

UCH-FC  
DOC-@  
I 91  
C.1



**“ANALOGOS SIMPLIFICADOS DE ALCALOIDES  
BISBENCILISOQUINOLINICOS COMO POSIBLES RELAJANTES  
MUSCULARES”**

**Tesis**  
**entregada a la**  
**Universidad de Chile**  
**en cumplimiento parcial de los requisitos**  
**para optar al grado de**  
**Doctor en Ciencias con mención en Química**

**Facultad de Ciencias**

**por**

**Patricio Ernesto Iturriaga Vásquez**

**Diciembre, 2001**



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

FACULTAD DE CIENCIAS  
UNIVERSIDAD DE CHILE



INFORME DE APROBACION  
TESIS DE DOCTORADO

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

**Patricio Ernesto Iturriaga Vásquez**

Ha sido aprobada por la comisión de evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Doctor en Ciencias con mención en Química, en el examen de Defensa de Tesis rendido el día 14 de Septiembre del 2001.

Director de Tesis:

Dr. Bruce K. Cassels

*Bruce K. Cassels*  
.....

Comisión de Evaluación de la Tesis:

Dra M<sup>a</sup> Cecilia Rojas (Presidente)

Dr. Fernando Castañeda

Dra. Leonor Contreras

Dr. Ramon Latorre

Dr. Ricardo Tapia

*M. Cecilia Rojas*  
.....  
*[Signature]*  
.....  
*[Signature]*  
.....  
*[Signature]*  
.....



## **DEDICATORIA**

Esta tesis esta especialmente dedicada a los responsables  
de mi formación: Mis Padres, a Bruce Cassels, y a la Facultad de Ciencias

## **AGRADECIMIENTOS**

Quisiera expresar mis mas sinceros agradecimientos a todos aquellos que hicieron posible la realización de esta tesis, en especial a Conicyt y al Instituto Milenio los cuales me dieron el apoyo monetario suficiente para el desarrollo y termino de esta.

No puedo dejar de mencionar a todas aquellas personas que a lo largo de estos años han permanecido a mi lado y me han visto crecer junto a la ciencia, por eso quiero recordar a la pili, la xime, la junia, la mente insana (gran amigo), pelao carlo y la feña, la tuti y el guaton, el guata ascencio, gerald, marqui 2, marcia y andres, muy especialmente agradezco a mi gran amigo Patricio Rivera y al TOBI (pelao, miki, cevo, vlaras, rulo, buscarte y Don lalo Q.E.P.D.), a mi hermosa familia y mi linda flaquita.

A todos ellos por soportar todos mis desmanes muchas gracias.

## INDICE DE MATERIAS

<b>INTRODUCCION .....</b>	<b>6</b>
Farmacología de la hipertensión .....	6
Mecanismos de acción .....	13
Receptores adrenérgicos .....	13
Canales de calcio.....	17
Actividad relajante muscular de alcaloides isoquinolínicos .....	20
Hipótesis.....	30
<b>MATERIALES Y METODOS .....</b>	<b>31</b>
Metodologías de Síntesis .....	31
Protocolos para los estudios de desplazamiento de radioligandos y de actividad relajante vascular .....	66
Preparación de membranas .....	66
Estudios de unión de radioligandos. ....	66
Estudios funcionales .....	67
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>69</b>
Síntesis y análisis conformacional de 1-bencil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas.....	69
Cálculos de barreras de energía rotacional para la 1-benciltetrahidroisoquinolina y la <i>N</i> -metil-1-benciltetrahidroisoquinolina.....	75
Estudios de desplazamiento de radioligandos en membranas de corteza cerebral y ensayos de relajación muscular en aorta aislada de rata.....	76
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>83</b>
Síntesis, análisis estructural y estudio conformacional de 1-bencil-1,2,3,4-tetrahidrobencilisoquinolinas.....	83
Afinidades por sitios de unión en receptores $\alpha_1$ -adrenérgicos y en canales de calcio de tipo L, y actividad relajante muscular de coclaurina y derivados.....	91
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>98</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>103</b>
<b>APENDICE.....</b>	<b>107</b>

## LISTA DE TABLAS

Tabla # 1.- Clasificación de las drogas antihipertensivas de acuerdo a su sitio de acción primario o mecanismo de acción. ....	7
Tabla # 2: Desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento para norlaudanosina, su clorhidrato y derivados <i>N</i> -alquilados a partir de sus espectros de RMN- <sup>1</sup> H. ....	70
Tabla # 3: Comparación de los espectros de RMN <sup>1</sup> H para norlaudanosina y su clorhidrato. ....	71
Tabla # 4: Derivados de coclaurina preparados utilizando la metodología de Teitel & Bossi y <i>N</i> -alquilando los productos iniciales. ....	72
Tabla # 5: Multiplicidad y constantes de acoplamiento geminal para los protones de los metilenos bencílicos unidos al oxígeno del C-7 de los derivados mono- y dibencilados de coclaurina. ....	73
Tabla # 6: Desplazamientos químicos ( $\delta$ , ppm) para los protones H-8 y H-1 de todos los derivados de coclaurina sintetizados. ....	74
Tabla # 7.- Desplazamiento de { <sup>3</sup> H}-prazosin por coclaurina y sus derivados. ....	78
Tabla # 8: Desplazamiento de { <sup>3</sup> H}-diltiazem por coclaurina y sus derivados. ....	79
Tabla # 11: Resumen comparativo de los derivados de coclaurina ordenados de acuerdo a su grado de alquilación y volumen del sustituyente, respecto de sus valores de pK <sub>i</sub> para los ensayos de afinidad por receptores $\alpha_1$ -adrenérgicos. ....	92
Tabla # 12: Resumen comparativo de los derivados de coclaurina ordenados de acuerdo a su grado de alquilación y volumen del sustituyente, respecto de sus valores de pK <sub>i</sub> para los ensayos de afinidad por sitios de unión de benzotiazepinas en el canal de calcio. ....	95

## LISTA DE FIGURAS

Figura # 1.- Drogas que actúan como agentes antihipertensivos regulando los niveles de absorción y excreción renal .....	8
Figura # 2.- Drogas que actúan como inhibidores de la ECA o como antagonistas de receptores de angiotensina II.....	9
Figura # 3.- Drogas antihipertensivas que actúan directamente en el sistema nervioso simpático.....	11
Figura # 4.- Agentes bloqueadores de canales de $\text{Ca}^{2+}$ dependientes de voltaje. ....	12
Figura # 5.- Agonistas selectivos para receptores $\alpha$ -adrenérgicos y receptores $\beta$ -adrenérgicos.....	14
Figura # 6-A.- Efectos moleculares de agonistas de receptores $\alpha_1$ -adrenérgicos.....	15
Figura # 6-B.- Efectos moleculares de agonistas de receptores $\alpha_2$ -, $\beta_1$ -, y $\beta_2$ -adrenérgicos. ....	15
Figura # 7.- Agonistas selectivos para subtipos de receptores $\alpha_1$ -adrenérgicos .....	16
Figura # 8.- Esquema simplificado de un canal de calcio de tipo L .....	18
Figura # 9.- Numeración y configuración de BTHIQ's.....	20
Figura # 10.- tetrandrina e isotetrandrina.....	22
Figura # 11.- popisonina, lindoldhamina, obaberina y antioquina .....	23
Figura # 12.- thaligrisina.....	25
Figura # 13.- tenuipina, cefarantina, repandina, oxiacantina y driadonafnina.....	26
Figura # 14.- papaverina, coclaurina, laudanosina, glaucina, boldina y apomorfina.....	28
Figura # 15.- cularina, cularidina y celtisina.....	29
Figura # 16.- Energías conformacionales relativas.....	75
Figura # 17.- Curvas de desplazamiento de la unión específica de $\{^3\text{H}\}$ -prazosin para derivados <i>N</i> - y <i>O</i> -metilados de coclaurina.....	77
Figura # 18.- Curvas de desplazamiento de la unión específica de $\{^3\text{H}\}$ -prazosin para derivados <i>O</i> -bencilados de coclaurina. ....	77
Figura # 19.- Curvas de desplazamiento de la unión específica de $\{^3\text{H}\}$ -diltiazem para derivados <i>N</i> - y <i>O</i> -metilados de coclaurina .....	80
Figura # 20.- Curvas de desplazamiento de la unión específica de $\{^3\text{H}\}$ -diltiazem para derivados <i>O</i> -bencilados de coclaurina. ....	80

## SUMMARY

The alkaloids coclaurine and tetrandrine (an *N*- and *O*-methylated dimeric coclaurine) are known as vascular smooth muscle relaxants whose action is attributed to a greater or lesser degree to the blockage of potential-operated calcium channels or  $\alpha_1$ -adrenergic receptor antagonism. As coclaurine represents the "eastern" half of the tetrandrine molecule, it was used as a template on which substituents were appended to simulate the conformation and structure of the dimer. Selective radioligand displacement experiments were performed to determine the affinities for  $\alpha_1$ -adrenergic receptors and for the benzothiazepine binding locus in the voltage-gated calcium channel, as well as functional studies on the relaxation of rat aorta rings contracted by noradrenaline or KCl. The behavior of a set of 10 *N*- and *O*-methylated coclaurine derivatives was studied, and also of 9 derivatives with benzyl ether functions which could be regarded as simplified analogs of tetrandrine. Conformational studies of these derivatives, carried out by NMR, indicated that the alkylation of the tetrahydroisoquinoline nitrogen in these compounds makes them adopt a preferentially "folded" conformation in solution, close to that in which the "eastern" half of the tetrandrine molecule is held. The results of affinity studies, in agreement with the results for vascular smooth muscle relaxant activity, indicate that an increase in the extent of methylation in the *N*- and *O*-methylated derivatives of coclaurine causes a decrease in adrenergic antagonism and an increase in calcium channel blockage. The derivatives with aromatic residues exhibited similar behavior to tetrandrine: most of them show good affinity and potency regarding their vascular relaxant activity related to adrenergic receptor antagonism or the modulation of calcium channel function. Some of these derivatives proved to be more potent vasorelaxants than tetrandrine itself.



## RESUMEN

Los alcaloides coclaurina y tetrandrina (una coclaurina dimérica *N*- y *O*- metilada) son conocidos relajantes de la musculatura lisa vascular, cuya acción se atribuye en mayor o menor grado al bloqueo de canales de calcio dependientes de voltaje o al antagonismo de receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos. Ya que la coclaurina representa a la mitad "oriental" de la molécula de tetrandrina, se realizaron modificaciones sobre ésta de manera de simular la conformación y estructura del dímero. Se realizaron ensayos de desplazamiento de radioligandos selectivos para estudios de afinidad por receptores  $\alpha$ -adrenérgicos y por el sitio benzotiazepínico en el canal de calcio dependiente de voltaje, además de estudios funcionales de relajación de contracciones inducidas por noradrenalina o KCl en aorta de rata. Se estudió el comportamiento de un conjunto de 10 análogos *N*- y *O*-metilados de coclaurina, además de 9 derivados con funciones bencil éter que pudieran considerarse como análogos simplificados de tetrandrina. Estudios conformacionales de los derivados realizados por RMN, indican que la alquilación del nitrógeno tetrahidroisoquinolínico en estos compuestos les hace adoptar una conformación preferencialmente "plegada" en solución, próxima a la que mantiene la mitad "oriental" de la tetrandrina. Los resultados de estudios de afinidad, en concordancia con los resultados de relajación de la musculatura vascular, indican que el aumento en el grado de metilación para los derivados *N*- y *O*-metilados de coclaurina produce una disminución del antagonismo adrenérgico y un aumento del bloqueo sobre el canal de calcio. Los derivados con residuos aromáticos mostraron el mismo comportamiento que la tetrandrina: la mayoría presenta buena afinidad y potencia en cuanto a su la actividad relajante vascular relacionada con el bloqueo de los receptores adrenérgicos o del canal de calcio. Algunos de los derivados resultaron ser más potentes relajantes del tejido vascular que la misma tetrandrina.

## INTRODUCCION

### Farmacología de la hipertensión

La hipertensión es uno de los principales y más comunes problemas que afectan a la población adulta mayor y conduce a una amplia gama de enfermedades cardiovasculares. La hipertensión es la principal causante de infartos al miocardio, conduce a enfermedades de las arterias coronarias, muerte repentina por paro cardíaco y es un contribuyente a otras fallas cardíacas e insuficiencia renal. Una elevada presión arterial provoca cambios patológicos en el tejido vascular y puede producir hipertrofia del músculo cardíaco.

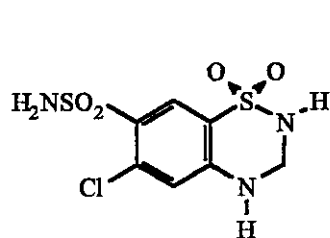
Los efectos que las drogas antihipertensivas producen sobre el sistema cardiovascular pueden ser clasificados de acuerdo a sus mecanismos de acción en los diferentes órganos involucrados, tanto en el corazón, regulando el ritmo y la fuerza contráctil como en el volumen sanguíneo y la resistencia del tejido vascular periférico. Como la presión arterial es el producto de la potencia cardíaca y de la resistencia vascular periférica, la hipertensión, independientemente de su origen, puede ser corregida por la acción de drogas que actúen ya sea en la potencia cardíaca o sobre la resistencia periférica, ó ambas. La farmacología descrita para este tipo de problemas cardiovasculares es variada: existen a lo menos 5 grandes clases de mecanismos de acción por los cuales una determinada droga puede ejercer su efecto antihipertensivo (tabla #1 ) (Oates, 1996).

Tabla # 1.- Clasificación de las drogas antihipertensivas de acuerdo a su sitio de acción primario o mecanismo de acción.

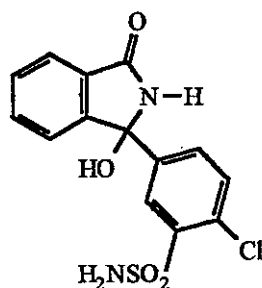
<b>Sitio de acción primario o mecanismo de acción</b>	<b>Ejemplos de drogas utilizadas</b>
<p><b><u>Diuréticos</u></b>            Tiacidas y compuestos relacionados</p> <p>Diuréticos del asa</p> <p>Diuréticos que conservan K<sup>+</sup></p>	<p>-hidroclorotiacida, clortalidona.</p> <p>-furosemida.</p> <p>-amilorida, triamtereno, espironolactona.</p>
<p><b><u>Drogas Simpatolíticas</u></b></p> <p>Agentes de acción central</p> <p>Agentes bloqueadores ganglionares</p> <p>Agentes bloqueadores de neuronas adrenérgicas</p> <p>Antagonistas β-adrenérgicos</p> <p>Antagonistas α-adrenérgicos</p>	<p>-metildopa, clonidina, guanfancina</p> <p>-trimetafan.</p> <p>-reserpina, guanetidina.</p> <p>-propranolol, metoprolol.</p> <p>-prazosin, fenoxibenzamina, fentolamina.</p>
<p><b><u>Bloqueadores de canales de Ca<sup>2+</sup></u></b></p> <p>Fenilalquilaminas</p> <p>Benzotiacepinas</p> <p>1,4-Dihidropiridinas</p>	<p>-verapamil.</p> <p>-diltiazem.</p> <p>-nifedipina</p>
<p><b><u>Inhibidores de la enzima que convierte angiotensina</u></b></p>	<p>-captopril, enalapril</p>
<p><b><u>Antagonistas del receptor de angiotensina II</u></b></p>	<p>-losartan</p>

Entre los diuréticos que afectan la excreción renal (figura #1), encontramos tiacidas y compuestos relacionados (e.g. hidroclorotiacida, clortalidona). Su principal sitio de

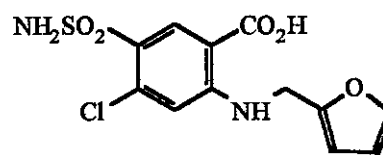
acción se encuentra en las células epiteliales del túbulo renal y afectan el co-transporte de  $\text{Na}^+$ - $\text{Cl}^-$ . Otro grupo está relacionado a la inhibición del transporte simultáneo de  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ - $2\text{Cl}^-$  a través de la membrana celular del asa de Henle. Entre estas drogas las más usadas son del tipo sulfonamida (e.g. furosemida) y son conocidas como "loop diuretics" o diuréticos del asa. La última gran familia de diuréticos está relacionada en su acción primaria con la inhibición de la conductancia de canales de  $\text{Na}^+$  en la membrana apical de las células epiteliales del ducto colector renal. Estas drogas son conocidas como diuréticos que conservan potasio ó " $\text{K}^+$ -sparing diuretics" (e.g. amilorida, triamtereno y espironolactona) (Jackson, 1996).



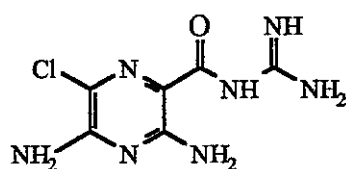
HIDROCLOROTIAZIDA



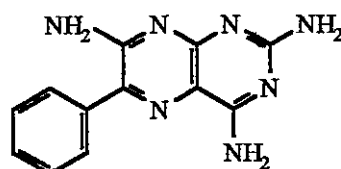
CLORTALIDONA



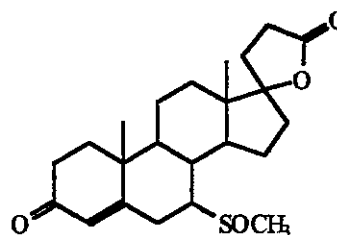
FUROSEMIDA



AMILORIDA



TRIAMTERENO



ESPIRONOLACTONA

**Figura # 1.- Drogas que actúan como agentes antihipertensivos regulando los niveles de absorción y excreción renal (Diuréticos)**

Los inhibidores de la enzima que convierte angiotensina (ECA) (e.g. captopril) y los antagonistas del receptor de angiotensina-II (e.g. losartan) constituyen otras dos familias de drogas utilizadas en el tratamiento de la hipertensión (figura #2).

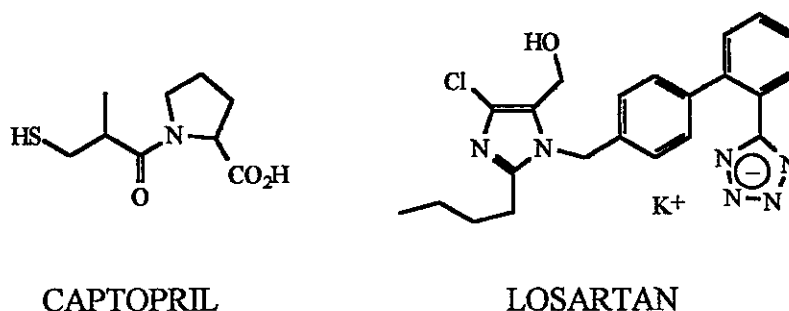


Figura # 2.- Drogas que actúan como inhibidores de la ECA o como antagonistas de receptores de angiotensina II.

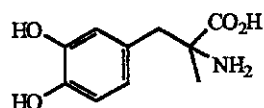
La ECA tiene una compleja farmacología, y se sabe que posee varios sustratos aparte de angiotensina I. Los inhibidores de la ECA pueden conducir a una sostenida vasodilatación y ejercer una acción favorable en una falla cardíaca. Además del efecto vasoconstrictor sistémico e intrarrenal de la angiotensina-II, ésta puede actuar como una señal intercelular en el músculo cardíaco. Antagonistas de este tipo disminuyen la presión arterial regulando el ritmo cardíaco y el flujo sanguíneo a nivel renal (Kelly & Smith, 1996).

Las drogas que pueden reducir la resistencia vascular periférica actúan directamente en la musculatura lisa causando relajación de la pared vascular ó interfiriendo en la actividad de los sistemas que producen contracción de la musculatura vascular (e.g. sistema nervioso simpático). Una extensa familia de drogas que actúan a nivel del sistema nervioso simpático son conocidas. La gran mayoría de ellas actúan a

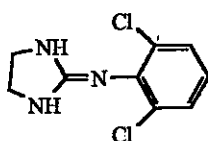
través de los diferentes tipos de receptores adrenérgicos, ya sea a nivel presináptico inhibiendo la liberación de noradrenalina, ó por antagonismo de receptores  $\alpha$ - o  $\beta$ -adrenérgicos postsinápticos, de manera que se inhiba la cascada de eventos que conduce a través de la liberación de segundos mensajeros a la respuesta funcional de vasoconstricción.

Dentro de esta familia (figura #3), están los agentes que actúan centralmente (e.g. metildopa, clonidina, guanfacina), aquellos que bloquean los ganglios simpáticos (trimetafan), los agentes que inhiben neuronas adrenérgicas (guanetidina, reserpina), los que presentan antagonismo  $\alpha$ -adrenérgico (prazosin, fentolamina, fenoxibenzamina) y los antagonistas  $\beta$ -adrenérgicos (propranolol, metoprolol) (Hoffman & Lefkowitz, 1996).

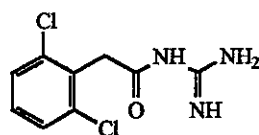
### Agentes que actúan centralmente



METILDOPA

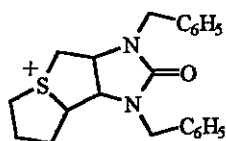


CLONIDINA



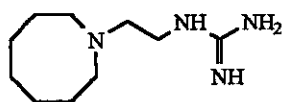
GUANFANCINA

### Agentes bloqueadores ganglionares

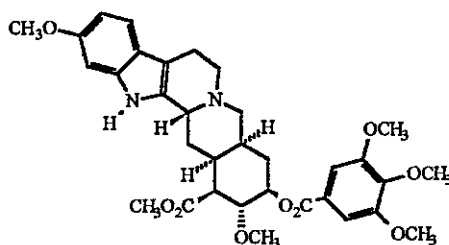


TRIMETAFAN

### Agentes bloqueadores de neuronas adrenérgicas

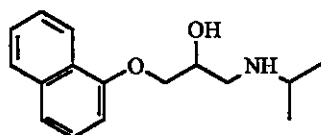


GUANETIDINA

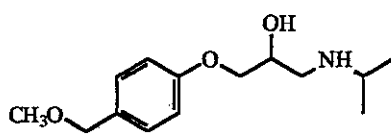


RESERPINA

### Antagonistas $\beta$ -adrenérgicos

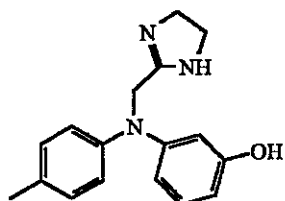


PROPRANOLOL

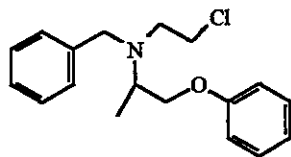


METOPROLOL

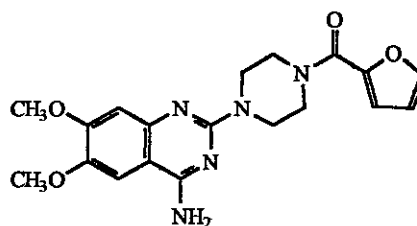
### Antagonistas $\alpha$ -adrenérgicos



FENTOLAMINA



FENOXIBENZAMIDA



PRAZOSIN

**Figura # 3.- Drogas antihipertensivas que actúan directamente en el sistema nervioso simpático (Drogas simpatolíticas)**

Los agentes bloqueadores de canales de calcio son un importante grupo de drogas para el tratamiento de la hipertensión, ya que la contracción de la musculatura lisa es dependiente de la concentración de calcio intracelular libre. Así, la inhibición del movimiento de calcio a través de la membrana plasmática puede disminuir la cantidad de calcio total que llega a los sitios intracelulares. Debido a esto todos los bloqueadores de canales de calcio disminuyen la presión sanguínea por relajación de la musculatura lisa arterial y disminución de la resistencia vascular periférica. Tres tipos de drogas son actualmente usadas en el tratamiento de la hipertensión bloqueando directamente canales de calcio dependientes de voltaje de tipo L (figura #4): las 1,4-dihidropiridinas (e.g. nifedipina), benzotiazepinas (e.g. diltiazem) y fenilalquilaminas (e.g. verapamil) (Robertson & Robertson, 1996; Oates, 1996).

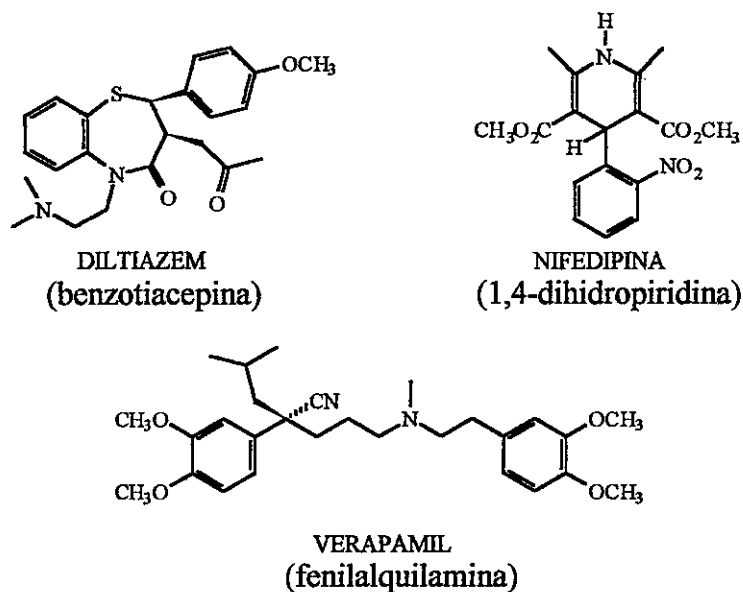


Figura # 4.- Agentes bloqueadores de canales de  $\text{Ca}^{2+}$  dependientes de voltaje.





## **Mecanismos de acción**

Podemos observar que existe una gran variedad de mecanismos por los cuales puede expresarse la hipertensión y que afecten directamente al sistema cardiovascular. De esta manera las posibles vías por las que funcionan las drogas útiles para el tratamiento de la hipertensión deben comprenderse por separado para luego producir su integración. Dado que el alcaloide biscoclaurínico tetrandrina, utilizado en China para el tratamiento de la hipertensión, actúa a la vez bloqueando selectivamente canales de calcio dependientes de voltaje de tipo L y como antagonista de receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos, nos interesó estudiar relaciones estructura-actividad de análogos simplificados de este alcaloide en la perspectiva de estos dos mecanismos.

## **Receptores adrenérgicos**

Aunque estructuralmente son muy parecidos, diferentes receptores adrenérgicos regulan distintos procesos fisiológicos controlando la síntesis ó liberación de una variedad de segundos mensajeros. Una clasificación inicial de los receptores adrenérgicos fue hecha en razón de la disponibilidad de los agonistas adrenalina, noradrenalina e isoproterenol (figura #5) para regular ciertos procesos fisiológicos. Se sabe que estas drogas pueden actuar en procesos de contracción ó relajación de la musculatura lisa, dependiendo del sitio de acción, la dosis y el agente elegido. Por ejemplo, noradrenalina posee un potente efecto excitatorio en la musculatura lisa y una muy baja actividad como inhibidor, mientras que isoproterenol produce un efecto totalmente opuesto. De esta manera la denominación  $\alpha$ -adrenérgicos se refiere a aquellos receptores donde el agonista más potente es noradrenalina y se les asocia a una actividad contráctil en la musculatura

lisa vascular. Por el contrario, los receptores  $\beta$ -adrenérgicos son más sensibles al agonista isoproterenol y se les asocia a una actividad relajadora de la musculatura vascular. Esta clasificación inicial ha sido corroborada por ensayos de unión con antagonistas que producen un bloqueo selectivo de los efectos producidos por agentes simpatomiméticos (i.e. fenoxibenzamida en receptores  $\alpha$ -adrenérgicos o propranolol en receptores  $\beta$ -adrenérgicos) (Hoffman & Lefkowitz, 1996).

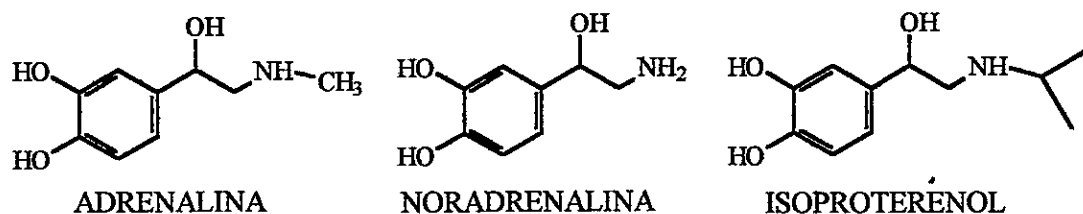


Figura # 5.- Agonistas selectivos para receptores  $\alpha$ -adrenérgicos y receptores  $\beta$ -adrenérgicos.

Los receptores adrenérgicos están relacionados tanto estructural como funcionalmente a una amplia variedad de receptores de hormonas y neurotransmisores, los cuales transmiten el estímulo a través de una proteína que une GDP y GTP, llamada proteína G, hacia un sistema efector induciendo o inhibiendo la síntesis de un segundo mensajero o la apertura de un canal iónico (figura #6) (Forster, 1998).

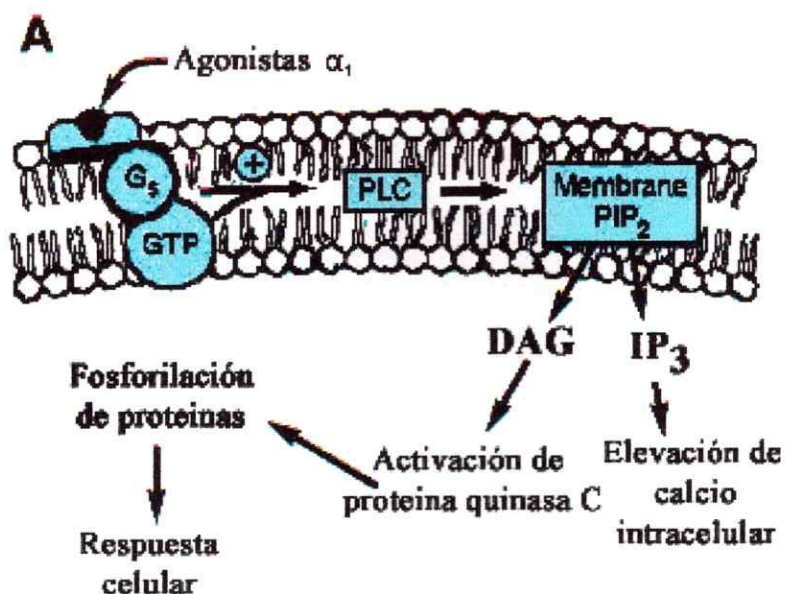


Figura # 6-A.- Efectos moleculares de agonistas de receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos.

$G_q$  = proteína G estimuladora para fosfolipasa C; GTP = guanosina trifosfato; PLC = fosfolipasa C;  $PIP_2$  = fosfatidilinositol difosfato;  $IP_3$  = inositol trifosfato; DG = diacil glicerol; + = estimulante. (figura tomada de Principles of Medical Pharmacology, H. Kalant & W. Roschlau Eds., Oxford University Press, 6<sup>o</sup> Ed. 1998)

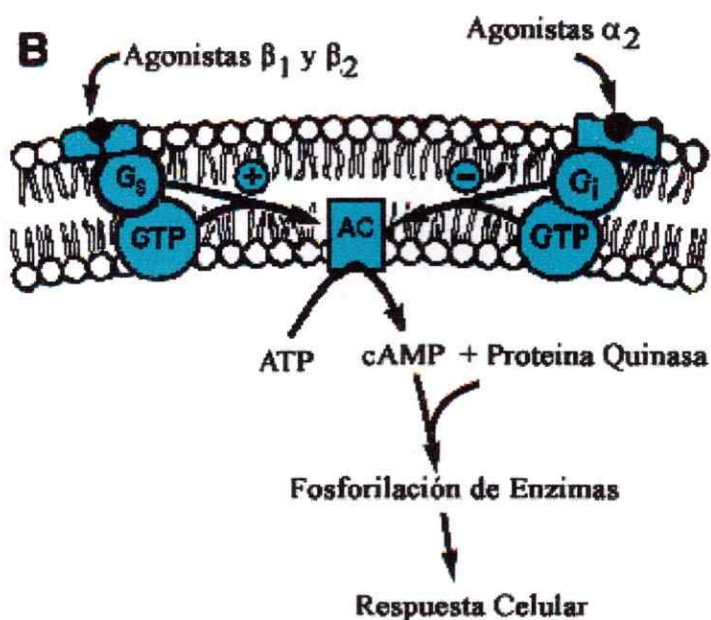


Figura # 6-B.- Efectos moleculares de agonistas de receptores  $\alpha_2$ -,  $\beta_1$ -, y  $\beta_2$ -adrenérgicos.

$G_s$  = proteína G estimuladora para adenilato ciclasa ;  $G_i$  = proteína G inhibitoria para adenilato ciclasa; AC = adenilato ciclasa; GTP = guanosina trifosfato; ATP = adenosil trifosfato; cAMP = adenosina monofosfato ciclico; + = estimulante; - = inhibitoria.

(figura tomada de Principles of Medical Pharmacology, H. Kalant & W. Roschlau Eds., Oxford University Press, 6<sup>o</sup> Ed. 1998)

Todos los receptores  $\beta$ -adrenérgicos estimulan la enzima adenilato ciclasa mediante la interacción con una proteína G. Esta activación de la enzima conduce a una acumulación de AMP cíclico en el citoplasma lo cual puede aumentar directamente la activación de canales de calcio dependientes de voltaje en la membrana plasmática del músculo esquelético y cardíaco.

Bajo consideraciones funcionales y anatómicas de los receptores  $\alpha$ -adrenérgicos, éstos se han podido clasificar en dos grandes subtipos: los receptores presinápticos clasificados como  $\alpha_2$ -adrenérgicos y los receptores postsinápticos "excitatorios" clasificados como  $\alpha_1$ -adrenérgicos. Existen compuestos tales como clonidina que es un selectivo agonista de receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos, mientras que fenilefrina y metoxamina son selectivos agonistas de receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos (figura #7).

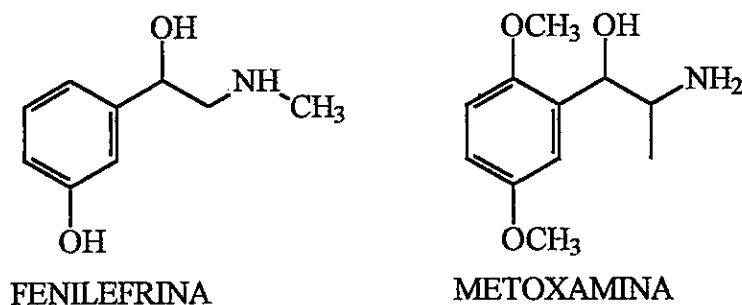


Figura # 7.- Agonistas selectivos para subtipos de receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos

Los genes de seis distintos subtipos de receptores  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$  han sido clonados y secuenciados completamente. Todos los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos producen estimulación de proteínas  $G_i$ , las cuales son causantes de la inhibición de la enzima adenilato ciclasa, y producen hiperpolarización de la membrana por activación de canales

de  $K^+$ . Los receptores  $\alpha_2$  son también capaces de inhibir canales de calcio dependientes de voltaje a través de la activación de una proteína  $G_o$ .

La estimulación de receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos conduce a la movilización de calcio intracelular desde las vesículas del retículo endoplasmático. Esta liberación de calcio intracelular es mediado por una proteína  $G_q$  que estimula la activación de la fosfolipasa  $C_\beta$ . La hidrólisis de polifosfoinositidos por activación de la fosfolipasa resulta en la generación de segundos mensajeros,  $IP_3$  (inositol trifosfato) y DAG (diacilglicerol). El primero produce la liberación de calcio desde los depósitos intracelulares a través de un proceso mediado por receptores específicos, mientras que DAG es un potente activador de la proteína quinasa C, cuya regulación es un importante componente de la respuesta funcional que sigue a la activación de estos receptores. En una buena parte del tejido muscular liso, el aumento de la concentración de calcio intracelular causa una contracción como resultado de la activación de una proteína quinasa sensible a calcio (Hoffman & Lefkowitz, 1996; Ross, 1996; Mitchell, 1998).

### **Canales de calcio**

Existen a lo menos 3 diferentes mecanismos de acción responsables de la contracción del tejido vascular que son mediados por el influjo de calcio: Primero, es la apertura de canales de calcio sensibles al voltaje en respuesta a una despolarización de la membrana plasmática y el movimiento de calcio extracelular hacia dentro de la célula. Segundo, existen contracciones inducidas por agonistas que pueden ocurrir sin la despolarización de la membrana y que son resultado de la hidrólisis de fosfatidilinositol integrante de la membrana con la consecuente liberación de  $IP_3$ , el cual actúa como

segundo mensajero en la liberación de calcio intracelular desde el retículo sarcoplásmico. Tercero, hay canales de calcio que permiten la entrada de calcio extracelular en respuesta a la ocupación de un sitio receptor en la molécula que forma el canal (Robertson & Robertson, 1996; Oates, 1996).

Todos los bloqueadores de canales de calcio relajan la musculatura lisa arterial, ocupando un sitio receptor específico dentro de la subunidad  $\alpha$  en la macromolécula que forma el canal de calcio (figura #8); sin embargo ellos tienen solo un pequeño efecto en la mayoría de las venas y por lo tanto no afectan significativamente el prellenado cardíaco.

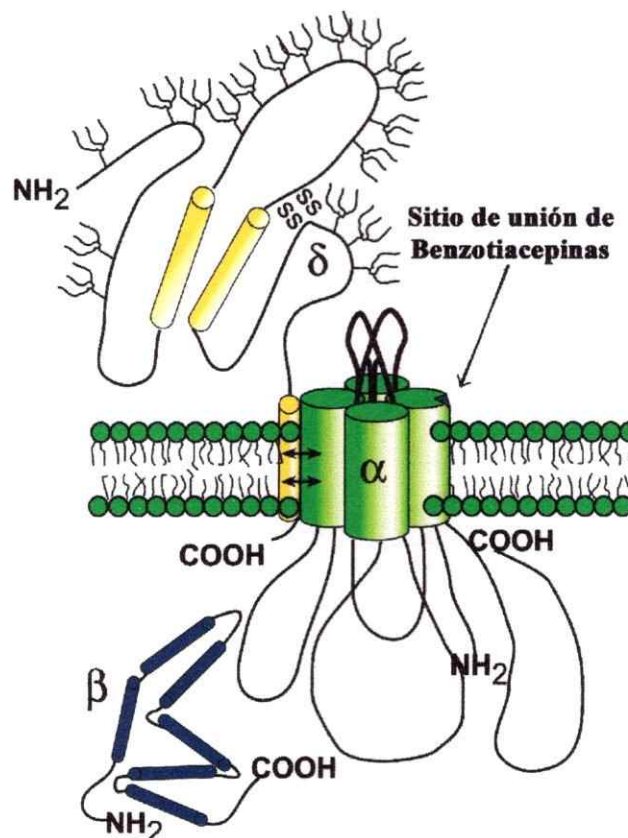


Figura # 8.- Esquema simplificado de un canal de calcio de tipo L

Se indica la subunidad  $\alpha$ , lugar donde se encuentran todos los sitios de interacciones con bloqueadores de canales de calcio de tipo L.

Los canales de calcio de la membrana plasmática cumplen la función de regular el flujo de iones  $\text{Ca}^{2+}$  a través de la membrana en respuesta a la despolarización de la misma o la activación de receptores. Los canales dependientes del voltaje son los mejor caracterizados, conociéndose canales activados o inactivados por potenciales de membrana altos y bajos. Dentro de los canales operados por potenciales altos se encuentran cuatro tipos: los B, L, N y P. Canales de los tipos N y P son bloqueados específicamente por los péptidos  $\omega$ -conotoxina-GVIA y  $\omega$ -agatoxina-IVA respectivamente y se localizan principalmente en neuronas y células neuroendocrinas. Los canales del tipo L son rápidamente bloqueados por pequeñas moléculas orgánicas como el verapamil, diltiazem y nifedipina y son expresados en células endocrinas, neuronales y del músculo liso, cardíaco y esquelético. En el músculo cardíaco estos canales están involucrados en la generación y propagación de impulsos eléctricos y en la iniciación de las contracciones del músculo auricular y ventricular. En el músculo liso ellos contribuyen al desarrollo de tensión y aparentemente regulan la concentración de calcio intracelular de otras células. Sin embargo, ellos no están involucrados en la secreción de neurotransmisores (Hofmann & col., 1994; Gilmore & col., 1995).

Los bloqueadores que inhiben los canales de calcio dependientes de voltaje en el tejido vascular lo hacen a concentraciones significativamente menores que las requeridas para interferir la liberación de calcio intracelular o para el bloqueo de canales de calcio mediados por receptores. Cinco clases de compuestos han sido examinados como bloqueadores selectivos de canales de calcio de tipo L: fenilalquilaminas, 1,4-dihidropiridinas, benzotiazepinas, difenilpiperacinas y diarilaminopropilaminas (figura # 4). Todos éstos han mostrado disminuir la resistencia vascular coronaria y aumentar el

flujo sanguíneo coronario en pacientes con disfunciones cardiovasculares. Los estudios referentes a este tipo de canales en el presente trabajo de tesis fueron realizados en relación a la inhibición de la unión del diltiazem al sitio benzotiacépinico en el canal de calcio.

### Actividad relajante muscular de alcaloides isoquinolínicos

Los alcaloides bisbencilisoquinolínicos (BBI) o biscoclaurínicos constituyen uno de los grupos de alcaloides más importantes y extensos que se conocen, habiendo sido descritos hasta ahora alrededor de 300 compuestos diferentes constituidos por dos unidades bencilisoquinolínicas, las cuales están unidas a través de funciones difenil éter o, más raramente uniones bifenilo; estas uniones pueden constituir uno, dos o tres puentes (Kulka, 1954). La mayoría de los dímeros de bencilisoquinolinas presentan una unión éter cola-cola entre los carbonos 11 y 12' o una unión bifenilo entre los carbonos 11 y 11' de las unidades monoméricas (figura # 9).

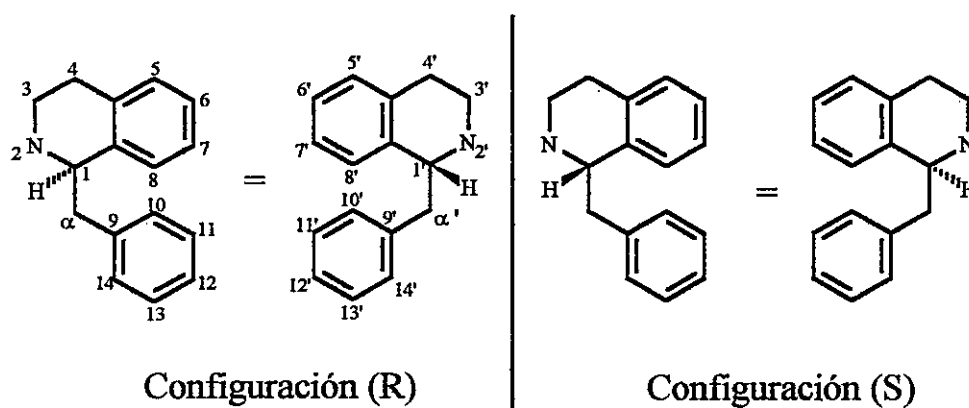


Figura # 9

Es habitual además la presencia de una unión cabeza-cabeza a través de uno o dos puentes tipo éter que siguen patrones muy variados aunque las uniones 7-8' y 8-7' aparecen con frecuencia. Estos alcaloides, en general, presentan varios sustituyentes



oxigenados y dos nitrógenos 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolínicos, en donde varía el grado de metilación. Debido a que existe cierta confusión en la literatura para la correcta aplicación de las reglas de Cahn-Ingold-Prelog a BBI's, se utiliza la misma nomenclatura configuracional de las unidades monoméricas representadas tal como ellas usualmente aparecen en el alcaloide dimérico (Cassels & Shamma, 1980), (figura #9).

Este tipo de alcaloides han sido aislados principalmente de especies pertenecientes a las familias de Berberidáceas, Menispermáceas, Monimiáceas y Ranunculáceas (Guha y col., 1979; Schiff, 1983, 1987, 1991) y más recientemente se ha publicado la aislación de bisbencilisoquinolinas de algunas especies de la familia de las Annonáceas (Cortes y col., 1986; Berthou y col., 1989). La gran mayoría de los alcaloides BBI's que han sido estudiados en modelos biológicos presentan actividad asociada a una enorme variedad de efectos como hipotensivos, antiinflamatorios, antiarrítmicos, bactericidas y relajantes musculares (Buck, 1987).

El alcaloide BBI tetrandrina fue obtenido originalmente a partir de *Stephania tetrandra* y *Menispermum dauricum* (Kulka, 1954), conocidas como las drogas han-fang-chi y mu-fang-chi, que han sido utilizadas por centurias en la medicina popular china para el tratamiento de muchas enfermedades. Este alcaloide une los dos monómeros a través de dos funciones difenil éter, del modo cabeza-cabeza en las posiciones 8-7' y cola-cola en las posiciones 11-12'. Además, posee todos los oxígenos restantes y ambos nitrógenos tetrahidroisoquinolínicos metilados y la estereoquímica de los centros estereogénicos es 1*S*, 1'*S* (figura #10).

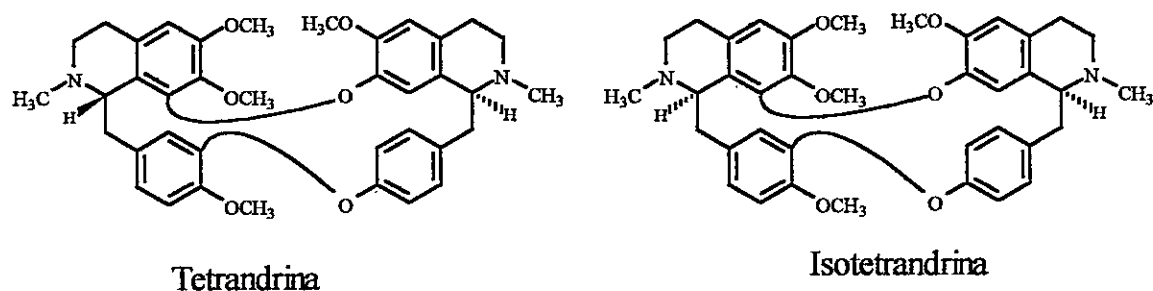


Figura # 10

Extensas investigaciones farmacológicas han sido realizadas sobre este alcaloide, en especial aquellas que tienen relación con la relajación de la musculatura lisa en cuernos uterinos de rata (D'Ocon & col., 1992) y en aorta de rata (Anselmi & col., 1994), demostrándose una relación entre estas actividades biológicas y el bloqueo de canales iónicos de calcio de tipo L (King & col., 1988). En los últimos años se ha encontrado también que la tetrandrina posee actividad bloqueadora de canales de calcio activados por corrientes de  $K^+$  (conocidos como canales Maxi- $K^+$ ) (Wang & Lemos, 1995). Estudios relativos a tetrandrina y sus efectos como relajantes del músculo liso han mostrado que su mecanismo de acción no es del tipo agonista  $\beta$ -adrenérgico, ya que los valores de  $IC_{50}$  en presencia y ausencia de propranolol no fueron considerablemente modificados, mientras que sí produce relajación sobre contracciones inducidas por KCl en útero de rata (D'Ocon & col., 1992). Tetrandrina y su diastereómero isotetrandrina, han mostrado tener un efecto relajante en aorta de rata, inhibiendo las contracciones inducidas por KCl y por noradrenalina con una potencia considerablemente parecida, mientras que sus afinidades por receptores benzotiazepínicos y  $\alpha$ -adrenérgicos no muestran valores significativamente distintos (Catret & col., 1998), pudiendo atribuirse la contracción inducida por KCl a la apertura de canales de calcio operados por voltaje.

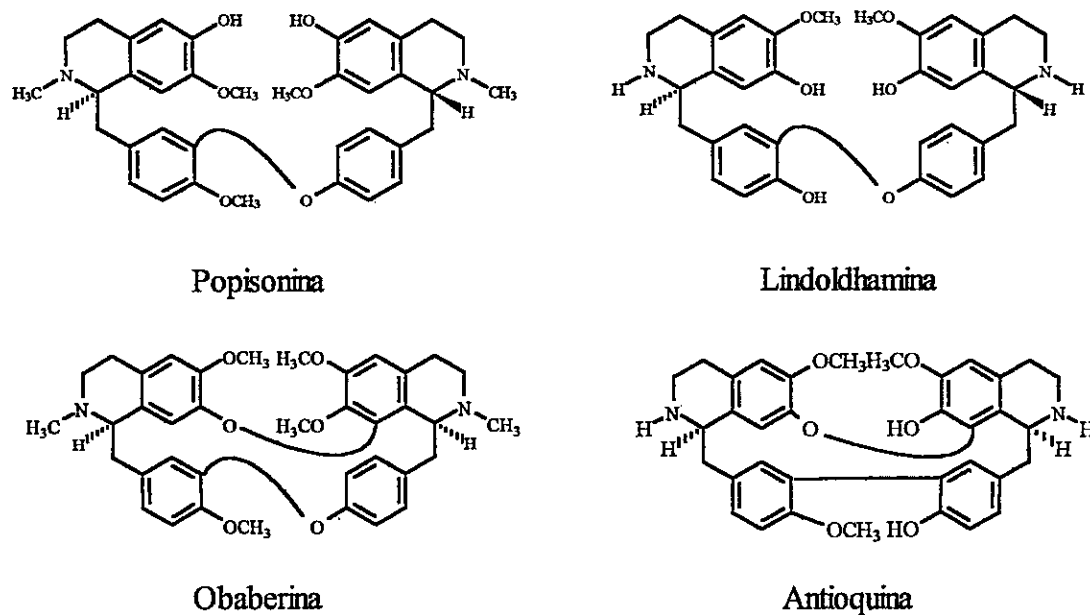
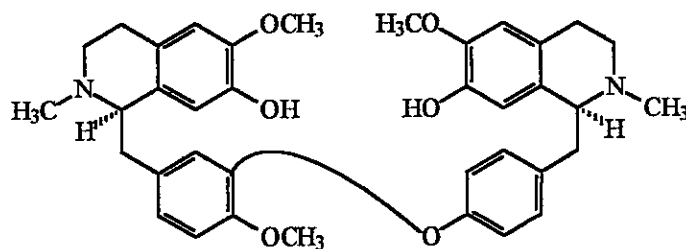


Figura # 11

Otros alcaloides bisbenzylisoquinolínicos ensayados como agentes relajantes de la musculatura lisa en cuernos uterinos han sido obaberina, popisonina y lindoldhamina (figura #11). La estereoquímica de estos alcaloides es (1*R*,1'*S*); (1*R*,1'*R*) y (1*R*,1'*R*), respectivamente. Todos estos alcaloides mantuvieron su efecto en presencia y ausencia de propranolol, lo que apunta a un efecto distinto a la acción de los  $\beta$ -estimulantes. Los valores de  $IC_{50}$  para estos alcaloides en útero de rata despolarizado con KCl indican que la tetrandrina y la obaberina presentan potencias similares mientras que popisonina y lindoldhamina fueron menos potentes (Zafra-Polo & col., 1993). La falta de uno de los puentes bifenil éter en la popisonina y la lindoldhamina, con la consiguiente flexibilidad conformacional, podría ser un hecho significativo al comparar su menor actividad frente a los mismos ensayos realizados para tetrandrina y obaberina, aunque la elevada presencia de hidroxilos fenólicos también podría estar afectando la disminución de la potencia para popisonina y la lindoldhamina.

Muy interesante resulta el hecho que la tetrandrina inhibe competitivamente la unión de  $\{^3\text{H}\}$ -diltiazem; previene parcialmente la unión de  $\{^3\text{H}\}$ -verapamil; y estimula la unión de  $\{^3\text{H}\}$ -nitrendipina al canal de calcio de una manera similar a como lo hace el diltiazem (Felix & col., 1992). En relación a este hecho, la antioquina (figura #11) inhibe la unión de diltiazem con una menor afinidad que la tetrandrina y no muestra un efecto sobre la unión de nitrendipina al canal; además se une al sitio de prazosin en el receptor adrenérgico con una afinidad similar a la de la tetrandrina. De este modo, antioquina y tetrandrina parecen actuar de formas diferentes frente a canales de calcio a lo menos, lo que podría ser explicado por sus diferencias estructurales. Antioquina contiene una inusual unión bifenilo entre las posiciones 11-11', y posee además dos hidroxilos fenólicos que podrían determinar los diferentes comportamientos de este alcaloide respecto de la tetrandrina (Ivorra & col., 1993 b). Un reciente trabajo realizado con thaligrisina, una BBI con tan solo una unión bifenil éter 11-12' y dos hidroxilos fenólicos, muestran que en un modelo de relajación vascular este alcaloide (figura #12) tiene mayor potencia como antagonista adrenérgico que como bloqueador de canales de calcio, lo cual estaría relacionado directamente a su estructura. En contraste tetrandrina e isotetrandrina presentan potencias similares por ambos mecanismos de relajación (Tur & col., 2000).



THALIGRISINA

Figura # 12

En busca de pruebas sobre la inhibición selectiva de canales de calcio del tipo L y su interacción con el sitio de unión del diltiazem, diferentes alcaloides BBI's pertenecientes a distintas clases estereoquímicas y conformacionales fueron ensayados con el fin de tener una visión más general de la relación entre los rasgos estructurales y las propiedades biológicas de la tetrandrina y sus cogéneres. El estudio se realizó con 21 BBI's, determinándose el grado de inhibición para la captación de  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  y la interacción de estos alcaloides con los sitios de unión de bloqueadores orgánicos como diltiazem y nitrendipina (Felix & col., 1992). Todos los alcaloides ensayados inhiben la unión de diltiazem al correspondiente sitio receptor, siendo más potentes en general aquellos que poseen configuración  $1S,1'S$ , tales como, (+)-tetrandrina, (+)-tenuipina y repandina, mientras que el resto ejercen un efecto menos potente. La inhibición de la unión de los bloqueadores de canales de calcio D-600 (una fenilalquilamina) y flusperileno (una (difenibutil)piperidina) a sus sitios receptores, para todos las BBI's ensayadas, fue parcial y en algunos caso no pudo ser determinada. En relación a la modulación del sitio de unión de la nitrendipina, que al parecer es estimulada alostéricamente por tetrandrina, resulta interesante que todos los alcaloides ensayados con configuración  $1R,1'R$ , como lo son feantina, dauricina, nemuarina y micrantina, resultaron ser inhibidores de la unión de

nitrendipina al receptor, mientras que las restantes series estereoquímicas resultaron tener efectos diversos, ya sea estimulando la unión o inhibiéndola débilmente y a veces no mostraron efectos. Dentro de aquellos que sí mostraron estimulación alostérica para la unión de nitrendipina, vale la pena mencionar la (+)-tetrandrina, (+)-tenuipina y repandina en la clase 1*S*,1'*S*; cefarantina, oxiacantina, dafnolina en la clase 1*R*,1'*S*; y el único ejemplar de la clase 1*S*,1'*R* ensayado, driadodafnina. Estos resultados indican que hay una variedad de BBI's (figura #13) que poseen actividad como bloqueadores de entrada de calcio, con una interacción específica en el canal a través del sitio de unión de las benzotiacepinas, lo cual al parecer no resulta ser específico para una clase estereoquímica definida en este tipo de alcaloides, tal como se observa particularmente con tetrandrina y su diastereómero isotetrandrina.

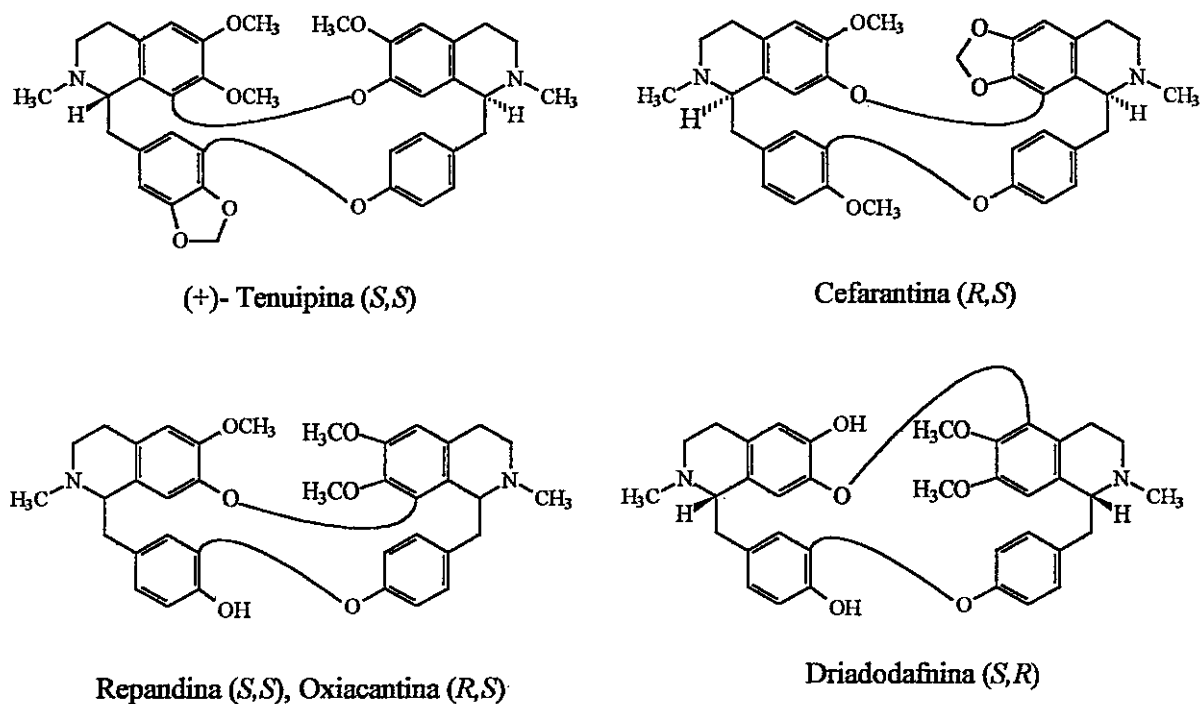


Figura # 13

Los alcaloides bencilisoquinolínicos (BIQ) monoméricos papaverina, reticulina, norarmepavina y coclaurina, han sido ensayados como antagonistas de contracciones inducidas por KCl y noradrenalina. Los resultados de estos experimentos muestran que todos los alcaloides actuaron como antagonistas de ambos agentes. Sin embargo la coclaurina mostró ser más potente sobre contracciones inducidas por noradrenalina que sobre aquellas estimuladas por KCl. Por otro lado, el bloqueo de uno de los hidroxilos con un grupo *O*-metilo en la norarmepavina mejora su respuesta sobre contracciones inducidas por KCl respecto de la coclaurina. Un hecho similar ocurre con la reticulina, aunque cabe señalar que su diferente patrón de sustitución oxigenado podría estar modificando su actividad respecto de la coclaurina (Martin & col., 1993; Morales & col., 1998). De esta forma, parece ser que existe una diferente selectividad entre las respuestas mediadas por adrenorreceptores y canales de calcio en estos alcaloides monoméricos, siendo coclaurina la que presenta la mejor respuesta adrenérgica. Otros estudios dirigidos a elucidar el mecanismo de acción para los alcaloides BIQ's fue la comparación de los efectos producidos por laudanosina, glaucina (una aporfina) y papaverina (figura #14) en el músculo liso. Estos alcaloides inhibieron contracciones inducidas por KCl en útero de rata: la glaucina posee un  $IC_{50}$  cercano al obtenido para papaverina, y éste fue un poco menor al que se obtuvo para laudanosina.

Las actividades similares que presentan glaucina y laudanosina podrían indicar que la fijación del anillo bencilico en una posición casi coplanar con el anillo A no juega un rol trascendental en la potencia de estos alcaloides ni en el mecanismo de relajación. El hecho que glaucina sea más potente que laudanosina podría deberse a que la primera es sólo el isómero *S*, mientras que se utilizó (*R,S*)-laudanosina en los ensayos de actividad y no se conoce la de sus enantiómeros por separado. La relajación inducida por (*S*)-

glaucina, (*S*)-boldina y (*R*)-apomorfina en útero de rata contraído con KCl muestra que a pesar de que todos relajan las contracciones inducidas por KCl, glaucina es más potente que boldina y ésta más que apomorfina. Esto ha sido atribuido al menor grado de metilación de la boldina, al igual que la apomorfina, aunque la interpretación podría ser bastante más compleja debido a las importantes diferencias estructurales de esta última (Ivorra y col., 1993 a).

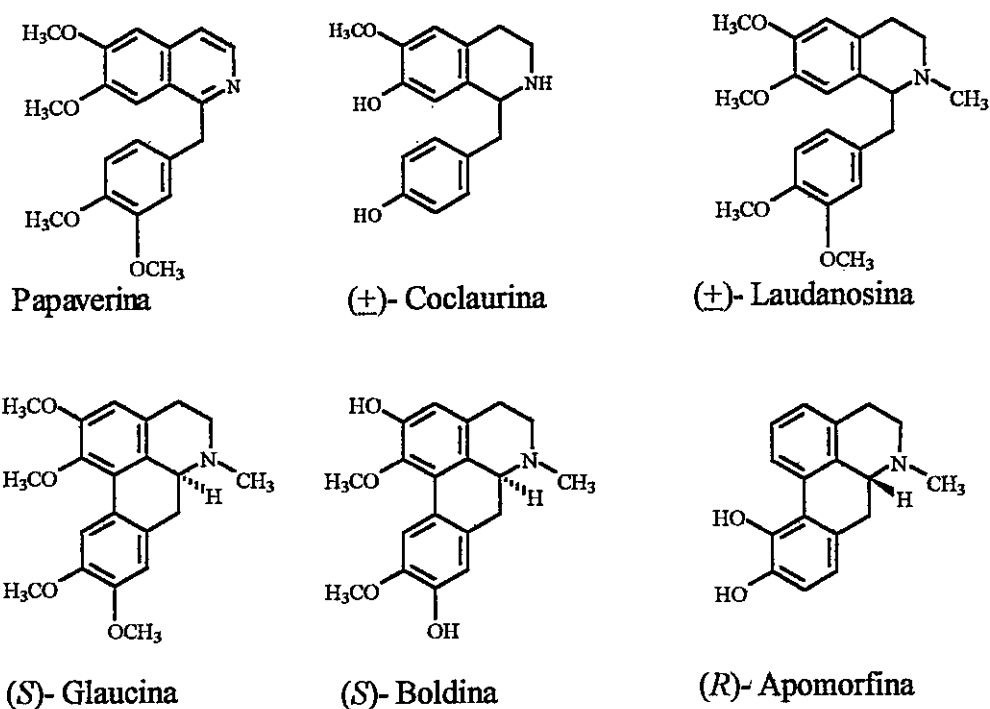


Figura # 14

Estructuras del tipo de las cularinas (figura #15) también actúan como relajantes de contracciones inducidas por KCl y estos alcaloides mostraron actuar por un mecanismo parecido al de la tetrandrina. Se observa que los valores de  $IC_{50}$  para cularina, cularidina y celtisina, sobre contracciones inducidas por KCl, se hacen mayores a medida que disminuye el grado de metilación, lo que confirma la impresión de que los



grupos hidroxilos libres en estas moléculas son perjudiciales para la acción bloqueadora de canales de calcio (D'Ocon y col., 1991).

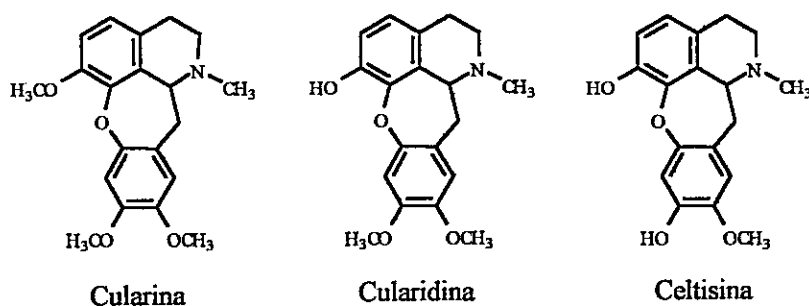


Figura # 15

Los resultados de estos experimentos muestran que todos los alcaloides ensayados relajan las contracciones inducidas en musculatura lisa uterina y/o vascular. Al parecer las BBI's presentarían menor selectividad de acción relajando contracciones inducidas tanto por KCl como por noradrenalina, además de presentar similares afinidades por los sitios de unión del diltiazem en el canal y por el sitio del prazosin en el receptor adrenérgico. Parece ser que la actividad a lo menos de los alcaloides monoméricos está relacionada al grado de metilación de los sustituyentes, siendo coclaurina más selectiva respecto de una respuesta adrenérgica, mientras que los alcaloides más metilados mejoran su capacidad como bloqueadores de canales de calcio, aunque la falta de series de moléculas con variaciones sistemáticas en su estructura dificulta una interpretación más rigurosa. De este modo, resulta atrayente utilizar la coclaurina, unidad monomérica "oriental" de la tetrandrina y de las restantes BBI's, para realizar modificaciones dirigidas a obtener relaciones estructura-actividad vasorrelajante por uno u otro mecanismo, ya sea introduciendo sustituyentes alquílicos sobre los oxígenos o el nitrógeno, o formando

uniones bencil éter de modo que estos derivados adquirieran un entorno y conformación que simulen una de las dos mitades de la tetrandrina.

## Hipótesis

De acuerdo a los antecedentes, tetrandrina, isotetrandrina, antioquina y otros alcaloides BBI's presentan actividad relajante muscular asociada al bloqueo de canales de calcio y a un antagonismo  $\alpha$ -adrenérgico. Se espera que modificaciones sistemáticas de la coclaurina, que tiene un cierto grado de actividad relajante vascular y representa una de las unidades monoméricas de estos alcaloides, conduzca a productos en los cuales se puedan disociar ambos mecanismos de acción.

- El aumento en el grado de metilación de los sustituyentes oxigenados y la alquilación del nitrógeno en la coclaurina, podrían conducir a un aumento de la potencia y de la selectividad respecto de los mecanismos involucrados en la actividad relajante muscular, ya sea a través de un antagonismo  $\alpha$ -adrenérgico o el bloqueo de un canal de calcio, dada la importancia que parece tener el grado de *O*-metilación en la actividad de BBI's, aporfinas y cularinas.

- El efecto de la *O*-bencilación de la coclaurina, considerada como una extensión hacia la mitad "occidental" de la tetrandrina, podría dar paso a conocer los requerimientos estructurales que presentan las BBI's respecto de las potencias mostradas frente a estos dos mecanismos de relajación vascular.

Las conformaciones que pueden adoptar preferencialmente estas moléculas, estarían asociadas a diferentes mecanismos de relajación muscular. Estos cambios conformacionales estarían relacionados con el entorno estérico del átomo de nitrógeno.

## MATERIALES Y METODOS

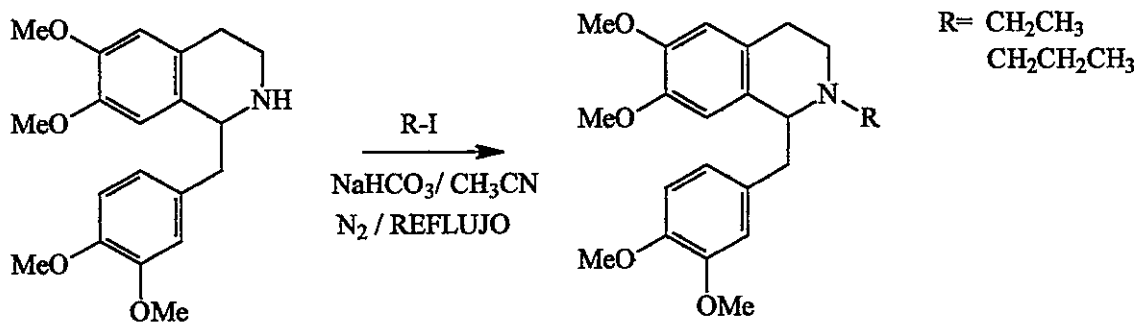
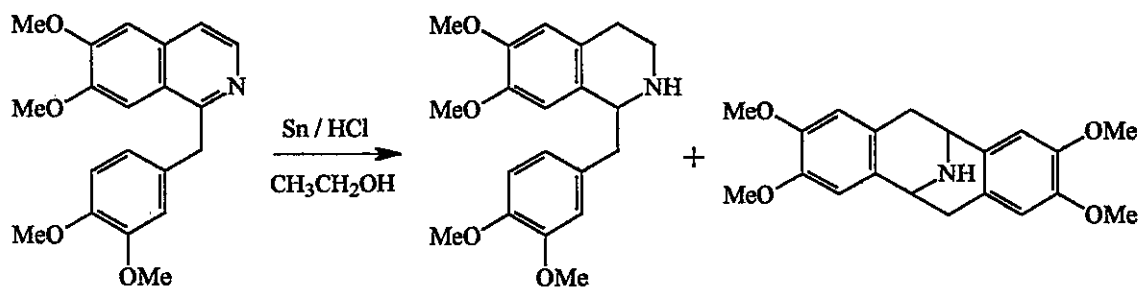
Se describen, en primer lugar, las metodologías sintéticas empleadas para la preparación de todos los derivados de norlaudanosina y coclaurina, que se utilizaron tanto en los estudios de afinidad como en los de relajación de tejido vascular. En segundo lugar se describen los protocolos utilizados para los estudios de desplazamiento de radioligandos en homogeneizados de corteza de cerebro de rata y de actividad relajante vascular en aorta de rata.

### Metodologías de Síntesis

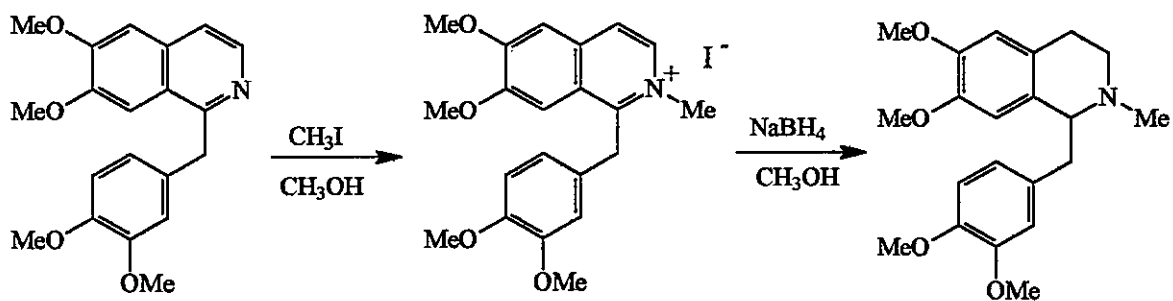
Entre las metodologías de síntesis utilizadas se realizó la reducción de papaverina con Sn<sup>0</sup> siguiendo el método descrito por Pyman (1910) para obtener norlaudanosina (tetrahidropapaverina) conjuntamente con pavina, necesaria para otros estudios. Se optimizó la *N*-alquilación directa de norlaudanosina utilizando yoduros de alquilo en acetonitrilo (Chiou y col., 1998). Todos los derivados de coclaurina fueron obtenidos por síntesis totales de acuerdo a la metodología descrita por Teitel & Brossi (1968), la que permitió obtener todos los derivados con rendimientos aceptables. La preparación de la 12-*O*-bencilcoclaurina fue lograda a través de una *O*-desbencilación selectiva de la 7,12-*O,O'*-dibencilcoclaurina en presencia de SnCl<sub>4</sub> (Hori y col., 1989).

A continuación se describen en detalle todas las rutas de síntesis utilizadas para la obtención de los *N*-alquil derivados de norlaudanosina y de todos los derivados de coclaurina.

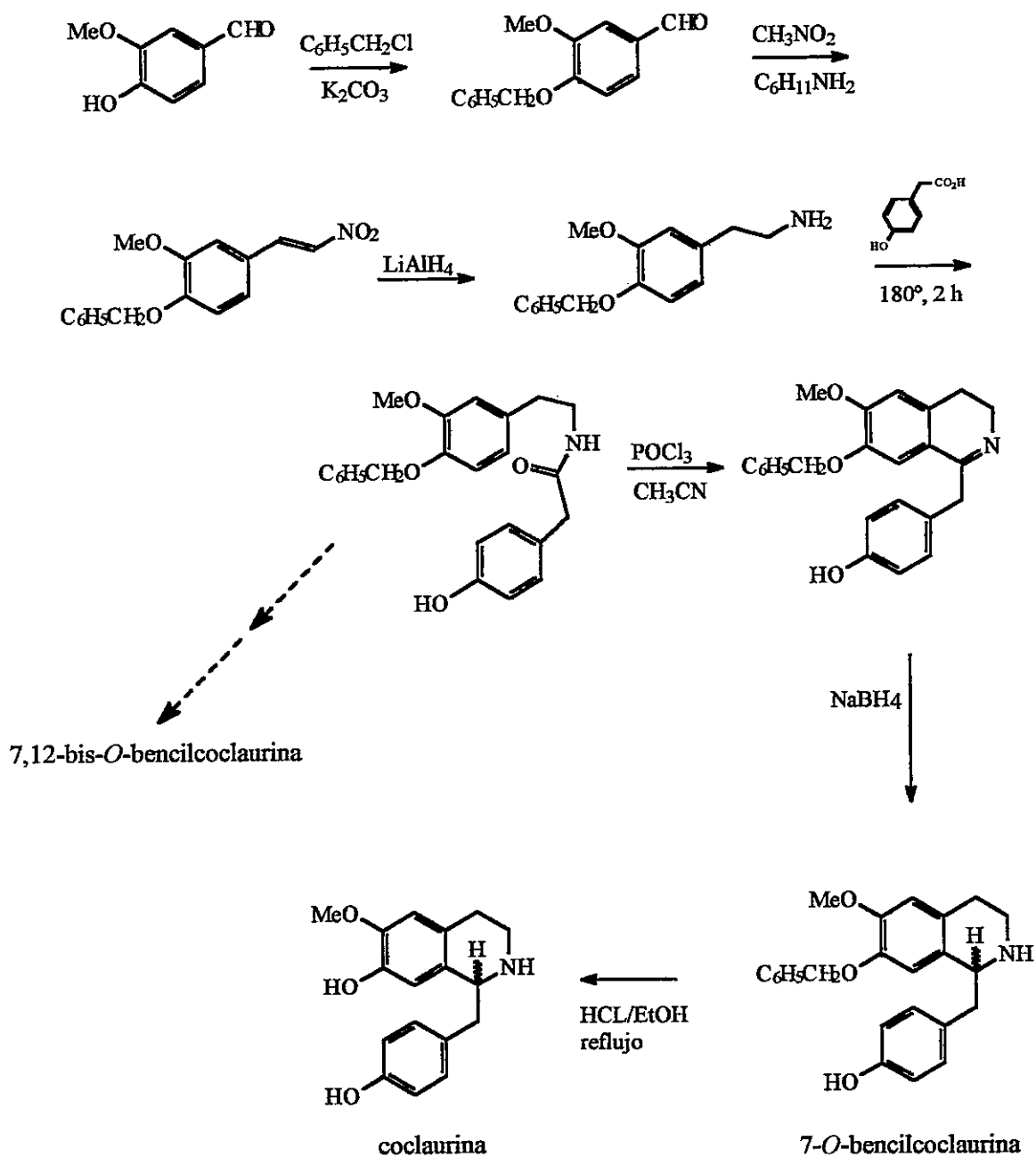
### Preparación de Norlaudanosina y *N*-alquilderivados:



### Obtención de Laudanosina:



## Esquema para la síntesis de coclaurina y sus derivados



**(±)-1-(11,12-Dimetoxibencil)-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina;**

**norlaudanosina; NL (1):** Un disolución etanólica de 5.0 g (15 mmoles) de papaverina en una mezcla de 50 mL de etanol y 50 mL de HCl fue mantenida a reflujo por 24 h en presencia de 10 g (84 mmoles) de estaño metálico (Pyman, 1910). Transcurrido este tiempo, se eliminó el estaño residual por filtración y se evaporó el solvente a sequedad. La mezcla de reacción se redisolvió en 100 mL de agua y se basificó con 50 mL (0.27 moles) de una solución etanólica de KOH 30%, se filtró al vacío y se evaporó el solvente a sequedad. Esta última porción se redisolvió en agua y se extrajo con  $\text{CHCl}_3$ , se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se evaporó el solvente a sequedad. El extracto (4.6 g) que contenía una mezcla de (±)-norlaudanosina y pavina fue purificado por cromatografía en columna (CCF) usando una mezcla de elución  $\text{CHCl}_3/\text{NH}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ ; 90/ 1/ 9. Por este método se obtuvo 2.81 g (8.2 mmoles) de (±)-norlaudanosina con un rendimiento de 60 %. La base libre de la (±)-norlaudanosina se disolvió en un mínimo de metanol caliente y se le agregó una cantidad equivalente de HCl concentrado, luego se adicionó éter etílico hasta que precipitó el clorhidrato de la (±)-norlaudanosina,  $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{ClNO}_4$ ,  $\text{PM} = 379.88 \text{ g/mol}$ .  $\text{NL}\cdot\text{HCL}$   $\text{pf} = 212\text{-}215 \text{ }^\circ\text{C}$  (lit. 217-219  $^\circ\text{C}$  ; Pyman,1910). Además 0.61g (1.8 mmoles) de pavina con un rendimiento de 12 %.  $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{NO}_4$ ,  $\text{PM} = 342.37 \text{ g/mol}$ .  $\text{pf} = 198\text{-}200 \text{ }^\circ\text{C}$  (lit. 201-202  $^\circ\text{C}$  ; Pyman,1910).

Datos espectroscópicos: RMN- $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.86 (1H, *d*,  $J = 8.1 \text{ Hz}$ , H-13), 6.82 (1H, *dd*,  $J = 8.1 \text{ Hz}$ ,  $J' = 1.4 \text{ Hz}$ , H-14), 6.78 (1H, *d*,  $J = 1.4 \text{ Hz}$ , H-10), 6.69 (1H, *s*, H-5), 6.62 (1H, *s*, H-8), 4.16 (1H, *dd*,  $J = 9.2 \text{ Hz}$ ,  $J' = 4.4 \text{ Hz}$ , H-1), 3.90 (3H, *s*, *O*-Me), 3.88 (6H, *s*, 2 x *O*-Me), 3.86 ( 3H, *s*, *O*-Me), 3.24 (1H, *dd*,  $J = 12.6 \text{ Hz}$ ,  $J' = 5.5 \text{ Hz}$ , H-3), 3.19 (1H, *dd*,  $J = 13.7 \text{ Hz}$ ,  $J' = 4.4 \text{ Hz}$ , H- $\alpha$ ), 2.94 (1H, *m*,  $J = 5.3 \text{ Hz}$ ,  $J' = 12.6 \text{ Hz}$ ,  $J'' = 5.3 \text{ Hz}$ , H-

3'), 2.88 (1H, *dd*,  $J = 13.7$  Hz,  $J' = 9.3$  Hz, H- $\alpha'$ ), 2.80 (1H, *dd*,  $J = 16.3$  Hz,  $J' = 5.5$  Hz, H-4), 2.70 (1H, *m*,  $J = 15.7$  Hz,  $J' = 5.3$  Hz,  $J'' = 5.5$  Hz, H-4').  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  151.2 (C-6), 150.9 (C-7), 150.6 (C-12), 149.4 (C-11), 131.1 (C-8a), 126.1 (C-9), 115.1 (C-10), 127.3 (C-4a), 125.1 (C-14), 116.3 (C-13), 114.9 (C-8), 113.3 (C-5), 41.3 (C- $\alpha$ ), 58.6 (*O*- $\text{CH}_3$ ), 58.6 (*O*- $\text{CH}_3$ ), 58.5 (*O*- $\text{CH}_3$ ), 58.4 (*O*- $\text{CH}_3$ ), 58.7 (C-1), 41.8 (C-3), 27.0 (C-4).

Pavina: Datos espectroscópicos. RMN- $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.56 (1H, *s*, H-5), 6.39 (1H, *s*, H-8), 4.31 (1H, *d*,  $J = 4.7$  Hz, H-1), 3.82 (3H, *s*, *O*- $\text{CH}_3$ ), 3.71 (3H, *s*, *O*- $\text{CH}_3$ ), 4.25 (1H, *dd*,  $J = 15.8$  Hz,  $J' = 4.7$  Hz, H- $\alpha$ ), 2.15 (1H, *d*,  $J = 15.8$  Hz, H- $\alpha'$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  151.7 (C-6), 150.5 (C-7), 130.8 (C-8a), 127.8 (C-4a), 115.2 (C-8), 113.9 (C-5), 42.3 (C- $\alpha$ ), 59.3 (*O*- $\text{CH}_3$ ), 58.8 (*O*- $\text{CH}_3$ ), 58.1 (C-1), 27.6 (C-4).

**( $\pm$ )-1-(11,12-Dimetoxibencil)-6,7-dimetoxi-N-propil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina;**

**laudanosina; NLM (2):** Se disolvió 2.0 g (5.9 mmoles) de papaverina con 2.6 mL (40 mmoles) de yoduro de metilo en 100 mL de metanol, La mezcla de reacción se mantuvo a reflujo por 6 h. Transcurrido este tiempo y al enfriar precipitó 2.24 g (4.7 mmoles) de yodometilato de papaverina. Este producto se redisolvió en 100 mL de metanol y se redujo inmediatamente con 1.0 g (26.4 mmoles) de  $\text{NaBH}_4$ . Se obtuvo 1.45 g (4.2 mmoles) de ( $\pm$ )-laudanosina con un rendimiento de 71 %. La laudanosina se purificó como su clorhidrato, para lo cual se disolvió la base libre en un volumen mínimo de metanol caliente y se adicionó la cantidad equivalente de HCl concentrado; tras la adición de éter etílico precipitó su clorhidrato.  $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{ClNO}_4$ , PM = 393.90 g/mol, NLM·HCl pf = 200-202 °C (lit. 201-203 °C, Pyman, 1910).

Datos espectroscópicos: RMN- $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.77 (1H, *d*,  $J = 8.1$  Hz, H-13), 6.64 (1H, *dd*,  $J = 8.2$  Hz,  $J' = 1.8$  Hz, H-14), 6.61 (1H, *d*,  $J = 1.8$  Hz, H-10), 6.59 (1H, *s*, H-5), 6.07 (1H, *s*, H-8), 3.85 (3H, *s*, *O*-Me), 3.84 (3H, *s*, *O*-Me), 3.79 (3H, *s*, *O*-Me), 3.69 (1H, *dd*,  $J = 7.6$  Hz,  $J = 5.0$  Hz, H-1), 3.58 (3H, *s*, *O*-Me), 3.14 (1H, *dd*,  $J = 13.6$  Hz,  $J' = 5.0$  Hz, H- $\alpha$ ), 3.16 (1H, *dd*,  $J = 15.8$  Hz,  $J' = 5.4$  Hz, H-3), 2.84 (1H, *dd*,  $J = 15.8$  Hz,  $J' = 5.4$  Hz, H-3'), 2.78 (1H, *dd*,  $J = 13.6$  Hz,  $J' = 7.6$  Hz, H- $\alpha'$ ), 2.75 (1H, *dd*,  $J = 15.8$  Hz,  $J' = 5.4$  Hz, H-4), 2.59 (1H, *m*,  $J = 16.0$  Hz,  $J' \approx 5.3$  Hz, H-4'), 2.54 (3H, *s*, *N*-Me).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  149.9 (C-7), 149.2 (C-6), 148.6 (C-12), 145.2 (C-11), 129.1 (C-8a), 126.5 (C-4a), 124.9 (C-9), 123.1 (C-14), 115.3 (C-13), 113.6 (C-10), 112.2 (C-8), 112.1 (C-5), 39.3 (C- $\alpha$ ), 57.5 (*O*-CH $_3$ ), 57.4 (*O*-CH $_3$ ), 57.3 (*O*-CH $_3$ ), 57.2 (*O*-CH $_3$ ), 56.3 (C-1), 41.9 (*N*-CH $_3$ ), 40.8 (C-3), 25.9 (C-4).

**( $\pm$ )-1-(11,12-Dimetoxibencil)-6,7-dimetoxi-*N*-etil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina;**

***N*-etilnorlaudanosina; NLE (3):** Se disolvió 0.80 g (2.3 mmoles) de ( $\pm$ )-norlaudanosina en 100 mL de acetonitrilo previamente desgasado y purgado con  $\text{N}_2$ , se adicionó 0.22 g (2.7 mmoles) de  $\text{NaHCO}_3$  con agitación y 0.18 mL (2.3 mmoles) de yoduro de etilo, y se mantuvo a reflujo por 6 h bajo atmósfera de  $\text{N}_2$ . Transcurrido este tiempo se evaporó el disolvente y se redisolvió en agua/HCl, se basificó con  $\text{NH}_3$  y se extrajo con  $\text{CHCl}_3$ , se secó la fase orgánica con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se evaporó el solvente a sequedad. Se obtuvo 0.71 g (1.9 mmoles) de ( $\pm$ )-*N*-etilnorlaudanosina con un rendimiento de 83 %. El residuo oleoso resultante se disolvió en un volumen mínimo de isopropanol caliente y se agregó una cantidad equimolar de HCl concentrado, luego se



adicionó éter etílico y se obtuvo clorhidrato de la *N*-etilnorlaudanosina.  $C_{22}H_{30}ClNO_4$ ,  $PM = 407.93$  g/mol,  $NLE \cdot HCl$  pf = 164-167 °C.

Datos espectroscópicos: RMN- $^1H$  ( $CDCl_3$ )  $\delta$  6.76 (1H, *d*,  $J' = 8.6$  Hz, H-13), 6.63 (1H, *dd*,  $J = 8.6$  Hz,  $J' = 1.7$  Hz, H-14), 6.62 (1H, *d*,  $J = 1.7$  Hz, H-10), 6.56 (1H, *s*, H-5), 6.00 (1H, *s*, H-8), 3.85 (3H, *s*, *O*-Me), 3.84 (3H, *s*, *O*-Me), 3.83 (1H, *dd*,  $J = 7.9$  Hz,  $J' = 5.3$  Hz, H-1), 3.79 (3H, *s*, *O*-Me), 3.56 (3H, *s*, *O*-Me), 3.19 (1H, *m*,  $J = 6.9$  Hz,  $J' = 11.5$  Hz,  $J'' = 6.9$  Hz, H-3), 3.10 (1H, *dd*,  $J = 13.4$  Hz,  $J' = 5.3$  Hz, H- $\alpha$ ), 2.91 (1H, *dd*,  $J = 11.5$  Hz,  $J' = 6.9$  Hz, H-3'), 2.83 (1H, *dd*,  $J = 16.1$  Hz,  $J' = 6.9$  Hz, H-4), 2.75 (1H, *dd*,  $J = 13.4$  Hz,  $J' = 7.9$  Hz, H- $\alpha'$ ), 2.70 (2H, *q*,  $J = 7.12$  Hz, *N*- $\underline{CH_2}$ - $CH_3$ ), 2.51 (*m*, H-4'), 1.13 (3H, *t*,  $J = 7.12$  Hz, *N*- $\underline{CH_2}$ - $\underline{CH_3}$ ).  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  153.2 (C-6), 150.9 (C-7), 150.1 (C-12), 149.2 (C-11), 133.4 (C-8a), 129.4 (C-4a), 128.0 (C-9), 125.5 (C-14), 118.2 (C-13), 117.5 (C-10), 116.7 (C-8), 114.2 (C-5), 59.3 (C-1), 58.8 (*O*- $\underline{CH_3}$ ), 58.7 (*O*- $\underline{CH_3}$ ), 58.5 (*O*- $\underline{CH_3}$ ), 58.4 (*O*- $\underline{CH_3}$ ), 42.3 (C- $\alpha$ ), 47.6 (*N*- $\underline{CH_2}$  $CH_3$ ), 42.7 (C-3), 38.4 (*N*- $\underline{CH_2}$  $\underline{CH_3}$ ), 28.0 (C-4).

**(±)-1-(3',4'-Dimetoxibencil)-6,7-dimetoxi-N-propil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina:**

**N-propilnorlaudanosina; NLP (4):** Se disolvió 0.70 g (2.0 mmoles) de (±)-norlaudanosina en 100 mL de acetonitrilo previamente desgasado y purgado con  $N_2$ , se adicionó 0.33 g (4.0 mmoles) de  $NaHCO_3$  con agitación y 0.19 mL (2.0 mmoles) de yoduro de propilo, y se mantuvo a reflujo por 6 h bajo atmósfera de  $N_2$ . Transcurrido este tiempo se evaporó el disolvente y se redisolvió en agua/HCl, se basificó con  $NH_3$  y se extrajo con  $CHCl_3$ , se secó la fase orgánica con  $Na_2SO_4$  anhidro y se evaporó el solvente a sequedad. Se obtuvo 0.57 g (1.5 mmoles) de (±)-*N*-propilnorlaudanosina con un rendimiento de 74 %. El residuo oleoso resultante se disolvió en acetona y se le

agregó una cantidad equivalente de HCl concentrado, tras lo cual cristalizó el clorhidrato de la ( $\pm$ )-*N*-propilnorlaudanosina.  $C_{23}H_{32}ClNO_4$ , PM= 421.95 g/mol, NLP-HCl pf = 194-197 °C.

Datos espectroscópicos: RMN- $^1H$  ( $CDCl_3$ )  $\delta$  6.77 (1H, *d*,  $J = 8.6$  Hz, H-13), 6.64 (1H, *dd*,  $J = 8.6$  Hz,  $J' = 1.8$  Hz, H-14), 6.63 (1H, *d*,  $J = 1.8$  Hz, H-10), 6.56 (1H, *s*, H-5), 6.03 (1H, *s*, H-8), 3.85 (3H, *s*, *O*-Me), 3.83 (3H, *s*, *O*-Me), 3.81 (3H, *s*, *O*-Me), 3.78 (1H, *dd*,  $J = 7.6$  Hz,  $J' = 5.6$  Hz, H-1), 3.58 (3H, *s*, *O*-Me), 3.23 (1H, *m*,  $J = 5.5$  Hz,  $J' = 12.0$  Hz,  $J'' = 8.0$  Hz, H-3), 3.1 (1H, *dd*,  $J = 13.4$  Hz,  $J' = 5.7$  Hz, H- $\alpha$ ), 2.89 (1H, *dd*,  $J = 12.0$  Hz,  $J' = 5.5$  Hz, H-3'), 2.86 (1H, *m*,  $J = 14.6$  Hz,  $J' = 5.5$  Hz,  $J'' = 8.0$  Hz, H-4), 2.75 (1H, *dd*,  $J = 13.4$  Hz,  $J' = 7.6$  Hz, H- $\alpha'$ ), 2.49 (1H, *dd*,  $J = 14.6$  Hz,  $J' = 5.5$  Hz, H-4'), 2.39 (2H, *t*,  $J = 7.4$  Hz, *N*-CH $_2$ -CH $_2$ -CH $_3$ ), 1.54 (2H, *hex*,  $J = 7.4$  Hz, *N*-CH $_2$ -CH $_2$ -CH $_3$ ), 0.88 (3H, *t*,  $J = 7.4$  Hz, *N*-CH $_2$ -CH $_2$ -CH $_3$ ).  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  151.2 (C-12), 149.6 (C-11), 144.7 (C-6), 144.0 (C-7), 130.8 (C-8a), 130.4 (C-14), 129.5 (C-9), 127.8 (C-4a), 118.5 (C-10), 114.7 (C-5), 114.0 (C-13), 108.6 (C-8), 56.9 (C-1), 56.0 (*O*-CH $_3$ ), 55.7 (*O*-CH $_3$ ), 55.5 (*O*-CH $_3$ ), 55.3 (*O*-CH $_3$ ), 41.9 (*N*-CH $_2$ -CH $_2$ -CH $_3$ ), 41.7 (C-3), 40.5 (C- $\alpha$ ), 38.7 (*N*-CH $_2$ -CH $_2$ -CH $_3$ ), 35.5 (*N*-CH $_2$ -CH $_2$ -CH $_3$ ), 29.2 (C-4).

**4-Benciloxi-3-metoxibenzaldehido (5):** En una suspensión etanólica de 22.77 g (165 mmoles) de  $K_2CO_3$  se disolvió 25 g (164 mmoles) de vainillina y luego se adicionó un exceso de cloruro de bencilo (23.1 mL, 199 mmoles), y se mantuvo la mezcla de reacción a reflujo durante 5 h. Transcurrido este tiempo se evaporó el solvente y se redisolvió la mezcla con  $CH_2Cl_2$ , se lavó tres veces con una solución de NaOH al 5% y luego tres veces con agua, se secó y se evaporó el solvente. El residuo se cristalizó en MeOH. Se

obtuvo 29.5 g (122 mmoles) de 4-benciloxi-3-metoxibenzaldehido con un rendimiento de 74 %.  $C_{15}H_{14}O_3$ ; PM = 242.27 g/mol; pf = 61-64 °C.

Datos espectroscópicos:  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  9.74 (1H, *s*, CHO), 7.41 (1H, *m*,  $J = 8.5$ ,  $J' = 1.7$  Hz, H-6), 7.39 (1H, *d*,  $J = 1.7$  Hz, H-2), 7.27-7.42 (5H, *m*,  $C_6H_5-CH_2$ ), 6.88 (1H, *d*,  $J = 8.5$  Hz, H-5), 5.08 (2H, *s*,  $C_6H_5-CH_2$ ), 3.82 (3H, *s*, *O-CH*<sub>3</sub>).  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  190.4 (CHO), 154.8 (C-4), 146.1 (C-3), 130.5 (C-1), 126.5 (C-6), 114.0 (C-2), 110.4 (C-5), 135.9, 128.2, 127.7, 127.1 ( $C_6H_5CH_2$ ), 70.3 ( $C_6H_5-CH_2$ ), 55.7 (*O-CH*<sub>3</sub>).

**4-Benciloxi-3-metoxi- $\beta$ -nitroestireno(6)**: A una disolución de 20 g (83 mmoles) de 4-benciloxi-3-metoxibenzaldehido en 100 mL de ácido acético se le añadió 10 mL (186 mmoles) de nitrometano y luego lentamente se agregó 10 mL (87 mmoles) de ciclohexilamina. La mezcla de reacción se mantuvo a reflujo por 6 h. Al enfriar la mezcla de reacción precipitó el  $\beta$ -nitroestireno como un sólido amarillo, 19.56 g (68 mmoles), con un rendimiento de 84 %, que posteriormente se recristalizó en ácido acético.  $C_{16}H_{15}NO_4$ ; PM = 285.3 g/mol; pf = 122-124 °C.

Datos espectroscópicos:  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  7.89 (1H, *d*,  $J = 13.5$  Hz, H- $\beta$ ), 7.44 (1H, *d*,  $J = 13.5$  Hz, H- $\alpha$ ), 7.33-7.42 (5H, *m*,  $C_6H_5-CH_2$ ), 7.15 (1H, *dd*,  $J = 8.4$ ,  $J' = 2.0$  Hz, H-6), 7.09 (1H, *d*,  $J = 2.0$  Hz, H-2), 6.91 (1H, *d*,  $J = 8.4$  Hz, H-5), 5.12 (2H, *s*,  $C_6H_5-CH_2$ ), 3.83 (3H, *s*, *O-CH*<sub>3</sub>).  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  153.3 (C-3), 148.4 (C-4), 139.2 (C- $\beta$ ), 135.0 (C- $\alpha$ ), 136.2, 128.1, 128.5, 127.3 ( $C_6H_5CH_2$ ), 124.8 (C-6), 122.5 (C-1), 113.0 (C-2), 111.6 (C-5), 71.0 ( $C_6H_5-CH_2$ ), 56.0 (*O-CH*<sub>3</sub>).

**$\beta$ -(4-Benciloxi-3-metoxifenil)-etilamina (7)**: Una solución de 15.5 g (54.3 mmoles) del  $\beta$ -nitroestireno anterior disuelto en 50 mL de THF anhidro se adicionó muy lentamente sobre una suspensión de 11.1 g (293 mmoles) de  $LiAlH_4$  en 150 mL de THF anhidro. La

mezcla de reacción se mantuvo a reflujo durante 18 h. Transcurrido este tiempo, la reacción se detuvo por adición de 10 mL de iPrOH y luego 50 mL de NaOH 5%. Se filtró al vacío y se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se evaporó el solvente a sequedad. Se obtuvo 8.90 g. (34.6 mmoles) de la base libre con un rendimiento de 64 %. La correspondiente feniletilamina se purificó como su clorhidrato a partir de una mezcla metanol/éter etílico. C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>ClNO<sub>2</sub>; PM= 293.79 g/mol.

Datos espectroscópicos: <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 7.31-7.39 (5H, *m*, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>), 6.81 (1H, *d*, *J* = 8.6 Hz, H-5), 6.75 (1H, *dd*, *J* = 8.6, *J*' = 1.8 Hz, H-6), 6.73 (1H, *d*, *J* = 1.8 Hz, H-2), 5.18 (2H, *s*, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>), 3.85 (3H, *s*, O-CH<sub>3</sub>), 2.89 (2H, *t*, *J* = 6.8 Hz, H-β), 2.60 (2H, *t*, *J* = 6.8 Hz, H-α). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 148.0 (C-4), 147.8 (C-3), 132.1 (C-1), 137.2, 127.3, 127.8, 128.3 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>), 114.9 (C-2), 121.8 (C-6), 111.6 (C-5), 70.8 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>), 43.3 (C-β), 55.8 (O-CH<sub>3</sub>), 39.1 (C-α).

**N-(4'-Benciloxi-3'-metoxifeniletíl)-4-hidroxifenilacetamida (8):** Una mezcla equimolar de 4.9 g (19 mmoles) β-(4-benciloxi-3-metoxifenil)-etilamina y 2.89 g (19 moles) de ácido 4-hidroxifenilacético se calentó a 175 °C por 2 h. La mezcla de reacción, luego de enfriarse, se disolvió en 100 mL de acetato de etilo y se lavó con una solución saturada de NaCl y luego con agua. Se evaporó el solvente previo secado con sulfato de sodio anhidro. Se obtuvo 7.19 g (18.3 mmoles) con un rendimiento de 96 %. El residuo oleoso se utilizó inmediatamente en el paso siguiente. C<sub>24</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>4</sub>; PM = 391.46 g/mol.

Datos espectroscópicos: <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 7.23-7.42 (5H, *m*, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>), 6.93 (2H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-2, H-6), 6.79 (2H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-3, H-5), 6.75 (1H, *d*, *J* = 8.1 Hz, H-5'), 6.63 (1H, *d*, *J* = 1.9 Hz, H-2'), 6.46 (1H, *dd*, *J* = 8.1, *J*' = 1.9 Hz, H-6'), 5.08 (2H, *s*, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>), 3.79 (3H, *s*, O-CH<sub>3</sub>), 3.42 (2H, *s*, CO-CH<sub>2</sub>), 3.38 (2H, *t*, *J* = 6.6 Hz, H-β)

2.61 (2H, *t*,  $J = 6.6$  Hz, H- $\alpha$ ),  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170.4 ( $\underline{\text{CO}}$ ), 159.7 (C-4), 151.1 (C-3'), 149.6 (C-4'), 137.5, 127.9, 127.4, 126.3 ( $\underline{\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2}$ ), 133.0 (C-1'), 132.4 (C-2, C-6), 125.9 (C-6'), 125.2 (C-1), 118.3 (C-2'), 116.8 (C-5'), 115.8 (C-3, C-5), 74.0 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{-}\underline{\text{CH}_2}$ ), 58.0 ( $\text{O-CH}_3$ ), 37.5 (C- $\alpha$ ), 43.3 (C- $\beta$ ), 41.3 ( $\text{CO-}\underline{\text{CH}_2}$ ).

**N-(4'-Benciloxi-3'-metoxifeniletíl)-4-benciloxifenilacetamida (9):** En una suspensión de 100 mL de etanol y 4.50 g (32.6 mmoles) de  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , se disolvió 7.20 g (18.3 mmoles) de la N-(4'-benciloxi-3'-metoxifeniletíl)-4-hidroxifenilacetamida y luego se adicionó un exceso de cloruro de bencilo (2.88 mL, 25 mmoles) y la mezcla de reacción se mantuvo a reflujo durante 5 h. Transcurrido este tiempo se evaporó el solvente y se redisolvió la mezcla con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , se lavó tres veces con una solución de NaOH al 5% y luego con agua. La fase orgánica se secó y se evaporó el solvente. Se obtuvo 6.82 g (14.1 mmoles) de la correspondiente fenilacetamida con un rendimiento del 80 %. Este producto se utilizó inmediatamente en la siguiente reacción.  $\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{NO}_4$ ; PM = 481.59 g/mol.

Datos espectroscópicos:  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.29-7.45 (10H, *m*,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 7.12 (2H, *d*,  $J = 6.7$  Hz, H-2, H-6), 6.85 (2H, *d*,  $J = 6.7$  Hz, H-3, H-5), 6.79 (1H, *d*,  $J = 8.4$  Hz, H-5'), 6.68 (1H, *d*,  $J = 2.1$  Hz, H-2'), 6.59 (1H, *dd*,  $J = 8.4$ ,  $J' = 2.1$  Hz, H-6'), 5.12 (2H, *s*,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2'$ ), 5.02 (2H, *s*,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 3.79 (3H, *s*,  $\text{O-CH}_3$ ), 3.42 (2H, *s*,  $\text{CO-CH}_2$ ), 3.38 (2H, *t*,  $J = 6.6$  Hz, H- $\beta$ ), 2.61 (2H, *t*,  $J = 6.6$  Hz, H- $\alpha$ ),  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170.1 ( $\underline{\text{CO}}$ ), 159.5 (C-4), 149.0 (C-3'), 148.3 (C-4'), 135.3 (C-1'), 131.3 (C-2, C-6), 137.8, 129.5, 128.8, 127.9 ( $\underline{\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2}$ ), 126.2 (C-1), 124.1 (C-6'), 117.5 (C-2'), 115.8 (C-5'), 117.2 (C-3, C-5), 71.9 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{-}\underline{\text{CH}_2}'$ ), 70.6 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{-}\underline{\text{CH}_2}$ ), 55.9 ( $\text{O-CH}_3$ ), 42.8 (C- $\beta$ ), 41.1 ( $\text{CO-}\underline{\text{CH}_2}$ ), 36.8 (C- $\alpha$ ).

**1-(12-Benciloxibencil)-7-benciloxi-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolina (10):** A una disolución de 6.80 g (14.1 mmoles) de N-(4'-benciloxi-3'-metoxifeniletil)-4-benciloxifenilacetamida en 100 mL de acetonitrilo, se le adicionó 7.60 mL de oxiclورو de fósforo en el transcurso de 20 min. La mezcla se mantuvo a reflujo por 3 h tras las cuales se evaporó el solvente y se redisolvió en un volumen mínimo de acetonitrilo ( $\approx 5$  mL) y se diluyó con 100 mL de acetato de etilo. Esta solución se lavó tres veces con una solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  y luego con agua, se secó y evaporó el solvente a sequedad. Se obtuvo 6.05 g (13.0 mmoles) de la 1-(12-benciloxibencil)-7-benciloxi-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolina con un rendimiento de 92 %. El sólido amarillo resultante se utilizó inmediatamente para la siguiente reducción.  $\text{C}_{31}\text{H}_{29}\text{NO}_3$ ; PM = 463.57 g/mol.

Datos espectroscópicos:  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.20-7.38 (10H, *m*,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 7.19 (2H, *d*,  $J = 8.2$  Hz, H-10, H-14), 7.11 (1H, *s*, H-5), 6.88 (2H, *d*,  $J = 8.2$  Hz, H-11, H-13), 6.70 (1H, *s*, H-8), 5.11 (2H, *s*,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 5.02 (2H, *s*,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2'$ ), 4.32 (2H, *s*, H- $\alpha$ ), 3.81 (3H, *s*, O- $\text{CH}_3$ ), 3.71 (2H, *t*,  $J = 7.3$  Hz, H-3), 2.72 (2H, *t*,  $J = 7.3$  Hz, H-4).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  168.6 (C-1), 159.4 (C-12), 152.7 (C-6), 149.3 (C-7), 144.2, 136.5, 129.9, 128.8 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$ ), 133.6 (C-4a), 131.7 (C-10, C-14), 131.0 (C-8a), 127.6 (C-9), 116.2 (C-11, C-13), 115.3 (C-5), 113.2 (C-8), 72.6 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 70.4 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2'$ ) 57.3 (O- $\text{CH}_3$ ), 159.4 (C-4'), 44.3 (C-3), 27.6 (C-4).

**( $\pm$ )-1-(12-Benciloxibencil)-7-benciloxi-6-metoxi-1,2,3,4-tetrahidro isoquinolina:**

**7,12-O,O'-dibenciloclaurina; BBC (11):** A una solución de 6.00 g (12.9 mmoles) de 1-(12-benciloxibencil)-7-benciloxi-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolina en 50 mL de una mezcla al 50 % de MeOH/ $\text{CHCl}_3$  se le agregó 7.00 g (185 mmoles) de  $\text{NaBH}_4$  en el

transcurso de 2 h. A la mezcla de reacción se le agregó transcurrido este tiempo HCl concentrado hasta  $\text{pH} = 1$ , luego se llevó a sequedad y se redisolvió en agua, y se extrajo el producto con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  de la fase acuosa previamente llevada a  $\text{pH}$  básico con NaOH. Se secó y se evaporó el solvente. Se obtuvo 4.10 g (8.8 mmoles) de la 7,12-*O,O'*-dibencilcoclaurina con un rendimiento de 68.2 %. El aceite resultante se cristalizó como el clorhidrato en una mezcla metanol/ agua.  $\text{C}_{31}\text{H}_{32}\text{ClNO}_3$ ; PM = 502.05 g/mol, BBC·HCl pf = 168-170 °C (lit. 170-171 °C, Barton & col., 1967).

Datos espectroscópicos:  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.19-7.38 (10 H, *m*,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 6.95 (2H, *d*,  $J = 8.1$  Hz, H-10, H-14), 6.70 (1H, *s*, H-5), 6.61 (2H, *d*,  $J = 8.1$  Hz, H-11, H-13), 6.60 (1H, *s*, H-8), 5.09 (2H, *s*,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 4.77 (2H, *s*,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 4.05 (1H, *m*, H-1), 3.85 (3H, *s*, 6-*O*- $\text{CH}_3$ ), 3.21 (1H, *m*, H- $\alpha$ ), 2.85 (1H, *m*, H- $\alpha'$ ), 3.05 (1H, *m*, H-3), 2.83 (1H, *m*, H-4), 2.64 (1H, *m*, H-3'), 2.56 (1H, *m*, H-4').  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  157.3 (C-12), 148.5 (C-6), 145.9 (C-7), 137.0 (C-8a), 136.8 (C-9), 131.9 (C-10, C-14), 130.9, 128.4, 127.8, 128.6 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$ ), 127.9 (C-4a), 114.9 (C-5), 114.7 (C-11, C-13), 112.0 (C-8), 69.8 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 69.3 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2'$ ), 58.1 (C-1), 54.9 (6-*O*- $\text{CH}_3$ ), 38.7 (C-3), 38.4 (C- $\alpha$ ), 24.5 (C-4).

**(±)-1-(12-benciloxibencil)-7-benciloxi-6-metoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidro**

**isoquinolina; 7,12-*O,O'*-dibencil-*N*-metilcoclaurina; BBCM (12):** A una solución de 0.50 g (1.1 mmoles) de 12,7-*O,O'*-dibencilcoclaurina en 50 mL de metanol se le adicionó 0.2 mL (2.7 mmoles) de formalina 40 % y se dejó con agitación por 30 min a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se adicionó 0.50 g (13 mmoles) de  $\text{NaBH}_4$  durante 30 min. A la mezcla de reacción se le agregó, terminada la adición del hidruro, HCl concentrado hasta  $\text{pH} = 1$ , luego se llevó a sequedad, el residuo se disolvió en agua y se

extrajo el producto con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  de la fase acuosa previamente basificada con  $\text{NH}_3$ . Se secó y se evaporó el solvente. Se obtuvo 0.37 g (0.77 mmoles) con un rendimiento de 72 %. El aceite resultante se cristalizó como clorhidrato en acetona/ éter etílico.  $\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{ClNO}_3$ ; PM = 516.08 g/mol, BBCM·HCl  $p_f = 179-180$  °C (lit. 173-175 °C, Cava & Buck, 1969).

Datos espectroscópicos:  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.19-7.42 (10 H, *m*,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 7.05 (2H, *d*,  $J = 8.4$  Hz, H-10, H-14), 6.88 (2H, *d*,  $J = 8.4$  Hz, H-11, H-13), 6.68 (1H, *s*, H-5), 6.04 (1H, *s*, H-8), 4.96 (2H, *s*,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 4.75 (2H, *dd*,  $J = 12.1$  Hz,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 3.80 (3H, *s*, 6-*O*- $\text{CH}_3$ ), 3.59 (1H, *m*, H-1), 3.19 (1H, *m*, H- $\alpha$ ), 3.16 (1H, *m*, H-3), 2.82 (1H, *m*, H- $\alpha'$ ), 2.85 (1H, *m*, H-4), 2.61 (1H, *m*, H-3'), 2.52 (1H, *m*, H-4'), 2.49 (3-H, *s*, *N*- $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  158.3 (C-12), 149.8 (C-6), 146.3 (C-7), 137.6 (C-8a), 137.5 (C-9), 131.6 (C-10, C-14), 130.1, 129.3, 128.8, 127.6 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$ ), 129.3 (C-4a), 116.4 (C-5), 114.3 (C-8), 113.5 (C-11, C-13), 69.3 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 68.5 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2'$ ), 60.5 (C-1), 55.3 (6-*O*- $\text{CH}_3$ ), 42.1 (*N*- $\text{CH}_3$ ), 41.3 (C-3), 39.4 (C- $\alpha$ ), 27.2 (C-4).

**(±)-1-(12-bencilobencil)-7-benciloxi-6-metoxi-N-etil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina;**

**7,12-*O,O'*-dibencil-N-etilcoclaurina; BBCE (13):** Se disolvió 0.71 g (1.50 mmoles) de 7,12-*O,O'*-dibencilcoclaurina en 50 mL de acetonitrilo previamente desgasado y purgado con  $\text{N}_2$  y luego se adicionó 0.25 g (3.0 mmoles) de  $\text{NaHCO}_3$  agitando, y 0.12 mL (1.50 mmoles) de yoduro de etilo, y se mantuvo a reflujo por 6 h bajo atmósfera de  $\text{N}_2$ . Transcurrido este tiempo se evaporó el disolvente y se redisolvió el residuo en agua/HCl, se basificó con  $\text{NH}_3$  y se extrajo con  $\text{CHCl}_3$ , se secó la fase orgánica con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se evaporó el solvente a sequedad. Se obtuvo 0.70 g (1.4 mmoles) con un rendimiento de 94 %.  $\text{C}_{33}\text{H}_{35}\text{NO}_3$ ; PM = 493.64 g/mol. EIMS *m/z*: 493 (5), 296 (100), 205 (46), 197



(10), 176 (30), 148 (10), 91 (42). El residuo oleoso resultante se cristalizó como el clorhidrato en acetona/ éter etílico.  $C_{33}H_{36}ClNO_3$ ; PM = 530.10 g/mol, BBCE·HCl pf = 129-132 °C.

Datos espectroscópicos:  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  7.21-7.39 (10 H, *m*,  $C_6H_5-CH_2$ ), 7.16 (2H, *d*,  $J = 8.4$  Hz, H-10, H-14), 6.98 (2H, *d*,  $J = 8.4$  Hz, H-11, H-13), 6.65 (1H, *s*, H-5), 6.09 (1H, *s*, H-8), 4.93 (2H, *s*,  $C_6H_5-CH_2$ ), 4.81 (2H, *dd*,  $J = 12.0$  Hz,  $C_6H_5-CH_2$ ), 3.86 (3H, *s*, 6-*O*- $CH_3$ ), 3.70 (1H, *m*, H-1), 3.15 (1H, *m*, H- $\alpha$ ), 3.12 (1H, *m*, H-3), 2.82 (1H, *m*, H-4), 2.76 (1H, *m*, H- $\alpha'$ ), 2.72 (1H, *m*, H-3'), 2.71 (2H, *c*,  $J = 7.1$  Hz,  $N-CH_2CH_3$ ), 2.57 (1H, *m*, H-4'), 1.13 (3H, *t*,  $J = 7.1$  Hz,  $N-CH_2CH_3$ ).  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  159.5 (C-12), 148.9 (C-6), 145.1 (C-7), 139.5 (C-9), 138.6 (C-8a), 133.2 (C-10, C-14), 130.3 (C-4a), 132.1, 129.1, 128.5, 128.9 ( $C_6H_5CH_2$ ), 117.5 (C-5), 112.9 (C-8), 115.5 (C-11, C-13) 70.2 ( $C_6H_5-CH_2$ ), 67.6 ( $C_6H_5-CH_2'$ ), 61.5 (C-1), 57.3 (6-*O*- $CH_3$ ), 43.3 ( $N-CH_2CH_3$ ), 42.3 (C-3), 40.1 (C- $\alpha$ ), 37.5 ( $N-CH_2CH_3$ ), 29.2 (C-4).

**(±)-1-(12-benciloxibencil)-7-benciloxi-6-metoxi-N-n-propil-1,2,3,4-tetrahidro**

**isoquinolina; 7,12-O,O'-dibencil-N-n-propilcoclaurina; BBCP (14):** Se disolvió 0.71 g (1.50 mmoles) de 7,12-O,O'-dibencilcoclaurina en 50 mL de acetonitrilo previamente desgasado y purgado con  $N_2$ , se adicionó 0.25 g (3.0 mmoles) de  $NaHCO_3$  con agitación y 0.15 mL (1.52 mmoles) de yoduro de propilo, y se mantuvo a reflujo por 6 h bajo atmósfera de  $N_2$ . Transcurrido este tiempo se evaporó el disolvente y se redisolvió el residuo en agua/HCl, se llevo a pH básico con  $NH_3$  y se extrajo con  $CHCl_3$ , se secó la fase orgánica con  $Na_2SO_4$  anhidro y se evaporó el solvente a sequedad. Se obtuvo 0.65 g (1.28 mmoles) de producto con un rendimiento de 84 %.  $C_{34}H_{41}NO_3$ ; PM= 507.65 g/mol.

El residuo oleoso resultante se cristalizó como clorhidrato en una mezcla acetona/ éter etílico.  $C_{34}H_{42}ClNO_3$ ; PM= 544.11 g/mol. BBCP·HCl pf = 167-170 °C.

Datos espectroscópicos:  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  7.09-7.23 (10H, *m*,  $C_6H_5-CH_2$ ), 7.03 (2H, *d*,  $J = 8.2$  Hz, H-10, H-14), 6.92 (2H, *d*,  $J = 8.2$  Hz, H-11, H-13), 6.72 (1H, *s*, H-5), 6.01 (1H, *s*, H-8), 4.86 (2H, *s*,  $C_6H_5-CH_2$ ), 4.77 (2H, *dd*,  $J = 12.6$  Hz,  $C_6H_5-CH_2$ ), 3.88 (3H, *s*, 6-*O*- $CH_3$ ), 3.68 (1H, *m*, H-1), 3.20 (1H, *m*, H- $\alpha$ ), 3.16 (1H, *m*, H-3), 2.79 (1H, *m*, H- $\alpha'$ ), 2.77 (1H, *m*, H-4), 2.69 (1H, *m*, H-3'), 2.52 (1H, *m*, H-4'), 2.39 (2H, *t*,  $J = 7.4$  Hz, *N*- $CH_2CH_2CH_3$ ), 1.54 (2H, *hex*,  $J = 7.4$  Hz, *N*- $CH_2CH_2CH_3$ ), 0.88 (3H, *t*,  $J = 7.4$  Hz, *N*- $CH_2CH_2CH_3$ ).  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  158.5 (C-12), 150.0 (C-7), 148.7 (C-6), 139.9 (C-9), 139.3 (C-8a), 131.1, 129.8, 129.1, 128.7 ( $C_6H_5CH_2$ ), 130.3 (C-10, C-14), 129.5 (C-4a), 116.9 (C-5), 115.8 (C-11, C-13), 111.5 (C-8), 71.3 ( $C_6H_5-CH_2$ ), 68.5 ( $C_6H_5-CH_2'$ ), 60.5 (C-1), 56.6 (6-*O*- $CH_3$ ), 42.9 (*N*- $CH_2CH_2CH_3$ ), 40.7 (C- $\alpha$ ), 40.6 (C-3), 39.7 (*N*- $CH_2CH_2CH_3$ ), 36.5 (*N*- $CH_2CH_2CH_3$ ), 30.1 (C-4).

**(±)-1-(12-Hidroxibencil)-7-benciloxi-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolina (15):** A una disolución de 5.18 g (13.2 mmoles) de N-(4'-benciloxi-3'-metoxifeniletíl)-4-hidroxifenilacetamida en 100 mL de acetonitrilo, se le adicionó 5.80 mL de oxiclورو de fósforo en el transcurso de 20 min. La mezcla se mantuvo a reflujo por 3 h tras las cuales se evaporó el solvente y el residuo se redisolvió en un mínimo de acetonitrilo 5mL y se diluyó con 100mL de acetato de etilo. Esta solución se lavó tres veces con una solución saturada de  $NaHCO_3$  y luego con agua, se secó y evaporó el solvente a sequedad. Se obtuvo 4.20 g (11.2 mmoles) de producto con un rendimiento de 85 %. El sólido amarillo resultante se utilizó inmediatamente para la siguiente reducción.  $C_{24}H_{23}NO_3$ ; PM= 373.45 g/mol.

Datos espectroscópicos:  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.29-7.38 (5H, *m*,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 7.25 (2H, *d*,  $J = 8.5$  Hz, H-10, H-14), 7.17 (1H, *s*, H-5), 6.83 (2H, *d*,  $J = 8.5$  Hz, H-11, H-13), 6.72 (1H, *s*, H-8), 5.16 (2H, *s*,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 4.36 (2H, *s*, H- $\alpha$ ), 3.83 (2H, *t*,  $J = 7.6$  Hz, H-3), 3.71 (3H, *s*, O- $\text{CH}_3$ ), 2.78 (2H, *t*,  $J = 7.6$  Hz, H-4).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  165.6 (C-1), 158.1 (C-12), 149.9 (C-6), 147.7 (C-7), 141.2, 133.3, 129.8, 128.3 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$ ), 131.6 (C-4a), 130.0 (C-10, C-14), 129.5 (C-8a), 126.6 (C-9), 114.0 (C-11, C-13), 112.3 (C-5), 110.2 (C-8), 70.7 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 56.1 (O- $\text{CH}_3$ ), 47.0 (C- $\alpha$ ), 42.4 (C-3), 25.6 (C-4).

**(±)-1-(12-Hidroxi-bencil)-7-benciloxi-6-metoxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina;**

**7-O-bencilcoclaurina; 7BC (16):** A una solución de 4.20 g (11.0 mmoles) de 1-(12-hidroxi-bencil)-7-benciloxi-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolina en 150 mL de una mezcla de MeOH/ $\text{CHCl}_3$  (1:1), se le agregó 5.0 g. (132 mmoles) de  $\text{NaBH}_4$  en el transcurso de 2 h. Una vez transcurrido este tiempo, se agregó HCl concentrado hasta  $\text{pH} = 1$ , luego se llevó a sequedad y se redisolvió en agua/HCl, y se extrajo el producto con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  de la fase acuosa previamente llevada a  $\text{pH}$  básico con  $\text{NH}_3$ . Se secó y se evaporó el solvente. Se obtuvo 3.7 g (9.8 mmoles) de producto con un rendimiento de 87 %. El aceite resultante se cristalizó como clorhidrato en una mezcla metanol/éter etílico.  $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{ClNO}_3$ ; PM = 411.93 g/mol, 7BC·HCl pf = 156-157 °C (lit. 157-158 °C, Kametani & Yagi, 1967).

Datos espectroscópicos:  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.25-7.40 (5H, *m*,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 7.17 (2H, *d*,  $J = 8.5$  Hz, H-10, H-14), 6.86 (2H, *d*,  $J = 8.5$  Hz, H-11, H-13), 6.64 (1H, *s*, H-5), 6.62 (1H, *s*, H-8), 5.12 (2H, *s*,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 4.09 (1H, *m*, H-1), 3.82 (3H, *s*, 6-O- $\text{CH}_3$ ), 3.26 (1H, *m*, H-3), 3.16 (1H, *m*, H- $\alpha$ ), 2.89 (1H, *m*, H- $\alpha'$ ), 2.88 (1H, *m*, H-4), 2.83 (1H, *m*, H-3'), 2.63 (1H, *m*, H-4').  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  158.3 (C-12), 147.7 (C-6), 146.7 (C-7), 137.2, 127.3, 127.8, 128.5 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$ ), 130.5 (C-8a), 130.3 (C-9), 130.0 (C-10, C-14),

127.1 (C-4a), 114.3 (C-5), 114.0 (C-11, C-13), 110.2 (C-8), 40.6 (C- $\alpha$ ), 71.0 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>), 56.9 (C-1), 56.2 (6-O-CH<sub>3</sub>), 41.6 (C-3), 29.6 (C-4).

**(±)-1-(12-Hidroxibencil)-7-benciloxi-6-metoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidro**

**isoquinolina; 7-O-bencil-N-metilcoclorina; 7BCM (17):** A una solución de 1.0 g (2.7 mmoles) de (±)-7-O-bencilcoclorina en 80 mL de metanol se le adicionó 0.37 mL (5.0 mmoles) de formalina 40% y se dejó con agitación por 30 min a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se adicionó 0.6 g (15.8 mmoles) de NaBH<sub>4</sub> durante 30 min. A la mezcla de reacción se le agregó transcurrido este tiempo HCl concentrado hasta pH = 1, luego se llevó a sequedad y se redisolvió el residuo en agua, y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> el producto de la fase acuosa previamente llevada a pH básico con NH<sub>3</sub>. Se secó y se evaporó el solvente. Se obtuvo 0.72 g (1.8 mmoles) de producto con un rendimiento de 67 %. El aceite resultante se cristalizó como clorhidrato en una mezcla acetona / éter etílico. C<sub>25</sub>H<sub>28</sub>ClNO<sub>3</sub>; PM = 425.95 g/mol, 7BCM·HCl pf = 141-143 °C (lit. 142-143.5 °C, Kametani & Yagi, 1967).

Datos espectroscópicos: <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.33-7.44 (5H, *m*, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>), 7.27 (2H, *d*, *J* = 8.1 Hz, H-10, H-14), 6.93 (2H, *d*, *J* = 8.1 Hz, H-11, H-13), 6.55 (1H, *s*, H-5), 6.08 (1H, *s*, H-8), 4.75 (2H, *dd*, *J* = 12.3 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>), 3.85 (3H, *s*, 6-O-CH<sub>3</sub>), 3.81 (1H, *m*, H-1), 3.19 (1H, *m*, H- $\alpha$ ), 3.16 (1H, *m*, H-3), 2.93 (1H, *m*, H- $\alpha'$ ), 2.84 (1H, *m*, H-3'), 2.75 (1H, *m*, H-4), 2.59 (1H, *m*, H-4'), 2.55, (3H, *s*, N-CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  161.5 (C-12), 151.3 (C-6), 148.8 (C-7), 137.2, 129.2, 126.7, 126.3 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>), 132.3 (C-10, C-14), 131.4 (C-9), 128.1 (C-4a), 127.7 (C-8a), 119.5 (C-5), 117.0 (C-11, C-13), 112.3 (C-8), 68.9 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>), 60.7 (C-1), 58.3 (6-O-CH<sub>3</sub>), 44.6 (C-3), 41.9 (N-CH<sub>3</sub>), 41.6 (C- $\alpha$ ), 31.6 (C-4).

**(±)-1-(12-Hidroxibencil)-7-benciloxi-6-metoxi-N-etil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina:**

**7-O-bencil-N-etilcoclaurina; 7BCE (18):** Se disolvió 0.70 g (1.9 mmoles) de 7-O-bencilcoclaurina en 50 mL de acetonitrilo previamente desgasado y purgado con N<sub>2</sub> y luego se adicionó 0.25 g (3.0 mmoles) de NaHCO<sub>3</sub> agitando, y 0.12 mL (1.50 mmoles) de yoduro de etilo, y se mantuvo a reflujo por 6 h bajo atmósfera de N<sub>2</sub>. Transcurrido este tiempo se evaporó el disolvente y se redisolvió el residuo en agua/HCl, se levo a pH básico con NH<sub>3</sub> y se extrajo con CHCl<sub>3</sub>, se secó la fase orgánica con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se evaporó el solvente a sequedad. Se obtuvo 0.4 g (1.9 mmoles) con un rendimiento de 94 %. C<sub>26</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>3</sub>; PM = 403.52 g/mol. EIMS m/z: 403 (7), 296 (100), 205 (40), 190 (10), 176 (35), 148 (12), 91 (30). El residuo oleoso resultante se cristalizó como el clorhidrato en acetona/ éter etílico. C<sub>26</sub>H<sub>30</sub>ClNO<sub>3</sub>; PM = 439.98 g/mol, 7BCE·HCl pf = 145-147 °C. Datos espectroscópicos: <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 7.21-7.39 (5 H, *m*, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>), 7.19 (2H, *d*, *J* = 8.4 Hz, H-10, H-14), 6.89 (2H, *d*, *J* = 8.4 Hz, H-11, H-13), 6.65 (1H, *s*, H-5), 6.06 (1H, *s*, H-8), 4.81 (2H, *dd*, *J* = 11.9 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>), 3.86 (3H, *s*, 6-O-CH<sub>3</sub>), 3.69 (1H, *m*, H-1), 3.17 (1H, *m*, H-α), 3.15 (1H, *m*, H-3), 2.78 (1H, *m*, H-α'), 2.82 (1H, *m*, H-4), 2.74 (1H, *m*, H-3'), 2.71 (2-H, *c*, *J*=7.1 Hz, N-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.55 (1H, *m*, H-4'), 1.15 (3-H, *t*, *J*=7.1 Hz, N-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 158.5 (C-12), 149.1 (C-6), 144.8 (C-7), 139.9 (C-9), 138.2 (C-8a), 133.1, 128.1, 127.5, 127.9 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>), 132.2 (C-10, C-14), 131.3 (C-4a), 117.7 (C-5), 116.5 (C-11, C-13), 112.1 (C-8), 71.2 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>), 67.9 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>'), 61.8 (C-1), 56.9 (6-O-CH<sub>3</sub>), 42.8 (N-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 42.5 (C-α), 42.0 (C-3), 37.9 (N-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 29.6 (C-4).

**N-(3',4'-Dimetoxifeniletíl)-4-hidroxifenilacetamida (19):** Una mezcla equimolar de 5.00 g (28 mmoles) de β-(3,4-metoxifenil)-etilamina y 4.19 g (28 mmoles) de ácido 4-

hidroxifenilacético, se calentó a 180° C por 2 h. La mezcla de reacción, luego de enfriarse, se disolvió en 100 mL de acetato de etilo y se lavó con una solución saturada de NaCl y luego con agua. Se evaporó el solvente previo secado con sulfato de sodio anhidro. Se obtuvo 7.3 g (23 mmoles) de producto con un rendimiento de 84 % como un sólido blanco que se utilizó en el paso siguiente.  $C_{18}H_{21}NO_3$ ; PM= 299.37 g/mol.

Datos espectroscópicos:  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  6.93 (2H, *d*,  $J = 7.4$  Hz, H-2, H-6), 6.77 (2H, *d*,  $J = 7.4$  Hz, H-3, H-5), 6.71 (1H, *d*,  $J = 8.5$  Hz, H-5'), 6.59 (1H, *d*,  $J = 1.8$  Hz, H-2'), 6.51 (1H, *dd*,  $J = 8.5$ ,  $J' = 1.8$  Hz, H-6'), 3.89 (3H, *s*, O-CH<sub>3</sub>), 3.83 (3H, *s*, O-CH<sub>3</sub>), 3.49 (2H, *s*, CO-CH<sub>2</sub>), 3.32 (2H, *t*,  $J = 6.6$  Hz, H- $\beta$ ), 2.59 (2H, *t*,  $J = 6.6$  Hz, H- $\alpha$ ).  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  171.4 (C=O), 158.6 (C-4), 148.0 (C-3'), 147.8 (C-4'), 131.0 (C-1'), 130.4 (C-2, C-6), 126.8 (C-1), 121.3 (C-6'), 114.7 (C-2'), 114.3 (C-3, C-5), 112.0 (C-5'), 42.8 (C- $\beta$ ), 56.0 (O-CH<sub>3</sub>), 40.5 (CO-CH<sub>2</sub>) 34.8 (C- $\alpha$ ).

**1-(12-Hidroxibencil)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolina (20):** A una disolución de 7.30 g (23 mmoles) de *N*-(3',4'-dimetoxifeniletíl)-4-hidroxifenilacetamida en 100 mL de acetonitrilo, se le adicionó 8.1 mL de oxiclورو de fósforo en el transcurso de 20 min. La mezcla se mantuvo a reflujo por 3 h tras las cuales se evaporó el solvente y se redisolvió el residuo en un volumen mínimo de acetonitrilo 10 mL y se diluyó con 100mL de acetato de etilo. Esta solución se lavó tres veces con una solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y luego con agua, se secó y evaporó el solvente a sequedad. Se obtuvo 4.10 g (13.0 mmoles) de producto con un rendimiento de 56 %. El sólido amarillo resultante se utilizó inmediatamente para la siguiente reducción.  $C_{18}H_{19}NO_3$ ; PM = 297.35 g/mol.

Datos espectroscópicos:  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  7.05 (2H, *d*,  $J = 8.7$  Hz, H-10, H-14), 7.02 (1H, *s*, H-5), 6.82 (2H, *d*,  $J = 8.7$  Hz, H-11, H-13), 6.67 (1H, *s*, H-8), 3.85 (3H, *s*, O-

CH<sub>3</sub>), 3.81 (3H, *s*, *O*-CH<sub>3</sub>), 3.73 (2H, *t*, *J* = 7.0 Hz, H-3), 3.43 (2H, *s*, H- $\alpha$ ), 2.66 (2H, *t*, *J* = 7.0 Hz, H-4). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  160.9 (C-1), 153.5 (C-12), 148.9 (C-6), 146.6 (C-7), 130.7 (C-4a), 129.0 (C-10, C-14), 127.9 (C-8a), 126.6 (C-9), 112.7 (C-11, C-13), 111.2 (C-5), 110.0 (C-8), 56.1 (*O*-CH<sub>3</sub>), 53.6 (*O*-CH<sub>3</sub>), 45.1 (C- $\alpha$ ), 41.6 (C-3), 24.8 (C-4).

**(±)-1-(12-Hidroxibencil)-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina:**

**norarmepavina; 7-*O*-metilcoclaurina; 7MC (21):** A una solución de 4.10 g (13.0 mmoles) de 1-(12-hidroxibencil)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolina en 100 mL de una mezcla MeOH/CHCl<sub>3</sub> (1:1), se le agregó 5.8 g (153 mmoles) de NaBH<sub>4</sub> en el transcurso de 2 h. A la mezcla de reacción se le agregó transcurrido este tiempo HCl concentrado hasta pH = 1, luego se llevó a sequedad y se redisolvió en agua, y se extrajo el producto con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> de la fase acuosa previamente llevada a pH básico con NH<sub>3</sub>. Se secó y se evaporó el solvente. Se obtuvo 3.50 g (12 mmoles) de producto con un rendimiento de 90 %. El aceite resultante se cristalizó como el clorhidrato en una mezcla etanol/ éter etílico. C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>ClNO<sub>3</sub>; PM = 335.83 g/mol, 7MC·HCl pf = 156-158 °C (lit. 157-158 °C, Fujitani & col., 1966).

Datos espectroscópicos: <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.01 (2H, *d*, *J* = 7.9 Hz, H-10, H-14), 6.71 (2H, *d*, *J* = 7.9 Hz, H-11, H-13), 6.58 (1H, *s*, H-5), 6.52 (1H, *s*, H-8), 4.15 (1H, *m*, H-1), 3.82 (3H, *s*, 6-*O*-CH<sub>3</sub>), 3.78 (3H, *s*, 7-*O*-CH<sub>3</sub>), 3.18 (1H, *m*, H- $\alpha$ ), 3.17 (1H, *m*, H-3), 2.90 (1H, *m*, H-4), 2.89 (1H, *m*, H- $\alpha'$ ), 2.79 (1H, *m*, H-3'), 2.53 (1H, *m*, H-4'). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  156.7 (C-12), 147.0 (C-7), 146.5 (C-6), 131.6 (C-10, C-14), 130.1 (C-8a), 129.1 (C-9), 123.7 (C-4a), 116.3 (C-11, C-13), 110.7 (C-8), 109.9 (C-5), 63.0 (C-1), 54.9 (*O*-CH<sub>3</sub>), 53.8 (*O*-CH<sub>3</sub>), 44.8 (C-3), 42.1 (C- $\alpha$ ), 37.3 (C-4).

**(±)-1-(12-Hidroxibencil)-6,7-dimetoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina;**

**armepavina; 7-O-metil-N-metilcoclaurina; 7MCM (22):** A una solución de 1.0 g (3.34 mmoles) de norarmepavina en 80 mL de metanol se le adicionó 0.49 mL (6.6 mmoles) de formalina 40% y se dejó con agitación por 30 min a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se adicionó 0.75 g (20 mmoles) de NaBH<sub>4</sub> durante 30 min. A la mezcla de reacción se le agregó transcurrido este tiempo HCl concentrado hasta pH = 1, luego se llevó a sequedad y el residuo se disolvió en agua, y se extrajo el producto con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> de la fase acuosa previamente llevada a pH básico con NH<sub>3</sub>. Se secó y se evaporó el solvente. Se obtuvo 0.81 g (2.6 mmoles) de producto con un rendimiento de 77 %. El aceite resultante se cristalizó como el clorhidrato en una mezcla metanol/ éter etílico. C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>ClNO<sub>3</sub>; PM = 349.85 g/mol, 7MCM·HCL pf = 150-152 °C (lit. 152 °C, Marion & col., 1950).

Datos espectroscópicos: <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 6.96 (2H, *d*, *J* = 8.1 Hz, H-10, H-14), 6.68 (2H, *d*, *J* = 8.1 Hz, H-11, H-13), 6.55 (1H, *s*, H-5), 6.12 (1H, *s*, H-8), 3.86 (3H, *s*, 6-O-CH<sub>3</sub>), 3.81 (1H, *m*, H-1), 3.58 (3H, *s*, 7-O-CH<sub>3</sub>), 3.21 (1H, *m*, H-3), 3.15 (1H, *m*, H-α), 2.89 (1H, *m*, H-4), 2.87 (1H, *m*, H-α'), 2.81 (1H, *m*, H-3'), 2.60 (1H, *m*, H-4'), 2.57 (3H, *s*, N-CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 157.2 (C-12), 146.9 (C-6), 145.8 (C-7), 132.3 (C-10, C-14), 131.7 (C-8a), 130.1 (C-9), 124.3 (C-4a), 115.8 (C-11, C-13), 110.1 (C-5), 109.9 (C-8), 60.9 (C-1), 55.8 (O-CH<sub>3</sub>), 48.3 (O-CH<sub>3</sub>), 45.1 (C-3), 41.6 (C-α), 39.9 (N-CH<sub>3</sub>) 30.8 (C-4).

**(±)-1-(12-hidroxibencil)-6,7-dimetoxi-N-etil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina;**

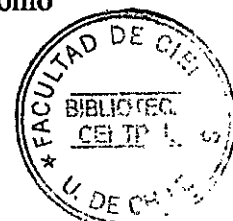
**N-etilnorarmepavina; 7-O-metil-N-etilcoclaurina; 7MCE (23):** Se disolvió 1.00 g (3.34 mmoles) de (±)-norarmepavina en 50 mL de acetonitrilo previamente desgasado y



purgado con  $N_2$ , se adicionó 0.56 g (6.7 mmoles) de  $NaHCO_3$  con agitación y 0.27 mL (3.3 mmoles) de yoduro de etilo, y se mantuvo a reflujo por 6 h bajo atmósfera de  $N_2$ . Transcurrido este tiempo se evaporó el disolvente y se redisolvió el residuo en agua/HCl, se llevo a pH básico con  $NH_3$  y se extrajo con  $CHCl_3$ , se secó la fase orgánica con  $Na_2SO_4$  anhidro y se evaporó el solvente a sequedad. Se obtuvo 0.97 g (3.0 mmoles) de producto con un rendimiento de 89 %.  $C_{20}H_{25}NO_3$ ; PM = 327.42 g/mol. EIMS m/z: 327 (8), 220 (100), 191 (30), 161 (43), 107 (14), 91 (30). El residuo oleoso resultante se cristalizó como el clorhidrato en una mezcla acetona / éter etílico.  $C_{20}H_{26}ClNO_3$ ; PM = 363.8 g/mol. 7MCE·HCl pf = 158-161 °C.

Datos espectroscópicos:  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  7.06 (2H, *d*,  $J = 8.4$  Hz, H-10, H-14), 6.71 (2H, *d*,  $J = 8.4$  Hz, H-11, H-13), 6.58 (1H, *s*, H-5), 5.59 (1H, *s*, H-8), 3.92 (1H, *m*, H-1), 3.84 (3H, *s*, 6-O- $CH_3$ ), 3.56 (3H, *s*, 7-O- $CH_3$ ), 3.19 (1H, *m*, H- $\alpha$ ), 3.17 (1H, *m*, H-3), 3.02 (1H, *t*, H-4), 2.90 (1H, *m*, H- $\alpha'$ ), 2.72 (1H, *m*, H-3'), 2.70 (2-H, *c*,  $J = 7.1$  Hz, *N*- $CH_2CH_3$ ), 2.66 (1H, *t*, H-4'), 1.09 (3H, *t*,  $J = 7.1$  Hz, *N*- $CH_2CH_3$ ).  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  159.1 (C-12), 147.2 (C-7), 145.2 (C-6), 133.9 (C-8a), 132.6 (C-9), 134.4 (C-10, C-14), 126.5 (C-4a), 117.9 (C-11, C-13), 113.2 (C-5), 111.5 (C-8), 62.8 (C-1), 56.8 (O- $CH_3$ ), 50.3(O- $CH_3$ ), 47.5 (C-3), 47.3 (*N*- $CH_2CH_3$ ), 43.3 (C- $\alpha$ ), 40.1 (*N*- $CH_2CH_3$ ), 33.8 (C-4).

**N-(3',4'-Dimetoxifeniletil)-4-metoxifenilacetamida (24)**: Una mezcla equimolar de 4.7 mL (28 mmoles)  $\beta$ -(3,4-metoxifenil)-etilamina y 4.52 g (28 mmoles) de ácido 4-metoxifenilacético se calentó a 180 °C por 2 h. La mezcla de reacción, luego de enfriarse, se disolvió en 100 mL de acetato de etilo y se lavó con una solución saturada de NaCl y luego con agua. Se evaporó el solvente previo secado con sulfato de sodio anhidro. Se obtuvo 7.45 g (22.6 mmoles) de producto con un rendimiento de 82 %, como



un sólido blanco que se utilizó inmediatamente en el paso siguiente.  $C_{19}H_{23}NO_3$ ; PM = 313.40 g/mol.

Datos espectroscópicos:  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  7.08 (2H, *d*,  $J = 7.8$  Hz, H-2, H-6), 6.87 (2H, *d*,  $J = 7.8$  Hz, H-3, H-5), 6.78 (1H, *d*,  $J = 7.9$  Hz, H-5), 6.69 (1H, *d*,  $J = 2.1$  Hz, H-2'), 6.57 (1H, *dd*,  $J = 7.9$ ,  $J' = 2.1$  Hz, H-6'), 3.94 (3H, *s*, O-CH<sub>3</sub>), 3.87 (3H, *s*, O-CH<sub>3</sub>), 3.45 (2H, *s*, CO-CH<sub>2</sub>), 3.44 (2H, *t*,  $J = 6.8$  Hz, H- $\beta$ ), 2.66 (2H, *t*,  $J = 6.8$  Hz, H- $\alpha$ ).  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  168.6 (C=O), 157.6 (C-4), 148.8 (C-4'), 148.0 (C-3'), 129.0 (C-2, C-6), 125.9 (C-1'), 125.7 (C-1), 123.3 (C-6'), 114.1 (C-5'), 112.6 (C-2'), 113.1 (C-3, C-5), 41.8 (C- $\beta$ ), 54.9 (O-CH<sub>3</sub>), 38.7 (CO-CH<sub>2</sub>), 32.9 (C- $\alpha$ ).

**1-(12-Metoxibencil)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolina (25):** A una disolución de 7.45 g (23 mmoles) de *N*-(3',4'-dimetoxifeniletíl)-4-metoxifenilacetamida en 200 mL de acetonitrilo, se le adicionó 8.30 mL de oxiclورو de fósforo en el transcurso de 20 min. La mezcla se mantuvo a reflujo por 3 h tras las cuales se evaporó el solvente y se redisolvió el residuo en un volumen mínimo de acetonitrilo (10 mL) y se diluyó con 100 mL de acetato de etilo. Esta solución se lavó tres veces con una solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y luego con agua, se secó y evaporó el solvente a sequedad y se obtuvo 4.82 g (15.5 mmoles) de producto con un rendimiento de 68 %. El sólido amarillo resultante se utilizó inmediatamente para la siguiente reducción ya que éste se descompone rápidamente.  $C_{19}H_{21}NO_3$ ; PM = 311.38 g/mol.

Datos espectroscópicos:  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  7.08 (2H, *d*,  $J = 8.6$  Hz, H-10, H-14), 7.01 (1H, *s*, H-5), 6.81 (2H, *d*,  $J = 8.6$  Hz, H-11, H-13), 6.65 (1H, *s*, H-8), 4.06 (2H, *s*, H- $\alpha$ ), 3.85 (3H, *s*, O-CH<sub>3</sub>), 3.78 (3H, *s*, O-CH<sub>3</sub>), 3.71 (3H, *s*, O-CH<sub>3</sub>), 3.73 (2H, *t*,  $J = 7.8$  Hz, H-3), 2.69 (2H, *t*,  $J = 7.8$  Hz, H-4).  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  169.3 (C-1), 157.1 (C-12),

152.3 (C-6), 149.2 (C-7), 133.0 (C-4a), 131.3 (C-10, C-14), 129.5 (C-8a), 127.2 (C-9), 115.1 (C-5), 113.7 (C-11, C-13), 112.8 (C-8), 56.1 (*O*-CH<sub>3</sub>), 53.1 (*O*-CH<sub>3</sub>), 52.2 (*O*-CH<sub>3</sub>), 46.7 (C- $\alpha$ ), 44.6 (C-3), 26.5 (C-4).

**(±)-1-(12-Metoxibencil)-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina;**

**12-O-metilnorarmepavina; 7,12-O,O'-dimetilcoclaurina, 7,12MMC (26):** A una solución de 4.82 g (15.5 mmoles) de 1-(12-metoxibencil)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolina en 100 mL de un mezcla de MeOH/CHCl<sub>3</sub> (1:1), se le agregó 6.90 g (183 mmoles) de NaBH<sub>4</sub> en el transcurso de 2 h. A la mezcla de reacción se le agregó transcurrido este tiempo HCl concentrado hasta pH = 1, luego se llevó a sequedad y se redisolvió el residuo en agua, y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> el producto de la fase acuosa previamente llevada a pH básico con NH<sub>3</sub>. Se secó y se evaporó el solvente. Se obtuvo 3.7 g (12 mmoles) de producto con un rendimiento de 77 %. El aceite resultante se cristalizó como el clorhidrato en una mezcla metanol / éter etílico. C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>ClNO<sub>3</sub>; PM= 349.85 g/mol. 7,12MMC·HCl pf = 176-179 °C (lit. 178-181 °C, Mndzhoyan & col., 1967).

Datos espectroscópicos: <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.14 (2H, *d*, *J* = 8.2 Hz, H-10, H-14), 6.78 (2H, *d*, *J* = 8.2 Hz, H-11, H-13), 6.58 (1H, *s*, H-5), 6.52 (1H, *s*, H-8), 3.89 (1H, *m*, H-1), 3.81 (3H, *s*, 6-*O*-CH<sub>3</sub>), 3.80 (3H, *s*, 12-*O*-CH<sub>3</sub>), 3.76 (3H, *s*, 7-*O*-CH<sub>3</sub>), 3.12 (1H, *m*, H- $\alpha$ ), 3.25 (1H, *m*, H-3), 2.89 (1H, *m*, H-4), 2.83 (1H, *m*, H- $\alpha'$ ), 2.74 (1H, *m*, H-3'), 2.63 (1H, *m*, H-4'). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  157.9 (C-12), 146.9 (C-7), 145.0 (C-6), 133.3 (C-10, C-14), 128.9 (C-4a), 128.3 (C-8a), 127.7 (C-9), 116.3 (C-5), 115.1 (C-11, C-13), 113.1 (C-8), 64.1 (C-1), 57.2 (*O*-CH<sub>3</sub>), 54.9 (*O*-CH<sub>3</sub>), 54.1 (*O*-CH<sub>3</sub>), 42.3 (C-3), 42.1 (C- $\alpha$ ), 31.1 (C-4).

**(±)-1-(12-Metoxibencil)-6,7-dimetoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina;**

**12-O-metilarmepavina; 7,12-O,O'-dimetil-N-metilcocclaurina; 7,12MMCM (27):** A

una solución de 1.0 g (3.19 mmoles) de (±)-12-O-metilnorarmepavina en 50 mL de metanol se le adicionó 0.47 mL (6.4 mmoles) de formalina 40% y se dejó con agitación por 30 min a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se adicionó 0.73 g (19 mmoles) de NaBH<sub>4</sub> durante 30 min. A la mezcla de reacción se le agregó transcurrido este tiempo HCl concentrado hasta pH = 1, luego se llevó a sequedad y el residuo se disolvió en agua, y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> el producto de la fase acuosa previamente llevada a pH básico con NH<sub>3</sub>. Se secó y se evaporó el solvente. Se obtuvo 0.66 g (2.0 mmoles) de producto con un rendimiento de 63 %. El aceite resultante se cristalizó como el clorhidrato en una mezcla metanol / éter etílico. C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>ClNO<sub>3</sub>; PM = 363.88 g/mol, 7,12MMCM·HCl pf = 200-202 °C (lit. 200- 201 °C, Mndzhoyan & col., 1967).

Datos espectroscópicos: <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 7.18 (2H, *d*, *J* = 8.2 Hz, H-10, H-14), 6.81 (2H, *d*, *J* = 8.2 Hz, H-11, H-13), 6.56 (1H, *s*, H-5), 6.05 (1H, *s*, H-8), 3.80 (3H, *s*, 12-O-CH<sub>3</sub>), 3.80 (3H, *s*, 6-O-CH<sub>3</sub>), 3.59 (1H, *m*, H-1), 3.56 (3H, *s*, 7-O-CH<sub>3</sub>), 3.23 (1H, *m*, H-3), 3.06 (1H, *m*, H-α), 2.84 (1H, *m*, H-4), 2.79 (1H, *m*, H-α'), 2.70 (1H, *m*, H-3'), 2.59 (1H, *m*, H-4'), 2.51(3H, *s*, N-CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 158.1 (C-12), 147.3 (C-7), 146.3 (C-6), 135.5 (C-10, C-14), 129.3 (C-4a), 129.1 (C-8a), 128.2 (C-9), 118.2 (C-5), 114.0 (C-11, C-13), 112.9 (C-8), 61.8 (C-1), 58.2 (O-CH<sub>3</sub>), 55.7 (O-CH<sub>3</sub>), 54.8 (O-CH<sub>3</sub>), 41.5 (C-α), 40.9 (C-3), 40.1 (N-CH<sub>3</sub>), 33.9 (C-4).

**N-(4'-Benciloxi-3'-metoxifeniletil)-4-metoxifenilacetamida (28):** Una mezcla

equimolar de 2.00 g (7.8 mmoles) de β-(4-benciloxi-3-metoxifenil)-etilamina y 1.3 g (7.8mmoles) de ácido 4-metoxifenilacético, se calentó a 180 °C por 2 h. La mezcla de

reacción, luego de enfriarse, se disolvió en 100 mL de acetato de etilo y se lavó con una solución saturada de NaCl y luego con agua. Se evaporó el solvente previo secado con sulfato de sodio anhidro y se obtuvo 2.15 g (5.30 mmoles) de producto con un rendimiento de 68 %. El residuo oleoso se utiliza en el paso siguiente.  $C_{25}H_{27}NO_3$ ; PM = 389.49 g/mol.

Datos espectroscópicos:  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  7.29-7.46 (5H, *m*,  $C_6H_5-CH_2$ ), 7.05 (2H, *d*,  $J = 8.1$  Hz, H-2, H-6), 6.89 (2H, *d*,  $J = 8.1$  Hz, H-3, H-5), 6.81 (1H, *d*,  $J = 8.5$  Hz, H-5'), 6.70 (1H, *d*,  $J = 1.5$  Hz, H-2'), 6.62 (1H, *dd*,  $J = 8.5$ ,  $J' = 1.5$  Hz, H-6'), 5.12 (2H, *s*,  $C_6H_5-CH_2$ ), 3.81 (3H, *s*, *O-CH*<sub>3</sub>), 3.53 (2H, *s*,  $CO-CH_2$ ), 3.42 (2H, *t*,  $J = 6.9$  Hz, H- $\beta$ ) 2.71 (2H, *t*,  $J = 6.9$  Hz, H- $\alpha$ ).  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  172.9 ( $\underline{CO}$ ), 161.3 (C-4), 153.2 (C-3'), 151.2 (C-4'), 138.3 (C-1'), 136.3, 128.5, 127.6 126.9 ( $\underline{C_6H_5CH_2}$ ), 133.3 (C-2, C-6), 129.1 (C-6), 125.9 (C-1), 120.0 (C-2'), 119.7 (C-5'), 117.8 (C-3, C-5), 72.3 ( $C_6H_5-\underline{CH_2}$ ), 59.1 (*O-CH*<sub>3</sub>), 44.5 (C- $\beta$ ), 42.3 ( $CO-\underline{CH_2}$ ), 38.4 (C- $\alpha$ ).

**1-(12-Metoxibencil)-7-benciloxi-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolina (29):** A una disolución de 2.00 g (4.9 mmoles) de *N*-(4'-benciloxi-3'-metoxifeniletil)-4-metoxifenilacetamida en 100 mL de acetonitrilo, se le adicionó 4.0 ml. de oxiclورو de fósforo en el transcurso de 20 min. La mezcla se mantuvo a reflujo por 3 h tras las cuales se evaporó el solvente y se disolvió el residuo en un volumen mínimo de acetonitrilo (5 mL) y se diluyó con 100 mL de acetato de etilo. Esta solución se lavó tres veces con una solución saturada de  $NaHCO_3$  y luego con agua, se secó y evaporó el solvente a sequedad. Se obtuvo 1.40 g (3.7 mmoles) de producto con un rendimiento de 75 %. El sólido amarillo resultante se utilizó inmediatamente para la siguiente reducción.  $C_{25}H_{25}NO_3$ ; PM = 387.48 g/mol.

Datos espectroscópicos:  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.24-7.41 (5H, *m*,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 7.05 (2H, *d*,  $J = 8.6$  Hz, H-10, H-14), 7.02 (1H, *s*, H-5), 6.82 (2H, *d*,  $J = 8.6$  Hz, H-11, H-13), 6.67 (1H, *s*, H-8), 5.11 (2H, *s*,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 3.93 (2H, *s*, H- $\alpha$ ), 3.85 (3H, *s*, O-CH<sub>3</sub>), 3.71 (2H, *t*,  $J = 7.4$  Hz, H-3), 2.66 (2H, *t*,  $J = 7.4$  Hz, H-4).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  163.6 (C-1), 156.8 (C-12), 148.7 (C-6), 146.1 (C-7), 141.0, 132.7, 128.9, 128.7 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$ ), 131.2 (C-10, C-14), 128.9 (C-4a), 128.5 (C-8a), 125.5 (C-9), 112.2 (C-11, C-13), 110.3 (C-5), 109.3 (C-8), 72.1 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 55.1 (O-CH<sub>3</sub>), 45.7 (C- $\alpha$ ), 40.6 (C-3), 24.6 (C-4).

**(±)-1-(12-Metoxibencil)-7-benciloxi-6-metoxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina;**

**7-O-bencil-12-O-metilcoclaurina; 7B12MC (30):** A una solución de 1.40 g (3.7 mmoles) de 1-(12-metoxibencil)-7-benciloxi-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolina en 100 mL de una mezcla de MeOH/ $\text{CHCl}_3$  (1:1), se la agregó 2.00 g (55 mmoles) de  $\text{NaBH}_4$  en el transcurso de 2 h. A la mezcla de reacción se le agregó transcurrido este tiempo HCl concentrado hasta pH = 1, luego se llevó a sequedad y el residuo se disolvió en agua y se extrajo el producto con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  de la fase acuosa previamente llevada a pH básico con  $\text{NH}_3$ . Se secó y se evaporó el solvente y se obtuvo 1.10 g (2.8 mmoles) de producto con un rendimiento de 75 %. El aceite resultante se cristalizó como el clorhidrato en una mezcla acetona / éter etílico.  $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{ClNO}_3$ ; PM = 425.96 g/mol. 7B12MC-HCl pf = 195-196 °C (lit. 196-197 °C, Kametani & col., 1969).

Datos espectroscópicos:  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.22-7.33 (5H, *m*,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 7.22 (2H, *d*,  $J = 7.9$  Hz, H-10, H-14), 6.96 (2H, *d*,  $J = 7.9$  Hz, H-11, H-13), 6.58 (1H, *s*, H-5), 6.53 (1H, *s*, H-8), 4.91 (2H, *s*,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 4.01 (1H, *m*, H-1), 3.86 (3H, *s*, 6-O-CH<sub>3</sub>), 3.81 (3H, *s*, 12-O-CH<sub>3</sub>), 3.22 (1H, *m*, H- $\alpha$ ), 3.09 (1H, *m*, H-3), 2.84 (1H, *m*, H- $\alpha'$ ), 2.78 (1H, *m*, H-4), 2.72 (1H, *m*, H-3'), 2.54 (1H, *m*, H-4').  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  159.7 (C-12), 152.2 (C-

7), 150.3 (C-6), 141.2 (C-8a), 137.6, 129.9, 128.2, 127.3 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$ ), 141.5 (C-9), 133.5 (C-10, C-14), 132.0 (C-4a), 117.7 (C-5), 113.9 (C-11, C-13), 113.7 (C-8), 70.6 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 63.3 (C-1), 58.7 ( $\text{O-CH}_3$ ), 54.9 ( $\text{O-CH}_3$ ), 41.6 (C- $\alpha$ ), 42.9 (C-3), 32.8 (C-4).

**( $\pm$ )-1-(12-Metoxibencil)-7-benciloxi-6-metoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina;**

**7-O-bencil-12-O-metil-N-metilcoclaurina; 7B12MCM (31):** A una solución de 0.40 g (1.0 mmoles) de ( $\pm$ )-7-O-bencil-12-O-metilcoclaurina en 50 mL de metanol se le adicionó 0.15 mL (2.1 mmoles) de formalina 40% y se dejó con agitación por 30 min a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se adicionó 0.23 g (6.2 mmoles) de  $\text{NaBH}_4$  durante 30 min. A la mezcla de reacción se le agregó transcurrido este tiempo  $\text{HCl}$  concentrado hasta  $\text{pH} = 1$ , luego se llevó a sequedad y el residuo se disolvió en agua y se extrajo el producto con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  de la fase acuosa previamente llevada a  $\text{pH}$  básico con  $\text{NH}_3$ . Se secó y se evaporó el solvente y se obtuvo 0.36 g (0.9 mmoles) de producto con un rendimiento de 86 %. El aceite resultante se cristalizó como el clorhidrato en una mezcla metanol / éter etílico.  $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{ClNO}_3$ ;  $\text{PM} = 439.72$  g/mol.  $7\text{B}12\text{MCM}\cdot\text{HCl}$   $\text{pf} = 185\text{-}189$  °C (lit. 190.5 °C, Kametani & col., 1969).

Datos espectroscópicos:  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.24-7.31 (5H, *m*,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 7.14 (2H, *d*,  $J = 8.3$  Hz, H-10, H-14), 6.88 (2H, *d*,  $J = 8.3$  Hz, H-11, H-13), 6.51 (1H, *s*, H-5), 6.08 (1H, *s*, H-8), 4.99 (2H, *dd*,  $J = 13.1$  Hz,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ), 3.80 (3H, *s*, 6-O- $\text{CH}_3$ ), 3.78 (3H, *s*, 12-O- $\text{CH}_3$ ), 3.75 (1H, *m*, H-1), 3.21 (1H, *m*, H- $\alpha$ ), 3.11 (1H, *m*, H-3), 2.82 (1H, *m*, H- $\alpha'$ ), 2.76 (1H, *m*, H-4), 2.68 (1H, *m*, H-3'), 2.56 (3H, *s*, N- $\text{CH}_3$ ), 2.51 (1H, *m*, H-4).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  160.3 (C-12), 153.3 (C-7), 151.7 (C-6), 143.2 (C-8a), 140.0 (C-9), 138.8, 129.3, 128.9, 128.2 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$ ), 135.5 (C-10, C-14), 133.5 (C-4a), 119.2 (C-5),

115.5 (C-11, C-13), 115.1 (C-8), 72.4 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>), 63.9 (C-1), 59.3 (O-CH<sub>3</sub>), 56.6 (O-CH<sub>3</sub>), 43.5 (C-3), 42.2 (N-CH<sub>3</sub>), 40.7 (C- $\alpha$ ), 33.7 (C-4).

**(±)-1-(12-Metoxibencil)-7-hidroxi-6-metoxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina;**

**12-O-metilcoclaurina; 12MC (32):** Se disolvió 0.50 g (1.28 mmoles) de (±)-7-O-bencil-12-O-metilcoclaurina en una mezcla de EtOH/HCl (1:1) y se mantuvo a reflujo por 3 h aproximadamente. Transcurrido este tiempo se evaporó el solvente y el residuo se disolvió en agua. La solución acuosa previamente llevada a pH básico con NH<sub>3</sub> se extrajo con CHCl<sub>3</sub>, se secó y evaporó el solvente a sequedad y se obtuvo 0.34 g (1.13 mmoles) de producto con un rendimiento de 88 %. Posteriormente se cristalizó como el clorhidrato en una mezcla etanol/ éter etílico. C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>ClNO<sub>3</sub>; PM = 335.83 g/mol. 12MC·HCl pf = 165-167 °C (lit. 164-165 °C, Kametani & col., 1969).

Datos espectroscópicos: <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.14 (2H, *d*, *J* = 7.9 Hz, H-10, H-14), 6.65 (2H, *d*, *J* = 7.9 Hz, H-11, H-13), 6.61 (1H, *s*, H-5), 6.55 (1H, *s*, H-8), 4.09 (1H, *m*, H-1), 3.86 (3H, *s*, 6-O-CH<sub>3</sub>), 3.81 (3H, *s*, 12-O-CH<sub>3</sub>), 3.12 (1H, *m*, H-3), 3.10 (1H, *m*, H- $\alpha$ ), 2.83 (1H, *m*, H- $\alpha'$ ), 2.93 (1H, *m*, H-4), 2.66 (1H, *m*, H-3'), 2.55 (1H, *m*, H-4'). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  159.5 (C-12), 149.3 (C-7), 147.1 (C-6), 136.2 (C-10, C-14), 135.1 (C-9), 134.8 (C-8a), 129.3 (C-4a), 119.6 (C-11, C-13), 115.7 (C-5), 112.9 (C-8), 64.6 (C-1), 57.7 (O-CH<sub>3</sub>), 54.1 (O-CH<sub>3</sub>), 49.5 (C-3), 44.9 (C- $\alpha$ ), 31.3 (C-4).

**(±)-1-(12-Metoxibencil)-7-hidroxi-6-metoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina;**

**12-O-metil-N-metilcoclaurina; 12MCM (33):** A una solución de 0.10 g (0.33 mmoles) de (±)-12-O-metilcoclaurina en 50 mL de metanol se le adicionó 0.16 mL (2.1 mmoles) de formalina 40% y se dejó con agitación por 30 min a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se adicionó 0.24 g (6.3 mmoles) de NaBH<sub>4</sub> durante 30 min. A



la mezcla de reacción se le agregó transcurrido este tiempo HCl concentrado hasta pH = 1, luego se llevó a sequedad y el residuo se disolvió en agua, y se extrajo el producto con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> de la fase acuosa previamente llevada a pH básico con NH<sub>3</sub>. Se secó y se evaporó el solvente y se obtuvo 0.07 g (0.22 mmoles) de producto con un rendimiento de 66 %. El aceite resultante se cristalizó como el clorhidrato en una mezcla metanol / éter etílico. C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>ClNO<sub>3</sub>; PM = 349.85 g/mol. 12MCM·HCl pf = 167-169 °C (lit. 169-170 °C, Kametani & col., 1969).

Datos espectroscópicos: <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 7.11 (2H, *d*, *J* = 8.1 Hz, H-10, H-14), 6.82 (2H, *d*, *J* = 8.1 Hz, H-11, H-13), 6.50 (1H, *s*, H-5), 6.07 (1H, *s*, H-8), 3.82 (3H, *s*, 6-*O*-CH<sub>3</sub>), 3.81 (3H, *s*, 12-*O*-CH<sub>3</sub>), 3.58 (1H, *m*, H-1), 3.10 (1H, *m*, H-α), 3.23 (1H, *m*, H-3), 2.86 (1H, *m*, H-4), 2.80 (1H, *m*, H-α'), 2.76 (1H, *m*, H-3'), 2.60 (1H, *m*, H-4'), 2.58 (3H, *s*, *N*-CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 156.5 (C-12), 145.9 (C-7), 144.6 (C-6), 131.2 (C-10, C-14), 127.7 (C-4a), 127.3 (C-8a), 126.9 (C-9), 114.8 (C-5), 112.9 (C-11, C-13), 111.0 (C-8), 63.2 (C-1), 55.1 (*O*-CH<sub>3</sub>), 53.9 (*O*-CH<sub>3</sub>), 41.3 (C-3), 40.7 (C-α), 39.7 (*N*-CH<sub>3</sub>), 29.7 (C-4).

**(±)-1-(12-Hidroxibencil)-7-hidroxi-6-metoxi-1,2,3,4-tetrahidroisouquinolina;**

**coclaurina; C (34):** Se disolvió 1.00 g (2.7 mmoles) de (±)-7-*O*-bencil coclaurina en una mezcla de EtOH/HCl (1:1) y se mantuvo a reflujo por 3 h aproximadamente. Transcurrido este tiempo se evaporó el solvente y el residuo se redisolvió en agua. La solución acuosa previamente llevada a pH básico con NH<sub>3</sub> se extrajo con CHCl<sub>3</sub>, se secó y evaporó el solvente a sequedad y se obtuvo 0.69 g (2.4 mmoles) de producto con un rendimiento de 90 %. Posteriormente se purificó como el clorhidrato en una mezcla

etanol / éter etílico.  $C_{17}H_{20}ClNO_3$ ; PM = 321.80 g/mol,  $C \cdot HCl$  pf = 259-261 °C (lit. 261-263 °C, Teitel & Brossi, 1968).

Datos espectroscópicos:  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  7.23 (2H, *d*,  $J = 8.1$  Hz, H-10, H-14), 6.80 (2H, *d*,  $J = 8.1$  Hz, H-11, H-13), 6.67 (1H, *s*, H-5), 6.60 (1H, *s*, H-8), 3.92 (1H, *m*, H-1), 3.86 (3H, *s*, 6-*O*-CH<sub>3</sub>), 3.12 (1H, *m*, H- $\alpha$ ), 2.83 (2H, *m*, H-3), 2.79 (1H, *m*, H- $\alpha'$ ), 2.68 (2H, *m*, H-4).  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  155.3 (C-12), 144.7 (C-6), 144.0 (C-7), 130.8 (C-8a), 130.4 (C-10, C-14), 129.5 (C-9), 127.8 (C-4a), 114.7 (C-5), 110.9 (C-11, C-13), 108.7 (C-8), 60.1 (C-1), 55.8 (6-*O*-CH<sub>3</sub>), 40.7 (C-3), 40.1 (C- $\alpha$ ), 29.0 (C-4).

**(±)-1-(12-Hidroxibencil)-7-hidroxi-6-metoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidro isoquinolina;**

**N-metilcoclaurina; CM (35):** A una solución de 0.30 g (1.1 mmoles) de coclaurina en 50 mL de metanol se le adicionó 0.31 mL (4.2 mmoles) de formalina 40% y se dejó con agitación por 30 min a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se adicionó 0.48 g (13 mmoles) de  $NaBH_4$  durante 30 min. A la mezcla de reacción se le agregó transcurrido este tiempo HCl concentrado hasta pH = 1, luego se llevó a sequedad y el residuo se disolvió en agua, y se extrajo el producto con  $CH_2Cl_2$  de la fase acuosa previamente llevada a pH básico con  $NH_3$ . Se secó y se evaporó el solvente y se obtuvo 0.26 g (0.89 mmoles) de producto con un rendimiento de 84 %. El aceite resultante se cristalizó como el clorhidrato en una mezcla acetona / éter etílico.  $C_{18}H_{22}ClNO_3$ ; PM = 335.83 g/mol,  $CM \cdot HCl$  pf = 159- 160 °C (lit. 163- 165 °C, Teitel & Brossi, 1968).

Datos espectroscópicos:  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  7.09 (2H, *d*,  $J = 7.6$  Hz, H-10, H-14), 6.79 (2H, *d*,  $J = 7.6$  Hz, H-11, H-13), 6.52 (1H, *s*, H-5), 6.01 (1H, *s*, H-8), 3.91 (3H, *s*, 6-*O*-CH<sub>3</sub>), 3.85 (1H, *m*, H-1), 3.25 (1H, *m*, H-3), 3.11 (1H, *m*, H- $\alpha$ ), 2.91 (1H, *m*, H-4), 2.84 (1H, *m*, H-3'), 2.82 (1H, *m*, H- $\alpha'$ ), 2.65 (1H, *m*, H-4'), 2.51 (3H, *s*, *N*-CH<sub>3</sub>).  $^{13}C$  NMR

(CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  158.2 (C-12), 148.2 (C-7), 145.6 (C-6), 132.4 (C-10, C-14), 129.9 (C-4a), 129.6 (C-8a), 129.5 (C-9), 116.3 (C-5), 115.4 (C-11, C-13), 112.2 (C-8), 65.1 (C-1), 56.2 (6-O-CH<sub>3</sub>), 43.7 (C-3), 42.3 (C- $\alpha$ ), 40.9 (N-CH<sub>3</sub>), 31.0 (C-4).

**( $\pm$ )-1-(12-Hidroxibencil)-7-hidroxi-6-metoxi-N-etil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina,**

**N-etilcoclaurina, CE (36):** Se disolvió 0.25 g (0.87 mmoles) de ( $\pm$ )-coclaurina en 50 mL de acetonitrilo previamente desgasado y purgado con N<sub>2</sub>, se adicionó 0.15 g (1.8 mmoles) de NaHCO<sub>3</sub> con agitación y 0.1 mL (2.1 mmoles) de yoduro de etilo, y se mantuvo a reflujo por 6 h bajo atmósfera de N<sub>2</sub>. Transcurrido este tiempo se evaporó el disolvente y el residuo se disolvió en agua/HCl, se basificó con NH<sub>3</sub> y se extrajo el producto con CHCl<sub>3</sub>, se secó la fase orgánica con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se evaporó el solvente a sequedad. Se obtuvo 0.20 g (0.70 mmoles) de producto con un rendimiento de 76 %. C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>3</sub>; PM = 313.39 g/mol. EIMS m/z: 313 (7), 206 (100), 192 (80), 177 (28), 148 (10), 107 (15), 91 (13). El residuo oleoso resultante se cristalizó como el clorhidrato en una mezcla acetona / éter etílico. C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>ClNO<sub>3</sub>; PM = 349.85 g/mol. CE·HCl, pf.- 157-160 °C

Datos espectroscópicos: <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  6.94 (2H, *d*, *J* = 8.4 Hz, H-10, H-14), 6.65 (2H, *d*, *J* = 8.4 Hz, H-11, H-13), 6.53 (1H, *s*, H-5), 6.07 (1H, *s*, H-8), 3.85 (3H, *s*, 6-O-CH<sub>3</sub>), 3.78 (1H, *m*, H-1), 3.23 (1H, *m*, H- $\alpha$ ), 3.03 (1H, *m*, H-3), 2.91 (1H, *m*, H- $\alpha'$ ), 2.88 (1H, *m*, H-4), 2.72 (1H, *m*, H-3'), 2.65 (2H, *q*, *J* = 7.2 Hz, N-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.49 (1H, *m*, H-4'), 1.06 (3H, *t*, *J* = 7.2 Hz, N-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  154.9 (C-12), 147.3 (C-6), 146.2 (C-7), 130.8 (C-10, C-14), 130.6 (C-9), 128.6 (C-8a), 125.1 (C-4a), 115.4 (C-11, C-13), 111.5 (C-5), 111.2 (C-8), 64.8 (C-1), 55.4 (6-O-CH<sub>3</sub>), 45.9 (N-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 45.5 (C-3), 40.3 (C- $\alpha$ ), 38.4 (N-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 34.5 (C-4).

**(±)-1-(12-Benciloxibencil)-7-hidroxi-6-metoxi-1,2,3,4-tetrahidro isoquinolina:**

**12-O-bencilocclaurina; 12BC (38):** Se disolvió 0.50 g (1.1 mmoles) de (±)-7,12-O,O'-dibencilocclaurina en CHCl<sub>3</sub> previamente desgasado y se le agregó un equivalente molar de SnCl<sub>4</sub> 0.13 ml. (1.1 mmoles) y la mezcla se dejó reaccionar durante 24 h a temperatura ambiente bajo atmosfera de N<sub>2</sub>. Transcurrido este tiempo se evaporó el disolvente a sequedad y se redisolvió el residuo en CHCl<sub>3</sub> y se lavó con una mezcla de agua/NH<sub>3</sub> (3:2) 3 veces y luego con agua. La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se evaporó el solvente. Se obtuvo 0.15 g (0.4 mmoles) de producto con un rendimiento de 36 %. C<sub>24</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>3</sub>; PM = 375.47 g/mol. EIMS m/z: 375 (5), 197 (19), 177 (100), 161 (44), 148 (13), 91 (25). Posteriormente fue obtenido el clorhidrato en una mezcla acetona / éter etílico. C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>ClNO<sub>3</sub>; PM = 411.93 g/mol. 12BC·HCl pf=148-151 °C.

Datos espectroscópicos: <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 7.22-7.35 (5H, *m*, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>), 7.19 (2H, *d*, *J* = 7.9 Hz, H-10, H-14), 6.91 (2H, *d*, *J* = 7.9 Hz, H-11, H-13), 6.61 (1H, *s*, H-5), 6.57 (1H, *s*, H-8), 4.81 (2H, *s*, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>), 4.07 (1H, *m*, H-1), 3.87 (3H, *s*, 6-O-CH<sub>3</sub>), 3.12 (1H, *m*, H-α), 3.06 (1H, *m*, H-3), 2.71 (1H, *m*, H-α'), 2.61 (1H, *m*, H-4), 2.53 (1H, *m*, H-3'), 2.46 (1H, *m*, H-4'). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 159.3 (C-12), 153.7 (C-7), 149.9 (C-6), 142.3 (C-9), 141.8 (C-8a), 137.3 (C-10, C-14), 136.6, 131.3, 129.3, 128.7 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>), 131.7 (C-4a), 118.4 (C-5), 116.9 (C-11, C-13), 116.3 (C-8), 42.8 (C-α), 71.1 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>), 62.3 (C-1), 60.2 (O-CH<sub>3</sub>), 40.9 (C-3), 32.9 (C-4).

Los espectros de RMN fueron registrados a 300 MHz en un equipo Bruker AMX-300, usando  $\text{CDCl}_3$  como disolvente para las bases y  $\text{D}_2\text{O}$  para las sales. Los experimentos realizados para la elucidación estructural y análisis conformacional fueron principalmente espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  unidimensionales, DEPT y bidimensionales como COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  y heteronucleares HMBC y HMQC. La optimización de las geometrías fue realizada utilizando el método de cálculo semi-empírico AM1, disponible en el programa de cálculos HyperChem<sup>TM</sup> v. 6.01(hyperCube, Inc, 2000) y el barrido de la superficie de energía potencial (scan) con optimización total de la geometría, fue realizado en un Silicon Graphics Octane R10000 utilizando el método de cálculo semi-empírico AM1 contenido en el programa de cálculos Gaussian 98 revisión A.3 (Gaussian, Inc, 1998)

## **Protocolos para los estudios de desplazamiento de radioligandos y de actividad relajante vascular.**

### **Preparación de membranas.**

Ratas hembras Wistar, 180-200 g, fueron decapitadas y el cerebro rápidamente removido. La corteza cerebral fue homogeneizada en 10 volúmenes de tampón frío de Tris/sacarosa (Tris HCl 5mM, sacarosa 250 mM y EDTA 1mM; pH 7.5 a 25 °C) usando un triturador Ultra-Turrax<sup>®</sup> (3 x 15 s). El homogeneizado fue centrifugado por 10 min a 1000 x g, la pastilla fue descartada y el sobrenadante fue centrifugado a 50000 x g por 15 min a 4 °C. La pastilla final fue resuspendida en el tampón de ensayo (Tris HCl 50 mM, pH 7.5) y almacenado a -70 °C para su posterior utilización. Todo el procedimiento de preparación de las membranas fue realizado a 4 °C.

### **Estudios de unión de radioligandos.**

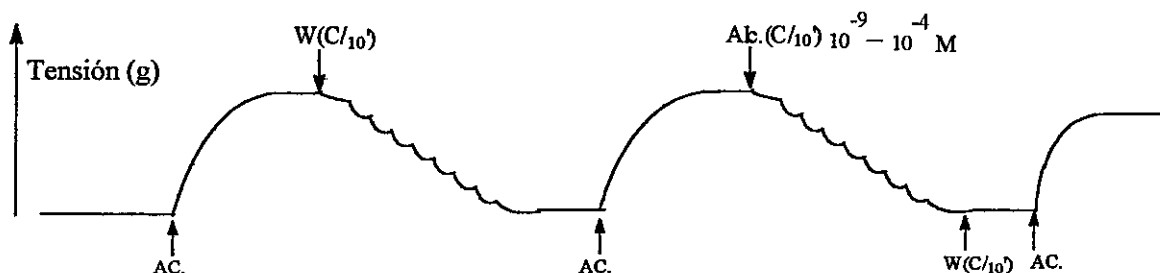
La unión de  $\{^3\text{H}\}$ -prazosin fue medida en muestras diluidas de membranas de corteza cerebral de rata. Las suspensiones de membranas fueron incubadas en un tampón de Tris 50 mM (pH 7.5) con  $\{^3\text{H}\}$ -prazosin (0.2 nM; actividad específica 20.3 Ci/mmol) y concentraciones de cada una de las sustancias a ensayar que variaron desde  $1 \times 10^{-9}$  hasta  $1 \times 10^{-3}$  M. El volumen de incubación fue de 1 mL (aprox. 250  $\mu\text{g}$  proteína/tubo). El tiempo de incubación fue de 45 min a 25 °C y la reacción de unión fue terminada por rápida filtración al vacío usando un "cell harvester" Brandel (M24R)<sup>®</sup> con un filtro de fibra de vidrio (Schleicher & Schuell, N° 30), humedecido con polietiliminina al 0.3 % por 5 min. La radioactividad unida al filtro fue determinada utilizando un contador de

centelleo de líquidos, colocando cada filtro en un frasco para medición de centelleo con 4 mL del líquido de centelleo. Los valores fueron corregidos respecto del control para la unión no específica, realizada con fentolamina 10  $\mu\text{M}$  frente al radioligando. El control de unión específico fue realizado solo con el radioligando. Las curvas de desplazamiento fueron analizadas por el programa de ajuste de curvas iterativo Prisma-GraphPad<sup>®</sup>, y las constantes de inhibición ( $K_i$ ) fueron calculadas a través de la fórmula de Cheng & Prusoff (1973). Para los estudios de unión de  $\{^3\text{H}\}$ -(+)-cis-diltiazem (actividad específica 154 Ci/mmol) se utilizó el mismo protocolo siendo la concentración de radioligando 3 nM y el tiempo de incubación de 2 h. El control de unión no específico fue realizado con (+)-cis-diltiazem 1 mM sin tritio frente al radioligando. Todos los experimentos fueron hechos por duplicado y se repitieron a lo menos tres veces.

### **Estudios funcionales.**

Anillos de aorta torácica (sin endotelio) extraídas de ratas Wistar hembras, 180-200 g, fueron preparadas y montadas tal como se describe por Furchgott & Zawadzki (1980). Cada una de las preparaciones fue suspendida en un baño de órganos de 10 mL que contenía una solución de Krebs-bicarbonato (NaCl 118.0 mM, KCl 4.7 mM,  $\text{CaCl}_2$  1.8 mM,  $\text{MgCl}_2$  1.2 mM,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.2 mM,  $\text{NaHCO}_3$  25.0 mM, glucosa 11.0 mM), mantenida a 37 °C y oxigenada con 95 %  $\text{O}_2$  – 5 %  $\text{CO}_2$ . Una tensión de 1 g fue aplicada a cada una de las preparaciones y mantenida por 30 min para alcanzar el equilibrio antes de la adición del agente contráctil (noradrenalina 1  $\mu\text{M}$  ó una solución despolarizante de KCl 80 mM; NaCl 42.75 mM, KCl 80.0 mM,  $\text{CaCl}_2$  1.8 mM,  $\text{MgCl}_2$  1.2 mM,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.2 mM,  $\text{NaHCO}_3$  25.0 mM, glucosa 11.0 mM). Tras la contracción del tejido, se realizó

lavados sucesivos con agua cada 10 min hasta recuperar la línea base de tensión (1 g). Una vez alcanzado el equilibrio una nueva contracción fue producida con la adición del agente contráctil, tras lo cual se adicionó dosis acumulativas de droga para alcanzar concentraciones entre  $1 \times 10^{-9}$  -  $1 \times 10^{-4}$  M del antagonista. La tensión se registró cada 10 min. momentos antes de la siguiente adición de droga, tiempo suficiente para alcanzar el equilibrio, los valores fueron corregidos a partir de la línea base y el máximo valor de tensión obtenido por el agente contráctil antes de la primera adición de droga. Para los estudios de relajación de contracciones inducidas por KCl se adicionó además fentolamina ( $10^{-5}$  M); de esta forma se elimina la posibilidad de una actividad adrenérgica en el tejido de la aorta. Las tensiones fueron grabadas usando un amplificador de señal MAC-LAB18e y un transductor MAC-LAB versión 3.4. Todos los experimentos fueron hechos por duplicado y se repitieron a lo menos tres veces.



Protocolo para estudios funcionales sobre aorta de rata: AC= agente contráctil (noradrenalina  $1 \mu\text{M}$  ó solución despolarizante de KCl  $80 \text{ mM}$ ); Alc = derivados de alcaloide, adicionado en dosis acumulativas desde  $1 \times 10^{-9}$  hasta  $1 \times 10^{-4}$ , C/10' = cada 10 min; W = agua, utilizada para lavar.



## RESULTADOS

### Síntesis y análisis conformacional de 1-bencil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas

Con el fin de estudiar la influencia del volumen del sustituyente sobre el átomo de nitrógeno en las conformaciones preferidas por las 1-bencil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas, se preparó norlaudanosina y su clorhidrato, laudanosina y los derivados *N*-alquilados; *N*-etilnorlaudanosina y *N*-*n*-propilnorlaudanosina. Norlaudanosina fue obtenida siguiendo el protocolo descrito por Pyman (1910), que permite obtener además pavina, de interés para otros estudios. La obtención de laudanosina se realizó a través de la reducción del yodometilato de papaverina con NaBH<sub>4</sub>. Para obtener los otros derivados *N*-alquilados de norlaudanosina se procedió a la *N*-alquilación directa con el correspondiente yoduro de alquilo en acetonitrilo utilizando como base NaHCO<sub>3</sub>, limitándose así la formación de productos secundarios de la reacción.

Se realizó un análisis conformacional preliminar a través de estudios de RMN de <sup>1</sup>H, para norlaudanosina y su clorhidrato, laudanosina, *N*-etilnorlaudanosina y *N*-*n*-propilnorlaudanosina. La protonación del nitrógeno y la presencia de sustituyentes mayores que hidrógeno sobre este átomo producen diferencias en los espectros de RMN de protones, principalmente en el comportamiento del metileno α, el metino, el protón del C-8 en el anillo aromático y el metoxilo del C-7. Estas diferencias son atribuidas a cambios conformacionales en la estructura de la benciltetrahidroisoquinolina, como se discute más adelante. En la tabla # 2 se muestran los desplazamientos químicos y las

constantes de acoplamiento de  $^1\text{H}$  para el clorhidrato, la base libre de norlaudanosina y las bases libres de sus derivados *N*-alquilados.

Tabla # 2: Desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento para norlaudanosina, su clorhidrato y derivados *N*-alquilados a partir de sus espectros de RMN- $^1\text{H}$ .

$^1\text{H}$ compuesto	clorhidrato <sup>a</sup> $\delta$ (ppm), $^3\text{J}$ (Hz)	base libre <sup>b</sup> $\delta$ (ppm), $^3\text{J}$ (Hz)	<i>N</i> -metil <sup>b</sup> $\delta$ (ppm), $^3\text{J}$ (Hz)	<i>N</i> -etil <sup>b</sup> $\delta$ (ppm), $^3\text{J}$ (Hz)	<i>N</i> - <i>n</i> -propil <sup>b</sup> $\delta$ (ppm), $^3\text{J}$ (Hz)
H-8	6.40	6.62	6.07	6.00	6.03
H-1	4.74 (7.2)	4.16 (9.2 ; 4.4)	3.69 (7.6; 5.0)	3.83 (7.9; 5.3)	3.78 (7.6; 5.6)
H- $\alpha$	3.27 (14.0; 7.4)	3.19 (13.7; 4.4)	3.14 (13.6; 5.0)	3.09 (13.4; 5.3)	3.10 (13.4; 5.7)
H- $\alpha'$	3.21 (14.0; 7.4)	2.88 (13.7; 9.2)	2.78 (13.6; 7.6)	2.74 (13.4; 7.9)	2.75 (13.4; 7.6)
O-Me	3.64	3.86	3.58	3.56	3.58
	3.78	3.88	3.78	3.78	3.80
	3.86	3.88	3.84	3.83	3.83
	3.87	3.90	3.85	3.84	3.85

Notas: a) el espectro de la sal fue registrado en  $\text{D}_2\text{O}$ ; b) los espectros de todas las bases libres fueron registrados en  $\text{CDCl}_3$ . Todas las asignaciones de desplazamientos químicos y los acoplamientos fueron confirmados por experimentos de COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ . Solo se presentan los datos de los protones que muestran mayores diferencias y que son útiles para la discusión conformacional.

Se realizó una comparación más exhaustiva de los espectros de RMN- $^1\text{H}$  de la base libre y el clorhidrato de norlaudanosina, donde se puede apreciar que la protonación del nitrógeno produce cambios en los desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento de los protones metilénicos del anillo tetrahidropiridínico que se observan fácilmente. La tabla # 3 permite comparar el comportamiento magnético de estos protones en la base libre y en la sal.

**Tabla # 3: Comparación de los espectros de RMN  $^1\text{H}$  de norlaudanosina y su clorhidrato.<sup>a</sup>**

$^1\text{H}$	base libre ( $\text{CDCl}_3$ )		clorhidrato ( $\text{D}_2\text{O}$ )	
	$\delta$ (ppm)	$^3\text{J}$ (Hz)	$\delta$ (ppm)	$^3\text{J}$ (Hz)
H-5	s, 6.69		s, 6.92	
H-8	s, 6.62		s, 6.40	
H-10	d, 6.78 (1.4)		s, 6.78 (1.5)	
H-13	d, 6.86 (8.1)		d, 7.02 (8.2)	
H-14	dd, 6.82 (8.1; 1.4)		dd, 6.86 (8.2; 1.6)	
H-1	dd, 4.16 (9.2; 4.4)		t, 4.7 (7.2)	
H- $\alpha$	dd, 3.19 (13.7; 4.4)		dd, 3.27 (14.0; 7.4)	
H- $\alpha'$	dd, 2.88 (13.7; 9.2)		dd, 3.21 (14.0; 7.4)	
H-3	dd, 3.24 (12.6; 5.5)		dd, 3.56 (13.2; 6.5)	
H-3'	ddd, 2.94 (5.3; 12.6; 5.3)		dd, 3.45 (12.7; 6.5)	
H-4 <sup>b</sup>	dd, 2.80 (16.3; 5.5)		t, 3.0 (6.3)	
H-4 <sup>sb</sup>	ddd, 2.70 (15.7; 5.3; 5.5)			
O-Me	s, 3.90		s, 3.87	
	s, 3.88		s, 3.86	
	s, 3.88		s, 3.78	
	s, 3.86		s, 3.64	

Nota: a) Todas las asignaciones de los desplazamientos químicos y los acoplamientos fueron confirmadas por experimentos de COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ . b) Las señales de H-4 en el espectro del clorhidrato no son distinguibles.

Los derivados de coclaurina, con o sin sustituyentes bencilo o metilo en los oxígenos fenólicos de las posiciones C-7 y C-12, con o sin grupos metilo, etilo o n-propilo en el nitrógeno, que fueron preparados utilizando la metodología de síntesis descrita por Teitel & Brossi (1968) y posterior *N*-alquilación empleando el método desarrollado en esta tesis aparecen resumidos en la tabla # 4, donde  $\text{R}_7$ ,  $\text{R}_{12}$  y  $\text{R}_\text{N}$  representan los sustituyentes mencionados en sus posiciones respectivas.

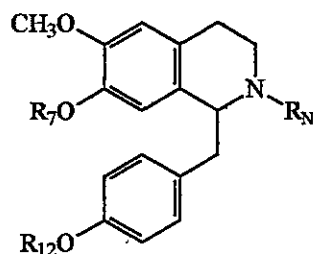


Tabla # 4: Derivados de coclaurina preparados utilizando la metodología de Teitel & Bossi y *N*-alquilando los productos iniciales.

Derivados de coclaurina	R <sub>7</sub>	R <sub>12</sub>	R <sub>N</sub>
Coclaurina (C)	H	H	H
<i>N</i> -metilcoclaurina (CM)	H	H	CH <sub>3</sub>
<i>N</i> -etilcoclaurina (CE)	H	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
7- <i>O</i> -metilcoclaurina (norarmepavina) (7MC)	CH <sub>3</sub>	H	H
<i>N</i> ,7-di- <i>O</i> -metilcoclaurina (armepavina) (7MCM)	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>
7- <i>O</i> -metil- <i>N</i> -etilcoclaurina (7MCE)	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
12- <i>O</i> -metilnorarmepavina (MMC)	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H
12- <i>O</i> -metilarmepavina (MMCM)	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
12- <i>O</i> -metilcoclaurina (12MC)	H	CH <sub>3</sub>	H
<i>N</i> ,12- <i>O</i> -dimetilcoclaurina (12MCM)	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
7,12-di- <i>O</i> -bencilcoclaurina (BBC)	Bn	Bn	H
7,12-di- <i>O</i> -bencil- <i>N</i> -metilcoclaurina (BBCM)	Bn	Bn	CH <sub>3</sub>
7,12-di- <i>O</i> -bencil- <i>N</i> -etilcoclaurina (BBCE)	Bn	Bn	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
7,12-di- <i>O</i> -bencil- <i>N</i> -propilcoclaurina (BBCP)	Bn	Bn	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
7- <i>O</i> -bencilcoclaurina (7BC)	Bn	H	H
7- <i>O</i> -bencil- <i>N</i> -metilcoclaurina (7BCM)	Bn	H	CH <sub>3</sub>
7- <i>O</i> -bencil- <i>N</i> -etilcoclaurina (7BCE)	Bn	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
7- <i>O</i> -bencil-12- <i>O</i> -metilcoclaurina (7B12MC)	Bn	CH <sub>3</sub>	H
7- <i>O</i> -bencil- <i>N</i> ,12- <i>O</i> -dimetilcoclaurina (7B12MCM)	Bn	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
12- <i>O</i> -bencilcoclaurina (12BC)	H	Bn	H

Bn  $\equiv$  C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>-

Un resultado interesante en el análisis estructural y conformacional hecho por RMN-<sup>1</sup>H de los derivados bencilados de coclaurina fue el hecho que los protones del metileno bencílico unido al oxígeno del C-7 pierden su equivalencia magnética, generando dos dobletes, cuando se produce la sustitución del nitrógeno por residuos alquilo. Se puede observar que los protones metilénicos del bencilo unido al oxígeno del C-12 no son afectados por la sustitución del nitrógeno, manteniéndose su equivalencia magnética. Los resultados se muestran en la tabla # 5, y se discuten en la sección correspondiente.

Tabla # 5: Desplazamiento químico y constantes de acoplamiento geminal para los protones del metileno bencílico unido al oxígeno del C-7 de los derivados mono- y dibencilados de coclaurina.

Producto	$\delta$ , ppm (multiplicidad)	<sup>3</sup> J (Hz)
7-O-bencilcoclaurina	5.12 (s)	
N-metil derivado	4.75 (dd)	12.3
N-etil derivado	4.81 (dd)	11.9
7,12-di-O-bencilcoclaurina	4.77 (s); 5.09 (s)	
N-metil derivado	4.75 (dd); 4.96 (s)	12.1
N-etil derivado	4.81 (dd); 4.93 (s)	12.0
N-n-propil derivado	4.77 (dd); 4.86 (s)	12.6

De igual manera, como se observó para los derivados N-alquilados de norlaudanosina en lo relativo al cambio de desplazamiento químico de los protones H-8 y H-1 respecto de aquellos en el compuesto sin sustituyente en el nitrógeno, este comportamiento magnético se mantiene en todos los derivados de coclaurina que fueron sintetizados. Los detalles de estos desplazamientos se muestran en la tabla # 6.

**Tabla # 6: Desplazamientos químicos ( $\delta$ , ppm) para los protones H-8 y H-1 de todos los derivados de coclaurina sintetizados.**

<b>DERIVADOS DE COCLAURINA</b>		$\delta_{H-8}$	$\delta_{H-1}$
Coclaurina	(C)	6.60	3.92
<i>N</i> -metilcoclaurina	(CM)	6.01	3.75
<i>N</i> -etilcoclaurina	(CE)	6.07	3.78
7- <i>O</i> -metilcoclaurina (norarmepavina)	(7MC)	6.52	4.15
<i>N</i> ,7-di- <i>O</i> -metilcoclaurina (armepavina)	(7MCM)	6.12	3.81
7- <i>O</i> -metil- <i>N</i> -etilcoclaurina	(7MCE)	5.95	3.84
12- <i>O</i> -metilnorarmepavina	(MMC)	6.52	3.99
12- <i>O</i> -metilarmepavina	(MMCM)	6.05	3.59
12- <i>O</i> -metilcoclaurina	(12MC)	6.55	4.09
<i>N</i> ,12- <i>O</i> -dimetilcoclaurina	(12MCM)	6.07	3.58
7,12-di- <i>O</i> -bencilcoclaurina	(BBC)	6.60	4.05
7,12-di- <i>O</i> -bencil- <i>N</i> -metilcoclaurina	(BBCM)	6.04	3.59
7,12-di- <i>O</i> -bencil- <i>N</i> -etilcoclaurina	(BBCE)	6.09	3.70
7,12-di- <i>O</i> -bencil- <i>N</i> -propilcoclaurina	(BBCP)	6.01	3.68
7- <i>O</i> -bencilcoclaurina	(7BC)	6.62	4.09
7- <i>O</i> -bencil- <i>N</i> -metilcoclaurina	(7BCM)	6.08	3.71
7- <i>O</i> -bencil- <i>N</i> -etilcoclaurina	(7BCE)	6.06	3.89
7- <i>O</i> -bencil-12- <i>O</i> -metilcoclaurina	(7B12MC)	6.53	4.01
7- <i>O</i> -bencil- <i>N</i> ,12- <i>O</i> -dimetilcoclaurina	(7B12MCM)	6.08	3.75
12- <i>O</i> -bencilcoclaurina	(12BC)	6.57	4.07

Bn  $\equiv$  C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>-

## Cálculos de barreras de energía rotacional para la 1-benciltetrahydroisoquinolina y la *N*-metil-1-benciltetrahydroisoquinolina

El diagrama de energías relativas versus la variación del ángulo diedro formado por los átomos H- $\alpha$ /C- $\alpha$ /C-1/C-8a para la 1-benciltetrahydroisoquinolina y el diagrama de energías relativas para la *N*-metil, *N*-etil y *N*-propil -1-benciltetrahydroisoquinolina con variación del mismo ángulo diedro H- $\alpha$ /C- $\alpha$ /C-1/C-8a. se muestra en la figura # 16.

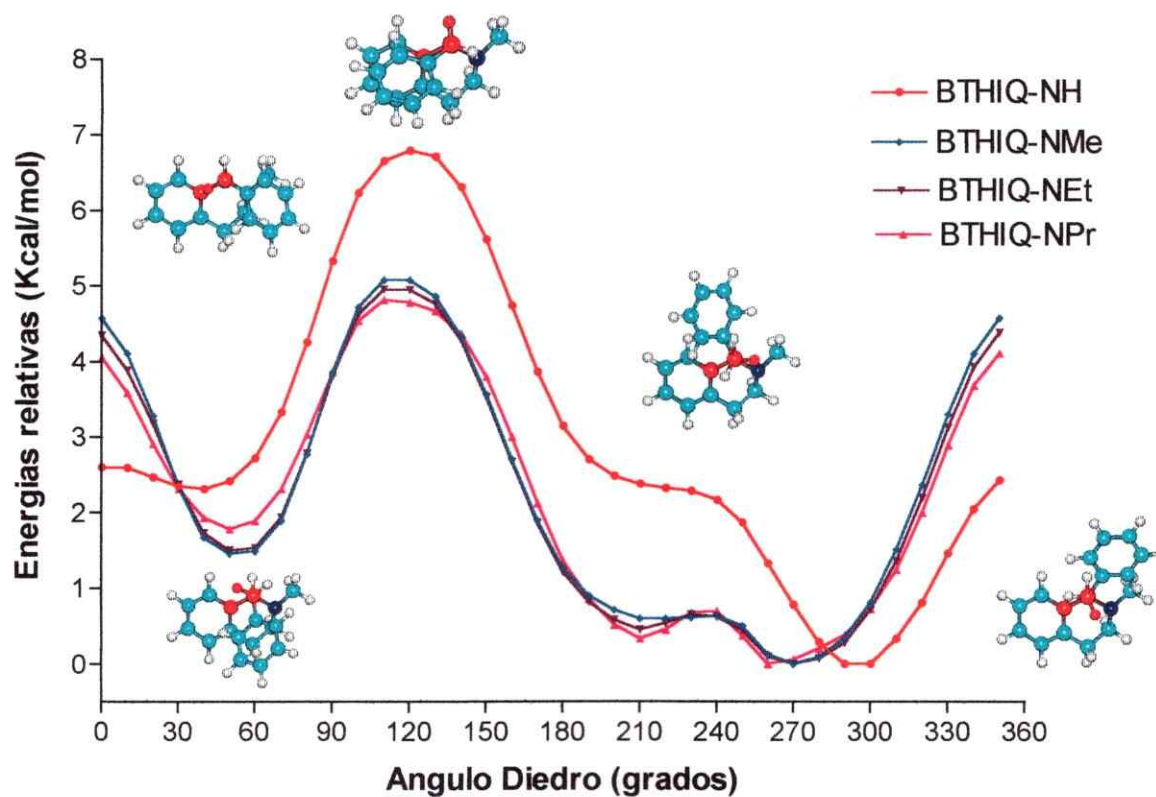


Figura #16.- Energías conformacionales relativas versus la variación del ángulo diedro la variación del ángulo diedro formado por H- $\alpha$ /C- $\alpha$ /C-1/C-8a, fue realizada cada 10° grados, optimizando totalmente la geometría en cada ángulo.

Se puede observar a través de los diagramas que a pesar de que en todas las estructuras la conformación "extendida" es la más estable, en la *N*-metil, *N*-etil y *N*-propil-1-bencil tetrahydroisoquinolina las conformaciones "semi-plegadas" tienen energías menores que estas mismas en la estructura sin *N*-alquilo. Del mismo modo se puede observar una menor energía para la conformación totalmente "plegada" en las *N*-alquil-1-bencil tetrahydroisoquinolina respecto de aquella sin grupos *N*-alquilo, aunque la conformación "semi-extendida" donde el anillo bencílico enfrenta de manera eclipsada (*cis*) al nitrógeno sustituido es de mayor energía en esta última.

#### **Estudios de desplazamiento de radioligandos en membranas de corteza cerebral y ensayos de relajación muscular en aorta aislada de rata.**

Las gráficas obtenidas en los experimentos de desplazamiento de la unión específica de  $\{^3\text{H}\}$ -prazosin, un radioligando que se une a los receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos (curvas concentración-respuesta), para los análogos *O*-metilados de coclaurina, se muestran en la figura # 17. En la figura # 18, se muestran las curvas concentración-respuesta obtenidas de los experimentos de desplazamiento de la unión específica de  $\{^3\text{H}\}$ -prazosin, para los análogos *O*-bencilados de coclaurina. Estos resultados se detallan en la tabla # 7.



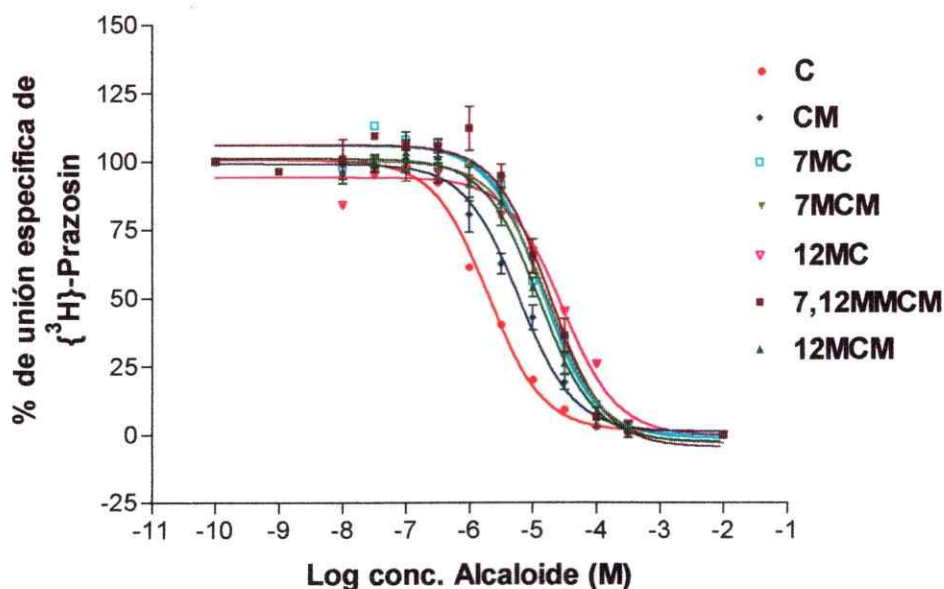


Figura # 17.- Curvas de desplazamiento de la unión específica de  $\{^3\text{H}\}$ -prazosin (curvas concentración-respuesta) en homogeneizado de corteza de cerebro de rata para los derivados metilados de coclaurina. Cada uno de los puntos representa el promedio de los resultados alcanzados por entre 3 a 5 experimentos.

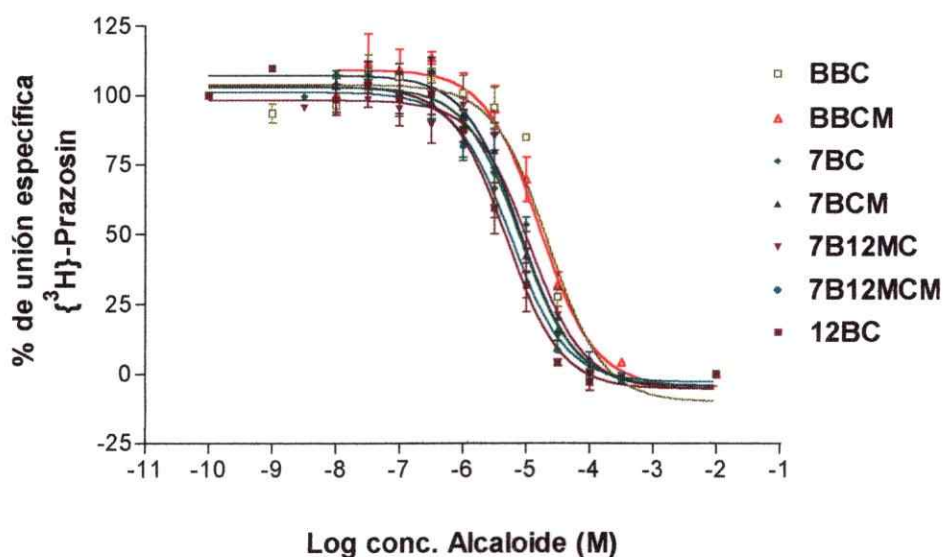


Figura # 18.- Curvas de desplazamiento de la unión específica de  $\{^3\text{H}\}$ -prazosin. (curvas concentración-respuesta) en homogeneizado de corteza de cerebro de rata para los derivados bencilados de coclaurina. Cada uno de los puntos representa el promedio de los resultados alcanzados por entre 3 a 5 experimentos.

**Tabla # 7.- Desplazamiento de  $\{^3\text{H}\}$ -prazosin por coclaurina y sus derivados.**

Producto	IC <sub>50</sub> (μM)	K <sub>i</sub> (μM)	pK <sub>i</sub> (μM)	Pendiente
C	2.15±0.34	1.07±0.16	5.97±0.12	0.83±0.05
CM	5.77±0.98	2.38±0.40	5.63±0.07	0.89±0.09
CE	10.2±2.26	5.13±0.93	5.29±0.07	1.03±0.09
7MC	14.2±0.95	5.84±0.46	5.23±0.12	1.06±0.16
7MCM	17.7±1.44	7.28±0.58	5.14±0.03	1.18±0.09
7MCE	21.2±4.80	8.74±1.95	5.07±0.09	0.91±0.08
MMCM	19.5±3.15	7.91±1.29	5.10±0.07	1.22±0.13
12MC	28.7±1.48	11.8±1.16	4.92±0.08	0.87±0.12
12MCM	12.8±3.40	5.28±1.40	5.29±0.12	1.17±0.13
BBC	21.2±0.23	9.71±0.90	5.02±0.04	2.23±0.32
BBCM	17.6±2.89	7.99±1.72	5.12±0.09	1.66±0.37
BBCP	21.8±0.54	8.98±0.19	5.05±0.01	1.59±0.34
7BC	7.96±1.35	3.27±0.55	5.49±0.07	0.93±0.09
7BCM	7.87±0.94	3.24±0.38	5.49±0.05	1.23±0.01
7B12MC	11.2±1.43	4.61±0.59	5.34±0.06	1.44±0.13
7B12MCM	5.7±0.92	1.84±0.12	5.73±0.03	1.97±0.92
12BC	5.4±1.79	2.16±0.75	5.69±0.16	1.29±0.06
Tetrandrina*		0.69±0.12	6.16	

\* = Catret y col. 1998.

Se puede observar que la coclaurina presenta la mayor afinidad por el receptor  $\alpha_1$ -adrenérgico y que la presencia de sustituyentes metilo sobre los oxígenos y alquilo sobre el nitrógeno produce una disminución de la afinidad por el receptor  $\alpha_1$ -adrenérgico. Las pendientes de Hill en la mayoría de los alcaloides *N*- y *O*-metilados ensayados no se alejan considerablemente de uno, mientras que en algunos de los derivados bencilados se alcanzan pendientes cercanas a dos.

Se puede observar que la presencia de un sustituyente benciloxi en el esqueleto de la coclaurina se relaciona con una afinidad solo un poco menor a las que presentan la coclaurina o la tetrandrina por el receptor  $\alpha_1$ -adrenérgico, aunque la presencia de dos sustituyentes bencilo conduce a una pérdida mayor de la afinidad.

Las curvas concentración-respuesta para el desplazamiento de la unión específica de  $\{^3\text{H}\}$ -diltiazem, un radioligando selectivo que se une al sitio benzotiecepínico en el canal de calcio de tipo-L, para los derivados *O*-metilados de coclaurina, se muestran en la figura # 19. Del mismo modo las curvas concentración-respuesta para el desplazamiento de la unión específica de  $\{^3\text{H}\}$ -diltiazem, para los derivados *O*-bencilados, se muestran en la figura # 20. Los resultados de estos experimentos se detallan en la tabla # 8.

Tabla # 8: Desplazamiento de  $\{^3\text{H}\}$ -diltiazem por coclaurina y sus derivados.

Producto	IC <sub>50</sub> (μM)	K <sub>i</sub> (μM)	pK <sub>i</sub> (μM)	pendiente
<b>C</b>	≈30 %			
<b>CM</b>	26.1±4.41	24.6±4.18	4.64±0.08	0.79±0.36
<b>CE</b>	14.6±2.97	14.5±2.18	4.86±0.58	1.43±0.45
<b>7MCM</b>	10.1±1.20	9.53±1.15	5.02±0.05	1.31±0.49
<b>7MCE</b>	32.3±2.80	30.5±2.62	4.51±0.04	0.92±0.28
<b>MMCM</b>	4.39±0.50	4.15±0.47	5.38±0.05	0.42±0.05
<b>12MCM</b>	13.5±2.35	12.7±2.25	4.90±0.08	1.02±0.07
<b>BBCM</b>	2.21±0.83	2.09±0.78	5.74±0.11	0.55±0.19
<b>BBCP</b>	1.90±0.78	1.79±0.66	5.75±0.22	0.44±0.12
<b>7BCM</b>	2.14±0.78	2.02±0.74	5.70±0.25	0.65±0.13
<b>7B12MCM</b>	1.60±0.37	1.51±0.35	5.82±0.10	0.57±0.26
<b>12BC</b>	2.82±1.70	2.71±1.55	5.57±0.28	0.80±0.15
<b>Tetrandrina</b>	0.77±0.29	0.73±0.27	6.13±0.22	0.82±0.14

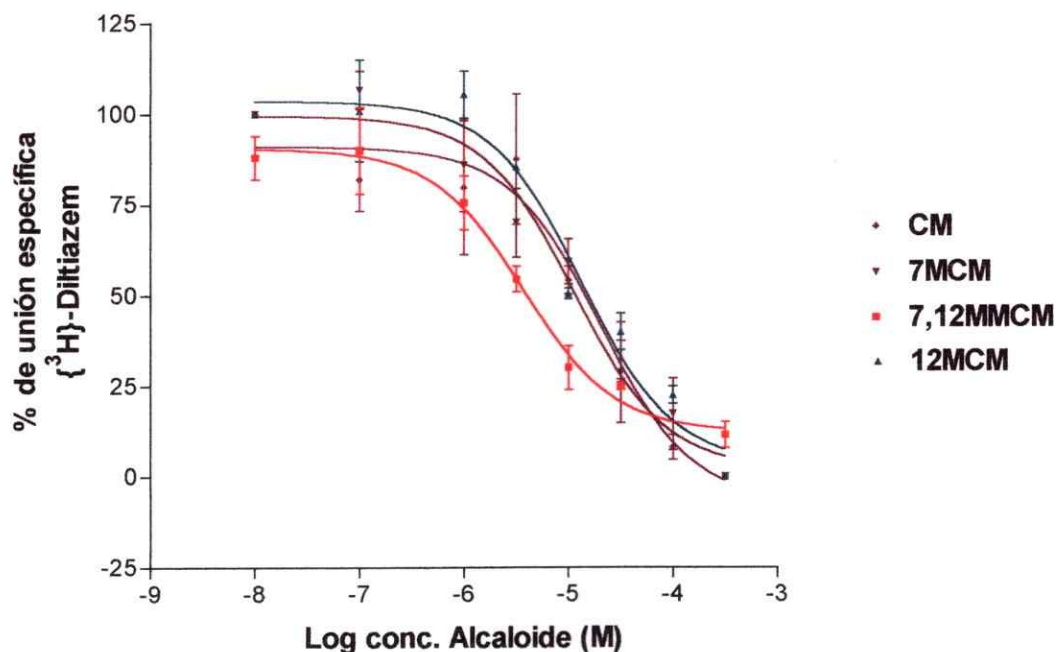


Figura # 19.- Curvas de desplazamiento de la unión específica de  $\{^3\text{H}\}$ -diltiazem. (curvas concentración-respuesta) en homogeneizado de corteza de cerebro de rata para los derivados metilados de coclaurina. Cada uno de los puntos representa el promedio de los resultados alcanzados por entre 3 y 5 experimentos.

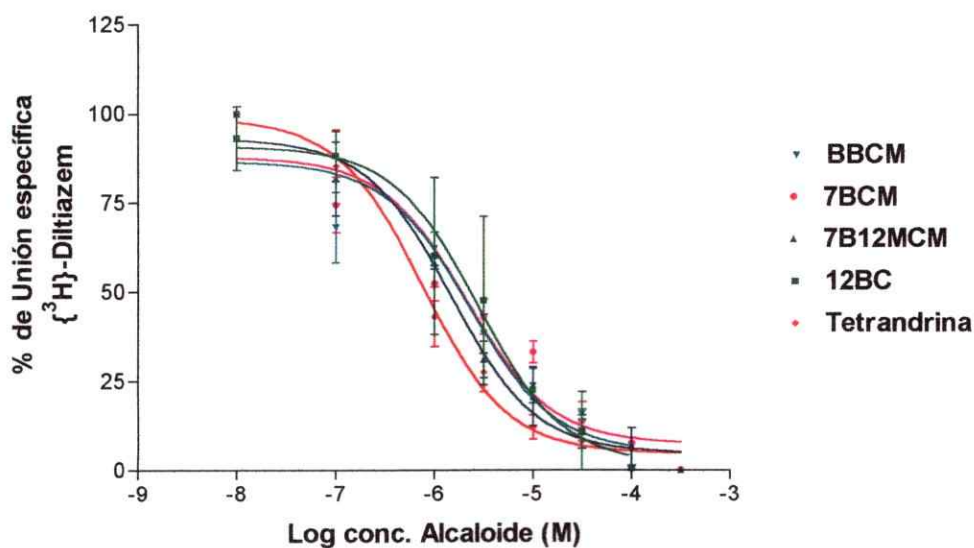


Figura # 20.- Curvas de desplazamiento de la unión específica de  $\{^3\text{H}\}$ -diltiazem. (curvas concentración-respuesta) en homogeneizado de corteza de cerebro de rata para los derivados bencilados de coclaurina. Cada uno de los puntos representa el promedio de los resultados alcanzados por entre 3 y 5 experimentos.

Se observa que el derivado totalmente *N*- y *O*-metilado presenta la mayor afinidad por el canal de calcio con respecto a la coclaurina, mientras que la presencia de hidroxilos fenólicos en la molécula se relaciona con afinidades menores. Para los derivados dibencilados de coclaurina, estos presentan una afinidad un poco menor que la tetrandrina.

Los resultados de actividad relajante muscular en aorta contraída con noradrenalina o con KCl se muestran en las tablas # 9 y 10, respectivamente.

Tabla # 9: Estudios funcionales sobre aorta de rata contraída con NA.

<b>Producto</b>	<b>IC<sub>50</sub> (μM)</b>	<b>pIC<sub>50</sub> (μM)</b>	<b>Pendiente</b>
<b>C</b>	17.5±3.12	4.76±0.09	0.94±0.08
<b>CM</b>	24.3±6.53	4.61±0.14	0.93±0.08
<b>7MCM</b>	207.2±55.4	3.68±0.13	0.88±0.11
<b>12MCM</b>	25.2±7.97	4.60±0.22	0.91±0.05
<b>MMCM</b>	65.6±6.98	4.18±0.13	1.18±0.15
<b>7BCM</b>	8.66±3.016	5.06±0.21	1.04±0.13
<b>7B12MCM</b>	4.28±0.98	5.37±0.12	1.11±0.05
<b>Tetrandrina*</b>	29.54±0.60	4.53	

\* = Catret y col. 1998.

Tabla # 10: Estudios funcionales sobre aorta de rata contraída con KCl.

Producto	IC <sub>50</sub> (μM)	pIC <sub>50</sub> (μM)	Pendiente
C	≈ 30%		
CM	67.31±18.94	4.17±0.20	0.63±0.33
7MCM	114.6±17.48	3.94±0.07	0.53±0.06
12MCM	72.23±9.65	4.14±0.06	1.54±0.11
MMCM	14.82±2.43	4.83±0.07	1.58±0.08
7BCM	5.74±2.34	5.24±0.16	0.78±0.14
7B12MCM	11.35±3.87	4.94±0.15	1.16±0.10
Tetrandrina*	13.58±2.1	4.87	

\* = Catret y col. 1998.

Los datos muestran la misma tendencia que los experimentos de desplazamiento de radioligandos, donde coclaurina es el compuesto que presenta la mejor actividad antagonista adrenérgica dentro de la serie de análogos *O*-metilados y el derivado totalmente metilado (MMCM) es el que presenta la mejor actividad relajante muscular sobre aorta contraída con KCl. En los derivados bencilados el comportamiento fue similar al observado para la tetrandrina, relajando aorta de rata contraída tanto por noradrenalina como por KCl, con potencias relativamente similares.

## DISCUSIÓN

### Síntesis, análisis estructural y estudio conformacional de 1-bencil-1,2,3,4-tetrahidrobencilisoquinolinas

Los estudios químicos realizados sobre los derivados *N*-alquilados de norlaudanosina fueron enfocados en dos direcciones específicas. La primera guardó relación con la optimización de un método de alquilación directa del nitrógeno tetrahidropiridínico de las 1-bencil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas. La segunda se ocupó del cambio conformacional que afecta la estructura de la 1-bencil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina cuando se adiciona un sustituyente alquílico de tamaño creciente en el nitrógeno.

En relación a la alquilación directa del nitrógeno secundario de la norlaudanosina, conviene recordar que en las aminas secundarias simples existe una fuerte tendencia a la dialquilación con formación de sales cuaternarias. Sin embargo, pensando que el entorno estérico del nitrógeno de las BTHIQ's podría permitir una monoalquilación controlada, se realizaron varios ensayos con yoduros de alquilo en distintos solventes. Se pudo determinar así que los solventes polares próticos como metanol y etanol favorecen las reacciones secundarias de formación de la sal cuaternaria de dialquil amonio y de apertura de anillo a través de una eliminación de Hofmann. La utilización de acetonitrilo, un solvente ligeramente más polar que el metanol pero aprótico, disminuye considerablemente la formación de estos productos secundarios de la reacción. Se pudo

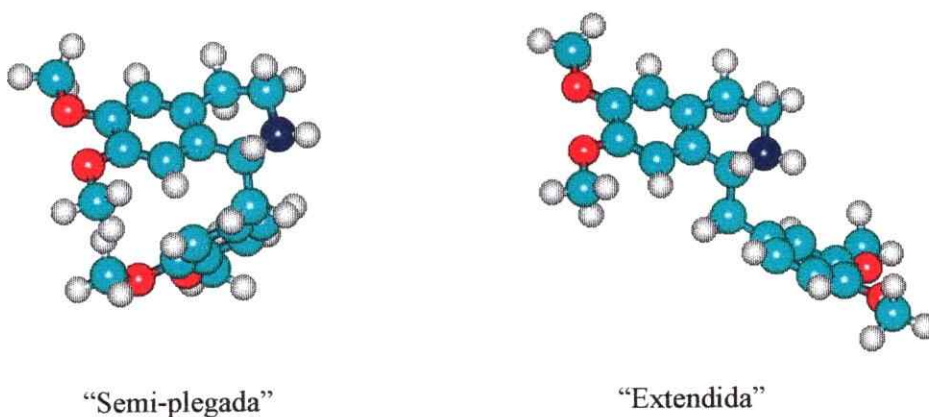
constatar además que los solventes próticos, aún en la presencia de una atmósfera inerte como el nitrógeno, favorecen la descomposición paulatina del yoduro de alquilo, mientras que el acetonitrilo no da muestras de tal descomposición. Por otro lado, para la misma reacción en acetonitrilo se pudo determinar que la utilización de bases relativamente fuertes tales como hidróxido de potasio (KOH) y carbonato de potasio ( $K_2CO_3$ ) favorece, de acuerdo con lo esperado, la formación de los productos secundarios y aumenta la velocidad de aparición de éstos. Cuando se utiliza bicarbonato de sodio ( $NaHCO_3$ ), una base mas débil, a pesar de que conduce a una velocidad de reacción menor, es posible eliminar casi completamente la formación de estos productos no deseados. De esta manera es posible preparar derivados *N*-alquilados de norlaudanosina con muy buenos rendimientos, cercanos al 90%, utilizando un procedimiento muy sencillo. El método de *N*-alquilación desarrollado para los derivados de norlaudanosina dio buenos resultados también con la coclaurina y sus análogos eterificados con grupos metilo o bencilo, por lo que se puede pensar que su utilidad es general en el campo de la BTHIQ's. Hay que señalar, sin embargo, que para la preparación de los análogos *N*-metilados se optó por una variante de la *N*-metilación de Eschweiler-Clarke, ya que la metilación directa en presencia de base, eficaz en el caso de los grupo alquilo superiores, conduce al producto de eliminación de Hofmann en un alto porcentaje. Esto se puede atribuir a la elevada reactividad que presentaría el yoduro de metilo frente a aminas terciarias como las *N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas, formadas en una primera etapa. Se puede postular que las 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas *N*-etiladas o sustituidas en el nitrógeno con grupos más voluminosos sólo reaccionan muy lentamente con halogenuros de alquilo como el yoduro de etilo y sus análogos superiores.



Los estudios conformacionales realizados para las norlaudanosinas *N*-alquiladas fueron emprendidos en base a la antigua observación de que la presencia de un grupo metilo sobre el nitrógeno produciría cambios en la conformación de las 1-bencil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas, a juzgar por sus espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , en los cuales se había observado un pronunciado apantallamiento del protón del C-8, cuya resonancia se ve desplazada a campos más altos (Dalton & col., 1965). En el presente trabajo de tesis las comparaciones fueron inicialmente realizadas para la base libre y el clorhidrato de la norlaudanosina y posteriormente se analizaron los productos *N*-alquilados de norlaudanosina, de coclaurina y de sus derivados *O*-metilados y *O*-bencilados por RMN de  $^1\text{H}$ .

El análisis de los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  de la norlaudanosina y su clorhidrato sugiere que la conformación de la molécula puede ser afectada por la presencia tan solo de un protón adicional sobre el nitrógeno. Los desplazamientos químicos del H-8 y del C-7-OCH<sub>3</sub> en la base libre (6.62 y 3.86 ppm, respectivamente) sufren un cambio, apareciendo a campos más altos (6.40 y 3.64 ppm, respectivamente) en la sal, como se puede observar en la tabla # 3. Esto permite proponer un ligero apantallamiento debido al efecto anisotrópico del anillo bencílico que, en promedio, estaría enfrentando estos átomos con mayor frecuencia que en la base libre. Aunque este efecto conformacional podría deberse sólo a la protonación del par de electrones del nitrógeno, es necesario considerar la solvatación del entorno del catión por el óxido de deuterio (D<sub>2</sub>O), que tendería a repeler el grupo bencilo del C-1 hacia el otro anillo aromático. Por último, no se puede despreciar la posible influencia de un contraión voluminoso, también solvatado, en la proximidad del catión amonio sustituido.

En la sal, en  $D_2O$ , las constantes de acoplamiento vecinales ( $^3J$ ) entre los protones H-1, H- $\alpha$  y H- $\alpha'$  son de igual magnitud (7.4 Hz), por lo cual ambos protones metilénicos deberían estar formando iguales ángulos diedros con el protón H-1 en la conformación promedio. Por el contrario, la base libre (en  $CDCl_3$ ) muestra un sistema vecinal con acoplamientos de diferentes magnitudes (9.2 Hz, 4.4 Hz) como se ve en la tabla # 3. Estas observaciones están de acuerdo con lo esperado considerando que las conformaciones “semi-plegadas” serían más estables en el clorhidrato.

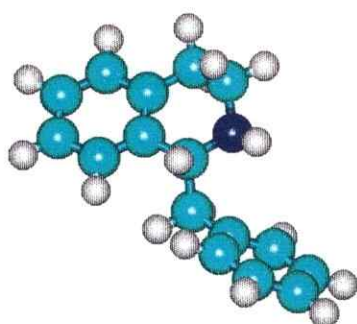


Figuras obtenidas utilizando el programa HyperChem™ v. 6.01(Hypercube, Inc. 2000) con optimización de geometría utilizando el método de optimización semi-empírico AM1.

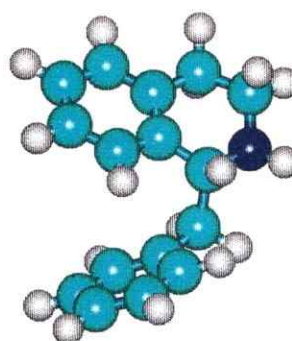
Los resultados del análisis por RMN de  $^1H$  de los derivados *N*-alquilados de norlaudanosina indican, de acuerdo con la discusión anterior, que la introducción de un grupo alquilo sobre el nitrógeno desplaza más intensamente el equilibrio conformacional de la norlaudanosina hacia el predominio de formas plegadas que la mera protonación del nitrógeno. Esto se puede observar por el sostenido apantallamiento del protón H-8, que en los derivados *N*-metil-, *N*-etil- y *N*-*n*-propilnorlaudanosina aparece con un desplazamiento químico de  $\approx 6.0$  ppm, mientras que en la norlaudanosina misma este

protón aparece a 6.62 ppm y en su clorhidrato a 6.40 ppm. Esto indica que, en promedio, el anillo aromático del bencilo unido al C-1 está más cerca del protón H-8 en los derivados *N*-alquilados que en la base libre y en el clorhidrato de la norlaudanosina. El metoxilo en C-7 en todos los derivados *N*-alquilados también presenta un sostenido apantallamiento, lo cual se puede observar por un desplazamiento de su resonancia a campos cercanos a 3.6 ppm, mientras que el mismo metoxilo aparece con un desplazamiento químico de 3.86 ppm para la base libre y de 3.64 ppm para el clorhidrato de norlaudanosina. Estos resultados, que se muestran en la tabla # 2, indican que las conformaciones predominantes serían del tipo "semi-plegadas" en los derivados *N*-alquilados. En estos compuestos los apantallamientos observados están de acuerdo con el predominio de conformaciones en los cuales tanto el H-8 como el metoxilo del C-7 están enfrentados al anillo bencilico, y apantallados por el efecto anisotrópico del mismo, mientras que la conformación "extendida", con desplazamientos químicos normales para todos los protones unidos directamente a anillos aromáticos y para los protones de metoxilos también unidos a anillos aromáticos, sería la predominante para la base libre de la norlaudanosina. Estos resultados están en acuerdo con los cálculos teóricos donde se puede observar una menor diferencia de energía entre la conformación "extendida", más estable, y las conformaciones "semi-plegadas" en la *N*-metil-1-bencil tetrahydroisoquinolina con respecto a la estructura sin el *N*-metilo, considerando que los cálculos son realizados en el vacío, se podría esperar que interacciones con el solvente y el efecto de la protonación del nitrógeno produzcan una disminución de la energía conformacional favoreciendo la estabilidad del conformero "semi-plegado" respecto de la conformación "extendida".

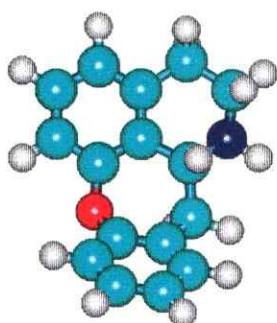
Estudios cristalográficos y de RMN realizados para la base libre de la armepavina (una 1-bencil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina *N*-metilada) confirman la observación de que la sustitución del nitrógeno está asociada con una conformación de tipo “plegada”, tanto en la fase cristalina como en solución (Marek *y col*, 1997). Aunque estas conformaciones “plegadas” han sido descritas como “aporphine-like”, hay que señalar que en rigor una conformación semejante a la de las aporfinas estaría estéricamente impedida, como se menciona anteriormente, debido a la repulsión entre el H-8 del anillo tetrahidroisoquinolínico y los H-2'/6' del bencilo en C-1. Este último estaría enfrentando al H-8 en vez de adoptar una disposición lateral, como ocurre en las aporfinas donde la presencia de una unión bifenilo obliga a una conformación determinada. Lo mismo vale para las cularinas, cuya farmacología es comparable a la de las aporfinas, y en las cuales la conformación está fijada por un puente de oxígeno entre el C-8 y el C-2' de la BTHIQ.



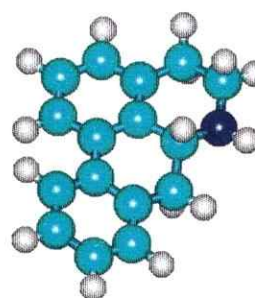
"BTHIQ Extendida"



"BTHIQ Plegada"



"Cularina"



"Aporfina"

Figuras obtenidas utilizando el programa HyperChem™ v. 6.01 (Hypercube, Inc. 2000) con optimización de geometría utilizando el método de optimización semi-empírico AM1.

Una observación interesante fue el apantallamiento diferencial del H-1 como consecuencia de la diversa sustitución del nitrógeno: el grupo metilo ejerce un mayor apantallamiento del H-1 (3.69 ppm) que el etilo o el *n*-propilo (3.83 y 3.78 ppm, respectivamente y mucho mayor que el hidrógeno 4.16 ppm) (tabla # 2). Esto se puede atribuir al hecho ya conocido de que el grupo metilo ejerce un efecto inductivo (dador de densidad de carga) mayor que los grupos etilo y propilo, lo cual se ve reflejado en los diferentes valores de desplazamientos químicos para estos derivados. De este modo, podemos decir que cambios relativamente sutiles en la densidad electrónica del entorno del nitrógeno producen cambios claramente observables en el comportamiento magnético

del protón H-1 en las 1-bencil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas. Además, de acuerdo con lo esperado, se puede observar que la protonación del nitrógeno produce un fuerte desapantallamiento del H-1 desplazando su resonancia a campos más bajos (4.16 a 4.74 ppm, tabla # 2).

El análisis de las conformaciones de los derivados *O*-bencilados, *O*-metilados y *N*-alquilados de la coclaurina, basado en sus espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , también confirma y extiende la observación ya citada (Dalton & col., 1965) que la *N*-metilación orienta el esqueleto bencilisoquinolínico hacia una conformación "plegada", con apantallamiento del protón H-8. Vale la pena mencionar que el trabajo de Dalton fue realizado solo con un *N*-metil y un *N*-acetil derivado de la 1-bencil-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina.

Ahora estamos en condiciones de decir que este efecto se extiende a moléculas que llevan sustituyentes voluminosos (benciloxi) en el C-7, en las cuales se podría haber esperado una repulsión entre estos grupos y el bencilo del C-1 de las BTHIQ's. Este comportamiento se puede observar sistemáticamente en los derivados de coclaurina, donde todos aquellos que no tienen sustituyentes en el nitrógeno presentan desplazamientos químicos de aproximadamente 6.6 ppm para el H-8, los que comparados con los desplazamientos químicos de los protones correspondientes en las bases libres de la norlaudanosina, de la coclaurina o de la norarmepavina (ver tablas # 2 y 6), estarían indicando que estos compuestos, de la misma forma, adoptan preferencialmente una conformación "extendida" en solución. Por el contrario, los *N*-alquil derivados de coclaurina y sus éteres presentan el mismo comportamiento que los *N*-alquil derivados de norlaudanosina, con desplazamientos químicos del protón H-8 cercanos a 6.0 ppm (ver tabla # 6).

Estos resultados confirman la propuesta de que en solución dichos derivados adoptan preferencialmente una conformación "plegada", con un sostenido apantallamiento del protón H-8 que se enfrenta al anillo bencílico.

También se pudo inferir una menor flexibilidad conformacional de los análogos *N*-alquilados, dado que en aquellos que tienen sustituyentes *O*-bencilos en el C-7, la señal del metileno bencílico unido al oxígeno del C-7 aparece como un sistema AB con constantes de acoplamiento de  $\approx 12$  Hz, mientras que cuando no hay ningún grupo alquilo sobre el nitrógeno la señal correspondiente aparece como un singulete, indicando una rotación mucho más libre a pesar de la vecindad del grupo metoxilo del C-6. Es interesante apreciar que en los *N*-alquil derivados de la 7,12-di-*O*-bencilcoclaurina el grupo bencilo de la posición 12 mantiene su libre rotación, lo que se refleja en un singulete para el correspondiente grupo metileno. Estas observaciones se pueden apreciar en la tabla # 5.

#### **Afinidades por receptores $\alpha_1$ -adrenérgicos y canales de calcio de tipo L, y actividad relajante muscular de coclaurina y derivados**

Los resultados de los estudios de desplazamiento de  $\{^3\text{H}\}$ -prazosin, un radioligando que se une a todos los subtipos de receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos, para todas las sustancias preparadas (tabla # 7), muestran que la metilación o etilación del nitrógeno conduce a pérdidas leves pero progresivas de la afinidad, tanto en la serie de la coclaurina como en la de la norarmepavina (TMC), aunque la 12-*O*-metilcoclaurina, de afinidad apreciablemente menor que la coclaurina o la norarmepavina, constituye una excepción.

El efecto de la metilación de uno o ambos hidroxilos fenólicos es más pronunciado que el de la *N*-alquilación, y en el caso más extremo, de la 12-*O*-metilcoclaurina, la afinidad disminuye en unas diez veces respecto de la coclaurina.

Dentro de las series de la 7-*O*-bencilcoclaurina y la 7,12-*O,O'*-dibencilcoclaurina la alquilación del nitrógeno no tiene efecto sobre la afinidad por el receptor  $\alpha_1$ -adrenérgico. Merece destacarse, sin embargo, el aumento significativo de la afinidad al *N*-metilar la 7-*O*-bencil-12-*O*-metilcoclaurina, que en este sentido muestra un comportamiento parecido al de la 12-*O*-metilcoclaurina. Los análogos monobencilados, tanto en el oxígeno del C-7 como en el único caso estudiado de bencilación en el oxígeno del C-12, muestran afinidades mayores que los derivados *O*-metilados y solo poco menores que la que se registra para la tetrandrina.

Tabla # 11: Resumen comparativo de los derivados de coclaurina ordenados de acuerdo a su grado de alquilación y volumen del sustituyente, respecto de sus valores de  $pK_i$  para los ensayos de afinidad por receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos.

Comp.	$pK_i$	Comp.	$pK_i$	Comp.	$pK_i$	Comp.	$pK_i$
C	5.97	CM	5.62	CE	5.29		
7MC	5.23	7MCM	5.14	7MCE	5.06		
12MC	4.92	12MCM	5.28				
		MMCM	5.10				
BBC	5.02	BBCM	5.10			BBCP	5.05
7BC	5.48	7BCM	5.49				
7B12MC	5.34	7B12MCM	5.73				
12BC	5.66						
		tetrandrina	6.16				



De este modo, a la luz de los resultados que se muestran en la tabla # 11, podemos inferir que cuando existe un hidroxilo libre en el C-12, la *N*-alquilación produce una pérdida de la afinidad (o ésta no cambia, en el caso del par 7BC/7BCM). Un hidroxilo libre en el C-7 no parece ser determinante para los cambios de afinidades observados al *N*-alquilar, pero el bloqueo de los grupos hidroxilos generalmente conduce a una pérdida de la afinidad, más acentuada en las aminas secundarias que en los derivados *N*-alquilados. Estos resultados parecerían indicar un rol importante del grupo hidroxilo unido al C-12 en la interacción de estos antagonistas con el receptor, en relación con la coclaurina que presenta la mayor afinidad de todos los derivados *O*-metilados ensayados.

La mono-*O*-bencilación en el oxígeno del C-7 o en el del C-12 introduciría grupos capaces de interactuar eficazmente con residuos apolares del receptor, compensando en parte la pérdida de afinidad debida al bloqueo de los hidroxilos.

Tomados en conjunto, estos resultados permiten postular que uno de los hidroxilos fenólicos, o ambos, participaría en la unión a los receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos, pero su reemplazo por grupos benciloxi, lipofílicos y voluminosos, permitiría una interacción alternativa que podría asemejarse a la que presenta la tetrandrina ó la coclaurina con los mismos receptores.

Debido a antecedentes obtenidos en el Laboratorio de Farmacodinamia de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Valencia que indicaban que la coclaurina no era un buen desplazador de  $\{^3\text{H}\}$ -diltiazem, inhibiendo la unión de este radioligando a su sitio receptor en menos de un 30% lo que indicaría una baja afinidad por el canal de calcio, en este modelo sólo se realizó un estudio de una selección de los productos preparados. El criterio para la selección fue el hecho que el aumento en el grado de



metilación de los oxígenos y el nitrógeno de diferentes BTHIQ's estudiadas anteriormente producía una mayor afinidad por el canal de calcio, respecto de aquellas que contienen hidroxilos fenólicos (D'Ocon & col., 1991, Ivorra & col., 1993a).

Se puede observar (tabla # 8) que dentro de este sistema, a pesar de que los valores de  $pK_i$  no alcanzan el mostrado por la tetrandrina, existe una clara tendencia al aumento de la afinidad por el canal de calcio que une diltiazem para los análogos bencilados con respecto de los no bencilados, éste hecho indicaría que existen requerimientos estructurales como la presencia de residuos aromáticos para una buena interacción con el canal de calcio. Por el contrario, el aumento de la longitud de la cadena unida al nitrógeno en los *N*-alquilderivados de coclaurina y norarmepavina produce una disminución de la afinidad por el canal de calcio. Este efecto no se alcanza a observar para los derivados *O,O'*-dibencilados. Vale la pena notar que el aumento en el grado de metilación de los oxígenos y el nitrógeno en los derivados de coclaurina produce un aumento en la afinidad por el receptor benzotiazepínico en el canal, siendo la 12-*O*-metilarmepavina, el derivado totalmente metilado de la coclaurina, el que presenta la mayor afinidad por este receptor, lo que apuntaría a una influencia desfavorable de los grupos hidroxilos.

Estos resultados indican que la presencia de residuos aromáticos unidos al esqueleto de la coclaurina, al igual que en el caso del  $\{^3\text{H}\}$ -prazosin, favorecen la unión al receptor, en este caso el receptor benzotiazepínico del canal de calcio, alcanzando afinidades similares a la que muestra la tetrandrina. En la serie de los derivados *O*-metilados de coclaurina, contrariamente a lo que ocurre con la afinidad de estos compuestos por el receptor que une prazosin, la presencia de hidroxilos fenólicos parece ser perjudicial para su interacción con el receptor que une diltiazem en el canal de calcio.

Así, como se puede observar en la tabla # 12, la metilación del hidroxilo en el C-12 aumentaría levemente la afinidad por el receptor benzotiacepínico y la metilación en el C-7 tendría un efecto más favorable, que aumenta más aún cuando se metilan ambos grupos hidroxilos. En las series no benciladas, la extensión de un *N*-metilo a un *N*-etilo está asociada a una disminución de la afinidad. La monobencilación tanto en el oxígeno del C-7 como en el C-12, bastaría para alcanzar una afinidad comparable con la que muestra la tetrandrina. La bencilación de los dos átomos de oxígeno favorece la afinidad más que su metilación, aunque su efecto resulta ser menor que para los análogos mono bencilados. La bencilación del hidroxilo en el C-7 tiene un efecto mayor que la metilación en el mismo sitio y además la metilación del hidroxilo en el C-12 conduce a la mayor afinidad observada en toda la serie de los análogos mono bencilados. Esto permite especular acerca de un carácter predominantemente lipofílico del receptor que une a benzotiacepinas en el canal de calcio.

Tabla # 12: Resumen comparativo de los derivados de coclaurina ordenados de acuerdo a su grado de alquilación y volumen del sustituyente, respecto de sus valores de  $pK_i$  para los ensayos de afinidad por sitios de unión de benzotiacepinas en el canal de calcio.

Comp.	$pK_i$	Comp.	$pK_i$	Comp.	$pK_i$	Comp.	$pK_i$
C	30%	CM	4.61	CE	3.84		
7MC		7MCM	5.02	7MCE	4.51		
12MC		12MCM	4.90				
		MMCM	5.38				
BBC		BBCM	5.68			BBCP	5.76
7BC		7BCM	5.70				
7B12MC		7B12MCM	5.82				
12BC	5.67						
		tetrandrina	6.23				

Respecto de los estudios funcionales, podemos observar que los dos derivados bencilados que se ensayaron en aorta de rata muestran ser buenos antagonistas de contracciones inducidas por noradrenalina (tabla # 9), y además resultaron ser más potentes que la tetrandrina en este modelo, aunque la tetrandrina posee una mayor afinidad por los receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos *in vitro*. Este hecho nos indicaría que la presencia de residuos aromáticos en el esqueleto de la coclaurina favorece la respuesta funcional sobre tejido de aorta previamente contraída con noradrenalina, respecto tanto de la tetrandrina como de la coclaurina. Resulta llamativo el hecho que estos productos superan en potencia a la tetrandrina y la coclaurina, si se considera que sus afinidades por receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos de corteza cerebral de rata son menores (tabla #7). Por el contrario, entre los derivados *O*-metilados de la coclaurina la metilación del hidroxilo fenólico unido al C-7 conduce a una marcada disminución en la potencia relajante de contracciones musculares inducidas por noradrenalina, mientras que la metilación del hidroxilo en el C-12, aunque disminuye la potencia, no lo hace en forma tan acentuada como la metilación del hidroxilo del C-7. Así, estos resultados están solo parcialmente en concordancia con los estudios de desplazamiento de  $\{^3\text{H}\}$ prazosin, donde el aumento en el grado de metilación siempre produce una disminución de la afinidad por el sitio de unión del radioligando. Esto podría deberse a las diferentes poblaciones de subtipos de receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos en aorta, donde solo existirían los subtipos  $\alpha_{1A}$  y  $\alpha_{1B}$ , y en corteza cerebral, donde a pesar de estar presentes los 3 subtipos predominarían los  $\alpha_{1A}$  (Hoffman & col., 1996).

A diferencia de lo observado cuando se contrae el tejido con noradrenalina, estas modificaciones estructurales en la coclaurina aumentan su potencia como relajante de

contracciones inducidas por KCl (tabla # 10). De esta manera resulta que la 12-*O*-metilarmepavina es el derivado *O,N*-metilado de coclaurina con la mayor potencia de la serie, teniendo un valor de  $IC_{50}$  (14.8  $\mu$ M) prácticamente idéntico al mostrado por la tetrandrina (13.6  $\mu$ M), mientras que la coclaurina no alcanza a relajar el tejido en más de un 30 % lo que indica una baja actividad en este sistema. Por otro lado, los dos derivados con uniones bencil éter ensayados presentan mayor potencia que la tetrandrina como agentes relajantes de la musculatura vascular previamente contraída con KCl. En base a estos resultados, se puede decir que la presencia de residuos aromáticos unidos a los átomos de oxígeno de la coclaurina produce en estos derivados un comportamiento similar al que muestra la tetrandrina en relación a su afinidad por los receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos, el canal de calcio y su potencia frente a los dos mecanismos de relajación ensayados, para los cuales la tetrandrina no presenta marcadas diferencias de actividad. De igual manera como ocurre con los ensayos funcionales con NA, los derivados bencilados resultaron tener una mayor potencia que la tetrandrina en el modelo de órgano aislado a pesar de que sus afinidades por el canal fueron menores que la de la tetrandrina. De esta manera la presencia de hidroxilos fenólicos en la coclaurina favorecerían la unión de esta al receptor  $\alpha_1$ -adrenérgico, mientras que impedirían la unión al canal de calcio. Por el otro lado, la interacción de la tetrandrina y los derivados bencilados de la coclaurina, con ambos sistemas receptores estaría favorecida por interacciones mas bien lipofílicas

## CONCLUSIONES

Extendiendo observaciones experimentales que nos indicarían que el esqueleto de BTHIQ puede sufrir cambios conformacionales por efecto de la metilación del nitrógeno isoquinolínico, se constató en los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  de una extensa serie de derivados de norlaudanosina y de coclaurina un aumento del apantallamiento anisotrópico de los protones del metoxilo en C-7 y del protón H-8 en los *N*-alquilderivados. Este efecto aumenta de *N*-metilo a *N*-etilo, manteniéndose invariante para el *N*-*n*-propilderivado, indicando un aumento de la población relativa de conformaciones "plegadas" en las bases con sustituyentes mayores que metilo en el nitrógeno. Al analizar los espectros de los análogos de coclaurina resulta particularmente significativo el hecho que los derivados bencilados en el oxígeno unido al C-7 estarían adoptando una conformación similar a la que tiene la mitad "oriental" de la tetrandrina a pesar del volumen del sustituyente en C-7. Por lo tanto, se puede decir que la preferencia conformacional en las BTHIQ estaría determinada principalmente por la sustitución o no del átomo de nitrógeno tetrahidroisoquinolínico.

Los resultados farmacológicos indican que existe una disminución de la afinidad por receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos para los derivados *O*-metilados de la coclaurina respecto de esta última y además se observa una disminución de esta afinidad para la mayoría de los *N*-alquilderivados. Por otro lado, podemos observar que la presencia de una función bencil éter en la coclaurina está asociada con afinidades próximas a la de la misma coclaurina y su *N*-metil derivado, aún cuando se metila el hidroxilo restante. Todo lo

anterior parece apuntar a la necesidad de a lo menos la presencia de un hidroxilo fenólico en los derivados *N*- y *O*-metilados de coclaurina, para producir una interacción y una afinidad por el receptor  $\alpha_1$ -adrenérgico de una manera similar a como lo hace la coclaurina. Muy por el contrario, entre los derivados *O*-bencilados al parecer la ausencia de estos hidroxilos no produce una pérdida importante de la afinidad, sino que se estaría produciendo un aumento que podría relacionarse con interacciones hidrofóbicas dentro del receptor adrenérgico.

Es necesario considerar que distintos inhibidores de la unión de prazosin podrían unirse al receptor de maneras diferentes. Esto equivale a decir que puede haber más de una conformación farmacofórica posible para que se ejerza una actividad, especialmente para antagonistas  $\alpha_1$ -adrenérgicos, donde hemos podido observar una gran variedad estructural en los antagonistas de estos receptores, lo que podría ser indicio de la existencia de más de una forma o sitio de unión a estos receptores. Todos los derivados ensayados mostraron una menor potencia en desplazar  $\{^3\text{H}\}$ -prazosin que la coclaurina. Esto podría estar asociado no sólo a la existencia de interacciones específicas de los hidroxilos fenólicos o los grupos benciloxi con el sitio receptor, sino también a las conformaciones preferenciales que adoptan los distintos derivados y posiblemente diferentes sitios de interacción con el receptor. De este modo la unión de la coclaurina al receptor adrenérgico podría estar asociada a una conformación más bien extendida y a la presencia de dos hidroxilos fenólicos, aunque el de la posición 12 parece ser el más importante. Sus derivados *O*-bencilados, por el contrario, podrían unirse a este receptor de una manera diferente, quizá con el esqueleto de la BTHIQ en una conformación

plegada similar a la que adopta la mitad "oriental" de la molécula de tetrandrina, independientemente de la alquilación o no de la función nitrogenada.

Muy por el contrario, cuando se estudiaron las afinidades de algunos derivados por el canal de calcio, se pudo observar que todos aquellos que poseen alguna unión bencil éter mostraron mayor afinidad por el receptor que aquellos sin estos grupos. Estudiando los resultados podemos observar que las mayores afinidades se alcanzan con derivados mono-bencilados tanto en el oxígeno del C-7 como en el oxígeno del C-12, mientras que el compuesto dibencilado presenta menor afinidad. Además, el aumento en el grado de metilación de los oxígenos y el nitrógeno aumentan la afinidad de los productos.

En consecuencia, podemos decir con cierta convicción que la inhibición de la unión del diltiazem al canal de calcio por los derivados de coclaurina podría estar condicionada a un entorno lipofílico dado por la presencia de uniones bencil éter y a la ausencia de grupos hidroxilos libres. Esto último nos da una idea de la importancia que puede tener la estructura y conformación de la mitad "oriental" de la molécula de tetrandrina para interactuar con el receptor que une diltiazem en el canal de calcio, y parece confirmar las interpretaciones anteriores respecto de los derivados *O*-metilados de coclaurina.

Respecto de su potencia como agentes relajantes de la musculatura vascular de rata, resulta interesante el hecho que ambos derivados bencilados ensayados (7BCM y 7B12MCM) muestran mayor potencia que la tetrandrina y la coclaurina en relajar contracciones inducidas tanto por noradrenalina como por KCl, a pesar de que éstos mostraron un menor afinidad por los receptores adrenérgicos y el canal de calcio que la tetrandrina y la coclaurina. Al margen de la discrepancia dada por esta potencia



relativamente alta, que podría explicarse por diferentes poblaciones de receptores en los diferentes tejidos utilizados y además por su carácter lipofílico tendrían acceso más rápidamente a los receptores, esto nos indicaría que la presencia de residuos lipofílicos en la estructura de la coclaurina conduce a que esta última actúe mejor pero probablemente de igual manera a como lo hace la tetrandrina sobre los receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos y los receptores benzotiazepínicos en el canal de calcio. Vale la pena recordar que para que una molécula ejerza su actividad, no es necesario que prefiera la conformación farmacofórica, sino que basta con que pueda adoptarla.

Al igual como se observó un cambio de afinidades frente a los receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos y benzotiazepínicos para los derivados *O*-metilados, la respuesta a estas sustancias en estudios funcionales confirma el hecho que el aumento en el grado de metilación de la coclaurina conduce a una mayor potencia como relajante muscular de contracciones inducidas por KCl, que se produciría por bloqueo del canal de calcio. Por otro lado, la coclaurina muestra ser un buen antagonista de contracciones inducidas por noradrenalina y presenta una buena afinidad por los receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos. Esto nos indicaría que la interacción de derivados de coclaurina con el receptor benzotiazepínico del canal de calcio estaría sujeta a restricciones estructurales como la ausencia de hidroxilos fenólicos libres y un aumento de su entorno lipofílico. De este modo, podemos decir que la extensión de la estructura de la coclaurina hacia una estructura dimérica como la tetrandrina estaría favoreciendo una actividad relajante muscular a través de mecanismos asociados a canales de calcio y receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos, de una manera similar a como lo hace la tetrandrina, mientras que la coclaurina desencadena selectivamente una respuesta adrenérgica. Finalmente, el presente estudio nos ilumina

sobre los requerimientos estructurales que conducen a un modo de acción similar a como ocurre con la coclaurina o la tetrandrina sobre ambos sistemas ensayados, además de que algunos de los derivados podrían usarse como mejores relajantes musculares que la tetrandrina.

**BIBLIOGRAFÍA****Revistas**

- Anselmi E., Fayos G., Blasco R., Cardenas L., Cortes D., & D'Ocon P., *J. Pharm. Pharmacol.*, **44**, 337 (1992).
- Anselmi E., Gómez-Lobo M.D., Blázquez M.A., Zafra-Polo M.C., & D'Ocon P., *Pharmazie*, **49**, 440 (1994).
- Barton D.H.S., & Bhakuni D.S., *J. Chem. Soc. C.*, **10**, 1295 (1967).
- Berthou S., Leboeuf M., Cavé A. & Guinaudeau H., *J. Nat. Prod.*, **52**, 95 (1989).
- Cassels B.K. & Shamma M., *Heterocycles*, **14**, 211 (1980).
- Catret M., Anselmi E., Elorriaga M., Tur R., & D'Ocon P., *J. Pharm. Pharmacol.*, **50**, 1267(1998).
- Cava M.P. & Buck K.T., *Tetrahedron*, **25**, 2795 (1969).
- Cheng Y. & Prusoff W., *Biochem. Pharmacol.*, **22**, 3099 (1973).
- Chiou M., Kang J., & Lee S., *J. Nat. Prod.*, **61**, 46 (1998).
- Chulia S., Moreau J., Naline E., Noguera M.A., Ivorra M.D., D'Ocon M.P., & Advanier C., *Br. J. Pharmacol.*, **119**, 1305 (1996).
- Cortes D., Hocquemiller R., Cavé A. & Saez J., *J. Nat. Prod.*, **49**, 854 (1986).
- Dalton D.R., Cava M.P. & Buck K.T., *Tetrahedron Letters*, **31**, 2687 (1965).
- D'Ocon P., Blázquez M.A., Bermejo A., & Anselmi E., *J. Pharm. Pharmacol.*, **44**, 579 (1992).
- D'Ocon P., Blasco R., Cardenas L., Ivorra M.D., López S., Villaverde C., Castedo L., & Cortes D., *Europ. J. Pharmacol.*, **196**, 183 (1991).
- Felix J.P., King V.F., Shevell J.L., Garcia M.L., Kaczorowski G.J., Bick I.R.C., & Slaughter R.S., *Biochemistry*, **31**, 11793 (1992).

- Fujitani K., Aoyagi Y. & Masaki Y., *Yakugaku Zasshi*, **86**, 654 (1966). Resumen en ingles disponible en *Chemical Abstracts*. 68:47025f
- Furchgott R.F. & Zawadzki J.V., *Nature*, **288**, 373 (1980).
- Gilmore J., Dell C., Bowman D., & Lodge D., *Annu. Reports Med. Chem.*, **30**, 51 (1995).
- Guha K.P., Mukherjee B. & Mukherjee R., *J. Nat Prod.*, **42**, 1 (1979).
- Hofmann F., Biel M., & Flockerzi V., *Annu. Rev. Neurosci.*, **17**, 399 (1994).
- Hori H., Nishida Y., Ohru H., & Meguro H., *J. Org. Chem.*, **54**, 1346 (1989).
- Ivorra M.D., Martinez F., Serrano A., & D'Ocon P., *J. Pharm. Pharmacol.*, **45**, 439 (1993a).
- Ivorra M.D., Lugnier C., Catret M., Anselmi E., Cortes D. & D'Ocon P., *Br. J. Pharmacol.*, **109**, 502 (1993b)
- Kametani T. & Yagi H., *Chem. Pharm. Bull.*, **15**, 1283 (1967).
- Kametani T., Takano S., Iida H. & Shimbo M., *J. Chem. Soc. C.*, Perkin trans. 2, 298 (1969).
- King V.F., Garcia M.L., Himmel D., Reuben J.P., Lam Y.T., Pan J., Han G. & Kaczorowski G.J., *J. Biol. Chem.*, **263**, 2238 (1988).
- Marek R., Marek J., Dostal J. & Slavik J., *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **65**, 1623 (1997).
- Martin M.L., Diaz M.T., Montero M.J., Prieto P., San Roman L., & Cortes D., *Planta Med.*, **59**, 63 (1993).
- Mndzhoyan A., Mnatsakanyan V., Alesksanyan R. & Stepanyan N., *Arm. Khim. Zh.*, **20**, 141 (1967). Resumen en ingles disponible en *Chemical Abstracts*. 67:73726j.
- Morales M.A., Bustamante S.E., Brito G., Paz D., & Cassels B.K., *Phytother. Res.*, **5**, 825 (1998).
- Pyman J., *J. Chem. Soc.*, **95**, 1610 (1910).
- Schiff Jr. P.L., *J. Nat. Prod.*, **46**, 1 (1983).
- Schiff Jr. P.L., *J. Nat. Prod.*, **50**, 529 (1987).
- Schiff Jr. P.L., *J. Nat. Prod.*, **54**, 645 (1991).

- Teitel S. & Brossi A., *J. Heterocycl. Chem.*, **5**, 825 (1968).
- Tur R., Magraner J., Catret M., Elorriaga M., Ivorra M.D., D'Ocon P., Bermejo A., Cabedo N., Cortes D. & Anselmi E., *Life Sci.*, **13**, 1535 (2000).
- Wang G. & Lemos J.R., *Life Sci.*, **56**, 295 (1995).
- Wang G., & Lemos J. R., *Eur. J. Physiol.*, **421**, 558 (1992).
- Zafra-Polo M.C., Tormos M.J., Cortes D., & Anselmi E., *J. Pharm. Pharmacol.*, **45**, 563 (1993).

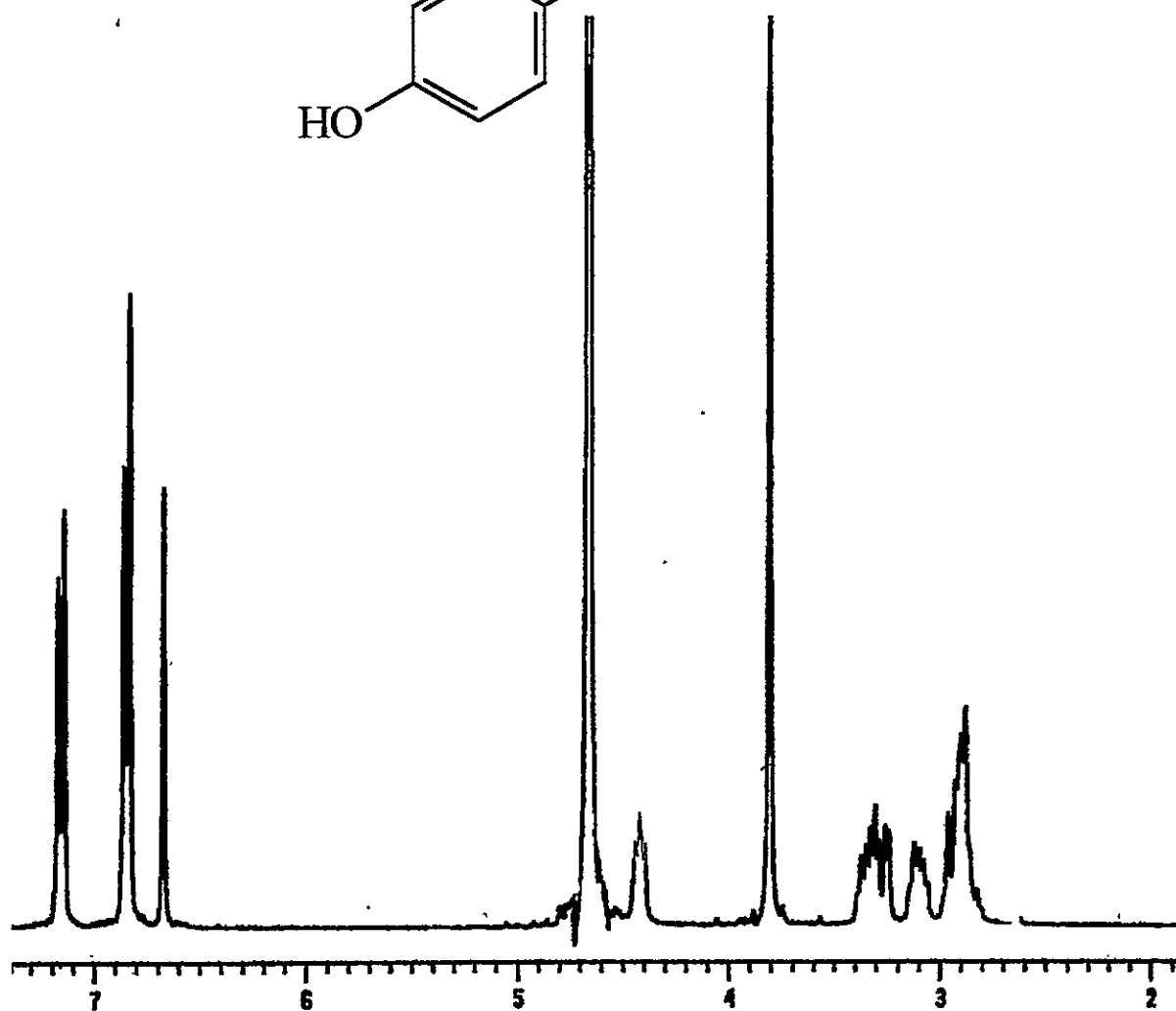
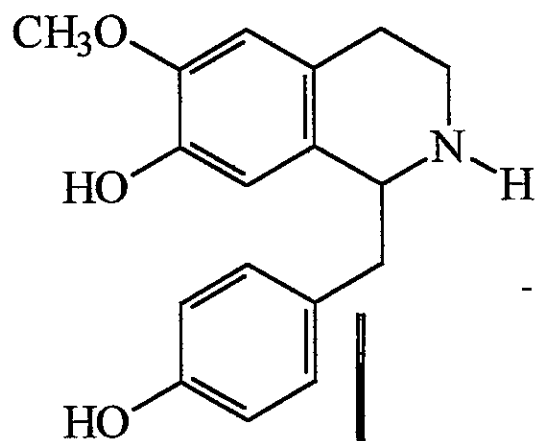
**Libros**

- Buck K.T. En A. Brossi (Ed.), *The Alkaloids*. Vol. 30, Cap.1, Academic Press, New York (1987).
- Forster C. Adrenoceptor Agonists. En H. Kalant & W. Roschlau (Eds.), *Principles of Medical Pharmacology*. pp 167-183. Oxford University Press, New York (1998)
- Hoffman B.B. & Lefkovic R.J. Catecholamines, Sympathomimetic Drugs, and Adrenergic Receptor Antagonists. En J.G. Hardman & L.E. Limbird (Eds.), *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. pp 199-248. Mc Graw – Hill. New York (1996)
- Jackson E.K. Diuretics. En J.G. Hardman & L.E. Limbird (Eds.), *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. pp 685-714. Mc Graw – Hill. New York (1996)
- Kelly R.A. & Smith T.W. Pharmacological Treatment of Heart Failure. En J.G. Hardman & L.E. Limbird (Eds.), *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. pp 809-838. Mc Graw – Hill. New York (1996)
- Kulka M. En R. Manske & H. Holmes (Eds.), *The Alkaloids*, Vol. 4, Cap. 33, Academic Press., New York (1954)
- Mitchell J. Signal Transduction and Second Messengers. En H. Kalant & W. Roschlau (Eds.), *Principles of Medical Pharmacology*. pp 99-108. Oxford University Press. New York (1998)
- Oates J.A. Antihypertensive Agent and Drug Therapy of Hypertension. En J.G. Hardman & L.E. Limbird (Eds.), *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. pp 781-808. Mc Graw – Hill. New York (1996)
- Robertson R.M. & Robertson D. Drugs Used for the Treatment of Myocardial Ischemia. En J.G. Hardman & L.E. Limbird (Eds.), *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. pp 759-780. Mc Graw – Hill. New York (1996)
- Ross E.M. Pharmacodynamics: Mechanisms of Drug Action and the Relationship Between Drug Concentration and Effect. En J.G. Hardman & L.E. Limbird (Eds.), *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. pp 29-42. Mc Graw – Hill. New York (1996)

**APENDICE**

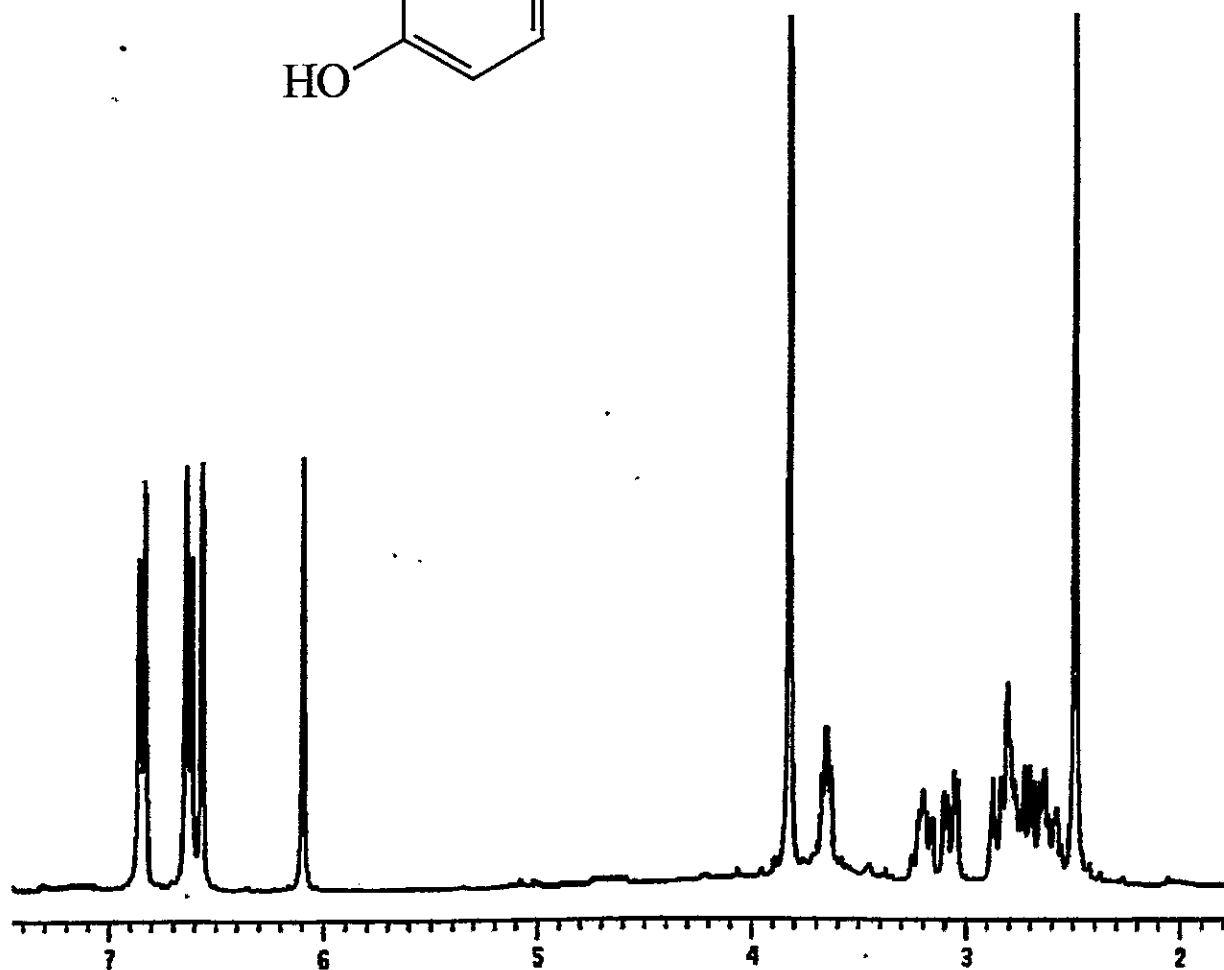
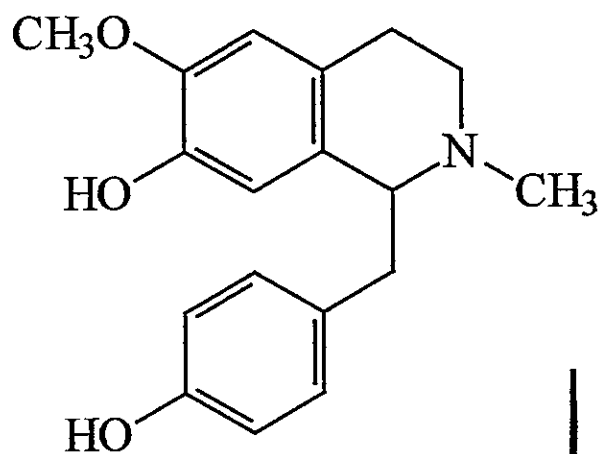
- i.- Espectros de RMN-<sup>1</sup>H para norlaudanosina y sus *N*-alquil derivados
- ii.- Espectros de RMN-<sup>1</sup>H para coclaurina y sus derivados
- iii.- Reacciones que exhiben cinética de saturación y Cálculo de la constante de inhibición  $K_i$

Espectro de RMN-<sup>1</sup>H para  
coclorina·HCL en D<sub>2</sub>O

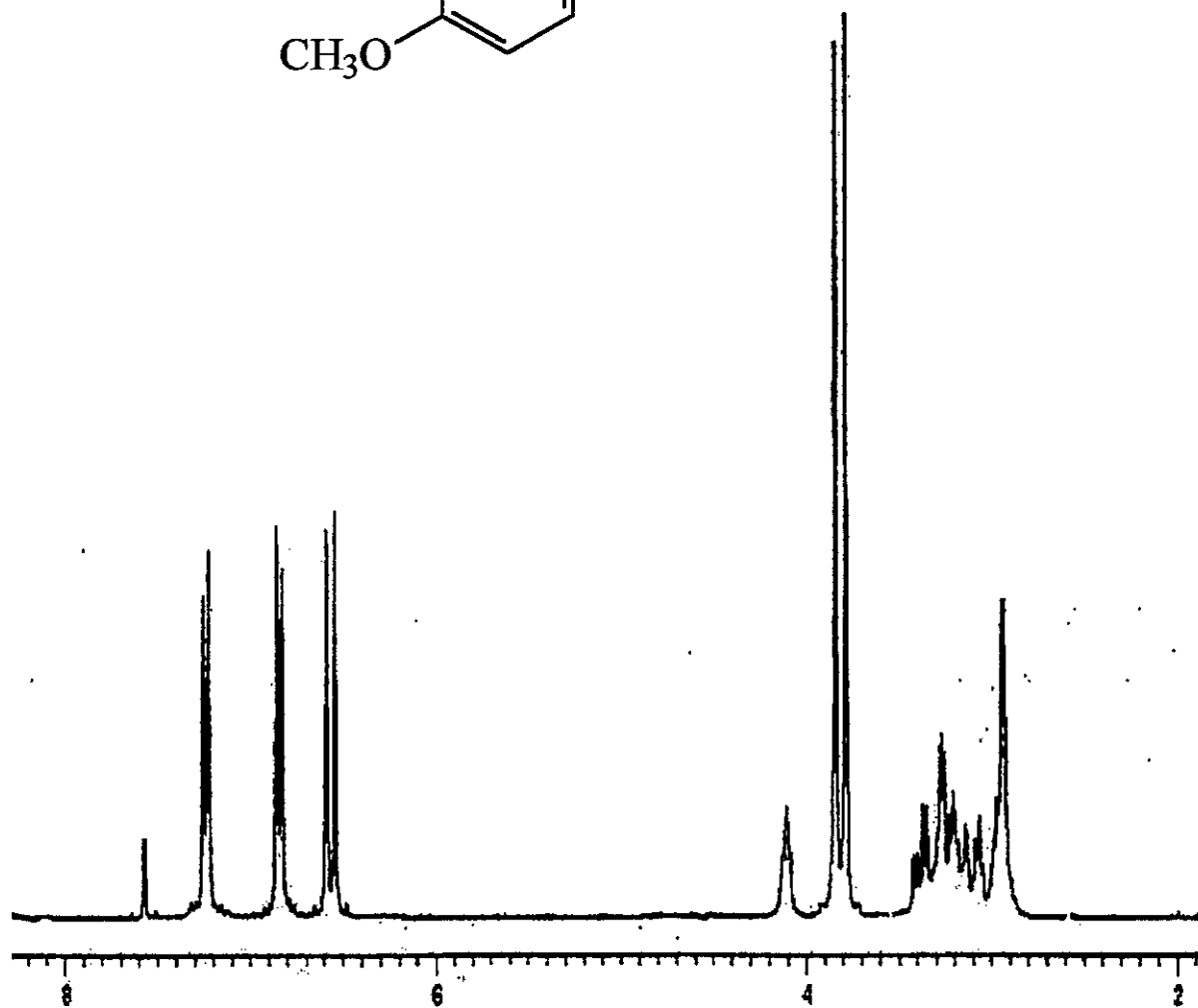
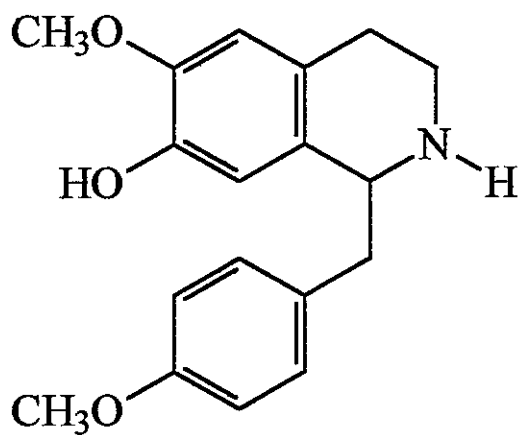




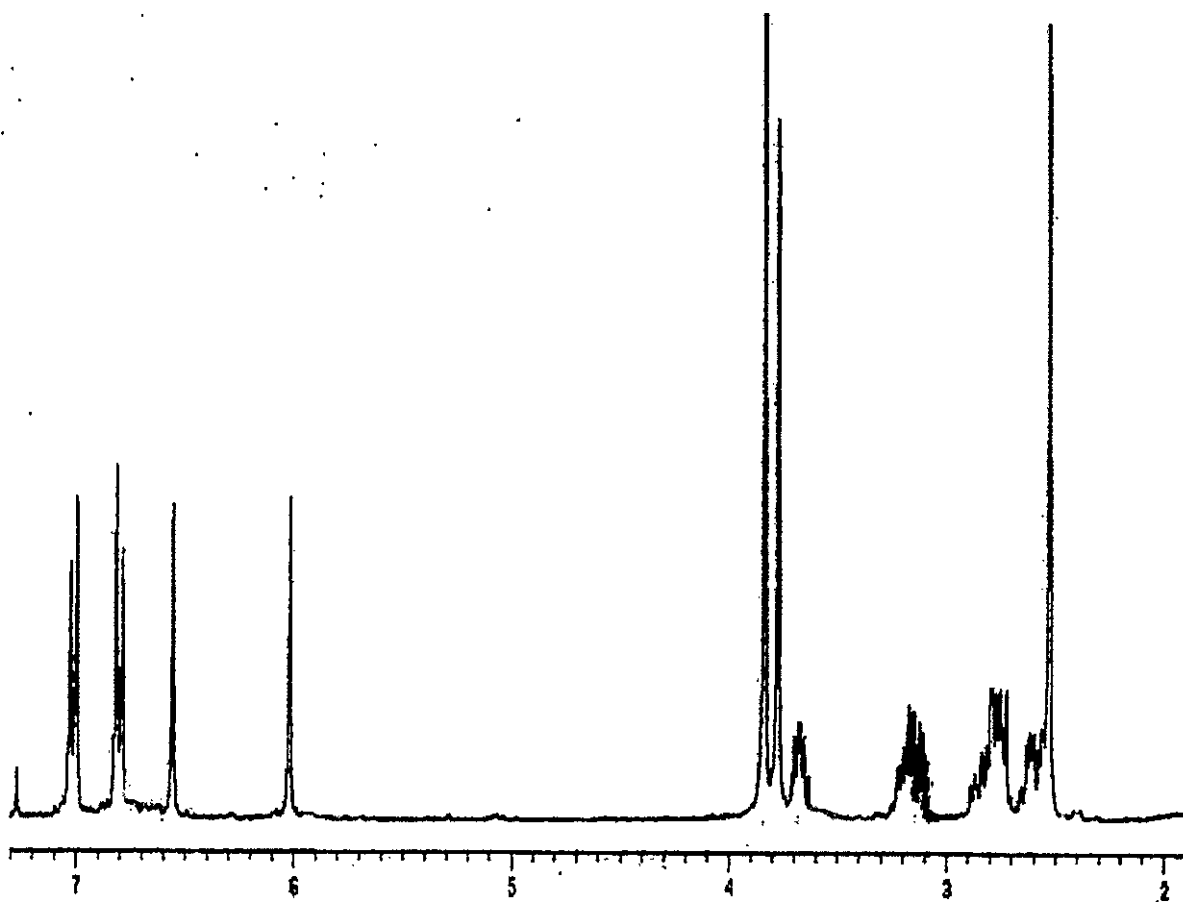
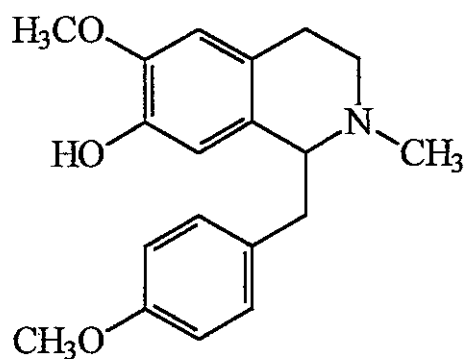
Espectro de RMN-<sup>1</sup>H para  
*N*-metilcocclaurina en CDCl<sub>3</sub>



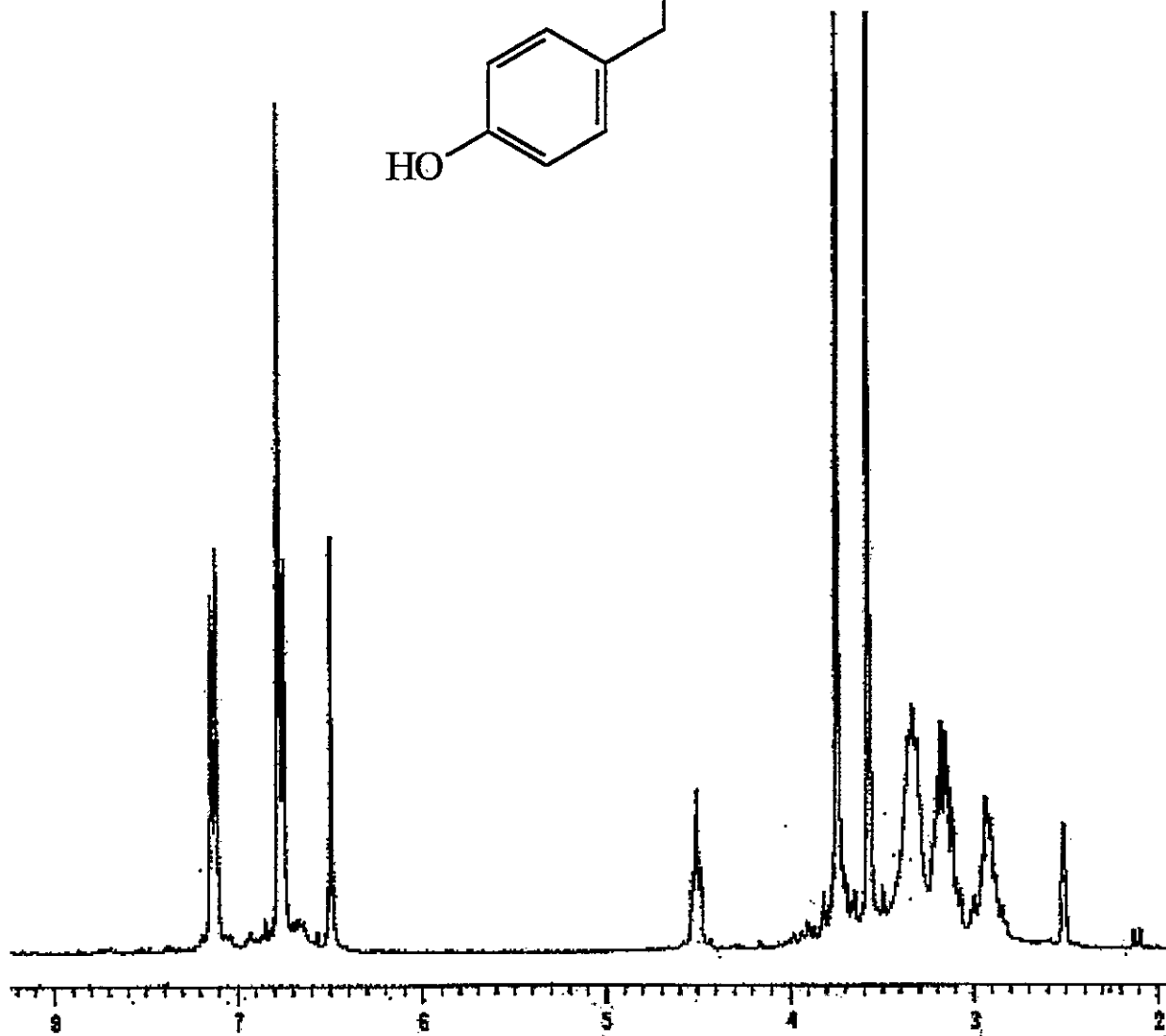
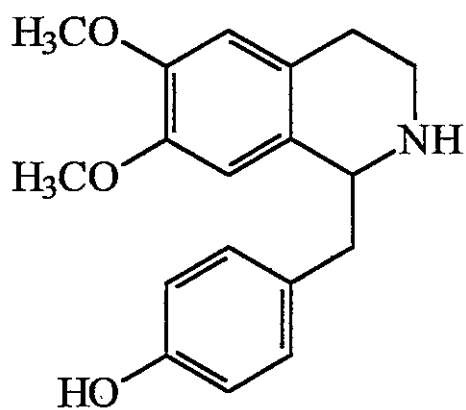
Espectro de RMN-<sup>1</sup>H para  
12-*O*-metilcoclaurina en CDCl<sub>3</sub>



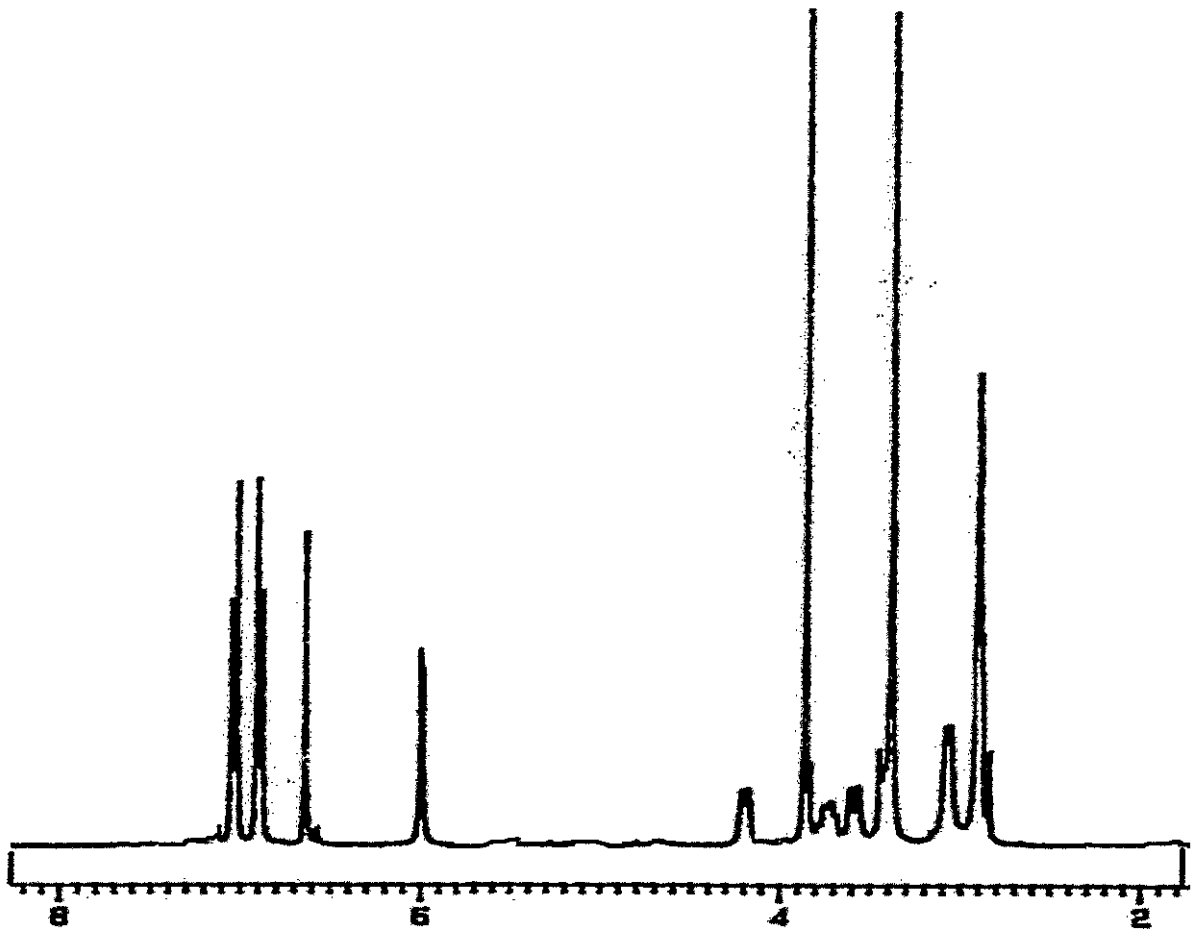
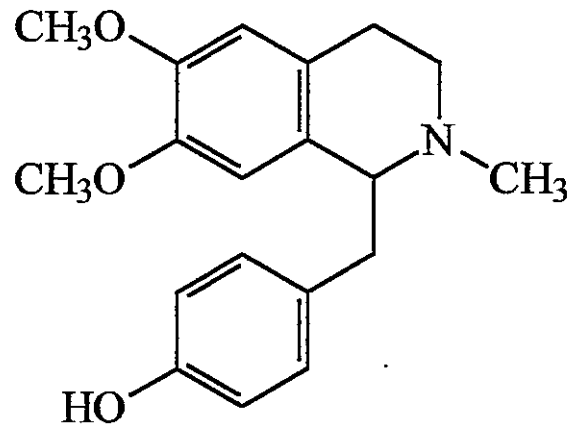
Espectro de RMN-<sup>1</sup>H para  
*N*,12-*O*-dimetilcoclaurina en CDCl<sub>3</sub>



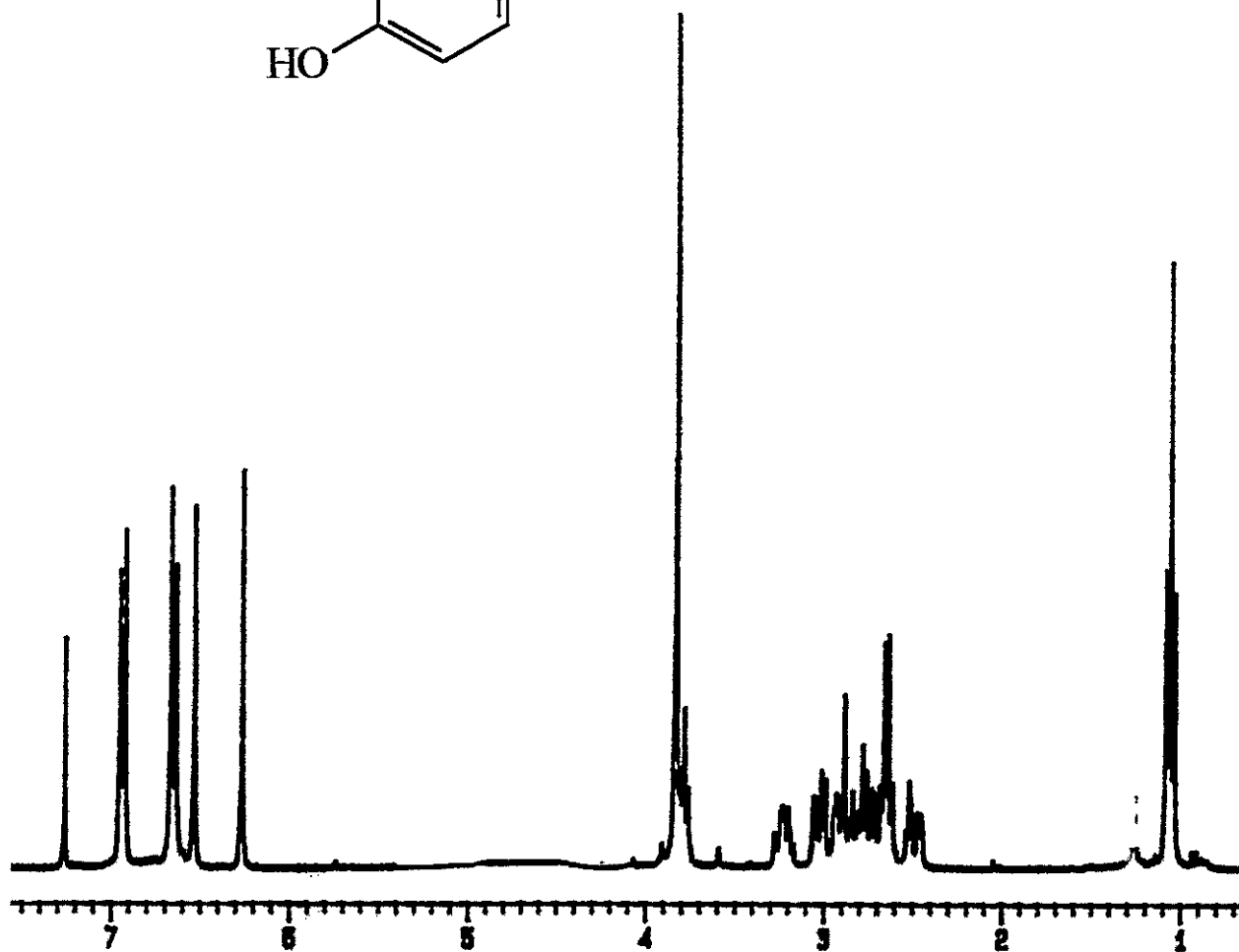
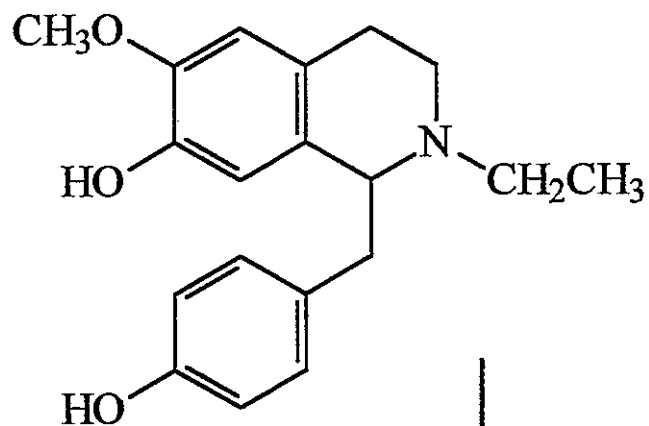
Espectro de RMN-<sup>1</sup>H para  
norarmepavina·HCl en DMSO-d<sub>6</sub>



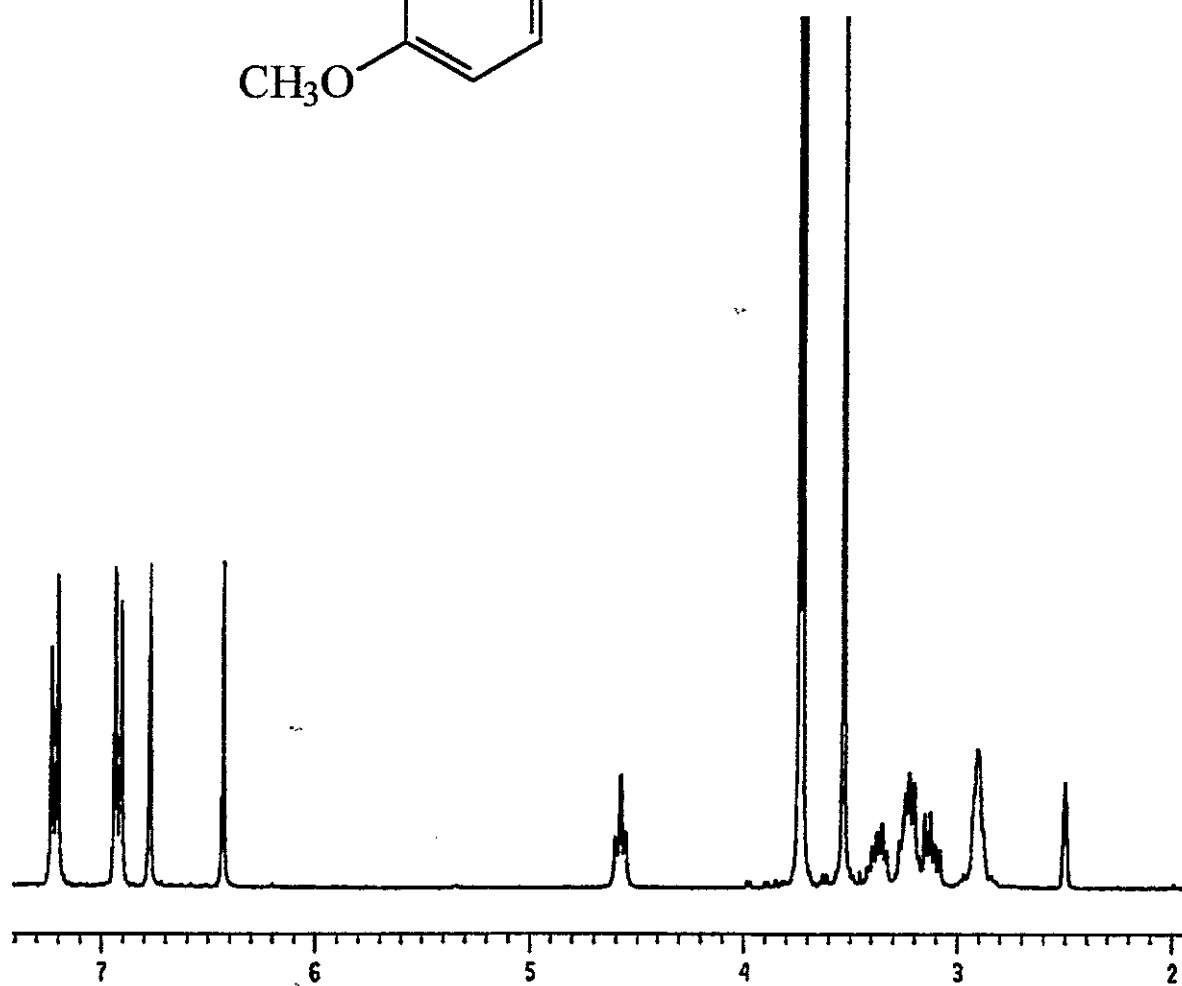
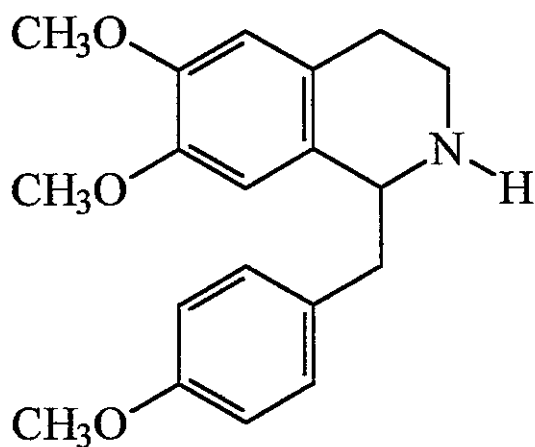
Espectro de RMN-<sup>1</sup>H para  
armepavina en CDCl<sub>3</sub>



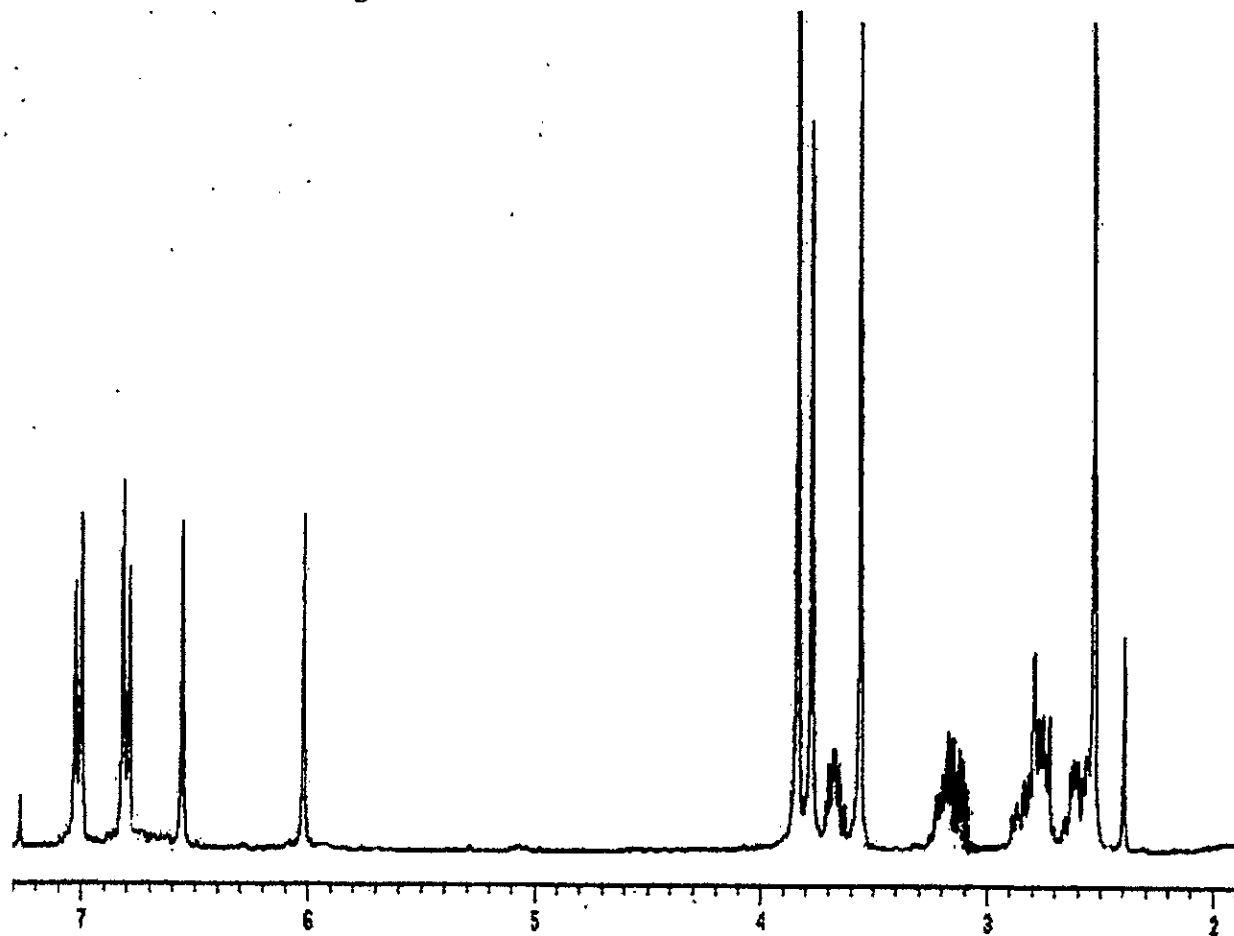
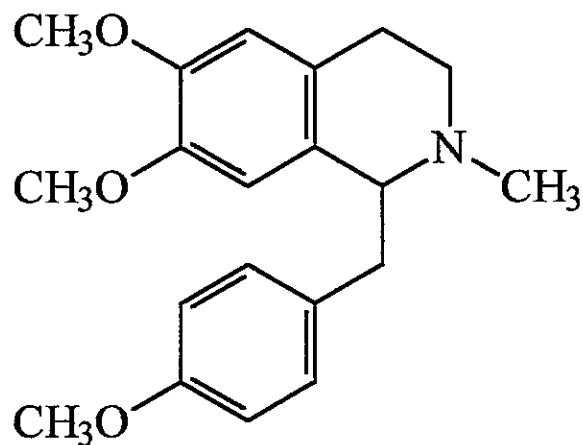
Espectro de RMN-<sup>1</sup>H para  
*N*-etilcoclaurina en CDCl<sub>3</sub>



Espectro de RMN-<sup>1</sup>H para  
12-*O*-metilnorarmepavina·HCL en DMSO-d<sub>6</sub>

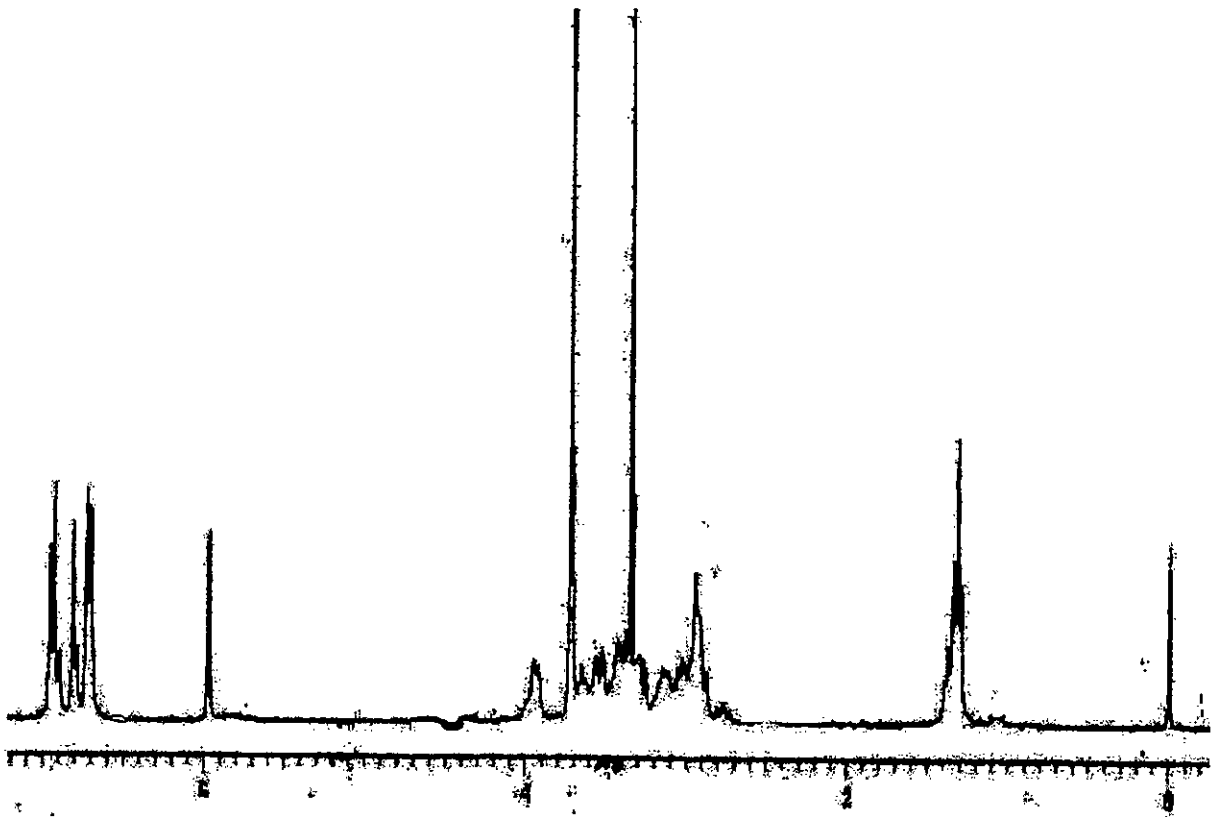
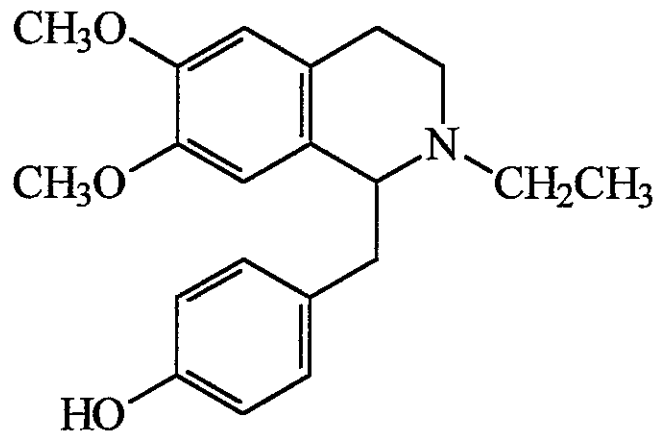


Espectro de RMN-<sup>1</sup>H para  
12-*O*-metilarmepavina en CDCl<sub>3</sub>

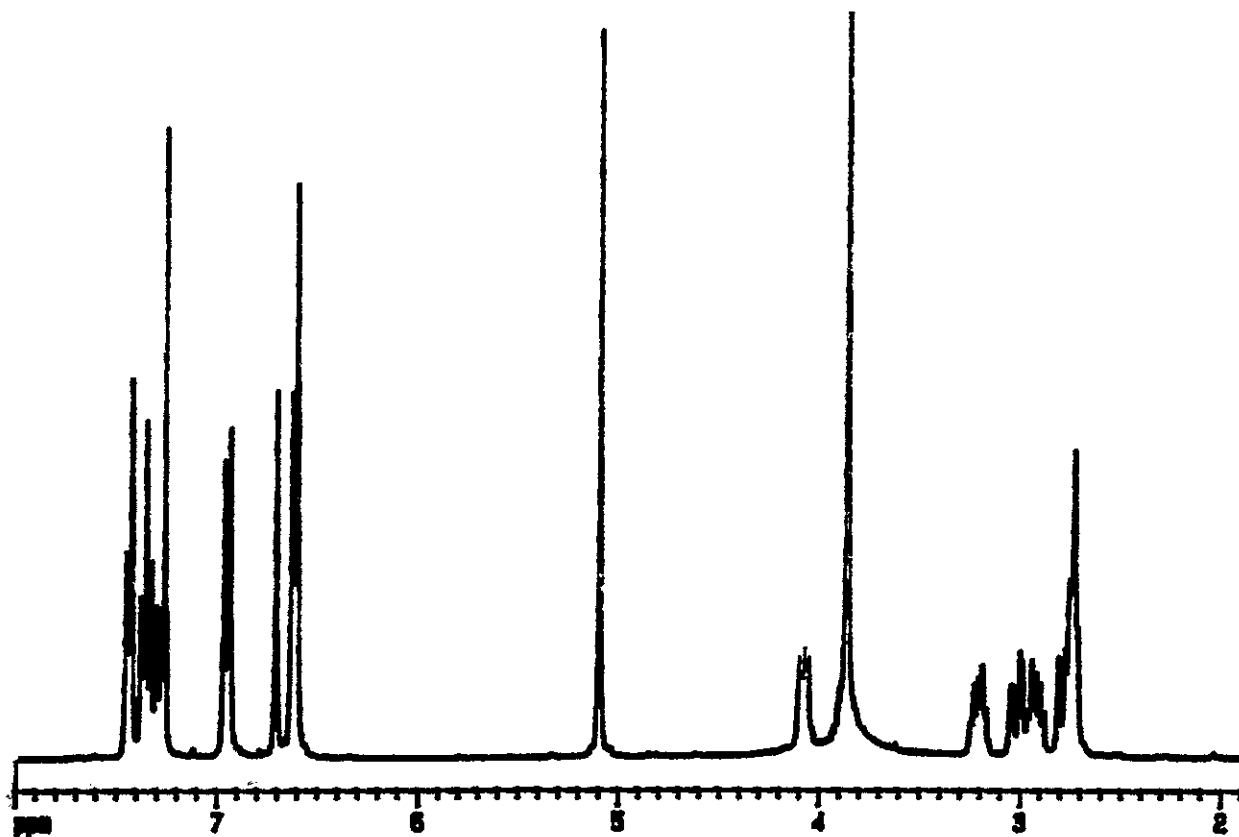
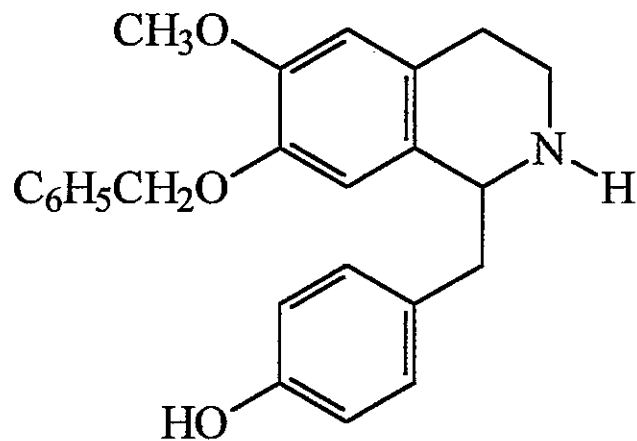




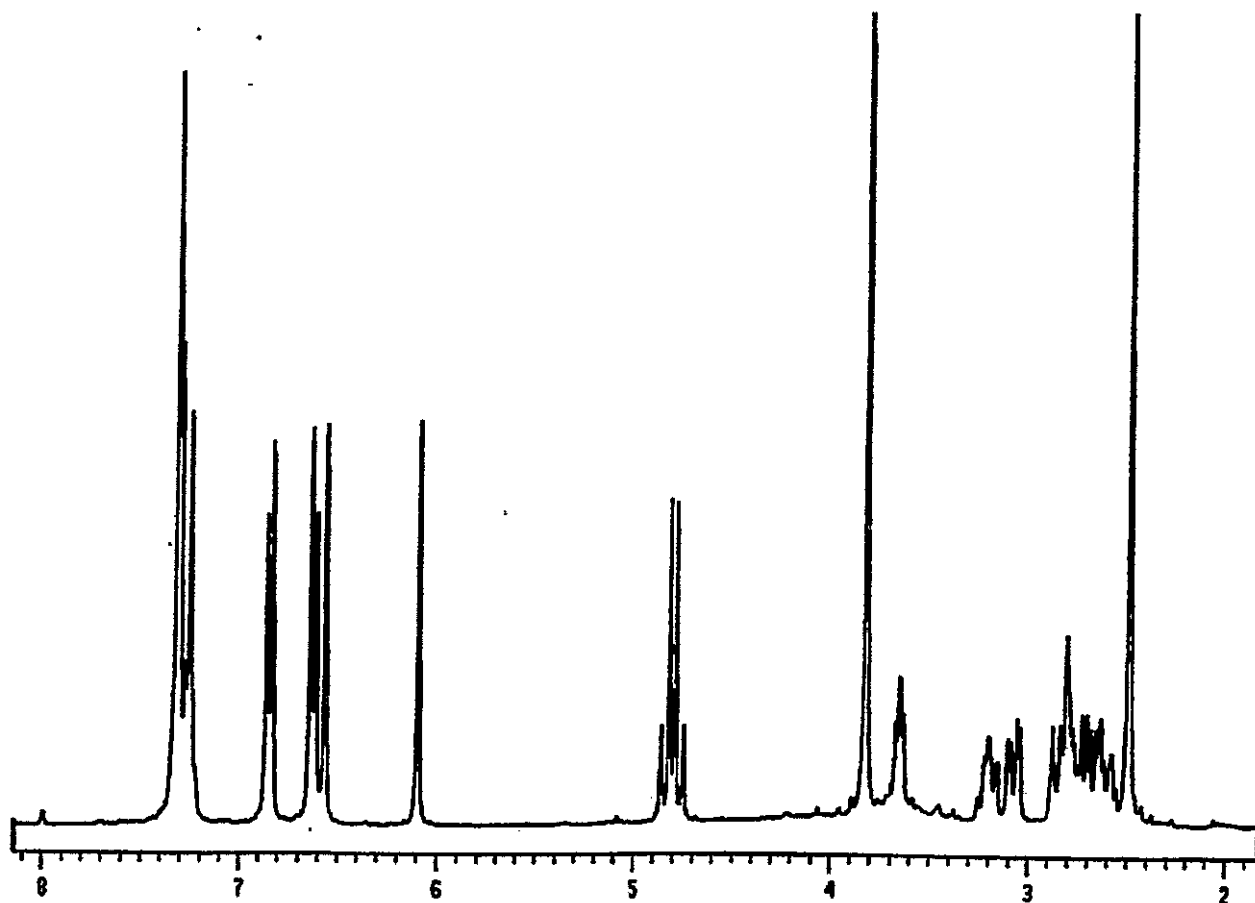
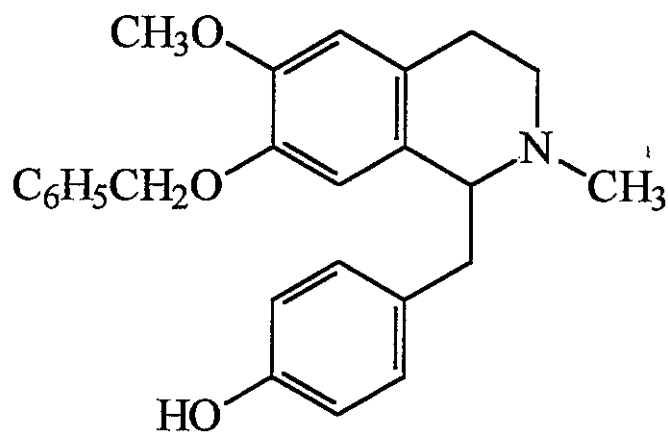
Espectro de RMN-<sup>1</sup>H para  
*N*-etilnorarmepavina en CDCl<sub>3</sub>



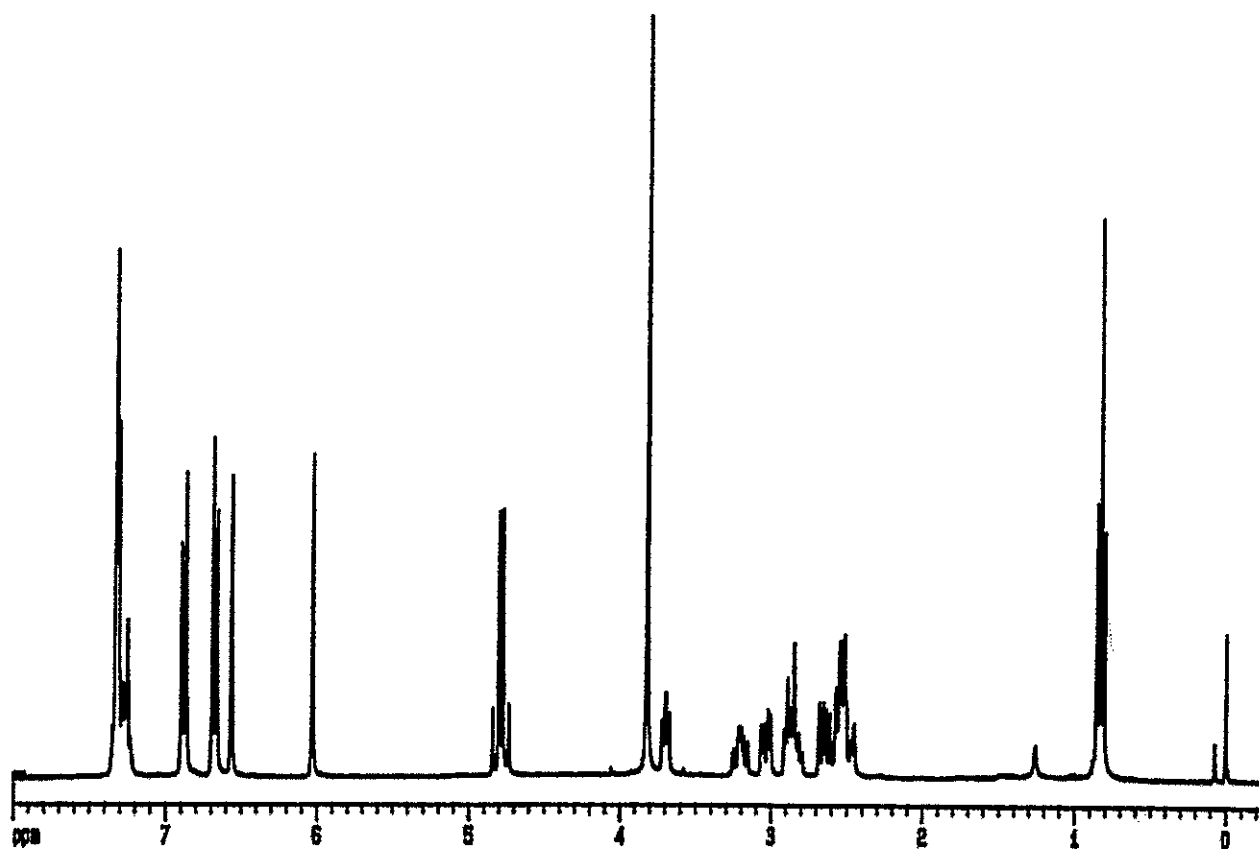
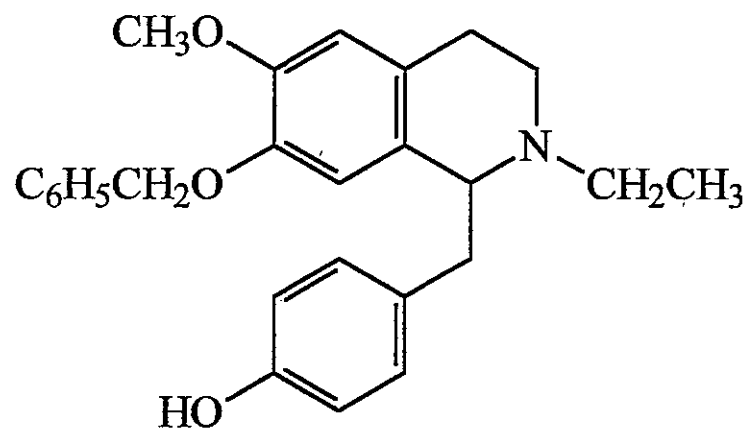
Espectro de RMN-<sup>1</sup>H para  
7-*O*-bencilcoclaurina en CDCl<sub>3</sub>



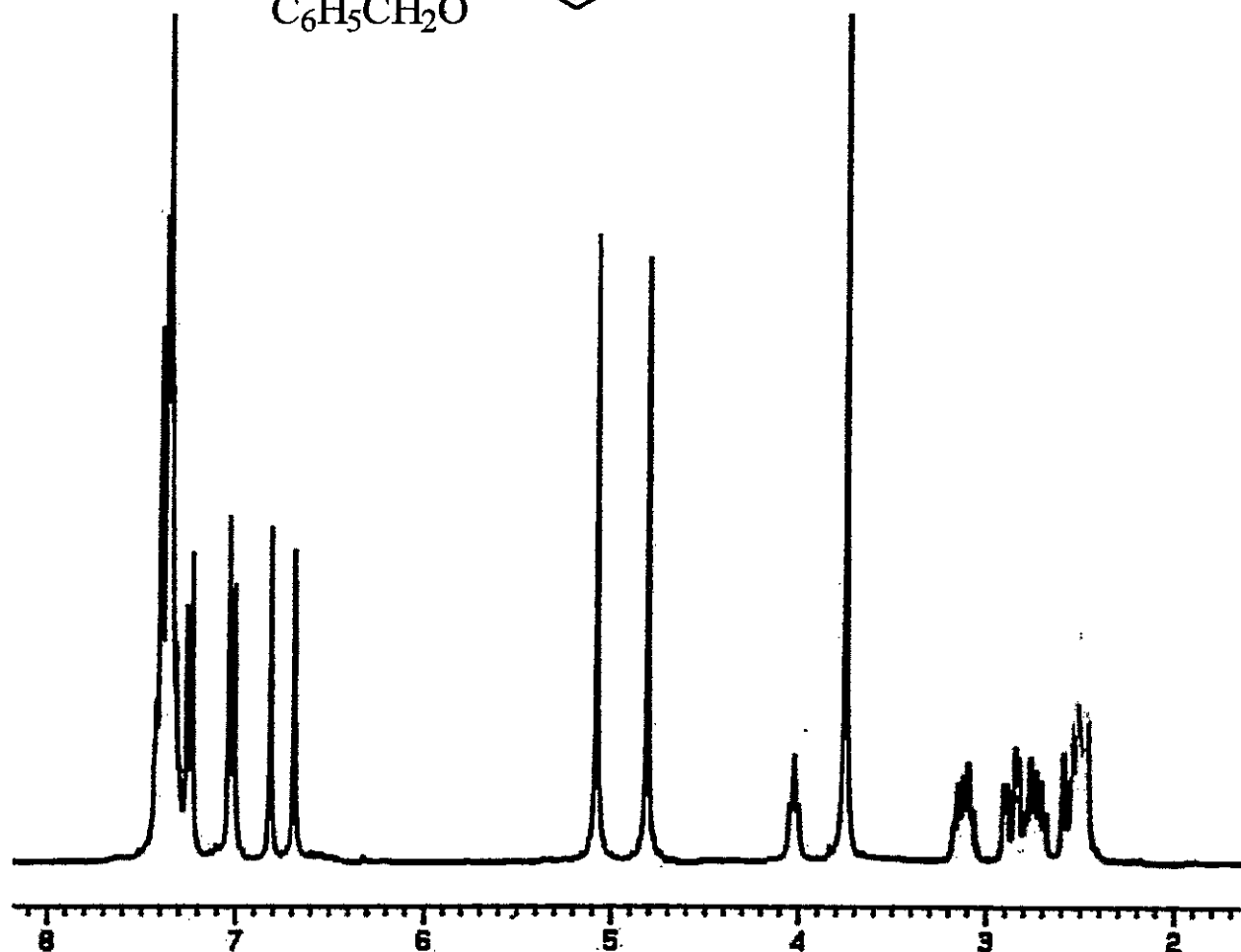
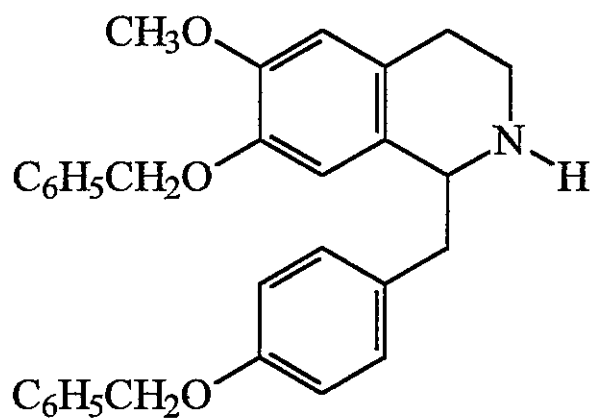
Espectro de RMN-<sup>1</sup>H para  
7-*O*-bencil-*N*-metilcoclorina en CDCl<sub>3</sub>



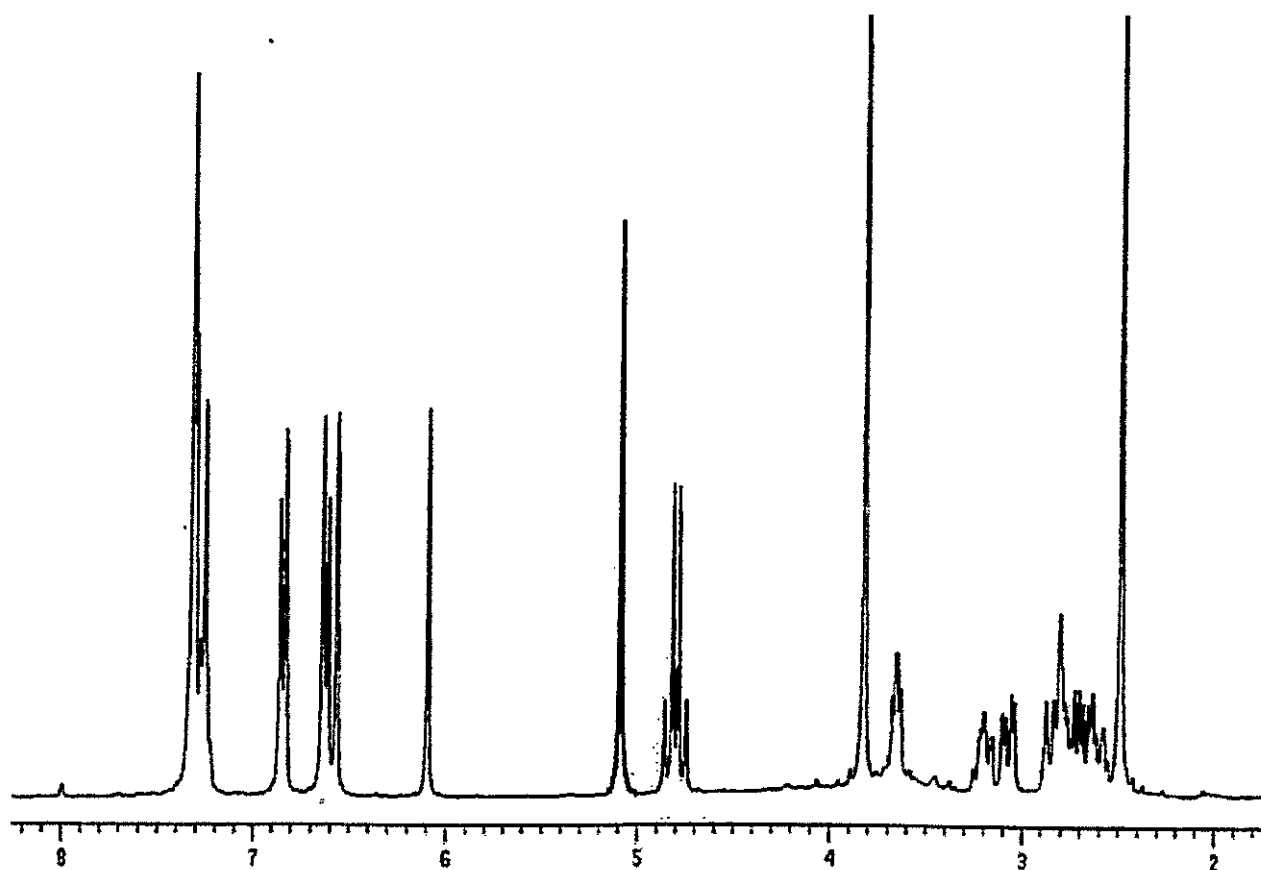
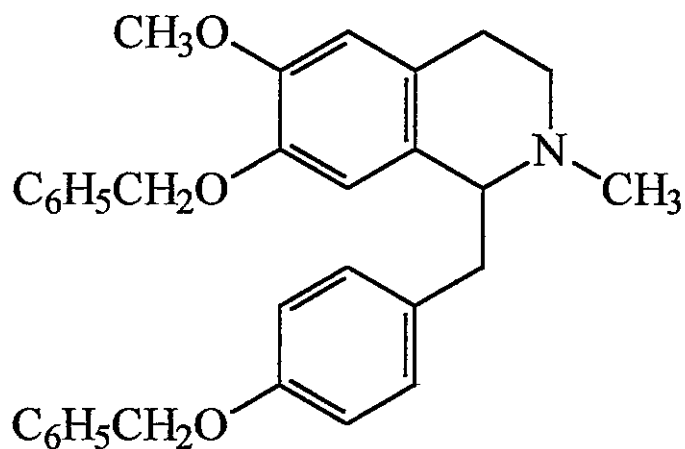
Espectro de RMN-<sup>1</sup>H para  
7-*O*-bencil-*N*-etilcoclaurina en CDCl<sub>3</sub>



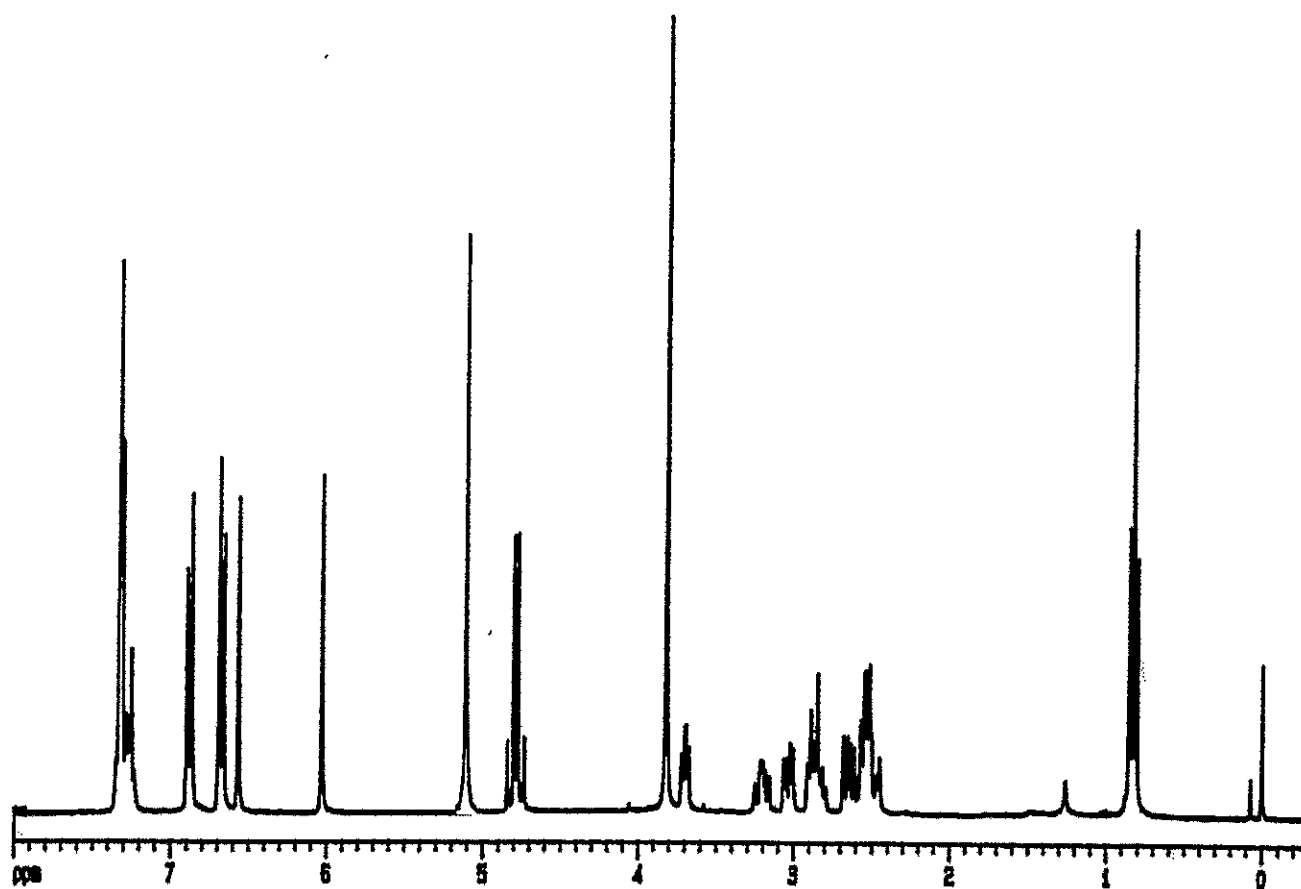
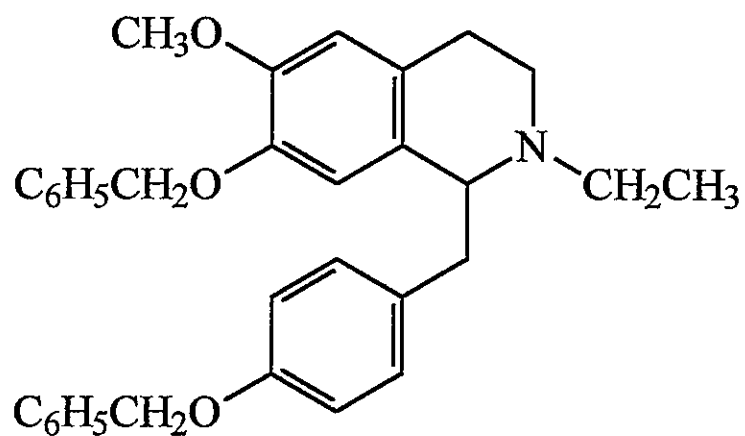
Espectro de RMN-<sup>1</sup>H para  
7,12-di-*O*-bencilcoclaurina en CDCl<sub>3</sub>



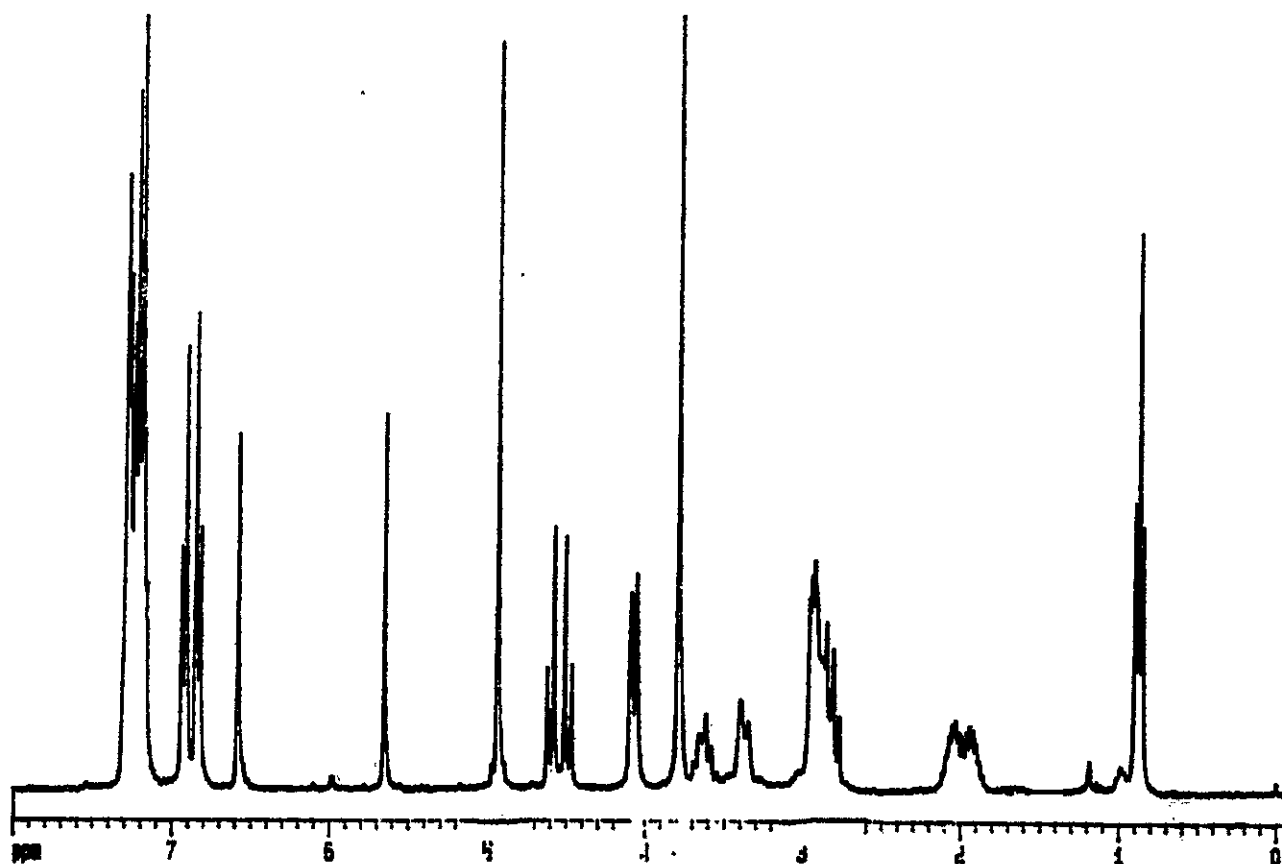
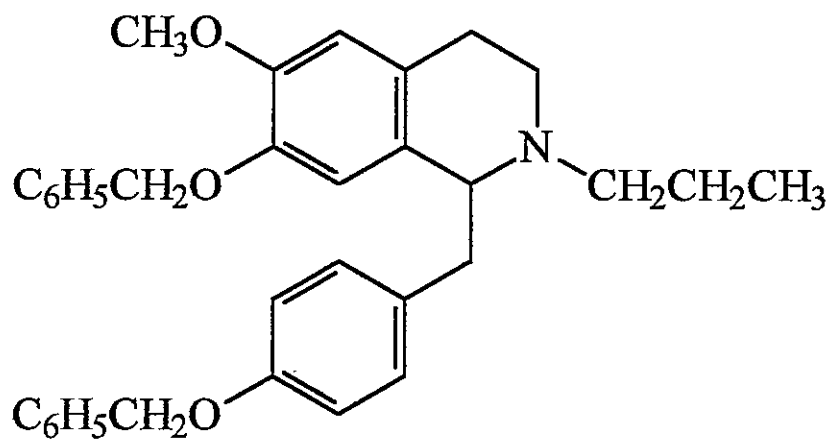
Espectro de RMN-<sup>1</sup>H para  
7,12-di-*O*-bencil-*N*-metilcoclaurina en CDCl<sub>3</sub>



Espectro de RMN-<sup>1</sup>H para  
7,12-di-*O*-bencil-*N*-etilcoclaurina en CDCl<sub>3</sub>

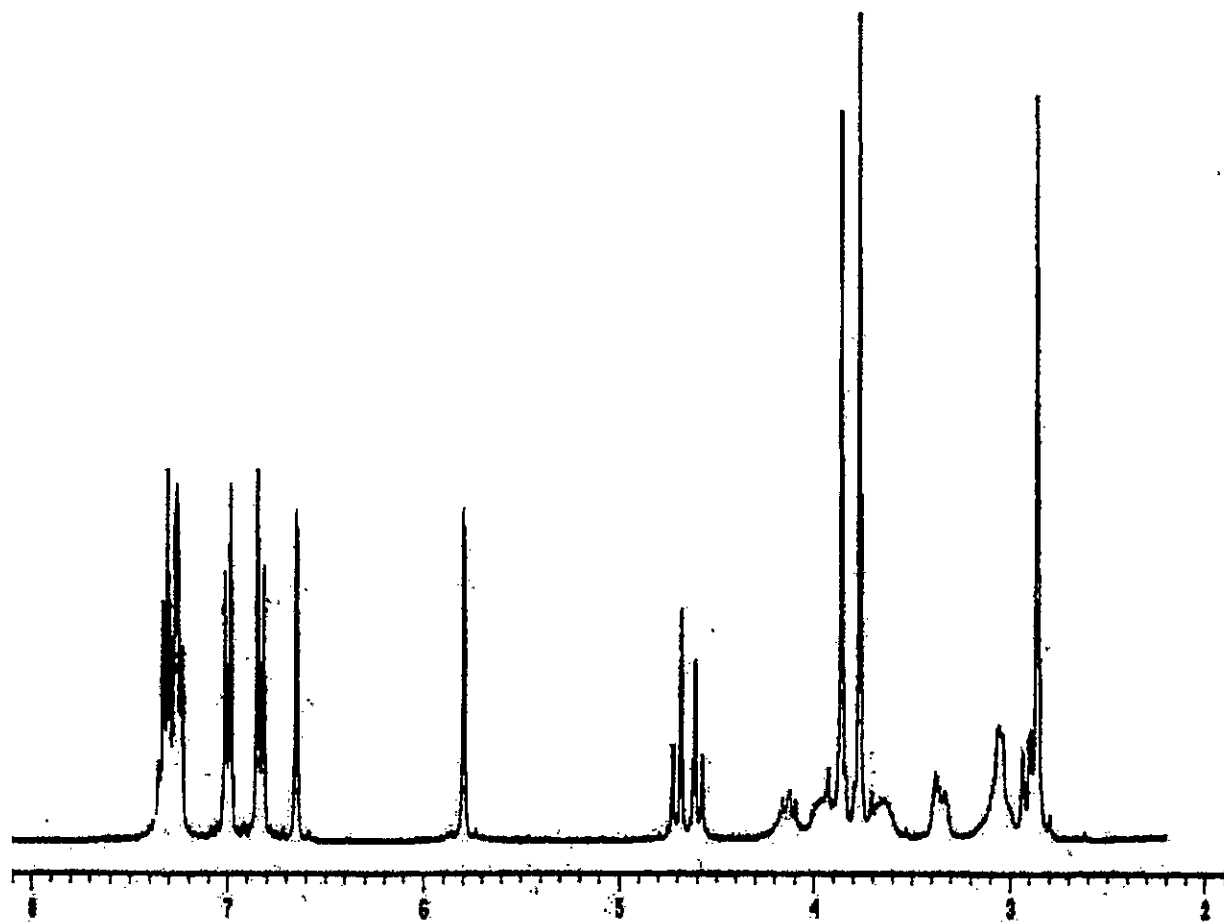
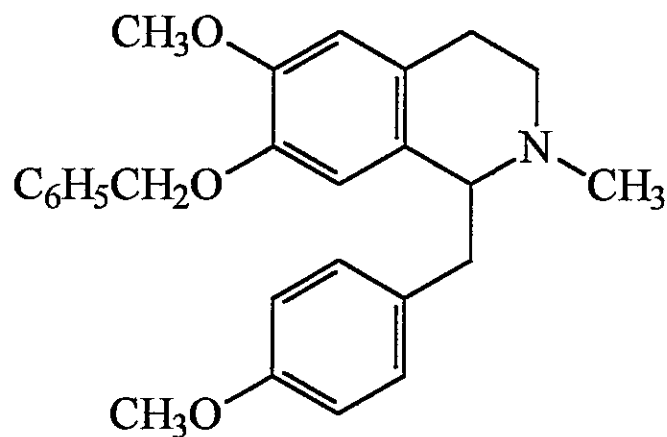


Espectro de RMN-<sup>1</sup>H para  
7,12-di-*O*-bencil-*N*-propilcocclaurina en CDCl<sub>3</sub>

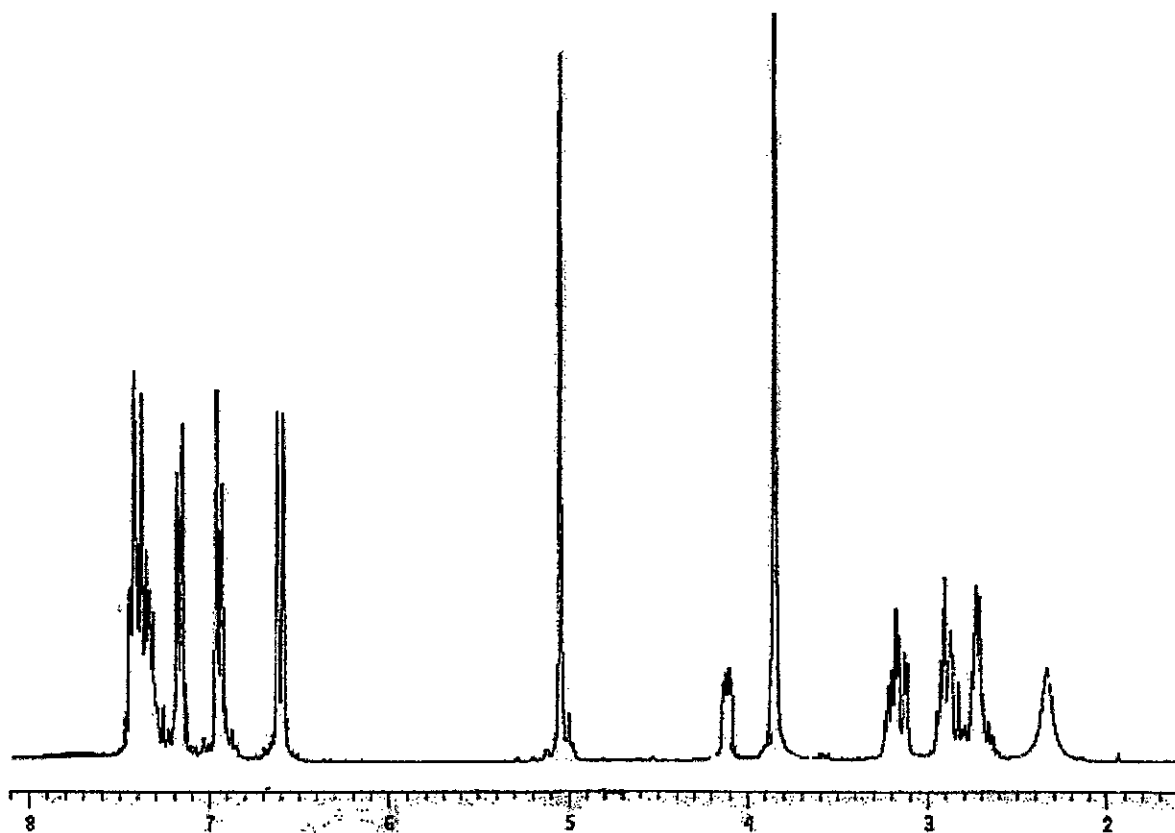
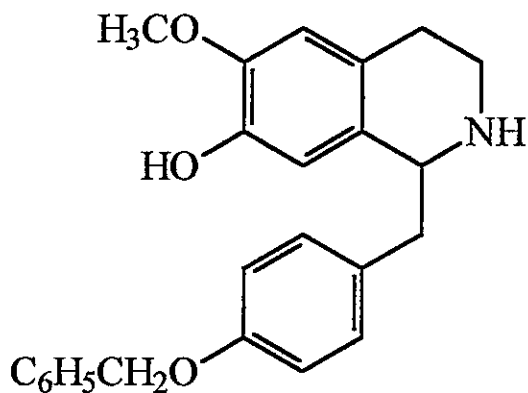




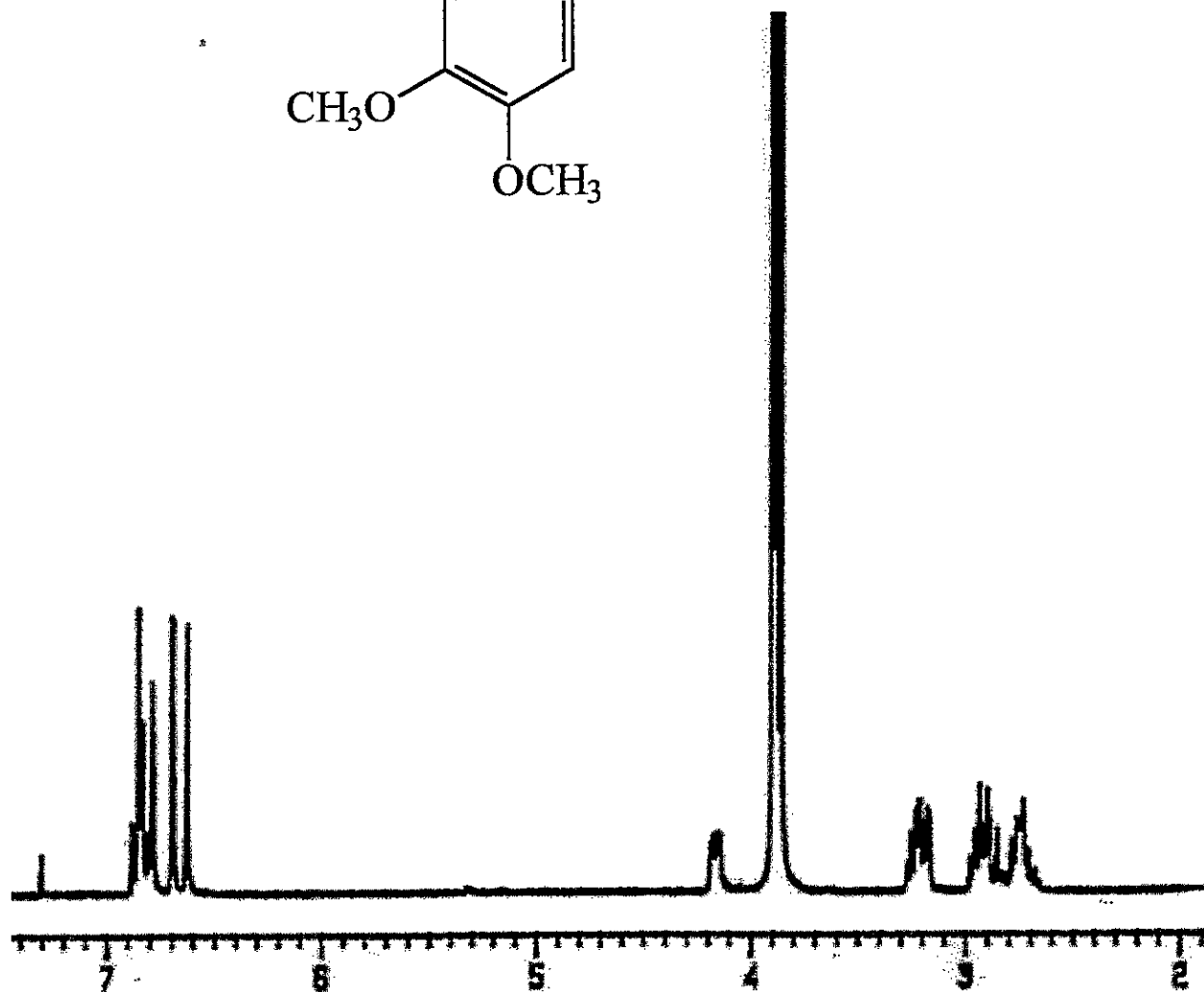
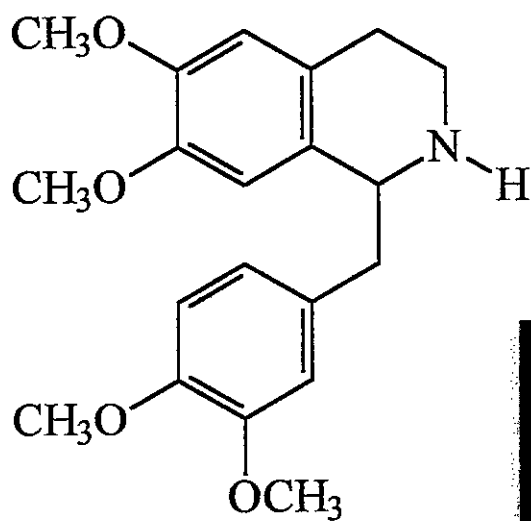
Espectro de RMN-<sup>1</sup>H para  
7-*O*-bencil-*N*,12-*O*-dimetilcoclaurina en CDCl<sub>3</sub>



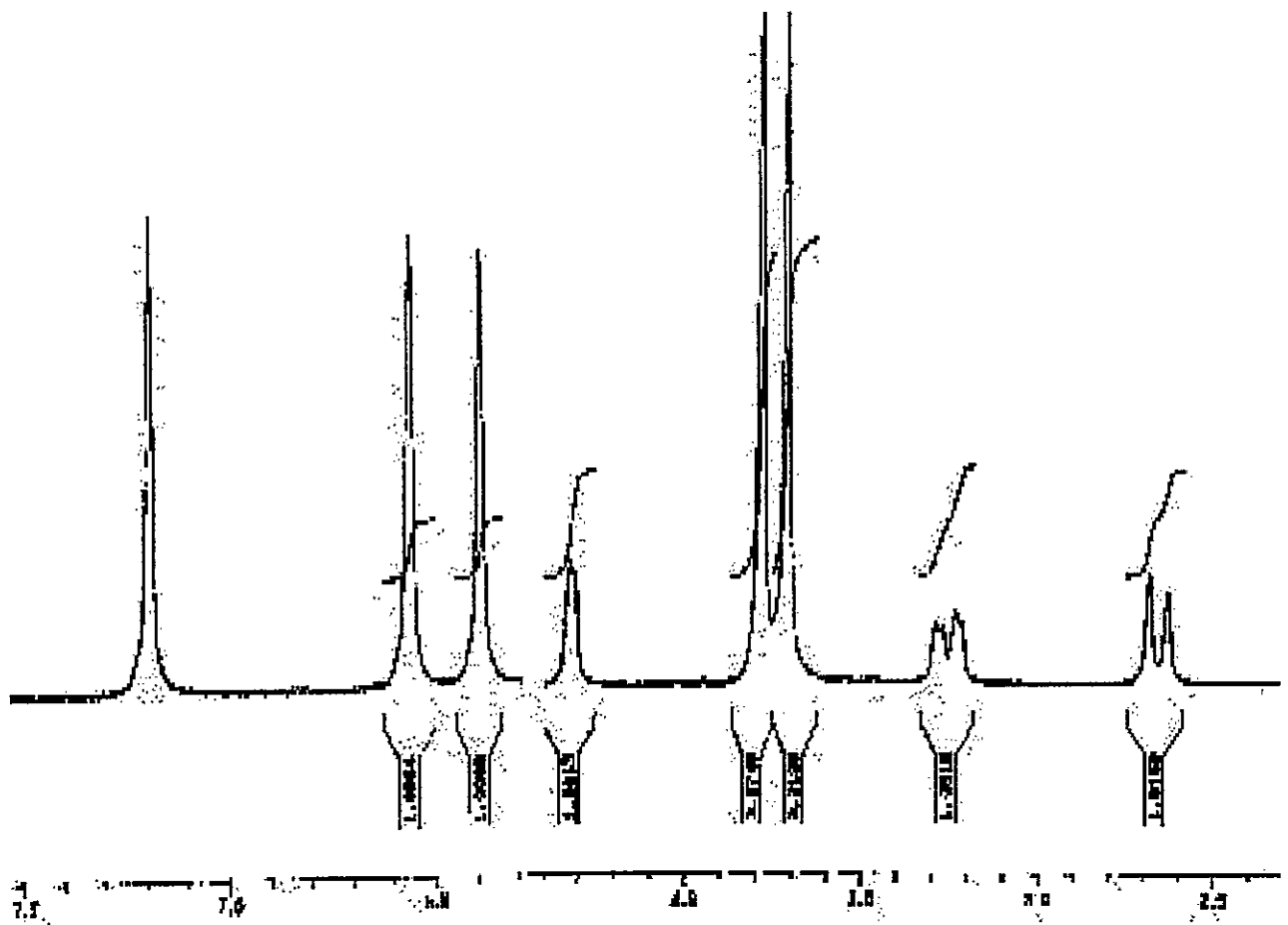
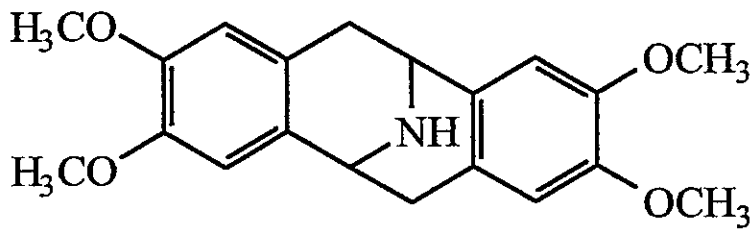
Espectro de RMN-<sup>1</sup>H para  
12-*O*-bencilcoclaurina en DMSO-d<sub>6</sub>



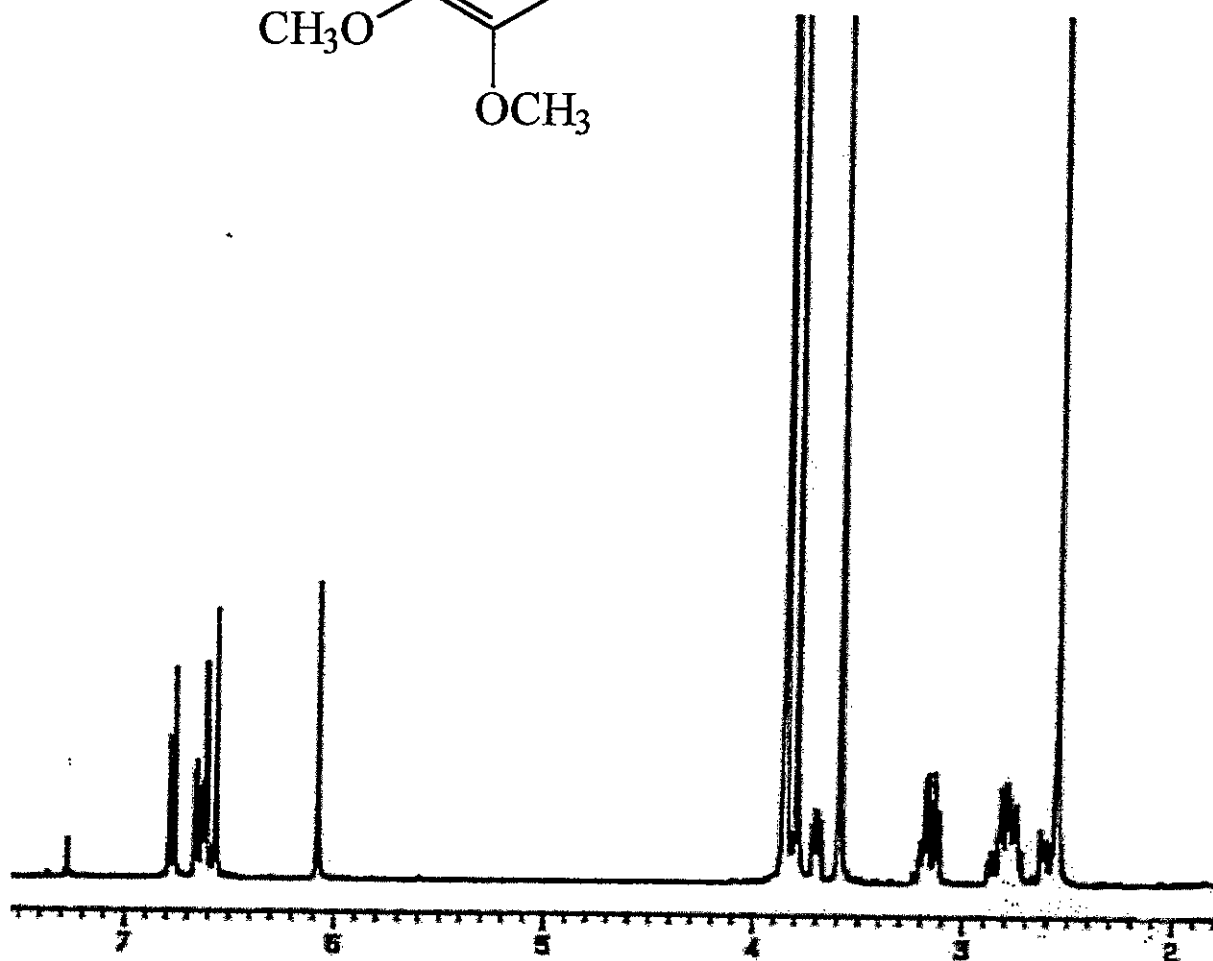
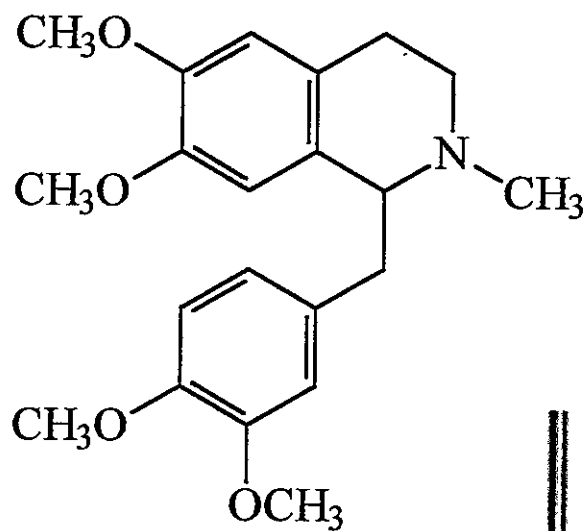
Espectro de RMN-<sup>1</sup>H para  
norlaudanosina en CDCl<sub>3</sub>



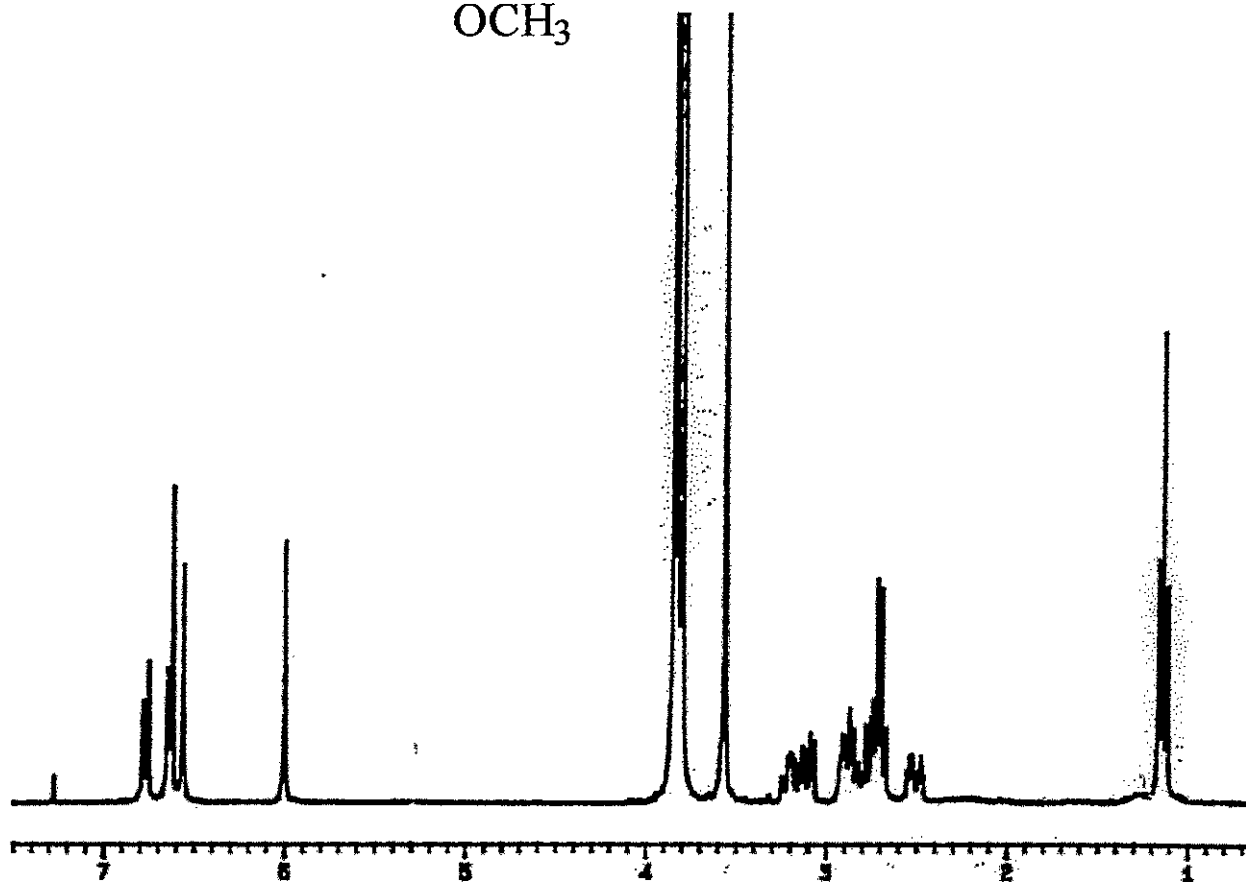
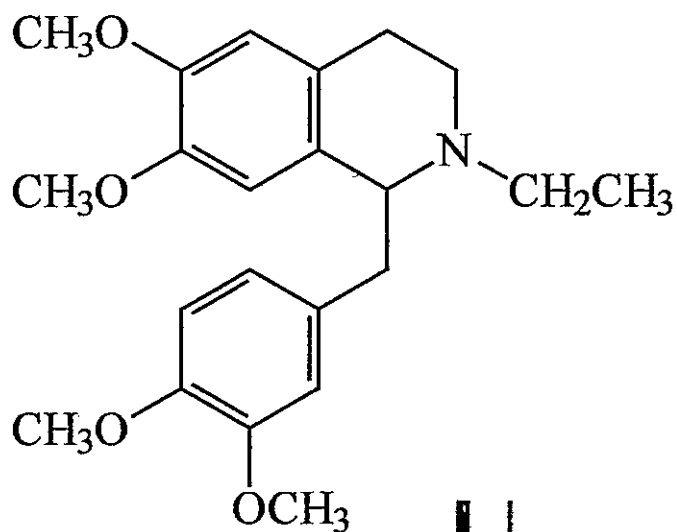
Espectro de RMN-<sup>1</sup>H para  
Pavina en CDCl<sub>3</sub>



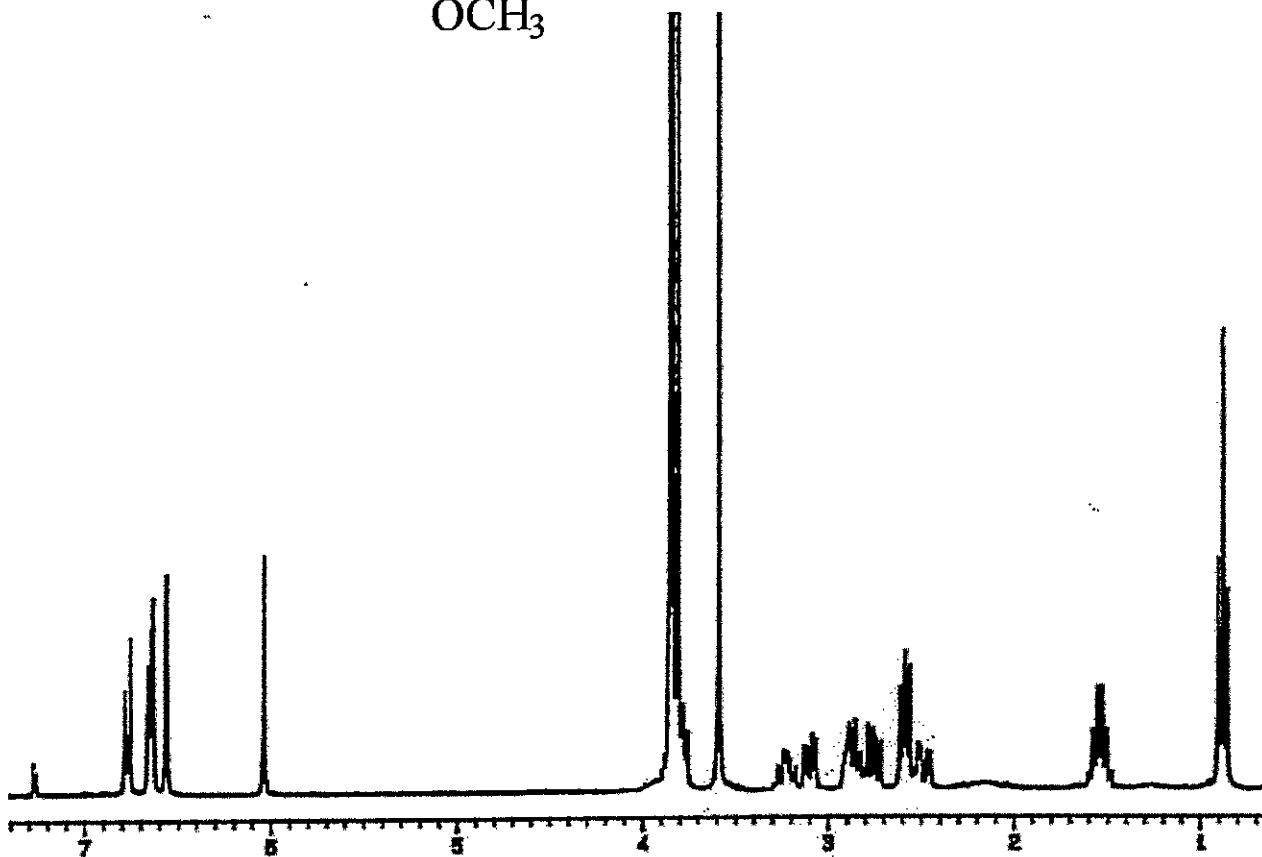
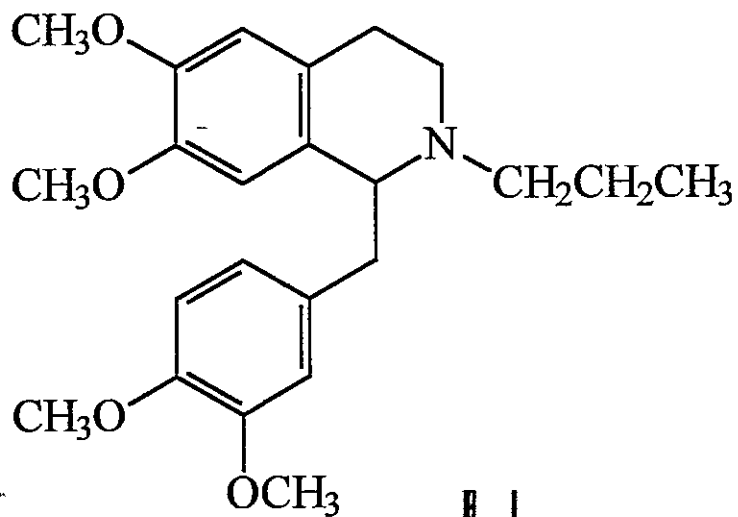
Espectro de RMN-<sup>1</sup>H para  
laudanosina en CDCl<sub>3</sub>

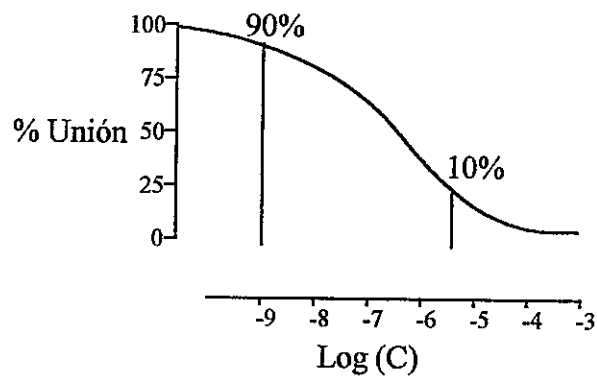
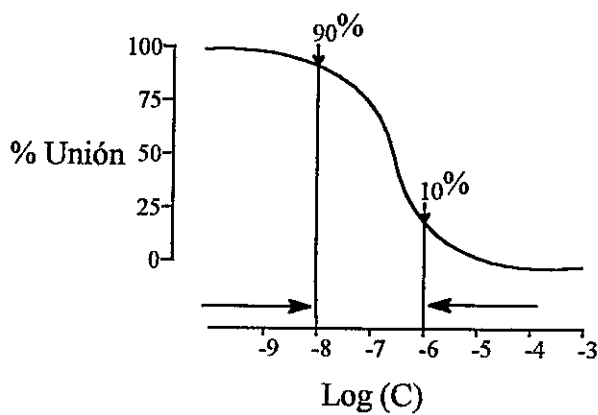


Espectro de RMN-<sup>1</sup>H para  
*N*-etilnorlaudanosina en CDCl<sub>3</sub>



Espectro de RMN-<sup>1</sup>H para  
*N*-propilnorlaudanosina en CDCl<sub>3</sub>



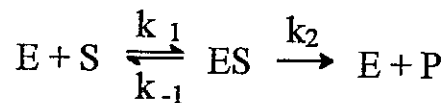


$$Y = \text{Bottom} + \frac{(\text{Top} - \text{Bottom})}{1 + 10^{(x - \text{LogIC}_{50})}}$$

$$Y = \text{Bottom} + \frac{(\text{Top} - \text{Bottom})}{1 + 10^{(x - \text{LogIC}_{50})n_H}}$$



Reacciones que exhiben Cinética de Saturación  
y cálculo de la constante de inhibición  $K_i$



i)  $V_0 = k_2 [ES]$

$$V_{[ES]} = k_1[E][S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES]$$

ii)  $\frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = k_m$

si  $[ES] \gg [E]$

$\Rightarrow [E] = [E_0] - [ES]$  reemplazando en ii)

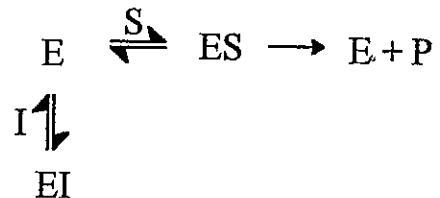
$$\frac{([E_0] - [ES])[S]}{[ES]} = k_m \Rightarrow [ES] = \frac{[E_0][S]}{k_m + [S]} \text{ reemplazando en i)}$$

$\Rightarrow V_0 = \frac{k_2 [E_0][S]}{k_m + [S]}$

considerando  $V_{\max} = k_2 [E_0]$

$$\Rightarrow \boxed{V_0 = \frac{V_{\max}[S]}{k_m + [S]}}$$

Considerando un inhibidor competitivo:



$V_I = \frac{V_{\max}[S]}{k_m (1 + \frac{[I]}{K_i}) + [S]}$  cuando  $I = IC_{50} \Rightarrow V_0 = 2V_I$

$$\frac{2V_{\max}[S]}{k_m (1 + \frac{IC_{50}}{K_i}) + [S]} = \frac{V_{\max}[S]}{k_m + [S]} \text{ reordenando}$$

$IC_{50} = K_i (1 + \frac{[S]}{k_m})$

$\Rightarrow$

$$\boxed{K_i = \frac{IC_{50}}{(1 + \frac{[S]}{k_m})}}$$