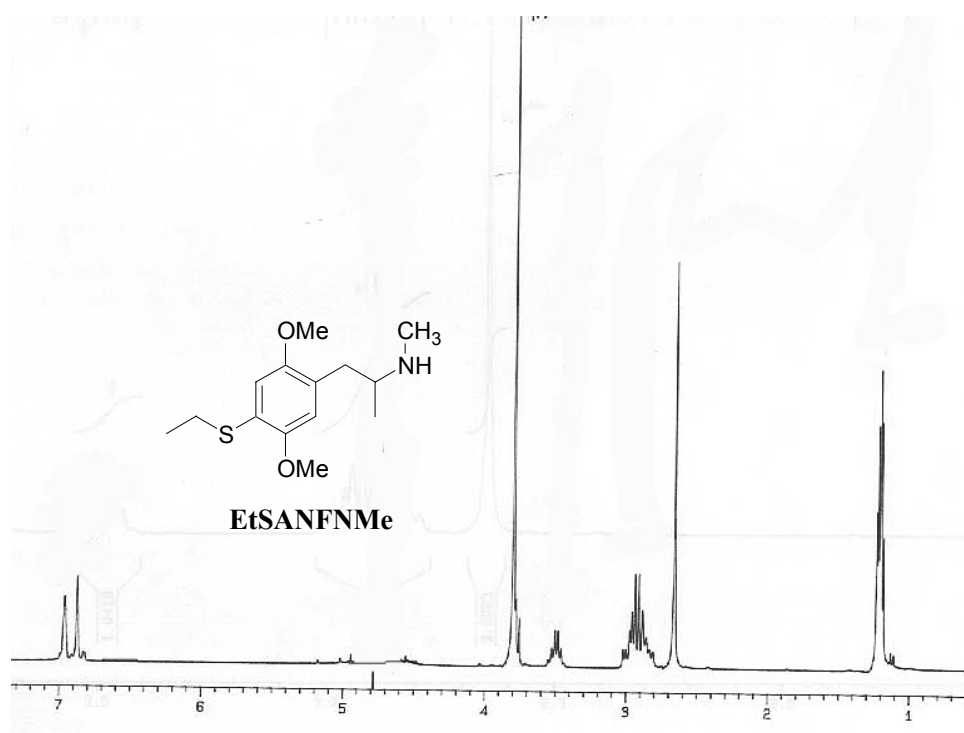
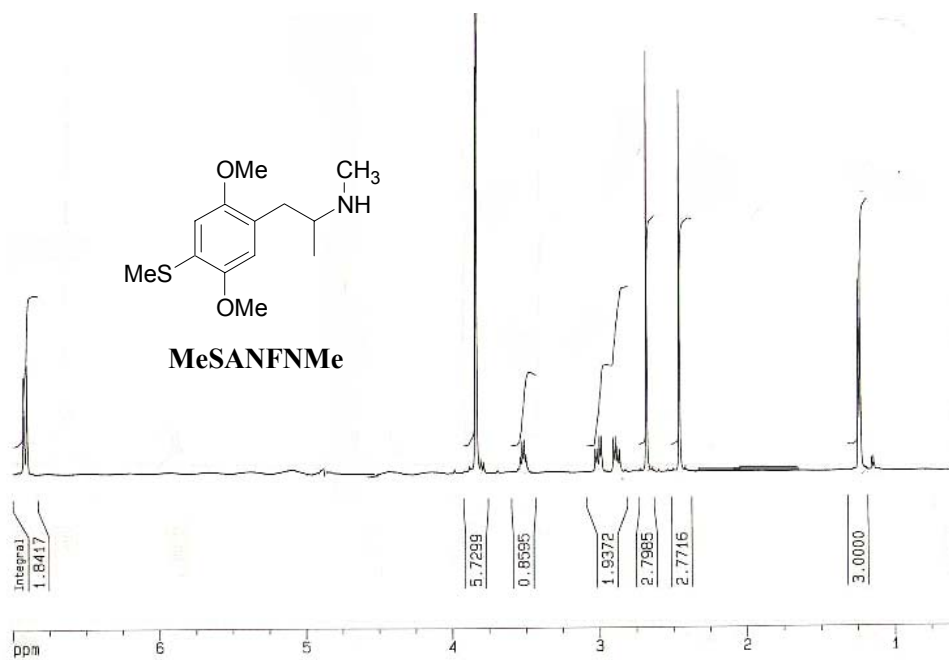


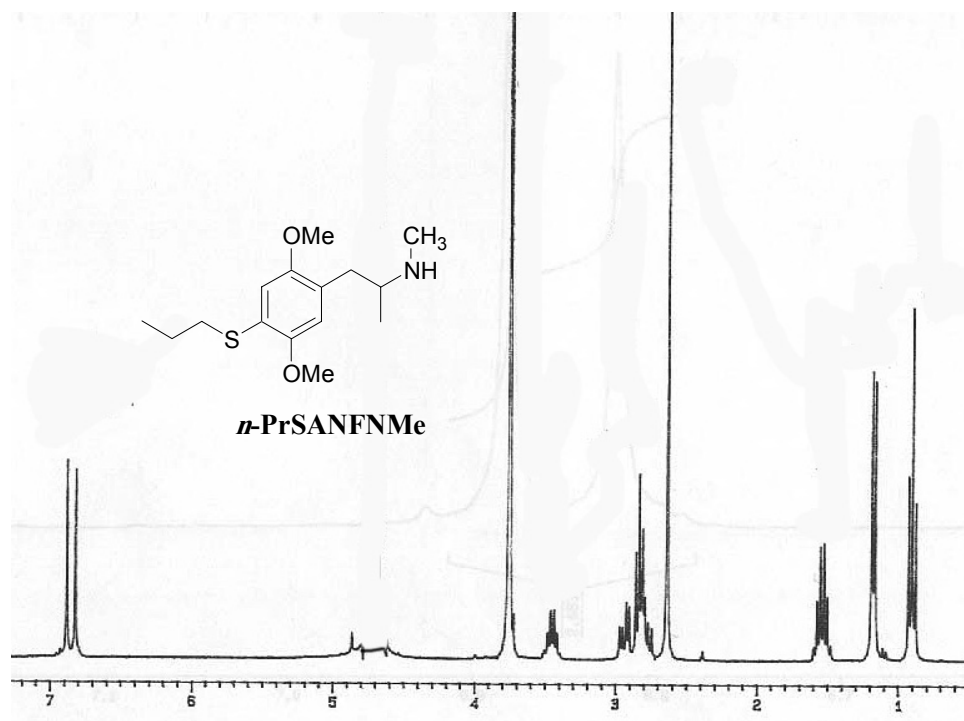




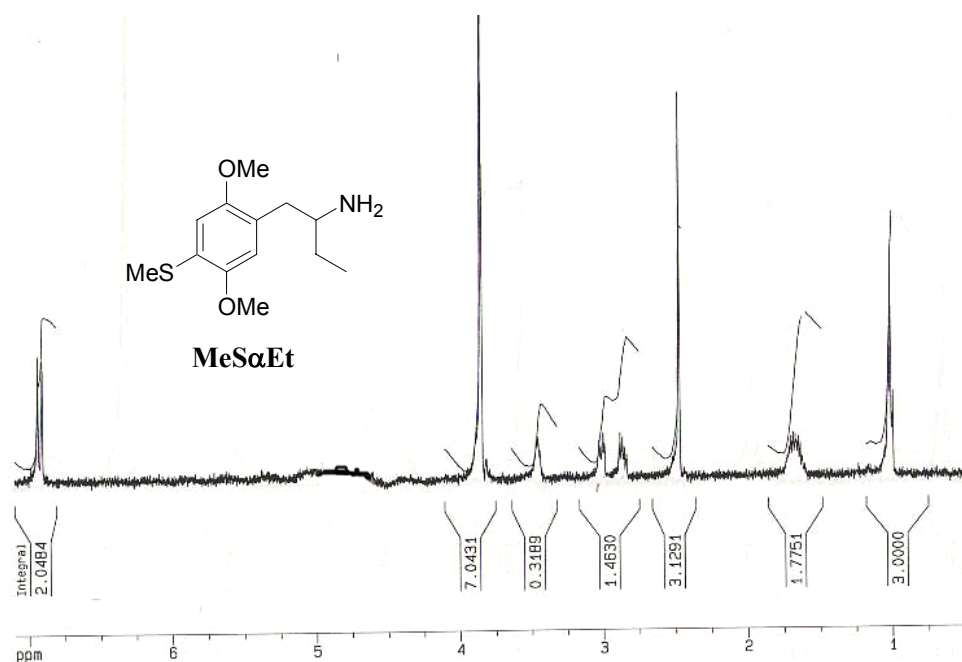


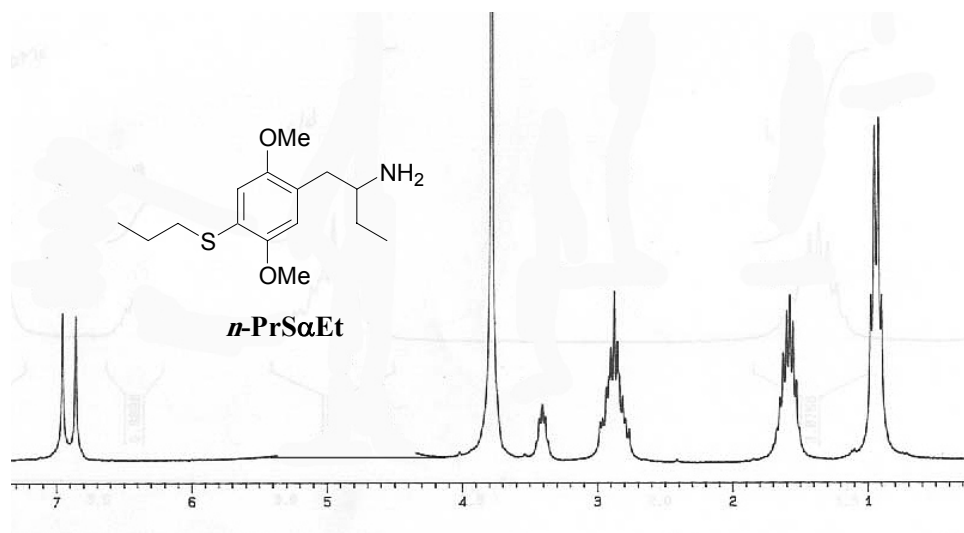
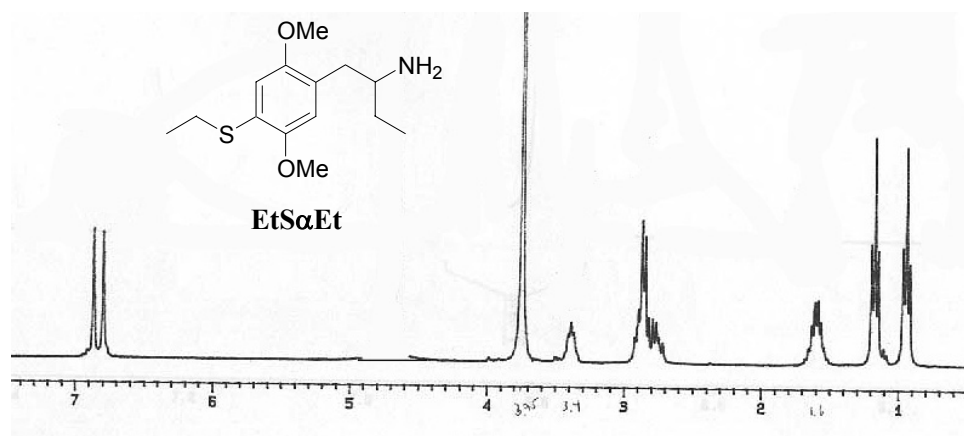
Espectros de ^1H -RMN para los productos finales, como sales clorhidratos, de los compuestos de la tabla IV



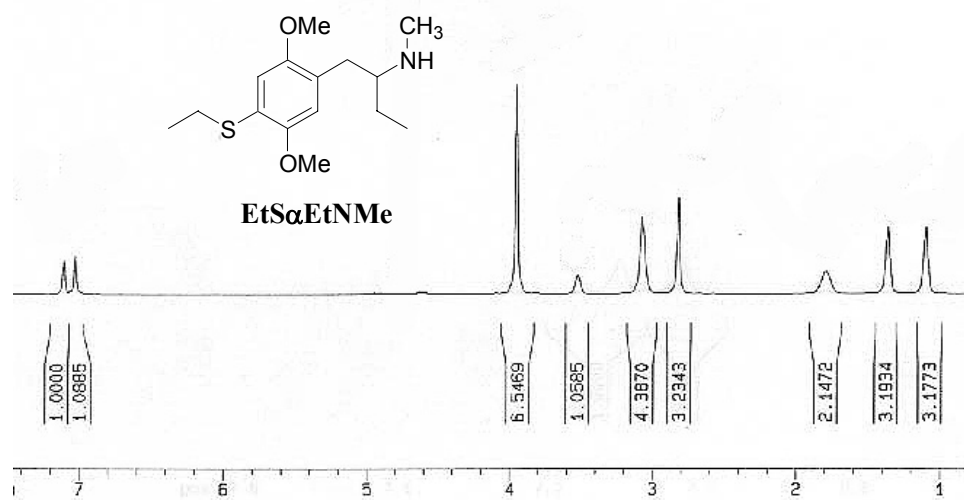
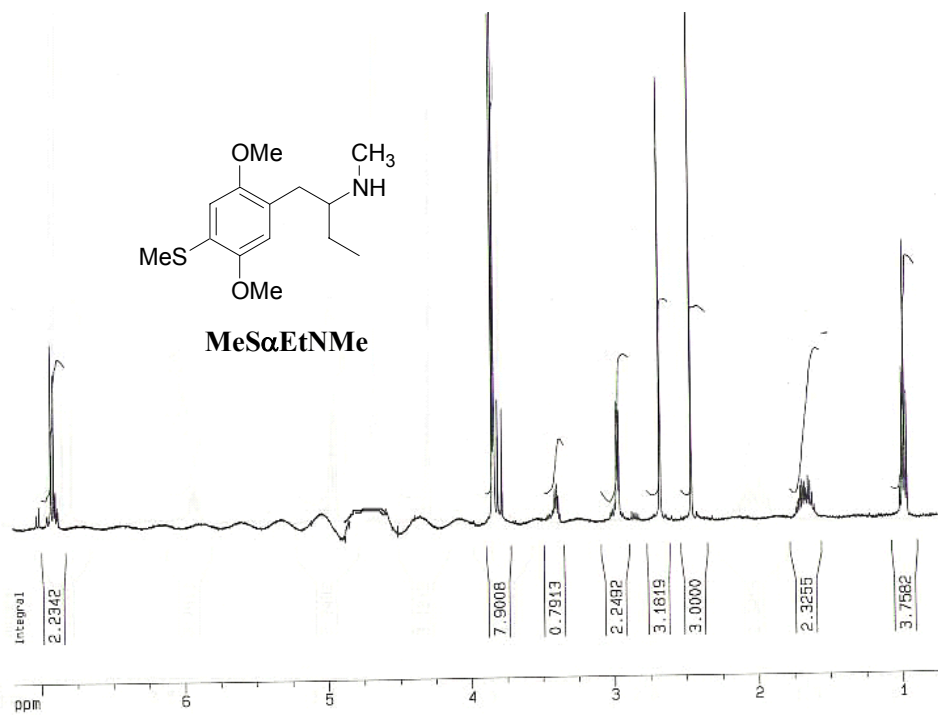


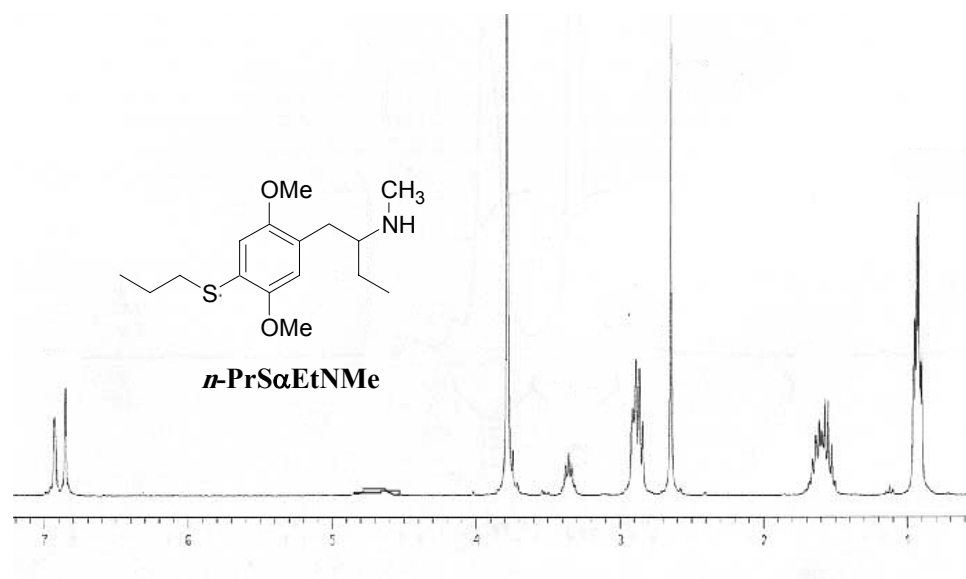
Espectros de ¹H-RMN para los productos finales, como sales clorhidratos, de los compuestos de la tabla V



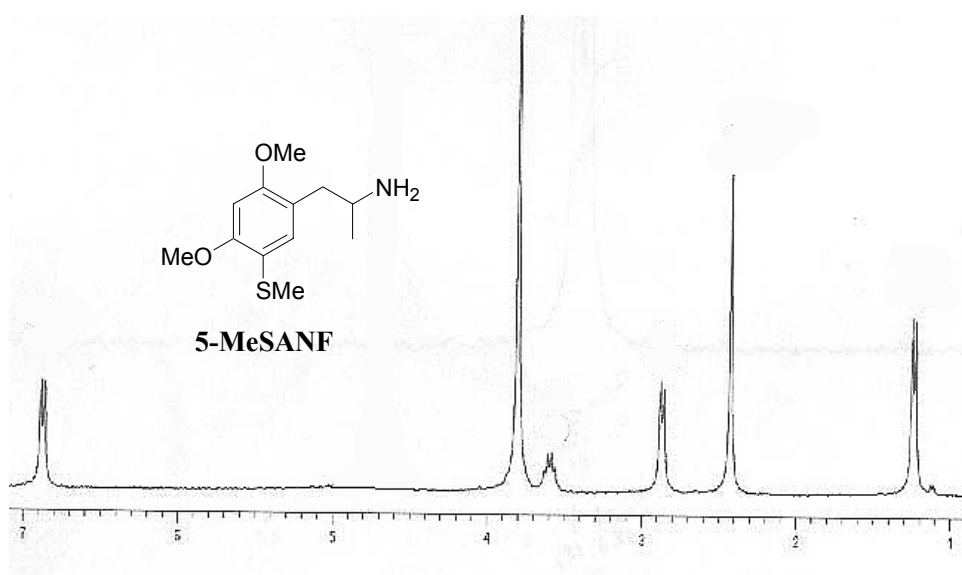
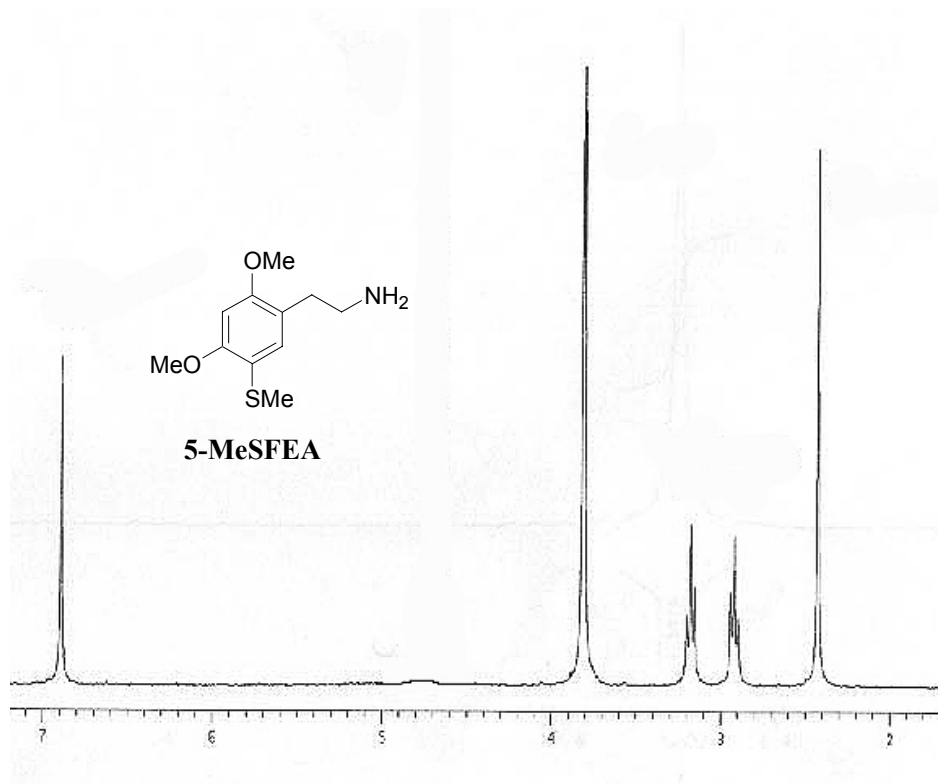


Espectros de ^1H -RMN para los productos finales, como sales clorhidratos, de los compuestos de la tabla VI

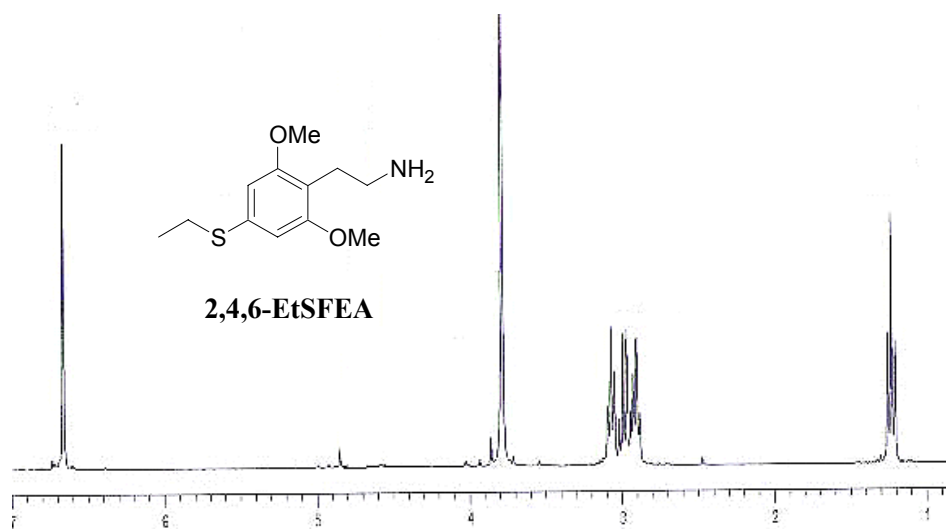
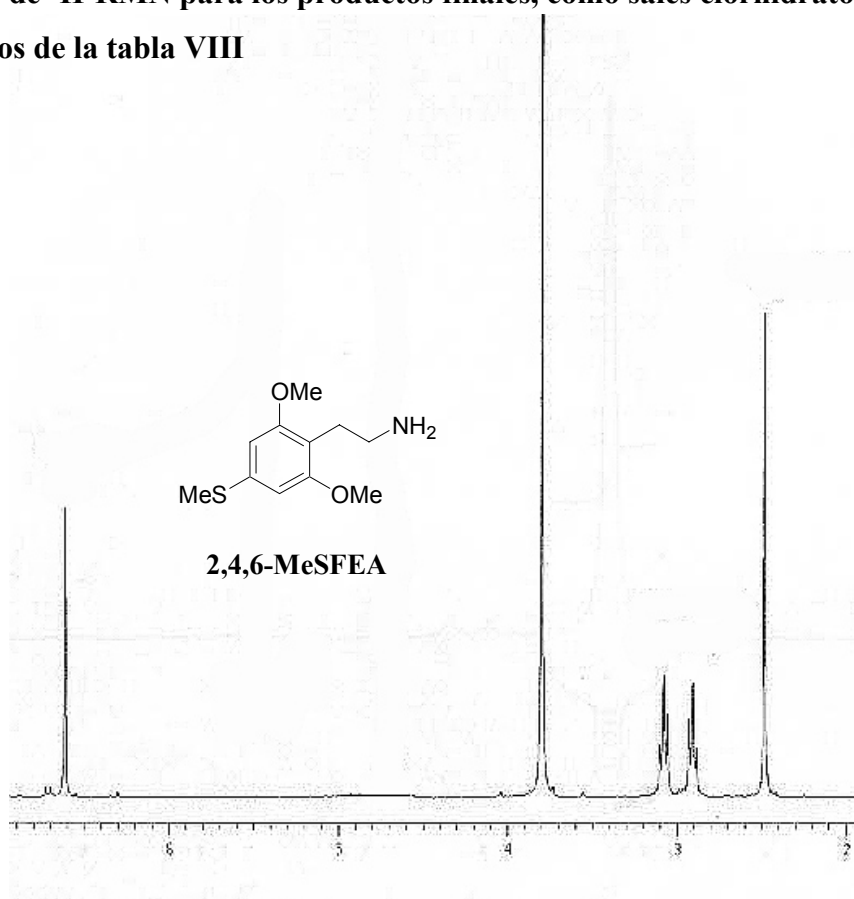


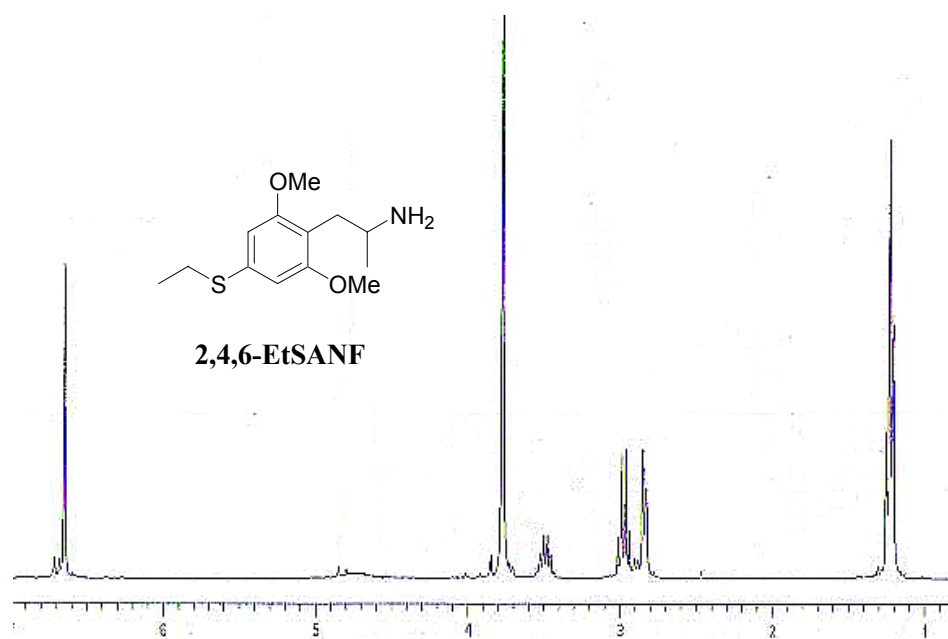
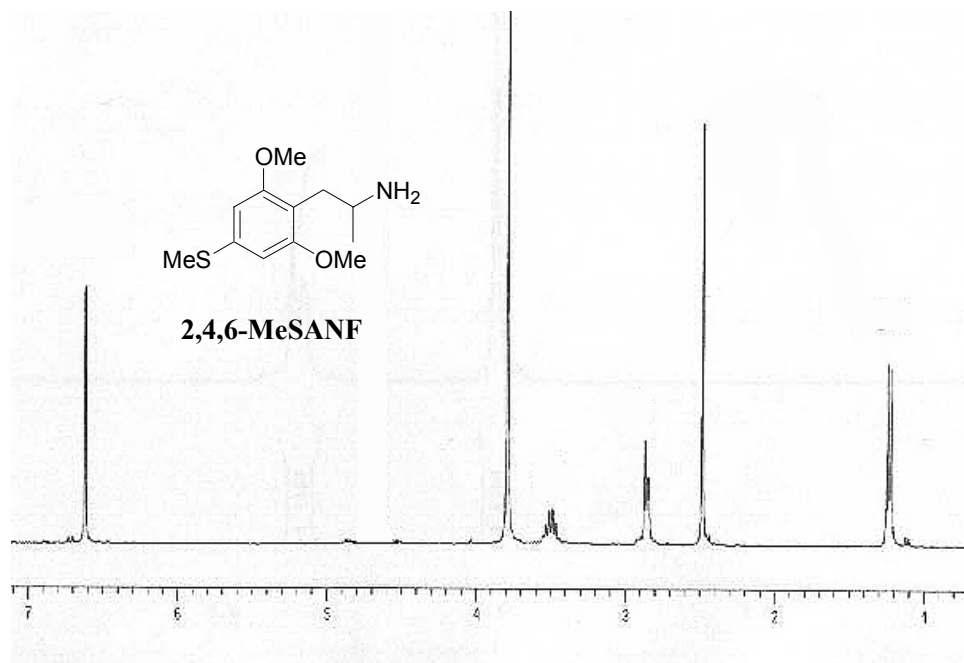


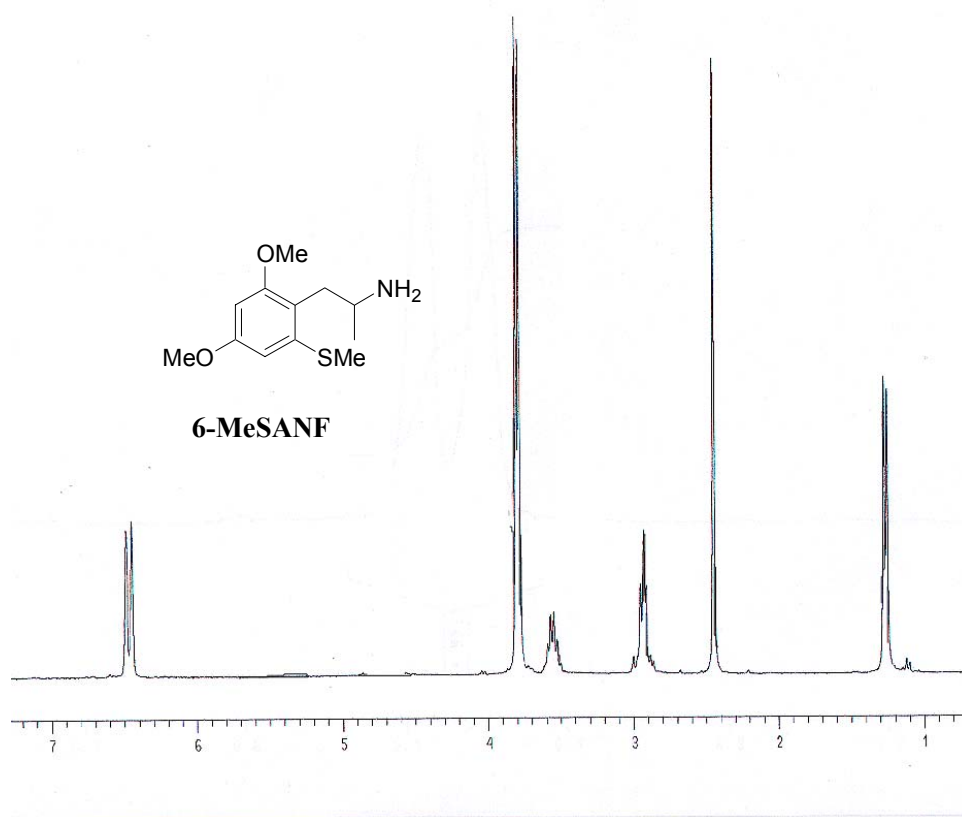
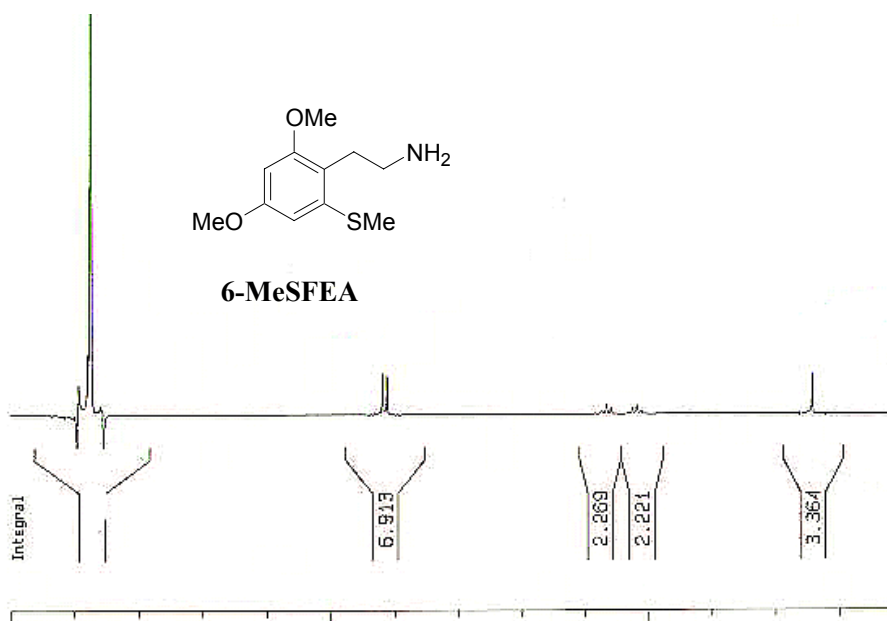
Espectros de ^1H -RMN para los productos finales, como sales clorhidratos, de los compuestos de la tabla VII

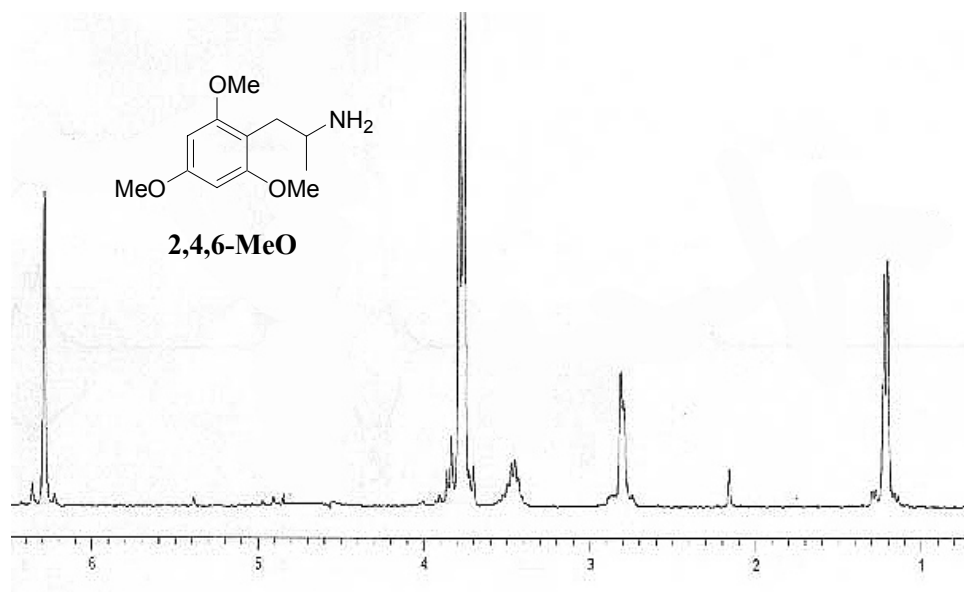
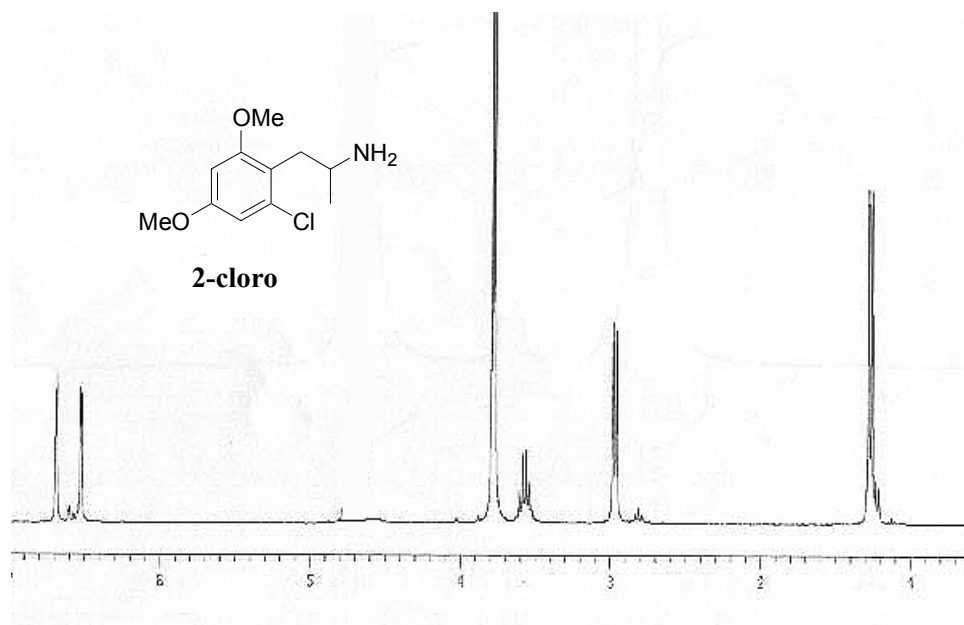


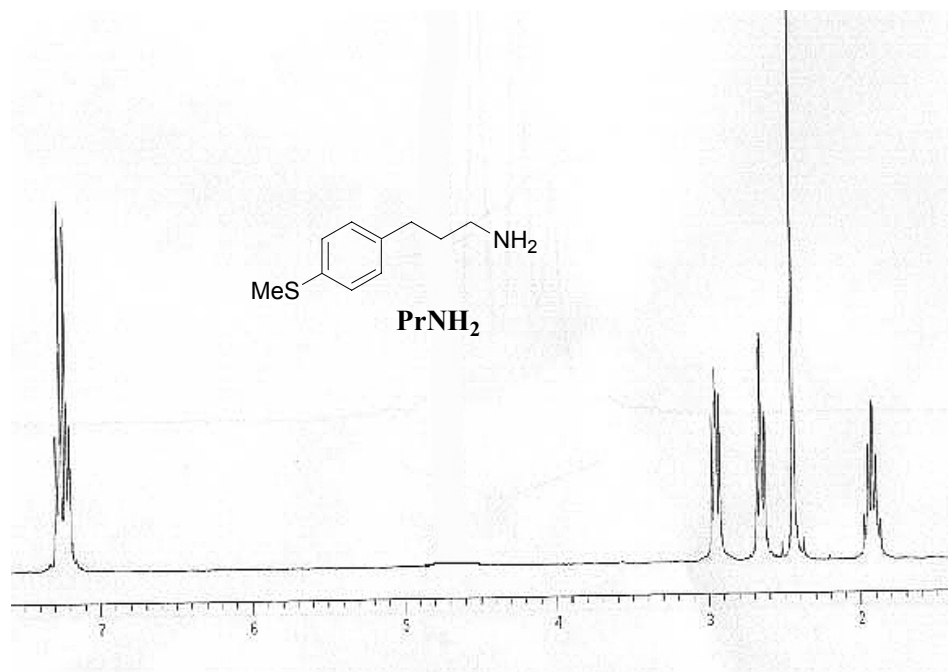
Espectros de ^1H -RMN para los productos finales, como sales clorhidratos, de los compuestos de la tabla VIII





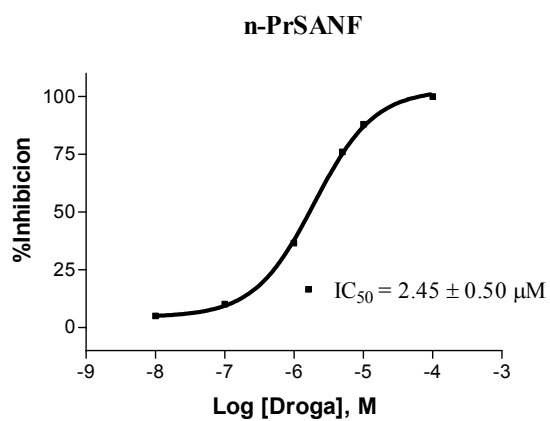
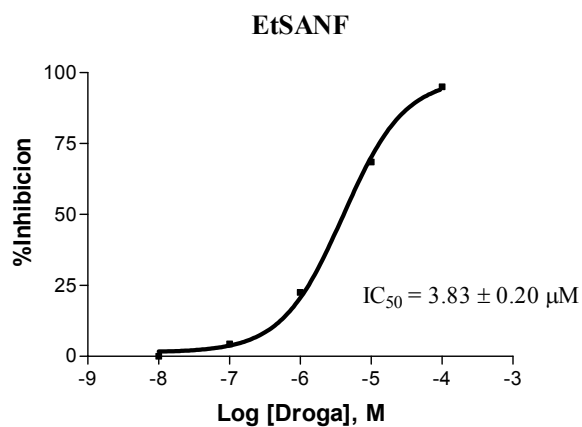
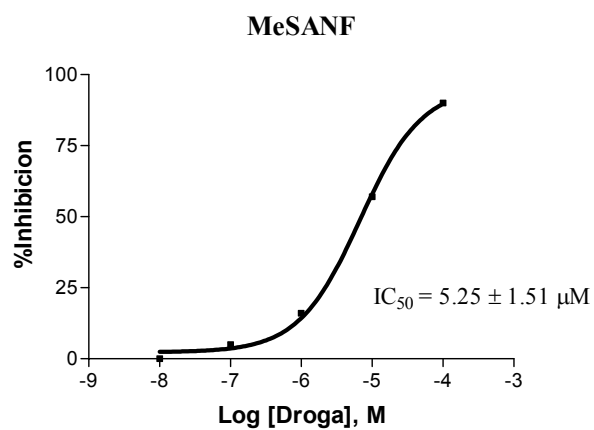


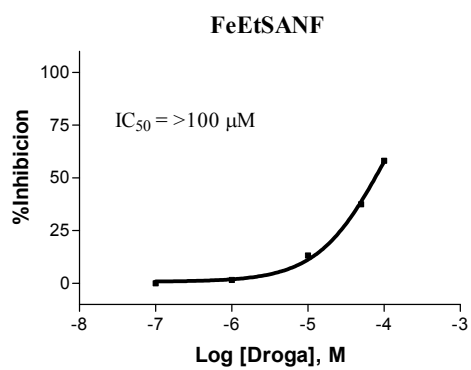
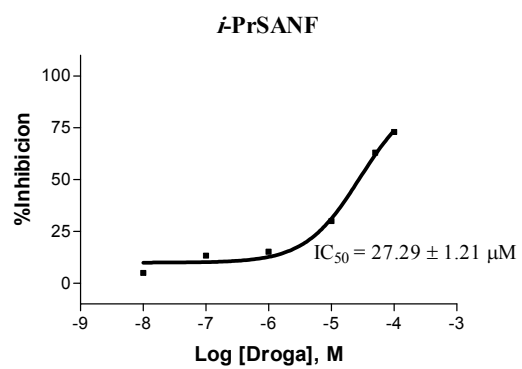
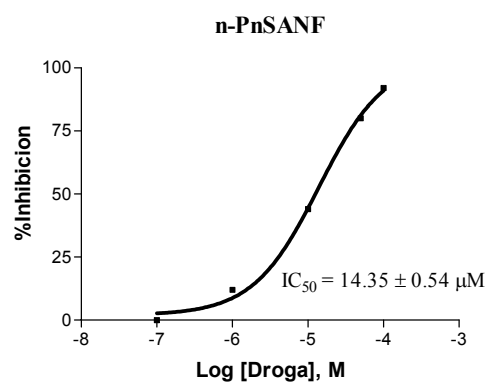
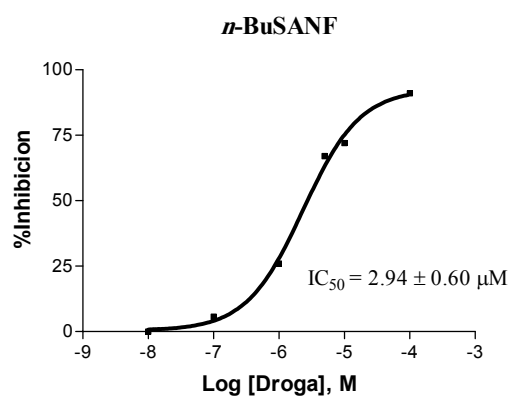


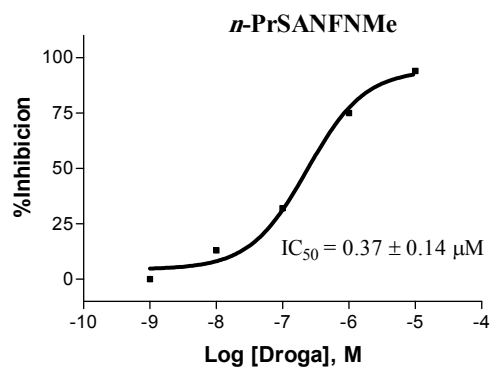
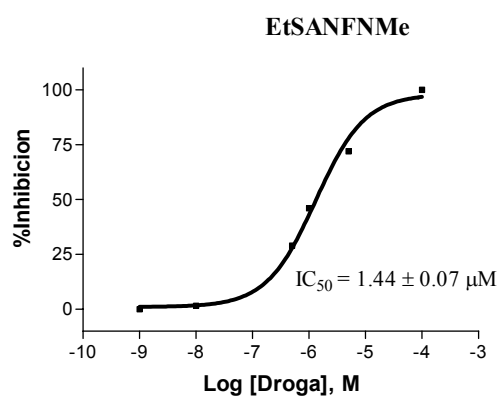
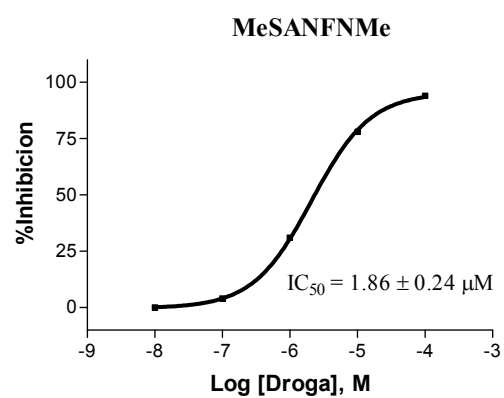
Espectros de ^1H -RMN para el compuesto PrNH $_2$ 

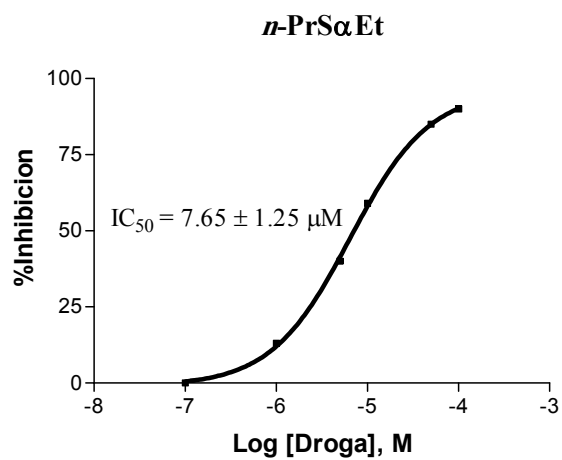
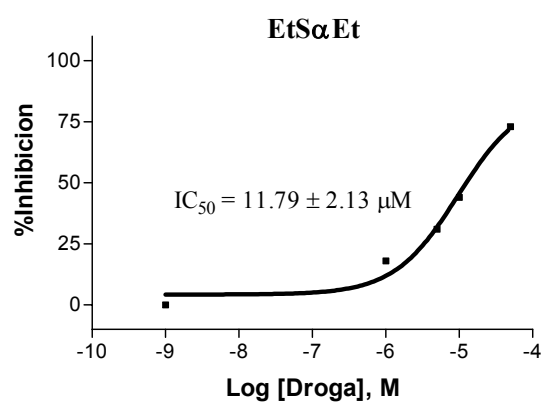
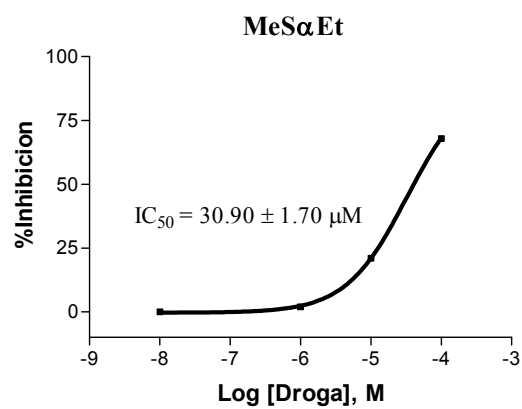
ANEXO 3

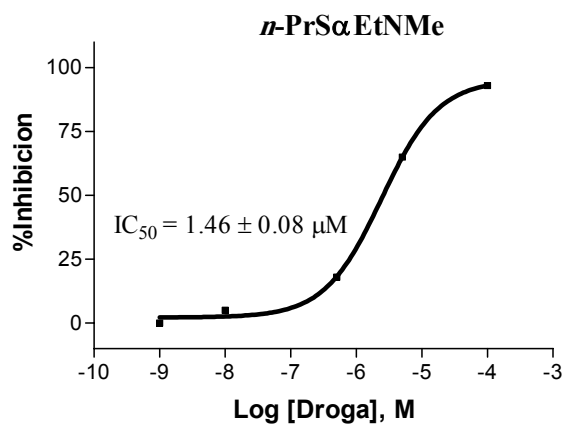
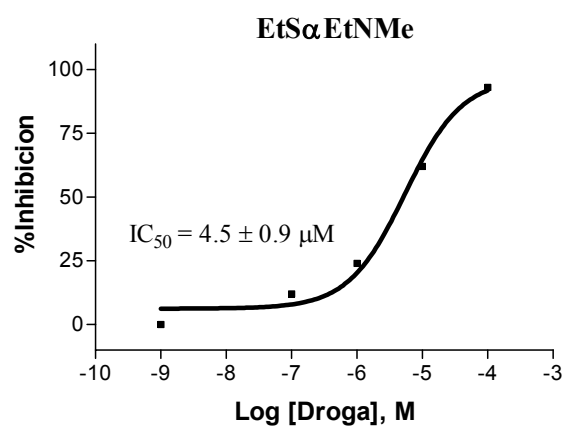
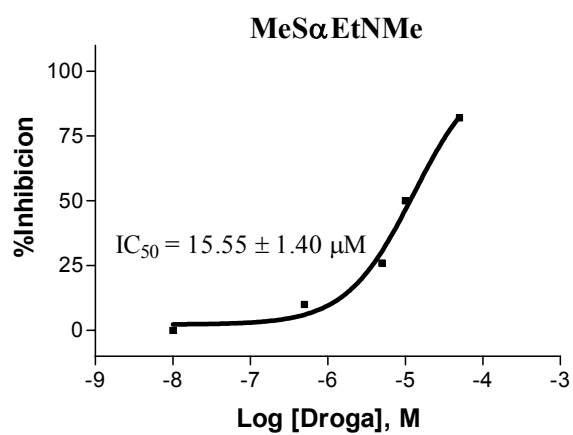
Curvas de inhibición de MAO-A para los compuestos del grupo III

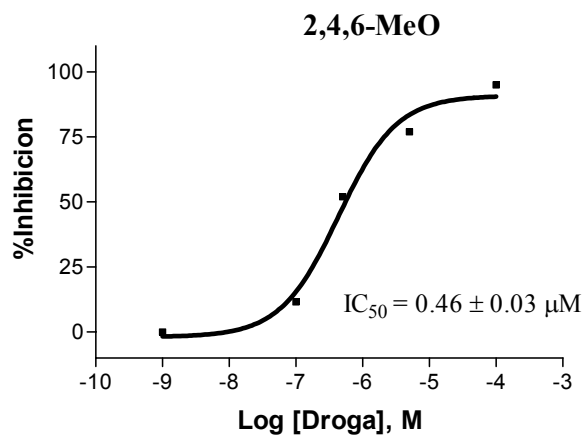
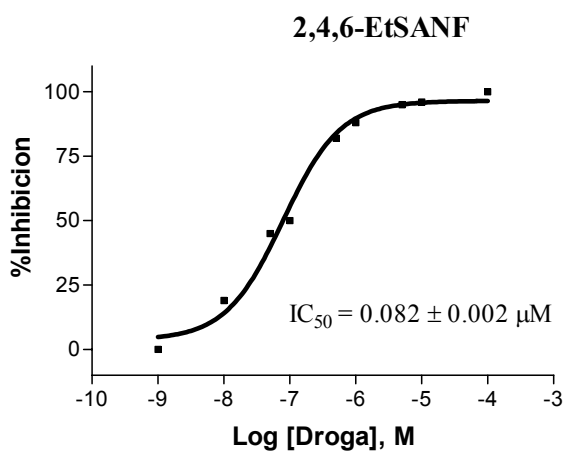
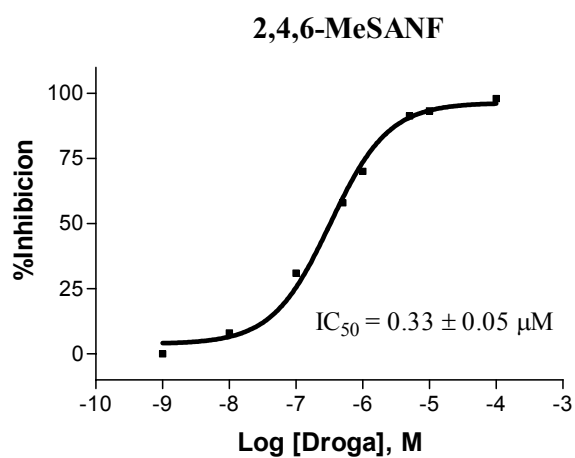


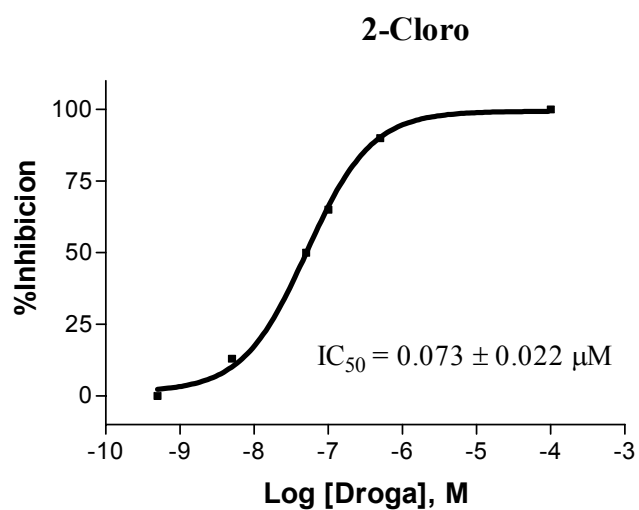


Curvas de inhibición de MAO-A para los compuestos del grupo IV

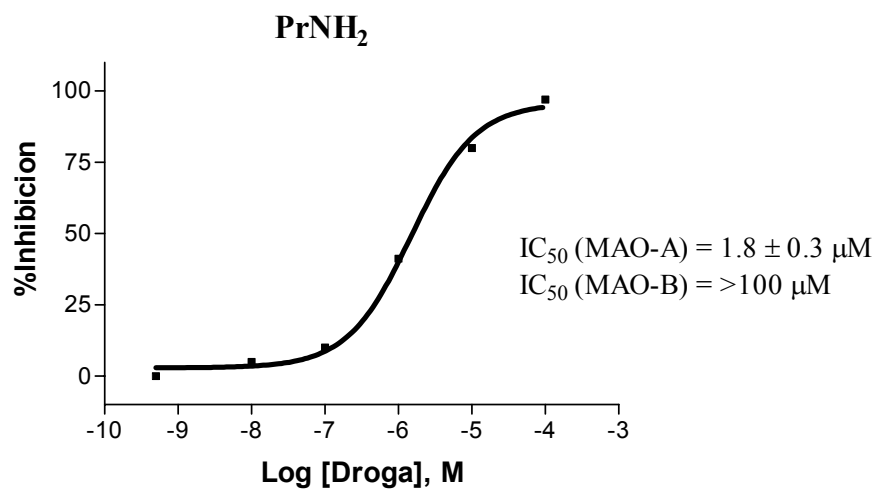
Curvas de inhibición de MAO-A para los compuestos del grupo V

Curvas de inhibición de MAO-A para los compuestos del grupo VI

Curvas de inhibición de MAO-A para los compuestos del grupo VIII

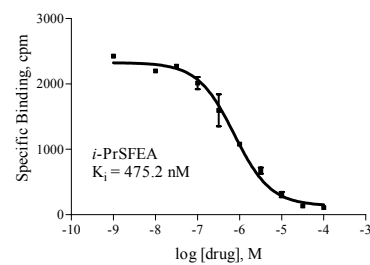
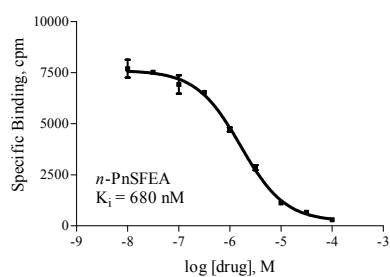
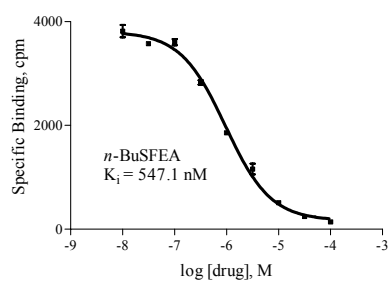
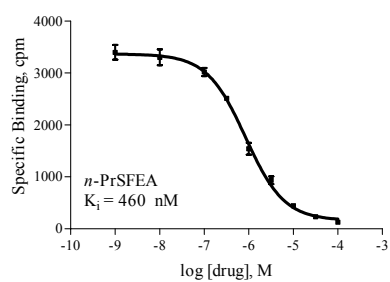
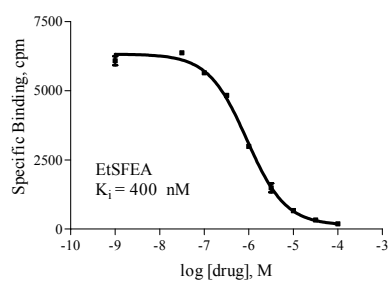
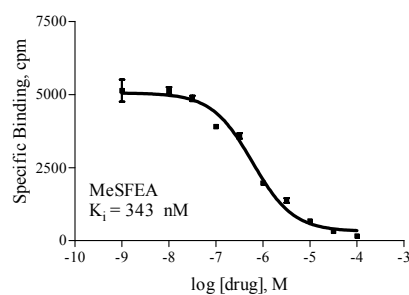


Curva de inhibición de MAO-A para el compuesto PrNH₂

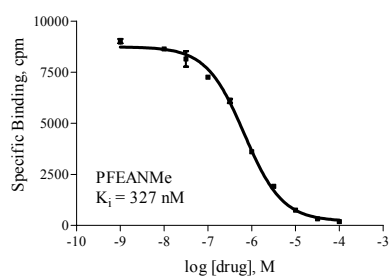
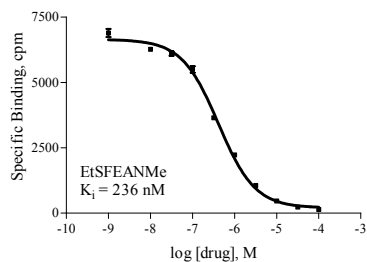
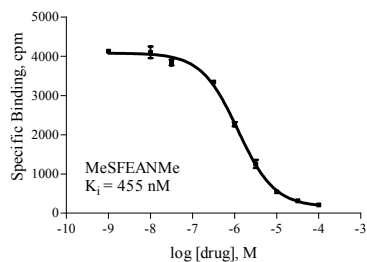


Ejemplos de curvas concentración-desplazamiento del antagonista 8OH-DPAT en el receptor 5HT_{1A}

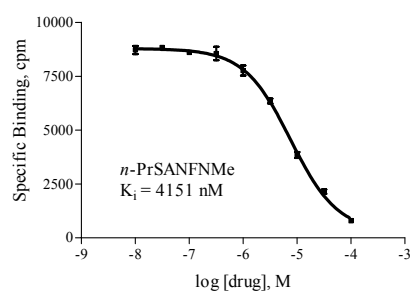
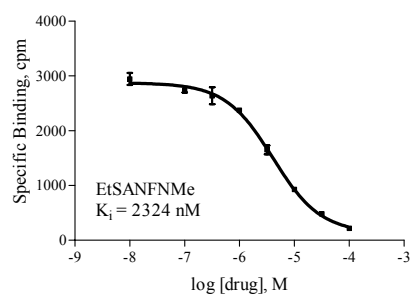
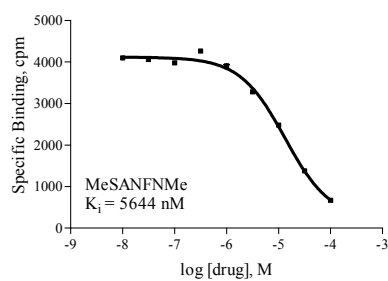
Se muestran a continuación como ejemplos algunas de las curvas de afinidad obtenidas por los compuestos del Grupo I:



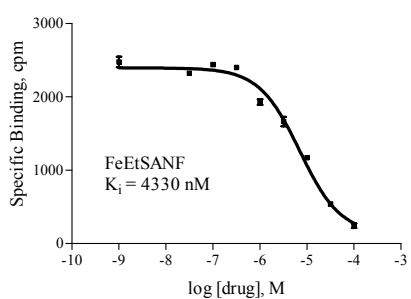
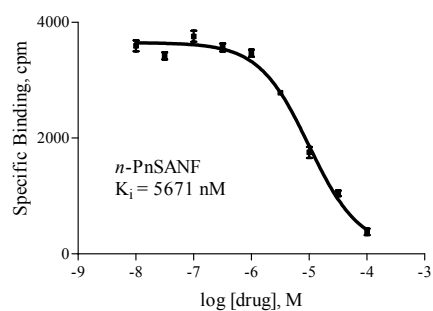
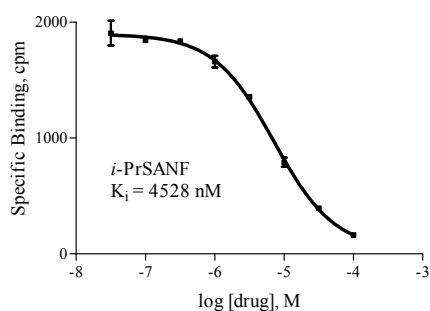
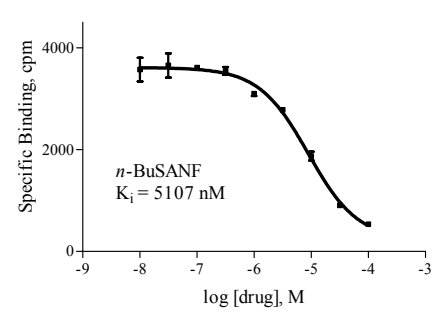
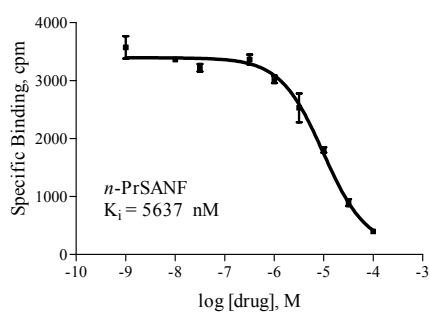
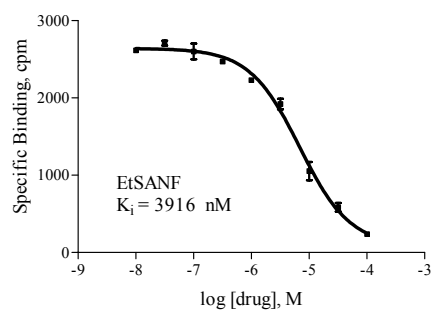
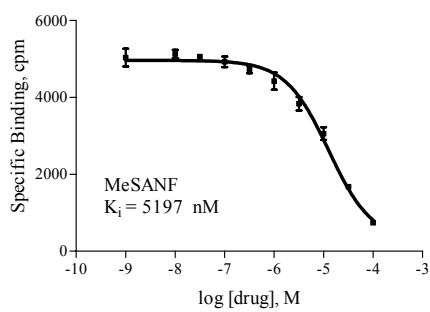
Se muestran a continuación algunas de las curvas de afinidad obtenidas por los compuestos del Grupo II:



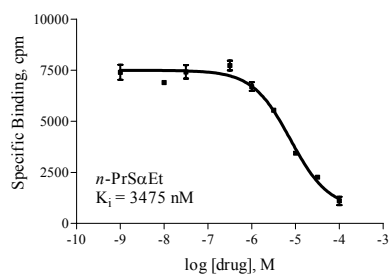
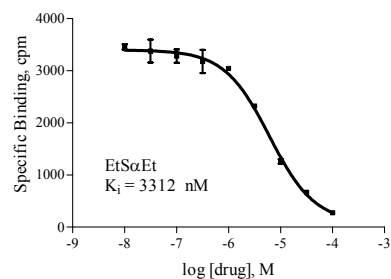
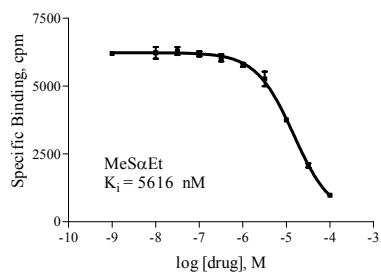
Se muestran a continuación algunas de las curvas de afinidad obtenidas por los compuestos del Grupo IV:



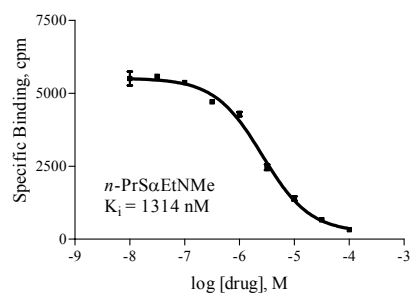
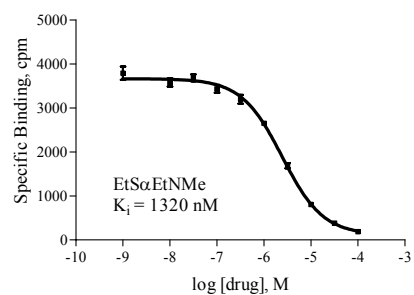
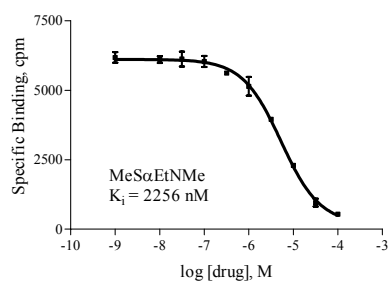
Se muestran a continuación algunas de las curvas de afinidad obtenidas por los compuestos del Grupo III:



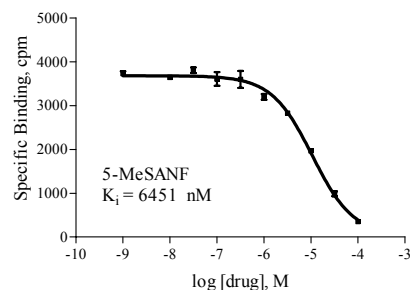
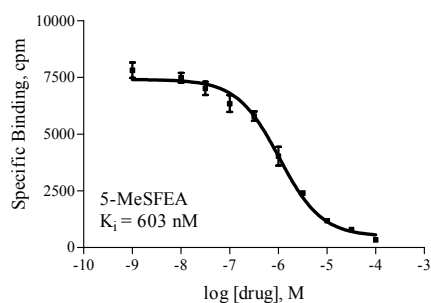
Se muestran a continuación algunas de las curvas de afinidad obtenidas por los compuestos del Grupo V:



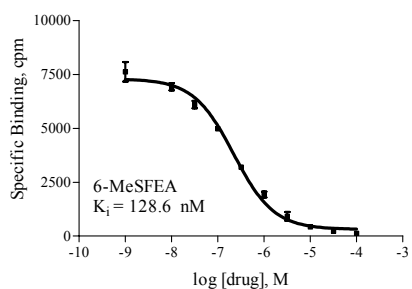
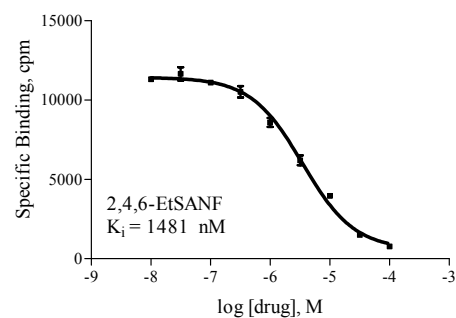
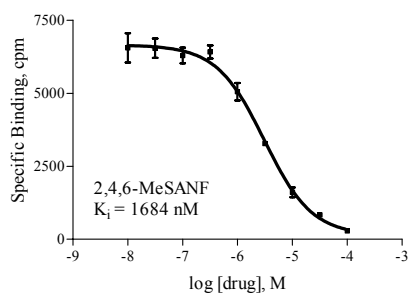
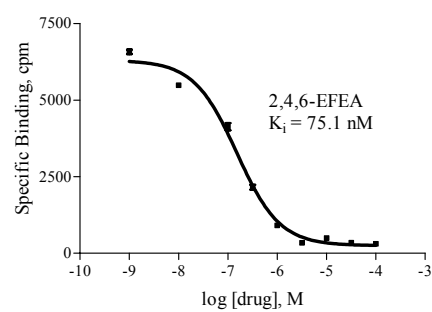
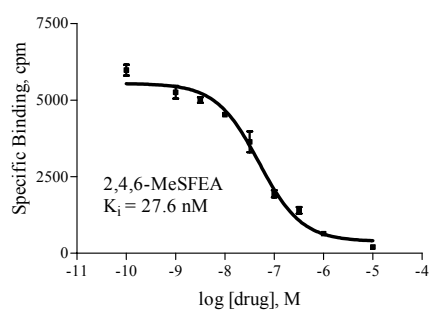
Se muestran a continuación algunas de las curvas de afinidad obtenidas por los compuestos del Grupo VI:



Se muestran a continuación algunas de las curvas de afinidad obtenidas por los compuestos del Grupo VII:

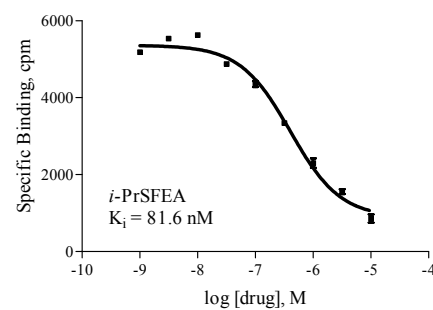
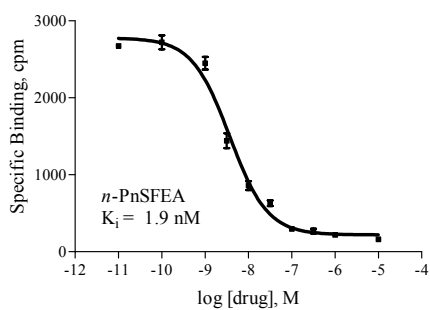
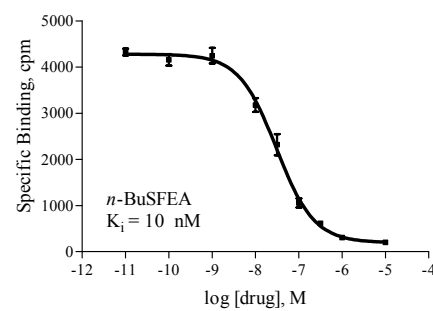
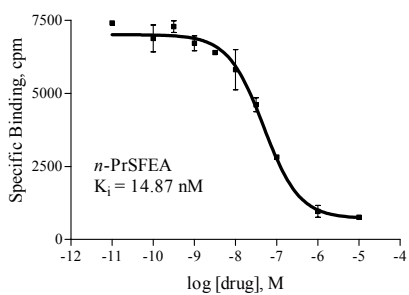
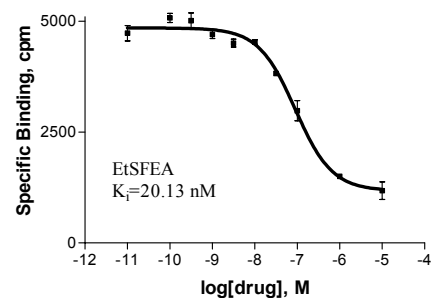
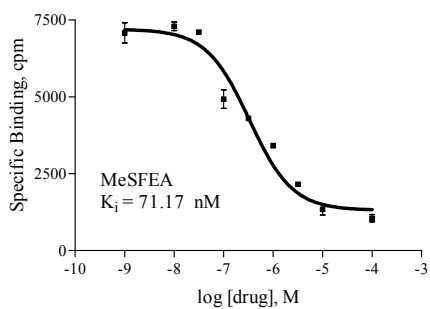


Se muestran a continuación algunas de las curvas de afinidad obtenidas por los compuestos del Grupo VIII:

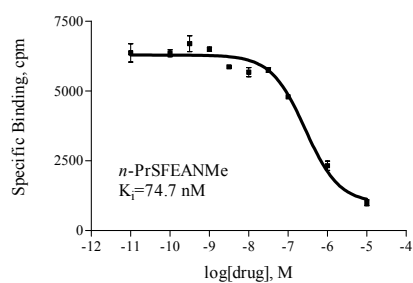
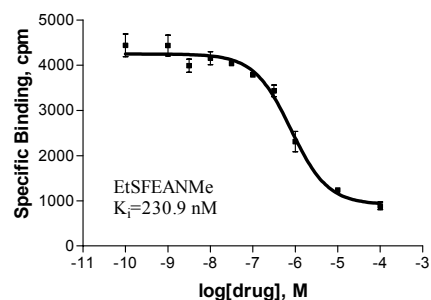
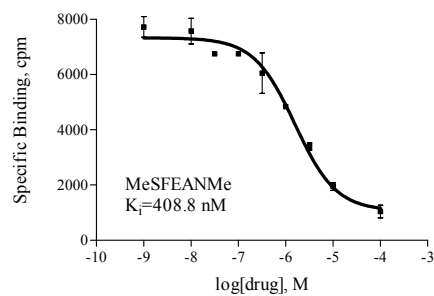


Ejemplos de curvas concentración-desplazamiento del antagonista ketanserina en el receptor 5HT_{2A}

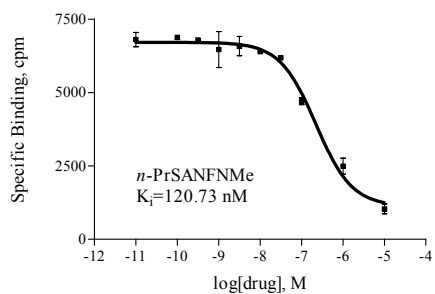
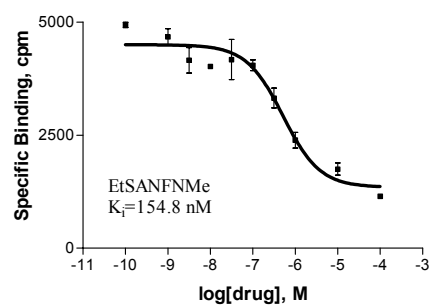
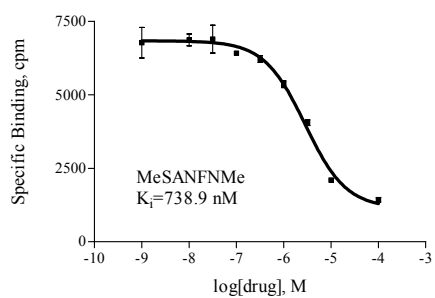
Se muestran a continuación como ejemplos algunas de las curvas de afinidad obtenidas por los compuestos del Grupo I:



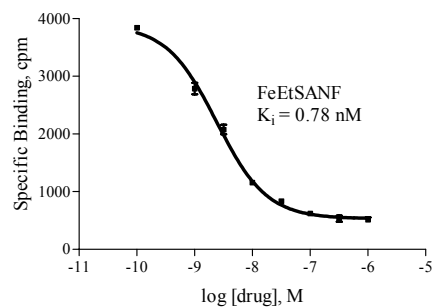
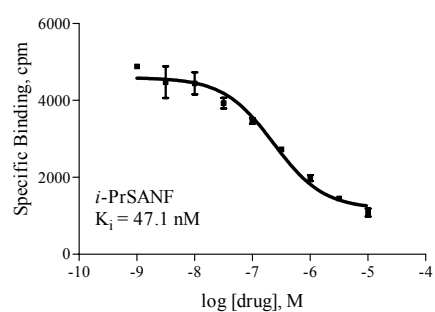
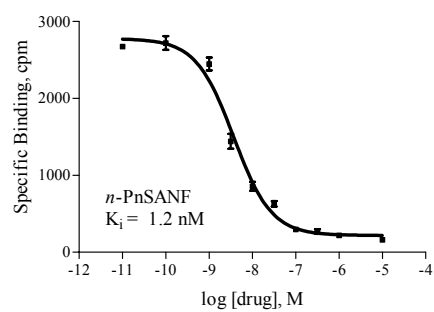
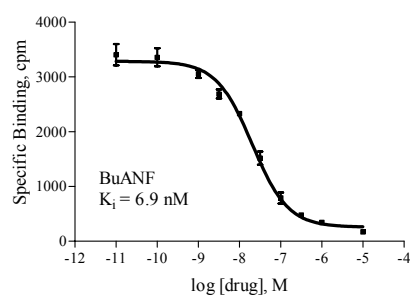
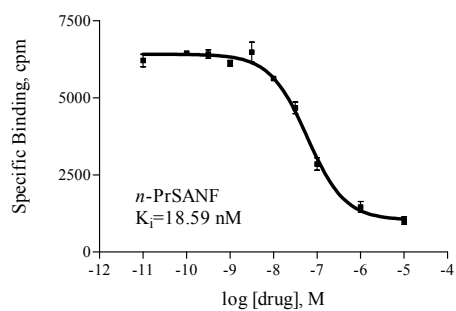
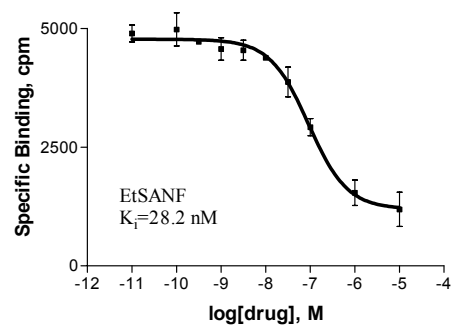
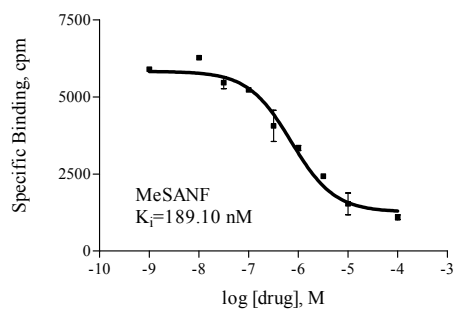
Se muestran a continuación como ejemplos algunas de las curvas de afinidad obtenidas por los compuestos del Grupo II:



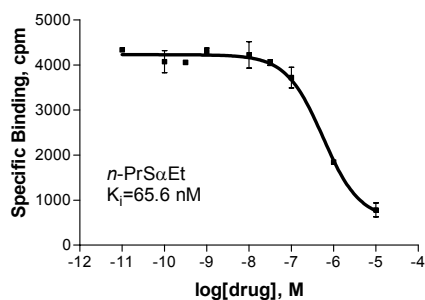
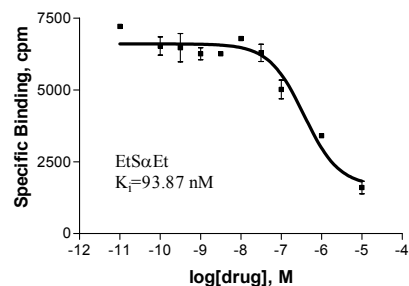
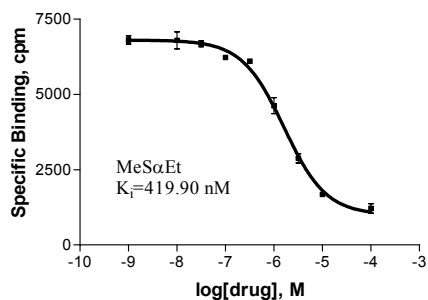
Se muestran a continuación como ejemplos algunas de las curvas de afinidad obtenidas por los compuestos del Grupo IV:



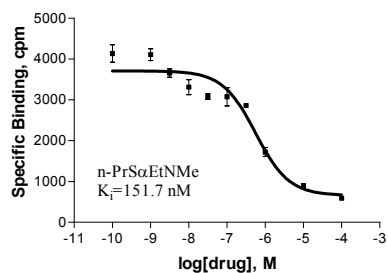
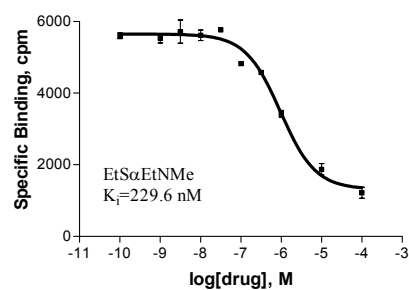
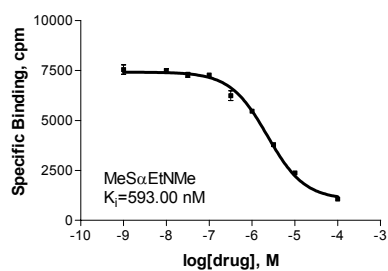
Se muestran a continuación como ejemplos algunas de las curvas de afinidad obtenidas por los compuestos del Grupo III:



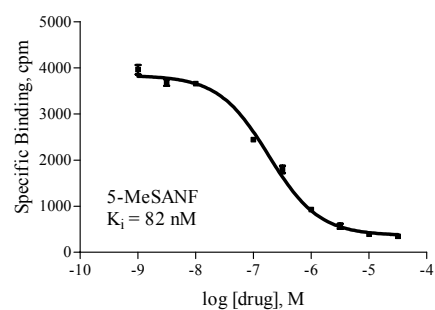
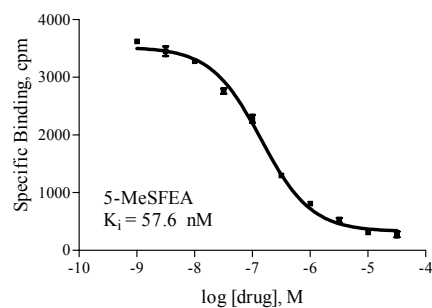
Se muestran a continuación como ejemplos algunas de las curvas de afinidad obtenidas por los compuestos del Grupo V:



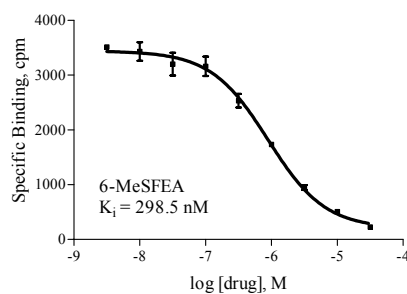
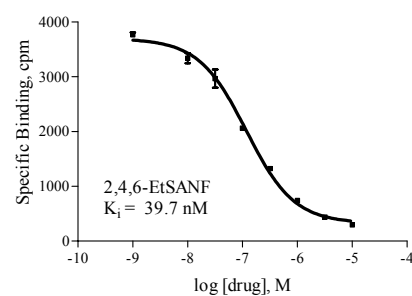
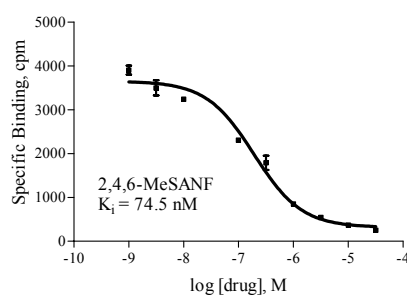
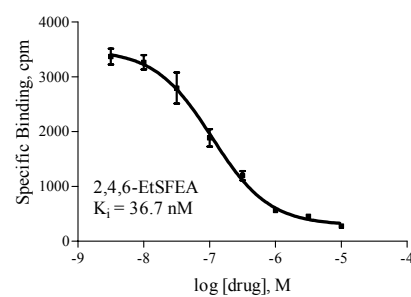
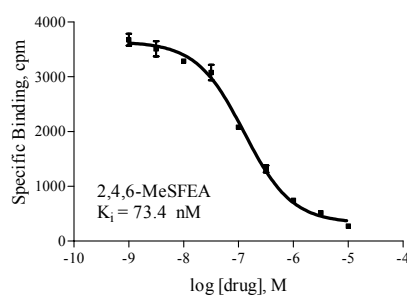
Se muestran a continuación como ejemplos algunas de las curvas de afinidad obtenidas por los compuestos del Grupo VI:



Se muestran a continuación como ejemplos algunas de las curvas de afinidad obtenidas por los compuestos del Grupo VII:

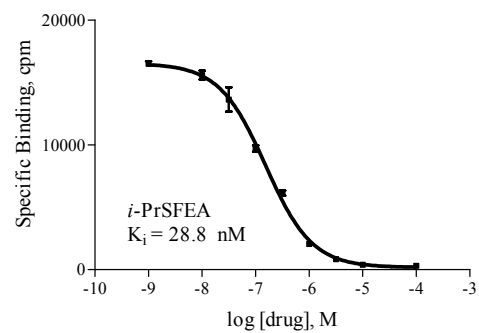
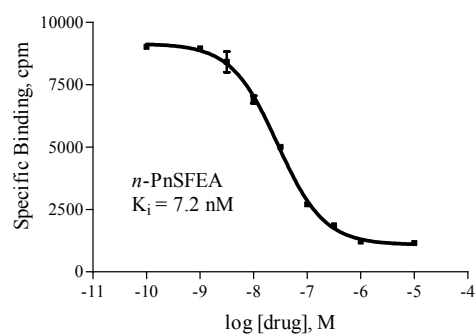
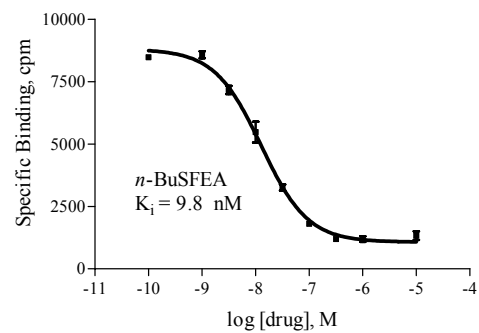
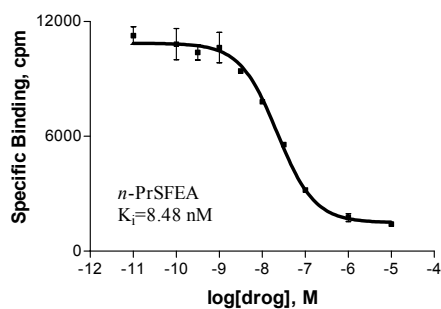
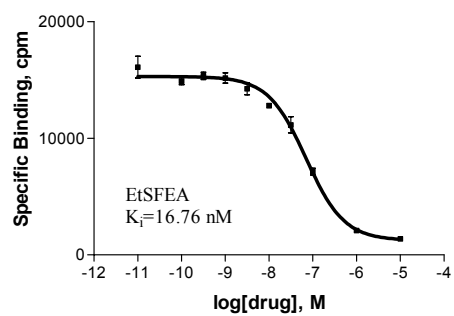
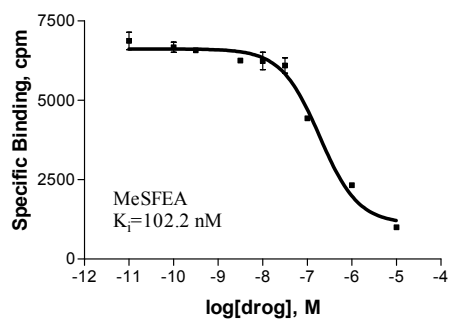


Se muestran a continuación como ejemplos algunas de las curvas de afinidad obtenidas por los compuestos del Grupo VIII:

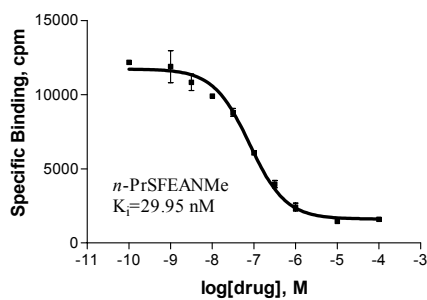
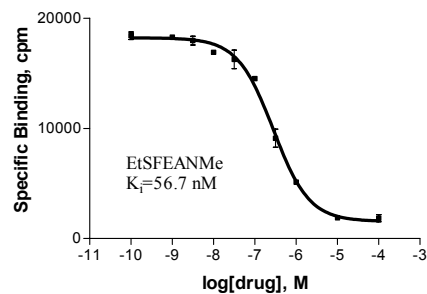
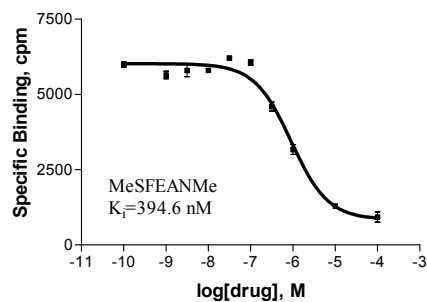


Ejemplos de curvas concentración-desplazamiento del antagonista mesulergina en el receptor 5HT_{2C}

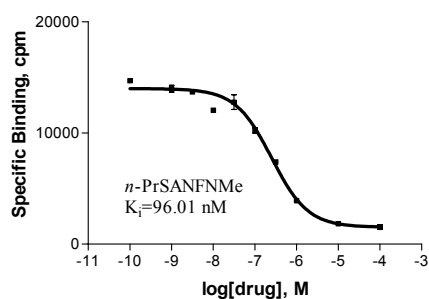
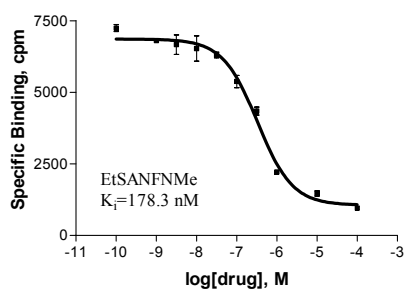
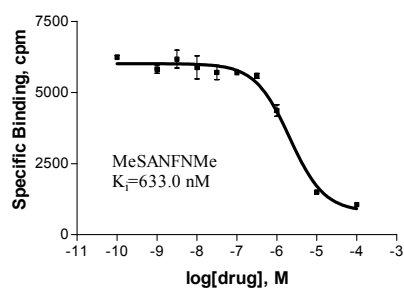
Se muestran a continuación como ejemplos algunas de las curvas de afinidad obtenidas por los compuestos del Grupo I:



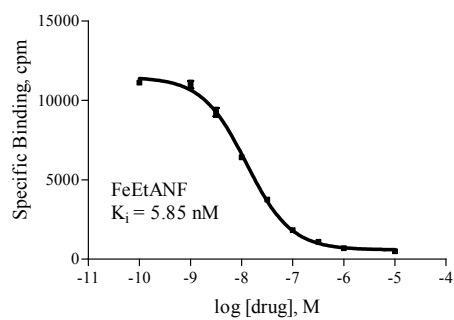
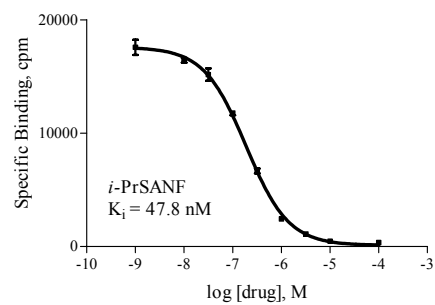
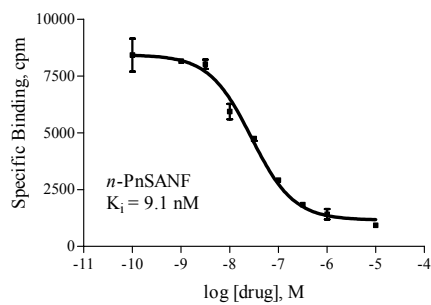
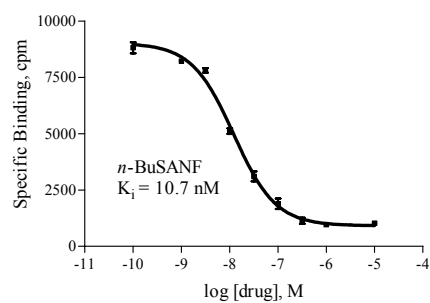
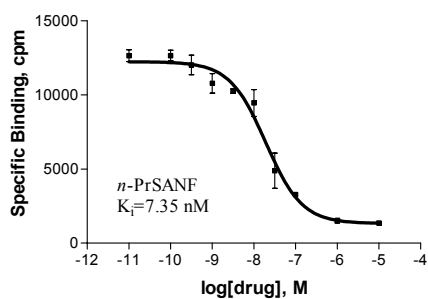
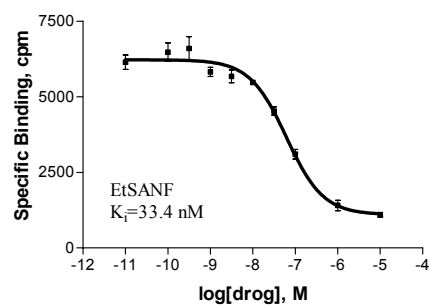
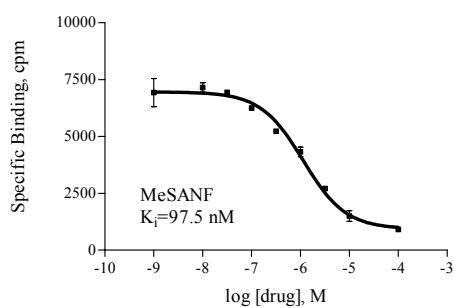
Se muestran a continuación como ejemplos algunas de las curvas de afinidad obtenidas por los compuestos del Grupo II:



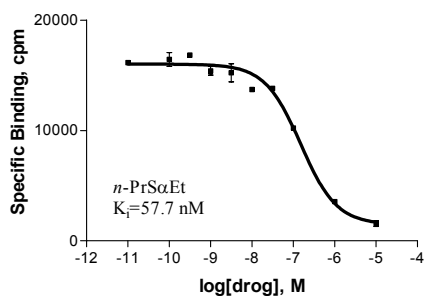
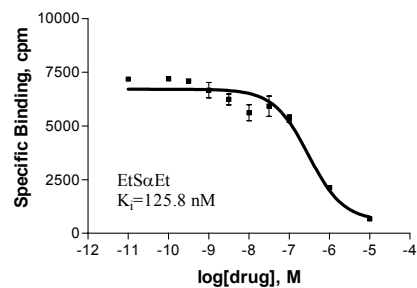
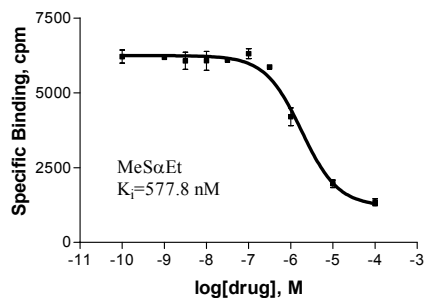
Se muestran a continuación como ejemplos algunas de las curvas de afinidad obtenidas por los compuestos del Grupo IV:



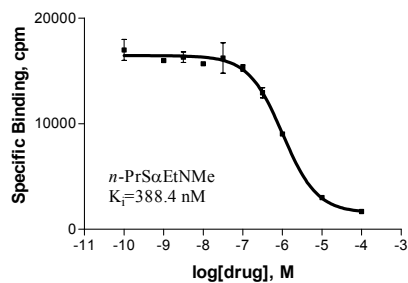
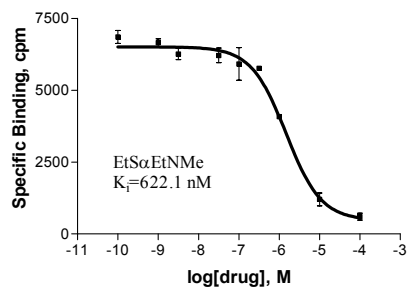
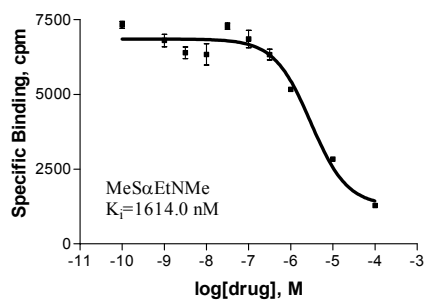
Se muestran a continuación como ejemplos algunas de las curvas de afinidad obtenidas por los compuestos del Grupo III:



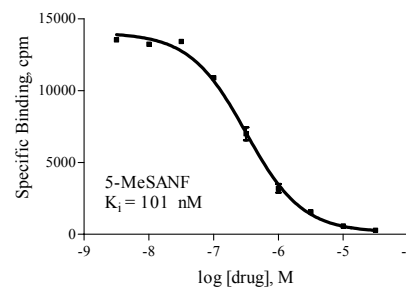
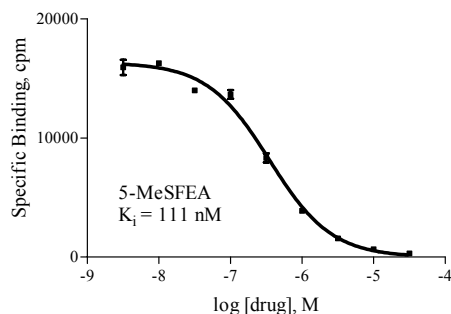
Se muestran a continuación como ejemplos algunas de las curvas de afinidad obtenidas por los compuestos del Grupo V:



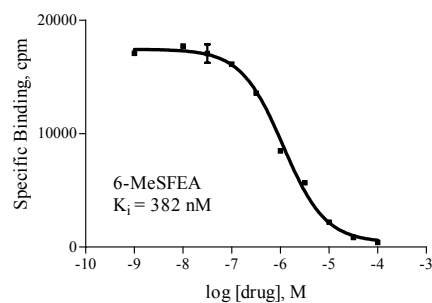
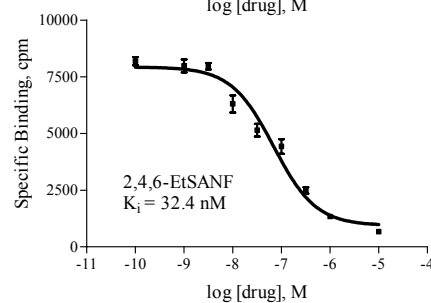
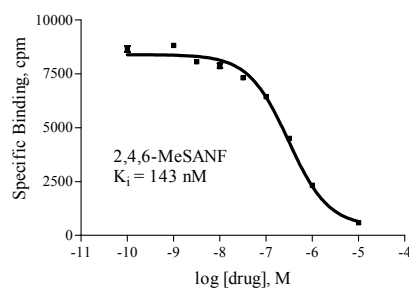
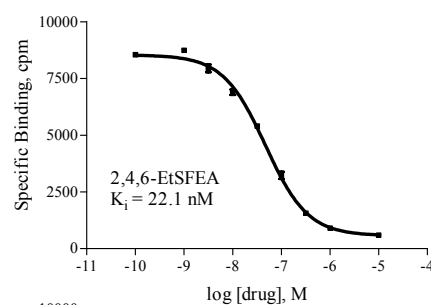
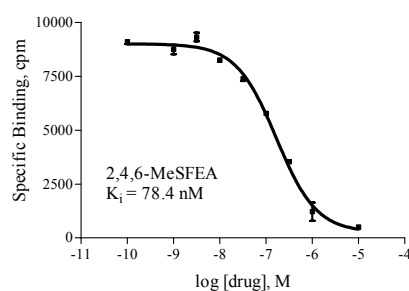
Se muestran a continuación como ejemplos algunas de las curvas de afinidad obtenidas por los compuestos del Grupo VI:



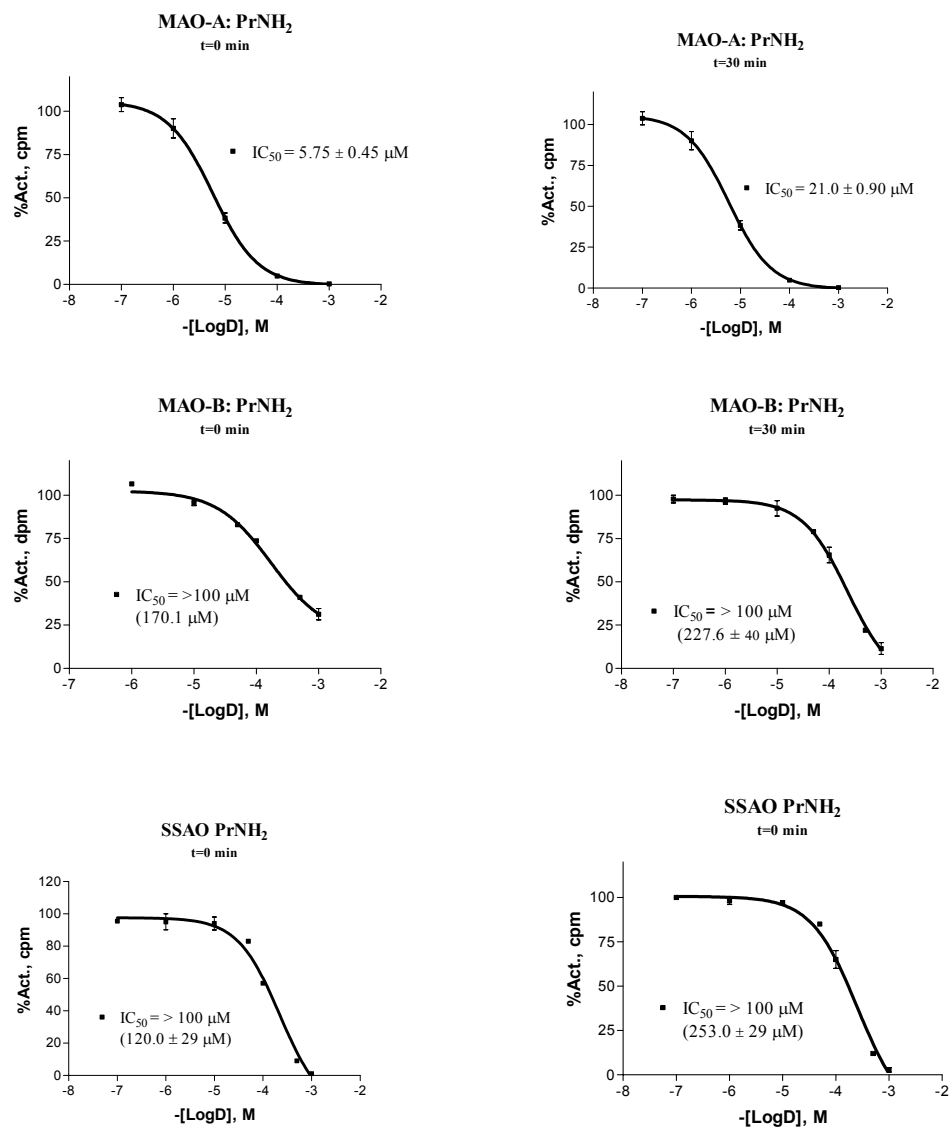
Se muestran a continuación como ejemplos algunas de las curvas de afinidad obtenidas por los compuestos del GrupoVII:



Se muestran a continuación como ejemplos algunas de las curvas de afinidad obtenidas por los compuestos del GrupoVII I:



Curvas de inhibición utilizando un método radioquímico para MAO-A, MAO-B y SSAO.



REFERENCIAS

- (1) Gómez, N; Unzeta, M; Tipton, K. F; Anderson, M. C; O'Carroll, A. M. *Biochem. Pharmacol.* **1986**, *35*, 4467-4472.
- (2) Schnaitman, C; Erwin, V. G; Greenawalt, J. W. *J. Cell Biol.* **1967**, *32*, 719-735.
- (3) Copeland, E. S; Campbell, I. C; Murphy, D. L. *Biochim. Biophys. Acta* **1983**, *743*, 186-194.
- (4) Johnston, J. P. *Biochem. Pharmacol.* **1968**, *17*, 1285-1297.
- (5) Langston, J. W.; Irwin, I; Langston, E. B; Forno, L. S. *Neurosci. Lett.* **1984**, *48*, 87-92.
- (6) Yu, P. H; Davis, B. A; Durden, D. A; Barber, A; Terleckyj, I.; Nicklas, W. G.; Boulton, A. A. *J. Neurochem.* **1994**, *62*, 697-704.
- (7) Langston, J. W; Ballard, P; Tetrud, J. W; Irwin, I. *Science* **1983**, *219*, 979-980.
- (8) Javitch, J. A; D'Amato, R. J; Strittmatter, S. M; Snyder, S. H. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* **1985**, *82*, 2173-2177.
- (9) Singer, T. P; Ramsay, R. R. *Biochem. Soc. Trans.* **1991**, *19*, 211-215.
- (10) Houslay, M. D; Tipton, K. F. *Biochem. J.* **1974**, *139*, 645-652.
- (11) Murphy, D. L. *Biochem. Pharmacol.* **1978**, *27*, 1889-1893.
- (12) Butcher, S. P; Fairbrother, I. S; Kelly, J. S; Arbuthnott, G. W. *J. Neurochem.* **1990**, 981-988.

- (13) Youdim, M. B; Finberg, J. P. *Mod. Probl. Pharmacopsychiatry* **1983**, *19*, 63-74.
- (14) Murphy, D. L; Aulakh, C. S; Garrick, T. Psychopharmacology: The Third Generation of Progress; In *Monoamine Oxidase Inhibitors as Antidepressants*; Raven Press: New York, **1987**; pp 545-552.
- (15) Youdim, M. B. and Finberg, J. P; Psychopharmacology 1; Pre-Clinical Pharmacology; *Monoamine Oxidase Inhibitor Antidepressants*. **1983**; pp 38-70. Amsterdam, Ewcerpa Medica.
- (16) Celada, P; Artigas, F. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* **1993**, *347*, 583-590.
- (17) Bel, N; Artigas, F. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* **1995**, *351*, 475-482.
- (18) Nolen, W. A; Haffmans, P. M; Bouvy, P. F; Duivenvoorden, H. J. *J. Affect. Disord.* **1993**, *28*, 189-197.
- (19) Anderson, M. C.; Hasan, F.; McCrodden, J. M; Tipton, K. F. *Neurochem. Res.* **1993**, *18*, 1145-1149.
- (20) Lipper, S; Murphy, D. L; Slater, S; Buchsbaum, M. S. *Psychopharmacology (Berl)* **1979**, *62*, 123-128.
- (21) Waldmeier, P. C; Baumann, P. A. Delini-Stula, A; Bernasconi, R; Sigg, K; Buech, O; Felner, A. E. *Mod. Probl. Pharmacopsychiatry* **1983**, *19*, 31-52.
- (22) Da Prada, M; Kettler, R; Keller, H. H. Cesura, A. M; Richards, J. G; Saura, M. J; Muggli-Maniglio, D; Wyss, P. C; Kyburz, E; Imhof, R. *J. Neural Transm. Suppl* **1990**, *29*, 279-292.
- (23) Cesura, A. M; Pletscher, A. *Prog. Drug Res.* **1992**, *38*, 171-297.
- (24) Wouters, J. *Curr. Med. Chem.* **1998**, *5*, 137-162.

- (25) Fowler, C. J; Ross, S. B. *Med. Res. Rev.* **1984**, *4*, 323-358.
- (26) Corte, L. D; Tipton, K. F. *Biochem. Pharmacol.* **1980**, *29*, 891-895.
- (27) Callingham, B. A; Barrand, M. A. *J. Neural Transm. Suppl* **1987**, *23*, 37-54.
- (28) Florvall, L; Ask, A. L; Ogren, S. O; Ross, S. B. *J. Med. Chem.* **1978**, *21*, 56-63.
- (29) Naoi, M; Nagatsu, T. *Life Sci.* **1987**, *40*, 1075-1082.
- (30) Balsa, D; Fernandez-Alvarez, E; Tipton, K. F; Unzeta, M. *J. Neural Transm. Suppl* **1990**, *32*, 103-105.
- (31) Nichols, D. E. Medicinal Chemistry and Structure-Activity Relationships in Amphetamine and its Analogs, Psychopharmacology and Abuse; Cho, A. K., Segal, D. S., eds. Academia Press: San Diego, **1994**; pp 3-41.
- (32) Kumar, Y; Florvall, L; Ask, A. L; Ross, S. B; Holm, A. C; Ogren, S. O. *Acta Pharm. Suec.* **1983**, *20*, 349-364.
- (33) Scorza, M. C; Carrau, C; Silveira, R; Zapata-Torres, G; Cassels, B. K; Reyes-Parada, M. *Biochem. Pharmacol.* **1997**, *54*, 1361-1369.
- (34) Tipton, K. F; Youdim, M. B. Methods in Biogenic Amine Research; Parvez, S., Parvez, H., Nagatsu, T., Nagatsu, I., eds. Elsevier Science: Amsterdam, **1983**; pp 344-367.
- (35) Yu, P. H. Neurotransmitter Enzymes; Neuromethods; V. Series I, *Neurochemistry*. Boulton, A. A. and Baker, G. B. 235-272. **1986**. Clifton, N.J., Humana Press.
- (36) Reyes-Parada, M; Scorza, M. C; Silveira, R; Dajas, F; Costa, G; Tipton, K. F; Cassels, B. K. *Biochem. Pharmacol.* **1994**, *47*, 1365-1371.

- (37) Reyes-Parada, M; Scorza, M. C; Silveira, R; Dajas, F; Cassels, B. K. *Life Sci.* **1994**, *54*, 1955-1963.
- (38) Shulgin, A. T; Shulgin, A. *PIHKAL, A Chemical Love Story*; Transform Press: Berkeley, **1991**; pp 458-925.
- (39) Jacob, P; Anderson, G; Meshul, C; Shulgin, A. and Castagnoli, N. *J. Med. Chem.* **1977**, *20*(10), 1235-1239.
- (40) Nichols, D. E; Shulgin, A. T. *J. Pharm. Sci.* **1976**, *65*, 1554-1556.
- (41) Zhu, J; Wang, Q. and Li, Y. *J. Chem. Soc. Chemical Communications.* **1988**, (23), 1549-1550.
- (42) Li, Z; Lin, K; and You, Q. *Zhongguo Yiyao Gongye Zazhi.* **2000**, *31*(6), 253-255.
- (43) Fischer, A. and Henderson, G. *Can. J. of Chem.* **1983**, *61*(6), 1045-1052.
- (44) Maillard, J; Vincent, M; Delaunay, P. R. *Acad. Sci. Hebd. Seances Acad. Sci. D.* **1966**, *262*, 933-936.
- (45) Wolfers, H., Kraatz, U., and Korte. *Synthesis.* **1975**, (1), 43-44.
- (46) Newman, M. and Karnes, H. *J. Org. Chem.* **1966**, *31*(12), 3980-3984.
- (47) Kwart, H. and Evans, E. *J. Org. Chem.* **1966**, *31*(2), 410-413.
- (48) DiBiase, S. A; Lipisko, B. A; Haag, A; Wolak, R. A; and Gokel, G. W. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*(25), 4640-4649.
- (49) Claisse, J; Foxton, M; Gordon I; Sheppard, A; Tiley, E; Warburton, W. and Wilson, M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I.* **1973**, (20), 2241-2249.
- (50) Tsuji, K; Nakamura, K; Konishi, N; Tojo, T; and Matsuo, M. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin.* **1997**, *45*(6), 987-995.

- (51) Kuliev, A. M; Gyul'akhmedov, L. M; Kuliev, A. B; and Zeinalova, G. A. *Zh. Org. Khim.* **1969**, 5(10), 1813-1815.
- (52) Sindelar, K; Holubek, J; Svatek, E; Schlanger, J; Valchar, M; Hrubantova, M. and Protiva, M. *Collec. Czec. Chem. Comm.* **1990**, 55(3), 782-796.
- (53) Standridge, R. T; Howell, H. G; Tilson, H. A; Chamberlain, J. H; Holava, H. M; Gyls, J. A; Shulgin, A. T. *J. Med. Chem.* **1980**, 23, 154-162.
- (54) Stork, G. and Tomasz, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, 86(3), 471-478.
- (55) Sargent, Melvyn V. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, **1982**, (2) 403-411.
- (56) Sargent, Melvyn V. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*. **1982**, (4), 1095-1098.
- (57) Laban, U, Kurrasch-Orbaugh, D, Marona-Lewicka, D, and Nichols, D. E. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **2001**, 11(6), 793-795.
- (58) Chambers, James J., Kurrasch-Orbaugh, Deborah M., Parker, Matthew A., and Nichols, D. E. *J. Med. Chem.* **2001**, 44(6), 1003-1010.
- (59) Stahl, S. M. *Essential Psychopharmacology*; Cambridge University Press: **2000**; pp 217-220.
- (60) Barrant, M. A.; Callingham, B. A. *Biochem. Pharmacol.* **1982**, 31, 2177-2184.
- (61) Raimondi, L; Pirisino, R; Ignesti, G; Capecchi, S; Banchelli, G; Buffoni, F. *Biochem. Pharmacol.* **1991**, 41, 467-470.
- (62) Pizzinat, N; Marti, L; Remaury, A; Leger, F; Langin, D; Lafontan, M; Carpena, C; Parini, A. *Biochem. Pharmacol.* **1999**, 58, 1735-1742.

- (63) Enrique-Tarancon, G.; Marti, L; Morin, N; Lizcano, J; Unzeta, M; Sevilla, L; Camps, M; Palacin, M; Testar, X; Carpena, C; Zorzano, A. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 8025-8032.
- (64) Morin, N; Lizcano, J; Fontana, E; Marti, L; Smih, F; Rouet, P; Prevot, D; Zorzano, A.;Unzeta, M.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2001**, *297*, 563-572.
- (65) Fowler, C; Tipton, K. *Biochem. Pharmacol.* **1981**, *30*, 3329-3332.
- (66) Tipton, K; Fowler, C; Houslay, M. Specificities of the two forms of monoamine oxidase; In *Monoamine Oxidase: Basic and Clinical Frontiers*; Kamijo, Usdin, Nagatsu, I., eds. Excerpta Medica: Princeton, **1982**; pp 87-99.
- (67) Fowler, C; Orelund, L; Marcusson, J; Winblad, B. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* **1980**, *311*, 263-272.
- (68) Gomez, N; Balsa, D; Unzeta, M. *Biochem. Pharmacol.* **1988**, *37*, 3407-3413.
- (69) Holt, A; Sharman, D; Baker, G; Palcic, M. *Anal. Biochem.* **1997**, *244*, 384-392.
- (70) Florvall, L; Ask, A; Ross, S; Ogren, S; Holm, A. *Acta Pharm. Suec.* **1983**, *20*, 255-270.
- (71) Robinson, J. B. *Biochem. Pharmacol.* **1985**, *34*, 4105-4108.
- (72) Nelson, D; Lucaites, V; Wainscott, D; Glennon, R. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **1999**, *359*, 1-6.

CURRÍCULUM VITAE

Alejandra Gallardo Godoy

larubis@yahoo.com

PERSONAL DATA

Date of Birth:	June 08 th , 1972
Nationality:	Chilean
Marital State:	Married
Languages:	Spanish (Native language) English (Speaking fluently, Writing well)

EDUCATION

1997-2002	Doctor en Química Similar to PhD, Chemistry, Faculty of Science, University of Chile. PhD Thesis: "Synthesis of phenethylamine derivatives as potential monoamine-oxidase (MAO) inhibitors"
1990-1996	Licenciado en Ciencias con mención en Química Similar to Bachelor in Science, major in Chemistry Passed Summa Cum Laude, first place in her class.

ACADEMIC AWARDS AND HONOURS

- Luis Sepulveda scholarship for graduate students 1997.
(Grant from the Faculty of Sciences, University of Chile)
- Postgraduate Fellowship from the National Scientific and Technological Research Commission (CONICYT) 1998
- Fellowship from CONICYT-Fulbright Foundation for one academic year to carry out research at Purdue University, Department of Medicinal Chemistry and Molecular Biology, West Lafayette, Indiana, EEUU 1999-2000.
- Thesis Grant from the Postgraduate and Post-title Studies Department, University of Chile PG/003/99.
- Thesis Grant from the Postgraduate and Post-title Studies Department, University of Chile PG/045/00.
- Postgraduate Fellowship from the Fundacion Andes, 2001-2002.

INTERNATIONAL COURSES AND RESEARCH VISITS

INTERNATIONAL COURSES:

- “BCHM 501 Radioactivity Safety”
Lecturer: Deb Smith PhD
School of Pharmacy, Purdue University, EEUU Dec 1999.
- “CHEM 500 Scientific Glassblowing”
Lecturer: John Pirollo PhD
School of Chemistry, Purdue University, EEUU
From January to June 2000.

RESEARCH VISITS:

- Purdue University, EEUU; From October 1999 to November 2000
- Department of Biochemistry and Molecular Biology, Universidad Autónoma de Barcelona, España; From August to October 2002.

PROFESSIONAL INTERESTS

Organic Chemistry applied to Medicinal Chemistry. Synthesis of CNS active molecules.

My major field of study is Medicinal Chemistry and I want to specialize in Neurochemistry.

REFERENCES

Bruce K. Cassels PhD (supervisor of my PhD thesis)
Professor of Chemistry; Department of Chemistry and Millennium Institute for Advanced Studies in Cell Physiology and Biotechnology; Faculty of Sciences; University of Chile.
Casilla 653, Santiago, Chile.
Las Palmeras 3425, Nunoa, Santiago, Chile
Phone: (562) 6787253
(562) 271-3881
Fax: (562) 271-3888
E-mail: bcassels@uchile.cl
bcassels@curio.ciencias.uchile.cl

David E. Nichols PhD
Professor of Medicinal Chemistry; Department of Medicinal Chemistry and Molecular Pharmacology; School of Pharmacy; Purdue University.
350 MCMP, West Lafayette, IN, EEUU 47906
Phone: (765) 494-1461
Fax: (765) 494-1414
E-mail: drdave@pharmacy.purdue.edu

Mercedes Unzeta PhD
Professor of Medicinal Chemistry; Department of Biochemistry and Molecular Biology; School of Medicine; Universidad Autónoma de Barcelona.
Edificio M, Campus Bellaterra, Barcelona, España.
Phone: (3493) 581-1523
Fax: (3493) 581-1573
E-mail: Mercedes.Unzeta@uab.es

PUBLICATIONS

A. Gallardo-Godoy, M. Castillo, B. K. Cassels, D. E. Nichols
“monoamino-oxidase inhibitors, Activity Relationships in a series of 4-Alkylthio-2,5-Dimethoxyphenyl Alkylamines”
Manuscript in preparation.

PRESENTATIONS AT SCIENTIFIC MEETINGS

“Monoamine oxidase inhibitory properties of a series of 1-(4-alkylthio-(X)-dimethoxyphenyl)-2-aminopropane derivatives”
(**Alejandra Gallardo-Godoy**, Bruce Cassels, Miguel Reyes-Parada, David E. Nichols)
10th International Amine Oxidase Workshop, Istanbul Turkey, August 25-29 2002.

“Inhibición de la enzima monoamina oxidasa (MAO) por derivados de feniletilamina”
(Gallardo-Godoy A., Cassels B. K., Fierro A., Reyes-Parada M.)
XXIII Congreso de Neurofisiología, La Serena Chile, September 2002.

“Structure-Activity Relationships in a Series of MAO-A-Inhibiting 2,5-Dimethoxy-4-alkylthiophenylalkylamines”
(Alejandra Gallardo-Godoy, Bruce K. Cassels, Marcos Caroli Rezende)
16th Internacional Conference in Physical Organic Chemistry, San Diego, California, August 4-9 2002.

“Síntesis de feniletilaminas con el inusual patrón de sustitución 2,4,6 sobre el anillo aromático”
(**Alejandra Gallardo-Godoy**, David E. Nichols)
XXIV Jornadas Chilenas de Química, Temuco. Chile (2001)

“Interesante ejemplo de regioselectividad sobre el anillo aromático”
(**Alejandra Gallardo-Godoy**, Thomas Mclean y David E. Nichols)
XXIV Jornadas Chilenas de Química, Temuco. Chile (2001)

“Síntesis de derivados de 1-(4-alkylthio-2,5-dimetoxifenil)-2-aminopropano y su evaluación como inhibidores de la enzima monoamino-oxidasa (MAO)”
(**Alejandra Gallardo-Godoy**, Angélica Fierro, Mariano Castillo, Bruce K. Cassels, Miguel Reyes-Parada)
XXIV Jornadas Chilenas de Química, Temuco Chile, November 2001

“Synthesis of analogs of Aleph-2, an MAO-A inhibitor and 5-HT₂ agonist with an unusual pharmacological profile”

(Alejandra Gallardo-Godoy, Mariano Castillo, Bruce K. Cassels)

XXIII Jornadas Chilenas de Química, Valdivia Chile, November 1999

“Structure-Affinity: Errors in optimizing geometry with AM1 methodology and wave function calculations with CNDO/2 methodology”

(Alejandra Gallardo-Godoy, J. S. Gomez-Jeria)

XV Chemistry Conferences, Santiago de Cuba. Cuba, November 1996

“Structure-Activity Relationships in ketanserin derivatives”

(Alejandra Gallardo-Godoy, J. S. Gomez-Jeria)

2nd Computational Chemistry and Molecular Spectroscopy Workshop,
Instituto de Química, Universidad Austral de Chile, Valdivia. December 1996

RESEARCH EXPERIENCE

Natural Products:

Isolation of flavonoids from Compositae of the Central Region of Chile

Natural Product Laboratory

Francesca Faini PhD

Faculty of Science, University of Chile.

Organic Chemistry:

Synthesis of compounds with biological activity

Organic Synthesis Laboratory

Mariano Castillo V. PhD

Faculty of Science, University of Chile.

Pharmacology:

Radioligand binding assays at cloned human 5HT_{1A}, 2A, 2C receptors.

Functional assays using Phosphoinositol Hydrolysis as a measure of receptor activation.

Monoamine Oxidase inhibition in rat brain preparation analyzed by HPLC.

Monoamine Oxidase inhibition in rat liver preparation analyzed by radiochemical methods.

Espectrofotometric assays at liver and lung rat preparation.

TEACHING EXPERIENCE

- 1998 Teaching and Laboratory Assistant in Biochemistry, Undergraduate Program in Chemistry, Faculty of Sciences, University of Chile.
- 1998 Teaching and Laboratory Assistant in Organic Chemistry I, Undergraduate Program in Chemistry, Faculty of Sciences, University of Chile.

Alejandra Gallardo Godoy

Santiago, Chile, January 2003