

DISEÑO Y SÍNTESIS DE NUEVOS COMPUESTOS N-HETEROCÍCLICOS
FUSIONADOS Y SU BIOPROSPECCIÓN EMPLEANDO EL MODELO DEL PEZ
CEBRA EN BUSQUEDA DE POSIBLES AGENTES BIOACTIVOS

CARLOS EDUARDO PUERTO GALVIS, *MSc*



UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
DOCTORADO EN QUÍMICA
BUCARAMANGA
2018

DISEÑO Y SÍNTESIS DE NUEVOS COMPUESTOS N-HETEROCÍCLICOS
FUSIONADOS Y SU BIOPROSPECCIÓN EMPLEANDO EL MODELO DEL PEZ
CEBRA EN BUSQUEDA DE POSIBLES AGENTES BIOACTIVOS

CARLOS EDUARDO PUERTO GALVIS, *MSc*

TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR EL TÍTULO DE DOCTOR EN QUÍMICA

DIRECTOR

VLADIMIR V. KOUZNETSOV, *PhD, DSc*

DOCTOR EN QUÍMICA



UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE QUÍMICA

DOCTORADO EN QUÍMICA

BUCARAMANGA

2018

DEDICATORIA,

A mis adorados padres, Luz Marina y Carlos Ernesto, quienes a pesar de las dificultades y obstáculos, afrontaron esta vida con la mayor motivación de construir un excelente hogar y así plasmar en sus hijos sus sueños y esperanzas, gracias por tanto amor y dedicación, por enseñarme los mejores valores, siempre los llevare en cada paso que dé en la vida, siempre caminaremos juntos de la mano.

A mi hermana Diana Paola, por ser testigo del largo camino, por recorrerlo a mi lado, por inspirarme, por seguir soñando, y por no desistir nunca.

A mi hermano Santiago, por ser esa pieza perfecta que necesitaba esta familia, por darnos una nueva luz y un nuevo despertar, al que deseamos iluminarle el camino, brindándole más y mejores oportunidades.

A ti, mi amada Lilu, por haber estado a mi lado de manera incondicional en cada tomate de este proceso, por ver en mí una luz cuando no había más que el deseo de que esto funcionara, gracias por ser y estar, por entenderme, aceptarme y amarme a pesar de todo, por haber creído en mí, en nosotros.

AGRADECIMIENTOS

Quisera agradecer de la forma más cordial y afectuosa:

Al Profesor Vladimir V. Kouznetsov, *PhD*, *DSc*. Director de este proyecto y del Laboratorio de Química Orgánica y Biomolecular (LQOBio), gracias por haberme formado en todos los aspectos de la vida, por haber sido más que un maestro, por mostrarme a través de moléculas y reacciones, que la vida es más sencilla si se aplica la química orgánica, aunque a veces esa pasión nos golpee. Gracias por estos años, solo deseo llevar en cada experiencia vivida, en cada paso que dé, su nombre, honrando siempre ese legado que ha dejado en mí, en muchos estudiantes y en muchas familias colombianas, gracias por haber aportado tanto en el desarrollo de este país.

A Diego Rolando Merchán Arenas, por haber creído en mi desde ese primer encuentro, por haberme enseñado y compartido su conocimiento conmigo. Gracias por esa amistad y apoyo incondicional durante todo este tiempo. Espero seguir estando allí, y ojalá esta vida nos retribuya algo de lo que tanto deseamos.

A Catalina Ortiz, gracias por haber creído en mí, en verme como algo más que un tutor, un amigo, gracias por escucharme y confiar en lo poco que pude enseñarle, espero y deseo que tenga grandes éxitos. Gracias por ese apoyo y disponibilidad para escuchar y compartir historias, quejas y alegrías.

A Angelica peñaranda, por confiar, escuchar, atender y estar dispuesta a todo por lograr éxito en esta ciencia, gracias por la amistad y el cariño.

A los miembros del LQOBio que escucharon, valoraron y decidieron aprender.

Al proyecto titulado “Análisis de los cambios fenotípicos del pez Cebra (*Danio rerio*) producidos por nuevas moléculas tetrahydroquinolínicas en busca de potentes y selectivos moduladores genéticos” Código: 1102-569-34597 contrato numero RC-0346-2013, por su apoyo económico para la financiación de este proyecto.

Al Programa Doctorados Nacionales, Convocatoria 617, por el financiamiento otorgado a traves de la beca de sostenimiento.

TABLA DE CONTENIDO

pág.

INTRODUCCIÓN	31
CAPÍTULO 1. PREPARACIÓN DE <i>N</i> -FENILETIL CINAMAMIDAS Y ESTUDIO DE SU TRANSFORMACIÓN A TRAVÉS DE LA REACCIÓN BISCHLER-NAPIERALSKI PARA LA SÍNTESIS CONCISA DE ALCALOIDES TETRAHIDROISOQUINOLÍNICOS	40
1.1 INTRODUCCIÓN	40
1.2 ESTADO DEL ARTE.....	41
1.2.1 Alcaloides zantoxylamidas. Origen, síntesis y propiedades biológicas.....	41
1.2.2 La reacción Bischler-Napieralski. Historia, mecanismo y aspectos generales.	46
1.2.3 El modelo in vivo del pez cebra.	49
1.2.3.1 Toxicidad de pequeñas moléculas en embriones de pez cebra.....	51
1.2.3.2 Cambios fenotípicos en embriones del pez cebra inducidos por pequeñas moléculas.....	54
1.3 HIPÓTESIS.....	58
1.4 OBJETIVOS.....	59
1.4.1 Objetivo general.....	59
1.4.2 Objetivos específicos	59
1.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	60
1.5.1 Síntesis de <i>N</i> -feniletil cinamamidas y su transformación en tetrahidroisoquinolinas a través de la reacción Bischler-Napieralski.....	60

1.5.2 Aplicación del ensayo ZFET para la determinación de la concentración letal media (LC ₅₀) en embriones de pez cebra para los alcaloides zantoxylamida.....	103
1.5.3 Análisis de los cambios fenotípicos en embriones de pez cebra para los alcaloides zantoxylamida.	109
1.6 CONCLUSIONES	122
1.7 PARTE EXPERIMENTAL	124
1.7.1 Preparación de una nueva serie de N-feniletil cinamamidas 33a-t como análogos del protoalcaloide zantoxylamida	126
1.7.2 Preparación de una nueva serie de 1-estiril-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfatos 37a-l a través de la reacción Bichler-Napieralski.....	144
1.7.3 Preparación de una nueva serie de 1-estiril-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas 40a-l en dos etapas a través de la secuencia de reacciones: reducción/metilación reductiva	154
1.7.4 Determinación de la concentración letal media (LC ₅₀) de cada una de las N-feniletil cinamamidas 33a-t en embriones de pez cebra	171
1.7.5 Análisis de los cambios fenotípicos de cada una de las N-feniletil cinamamidas 33a-t en embriones de pez cebra	172
BIBLIOGRAFÍA.....	173
 CAPÍTULO 2. SÍNTESIS BIOMIMÉTICA DE ALCALOIDES 1-FENILETILTETRAHIDROISOQUINOLÍNICOS. TRANSFORMACIÓN QUÍMICA DE LOS PROTOALCALOIDES ZANTOXYLAMIDA A LOS ALCALOIDES <i>DYSOXYLUM</i>	190
2.1 INTRODUCCIÓN	190

2.2 ESTADO DEL ARTE.....	193
2.2.1 Alcaloides 1-feniletiltetrahydroisoquinolínicos. Origen, síntesis y propiedades biológicas.....	193
2.2.2 Transferencia Asimétrica de Hidrógeno (AHT). Historia, mecanismo y aspectos generales.....	204
2.2.3 Cambios fenotípicos inducidos en embriones de pez cebra por tetrahydroisoquinolinas	214
2.3 HIPÓTESIS.....	216
2.4 OBJETIVOS.....	217
2.4.1 Objetivo general.....	217
2.4.2 Objetivos específicos	218
2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	219
2.5.1 Síntesis biomimética de alcaloides 1-feniletiltetrahydroisoquinolínicos. Transformación química de los protoalcaloides zantoxylamida a los alcaloides <i>Dysoxylum</i>	219
2.5.2 Aplicación del ensayo ZFET para la determinación de la concentración letal media (LC ₅₀) en embriones de pez cebra para los alcaloides <i>Dysoxylum</i>	250
2.5.3 Análisis de los cambios fenotípicos en embriones de pez cebra para los alcaloides <i>Dysoxylum</i>	254
2.6 CONCLUSIONES	257
2.7 PARTE EXPERIMENTAL	258

2.7.1 Hidrogenación catalítica de la serie de N-feniletil cinamamidas 33l-t . Preparación de las respectivas N-feniletil-3-fenil-propanamidas 122a-h	260
2.7.2 Preparación de una nueva serie de 1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolinas 123a-i a través de la reacción Bichler-Napieralski	267
2.7.3 Síntesis enantioselectiva de 1-feniletil-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas 125a-r en dos etapas a través de la secuencia de reacciones: Transferencia asimétrica de hidrógeno (AHT)/metilación reductiva.....	275
2.7.4 Determinación de la concentración letal media (LC ₅₀) de cada una de las 1- feniletil-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas 125a-r en embriones de pez cebra	298
2.7.5 Análisis de los cambios fenotípicos de cada una de las 1-feniletil-N-metil- 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas 125a-r en embriones de pez cebra	300
BIBLIOGRAFÍA.....	301
CAPÍTULO 3. PREPARACIÓN DE 1-METIL-B-CARBOLINAS COMO ANÁLOGOS DEL ALCALOIDE HARMINA Y ESTUDIO DE SU TRANSFORMACIÓN QUÍMICA PARA LA OBTENCIÓN DE 1-ESTIRIL- <i>B</i> -CARBOLÍNAS	
3.1 INTRODUCCIÓN	309
3.2 ESTADO DEL ARTE.....	311
3.2.1 Alcaloides β -carbolínicos. Origen, síntesis y propiedades biológicas.	311
3.2.2 Cambios fenotípicos inducidos en embriones de pez cebra por β -carbolinas.	322
3.3 HIPÓTESIS.....	324
3.4 OBJETIVOS.....	326

3.4.1 Objetivo general.....	326
3.4.2 Objetivos específicos	326
3.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	327
3.5.1 Preparación de 1-metil- β -carbolinas como análogos del alcaloide harmina.	327
3.5.2 Transformación química de las 1-metil- β -carbolinas hacia la construcción de nuevos compuestos <i>N</i> -heterociclos.	334
3.5.3 Aplicación del ensayo ZFET para la determinación de la concentración letal media (LC ₅₀) en embriones de pez cebra para los alcaloides β -carbolinas.	353
3.5.4 Análisis de los cambios fenotípicos en embriones de pez cebra para las β - carbolinas.	355
3.6 CONCLUSIONES	358
3.7 PARTE EXPERIMENTAL	360
3.7.1 Acetilación de derivados de triptamina. Preparación de N-acetil triptaminas 174a-b	361
3.7.2 Ciclación de las N-acetil triptaminas 174a-b y su posterior oxidación. Síntesis de alcaloides 1-metil- β -carbolinas 176a-b	363
3.7.3 Derivatización de alcaloides 1-metil- β -carbolinas 176a-b . Reacciones de bromación, cloración, nitración y O-desmetilación.....	367
3.7.4 Determinación de la concentración letal media (LC ₅₀) de cada una de las 1- metil- β -carbolinas 176a-f en embriones de pez cebra.....	372

3.7.5 Análisis de los cambios fenotípicos de cada una de las 1-metil- β -carbolinas	
176a-f en embriones de pez cebra	373
BIBLIOGRAFÍA.....	374
ANEXOS.....	385

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Evaluación de las condiciones óptimas de reacción para la preparación de la <i>N</i> -feniletil cinamamida 33a	61
Tabla 2. Síntesis de <i>N</i> -feniletil cinamamidas 33a-t empleando $B(OCH_2CF_3)_3$ como catalizador.	64
Tabla 3. Propiedades físicas y espectroscópicas de las <i>N</i> -feniletil cinamamidas 33a-t sintetizadas.	66
Tabla 4. Evaluación de la naturaleza del sustrato bajo las condiciones clásicas de la reacción Bischler-Napieralski	75
Tabla 5. Evaluación de las condiciones óptimas de reacción para la preparación del 1-estiril-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato 37g .	85
Tabla 6. Síntesis de 1-estiril-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfatos 37a-l empleando las condiciones establecidas para la reacción Bichler-Napieralski.	87
Tabla 7. Evaluación de las condiciones óptimas de reacción para la preparación de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina 38 .	92
Tabla 8. Síntesis de 1-estiril- <i>N</i> -metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas (±)- 40a-l en dos etapas a través de la secuencia de reacciones: reducción/metilación reductiva.	96
Tabla 9. Propiedades físicas y espectroscópicas de las 1-estiril- <i>N</i> -metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas (±)- 40a-l sintetizadas.	98
Tabla 10. Determinación de la toxicidad (LC_{50}) de las sustancias seleccionadas como controles positivos en embriones de pez cebra empleando el ensayo ZFET.	106
Tabla 11. Determinación de la toxicidad (LC_{50}) de los alcaloides armatamida 33l-t en embriones de pez cebra empleando el ensayo ZFET.	107

Tabla 12. Enfoques recientes para la síntesis total de alcaloides <i>Dysoxylum</i> .	192
Tabla 13. Efecto del extracto y los constituyentes de la planta <i>D. lenticellare</i> en la frecuencia y amplitud de la actividad cardiaca en ratones.	202
Tabla 14. Preparación de las respectivas <i>N</i> -feniletil-3-fenil-propanamidas 122a-h .	222
Tabla 15. Síntesis de 1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolinas 123a-i bajo condiciones alternativas para la reacción Bichler-Napieralski.	225
Tabla 16. Propiedades físicas y espectroscópicas de las 1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolinas 123a-i sintetizadas.	226
Tabla 17. Evaluación de las condiciones óptimas de reacción para la preparación de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (R)- 125^a .	227
Tabla 18. Síntesis enantioselectiva de 1-feniletil- <i>N</i> -metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas 125a-r .	234
Tabla 19. Propiedades físicas y espectroscópicas de las 1-feniletil- <i>N</i> -metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas 125a-r .	241
Tabla 20. Determinación de la toxicidad (LC ₅₀) de los alcaloides <i>Dysoxylum</i> 125a-i en embriones de pez cebra empleando el ensayo ZFET.	253
Tabla 21. Evaluación de las condiciones óptimas de reacción para la oxidación de la 1-metil-3,4-dihidro- β -carbolina 175a .	329
Tabla 22. Evaluación de las condiciones óptimas de reacción para la olefinación oxidativa del harman 176a . Síntesis de la 1-estiril- β -carbolina 178 .	337
Tabla 23. Evaluación de las condiciones óptimas de reacción para la olefinación del harman 176a . Síntesis de la 1-estiril- β -carbolina 178 catalizada por ZnCl ₂ .	341
Tabla 24. Evaluación de las condiciones óptimas de reacción para la	343

olefinación del harman 176a . Síntesis de la 1-estiril- β -carbolina 178 catalizada por ácidos de Lewis y de Brønsted.	
Tabla 25. Evaluación de las condiciones óptimas de reacción para la olefinación del harman 176a . Síntesis de la 1-estiril- β -carbolina 178 empleando catalizadores de indio.	344
Tabla 26. Evaluación de las condiciones óptimas de reacción para la olefinación del harman 176a . Síntesis de la 1-estiril- β -carbolina 178 catalizada por líquidos iónicos.	345
Tabla 27. Evaluación de las condiciones óptimas de reacción para la olefinación del harman 176a . Síntesis de la 1-estiril- β -carbolina 178 empleando catalizadores heterogéneos sulfonados.	347
Tabla 28. Evaluación de las condiciones óptimas para la reacción tándem: Knoevenagel/Michael/Pinner en la preparación de dihidroindolo[2,3-a]quinolizidinas 186 .	350
Tabla 29. Determinación de la toxicidad (LC ₅₀) de las β -carbolinas 176a-f en embriones de pez cebra empleando el ensayo ZFET.	354

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principales metabolitos secundarios de las plantas <i>Z. rubescens</i> y <i>Z. armatum</i> DC.	42
Figura 2. Derivados naturales y sintéticos, análogos al alcaloide armatamida 9 , con propiedades biológicas.	45
Figura 3. Alcaloides isoquinolínicos preparados a través de la reacción Bischler-Napieralski.	48
Figura 4. A) Estadios del pez cebra, embrión, larva y adulto. B) ciclo de vida del pez cebra.	50
Figura 5. A) Órganos y tejidos homólogos en el pez cebra y los humanos. B) Similitud en el desarrollo temprano de los vertebrados.	52
Figura 6. Enfoques utilizados en el desarrollo y descubrimiento de nuevos fármacos. <i>Target-Based Screens</i> y <i>Phenotypic Screens</i> utilizando el modelo del pez cebra.	55
Figura 7. Fenotipos de comportamiento (ansiedad) inducidos en el pez cebra por la capsaicina 30 .	56
Figura 8. Intercalación de la AO con el ADN afectado por pequeñas moléculas para la identificación de compuestos antitumorales en el modelo del pez cebra.	58
Figura 9. Espectro infrarrojo de la <i>N</i> -(3,4-dimetoxifeniletíl)-3,4-metilendioxi-cinamamida 33p .	68
Figura 10. Fragmentograma (IE, 70 eV) obtenido para el compuesto 33p a través de espectrometría de masas.	69
Figura 11. Espectro de ^1H RMN de la <i>N</i> -(3,4-dimetoxifeniletíl)-3,4-metilendioxi-cinamamida 33p .	70
Figura 12. Espectro de ^{13}C RMN de la <i>N</i> -(3,4-dimetoxifeniletíl)-3,4-metilendioxi-cinamamida 33p .	72
Figura 13. Espectro DEPT-135 de la <i>N</i> -(3,4-dimetoxifeniletíl)-3,4-	73

metilendioxi-cinamamida **33p**.

Figura 14. Diagrama ORTEP del 1-(3,4,5-trimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37i**. 78

Figura 15. Espectro infrarrojo del 1-estiril-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37g**. 80

Figura 16. Espectro de ^1H RMN del 1-estiril-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37g**. 81

Figura 17. Espectro de ^{13}C RMN del 1-estiril-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37g**. 83

Figura 18. Espectro DEPT-135 del 1-estiril-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37g**. 84

Figura 19. Espectro de IR del 1-(4-hidroxi-3-metoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37l**. 89

Figura 20. Espectro de ^1H -RMN del 1-(4-hidroxi-3-metoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37l**. 90

Figura 21. Espectro de ^{13}C -RMN del 1-(4-hidroxi-3-metoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37l**. 91

Figura 22. Espectro de ^1H RMN de la 1-estiril-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina ($\pm$)-**38**. 95

Figura 23. Espectro infrarrojo de la 1-(3,4-dimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **6h**. 99

Figura 24. Espectro de ^1H RMN de la 1-(3,4-dimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina ($\pm$)-**40h**. 100

Figura 25. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-(3,4-dimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina ($\pm$)-**40h**. 102

Figura 26. Fármacos y compuestos seleccionados como controles positivos para la determinación de la toxicidad en embriones de pez cebra. 105

Figura 27. Valores de LC_{50} promedio para los alcaloides zantoxylamida 109

y su comparación con los controles positivos seleccionados en embriones de pez cebra tras 96 hpf.	
Figura 28. Tamaño de los embriones expuestos a los controles positivos 41-47 a las 96 hpf calculado a través del software DanioScope™.	112
Figura 29. Tamaño del ojo en los embriones expuestos a los controles positivos 41-47 a las 96 hpf calculado a través del software DanioScope™.	114
Figura 30. Edemas pericárdiacos manifestados en los embriones expuestos a los controles positivos 41-47 a las 96 hpf calculado a través del software DanioScope™.	116
Figura 31. Edemas en el saco vitelino manifestados en los embriones expuestos a los controles positivos 41-47 a las 96 hpf calculado a través del software DanioScope™.	118
Figura 32. Registro fotográfico de los cambios fenotípicos inducidos por los controles positivos 41-47 en embriones de pez cebra a las 96 hpf.	119
Figura 33. A) Tamaño de los embriones. B) Tamaño del ojo. C) Edemas pericárdiacos. D) Edemas en el saco vitelino; manifestados en los embriones expuestos a las cinamamidas 33n , 33o , 33p y 33q a las 96 hpf, calculados a través del software DanioScope™.	121
Figura 34. Registro fotográfico de los cambios fenotípicos inducidos por las cinamamidas 33n , 33o , 33p y 33q en embriones de pez cebra a las 96 hpf.	122
Figura 35. Metabolitos de la familia de los alcaloides <i>Dysoxylum</i> .	191
Figura 36. Alcaloides 1-feniletiltetrahidroisoquinolínicos aislados de fuentes naturales.	194
Figura 37. Principales cambios fenotípicos inducidos por la <i>N</i> -metil-tetrahidroisoquinolína 121 .	214
Figura 38. Cambios fenotípicos relacionados con el desarrollo y la	216

actividad cardiaca en el pez cebra. **A** edemas pericárdiacos y malformaciones en la cámara ventricular (V) y auricular (A) inducidas por etanol. B edemas pericárdiacos y malformaciones en la cámara ventricular (V) y auricular (A) al afectar la proteína Lrrc10.

Figura 39. Espectro de ^1H RMN de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-propanamida **122c**. 223

Figura 40. Espectro de ^1H RMN de la 6,7-dimetoxi-1-(4-acetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123f**. 227

Figura 41. Cromatogramas obtenidos a través del análisis HPLC empleando columna quiral para la identificación de los enantiómeros (*R*)-**125a** y (*S*)-**125j**. 233

Figura 42. Complejos de rutenio y sus requerimientos estructurales para ser empleados en reacciones AHT. 238

Figura 43. Espectro infrarrojo de la (*S*)-6,7-dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125n**. 243

Figura 44. Espectro de ^1H RMN de la (*S*)-6,7-dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125n**. 244

Figura 45. Espectro de ^{13}C RMN de la (*S*)-6,7-dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125n**. 245

Figura 46. Espectro DEPT-135 de la (*S*)-6,7-dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125n**. 246

Figura 47. Espectro infrarrojo de la (*S*)-6,7-dimetoxi-1-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125q** como evidencia de la desprotección de los productos *O*-acetilados. 248

Figura 48. **A)** Espectro ^1H RMN y **B)** Espectro ^{13}C RMN de la (*S*)-6,7-dimetoxi-1-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125q**, evidencia de la desacetilación. 249

Figura 49. Valores de LC_{50} promedio para los alcaloides *Dysoxylum* y su comparación con los controles positivos seleccionados. 254

Figura 50. A) Tamaño de los embriones. B) Tamaño del ojo. C) Edemas pericárdiacos. D) Edemas en el saco vitelino; manifestados en los embriones expuestos a los alcaloides 125b-e y 125k-n a las 96 hpf, calculados a través del software DanioScope™.	256
Figura 51. Registro fotográfico de los cambios fenotípicos inducidos por a los alcaloides 125b-e y 125k-n en embriones de pez cebra a las 96 hpf.	257
Figura 52. Alcaloides β -carbolínicos más representativos aislados de las semillas de la planta <i>P. Harmala</i> (126-129) y de organismos marinos (130-132).	310
Figura 53. Estructura de las carbolinas y sus isómeros estructurales.	312
Figura 54. Alcaloides β -carbolínicos aislados de fuentes naturales tanto vegetales como animales.	313
Figura 55. Estudios SAR realizados para las β -carbolinas. Planaridad y efecto de los sustituyentes sobre la actividad antitumoral.	316
Figura 56. Moléculas bioactivas con el núcleo β -carbolina.	317
Figura 57. Moléculas con el núcleo β -carbolínico que presentan actividad citotóxica.	318
Figura 58. Harmina 127 y fármacos reconocidos (163-164) que generan resistencia en células de cáncer de mama.	319
Figura 59. A Ratones inoculados con células HCT116. B Ratones inoculados con células HCT116 que recibieron tratamiento diario del compuesto JKA97 166 por 21 días.	320
Figura 60. Citotoxicidad del compuesto JKA97 166 en tres líneas celulares y tumores removidos que fueron infectados con células MDA-MB-468 y tratados a diario por 18 días.	321
Figura 61. Citotoxicidad del compuesto 169 en la línea celular HCT116 y tumores removidos que fueron infectados con estas células y tratados a diario por 21 días.	322

Figura 62. Cambios fenotípicos inducidos en el pez cebra por la β -carbolina 170 tras 30 hpf.	323
Figura 63. Cambios fenotípicos inducidos en el pez cebra por la β -carbolina 171 tras 96 hpf.	323
Figura 64. Actividad anti-angiogénica determinada en embriones de pez cebra transgénicos <i>Tg(fli1:EGFP)^{y1}</i> inducidas por la β -carbolina 172 .	324
Figura 65. Distribución de carga para el harman 176a , predicción de su reactividad en reacciones de sustitución electrofílica aromática (S_EAr).	330
Figura 66. Región aromática ampliada del espectro 1H RMN de la 6-bromo-1-metil- β -carbolina 176c .	332
Figura 67. Región aromática ampliada del espectro 1H RMN de la 8-nitro-1-metil- β -carbolina 176e .	334
Figura 68. Actividad antitumoral de la harmina 176b y los análogos del compuesto JKA97.	335
Figura 69. Espectro 1H RMN de la 1-(4-metoxiestiril)- β -carbolina 178 .	339
Figura 70. Fragmentograma (IE, 70 eV) obtenido para el compuesto 178 a través de espectrometría de masas.	340
Figura 71. Cromatograma para el compuesto 178 obtenido a través de CG-FID.	340
Figura 72. Espectro infrarrojo de la dihidroindolo[2,3-a]quinolizidina 186a .	351
Figura 73. Espectro 1H RMN de la dihidroindolo[2,3-a]quinolizidina 186a .	352
Figura 74. Fluorescencia de los compuestos 186a-b , en solución etanolica, en comparación con el harman 176a al ser expuestos a una luz ultravioleta (254 nm).	353
Figura 75. Valores de LC_{50} promedio para las β -carbolineas y su comparación con los controles positivos seleccionados.	355

Figura 76. A) Tamaño de los embriones. B) Tamaño del ojo. C) Edemas pericárdiacos. D) Edemas en el saco vitelino; manifestados en los embriones expuestos a las β -carbolinas **176a-b** y **176e-f** a las 96 hpf, calculados a través del software DanioScope™. 357

Figura 77. Registro fotográfico de los cambios fenotípicos inducidos por las β -carbolinas **176a-b** y **176e-f** en embriones de pez cebra a las 96 hpf. 358

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Síntesis total de los protoalcaloides rubemamina 8 y zantosina 9 promovida por $(\text{COCl})_2$ y reportada recientemente sin indicar el rendimiento.	43
Esquema 2. Síntesis total del protoalcaloide armatamida 10 (44 %), reportada junto con su aislamiento (0.048 %).	44
Esquema 3. Esquema general de la reacción Bischler-Napieralski. Síntesis de 3,4-dihidroisoquinolinas y 3,4-dihidrocarbolinas.	46
Esquema 4. Mecanismo de reacción propuesto para la reacción Bischler-Napieralski.	47
Esquema 5. Síntesis de eudistomidina B 29 empleando la reacción Bischler-Napieralski.	48
Esquema 6. Análisis retrosintético para las 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas.	58
Esquema 7. Posible interacción entre el ácido cinámico 32 y el $\text{B}(\text{OCH}_2\text{CF}_3)_3$.	65
Esquema 8. Mecanismo de reacción propuesto para la formación de las cinamamidas.	66
Esquema 9. Posible ruta de fragmentación de la <i>N</i> -(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4-metilendioxi-cinamamida 33p .	69
Esquema 10. Reacción Bichler-Napieralski a temperatura ambiente de la cinamamida 33l en el líquido iónico $[\text{Bmim}]\text{PF}_6$.	77
Esquema 11. Descomposición e intercambio iónico sobre el $[\text{Bmim}]\text{PF}_6$ para la formación del 1-(3,4,5-trimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato 37i .	79
Esquema 12. Síntesis de <i>N</i> -feniletil cinamamidas 33a-t a través de la condensación directa entre ácidos y aminas catalizada por $\text{B}(\text{OCH}_2\text{CF}_3)_3$.	127

Esquema 13. Síntesis de 1-estiril-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfatos 37a-l a través de la reacción Bichler-Napieralski promovida por el líquido iónico [bmim]PF ₆ .	144
Esquema 14. Síntesis de 1-estiril- <i>N</i> -metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas 40a-l en dos etapas a través de la secuencia de reacciones: reducción/metilación reductiva.	155
Esquema 15. Determinación de la CL ₅₀ en embriones de pez cebra para las moléculas 33a-t .	172
Esquema 16. Determinación de los cambios fenotípicos en embriones de pez cebra para las moléculas 33a-t a concentraciones por debajo de la CL ₅₀ .	173
Esquema 17. Primeras estrategias desarrolladas para la síntesis total de alcaloides <i>Dysoxylum</i> .	195
Esquema 18. Alilación asimétrica de iminas cíclicas aplicada a la síntesis total de (<i>S</i>)-homolaudanosina 50 .	197
Esquema 19. Reacción Julia-Kocienski aplicada a la síntesis total de (<i>S</i>)-dixosilina 49 .	198
Esquema 20. Reacción alquilación asimétrica aplicada a la síntesis total de (<i>S</i>)-dixosilina 49 .	199
Esquema 21. Reacción Pictet-Spengler enantioselectiva aplicada a la síntesis total de (<i>R</i>)-(+)-colchietina 81 .	200
Esquema 22. Reacción dominó Mukaiyama-Mannich aplicada a la síntesis racémica de (±)-homolaudanosina 50 .	201
Esquema 23. Síntesis de la 1-feniletiltetrahidroisoquinolína 93 , precursor del (<i>R</i>)-(+)-almorexant 94 .	204
Esquema 24. Esquema general de una reacción de Transferencia Asimétrica de Hidrógeno.	205
Esquema 25. Principales catalizadores empleados en las reacciones AHT.	206

Esquema 26. Interconversión entre los complejos amido 99 y amino hídrido 100 de Ru, catalizadores moleculares bifuncionales.	208
Esquema 27. Posible mecanismo de reacción para la AHT de iminas cíclicas 101 en aminas quirales 103 .	209
Esquema 28. Síntesis enantioselectiva de (<i>R</i>)-1-metil-6,7- dimetoxitetrahydroisoquinolina 105 .	210
Esquema 29. Síntesis enantioselectiva de (<i>R</i>)-1-metil-6,7- dimetoxitetrahydroisoquinolina 105 empleado el complejo 196 soportado en espuma mesocelular sílicea.	211
Esquema 30. Síntesis enantioselectiva de α - trifluorometilaminas 107 empleado formiato de sodio como fuente de H.	212
Esquema 31. Reacción AHT empleada para la reducción enantioselectiva de quinolinas bajo atmosfera de hidrógeno.	212
Esquema 32. Reacción AHT empleando alcoholes como fuente alternativa de hidrógeno y bajo la catálisis de complejos de iridio.	212
Esquema 33. Análisis retrosintético de la (S)-dixosilina empleando como principales estrategias la reacción Bischler-Napieralski y la reacción AHT.	217
Esquema 34. Análisis retrosintético planteado para la obtención de los alcaloides <i>Dysoxylum</i> .	219
Esquema 35. Análisis retrosintético replanteado para la obtención de los alcaloides <i>Dysoxylum</i> .	221
Esquema 36. Activación del pre-catalizador 9 y formación de la especie catalítica 26 .	239
Esquema 37. Posible mecanismo de reacción para explicar la enantioselectividad de la reacción AHT y la formación de los derivados tetrahydroisoquinolínicos 124 .	241
Esquema 38. Hidrogenación catalítica de las <i>N</i> -feniletil cinamamidas 33I-t . Preparación de las respectivas <i>N</i> -feniletil-3-fenil-propanamidas	260

122a-h.

Esquema 39. Síntesis de 1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolinas 123a-i a través de la reacción Bichler-Napieralski.	268
Esquema 40. Síntesis de 1-estiril- <i>N</i> -metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas 125a-r , alcaloides <i>Dysoxylum</i> , en dos etapas a través de la secuencia de reacciones: reacción AHT/metilación reductiva.	277
Esquema 41. Determinación de la CL ₅₀ en embriones de pez cebra para las moléculas 125a-r .	299
Esquema 42. Determinación de los cambios fenotípicos en embriones de pez cebra para las moléculas 125a-r a concentraciones por debajo de la CL ₅₀ .	301
Esquema 43. Reacciones Bischler-Napieralski y Pictet-Spengler en la construcción del núcleo β -carbolínico.	313
Esquema 44. Síntesis de eudistomina Y ₃ 144 empleando la reacción Bischler-Napieralski.	314
Esquema 45. Síntesis de eudistomina I 149 empleando la reacción Pictet–Spengler.	315
Esquema 46. Síntesis de la tetrahidrocarbolína 152 , posible precursor del Tadalafilo.	316
Esquema 47. Síntesis de la β -carbolina JKA97 166 .	319
Esquema 48. Síntesis del derivado 169 y su actividad citotóxica en varias líneas celulares.	321
Esquema 49. Análisis retrosintético del compuesto JKA97 empleando como principales estrategias la reacción de olefinación oxidativa y el acoplamiento oxidativo de enlaces C _{sp3} -H.	325
Esquema 50. Secuencia de reacciones: <i>N</i> -acetilación/Bischler-Napieralski para la obtención de las 1-metil-3,4-dihidro- β -carbolinas 175a-b .	328

Esquema 51. Bromación y cloración de la 1-metil- β -carbolina 176a . Síntesis de la 6-bromo-1-metil- β -carbolina 176c y 6-cloro-1-metil- β - carbolina 176d .	331
Esquema 52. Nitración de la 1-metil- β -carbolina 176a . Síntesis de la 8- nitro-1-metil- β -carbolina 176e .	333
Esquema 53. O-Desmetilación de la 1-metil- β -carbolina 176b . Síntesis del alcaloide harmol 176f .	334
Esquema 54. Síntesis de la pirido[2,1- <i>a</i>]isoquinolina 185 vía reacción tándem Knoevenagel/Michael/Pinner.	348
Esquema 55. Preparación de <i>N</i> -acetil triptaminas 174a-b .	362
Esquema 56. Síntesis de alcaloides 1-metil- β -carbolinas 176a-b .	364
Esquema 57. Bromación de la 1-metil- β -carbolina 176a .	367
Esquema 58. Cloración de la 1-metil- β -carbolina 176a .	368
Esquema 59. Nitración de la 1-metil- β -carbolina 176a .	369
Esquema 60. O-Desmetilación de la 1-metil- β -carbolina 176b .	370
Esquema 61. Determinación de la CL ₅₀ en embriones de pez cebra para las moléculas 176a-f .	373
Esquema 62. Determinación de los cambios fenotípicos en embriones de pez cebra para las moléculas 176a-f a concentraciones por debajo de la CL ₅₀ .	374

LISTA DE ANEXOS

ANEXOS 1-20. Información espectral relacionada con las <i>N</i> -feniletil cinamamidas preparadas 33a-t	386
ANEXOS 21- 32. Información espectral relacionada con las 1-estiril-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfatos 37a-l	435
ANEXOS 33-44. Información espectral relacionada con las 1-estiril- <i>N</i> -metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas 40a-l	461
ANEXOS 45-52. Información espectral relacionada con las <i>N</i> -feniletil-3-fenil-propanamidas 122a-h	490
ANEXOS 53-61. Información espectral relacionada con las 1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolinas 123a-i	507
ANEXOS 62-79. Información espectral relacionada con las 1-feniletil- <i>N</i> -metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas 125a-r	526
ANEXOS 80-81. Información espectral relacionada con las <i>N</i> -acetil triptaminas 174a-b	581
ANEXOS 82-87. Información espectral relacionada con las 1-metil- β -carbolinas 176a-b	586

TITULO: DISEÑO Y SÍNTESIS DE NUEVOS COMPUESTOS N-HETEROCÍCLICOS FUSIONADOS Y SU BIOPROSPECCIÓN EMPLEANDO EL MODELO DEL PEZ CEBRA EN BUSQUEDA DE POSIBLES AGENTES BIOACTIVOS[†]

AUTOR: CARLOS EDUARDO PUERTO GALVIS^{††}

PALABRAS CLAVE: Zantoxylamida, alcaloides *Dysoxylum*, β -carbolínicos, modelo del pez cebra, síntesis enantioselectiva, toxicidad, cambios fenotípicos.

CONTENIDO:

Reconociendo la importancia biológica de las cinamamidas, se recopiló información relacionada con algunos de estos derivados de origen natural en donde estuviera presente la función amida como unidad farmacófora, identificando así la zantoxylamida y la armatamida. Tras la preparación de estos protoalcaloides y sus derivados, su utilidad sintética fue evaluada en la síntesis total de productos naturales de mayor complejidad estructural como lo son aquellos alcaloides isoquinolínicos aislados de la planta *Dysoxylum lenticellare*, reportando dos enfoques: primero, la síntesis concisa de estos derivados como mezclas racémicas, y segundo, empleando la reacción de Noyori para la obtención de tetrahidroisoquinolínicos quirales, ampliando su diversidad estructural y explorando su actividad biológica.

Para complementar el estudio de las reacciones empleadas durante la preparación de los alcaloides *Dysoxylum*, se implementó la transformación Bischler-Napieralski para la síntesis de alcaloides β -carbolínicos, en especial aquellos aislados de la planta *Peganum harmala* y que son conocidos como harminas. Tras realizar un estudio para la transformación de estos derivados en análogos al compuesto sintético JKA97, el cual ha demostrado ser un agente antitumoral efectivo, no fue posible alcanzar este objetivo, aunque durante este estudio se logró preparar con éxito las dihidroindolo[2,3-a]quinolizidinas como derivados de las harminas los cuales prometen abrir una nueva línea de investigación en química orgánica.

Por último, se estandarizó el modelo *in vivo* del pez cebra para la evaluación biológica de las moléculas preparadas: alcaloides armatamida, tetrahidroisoquinolínicos y β -carbolínicos, determinando su toxicidad y estudiando los principales cambios morfológicos inducidos durante el desarrollo del pez cebra a través del análisis fenotípico. Enfoque y resultados que permitirán identificar en estudios superiores las posibles dianas biológicas que estén siendo perturbadas, además de realizar un cribado para seleccionar aquellas moléculas más promisorias para ser destinadas a bioensayos avanzados, contribuyendo al desarrollo de agentes con actividad cardíaca y antitumoral.

[†] Tesis de Doctorado.

^{††} Facultad de Ciencias, Escuela de Química. Vladimir V. Kouznetsov, Ph.D., DSc.

TITLE: DESIGN AND SYNTHESIS OF NEW FUSED N-HETEROCYCLE COMPOUNDS AND THEIR BIOPROSPECTION USING THE ZEBRAFISH EMBRYO MODEL IN PURSUIT OF POSSIBLE BIACTIVE AGENTS[†]

AUTHOR: CARLOS EDUARDO PUERTO GALVIS^{††}

KEYWORDS: Zanthoxylamide, *Dysoxylum* and β -carboline alkaloids, zebrafish embryo model, enantioselective synthesis, toxicity, phenotypic changes.

CONTENIDO:

Hilglighting the biological importance of cinnamamides, information related to some of these derivatives of natural origin was collected where the amide function was present as a pharmacophoric unit, thus identifying the alkaloids zanthoxylamide and armatamide. After having prepared these protoalkaloids and their derivatives, its synthetic utility was evaluated in the total synthesis of natural products of major structural complexity as are those isoquinolinic alkaloids isolated from the plant *Dysoxylum lenticellare*, through two approaches: first, the concise synthesis of these derivatives as racemic mixtures, and second, using the Noyori reaction to obtain chiral tetrahydroisoquinolines, expanding its structural diversity and exploring its biological activity.

In order to complement the study of the reaction used during the preparation of the *Dysoxylum* alkaloids, the Bischler-Napieralski transformation was implemented for the synthesis of the β -carboline alkaloids, especially those isolated from the plant *Peganum harmala* and known as harmines. After having studied its transformation in analogues of the synthetic compound JKA97, a potent and selective antitumoral agent, this goal was not possible to achieve. However, during this study the respective dihydroindolo[2,3-a]quinolizidines were prepared from harmine derivatives, representing a promising research field in organic chemistry.

Finally, the zebrafish embryo model was standardized for the biological evaluation of the synthesized molecules: zanthoxylamide, tetrahydroisoquinoline and β -carboline alkaloids, determining their toxicity and studying the principal morphologic changes induced during the zebrafish development after the chemical treatment. This approach and the results obtained will allow to be identified, in high level studies, the possible perturbed biological targets, besides of a screening to select those most promising molecules in order to contribute to the development of new agents with cardiac and antitumoral activity.

[†] PhD Thesis.

^{††} Faculty of Sciences, School of Chemistry. Vladimir V. Kouznetsov, Ph.D., DSc.

INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente, la química orgánica fue reconocida dentro de las ciencias químicas como una herramienta empleada para la preparación de moléculas de origen natural, si bien en sus inicios no pretendía imitar el trabajo realizado por la naturaleza, el reto de la síntesis total de varios metabolitos secundarios permitió el desarrollo de nuevas metodologías y estrategias de síntesis que de manera acelerada facilitaron la obtención de estos productos a escala de laboratorio. Durante los años, el rol de la química orgánica evolucionó junto con la química medicinal, reconociendo que muchas de las entidades químicas descubiertas tanto de origen natural o sintético, exhibían propiedades biológicas que resultaban benéficas para el ser humano. De esta manera, estas dos áreas se interesaron por realizar un trabajo conjunto para preparar derivados bioactivos a escala industrial, desarrollando nuevas estrategias sintéticas más versátiles y eficientes. Sin embargo, nuestra sociedad enfrentaría nuevos retos y necesidades a las cuales también se les encontró solución en la química orgánica, como por ejemplo la demanda energética, suplida por el desarrollo de pequeñas moléculas que actúan como semiconductores, o la escasez de minerales que ha motivado la implementación de metodologías sintéticas libres de metales de transición.

En la actualidad, se puede establecer con total certeza que el campo de acción de la química orgánica es bastante amplio, desde reducir el número de etapas que conlleva la síntesis de un producto natural, imitando los procesos bioquímicos que

tienen lugar en plantas, bacterias y hongos, pasando por el diseño de estrategias para la formación de nuevos enlaces con el fin de reducir el costo de la preparación de fármacos esenciales, hasta la construcción de moléculas más complejas que han servido para la fabricación de nuevos materiales; avances que han sido reconocidos en los 24 premios Nobel otorgados a investigadores en esta área.

De esta forma, el Laboratorio de Química Orgánica y Biomolecular, motivado en su visión y objetivos, se propuso ampliar sus líneas de investigación hacia el diseño, síntesis y bioprospección de nuevos compuestos N-heterocíclicos; esfuerzos que se condensaron y fueron discutidos en tres capítulos, subdivididos cada uno con sus respectivas secciones (Introducción, Estado del arte, Hipótesis, Objetivos, Resultados, Conclusiones, Parte experimental y Bibliografía), aunque para la identificación de cada molécula se empleó una numeración continua a lo largo del escrito.

En primer lugar, se identificaron los protoalcaloides rubemamina, armatamida y zantosina, una serie de *N*-feniletil cinamamidas aisladas de las plantas del género *Zanthoxylum*, que inspiraron el diseño de un protocolo de síntesis para su preparación empleando un catalizador de boro que demostró una gran actividad catalítica, el tris-(2,2,2-trifluoroetil)borato ($\text{B}(\text{OCH}_2\text{CF}_3)_3$). Agente que permitió la obtención de otras 20 *N*-feniletil cinamamidas en excelentes rendimientos y con una amplia versatilidad estructural que permitieron el estudio de nuevas estrategias para su transformación en alcaloides isoquinolínicos.

En segundo lugar, y con el fin de desarrollar en nuestro laboratorio conceptos de síntesis total y enantioselectiva, se planteó y perfeccionó un análisis retrosintético para la preparación de alcaloides *Dysoxylum*, un grupo de alcaloides tetrahidroisoquinolínicos aislados de la planta *Dysoxylum lenticellare*. La estrategia sintética planteada tenía como objetivo la síntesis total de estos alcaloides a partir de las correspondientes *N*-feniletil cinamamidas preparadas previamente, describiendo así la síntesis biomimética de estos derivados isoquinolínicos. Estos compuestos, una librería de 18 derivados, fueron obtenidos en cinco etapas con excelentes rendimientos globales y enantioselectividad, empleando la reacción Bischler-Napieralski para la preparación del núcleo isoquinolínico y la reacción de Transferencia Asimetría de hidrógeno (AHT) para la construcción del centro estereogénico, describiendo por primera vez la síntesis biomimética de estos derivados.

Por último, la preparación de los alcaloides harman y harmina (*Peganum harmala*) se realizó en base en las reacciones Bischler-Napieralski/oxidación en rendimientos moderados y esta discutida en el tercer capítulo. Estos compuestos fueron transformados mediante reacciones de sustitución electrofílica aromática en una pequeña serie de β -carbolinas, las cuales fueron utilizadas como precursores de análogos al derivado sintético JKA97. Sin embargo, tras un exhaustivo estudio de las condiciones de reacción, solo fue posible obtener este tipo de derivados en un rendimiento muy bajo, aunque dentro de la evaluación de las estrategias sintéticas para la preparación de las moléculas de interés se encontró una

reacción que permitió la construcción del sistema dihidroindolo[2,3-a]quinolizidina que promete tener aplicaciones en el desarrollo de nuevos dispositivos emisores de luz (OLEDs).

Adicionalmente, en cada capítulo se realizó la determinación de la toxicidad (LC₅₀) y los cambios fenotípicos inducidos en el modelo del pez cebra. Así, se discute y compara los resultados obtenidos con los observados y determinados para algunos fármacos reconocidos que fueron empleados como controles positivos, revelando el perfil tóxico y farmacológico de las cinamamidas, los alcaloides *Dysoxylum* y las β -carbolinas.

Al revisar la información literaria sobre el estado actual que soportó esta investigación, se encontró que los protocolos reportados hasta el momento presentaban ciertas dificultades y desventajas que limitaban su implementación a gran escala, proponiendo un reto a la química orgánica en este sentido. De esta forma nuestro laboratorio, aún comprometido con los problemas actuales de la química orgánica y la química medicinal, muestra los resultados obtenidos durante este trabajo de investigación, donde se introducen estrategias para la preparación de nuevas moléculas heterocíclicas nitrogenadas y su evaluación biológica a través del desarrollo de un modelo *in vivo* de amplio uso en farmacología básica. Adicionalmente, se recolectó la información necesaria que podría ser la base de una nueva línea de investigación para los próximos años.

Esta investigación contó con el financiamiento de Colciencias a través del proyecto titulado “Análisis de los cambios fenotípicos del pez Cebra (*Danio rerio*)

producidos por nuevas moléculas tetrahydroquinolínicas en busca de potentes y selectivos moduladores genéticos” Código: 1102-569-34597 contrato número RC-0346-2013, y a través del Programa Doctorados Nacionales, Convocatoria 617, para la beca de sostenimiento. Hasta el momento y como producto de las actividades relacionadas con este trabajo de investigación, se ha publicado un artículo científico y un capítulo de libro:

1. Puerto Galvis C. E. and Kouznetsov V. V. “Recent Advances for the C–C and C–N Bond Formation in the Synthesis- of 1-Phenethyl-tetrahydroisoquinoline, Aporphine, Homoaporphine-, and β -Carboline Alkaloids”. *Synthesis*, **2017**, 49, 4535-4561.
2. Puerto Galvis C. E. and Kouznetsov V. V. Chapter 1: “Novel Approaches in the Synthesis of Natural and Synthetic Fused Aza-Polycycles Toward the Development of New Bioactive Compounds” in: “Studies in Natural Products Chemistry”. Edited by Atta-ur-Rahman. Elsevier, **2018**, Vol. 56. p. 1-25.

Adicionalmente, a la fecha de entrega de este documento al comité evaluador, se están redactando dos artículos que pretenden ser publicados en corto plazo:

1. Puerto Galvis C. E. and Kouznetsov V. V. “Biomimetic Synthesis of 1-Phenethyltetrahydroisoquinoline Alkaloids”. *En construcción*.
2. Puerto Galvis C. E.; Macias, M. A. and Kouznetsov V. V. “Synthesis and Crystallographic Characterization of 3,4-Dihydroisoquinolin Hexafluorophosphates Obtained Through the Bischler-Napieralski Reaction in

Bmim[PF₆]. A Concise Synthesis of Tetrahydroisoquinoline Alkaloids”. *En construcción*.

De igual forma, los resultados parciales y finales también fueron divulgados en distintos congresos nacionales e internacionales:

1. Puerto Galvis C. E. and Kouznetsov V. V. “N-Feniletilcinnamamidas como precursores de la reacción Bischler-Napieralski. Síntesis de 3,4-dihidro-1-estirilisoquinolinas en [bmin]PF₆ como liquido iónico y a temperatura ambiente”. 31° Congreso Latinoamericano de Química. Lima, Perú. 14-17 de Octubre de 2014.
2. Puerto Galvis C. E. and Kouznetsov V. V. “N-Feniletilcinnamamidas como precursores de la reacción Bischler-Napieralski. Síntesis concisa de alcaloides tetrahydroisoquinolínicos”. XX Simposio Nacional de Química Orgánica. Mar del Plata, Argentina. 11-14 de Noviembre de 2015.
3. Puerto Galvis C. E. and Kouznetsov V. V. “Síntesis enantioselectiva de 1-feniletiltetrahydroisoquinolínas como análogos de alcaloides Dysoxylum y su evaluación biológica en el modelo del pez cebra”. Primer Encuentro Científico de la Facultad de Ciencias UIS. Bucaramanga, Colombia. 25-26 de Noviembre de 2015.
4. Puerto Galvis C. E. and Kouznetsov V. V. “Síntesis total de (S)-disoxilina, (S)-homolaudanosina y otros alcaloides Dysoxylum y su evaluación biológica en el modelo del pez cebra”. V Congreso Iberoamericano de Productos Naturales. Bogotá, Colombia. 25-29 de Abril de 2016.

5. Puerto Galvis C. E. and Kouznetsov V. V. "Síntesis de alcaloides β -carbolinas aislados de la planta *Peganum harmala* y su evaluación biológica en el modelo del pez cebra". V Congreso Iberoamericano de Productos Naturales. Bogotá, Colombia. 25-29 de Abril de 2016. Trabajo galardonado como mejor poster.

Finalmente, como parte de la formación doctoral, se participó directamente en la co-dirección de 6 trabajos de Pregrado y 1 trabajo de Maestría en Química, de donde resultaron 17 participaciones en congresos nacionales e internacionales, se publicó 1 capítulo de libro y 8 artículos científicos en temas que contribuyeron y retroalimentaron esta investigación:

1. Ortiz Villamizar, M. C.; Zubkov, F. I.; Puerto Galvis C. E.; Vargas Méndez L. Y. and Kouznetsov V. V. Chapter 6: "Coumarin-Based Molecules as Suitable Models for Developing New Neuroprotective Agents Through Structural Modification" In: "Discovery and Development of Neuroprotective Agents from Natural Products". Edited by Goutam Brahmachari. Elsevier, **2017**, 149-235.
2. Muñoz Acevedo, A.; Puerto Galvis C. E.; Rodríguez J. D.; Aristizábal Córdoba, S. and Kouznetsov V. V. "Estudio químico-biológico de los aceites esenciales de *Croton malambo* H. "Karst y su componente mayoritario, metileugenol", B. Latinoam. Caribe Pl., **2014**, 13, 336-343.
3. García Santos, W. H.; Puerto Galvis C. E. and Kouznetsov V. V. "Gd(OTf)₃-catalyzed synthesis of geranyl esters for the intramolecular radical cyclization of

their epoxides mediated by titanocene(III)", *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 1358-1366.

4. Díaz Duran L. D., Olivar Rincón N., Puerto Galvis C. E., Kouznetsov V. V., and Fuentes J. L. "Genotoxicity risk assessment of diversely substituted quinolines using the SOS chromotest", *Environ. Tox.*, **2015**, *30*, 278 - 292.

5. Martínez Bonilla, C. A.; Puerto Galvis C. E.; Vargas Méndez L. Y. and Kouznetsov V. V. "Ce(SO₄)₂-Catalysed the Highly Diastereoselective Synthesis of Tetrahydroquinolines Via imino Diels Alder ABB' Type Reaction and their In Vivo Toxicity and Imaging in Zebrafish Embryos". *RSC Adv.*, **2016**, *6*, 37478-37486.

6. Vargas Méndez L. Y.; Rosado Solano, D. N.; Sanabria Flórez, P. L.; Puerto Galvis C. E. and Kouznetsov V. V. "In vitro antioxidant and anticholinesterase activities and in vivo toxicological assessment (Zebrafish embryo model) of ethanolic extracts of *Capsicum chinense* Jacq." *J. Med. Plant Res.*, **2016**, *10*, 59-60.

7. Quintana Mendoza, J. H.; Henao Martinez. J. A.; Rondon Florez, C. E.; Puerto Galvis C. E. and Kouznetsov V. V. "X-ray diffraction data of 4-phenyl-6-(trifluoromethyl)-3,4-dihydroquinolin-2(1H)-one and its synthetic precursor N-[4-(trifluoromethyl)phenyl]cinnamamide." *Powder Diff.*, **2016**, *31*, 233-239.

8. Kouznetsov V. V.; Puerto Galvis C. E. Ortiz Villamizar, M. C. and Vargas Méndez L. Y. "Insights into the Metal-catalyzed Alkyne Hydroarylation Reactions

and Related Processes for the Synthesis of Coumarins". *Curr. Org. Chem.*, **2017**, *21*, 949-963.

9. Ortiz Villamizar, M. C.; Zubkov, F. I.; Puerto Galvis C. E.; Vargas Méndez L. Y. and Kouznetsov V. V. "The study of metal-free and palladium-catalysed synthesis of benzochromenes via direct C–H arylation using unactivated aryl benzyl ethers derived from essential oils as raw materials". *Org. Chem. Front.*, **2017**, *4*, 1736-1744.

10. Kouznetsov V. V. and Puerto Galvis C. E. "Strecker reaction and α -amino nitriles: Recent advances in their chemistry, synthesis, and biological properties". *Tetrahedron*, **2018**, *74*, 773-810.

CAPÍTULO 1. Preparación de *N*-feniletil cinamamidas y estudio de su transformación a través de la reacción Bischler-Napieralski para la síntesis concisa de alcaloides tetrahidroisoquinolínicos

1.1 INTRODUCCIÓN

La función amida es uno de los fragmentos orgánicos más representativos que se pueden encontrar en la naturaleza, no sólo resulta crucial para la formación de péptidos y proteínas, sino que también está presente en la estructura de cientos de metabolitos secundarios de gran importancia biológica [1]. La versatilidad de la función amida ha conducido al desarrollo de nuevos materiales, como el nailon, hidrogeles, recubrimientos y catalizadores [2], así como de moléculas de amplio interés farmacéutico. Tan sólo hoy en día se estima que esta función está presente en más del 25 % de los fármacos que se encuentran en el mercado y en cerca de 2/3 de los candidatos a fármacos [3]. Sin embargo, un aspecto importante de la función amida es que su reactividad y transformación química requiere seguir siendo explorada, reconociendo su importancia como bloque de construcción de sistemas más complejos. Tradicionalmente, la reactividad de las amidas se ha limitado a la formación de nitrilos (deshidratación) [4a], a aminas (transposición de Hofmann [4b] y reducción [4c]), aldehídos (reacción Vilsmeier–Haack) [4d] e iminas cíclicas (reacción Bischler-Napieralski) [4e].

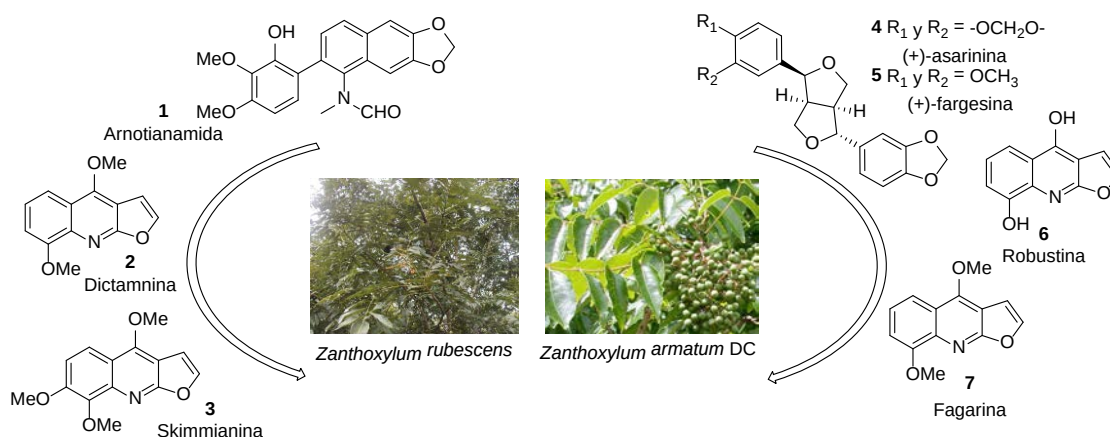
1.2 ESTADO DEL ARTE

1.2.1 Alcaloides zantoxylamidas. Origen, síntesis y propiedades biológicas.

Dentro de la gran familia de amidas se destaca un grupo de compuestos derivados del ácido cinámico, las cinamamidas, las cuales poseen un amplio espectro de actividades biológicas, p. ej. antiinflamatoria, antimicobacterial y anticancerígena [5], mientras que el doble enlace presente entre los carbonos α y β incrementa su reactividad generando diversos compuestos N-heterocíclicos, principalmente a través de reacciones de hidroarilación [6]. Diversas cinamamidas han sido identificadas como metabolitos secundarios en distintas plantas, especialmente las N-feniletil cinamamidas aisladas de las especies *Chenopodium álbum* [7], *Zanthoxylum rubescens* [8], *Zanthoxylum armatum* [9], *Celtis chinensis* [10], *Isodon excisus* [11] e incluso en la cáscara del ajo [12].

Por décadas, los extractos obtenidos de las plantas del género *Zanthoxylum*, un pequeño árbol de la familia Rutaceae, han sido ampliamente utilizados dentro de la medicina tradicional, principalmente de la India, como analgésico, antibacterial, antifúngico, antihelmíntico y para el tratamiento de la fiebre, dolor abdominal e indigestión [13]. En particular, las especies *Z. rubescens* y *Z. armatum* DC se han constituido como dos de los ejemplares más estudiados, no sólo debido a las propiedades biológicas de sus extractos, sino al aislamiento y caracterización de metabolitos secundarios de amplia diversidad estructural: como la arnotianamida **1**, la dictamnina **2**, la skimmianina **3**, los lignanos **4** y **5**, y las furoquinolinas **6** y **7**, además de otras amidas y compuestos aromáticos (Figura 1) [14, 15].

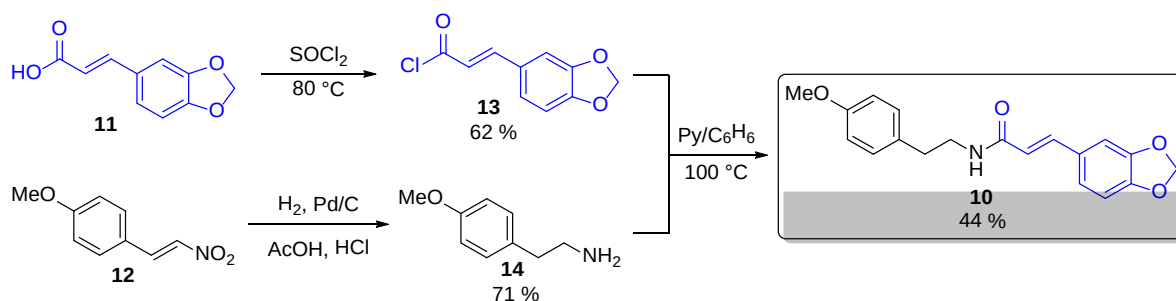
Figura 1. Principales metabolitos secundarios de las plantas *Z. rubescens* y *Z. armatum* DC.



El estudio fitoquímico de la planta *Z. rubescens* se remonta a 1976, aunque las primeras N-feniletíl cinamamidas identificadas en el extracto de esta planta fueron descritas en 1988, identificando la rubemamina **8** (> 0.01 %) y la zantosina **9** (> 0.01 %) [8]. Hoy en día, se reconoce a estos compuestos por inhibir la germinación de semillas de tomates [7] y por regular algunos sabores en papilas gustativas humanas gracias a su obtención en el laboratorio a través de protocolos sintéticos descritos para la formación de amidas [16]. No obstante, en general la síntesis de estos protoalcaloides se ha realizado mediante metodologías poco amigables con el medio ambiente y que generan los productos de interés en bajos rendimientos. Recientemente, Backes y colaboradores emplearon una de las estrategias más utilizadas para la síntesis de N-feniletíl cinamidas, la condensación de ácidos cinámicos con feniletilaminas [17]. Sin embargo, la implementación de esta metodología requirió la transformación previa de los ácidos cinámicos con cloruro de oxalilo para formar el respectivo cloruro de ácido,

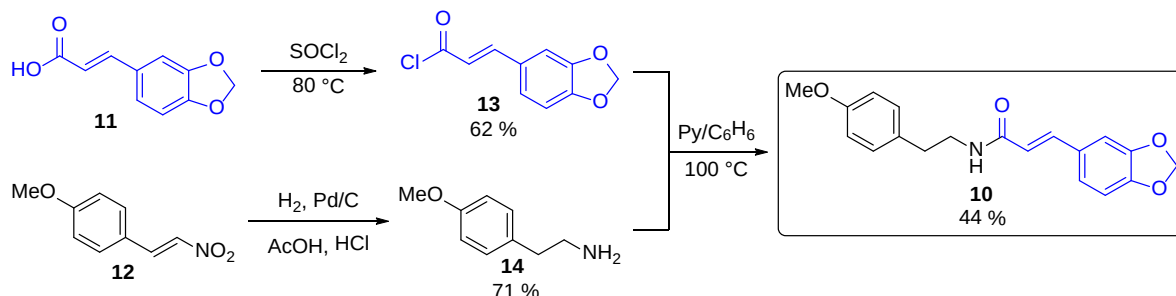
proceso que resulta tedioso, tóxico y que disminuye la eficiencia de la reacción, incluso estos autores omiten los rendimientos en los cuales la rubemamina **8** y la zantosina **9** fueron obtenidas (Esquema 1).

Esquema 1. Síntesis total de los protoalcaloides rubemamina **8** y zantosina **9** promovida por $(\text{COCl})_2$ y reportada recientemente sin indicar el rendimiento.



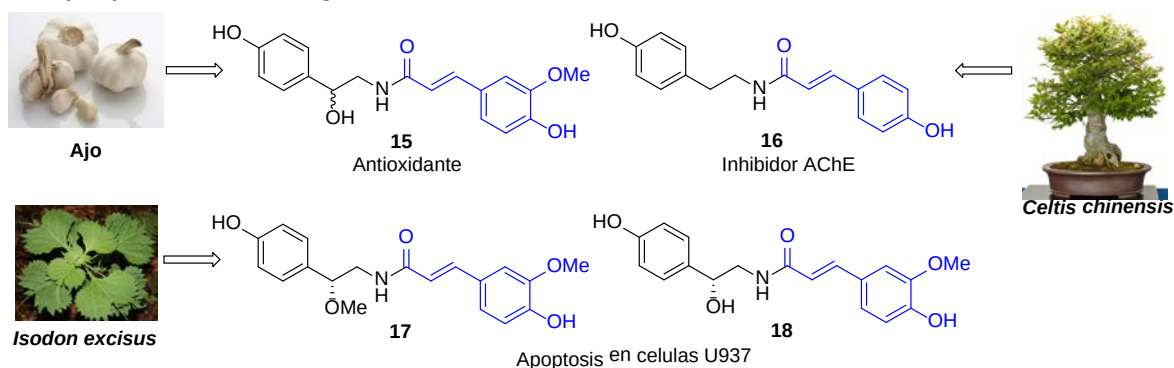
Por su parte, la planta *Z. armatum* DC fue estudiada desde 1960, aunque fue tan sólo hasta el año 1999 que un estudio fitoquímico más detallado reveló que en el extracto metanólico de la corteza de la planta se encontraba el protoalcaloide armatamida **10**, una cinamoilamida cuyo rendimiento de extracción fue de 0.048 % y que fue sintetizada con un rendimiento del 44 % a partir del ácido 3,4-metilendioxycinámico **11** y el 4-metoxi- β -nitroestireno **12** en un proceso de tres etapas en el que **11** se activó con cloruro de tionilo, y la condensación entre el cloruro **13** y la amina **14** fue catalizado por piridina y en benceno como disolvente (Esquema 2) [9].

Esquema 2. Síntesis total del protoalcaloide armatamida **10** (44 %), reportada junto con su aislamiento (0.048 %).



Si bien el perfil farmacológico de los extractos de las plantas *Z. rubescens* y *Z. armatum* DC es amplio, más allá de las propiedades descritas para la rubemamina **8** y la zantosina **9**, no existe ningún reporte que adjudique alguna propiedad biológica en particular para la armatamida **10**. Sin embargo, es posible entrever el probable espectro de bioactividades de estos compuestos teniendo en cuenta las propiedades de otras cinamoilamidas, análogas a **8**, **9** y **10**, de origen natural y sintético. Es el caso de los metabolitos aislados de la cáscara del ajo **15**, los cuales resultaron ser unos potentes agentes antioxidantes [12]. Mientras que la amida **16**, encontrada en el bonsái *Celtis chinensis*, demostró ser un potente agente para el tratamiento del Alzheimer al inhibir la actividad de la enzima acetilcolinesterasa [10]. Por otro lado, la amida **17**, aislada de la planta *Isodon excisus*, y el derivado sintético **18**, inducen apoptosis en células U937 (Figura 2) [18].

Figura 2. Derivados naturales y sintéticos, análogos al alcaloide armatamida **9**, con propiedades biológicas.

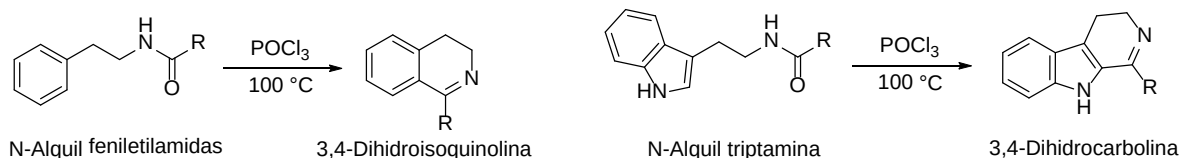


En la actualidad, las investigaciones relacionadas con los alcaloides rubemamina **8**, zantosina **9** y armatamida **10** se centran en dos aspectos importantes: *i*) su síntesis: debido al bajo porcentaje de extracción, se requiere explorar aquellos protocolos sintéticos para la preparación de amidas que puedan ser aplicados a la síntesis a gran escala de estos protoalcaloides en el laboratorio. Hasta el momento, la síntesis de *N*-feniletil cinamamidas sigue siendo un proceso que requiere del uso de sustratos, catalizadores y agentes activantes de alto costo y de difícil manejo, además de generar subproductos en cantidades estequiométricas [19]. Aunque existen metodologías para la síntesis de amidas derivadas del ácido cinámico [20], en la actualidad la síntesis de cinamamidas derivadas de ácidos cinámicos sustituidos y feniletilaminas continúa siendo de gran interés para la química orgánica. y *ii*) su bioactividad: teniendo en cuenta su origen y propiedades biológicas de sus análogos estructurales, estos derivados se postulan como potentes agentes bioactivos, por lo que se hace necesario describir por completo su perfil farmacológico para que estos compuestos puedan ser

empleados en el desarrollo y descubrimiento de nuevos agentes bioactivos basados en la función amida.

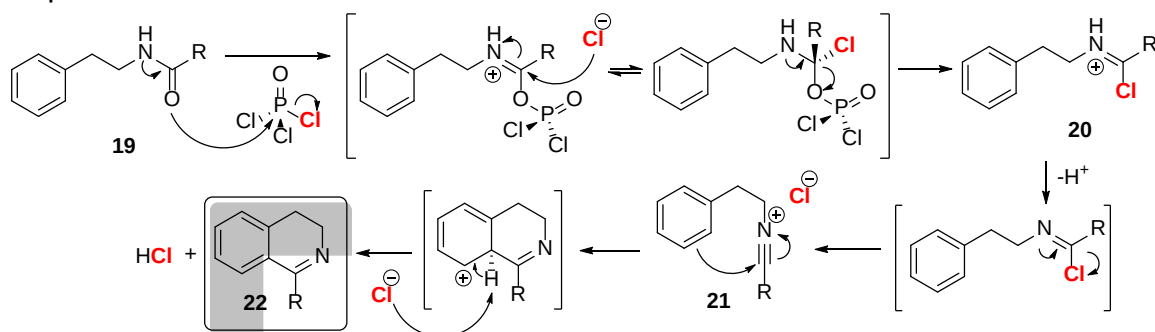
1.2.2 La reacción Bischler-Napieralski. Historia, mecanismo y aspectos generales. En 1893, August Bischler y Bernard Napieralski reportaron un protocolo para la síntesis de 3,4-dihidroisoquinolinas a partir de feniletilamidas en presencia de P_2O_5 . En la actualidad, esta ciclación intramolecular ha empleado diversas *N*-alquil feniletilamidas como sustratos de partida utilizando una gran variedad de agentes deshidratantes ($POCl_3$, PCl_5 , $SOCl_2$, Tf_2O , etc.) para generar amplia biblioteca de heterociclos nitrogenados en donde también se incluyen las 3,4-dihidrocarbolinas (Esquema 3) [21,22].

Esquema 3. Esquema general de la reacción Bischler-Napieralski. Síntesis de 3,4-dihidroisoquinolinas y 3,4-dihidrocarbolinas.



Los estudios relacionados con el mecanismo han clasificado la reacción Bischler-Napieralski como una reacción de sustitución electrofílica aromática en la que se ven involucradas dos especies hoy en día plenamente aisladas y caracterizadas [23]. La primera de ellas es el respectivo ion iminio **20**, que resulta de la reacción entre la respectiva amida **19** y el $POCl_3$. La segunda, generada por las exigencias térmicas del proceso a partir del intermediario **20**, es el ion nitrilio **21**, especie que sufre la sustitución electrofílica intramolecular por parte del anillo aromático y genera la 3,4-dihidroisoquinolina de interés **22** (Esquema 4) [24].

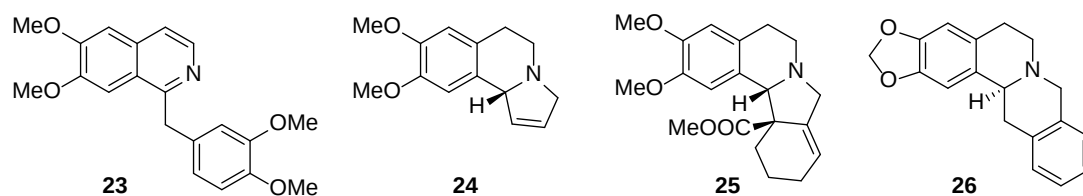
Esquema 4. Mecanismo de reacción propuesto para la reacción Bischler-Napieralski.



Debido a que en la última etapa de la reacción Bischler-Napieralski la sal **21** sufre el ataque nucleofílico por parte del par de electrones del sistema aromático, esta reacción se regirá por los mismos principios que describen la sustitución electrofílica aromática. Así, los efectos electrónicos de los sustituyentes sobre el anillo aromático son equivalentes y la reactividad de las *N*-alquil feniletilamidas se incrementará por la presencia de grupos electrodonadores y disminuirá por la presencia de grupos electroattractores, lo que indica que la reacción Bischler-Napieralski es un proceso regio-selectivo en el que la sustitución electrofílica aromática ocurre sobre aquel átomo de carbono cuya densidad electrónica sea mayor [25].

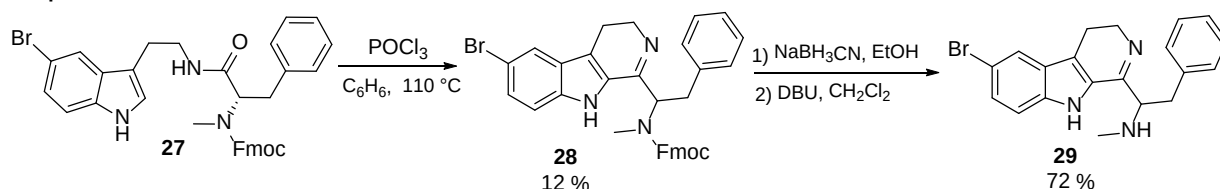
La reacción Bischler-Napieralski se ha convertido en una de las herramientas sintéticas más utilizadas para la construcción de los núcleos isoquinolínico y β -carbolínico presentes en muchos alcaloides y derivados bioactivos. Aunque a la fecha no se ha reportado su uso para la síntesis de alcaloides *Dysoxylum*, si se ha aplicado para la preparación de más de 100 alcaloides isoquinolínicos como la papaverina **23**, la (+)-crispina A **24**, jantina **25** y canadina **26** (Figura 3) [26].

Figura 3. Alcaloides isoquinolínicos preparados a través de la reacción Bischler-Napieralski.



Por otro lado, las β -carbolinas también han sido preparadas a través de la reacción Bischler-Napieralski. Un ejemplo de ello es el caso de la eudistomidina B **29**, la cual se prepara por medio de la ciclación intramolecular de la amida **27**, generando la dihidro- β -carbolina **28** que tras una reducción y posterior desprotección da lugar a la β -carbolina **29** de interés con un rendimiento del 72 % (Esquema 5) [26].

Esquema 5. Síntesis de eudistomidina B **29** empleando la reacción Bischler-Napieralski.



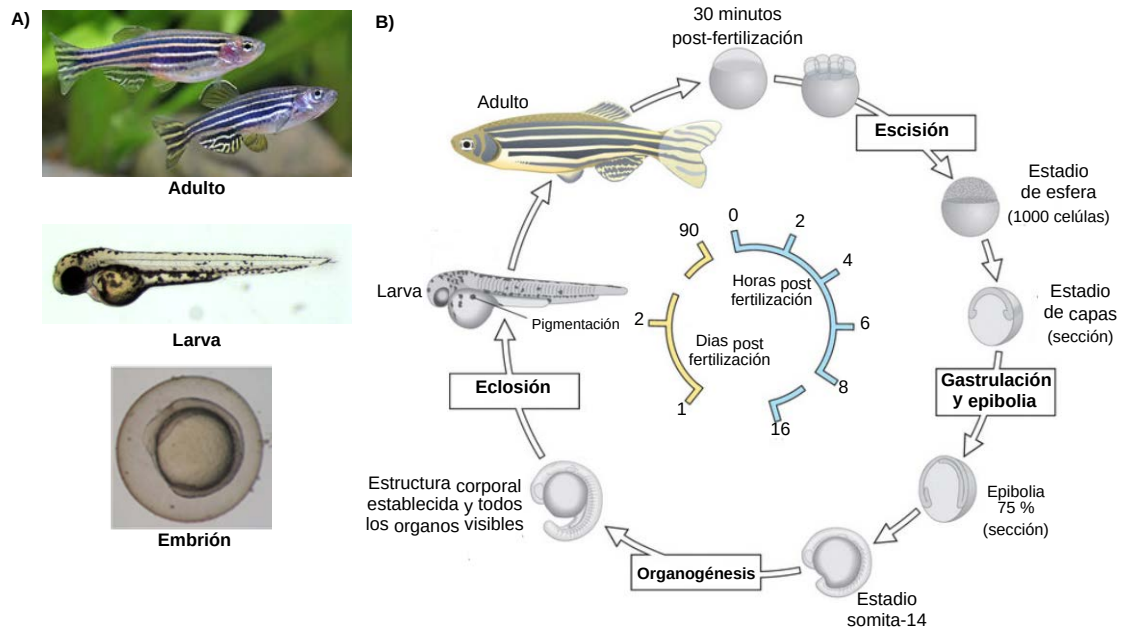
Hoy en día, los retos relacionados con el desarrollo de la reacción Bischler-Napieralski y que recaen sobre la química orgánica son básicamente dos: por un lado, se requiere explorar nuevas condiciones de reacción (disolvente, agente deshidratante y temperatura) con el fin de reemplazar los protocolos empleados hasta el momento y dirigir este protocolo hacia los lineamientos de la química verde. Además, se necesita explorar nuevos sustratos que, bajo las condiciones de reacción ya optimizadas, puedan generar estructuras que contengan grupos

funcionales lábiles y versátiles, facilitando la síntesis de moléculas de origen natural o farmacológicamente relevantes.

1.2.3 El modelo in vivo del pez cebra. El pez cebra (*Danio rerio*), un pez tropical de agua dulce endémico de aguas asiáticas que pertenece a la familia *Cyprinidae*, y que tradicionalmente se ha utilizado como mascota en acuarios domésticos, es hoy en día es uno de los modelos *in vivo* que lidera el desarrollo y descubrimiento de nuevos fármacos desde principios de 1970 debido a sus interesantes características: *i)* su tamaño pequeño, *ii)* su facilidad para ser criado y mantenido en el laboratorio, *iii)* su alta tasa de reproducibilidad, *iv)* su rápido desarrollo y *v)* su bajo costo [28].

Probablemente sean los embriones y larvas de este organismo los que más se han utilizado y adaptado para estudios biológicos y genéticos ya que desde 1995 se describió en detalle cada una de las etapas de su desarrollo, resaltando su rápida embriogénesis, su estructura corporal que se forma en las primeras 24 horas después de la fertilización (hpf) y sus principales órganos vitales (corazón, hígado, riñón e intestinos), los cuales se desarrollan completamente después de 96 hpf. Su transparencia es otro aspecto que sobresale de este modelo, ya que la administración de pequeñas moléculas directamente en el medio embrionario permite el monitoreo de sus cambios morfológicos *in vivo* (Figura 4) [29].

Figura 4. A) Estadios del pez cebra, embrión, larva y adulto. B) ciclo de vida del pez cebra.



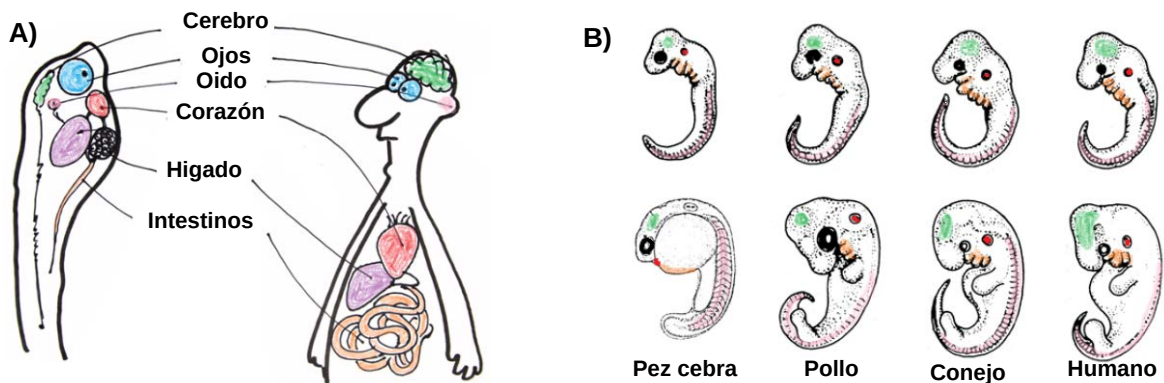
El genoma del pez cebra, que contiene 1400 millones de pares de bases distribuidas en 25 cromosomas que codifican aproximadamente 26.000 proteínas, fue secuenciado en el 2002, y hoy en día se conoce que el 71 % de los genes humanos tienen su contrapartida en el pez cebra y que de los 3.200 genes implicados en enfermedades humanas, el 82 % se correlacionan con el pez cebra [30], por lo que este modelo es más cercano filogenéticamente al ser humano que otros modelos utilizados en etapas tempranas de la investigación farmacológica. Además, el pez cebra comparte con el ser humano la mayoría de los procesos biológicos fundamentales como lo son la síntesis de proteínas, el desarrollo embrionario o la senescencia, características que lo convierten en un excelente modelo para el estudio toxicológico y fenotípico de pequeñas moléculas de origen natural y sintético [31].

1.2.3.1 Toxicidad de pequeñas moléculas en embriones de pez cebra. El gran número de compuestos que anualmente pretenden ser registrados y utilizados en la industria química, alimenticia, cosmética y farmacéutica, requieren ser evaluados en ensayos toxicológicos con el fin de establecer su seguridad y riesgos para el consumidor final. Tradicionalmente, mamíferos como los ratones y conejos han sido utilizados como modelos estándar para evaluar la toxicidad de casi cualquier sustancia. Sin embargo, estos procesos resultan ser costosos y muy demorados, demandando el desarrollo de nuevos protocolos rápidos, confiables, reproducibles y económicos para determinar la toxicidad de sustancias de origen natural o sintético [32]. Fue en 1992 que se propuso, por primera vez, el uso de peces adultos para la determinación de la toxicidad de sustancias químicas a través de la guía publicada por la OECD (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos) número 203 cuyo principio era la determinación de la mortalidad de 7-10 organismos por concentración para estimar la concentración letal media (LC₅₀, por sus siglas en inglés, lethal concentration) [33].

Estudios posteriores, que se enfocaron en reducir y reemplazar el número de individuos expuestos, encontraron en el pez cebra un organismo ideal para llevar a cabo estudios toxicológicos debido a sus características como modelo de estudio. Si bien el pez cebra carece de algunos órganos como pulmones, próstata y glándulas mamarias; otros tejidos, órganos y funciones son equivalentes con los humanos a nivel anatómico, fisiológico, celular y molecular, como el cerebro, el corazón, el hígado, el riñón, el páncreas, los intestinos, etc. Además, su desarrollo

embrionario es tan similar al de otros mamíferos superiores en etapas tempranas, que su metabolismo, procesos de señalización celular, comportamiento y sistemas sensoriales son comparables con los mamíferos, por lo que la respuesta del pez cebra a la toxicidad de agentes exógenos puede predecir y correlacionar la respuesta de los mamíferos a los mismos agentes (Figura 5) [34].

Figura 5. A) Órganos y tejidos homólogos en el pez cebra y los humanos. B) Similitud en el desarrollo temprano de los vertebrados.



Como resultado de varias investigaciones y conociendo las cualidades del pez cebra, se estableció lo que se denominó el ensayo ZFET (Zebrafish Embryo Acute Toxicity Test) como método para determinar la toxicidad de sustancias químicas empleando embriones de pez cebra, protocolo que fue avalado en 2009 [35] y que publicó la OECD en 2013 bajo la guía número 236 [36]. En general, esta metodología describe el uso de embriones de pez cebra entre 0 y 96 hpf, los cuales son expuestos a una serie geométrica de concentraciones de cada compuesto y tras un periodo de 72 horas se establece la mortalidad de los embriones, determinando así la LC_{50} para los compuestos ensayados [37].

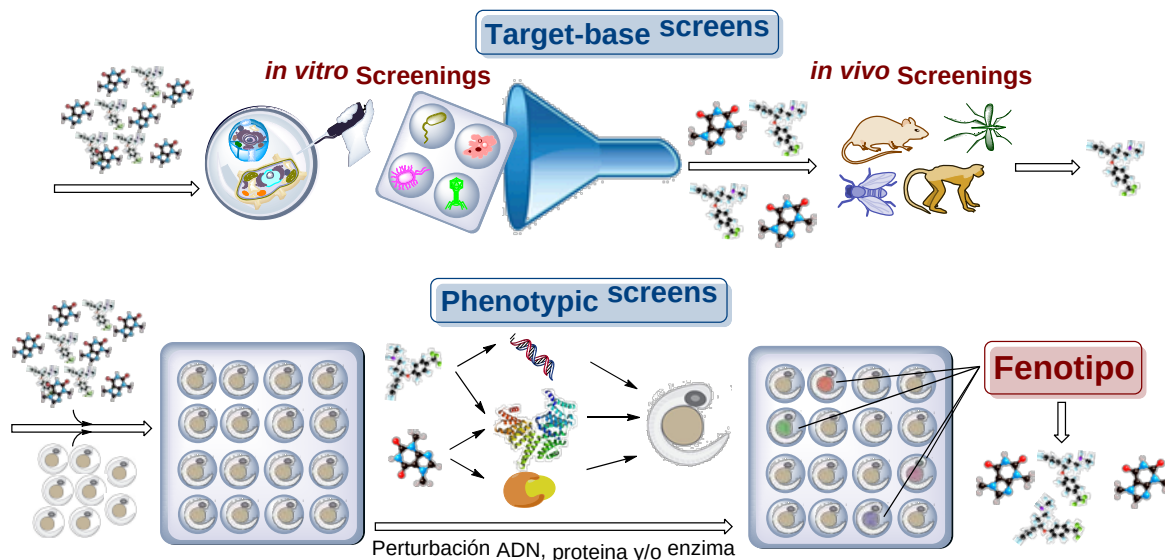
Dentro de las ventajas que más sobresalen del ensayo ZFET se encuentran: el uso de embriones de 0-96 hpf no requieren alimentación durante el tiempo del ensayo, experimentalmente cada embrión se aísla y se expone a las sustancias de manera que su respuesta se estudia de forma individual y que los resultados se obtienen de manera rápida y a muy bajo costo. Sin embargo, el mayor debate sobre este ensayo radica en cómo se puede correlacionar y complementar los ensayos en ratones y conejos con los resultados obtenidos en el ensayo ZFET. En el 2011 se reportó que la correlación entre los ensayos en ratones, conejos y el ensayo ZFET se encontraba en el rango de 64-100 % y era dependiente de factores como el diseño experimental, la remoción del corion (envoltura externa que recubre y protege el embrión y las características genéticas de los embriones utilizados. No obstante, este valor era aceptable pues no se alejaba mucho de la concordancia entre los ensayos teratogénicos realizados en ratones y conejos cuyo límite era del 74 % [38].

Otro factor a tener en cuenta al evaluar la toxicidad en embriones de pez cebra fue la naturaleza y estructura de los compuestos evaluados, encontrando que, en el caso de las amidas, la toxicidad es similar en pez cebra y ratones, mientras que los alcoholes resultan ser menos tóxicos en el pez que en los ratones. Por su parte, los ácidos carboxílicos, glucósidos y los alcaloides resultan ser más tóxicos en este modelo que los roedores [39]. Recientemente, se analizó la toxicidad en los mamíferos (ratones y conejos) según la vía de exposición a las sustancias químicas, es decir, si la administración fue vía oral, dérmica, intraperitoneal o por

inhalación. Encontrando que el porcentaje de correlación es más alto cuando se compara la toxicidad en pez cebra y mamíferos que han sido expuestos vía oral a las sustancias químicas, concluyendo que el ensayo ZFET es un excelente método para determinar la toxicidad de sustancias químicas en la medida en que áreas como la química farmacéutica requieren reducir este tipo de ensayos biológicos con animales mamíferos [40].

1.2.3.2 Cambios fenotípicos en embriones del pez cebra inducidos por pequeñas moléculas. Durante las últimas cuatro décadas, el desarrollo y descubrimiento de nuevos fármacos ha estado ligado a dos enfoques: *i)* Los ensayos basados en un objetivo (Target-Based Screens) los cuales emplean ensayos *in vitro* sobre dianas específicas (enzimas, células, microorganismos, etc.) para seleccionar aquellos compuestos más activos y realizar posteriores pruebas en modelos animales, y *ii)* Los ensayos fenotípicos (Phenotypic Screens) los cuales evalúan moléculas en modelos animales directamente con el fin de perturbar todo el organismo y que esta alteración exprese un fenotipo que al ser reconocido permita identificar una molécula activa (Figura 6).

Figura 6. Enfoques utilizados en el desarrollo y descubrimiento de nuevos fármacos. Target-Based Screens y Phenotypic Screens utilizando el modelo del pez cebra.

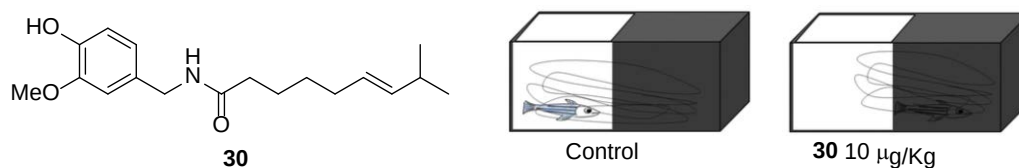


El análisis de los cambios fenotípicos en un organismo expuesto a un agente exógeno es un enfoque que históricamente ha permitido el desarrollo de nuevos fármacos, tanto así que durante 1999 y 2008, el 62 % de los fármacos aprobados por la FDA fueron descubiertos a través del análisis fenotípico realizado en diversos modelos, por ejemplo, el sildenafil, la warfarina y la ezetimiba [41]. Tres factores pueden explicar y argumentar el éxito de los ensayos fenotípicos en áreas como la química medicinal. El primero de ellos es que el análisis fenotípico puede identificar de manera eficaz compuestos activos sin conocimiento previo de una diana o target, ya que una molécula que exprese un fenotipo puede actuar como un inhibidor alostérico o puede suprimir alguna interacción proteína-proteína, además de ser un inhibidor enzimático o un agonista o antagonista de algún receptor y de esta forma expresar un fenotipo [42]. En segundo lugar, los ensayos

fenotípicos pueden llegar a identificar compuestos que producen un efecto terapéutico a través de la perturbación simultánea de múltiples dianas biológicas. Por último, el conocer una diana o target e identificar plenamente los fenotipos que expresan tras su perturbación resulta de gran importancia, ya que, a través del análisis de los cambios fenotípicos, se puede evaluar y realizar un cribado de una serie de compuestos en el mismo ensayo, estableciendo cuales compuestos son activos y cuales no presentan las propiedades deseadas [43].

En este punto es importante destacar que ninguno de los compuestos que se sintetizaron en el presente trabajo de investigación no habían sido evaluados en el modelo del pez cebra, incluyendo ensayos toxicológicos o fenotípicos. No obstante, si se han reportado algunos experimentos en los que se ha utilizado el modelo del pez cebra para la evaluación de moléculas con estructura similar a las planteadas en esta propuesta de investigación. Es el caso de la capsaicina **30**, una amida que se identificó como un compuesto ansiogénico donde los especímenes expuestos presentaron fenotipos endocrinos y de comportamiento, como movimientos erráticos y afinidad por espacios oscuros (Figura 7) [44].

Figura 7. Fenotipos de comportamiento (ansiedad) inducidos en el pez cebra por la capsaicina **30**.

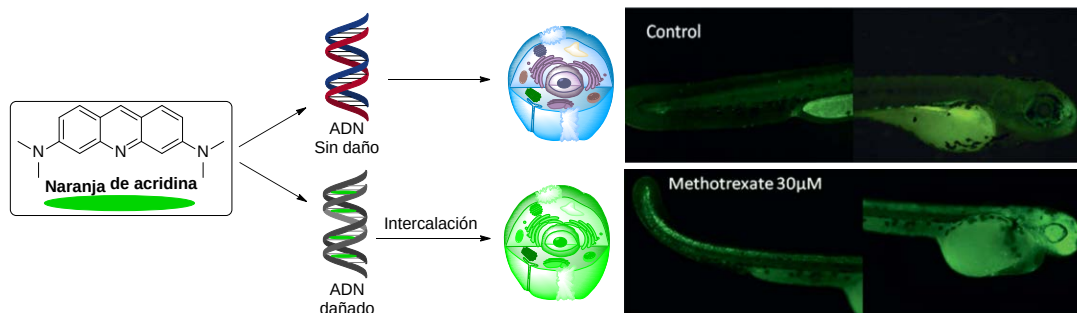


En la actualidad, el estudio y análisis de la morfología y cambios fenotípicos en embriones de pez cebra tras ser sometidos a un tratamiento químico se realiza

mediante un software desarrollado por la empresa Noldus y conocido como DanioScope™, programa que permite cuantificar las variables automáticas como longitud, área y otros parámetros específicos, como número de latidos del corazón, tamaño de órganos como hígado, corazón, etc. Este software permite realizar investigación de alta resolución con el modelo del pez cebra en un tiempo reducido y vale la pena mencionar que para esta investigación esta herramienta informática fue adquirida para el análisis y el procesamiento del registro fotográfico adquirido.

El modelo del pez cebra también se ha utilizado para evaluar la actividad anticancerígena de pequeñas moléculas, y aunque en la actualidad se conocen varios ensayos específicos para la activación de los procesos de apoptosis y de la caspasa-3 [45], la identificación de cambios morfológicos acompañados del uso de un biomarcador fluorescente conocido como naranja de acridina (AO), también es ampliamente utilizado para la identificación de compuestos que inducen apoptosis [46]. El principio de este ensayo es la identificación de aquellas células que han sufrido apoptosis después de la exposición química gracias a la propiedad de este agente para permear las células y de interaccionar selectivamente con ácidos nucleicos, intercalándose principalmente con el ADN dañado. De esta forma, la fluorescencia observada sobre tejidos u órganos permitirá establecer el nivel de daño inducido por las moléculas y seleccionar aquellas sustancias más promisorias para posteriores bioensayos (Figura 8).

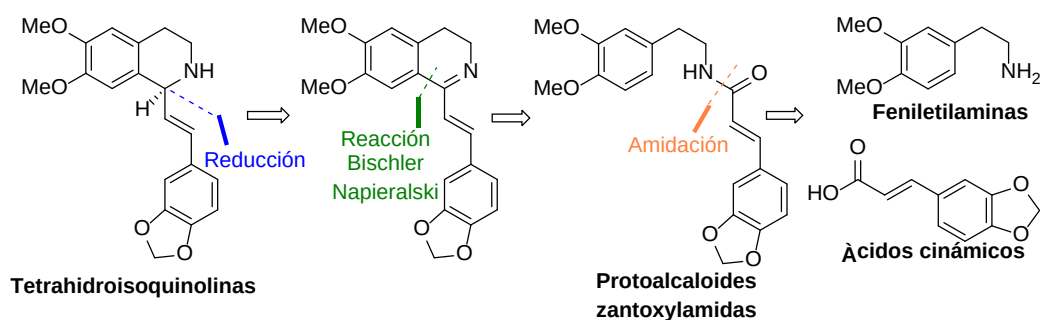
Figura 8. Intercalación de la AO con el ADN afectado por pequeñas moléculas para la identificación de compuestos antitumorales en el modelo del pez cebra.



1.3 HIPÓTESIS

Identificando los alcaloides zantoxylamidas y las estrategias clásicas para su preparación, en la primera etapa de nuestra investigación se cree posible adoptar y modificar las estrategias existentes para la síntesis de estos alcaloides o sus análogos estructurales y estudiar la reacción Bischler-Napieralski como herramienta sintética que permita la transformación, por primera vez, de estas *N*-feniletil cinamamidas en compuestos *N*-heterocíclicos como las tetrahydroisoquinolinas (Esquema 6).

Esquema 6. Análisis retrosintético para las 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolinas.



1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo general

Preparar una nueva serie de *N*-feniletil cinamamidas, estudiar su reactividad como sustratos de partida de la reacción Bischler-Napieralski para la síntesis de 1-estiril-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas y determinar su toxicidad en el modelo del pez cebra para evaluar los cambios inducidos por esta serie de cinamamidas sustituidas.

1.4.2 Objetivos específicos

- Preparar una nueva serie de *N*-feniletil cinamamidas como análogos de los alcaloides zantoxylamidas a través de la condensación directa entre diversas feniletilaminas y ácidos carboxílicos de origen comercial empleando distintos catalizadores de boro.
- Promover la ciclación intramolecular de las *N*-feniletil cinamamidas preparadas mediante el estudio de la reacción Bichler-Napieralski (disolventes, agentes deshidratantes y temperatura) para la obtención de una nueva librería de 3,4-dihidro-1-estirilisoquinolinas.
- Establecer los parámetros adecuados que involucren las variables: disolvente, temperatura, tiempo y fuente de hidrógeno, que promuevan la reducción del doble enlace C=N de las 3,4-dihidro-1-estirilisoquinolinas para la obtención de las respectivas 1-estiril-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas.
- Caracterizar los compuestos obtenidos (intermediarios y finales) por medio de métodos espectroscópicos y espectrométricos.

- Determinar la toxicidad, concentración letal media (LC_{50}), de las *N*-feniletil cinamamidas en embriones de pez cebra durante las primeras 96 hpf con base en el ensayo ZFET.
- Reconocer y describir los cambios morfológicos congénitos (en cabeza, espina dorsal, saco vitelino y órganos principales) inducidos por las *N*-feniletil cinamamidas durante el desarrollo del pez cebra a concentraciones por debajo de la LC_{50} .

1.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.5.1 Síntesis de *N*-feniletil cinamamidas y su transformación en tetrahydroisoquinolinas a través de la reacción Bischler-Napieralski Con el fin de preparar una nueva serie de *N*-feniletil cinamamidas, tanto de origen natural como sintético, en la primera etapa de esta investigación se evaluaron las condiciones óptimas para la preparación de estos derivados tomando como sustratos modelo la respectiva feniletilamina **31a** y el ácido cinámico **32a**, y estudiando las variables: disolvente, temperatura y catalizador (Tabla 1).

Tabla 1. Evaluación de las condiciones óptimas de reacción para la preparación de la *N*-feniletil cinamamida **33a**^a

NCCc1ccccc1 (31a) + OC(=O)/C=C/c1ccccc1 (32a) $\xrightarrow[\text{Solvente, temperatura, tiempo}]{\text{Catalizador}}$ NC(=O)/C=C/c1ccccc1 (33a)

Exp.	Catalizador (equiv)	Solvente, (M)	Temperatura, °C	Tiempo, h	Rendimiento de 33a , % ^d
1	H ₃ BO ₃ (0.15)	Tolueno, (0.05)	110	24	86
2	SiO ₂ (20 % p/p)	Tolueno, (0.05)	110	24	68
3	MIBA ^b (0.1)	CH ₂ Cl ₂ (0.02) ^c	25	48	31
4	B(OCH ₂ CF ₃) ₃ (2)	CH ₃ CN (0.1)	80	24	88
5	B(OCH ₂ CF ₃) ₃ (1.5)	CH ₃ CN (0.1)	80	24	82
6	B(OCH ₂ CF ₃) ₃ (1)	CH ₃ CN (0.1)	100	24	90
7	B(OCH ₂ CF ₃) ₃ (0.5)	CH ₃ CN (0.1)	100	24	98
8	B(OCH ₂ CF ₃) ₃ (0.1)	CH ₃ CN (0.1)	100	24	78

^a Condiciones de reacción: feniletilamina **31a** (1 mmol), ácido cinámico **32a** (1 mmol), catalizador, disolvente y temperatura. ^b MIBA: ácido 5-metoxi-2-iodofenilborónico. ^c Reacción realizada con tamiz molecular 4Å activado a 130 °C en vacío. ^d Rendimiento del producto después de purificado por cromatografía en columna (SiO₂).

De acuerdo a los trabajos previos realizados en nuestro laboratorio [47], la formación del producto de interés se logró con un rendimiento del 86 % al emplear ácido bórico (H₃BO₃) como catalizador (Exp. 1, Tabla 1). Sin embargo, el uso de tolueno como medio de reacción y la poca solubilidad de los demás ácidos cinámicos sustituidos **32b-i**, incluso a temperaturas elevadas, constituyeron las principales desventajas de este enfoque. Con el fin de buscar mejores condiciones de reacción, se reemplazó el catalizador por silica gel (SiO₂), aunque el rendimiento con el que se aisló el producto de interés disminuyó drásticamente a 68 % (Exp. 2, Tabla 1).

Con base en el trabajo previo reportado por Hall y colaboradores [48], donde se describe la preparación de un derivado del ácido fenilborónico, el ácido 5-metoxi-2-iodofenilborónico (MIBA), cuyos sustituyentes: el grupo metoxi y el átomo de

iodo, le confieren una actividad catalítica sobresaliente para promover reacciones de amidación directa entre ácidos carboxílicos y aminas a temperatura ambiente. Para nuestro siguiente experimento este catalizador fue preparado y empleado en la formación del producto **33a**, pero el producto de interés tan sólo pudo ser aislado después de 48 horas de reacción con un 31 % de rendimiento (Exp. 3, Tabla 1).

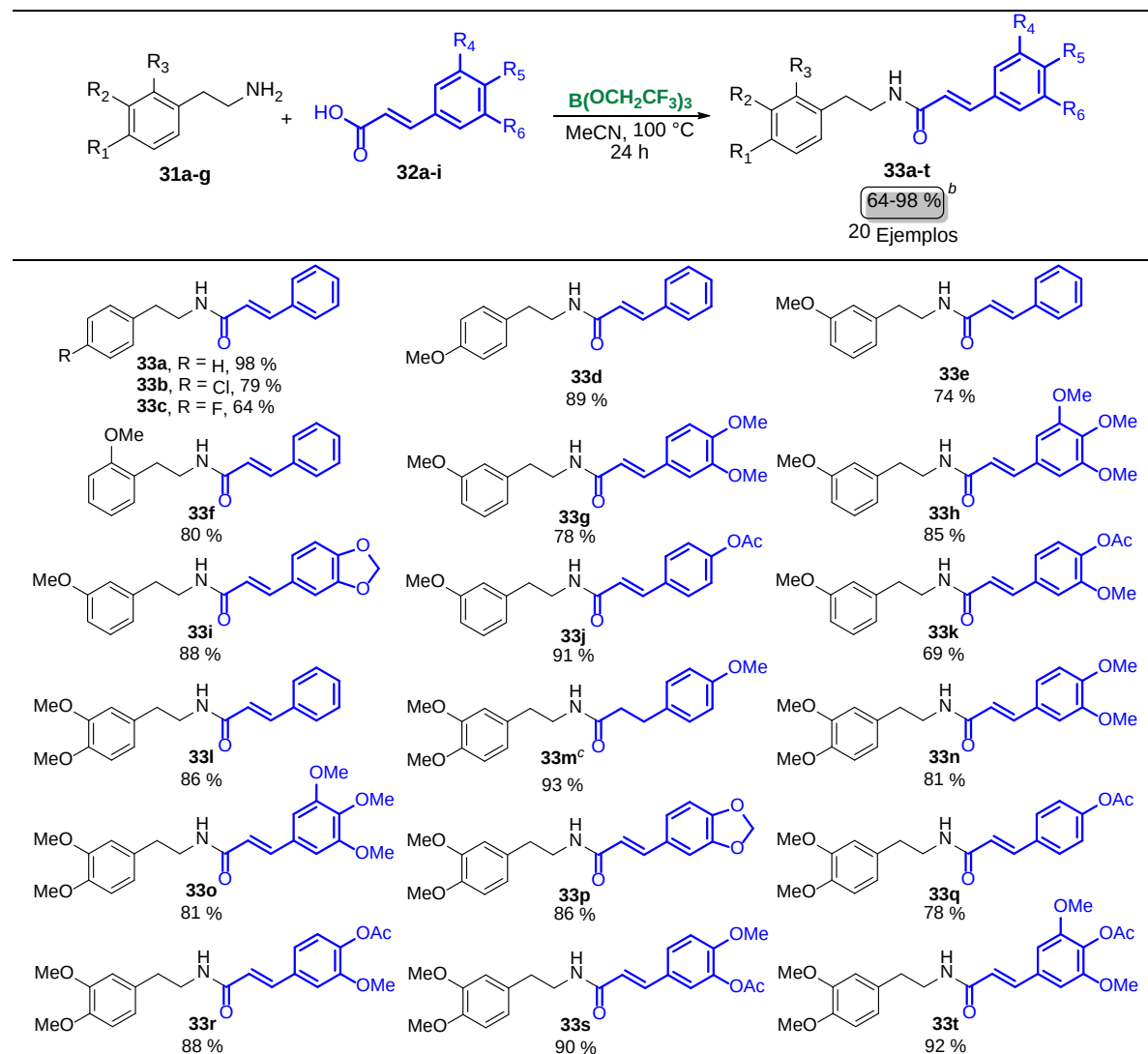
Teniendo en cuenta la actividad catalítica de los derivados organoborados en la síntesis de amidas, y en especial del trimetil borato (B(OMe)_3), Sheppard y colaboradores reportaron que un derivado de este borato, el ester tris(2,2,2-trifluoroetil)borato ($\text{B(OCH}_2\text{CF}_3)_3$), presentaba una gran versatilidad para promover la condensación de varios ácidos y aminas de distinta naturaleza estérica y electrónica, generando así una gran librería de amidas bajo condiciones verdes de reacción y con excelentes rendimientos [49].

Considerando estos avances, el catalizador $\text{B(OCH}_2\text{CF}_3)_3$ fue empleado en la reacción para la preparación de la cinamamida **33a** según las condiciones reportadas originalmente, donde se utilizó un exceso del ester borato (2 equiv) a 80 °C por un periodo de 24 horas en acetonitrilo (Exp. 4, Tabla 1). Si bien el producto de interés se obtuvo con un rendimiento muy bueno (88 %), en un disolvente más amigable y polar que el tolueno, el exceso de $\text{B(OCH}_2\text{CF}_3)_3$ empleado dificultaba la implementación de estas condiciones a gran escala. En búsqueda de un protocolo que se acercará más a los lineamientos de la química verde, para el siguiente experimento se redujo la cantidad de catalizador a 1.5

equiv, pero bajo estas condiciones se redujo un poco el rendimiento a 82 % (Exp. 5, Tabla 1). Continuando con la idea de disminuir la cantidad de $\text{B}(\text{OCH}_2\text{CF}_3)_3$ se empleó 1 equivalente de este catalizador, pero aumentando la temperatura del sistema a 100 °C; bajo estas condiciones se observó que el rendimiento del producto deseado aumentó al 90 % (Exp. 6, Tabla 1). No obstante, una reducción adicional del catalizador a 0.5 equiv, bajo las mismas condiciones de reacción, permitió obtener la respectiva cinamamida **33a** con un rendimiento del 98 % (Exp. 7, Tabla 1). Este último experimento indica que probablemente al emplear un exceso del $\text{B}(\text{OCH}_2\text{CF}_3)_3$, cuya naturaleza es de un ácido de Lewis, se afectaría de forma negativa el poder nucleofílico de la feniletilamina **31a**, impidiendo el ataque al grupo carbonílico activado de igual forma por el átomo de boro del catalizador. Finalmente, una disminución del catalizador a 0.1 equiv resultó afectar de manera negativa el transcurso de la reacción al obtener el producto de interés con un 78 % (Exp. 8, Tabla 1).

Una vez optimizadas las condiciones de reacción (Exp. 7, Tabla 1), se procedió a evaluar la reactividad de diversas feniletilaminas **31b-g** y ácidos cinámicos sustituidos **32b-i** en la preparación de la nueva librería de *N*-feniletíl cinamamidas (Tabla 2).

Tabla 2. Síntesis de *N*-feniletil cinamamidas **33a-t** empleando $B(OCH_2CF_3)_3$ como catalizador.^a



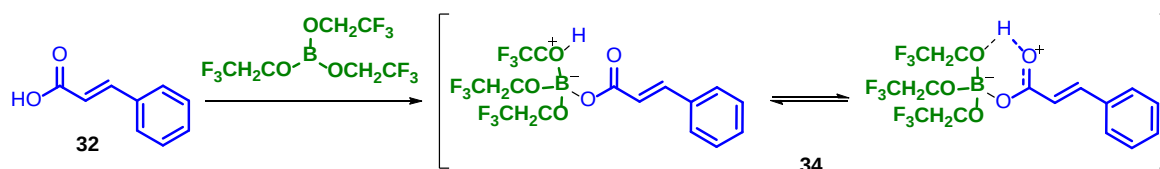
^a Condiciones de reacción: feniletilamina **1a-g** (5 mmol), ácido cinámico **2a-i** (5 mmol), $B(OCH_2CF_3)_3$ (0.5 equiv), CH_3CN (0.01 M), 100 °C, 24 h. ^b Rendimiento del producto después de purificado por cromatografía en columna (SiO_2). ^c Amida derivada del ácido 3-fenilpropanoico.

Las respectivas *N*-feniletil cinamamidas **33a-t** se obtuvieron en rendimientos que oscilaron entre el 64 y 98 %, siendo las cinamamidas **33c** y **33k** las moléculas que se obtuvieron en menor rendimiento (64 y 69 %, respectivamente), probablemente en el caso de la cinamamida **33c** el bajo punto de ebullición (52 °C) de la 4-

fluorofeniletilamina **31c** y la degradación del ácido **32f** en el 4-vinilguaiacol, proceso que ocurre a través de una reacción de descarboxilación [50], sean los factores que determinan el bajo rendimiento de estos productos en comparación con sus demás análogos. En general, las cinamamidas restantes fueron obtenidas en buenos rendimientos, sin que los sustituyentes presentes en el anillo aromático de los sustratos (aminas y ácidos) evidenciara algún tipo de efecto electrónico durante el transcurso de la reacción de amidación.

La obtención de la serie de *N*-feniletil cinamamidas **33a-t** sintetizadas transcurre a través de la condensación directa entre las feniletilaminas **31a-g** y los respectivos ácidos cinámicos **32a-i**. Este proceso requiere de una alta energía de activación donde se asegure el ataque nucleofílico al carbono carbonílico antes de que la amina se conjugue con el ácido para formar la respectiva sal. Así, en una primera etapa el rol principal del $B(OCH_2CF_3)_3$ es el de interaccionar con el ácido con el fin de pre-activar su función carbonílica, aumentando la electrodeficiencia de este carbono y formando la especie de borato tetra-coordinada **34** (Esquema 7) [51].

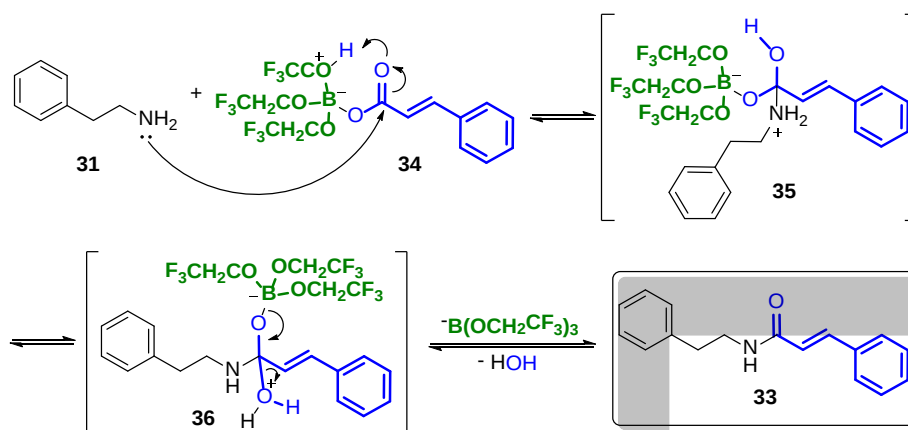
Esquema 7. Posible interacción entre el ácido cinámico **32** y el $B(OCH_2CF_3)_3$.



La formación de la especie **34** es clave para que el proceso de condensación sea exitoso, siendo el verdadero agente acilante sobre el cual el centro nucleofílico de las feniletilaminas **31a-g** ataca al carbono electrodeficiente, conduciendo a la

formación del intermediario **35**, el cual sufre la migración de uno de los protones de la amina al oxígeno protonado para dar lugar a la especie **36**. Finalmente, con la eliminación concertada de una molécula de agua y la regeneración del catalizador, para que pueda iniciar un nuevo ciclo catalítico, la función carbonílica se reestablece y se forma la cinamamida de interés **33** (Esquema 8).

Esquema 8. Mecanismo de reacción propuesto para la formación de las cinamamidas.



Todas las *N*-feniletil cinamamidas **33a-t** se obtuvieron como sólidos estables, permitiendo determinar sus propiedades físicas y su caracterización a través de espectroscopia infrarroja (IR) y espectrometría de masas (EM) y resonancia magnética nuclear. En la Tabla 3 se resumen las principales propiedades físicas y químicas de los compuestos obtenidos en esta etapa.

Tabla 3. Propiedades físicas y espectroscópicas de las *N*-feniletil cinamamidas **33a-t** sintetizadas.

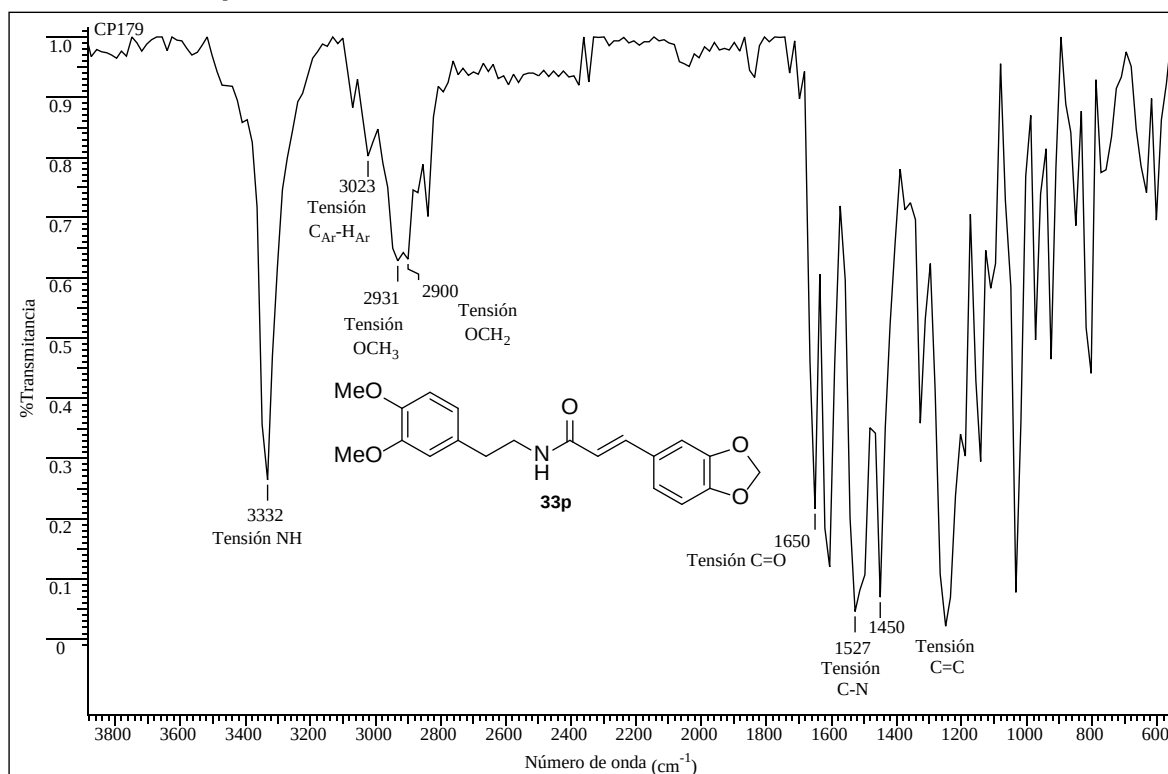
Comp.	Formula Molecular	PM (g/mol)	EM (M^+ , m/z)	t_R (min)	p.f. (°C)	R_f^*	Rend. (%)	Bandas de absorción IR (cm ⁻¹)	
								Tensión NH	Tensión C=O
33a	C ₁₇ H ₁₇ NO	251.32	251	23.6	125-127	0.36	98	3248	1651
33b	C ₁₇ H ₁₆ ClNO	285.77	285	17.5	173-175	0.51	79	3301	1650
33c	C ₁₇ H ₁₆ FNO	269.31	269	27.8	150-152	0.70	64	3332	1650

33d	C ₁₈ H ₁₉ NO ₂	281.35	281	18.7	145-147	0.89	89	3317	1650
33e	C ₁₈ H ₁₉ NO ₂	281.35	-	-	76-78	0.55	74	3270	1666
33f	C ₁₈ H ₁₉ NO ₂	281.35	-	-	141-143	0.46	80	3255	1650
33g	C ₂₀ H ₂₃ NO ₄	341.41	341	44.4	89-91	0.47	78	3301	1650
33h	C ₂₁ H ₂₅ NO ₅	371.43	-	-	72-74	0.37	85	3317	1650
33i	C ₁₉ H ₁₉ NO ₄	325.36	-	-	100-102	0.41	88	3317	1650
33j	C ₂₀ H ₂₁ NO ₄	339.39	339	44.1	181-183	0.35	91	3301	1666
33k	C ₂₁ H ₂₃ NO ₅	369.42	-	-	81-83	0.28	69	3301	1666
33l	C ₁₉ H ₂₁ NO ₃	311.15	-	-	122-124	0.64	86	3317	1651
33m	C ₂₀ H ₂₅ NO ₄	343.42	-	-	118-120	0.66	93	3301	1635
33n	C ₂₁ H ₂₅ NO ₅	371.43	-	-	123-125	0.44	81	3301	1650
33o	C ₂₂ H ₂₇ NO ₆	401.46	401	47.7	128-130	0.36	81	3286	1650
33p	C ₂₀ H ₂₁ NO ₅	355.11	355	47.1	165-167	0.39	88	3301	1650
33q	C ₂₁ H ₂₃ NO ₅	369.42	-	-	143-145	0.31	78	3301	1650
33r	C ₂₂ H ₂₅ NO ₆	399.16	-	-	78-80	0.22	88	3440	1666
33s	C ₂₂ H ₂₅ NO ₆	399.16	-	-	126-128	0.25	90	3317	1650
33t	C ₂₃ H ₂₇ NO ₇	429.46	-	-	133-135	0.17	92	3363	1666

* Placas Silulfol UV254. Éter de petróleo:Acetato de etilo

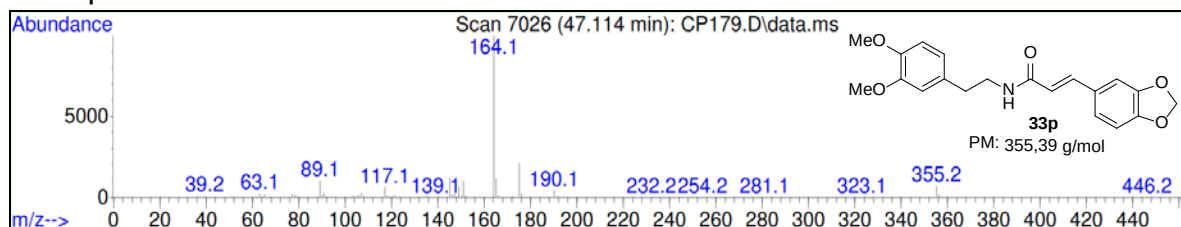
El análisis por espectroscopia infrarroja (IR) señaló la coherencia entre las bandas de absorción observadas y las bandas características de las *N*-feniletil cinamamidas sintetizadas. Como ejemplo se analiza el espectro IR de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4-metilendioxi-cinamamida **33p** donde la presencia de una banda a 3332 cm⁻¹ permitió la identificación del grupo NH-, siendo el primer indicio que confirma el éxito de la condensación para toda la serie de cinnámamidas **33a-t**. Otras bandas características presentes en los espectros IR de los productos esperados son: la banda a 1650 cm⁻¹ asignada al grupo carbonilo C=O y la banda a 1450 cm⁻¹ que se identifica como la banda característica del doble enlace C=C. Finalmente, se puede reconocer la banda de tensión característica de los protones aromáticos a 3023 cm⁻¹ y las bandas de tensión de los grupos metoxi y metileno, ubicadas a 2931 y 2900 cm⁻¹, respectivamente (Figura 9).

Figura 9. Espectro infrarrojo de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4-metilendioxi-cinamamida **33p**.



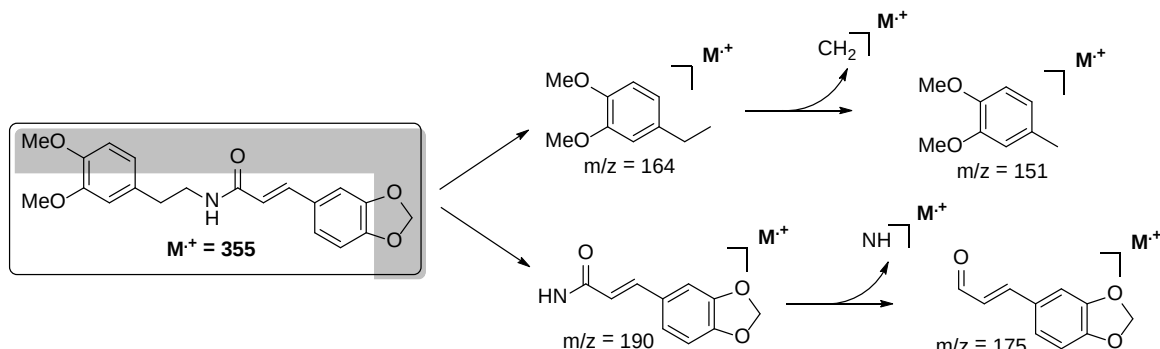
La pureza de los compuestos **33a-t** pudo determinarse analizando la corriente iónica total reconstruida (cromatograma) obtenida a través del estudio por cromatografía de gases en la que sólo se observó un pico. Por otro lado, se logró corroborar mediante el análisis del fragmentograma obtenido a través de espectrometría de masas (IE, 70 eV), el peso molecular correspondiente a la formula molecular condensada de cada uno de los derivados obtenidos mediante la identificación del respectivo ion molecular, que para el compuesto de referencia **33p** (P.M.: 355.11 g/mol) corresponde a una relación m/z de 355 (Figura 10).

Figura 10. Fragmentograma (IE, 70 eV) obtenido para el compuesto **33p** a través de espectrometría de masas.



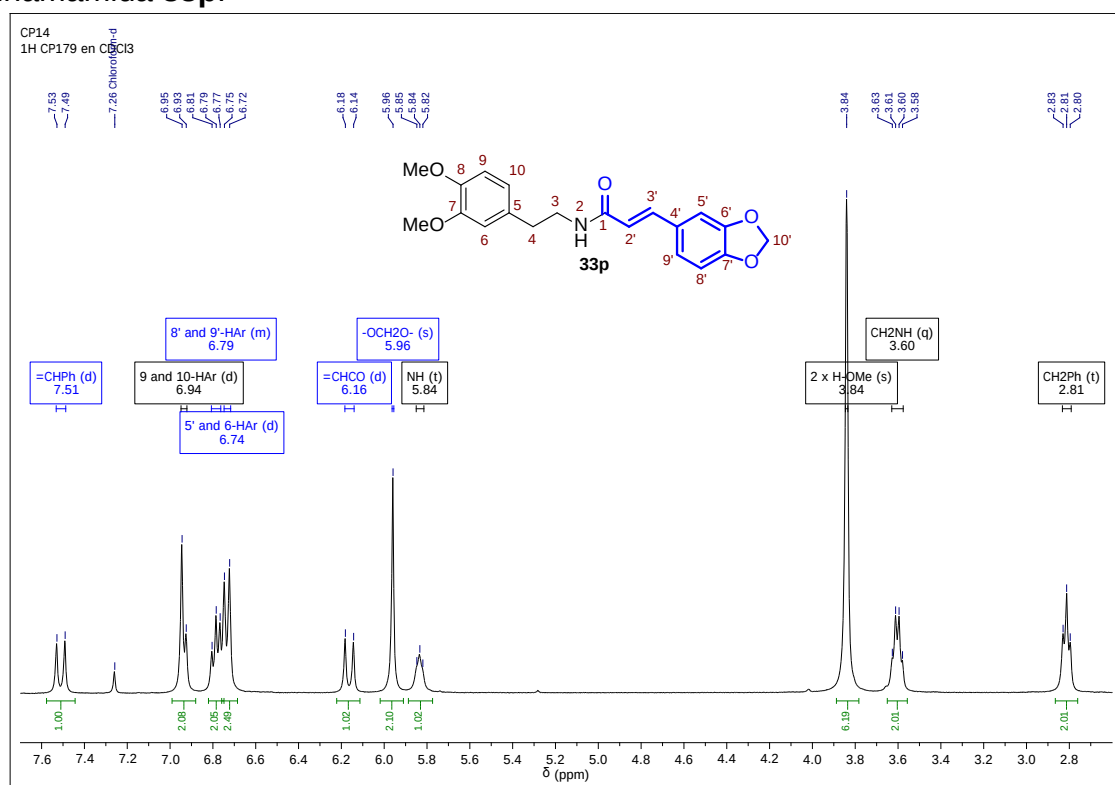
A pesar de que muchas de las fragmentaciones provenientes del ion molecular no alcanzaron a ser registradas por el equipo, algunas de ellas, características dentro de toda la serie de cinamamidas, pudieron ser identificadas y contribuyeron a la elucidación estructural de los compuestos **33a-t**. Para el caso particular del compuesto de referencia **33p**, la ruptura *beta* al nitrógeno generó el ion pico base (m/z de 164) y el fragmento con $m/z = 190$, correspondiente al fragmento etilbenceno y aquel con la fracción proveniente del ácido cinámico, respectivamente. Adicionalmente, sobre estos dos fragmentos ocurre la pérdida de las unidades CH_2^+ y NH^+ que originan los picos de baja abundancia con $m/z = 151$ y 175, respectivamente (Esquema 9).

Esquema 9. Posible ruta de fragmentación de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletíl)-3,4-metilendioxi-cinamamida **33p**.



Para completar la elucidación estructural de las *N*-feniletil cinamamidas **33a-t**, se realizó el análisis por espectroscopia de resonancia magnética nuclear (^1H RMN, ^{13}C RMN y DEPT-135). En el espectro de ^1H RMN de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4-metilendioxi-cinamamida **33p** se aprecian las señales correspondientes a los diversos grupos de protones presentes en la molécula (Figura 11).

Figura 11. Espectro de ^1H RMN de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4-metilendioxi-cinamamida **33p**.

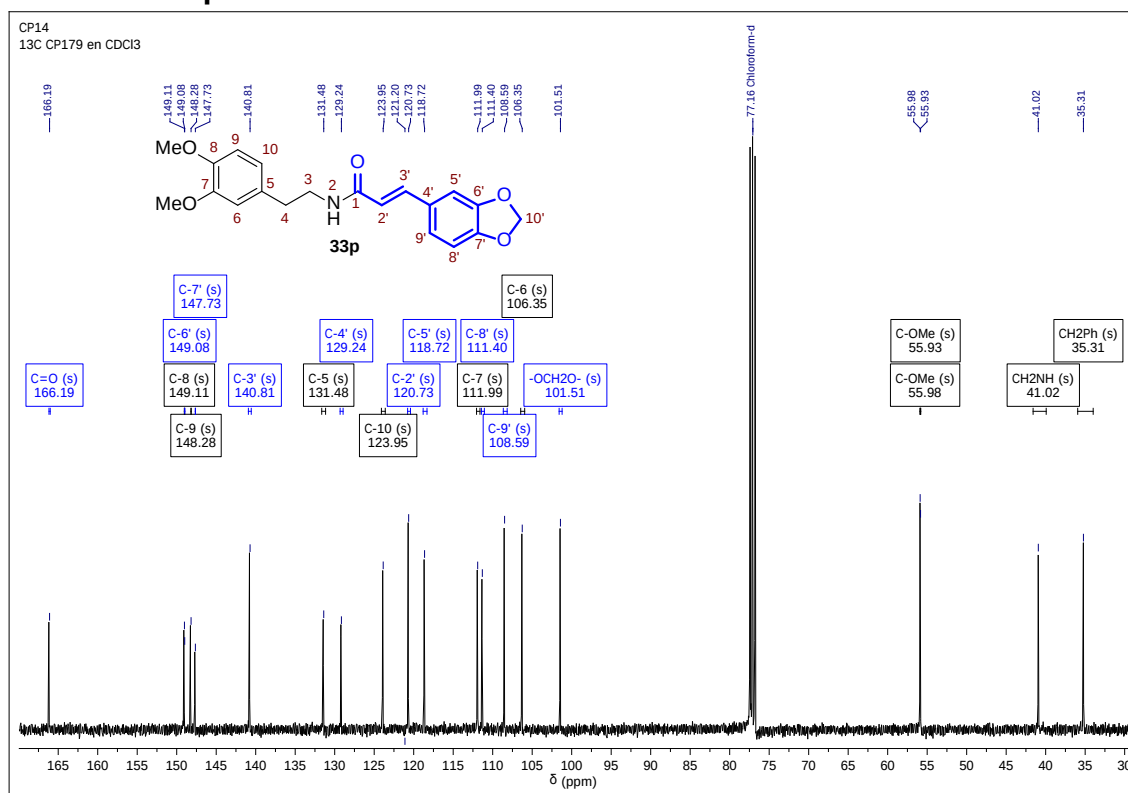


Comenzando desde campos altos a campos bajos, se ubica una señal a 2.81 ppm desdoblada como un triplete ($J = 6.7$ Hz) correspondiente al grupo metilénico ($-\text{CH}_2\text{-Ph}$) unido al anillo aromático, mientras que a 3.60 ppm se encuentra el segundo grupo metilénico ($-\text{CH}_2\text{-NH}$) enlazado al nitrógeno amídico que se desdobra como una cuarteta ($J = 6.3$ Hz). Enseguida se encuentra una señal

intensa como un singulete que corresponde a los dos grupos metoxi a 3.84 ppm, y hacia valores de campo más bajo se encuentra la señal del grupo NH a 5.84 ppm desdoblada como un triplete y la señal del sistema de protones metilénicos característica del grupo metilendioxi a 5.96 ppm como un singulete. El primero de los protones olefínicos (=CHCO) se ubica a 6.16 ppm, desdoblado como un doblete ($J = 15.4$ Hz), mientras que a 7.51 ppm se encuentra el segundo protón olefínico (=CHPh) que se desdobla como un doblete con una constante de acoplamiento de $J = 15.4$ Hz, indicando que estos dos protones olefínicos están interactuando en configuración *trans*-. Finalmente, los protones aromáticos de los dos anillos se encuentran en la región comprendida entre 6.74-6.94 ppm (Figura 11).

El análisis del espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4-metilendioxi-cinamamida **33p** indicó el número carbonos presentes en la molécula, corroborando la naturaleza de dichos núcleos mediante su ubicación en las distintas regiones del espectro (Figura 12).

Figura 12. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4-metilendioxi-cinamamida **33p**.

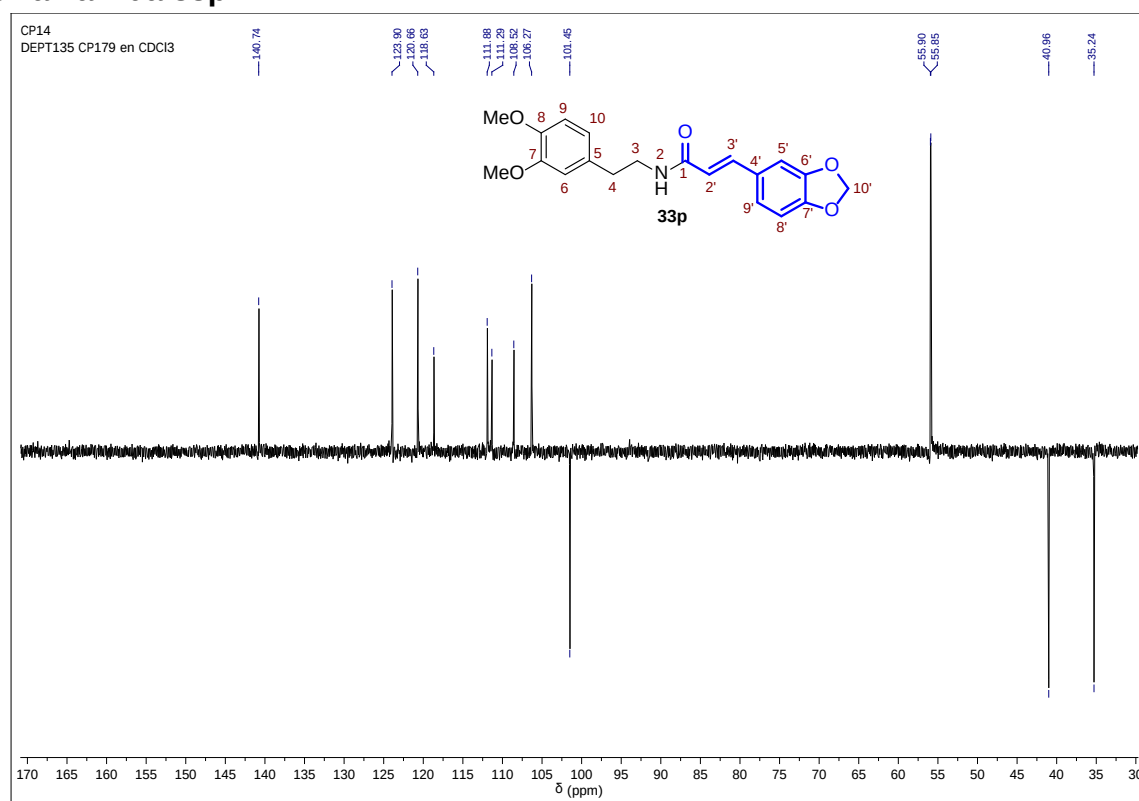


Se destaca así el carbono carbonílico (amida) C-1 a 166.1 ppm, confirmando el éxito de la condensación, mientras que los carbonos sp^2 del doble enlace =CHPh y =CHCO se ubican a 140.8 y 120.7 ppm, respectivamente. En la región comprendida entre 149.1-106.3 ppm se encuentran los carbonos aromáticos, incluidos los carbonos cuaternarios, y el carbono del grupo metilendioxi -OCH₂O- a 101.5 ppm. Por último, a campos más altos se destacan las señales de los grupos metoxi a 55.9 ppm y las señales de los núcleos metilénicos -CH₂- a 41.0 y 35.3 ppm.

Finalmente, el análisis del espectro obtenido a través del experimento DEPT-135 dio por concluida la elucidación estructural del compuesto **33p**. Se determinó así la

naturaleza de los núcleos de carbono presentes en la molécula obtenida, permitiendo diferenciar claramente los carbonos cuaternarios, CH, CH₂ y CH₃ presentes. Un análisis detallado de este espectro indicó la presencia de tres señales con fase negativa, correspondientes a los tres grupos metilénicos presentes, donde su desplazamiento químico permitió diferenciarlos y asignarlos correctamente a la estructura propuesta (Figura 13).

Figura 13. Espectro DEPT-135 de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4-metilendioxicinamamida **33p**.

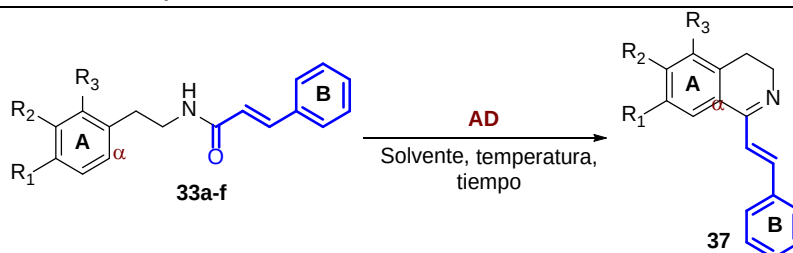


Con la síntesis y caracterización estructural de los compuestos **33a-t** se da por finalizada la primera etapa de esta sección, cuyo objetivo era la preparación de una librería de 20 *N*-feniletil cinamamidas **33a-t** para ser empleadas como precursores de la reacción Bischler-Napieralski. Los espectros obtenidos mediante

espectroscopía infrarroja, espectrometría de masas y resonancia magnética nuclear, relacionados con cada uno de estos compuestos **33a-t**, se encuentran en los ANEXOS 1-20.

A pesar de que los precursores tradicionales de la reacción Bichler-Napieralski son carboxamidas sustituidas [52], como tal las cinamamidas han sido poco empleadas en la preparación de 3,4-dihidroisoquinolinas, donde la inclusión del fragmento estiril en el C-1 podría contribuir en la síntesis total de alcaloides tetrahidroisoquinolínicos. A nivel sintético, la utilidad de las cinamamidas ha sido explorada principalmente con la reactividad del sistema α,β -insaturado $C=C-C=O$, cuyos centros electrofílicos son propensos a sufrir ataques por parte de ciertos nucleófilos en reacciones tipo Michael [53]. Con base en la hipótesis de poder acceder al sistema isoquinolínico a partir de cinamamidas a través del uso de la reacción Bischler-Napieralski, en la segunda etapa de esta sección se procedió a evaluar parámetros como: naturaleza del sustrato, catalizadores, solvente, temperatura y tiempos de reacción que dieran lugar a la formación del producto de interés, las respectivas 1-estiril-3,4-dihidroisoquinolinas, sin generar productos secundarios, polimerización o degradación de los precursores o productos finales. El estudio de las condiciones óptimas de reacción se inició evaluando la naturaleza del sustrato, comparando la reactividad de las *N*-feniletil cinamamidas **33a-f** sustituidas en el anillo aromático proveniente del fragmento de la amina, bajo las condiciones clásicas de la reacción Bischler-Napieralski (Tabla 4).

Tabla 4. Evaluación de la naturaleza del sustrato bajo las condiciones clásicas de la reacción Bischler-Napieralski^a



Exp.	33	R ₁	R ₂	R ₃	AD (equiv)	Solvente	Tiempo, h	Conversión, % ^b	Rend. %
1	33a	H	H	H	POCl ₃ (10)	-	3	0	N.R. ^c
2	33a	H	H	H	POCl ₃ (10)	Tolueno	6	0	N.R. ^c
3	33a	H	H	H	POCl ₃ /P ₂ O ₅ (1/1)	-	5	Degradación	-
4	33a	H	H	H	POCl ₃ /ZnCl ₂ (1/0.5)	Tolueno	4	0	N.R. ^c
5	33b	Cl	H	H	POCl ₃ (10)	Tolueno	3	0	N.R. ^c
6	33c	F	H	H	POCl ₃ (10)	Tolueno	3	0	N.R. ^c
7	33d	OMe	H	H	POCl ₃ (10)	Tolueno	3	0	N.R. ^c
8	33e	H	OMe	H	POCl ₃ (10)	Tolueno	3	100	N.D. ^d
9	33f	H	H	OMe	POCl ₃ (10)	Tolueno	3	0	N.R. ^c

^a Condiciones de reacción: cinamamida **33** (1 mmol), agente deshidratante (AD), Tolueno (0.1 M), 100 °C. ^b Seleccionando el derivado **33**. ^c N.R.: No hubo reacción. ^d N.D.: No determinado debido a la inestabilidad y descomposición del producto formado.

El cloruro de fosforilo (POCl₃) ha sido empleado comúnmente como agente deshidratante en la reacción Bischler-Napieralski, siendo empleado al mismo tiempo como solvente. Bajo estas condiciones, la cinamamida **33a** resultó ser un sustrato poco reactivo en donde este no se consumió y fue recuperado en su totalidad (Exp. 1 y 2, Tabla 4). Conscientes de que la ausencia de sustituyentes en el anillo A de la cinamamida **33a** limitaba su reactividad, otras condiciones de reacción fueron empleadas de acuerdo a los reportes que indicaban una alta versatilidad frente a sustratos poco reactivos. Sin embargo, la adición de pentóxido de fosforo (P₂O₅) en relación 1:1 POCl₃ produjo la degradación total del sustrato de partida [54], mientras que la adición de un ácido de Lewis (ZnCl₂) al medio de reacción tampoco generó la conversión de la amida **33a** en el producto de interés

(Exp. 3 y 4, Tabla 4) [55]. El mismo comportamiento se observó con las cinamamidas **33b-c** cuyos sustituyentes halogenados, atractores de electrones, no activaron el anillo A para dar lugar a la respectiva ciclación y construcción del núcleo dihidroisoquinolínico, en contraste con algunos trabajos donde se reporta la ciclación Bischler-Napieralski de amidas con sustituyentes halogenados en el anillo A (Exp. 5 y 6, Tabla 4) [54].

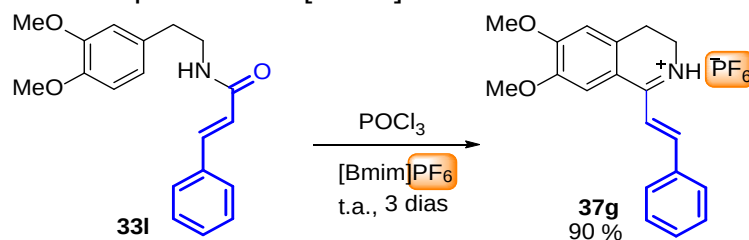
Continuando con la evaluación de sustratos, se procedió a evaluar el efecto de sustituyentes donadores de electrones sobre el anillo A, ya que siendo una reacción que se gobierna por un mecanismo de sustitución electrofílica aromática (S_EAr), era de esperar que el grupo metoxi (-OMe) favoreciera esta ciclación. Aunque la presencia de este grupo en el anillo sobre el cual ocurriría la ciclación no aseguró la formación del producto esperado (Exp. 7-9, Tabla 4). No obstante, el grupo metoxi se comporta como un grupo director *orto*- y *para*- en reacciones S_EAr , y para el caso particular en el que este grupo se encontró en posición *para*-, con respecto al carbono *alpha* sobre cual ocurriría la ciclación, se observó la conversión completa (a través de TLC) de la cinamamida **33e** en un nuevo producto el cual se presumía se trataba de la respectiva 1-estiril-3,4-dihidroisoquinolina **37**, pero que desafortunadamente no pudo ser aislada y purificada por métodos físicos, incluyendo cromatografía en columna sobre gel de sílice (SiO_2) o alumina neutra (Al_2O_3). Justamente, en el año 2015 Párraga y colaboradores reportaron la inestabilidad de un análogo a la 3,4-dihidroisoquinolina **37** que de igual forma no pudo ser aislado y debió ser sometido

a otra transformación química que permitiera su identificación y caracterización [56].

Habiendo corroborado la influencia del grupo metoxi y la posición de este sobre el anillo A en la formación de 3,4-dihidroisoquinolinas, y teniendo como reto la separación y caracterización de este producto, se procedió a realizar varios experimentos con la *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)cinámamida **33I** en los que se variaron las condiciones de reacción y los protocolos de extracción y purificación, pero a pesar de observar la conversión completa del material de partida y la formación de un nuevo producto (TLC), no se logró su aislamiento.

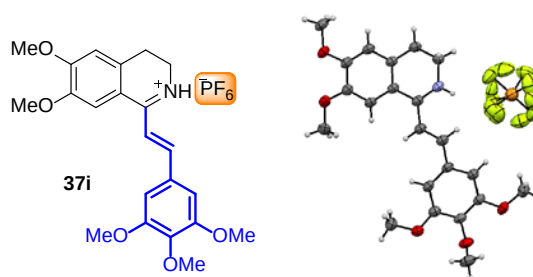
Con base en el trabajo reportado por Judeh y colaboradores en el año 2002, quienes observaron la influencia positiva del hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazolio ([Bmim]PF₆) en el transcurso de la reacción Bischler-Napieralski [57]. Se observó que no solo esta reacción conducía a la formación del producto de interés **37g** a partir de la cinamamida **33I** empleando este líquido iónico hidrofóbico a temperatura ambiente, sino que durante el tratamiento de la reacción se formó un sólido amarillo estable que pudo ser aislado con un rendimiento del 90 % (Esquema 10).

Esquema 10. Reacción Bichler-Napieralski a temperatura ambiente de la cinamamida **33I** en el líquido iónico [Bmim]PF₆.



Debido a que la formación del sólido obtenido durante el tratamiento de la reacción ocurrió antes de basificar el sistema, y debido a que resultó poco soluble en la mayoría de disolventes orgánicos, en primera instancia se concluyó que el producto obtenido se trataba de la sal de la respectiva 3,4-dihidroisoquinolina, donde el contraión podría ser el anión cloruro (Cl^-), proveniente del HCl generado por la hidrólisis del POCl_3 durante el tratamiento de la reacción. No obstante, la cristalización del sólido obtenido (etanol/acetona, 1/1, 25 °C) a partir de cinamamida **33o** permitió la caracterización la 3,4-dihidroisoquinolina **37i** a través de difracción de rayos X de monocristal, indicando que el contraión que en realidad acompaña al fragmento de la 3,4-dihidroisoquinolina es el hexafluorofosfato (PF_6^-) (Figura 14).

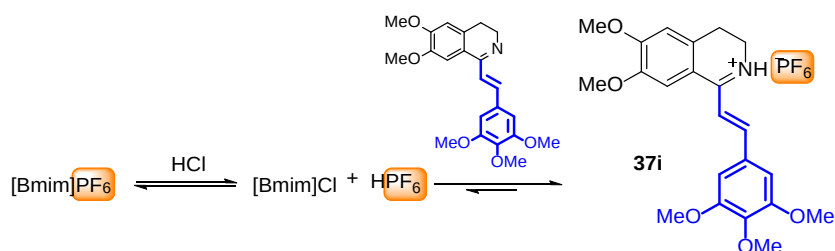
Figura 14. Diagrama ORTEP del 1-(3,4,5-trimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37i**.



Un cristal de dimensiones $0.37 \times 0.35 \times 0.29$ mm fue analizado, determinando que el compuesto **37i** cristaliza en un sistema triclinico con un grupo espacial $P-1$ y que los parámetros de la celda unidad son: 8.31, 11.68, 12.26 (Å) [a , b , c]; 78.20, 88.6, 84.65 (°) [α , β , γ], para un volumen de 1161.88 Å³ y una densidad de 1.513 g/cm³ (Ver Anexo 29-E).

Si bien el líquido iónico [Bmim]PF₆ presenta grandes ventajas como medio de reacción alternativo en varias transformaciones químicas [58], presenta una gran desventaja: tiende a descomponerse en presencia de agua generando productos que resultan tóxicos y peligrosos como el ácido fluorhídrico (HF) [59]. Es posible que durante el tratamiento de la reacción el [Bmim]PF₆ se descomponga, pero el hecho de que este proceso suceda en un medio donde la concentración de HCl es alta, puede generar que exista un equilibrio en donde ocurra un intercambio iónico entre el [Bmim]PF₆ y el HCl, formando el cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio ([Bmim]Cl), líquido iónico más estable y soluble en agua, y el ácido hexafluorofosfórico (HPF₆), especie que al interaccionar con el núcleo dihidroisoquinolínico forma la respectiva sal **37i** con el anión PF₆⁻, demostrando la alta afinidad electrónica sobre el anión Cl⁻ para formar un derivado con una mayor atracción electrostática, lo que se evidencia con la estabilidad de este compuesto (Esquema 11) [58].

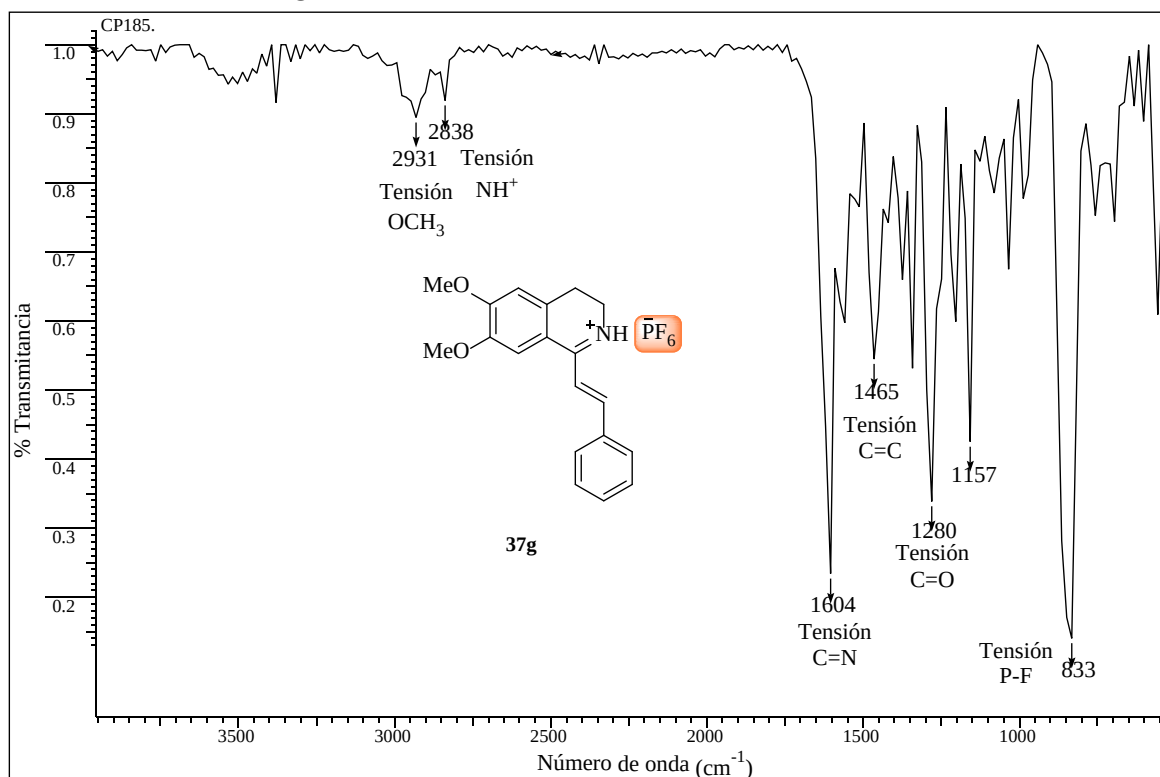
Esquema 11. Descomposición e intercambio iónico sobre el [Bmim]PF₆ para la formación del 1-(3,4,5-trimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37i**.



A continuación, para complementar la caracterización de estos derivados, se discute el análisis por IR análisis del compuesto **37g**, el cual permitió identificar bandas de absorción características con los grupos funcionales presentes. Sobre

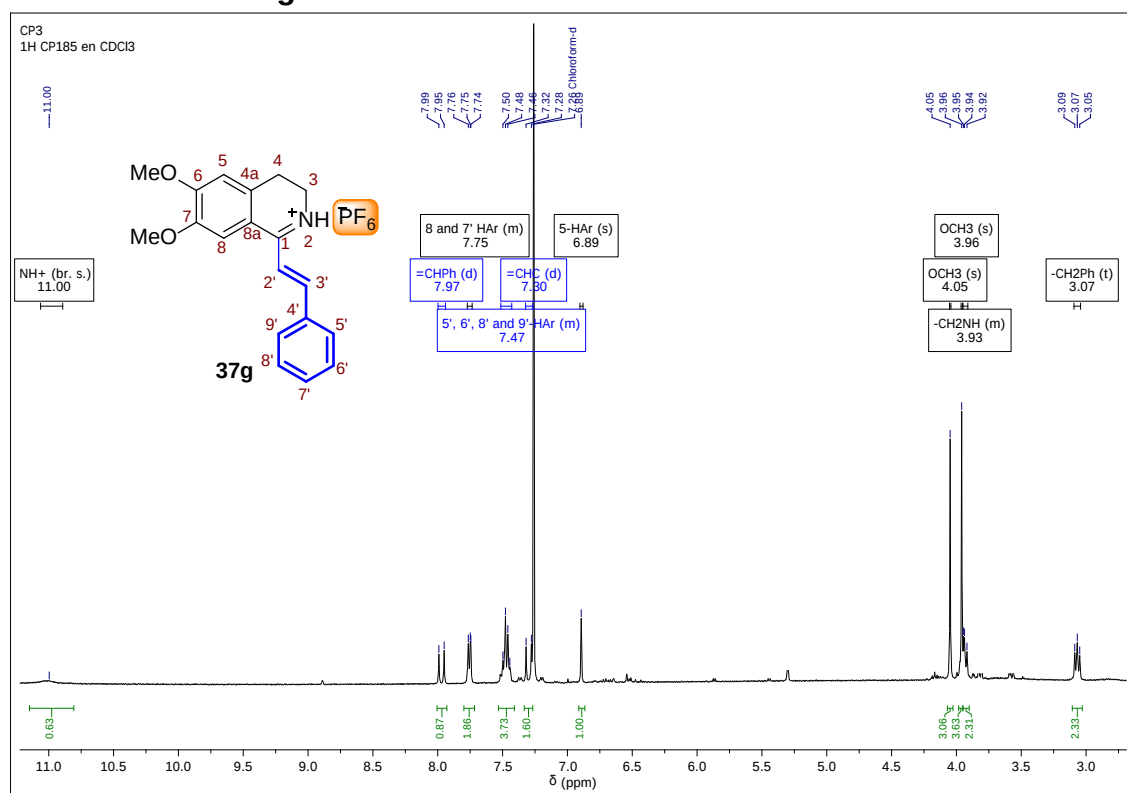
la región entre 3000 a 4000 cm^{-1} no se aprecia ninguna banda y aunque no se logró identificar la banda de grupo immonium ($=\text{NH}^+$), la cual se ha reportado como una banda de baja intensidad en la región entre 2200 y 1800 cm^{-1} , si se conoce que estas sales presentan bandas fuera del rango sobre el cual se encuentran las bandas del grupo NH en las aminas [60]. Por otro lado, la banda a 2931 cm^{-1} permitió la identificación de los grupos $-\text{OCH}_3$, mientras que la banda a 1604 cm^{-1} fue asignada al grupo $\text{C}=\text{N}$ y la banda a 1465 cm^{-1} fue identificada como la banda característica del doble enlace $\text{C}=\text{C}$ que se conservó durante la transformación química. Finalmente, la banda intensa a 833 cm^{-1} corresponde al anión PF_6^- , lo cual confirma la presencia de este grupo funcional (Figura 15).

Figura 15. Espectro infrarrojo del 1-estiril-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37g**.



Aunque por su naturaleza, el compuesto **37g** no pudo ser analizado por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM), su elucidación estructural se completó mediante el análisis por espectroscopía de resonancia magnética nuclear (^1H RMN, ^{13}C RMN y DEPT-135). Así, en el espectro de ^1H RMN del 1-estiril-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37g** tomado en cloroformo deuterado, se aprecian las señales correspondientes a los diversos grupos de protones presentes en la molécula (Figura 16).

Figura 16. Espectro de ^1H RMN del 1-estiril-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37g**.



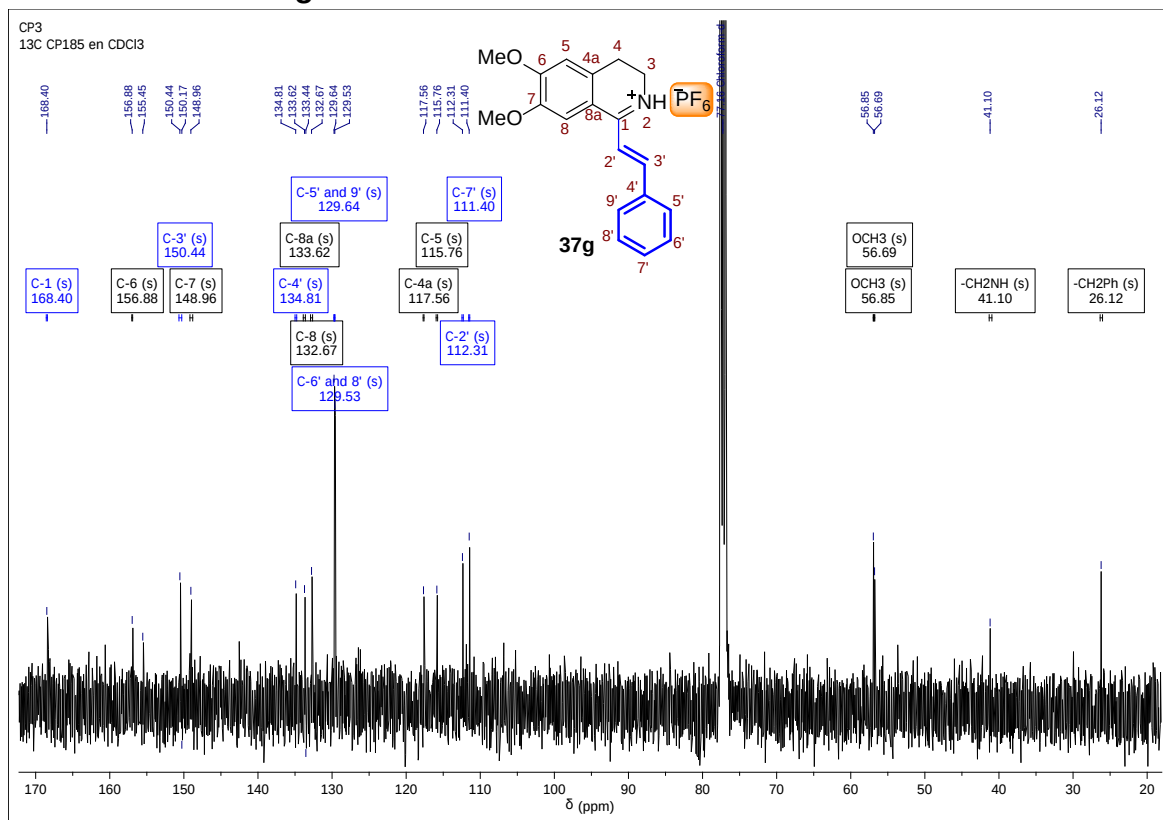
El análisis del espectro ^1H RMN permitió corroborar la estructura propuesta para el compuesto **37g**, identificando la señal a 3.07 ppm desdoblada como un triplete (J

= 7.7 Hz) correspondiente al grupo metilénico (-CH₂-Ph) unido al anillo aromático, mientras que a 3.93 ppm se encontró el segundo grupo metilénico (-CH₂-N) enlazado al nitrógeno que se desdobla como multiplete, enseguida se encuentran los dos grupos metoxi a 3.96 y 4.05 ppm como dos señales intensas. Desaparece la señal característica del grupo NH de la amida, confirmando la transformación química, además se conservan las señales de los protones olefínicos (=CHCN) a 7.30 ppm, desdoblado como un doblete ($J = 16.3$ Hz), y (=CHPh) a 7.97 ppm que se desdobla como un doblete con una constante de acoplamiento de $J = 16.3$ Hz, indicando que tras la reacción estos protones continúan interactuando en configuración *trans*-. Finalmente, a campo más bajo, 11.00 ppm, se encuentra la señal del protón enlazado al nitrógeno (NH⁺) como una banda ancha, cuyo desplazamiento concuerda con su naturaleza de sal orgánica, mientras que los protones aromáticos de los dos anillos se encuentran en la región comprendida entre 6.89-7.75 ppm (Figura 16).

El análisis del espectro de ¹³C RMN del 1-estiril-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37g** indicó el número de carbonos presentes en la molécula, corroborando la naturaleza de dichos núcleos mediante su ubicación en las distintas regiones del espectro. Se destaca así el carbono del enlace C=N a 168.4 ppm, confirmando el éxito de la reacción Bischler-Napieralski, mientras los carbonos *sp*² del doble enlace =CHPh y =CHCN se conservan y se ubican a 150.4 y 112.3 ppm respectivamente. En la región comprendida entre 156.8-111.4 ppm se encuentran los carbonos aromáticos, incluidos los carbonos

cuaternarios. Por último, a campos más altos se destacan las señales de los grupos metoxi a 56.8 y 56.6 ppm y las señales de los núcleos metilénicos -CH₂- a 41.1 y 26.1 ppm (Figura 17).

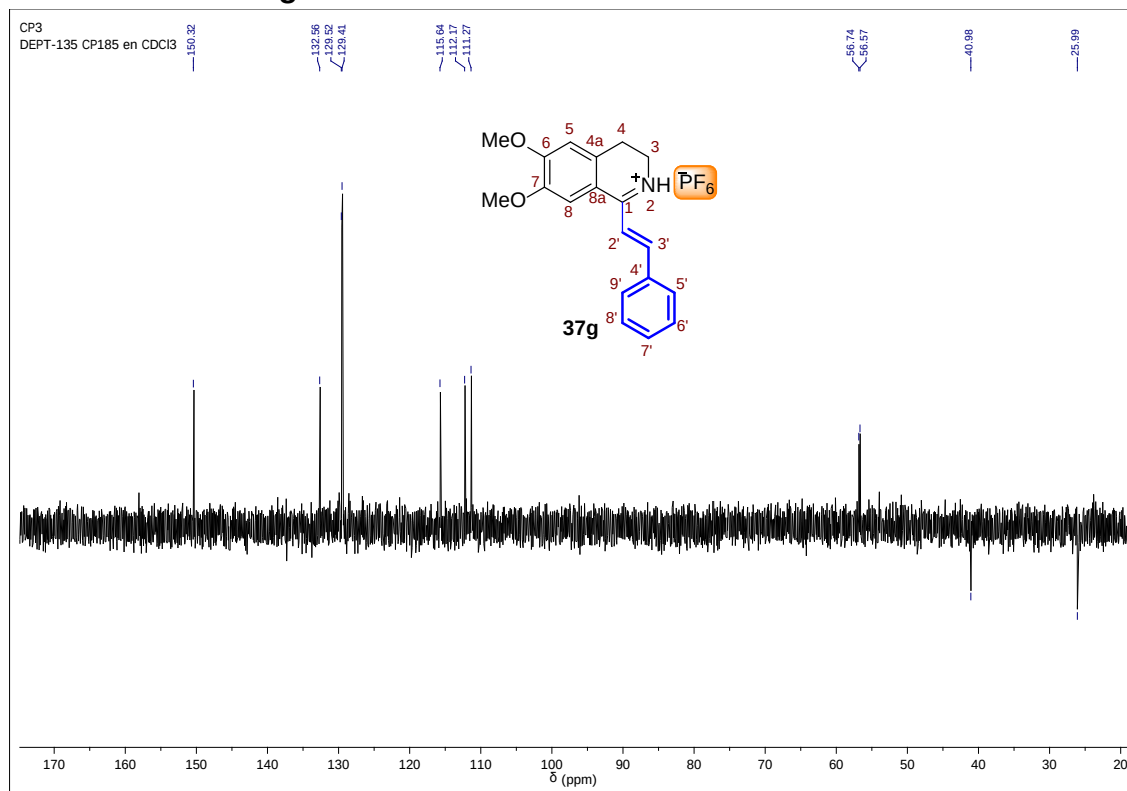
Figura 17. Espectro de ¹³C RMN del 1-estiril-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37g**.



Finalmente, la naturaleza de los núcleos de carbono, cuaternarios, CH, CH₂ y CH₃ presentes se determinó mediante el experimento DEPT-135, cuyo análisis concluyó la elucidación estructural del compuesto **37g**. Así, este espectro indicó la presencia de dos señales con fase negativa, correspondientes a los dos grupos metilénicos presentes, donde su desplazamiento químico permitió asignarlos al

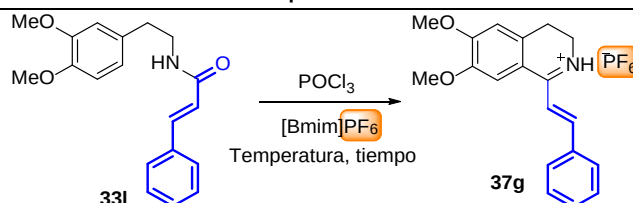
anillo isoquinolínico estableciendo que este sistema no sufrió de ningún tipo de oxidación durante la reacción (Figura 18).

Figura 18. Espectro DEPT-135 del 1-estiril-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37g**.



Con la plena caracterización estructural del derivado **37g**, y utilizando como sustrato modelo la cinamamida **33i** se procedió a optimizar las condiciones de reacción, estudiando el efecto de la temperatura, el tiempo y la proporción POCl₃/[Bmim]PF₆ (Tabla 5), con el fin de establecer el mejor protocolo de síntesis para la preparación de los compuestos **37a-l**

Tabla 5. Evaluación de las condiciones óptimas de reacción para la preparación del 1-estiril-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37g**.^a



Exp.	POCl ₃ (equiv)	[Bmim]PF ₆ , (mL)	Temperatura, °C	Tiempo	Rend. 37g , % ^b
1	8	1	25	3 días	90
2	8	1	100	1 horas	81
3	5	1	50	24 horas	96
4	1.5	1	50	48 horas	95
5	1.5	0.8	50	48 horas	95
6	1.5	0.5	50	24 horas	98
7	1	0.5	50	24 horas	64 ^c

^a Condiciones de reacción: cinamamida **3I** (1 mmol), POCl₃, [Bmim]PF₆ y temperatura. ^b Rendimiento del producto después de filtrar y lavar el sólido obtenido. ^c No hubo conversión completa de **33I** (TLC).

Durante la optimización de las condiciones de reacción para la obtención del producto **37g**, los principales retos fueron la disminución de los tiempos de reacción y de las cantidades empleadas de POCl₃ y [Bmim]PF₆ con respecto al primer experimento realizado (Esquema 10). Al aumentar la temperatura de la reacción a 100 °C, la cinamamida **33I** se consumió en su totalidad tras una hora y el producto de interés se aisló con un rendimiento del 81 %. No obstante, la reacción se tornó de un color negro y el tratamiento de la reacción resultó tedioso, probablemente la degradación del POCl₃ y del líquido iónico a esta temperatura influyen de manera negativa en el aislamiento de **37g** (Exp. 2, Tabla 5). Una disminución tanto de la cantidad de POCl₃ (5 equiv) y de temperatura (50 °C), favorecieron la formación del producto deseado tras 24 horas de reacción con un rendimiento del 96 % (Exp. 3, Tabla 5). Sin embargo, al disminuir la cantidad de

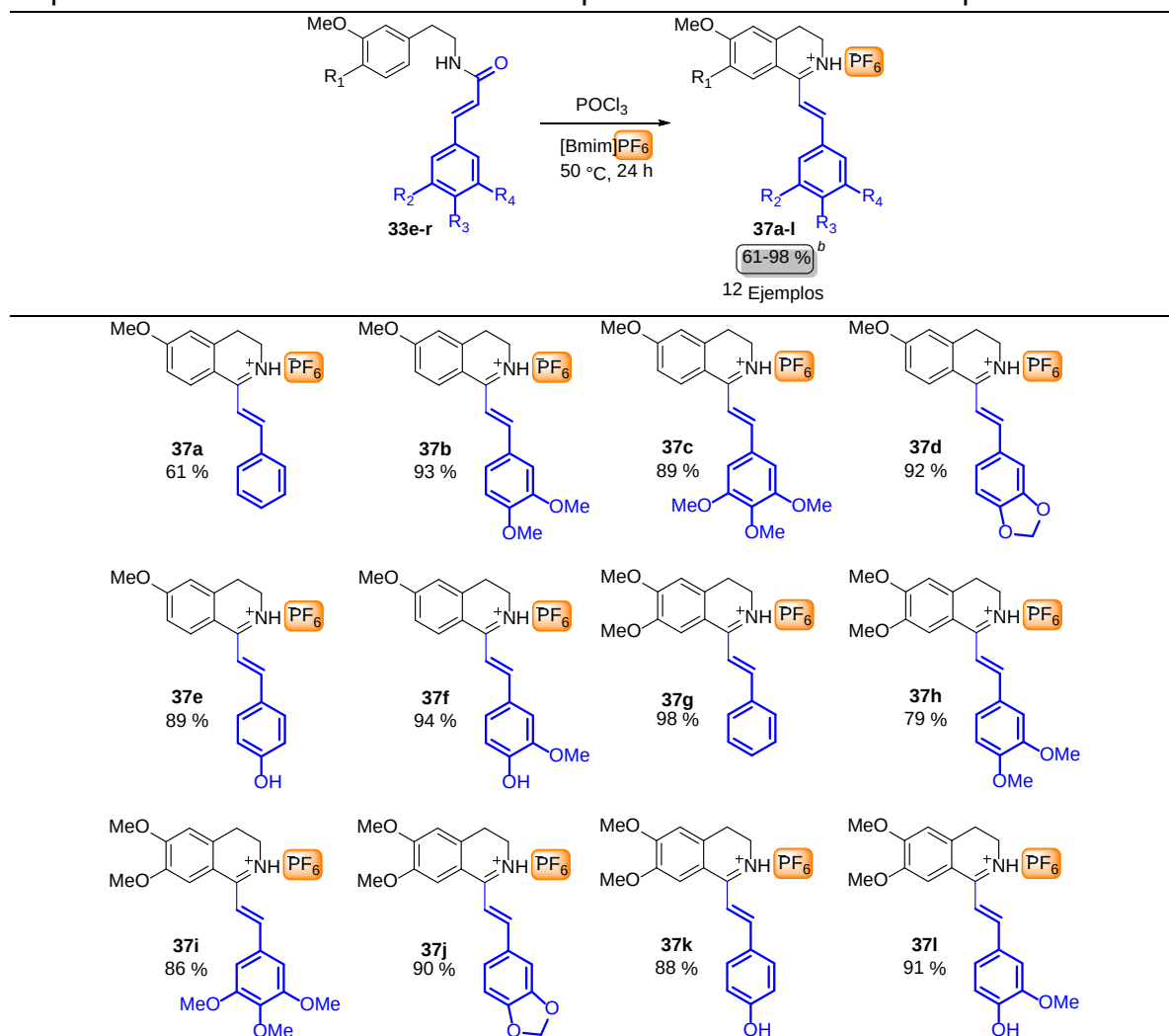
POCl₃ (1.5 equiv), bajo las mismas condiciones, la respectiva sal **37g** se aisló tras 48 horas indicando que la concentración en la cual las especies reaccionantes se encuentran en el sistema influye sobre el tiempo de reacción (Exp. 4, Tabla 5). Una leve disminución de la cantidad de solvente empleado no generó ningún cambio apreciable en los tiempos, ni en el rendimiento de la reacción, aunque una disminución considerable de [Bmim]PF₆ (0.5 mL) si tuvo un efecto sobre el tiempo (24 horas) y el rendimiento (98 %) (Exp. 5 y 6, Tabla 5). Finalmente, el uso de cantidades equimolares de POCl₃ no produjo la conversión completa de la cinamamida **33i** y el producto de interés se aisló con un rendimiento del 64 %, probablemente debido a la descomposición del POCl₃ con la humedad del ambiente (Exp. 7, Tabla 5).

Una vez optimizadas las condiciones de reacción, se procedió a evaluar la reactividad de las *N*-feniletil cinamamidas **33e-r**, sustituidas con el grupo metoxi en posición *para*- con respecto al carbono *alpha* sobre cual ocurre la ciclación, en la preparación de la nueva librería de 1-estiril-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfatos (Tabla 6).

Los respectivos 1-estiril-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfatos **37a-l** se obtuvieron como sólidos estables y, en general, todos se obtuvieron en buen rendimiento gracias a la activación del grupo metoxi en la posición C-6. Aunque en el caso del derivado **33e**, la ausencia de sustituyentes en el anillo del fragmento cinámico y la presencia de solo un grupo activante en el anillo aromático del núcleo dihidroisoquinolínico podría explicar el bajo rendimiento en el que se

obtuvo el derivado **37a** (61 %). Al no haber podido emplear otros grupos funcionales (H, Cl, F), no fue posible determinar el efecto electrónico (donador o atractor de electrones) sobre la reacción, aunque claramente si se puede establecer que sobre el transcurso de la reacción no priman efectos estéricos.

Tabla 6. Síntesis de 1-estiril-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosatos **37a-l** empleando las condiciones establecidas para la reacción Bichler-Napieralski.^a



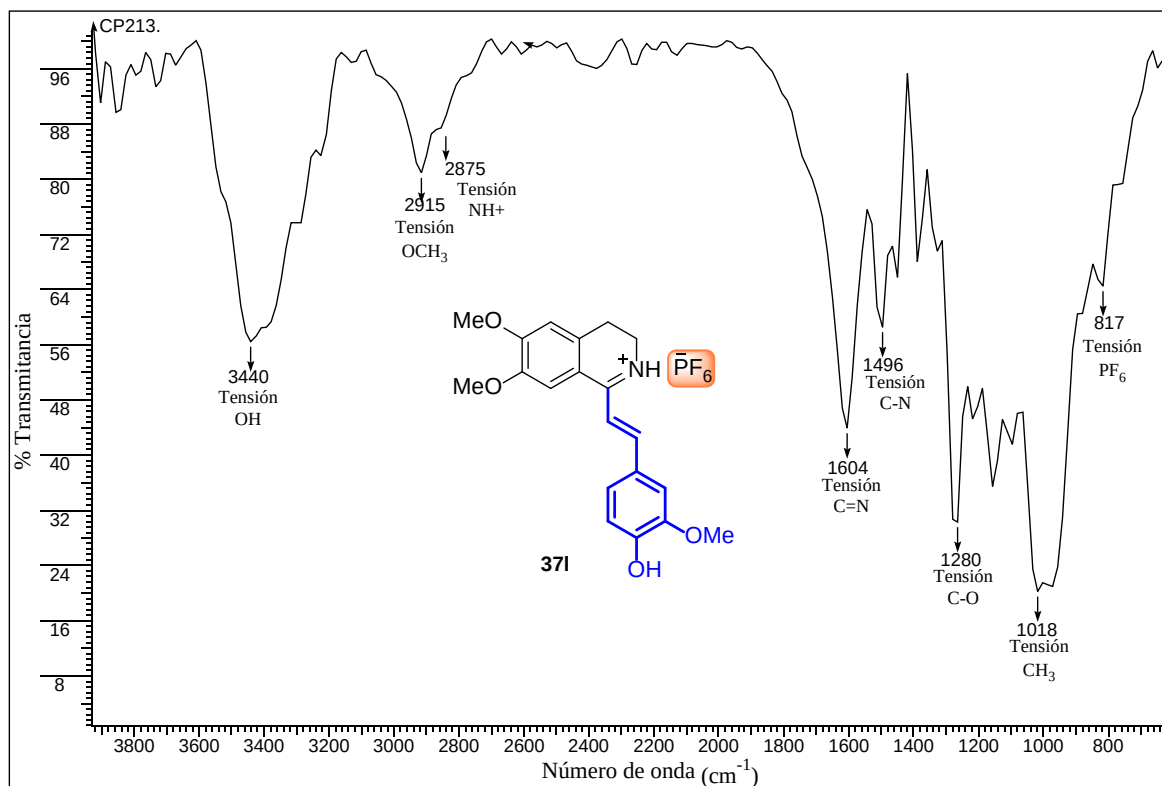
^a Condiciones de reacción: *N*-feniletil cinamamidas **33e-t** (2 mmol), POCl_3 (3 mmol, 1.5 equiv), $[\text{Bmim}]\text{PF}_6$ (1 mL) a 50°C . ^b Rendimiento del producto después de filtrar, lavar y secar el sólido obtenido.

Para los productos obtenidos a partir de las cinamamidas **33j**, **33k**, **33q** y **33r**, cuya función hidroxilo (-OH) se encontraba protegida con el grupo acetil (-OAc) con el fin de evitar su respectiva fosforilación por parte del POCl₃ durante la reacción Bichler-Napieralski, se observó la ausencia del grupo acetilo (Ac) durante la caracterización de los productos **37e**, **37f**, **37k** y **37l**, lo cual indica que en algún momento de la reacción o extracción ocurre la desprotección del grupo Ac y se regenera la función -OH. Se conoce que la función Ac es estable en rangos de pH entre 3 y 8 a temperatura ambiente, pero uno de los protocolos para la desacetilación de grupos -OH es el tratamiento a valores de pH inferiores a 1 y bajo un calentamiento superior a los 90 °C [61]. Si bien el pH de la reacción para la formación de los productos **37a-l** se encontraba en un rango entre 1-3, y el sistema se sometió a un calentamiento (50 °C), es probable que debido al tiempo prolongado de la reacción (24 h) y a su posterior tratamiento acuoso se haya promovido la desacetilación del grupo OAc. Si bien se desconoce el motivo y el mecanismo mediante el cual se produce esta desprotección, es un proceso que se tenía planeado realizar para regenerar la función -OH pensando en la bioactividad de los compuestos finales, por lo que al haber ocurrido *in situ* resulta de gran utilidad desde el punto de vista de la síntesis global.

El análisis por IR de los productos O-acetilados **37e**, **37f**, **37k** y **37l**, más allá de presentar las bandas características de los productos **37a-l** ya descritas en la Figura 15, presentan la banda de tensión que corresponde al grupo -OH, que para el caso particular del compuesto **37l** se encuentra en 3440 cm⁻¹, mientras que

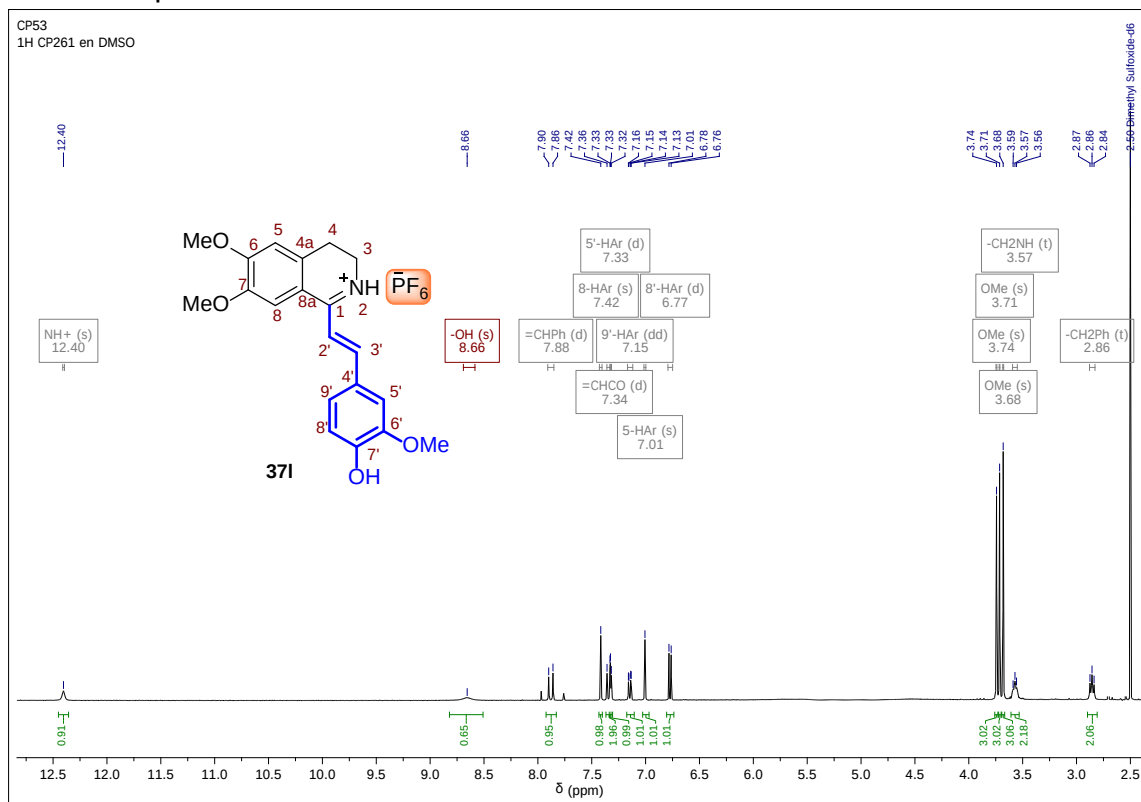
desaparece la banda que indicaba la presencia del grupo acetilo alrededor de 1700 cm^{-1} y aparece la banda de tensión C-O que se ubica en 1280 cm^{-1} (Figura 19).

Figura 19. Espectro de IR del 1-(4-hidroxi-3-metoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37I**.



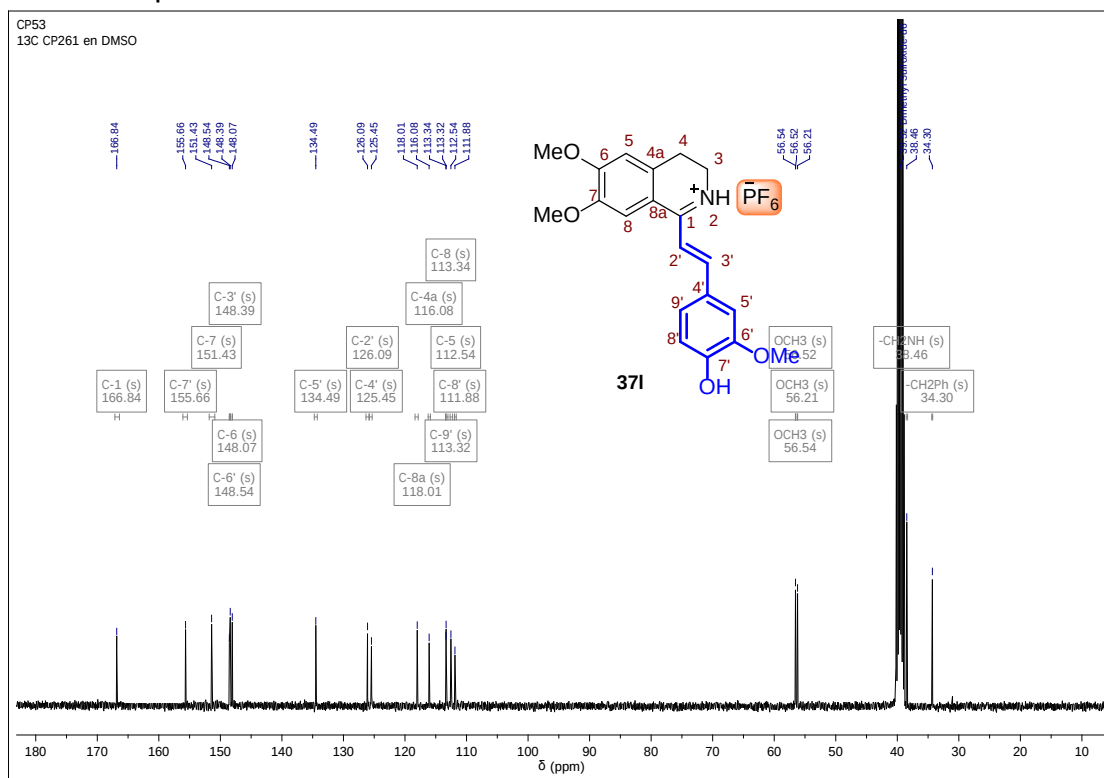
De igual forma, el análisis por espectroscopía de resonancia magnética nuclear ^1H RMN mostró evidencia del proceso de desacetilación al no identificar la señal característica del metilo ($-\text{CH}_3$) de la función OAc, ubicada para la cinamamida precursora en la región entre 2.20 y 2.35 ppm. Como ejemplo se muestra el espectro ^1H RMN del compuesto **37I** donde también se puede ubicar la nueva señal ancha correspondiente al grupo $-\text{OH}$ a 8.66 ppm (Figura 20).

Figura 20. Espectro de ^1H -RMN del 1-(4-hidroxi-3-metoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37I**.



Finalmente, el proceso de desacetilación se confirmó mediante el análisis del espectro de ^{13}C RMN, donde las señales del grupo OAc, el metilo $-\text{CH}_3$ y el carbono carbonílico $\text{C}=\text{O}$, están ausentes en la región de 10-30 ppm y 160-180 ppm, respectivamente (Figura 21).

Figura 21. Espectro de ^{13}C -RMN del 1-(4-hidroxi-3-metoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37I**.



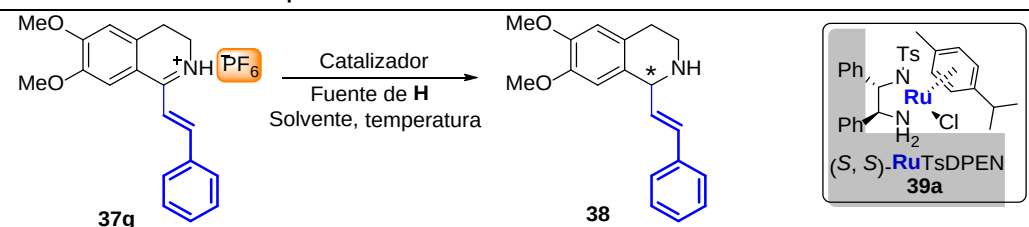
Con la caracterización estructural de los compuestos **37a-I** se da por finalizada la segunda etapa de esta sección, donde se prepararon las respectivas 3,4-dihidroisoquinolinas a ser empleadas en la síntesis de alcaloides tetrahydroisoquinolínicos. Los espectros obtenidos mediante espectroscopia infrarroja y resonancia magnética nuclear, relacionados con cada uno de estos compuestos **37a-I**, se encuentran en los ANEXOS 21- 32.

De acuerdo con el análisis retrosintético planteado (Esquema 6), y teniendo en mente la estructura de los alcaloides *Dysoxylum*, se propuso el uso de las 1-estiril-3,4-dihidroisoquinolinas como sustratos de la reacción de transferencia asimétrica de hidrogeno (AHT) para la generación de las correspondientes

tetrahidroisoquinolinas con el centro quiral en el carbono C-1. Sin embargo, los productos de la reacción Bichler-Napieralski sólo pudieron ser aislados como sales, no como bases libres. Lejos de ser un inconveniente, al revisar el mecanismo de la reacción AHT se identificó que, durante el transcurso de la reacción la respectiva imina es protonada por las condiciones de reacción (HCOOH), generando la especie imimonium (=NH⁺), con el anión fluoruro, para así ser atraída por los grupos sulfonilo de mayor densidad electrónica presentes en el complejo de rutenio. De este modo, al emplear los productos **37a-l** como sustratos de la reacción AHT se esperaba que se favoreciera la interacción entre el núcleo dihidroisoquinolínico y catalizador de rutenio [62].

Al emplear el 1-estiril-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37g** como sustrato modelo para la obtención de la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38**, se evaluaron las condiciones de la reacción AHT y su reducción empleando como agente reductor el borohidruro de sodio (NaBH₄) (Tabla 7).

Tabla 7. Evaluación de las condiciones óptimas de reacción para la preparación de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38**^a

					
Exp.	Catalizador	Fuente de H	Solvente (0.2 M)	Temperatura, °C	Rend. 38 , %
1	39a (2 mol %)	HCOOH/TEA (1.1/1)	H ₂ O	40	N.R. ^b
2	39a (2 mol %)	HCOOH/TEA (1.1/1)	CH ₃ OH	40	N.R.
3	39a (2 mol %)	HCOOH/TEA (2/5)	CH ₃ OH	40	N.R.
4	39a (2 mol %)	HCOONa (2 equiv)	H ₂ O/CH ₃ OH (1/1)	40	N.R.

5	39a (2 mol %)	HCOONa (2 equiv)	H ₂ O/DMF (1/1)	40	N.R.
6	-	NaBH ₄ (2 equiv)	CH ₃ OH	25	>99 ^c

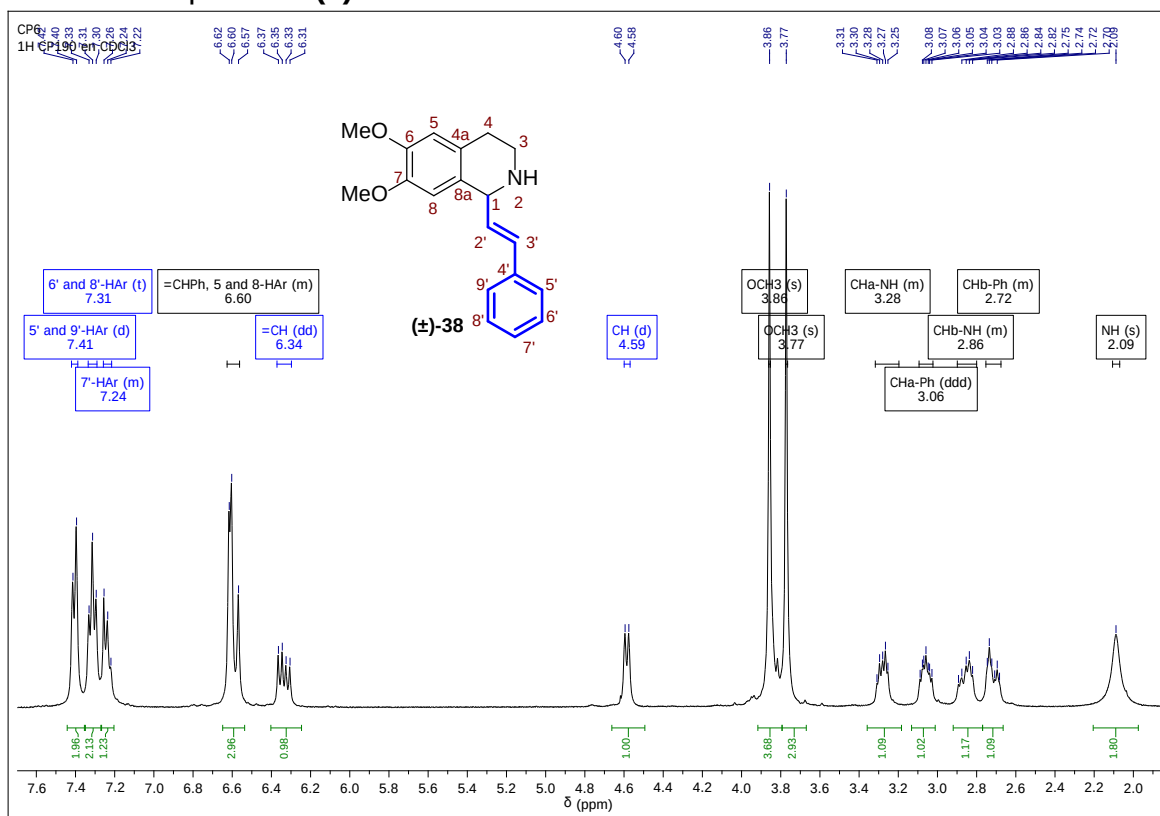
^a Condiciones de reacción: 3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37g** (0.5 mmol), catalizador, fuente de hidrógeno, solvente, temperatura, 24 horas. ^b N.R.: No hubo reacción. ^c Rendimiento del producto después de extracción. HCOOH: Ácido fórmico. TEA: Trietilamina. HCOONa: Formiato de sodio.

De acuerdo a los trabajos reportados durante el inicio y desarrollo de la reacción AHT para la reducción enantioselectiva de iminas cíclicas y acíclicas [63], en los primeros experimentos se empleó el catalizador de Ru-TsDPEN **39a** y como fuente de hidrógeno el complejo formado entre el ácido fórmico y la trietilamina (HCOOH/TEA) en relación 1.1/1, previamente estipulada como la relación ideal para obtener mejores resultados en cuanto a rendimientos y enantioselectividad [64]. Sin embargo, y a pesar de haber efectuado la reacción en dos solventes (H₂O y metanol) a 40 °C, tras 24 horas de reacción no se observó la formación del producto de interés ni se logró recuperar el sustrato de partida (Exp. 1 y 2, Tabla 7). En estos experimentos se emplea la mezcla HCOOH/TEA para la formación de la especie (HCOO)⁻Et₃NH⁺ *in situ*, la cual se comporta como fuente de hidrógeno. Si bien la adición de TEA en menor proporción genera una competencia por el HCOOH y la sal **37g**, el uso de un exceso de TEA tampoco promovió la formación del producto de interés (Exp. 3, Tabla 7). Teniendo en cuenta la posibilidad de que estos tuvieran algún efecto sobre el pH de la reacción, y por ende afectaran la naturaleza de la sal **37g**, se realizó un experimento en el que se empleó formiato de sodio (HCOONa) como fuente de hidrógeno en medios acuosos (H₂O/CH₃OH y H₂O/DMF) a 40 °C, pero desafortunadamente estos intentos tampoco permitieron el aislamiento del producto de interés (Exp. 4 y 5, Tabla 7). Evidentemente, la

presencia del anión PF_6^- tiene un efecto negativo sobre el transcurso de la reacción AHT, probablemente al “envenenar” el complejo de rutenio o al impedir la aproximación del ion imimonium ($=\text{NH}^+$) a los grupos sulfonilo del catalizador debido a la fuerza de la interacción iónica que existe en la sal **37g**, lo que podría explicar su alta estabilidad.

Finalmente, tras no haber alcanzado los resultados esperados empleando el catalizador quiral **39a**, se optó por someter la sal **37g** a una reducción simple con NaBH_4 , donde por fortuna se obtuvo el producto deseado con rendimiento cuantitativo, aunque como una mezcla racémica (Exp. 6, Tabla 7). La elucidación estructural de este derivado tetrahidroisoquinolínico ($\pm$)-**38** se realizó principalmente mediante ^1H RMN, donde se observan señales que confirman el éxito de la reducción del doble enlace $\text{C}=\text{N}$, como la señal a 2.09 ppm correspondiente al grupo NH y el doblete a 4.59 ppm asignado al carbono C-1. Esta señal se encuentra acoplando con el protón olefínico $=\text{CH}$, que se desdobla como un doblete-doblete, a través de la constante de acoplamiento 7.7 Hz, mientras que a través de la constante de acoplamiento de 15.7 Hz este núcleo interacciona con el segundo protón olefínico $=\text{CHPh}$ (Figura 22).

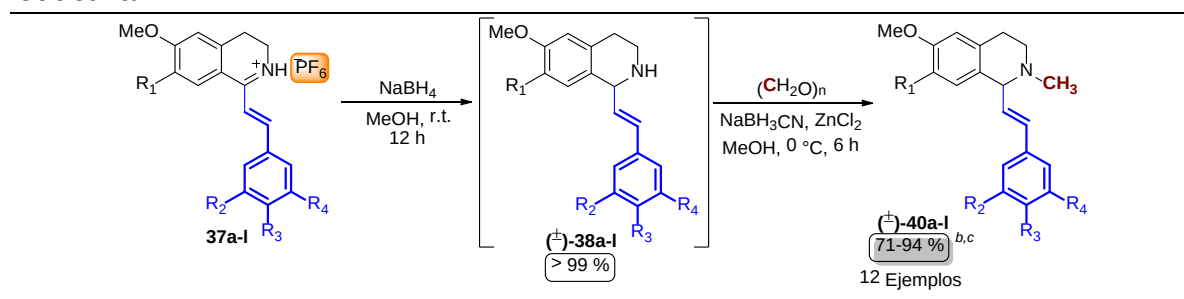
Figura 22. Espectro de ^1H RMN de la 1-estiril-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina ($\pm$)-**38**.

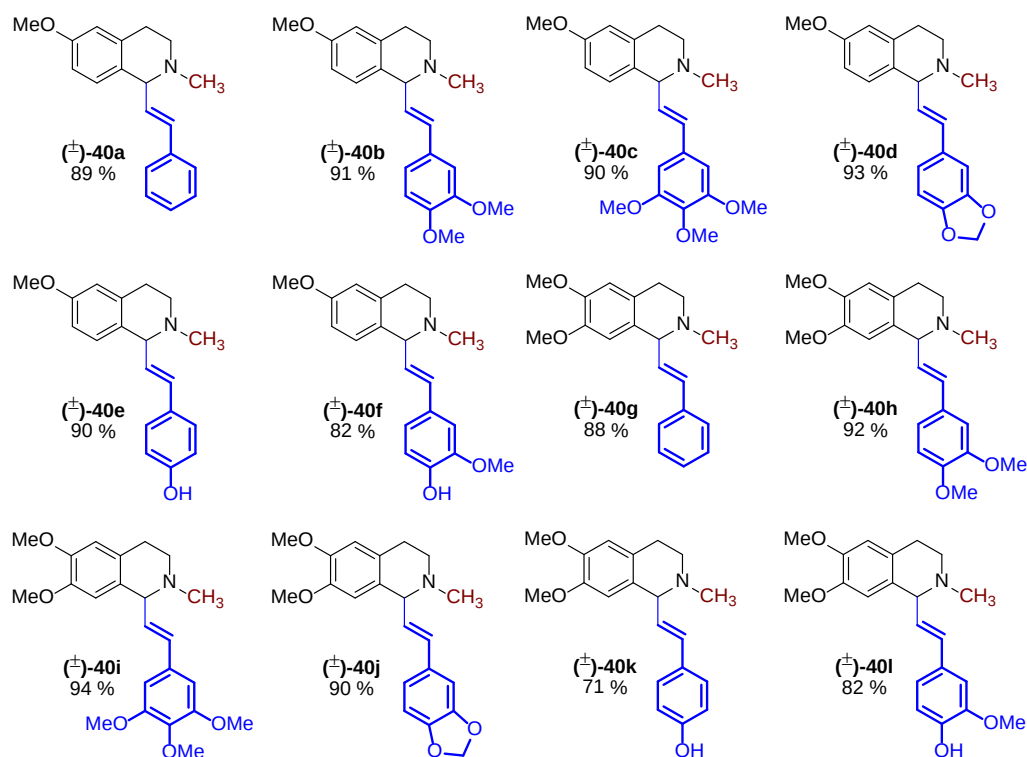


Durante el manejo y almacenamiento de la respectiva 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina ($\pm$)-**38** se observó que este derivado presentaba una tendencia a descomponerse con el tiempo, probablemente debido a procesos de oxidación al estar expuestos al oxígeno del ambiente. No obstante, al revisar la estructura de los alcaloides *Dysoxylum* se observa que el nitrógeno del núcleo isoquinolínico está sustituido con un metilo, sustitución que probablemente está relacionada con la estabilidad de estos derivados. Así, con el fin de prolongar el tiempo de vida de estas moléculas, en la última etapa de esta sección, se implementó como estrategia de síntesis, la secuencia de reacciones:

reducción/metilación reductiva para la obtención de las respectivas ($\pm$)-1-estiril-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas (**$\pm$)-40a-l**, en donde la reducción se realizó de acuerdo a las condiciones de reacción optimizadas (Tabla 8), mientras que la metilación reductiva se ejecutó de acuerdo a los protocolos ya descritos durante la síntesis total de los alcaloides *Dysoxylum*, donde es común en las últimas etapas de síntesis y se efectúa con paraformaldehído como agente *N*-alquilante, cianoborohidruro de sodio (NaBH₃CN) como agente reductor y cloruro de zinc (ZnCl₂) como catalizador (Tabla 8) [65].

Tabla 8. Síntesis de 1-estiril-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas (**$\pm$)-40a-l** en dos etapas a través de la secuencia de reacciones: reducción/metilación reductiva.^a





^a Condiciones de reacción: *Primera etapa*: 3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37a-l** (1.5 mmol), NaBH₄ (3 mmol), MeOH (10 mL), 12 horas. *Segunda etapa*: (**±**)-**5** (1.5 mmol), (CH₂O)_n (4.5 mmol), NaBH₃CN (1.65 mmol), ZnCl₂ (0.75 mmol), MeOH (10 mL), 6 horas. ^b Rendimiento después de dos etapas. ^c Rendimiento del producto después de purificado por cromatografía en columna (SiO₂).

Todas las (**±**)-1-estiril-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas (**±**)-**40a-l** se obtuvieron como sólidos estables, donde según los rendimientos obtenidos, no se evidencia que el transcurso de la secuencia de reacciones: reducción/metilación reductiva, se encuentre afectado por la naturaleza estérica o electrónica de los sustituyentes presentes en los anillos aromáticos, o por el doble enlace C=C próximo al enlace C=N de las sales **37a-g**. Los productos (**±**)-**40a-l** pudieron ser caracterizados a través de la determinación de sus propiedades físicas y espectroscópica: IR y resonancia magnética nuclear. En la Tabla 9 se resumen las

principales propiedades físicas y químicas de los compuestos obtenidos en esta etapa.

Tabla 9. Propiedades físicas y espectroscópicas de las 1-estiril-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas (**±**)-**40a-l** sintetizadas.

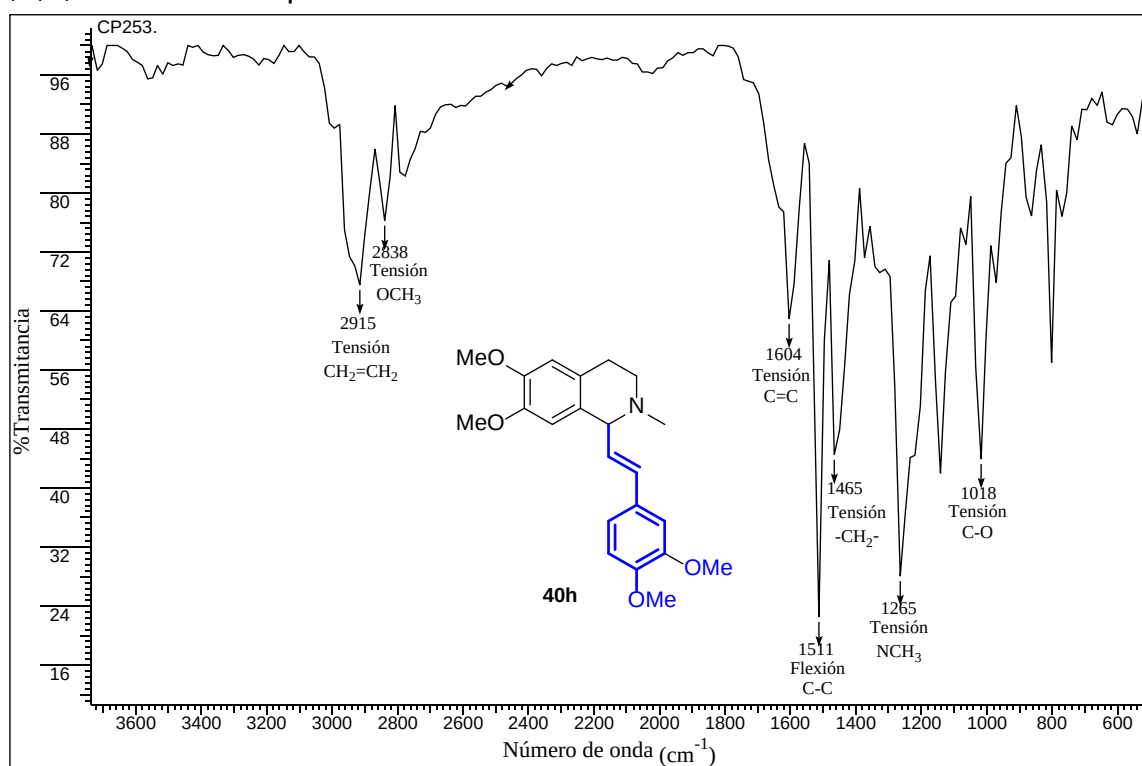
Comp.	Formula Molecular	PM (g/mol)	p.f. (°C)	R _f [*]	Rend (%)	Bandas de absorción IR (cm ⁻¹)	
						Tensión C=C	Tensión CH ₃
40a	C ₁₉ H ₂₁ NO	279.38	101-103	0.51	89	1604	1234
40b	C ₂₁ H ₂₅ NO ₃	339.44	100-102	0.46	91	1604	1234
40c	C ₂₂ H ₂₇ NO ₄	369.46	97-99	0.44	90	1650	1234
40d	C ₂₀ H ₂₁ NO ₃	323.39	111-113	0.55	93	1604	1249
40e	C ₁₉ H ₂₁ NO ₂	295.38	188-190	0.41	90	1604	1265
40f	C ₂₀ H ₂₃ NO ₃	325.40	160-162	0.36	82	1604	1265
40g	C ₂₀ H ₂₃ NO ₂	309.41	128-130	0.42	88	1604	1249
40h	C ₂₂ H ₂₇ NO ₄	369.46	95-97	0.40	92	1604	1265
40i	C ₂₃ H ₂₉ NO ₅	399.48	135-137	0.28	94	1589	1234
40j	C ₂₁ H ₂₃ NO ₄	339.39	95-97	0.40	90	1650	1265
40k	C ₂₀ H ₂₃ NO ₃	325.41	73-75	0.20	71	1604	1249
40l	C ₂₁ H ₂₅ NO ₄	355.43	120-122	0.14	82	1604	1265

* Placas Silufol UV254. 10:1 Diclorometano/metanol

El análisis por espectroscopía IR señaló la coherencia entre las bandas de absorción observadas y las bandas características de las (**±**)-1-estiril-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas sintetizadas. Como ejemplo se analiza el espectro IR de la 1-(3,4-dimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (**±**)-**40h** donde la ausencia de una banda entre 3000-3500 cm⁻¹ indica que el grupo NH, formado en la primera etapa tras la reducción del enlace C=N de **37a-l**, se alquila con éxito en la segunda etapa, proceso corroborado por la banda alrededor de 1265 cm⁻¹ característica del grupo metilo enlazado al nitrógeno (N-CH₃). Por su parte, la banda a 1604 cm⁻¹ evidencia que el doble enlace C=C permanece intacto y no sufre ninguna transformación durante los procesos de reducción/metilación reductiva. Otras bandas características presentes en los espectros IR de los

productos esperados son: la banda a 2838 cm^{-1} asignada a los grupos metoxi (OCH_3) y la banda a 1465 cm^{-1} que se identifica como la banda característica de los grupos metilénicos ($-\text{CH}_2-$). Finalmente, se puede reconocer la banda de tensión característica de los protones aromáticos a 2915 cm^{-1} y las bandas de tensión del enlace C-O a 1018 cm^{-1} (Figura 23).

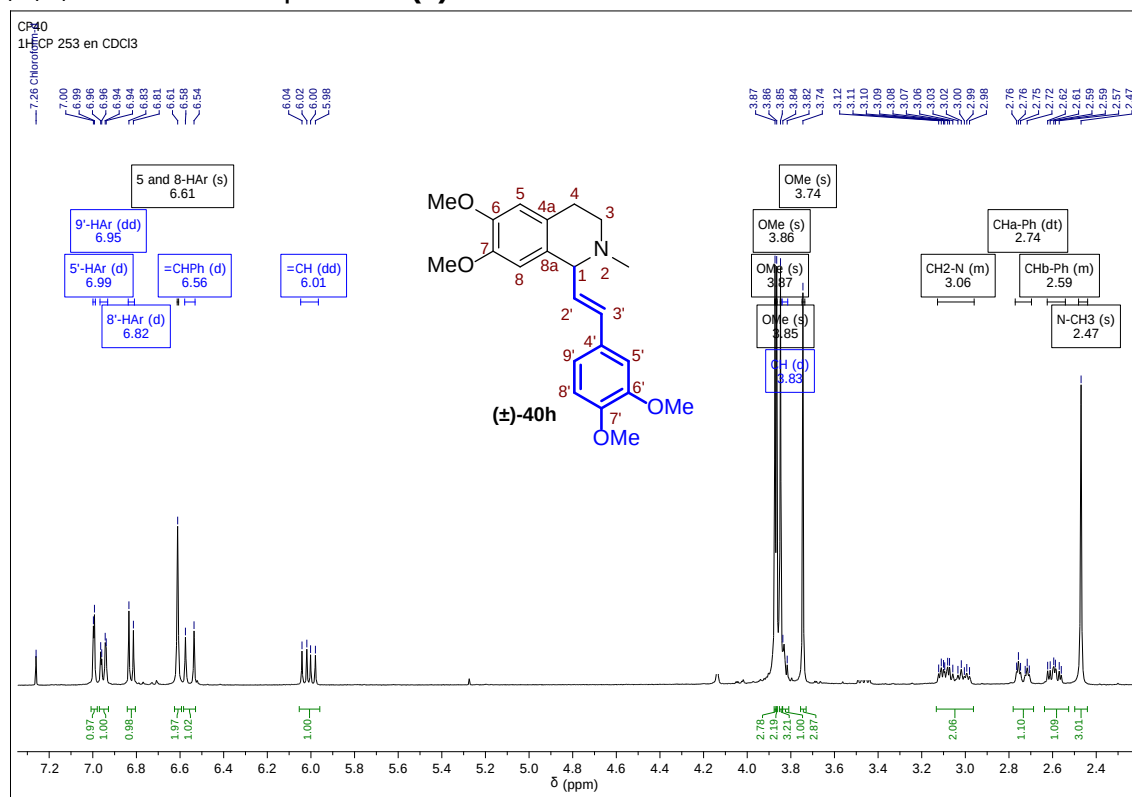
Figura 23. Espectro infrarrojo de la 1-(3,4-dimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40h**.



Para completar la elucidación estructural de las ($\pm$)-1-estiril-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas ($\pm$)-**40a-l**, se realizó el análisis por espectroscopía de resonancia magnética nuclear (^1H RMN y ^{13}C RMN). En el espectro de ^1H RMN de la 1-(3,4-dimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina ($\pm$)-**40h**

se aprecian las señales correspondientes a los diversos grupos de protones presentes (Figura 24).

Figura 24. Espectro de ^1H RMN de la 1-(3,4-dimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina ($\pm$)-40h.



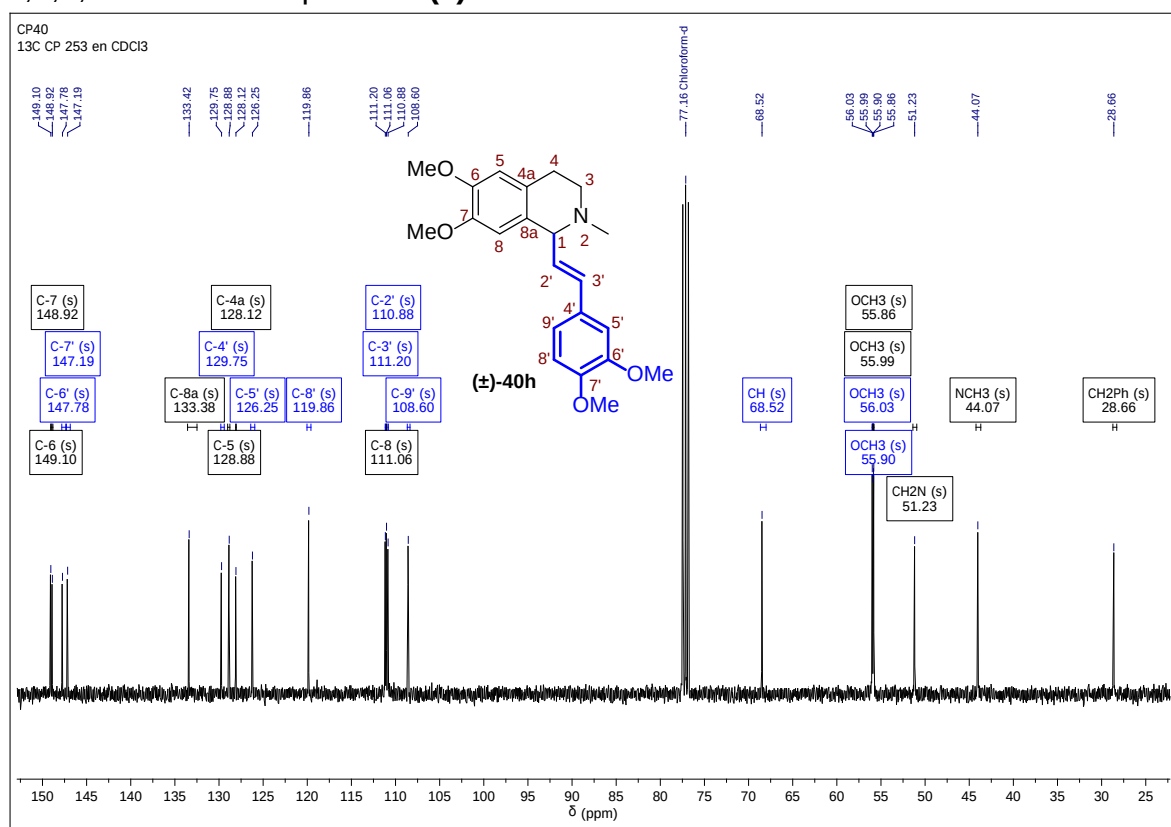
El espectro ^1H RMN del compuesto ($\pm$)-40h presentó las señales características de los grupos funcionales presentes en la molécula de interés, particularmente aquellas derivadas de la transformación química. A campos altos se ubicó la señal a 2.47 ppm como un singlete que corresponde al grupo metilo enlazado al nitrógeno (NCH_3) que confirma el éxito de la metilación reductiva. A continuación, se ubican las señales correspondientes a los grupos metilénicos unidos al anillo aromático ($-\text{CH}_2\text{-Ph}$) y al nitrógeno heterocíclico ($-\text{CH}_2\text{-N}$) entre 3.06 y 2.59 ppm. Enseguida se encuentran los cuatro grupos metoxi como singletes intensos 3.87-

3.74 ppm, y entre ellos se ubica la señal correspondiente al protón del C-1 a 3.83 ppm, la cual se desdobla como un doblete con una constante de acoplamiento de 8.9 Hz. En todos los casos, se observó un desplazamiento a campos más altos de esta señal en comparación de su ubicación en el espectro tras el proceso de reducción con NaBH₄, solapándose en todos los casos con las señales de los grupos metoxi (Ver Anexos 33-44). La señal del protón C-1 se encuentra interaccionando con el protón C-2' (=CH), el cual se ubica a 6.01 ppm y se encuentra desdoblado como un doblete-doblete con constantes de acoplamiento de 15.7 y 8.9 Hz. El valor de $J = 15.7$ Hz indica la interacción del protón =CH con el otro segundo protón olefínico =CHPh (C-3') que se encuentra en 6.56 ppm y se desdobla como un doblete con una constante de acoplamiento de $J = 15.8$ Hz, confirmando la interacción en configuración *trans*- de estos dos núcleos. Finalmente, los protones aromáticos de los dos anillos se encuentran en la región comprendida entre 6.99-6.61 ppm (Figura 24).

El análisis del espectro de ¹³C RMN de la 1-(3,4-dimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (**±**)-**40h** indicó el número de carbonos presentes en la molécula, corroborando la naturaleza de dichos núcleos mediante su ubicación en las distintas regiones del espectro. Se destaca así el carbono del metilo enlazado al nitrógeno NCH₃ a 44.0 ppm y el carbono C-1 ubicado a 68.5 ppm, que confirman el éxito de la secuencia de reacciones: reducción/metilación reductiva. Por su parte, el número y ubicación en el espectro de las señales identificadas en el espectro de ¹³C RMN de los compuestos **37a-l** se mantiene en

la serie de derivados **(±)-40a-l**, donde los carbonos sp^2 del doble enlace =CHPh y =CH se ubican a 111.2 y 110.8 ppm, respectivamente. Mientras que en la región comprendida entre 149.1-108.6 ppm se encuentran los carbonos aromáticos, incluidos los carbonos cuaternarios del núcleo tetrahydroisoquinolínico y los carbonos sustituidos con los grupos metoxi. Por último, los carbonos de los grupos metoxi se ubican como señales independientes entre 56.0 y 55.8 ppm (Figura 25).

Figura 25. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-(3,4-dimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolina **(±)-40h**.



Así, La utilidad sintética de las *N*-feniletil cinamamidas **33a-t**, como sustratos de la reacción Bischler-Napieralski, se demostró con la construcción del núcleo tetrahydroisoquinolínico a partir de estas amidas que pueden ser encontradas en la

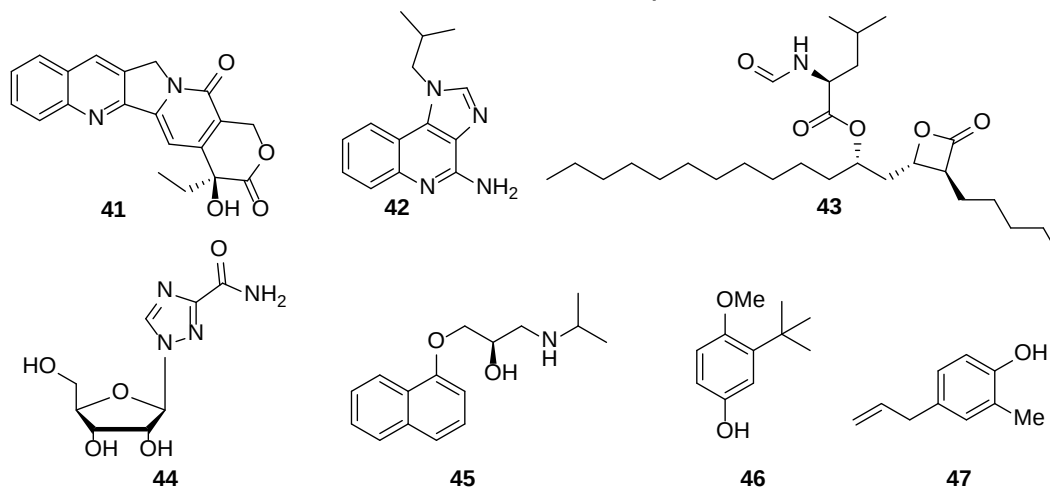
naturaleza. Adicionalmente, la derivatización de los heterociclos obtenidos en los compuestos **(±)-40a-I**, representa una ruta concisa para la preparación de estos análogos de los alcaloides *Dysoxylum*. Si bien el mayor obstáculo de esta estrategia resultó ser la no obtención de los compuestos **40a-I** como compuestos quirales, debido a la nula reactividad de los compuestos **37a-I** en la reacción AHT, su obtención como mezclas racémicas permitió evaluar y estandarizar protocolos sintéticos y reconocer sus propiedades físicas y espectroscópicas. Los espectros obtenidos mediante espectroscopia infrarroja, espectrometría de masas y resonancia magnética nuclear, relacionados con cada uno de estos compuestos **(±)-40a-I**, se encuentran en los ANEXOS 33-44.

1.5.2 Aplicación del ensayo ZFET para la determinación de la concentración letal media (LC₅₀) en embriones de pez cebra para los alcaloides zantoxylamida. El ensayo ZFET (*Zebrafish Embryo Acute Toxicity Test*) describe el uso de embriones de pez cebra a 24 hpf. De manera individual, los embriones son expuestos a una serie geométrica de concentraciones para cada compuesto y tras un periodo de 72 horas (96 hpf) se establece la mortalidad de los embriones con base en su movilidad y ritmo cardiaco, determinando así la LC₅₀ para los compuestos evaluados. Una de las ventajas que ofrece este modelo para la determinación de la toxicidad de los compuestos sintetizados en esta investigación, es el alto nivel de correlación que existe con modelos superiores como los roedores, especialmente para las amidas, donde los valores de toxicidad en roedores y pez cebra resultan ser similares de acuerdo a lo establecido por Ali

y colaboradores [39]. Si bien también se determinó que, en el caso de los alcaloides, donde se pueden agrupar los compuestos *Dysoxylum* y las β -carbolinas, estos compuestos resultan ser más tóxicos en el modelo del pez cebra que en los roedores, su nivel de correlación permite predecir la toxicidad de este tipo de derivados [39].

Antes de discutir los resultados obtenidos para la familia de zantoxylamidas, se seleccionaron y evaluaron compuestos reconocidos como controles positivos. Así, de manera independiente al modelo utilizado, los compuestos evaluados se clasificarían según toxicidad con respecto a dichos agentes. Los compuestos seleccionados como controles positivos fueron: la camptotecina **41**, un fármaco citotóxico que posee propiedades antiproliferativas sobre varios tipos de tumores malignos y que ha sido evaluado previamente en el modelo del pez cebra [66]. El imiquimod **42**, una imidazoquinolina sintética inmunomoduladora empleada en el tratamiento de verrugas y que induce apoptosis en melanomas [67]. El orlistat **43**, un fármaco inhibidor de la enzima fosfolipasa A2 (PLA2) utilizado en el tratamiento de la obesidad [68]. La ribavirina **44**, un medicamento antiviral que trata el virus sincitial respiratorio humano (VSR), la hepatitis C, el virus del herpes, adenovirus y poxvirus [69]. El propranolol **45**, compuesto utilizado en el tratamiento de la hipertensión y otras afecciones cardiovasculares. El agente antioxidante hidroxibutilanisol (BHA) **46** [70], y el eugenol **47**, un derivado fenólico aislado del clavo y empleado en acuicultura como anestésico para el manejo de peces, incluido el pez cebra (Figura 26) [71].

Figura 26. Fármacos y compuestos seleccionados como controles positivos para la determinación de la toxicidad en embriones de pez cebra.



La determinación de la concentración letal media (LC_{50}) de los compuestos seleccionados como controles positivos se muestran en la Tabla 10. La camptotecina **41** resultó ser el agente más tóxico de la serie de compuestos **41-47**, con un valor de $LC_{50} = 3.84 \pm 0.21 \mu M$, lo cual concuerda con sus propiedades citotóxicas [66]. El rápido desarrollo embrionario del pez cebra se puede llegar a relacionar con el desarrollo acelerado de un tejido tumoral, así, es posible plantear en primera instancia, que lograr inhibir el desarrollo embrionario con agentes exógenos que presenten bajos valores de LC_{50} puede resultar una buena estrategia para el descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos anticancerígenos, seleccionando aquellas sustancias más promisorias para estudios posteriores enfocados en determinar su especificidad y selectividad, sin que lleguen a atacar células sanas. Otro compuesto que presentó una toxicidad considerable fue el propranolol **45** ($LC_{50} = 17.92 \pm 0.79 \mu M$), cuyo mecanismo podría estar asociado a una disminución del ritmo cardíaco, causando una

bradicardia aguda y finalmente un paro cardiaco, adicionalmente este compuesto presenta una alta penetración de la barrera hematoencefálica que puede afectar el sistema nervioso central de los embriones durante su desarrollo [72]. Por otro lado, la ribavirina **44** ($LC_{50} = 344.58 \pm 4.23 \mu M$) y el imiquimod **42** ($LC_{50} = 350.85 \pm 4.99 \mu M$) resultaron ser los compuestos menos tóxicos de la serie **41-47**. Aunque la ribavirina **44** presenta una leve citotoxicidad [73], es uno de los agentes antivirales más utilizados ya que es selectivo y su mecanismo de acción se basa en la inhibición de la síntesis del ARN viral, por lo que sus efectos adversos son mínimos. Por su parte, el imiquimod **42** ha demostrado tener propiedades citotóxicas [74] al igual que el eugenol **47**, cuyo valor de LC_{50} resultó ser $113.88 \pm 0.54 \mu M$, clasificándolo como moderadamente tóxico [75]. Resulta interesante que estos dos últimos compuestos, a pesar de ser catalogados como agentes citotóxicos, presentan relativamente baja toxicidad. Esto podría indicar probablemente poseen un mecanismo de acción selectivo donde no afectan células o tejidos sanos (Tabla 10).

Tabla 10. Determinación de la toxicidad (LC_{50}) de las sustancias seleccionadas como controles positivos en embriones de pez cebra empleando el ensayo ZFET.^a

Compuesto	Réplicas			LC_{50} Promedio ^b	σ^c	CV, % ^d	SEM ^e
	1	2	3				
Camptotecina 41	3.45	4.21	3.87	3.84	0.38	9.9	0.21
Imiquimod 42	356.18	355.48	340.87	350.85	8.64	2.5	4.99
Orlistat 43	86.47	91.54	82.94	86.99	4.32	5.0	2.49
Ribavirina 44	351.37	345.55	336.80	344.58	7.33	2.1	4.23
Propanolol 45	16.85	19.48	17.43	17.92	1.38	7.7	0.79
Hidroxibutylanisol 46	89.43	88.79	92.52	90.25	1.99	2.2	1.15
Eugenol 47	113.04	113.72	114.89	113.88	0.93	0.8	0.54

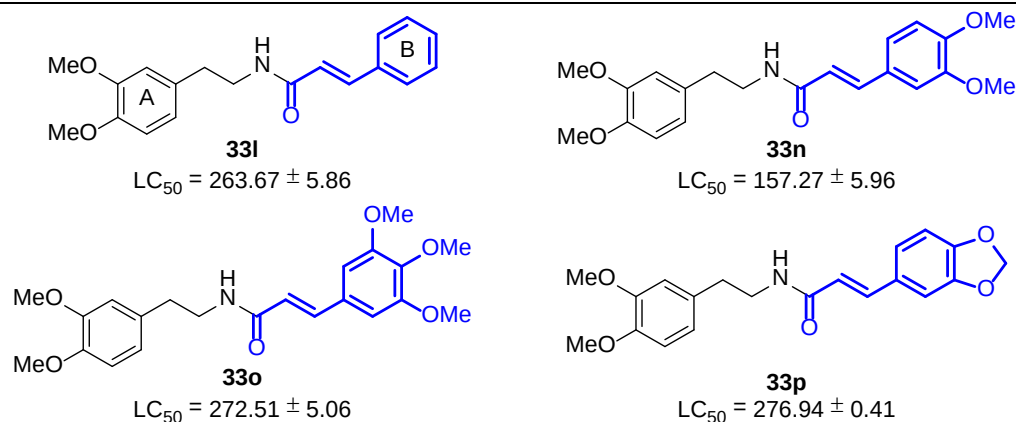
^a Se realizaron 3 experimentos independientes, empleando para cada ensayo 72 embriones en total, 24 por réplica donde se expusieron 3 embriones a cada concentración de la serie geométrica,

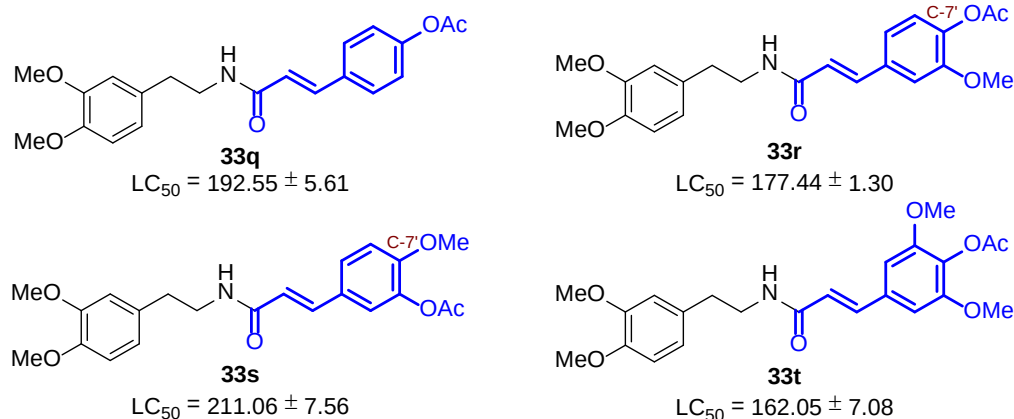
^b LC_{50} promedio expresada en μM ($\mu mol/L$). ^c Desviación estándar. ^d Coeficiente de variación, %. ^e Error estándar de la media.

Finalmente, el orlistat **43** y el BHA **46** presentaron valores similares de LC_{50} , 86.99 ± 2.49 y $92.52 \pm 1.15 \mu M$, respectivamente. Adicionalmente, estos compuestos también comparten los efectos adversos que generan en el sistema digestivo, el orlistat **43** inhibe la enzima PLA2 que es la encargada de biosintetizar los lípidos esenciales del desarrollo de los embriones de pez cebra a partir de las 48 hpf, mientras que se ha reportado que el BHA **46** causa daños sobre el hígado y el sistema digestivo, afectando el metabolismo de los nutrientes requeridos para el normal desarrollo de los embriones de pez cebra (Tabla 10).

Una vez determinada la LC_{50} para los controles positivos seleccionados, compuestos **41-47**, se procedió a determinar la toxicidad de los alcaloides zantoxylamida, las *N*-feniletilcinamamidas **33l-t**, los resultados se encuentran en la Tabla 11.

Tabla 11. Determinación de la toxicidad (LC_{50}) de los alcaloides armatamida **33l-t** en embriones de pez cebra empleando el ensayo ZFET.^a





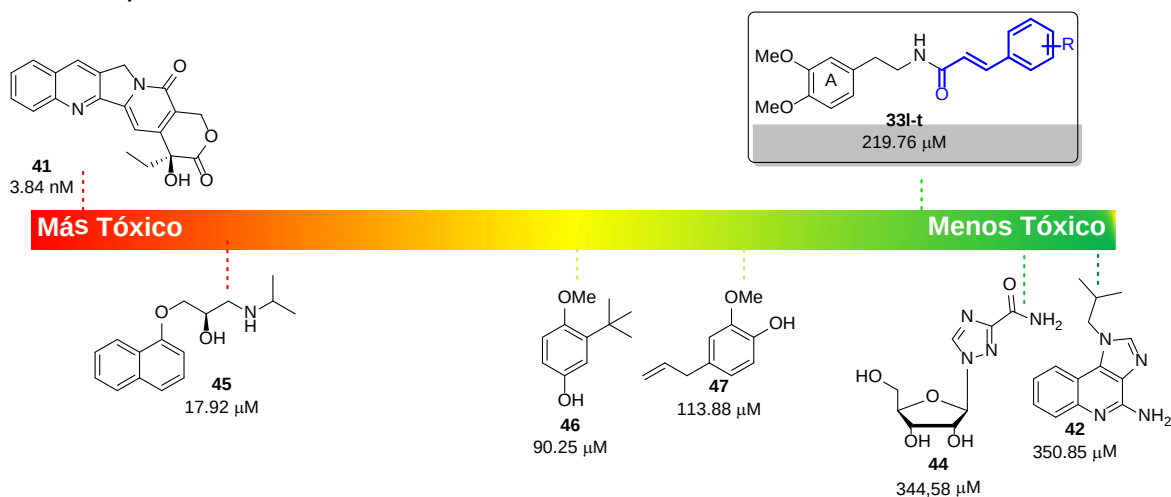
^a LC_{50} Determinada a partir de la metodología general, empleando 72 embriones por muestra para tres réplicas independientes. LC_{50} expresada en $\mu M \pm SEM$.

Debido a que se evaluaron aquellas cinamidas derivadas de la 3,4-dimetoxifeniletilamina **31g**, la toxicidad de estos derivados estará relacionada con los sustituyentes ubicados en el anillo aromático del fragmento derivado de los ácidos cinámicos **32a-i**. Así, la rubemamina **33n**, sustituida con dos grupos metoxi en el anillo aromático B, resultó ser el derivado más tóxico de la serie **33i-t** ($LC_{50} = 157.27 \pm 5.96 \mu M$), mientras que la zantosina **33p**, sustituida con el grupo metilendioxi en el anillo B, fue el derivado menos tóxico ($LC_{50} = 276.94 \pm 0.41 \mu M$). Sustituido con más grupos metoxi en el anillo B, el compuesto **33o** ($LC_{50} = 272.51 \pm 5.06 \mu M$) presentó una toxicidad leve en comparación al derivado **33n**, además fue muy similar al análogo **33i** ($LC_{50} = 263.67 \pm 5.86 \mu M$), que no contiene ningún sustituyente en el anillo B, y a la zantosina **33p**. Los derivados **33q**, **33r** y **33t**, cuya función hidroxilo se encuentra acetilada en posición C-7', exhibieron una mayor toxicidad ($LC_{50} < 193 \mu M$) dentro de la serie de *N*-feniletilcinamamidas **33i-t**. Por otro lado, resulta interesante analizar la toxicidad de los isómeros estructurales **33r** ($LC_{50} = 177.44 \pm 1.30 \mu M$) y **33s** ($LC_{50} = 211.06 \pm 5.86 \mu M$),

donde se observa un efecto directo sobre la toxicidad de estos derivados en función de la posición del grupo -OAc en el anillo B. Así, al encontrarse este grupo en posición C-6', la toxicidad disminuye con respecto a los derivados C-7' acetilados que se encuentran mono-, di- y tri-sustituídos (Tabla 11).

En resumen, se grafican los valores de LC₅₀ para cada sustancia seleccionada como control positivo junto con el valor de LC₅₀ promedio para la familia de alcaloides zantoxylamida, clasificándolas como agentes con una toxicidad leve (Figura 27).

Figura 27. Valores de LC₅₀ promedio para los alcaloides zantoxylamida y su comparación con los controles positivos seleccionados en embriones de pez cebra tras 96 hpf.



1.5.3 Análisis de los cambios fenotípicos en embriones de pez cebra para los alcaloides zantoxylamida. Más allá de su uso para el estudio del desarrollo embrionario de los vertebrados y para determinar la toxicidad de derivados naturales y sintéticos, el modelo del pez cebra se ha destacado en estudios farmacológicos relacionados con el diseño y descubrimiento de nuevos agentes

bioactivos [76]. Gracias a sus propiedades, donde se resaltan la permeabilidad de pequeñas moléculas y su transparencia, el efecto de nuevas sustancias químicas en el desarrollo del pez cebra puede ser estudiado y monitoreado a través de un simple registro fotográfico obtenido por microscopía, enfoque conocido como análisis fenotípico [77]. Si bien su alta tasa de fecundación y su bajo costo operativo se constituyeron como las principales ventajas de este modelo, a medida que crecía su popularidad se evidenciaron ciertas dificultades que poco a poco fueron subsanadas, principalmente la capacidad, objetividad y experiencia del investigador encargado de analizar los datos recolectados. Al obtener cientos de embriones para realizar ensayos fenotípicos, eventualmente se obtendrían cientos de fotos que requerirán ser analizadas cuidadosamente. Tradicionalmente, un experto era el encargado de evaluar las perturbaciones en el desarrollo de los embriones inducidas por los compuestos químicos de manera manual en cada registro fotográfico, procesando estas observaciones y reportando estadísticamente los cambios observados para todos los individuos expuestos [78]. No obstante, y en algunos casos, este proceso resulta tedioso y sujeto a la apreciación subjetiva de una persona, por lo que se afectaría la reproducibilidad de los resultados [79].

Con el fin de evitar estos inconvenientes, la compañía Noldus desarrolló un software profesional para el análisis de videos e imágenes adquiridos durante el estudio del comportamiento en ratones y peces. Dicho software, conocido como DanioScope™ permite realizar un análisis detallado y confiable de la morfología

del pez cebra y de los efectos inducidos por sustancias químicas durante el desarrollo embrionario, de manera rápida, robusta y objetiva. Utilizando este software, el LQOBio, pionero en los estudios farmacológicos de nuevas moléculas usando el modelo vertebrado de pez cebra, avanza a los objetivos trazados hacia el diseño y descubrimiento de nuevos agentes bioactivos. Así, para dar cumplimiento a estas metas, en este trabajo de investigación los cambios fenotípicos fueron analizados con la ayuda del software DanioScope™.

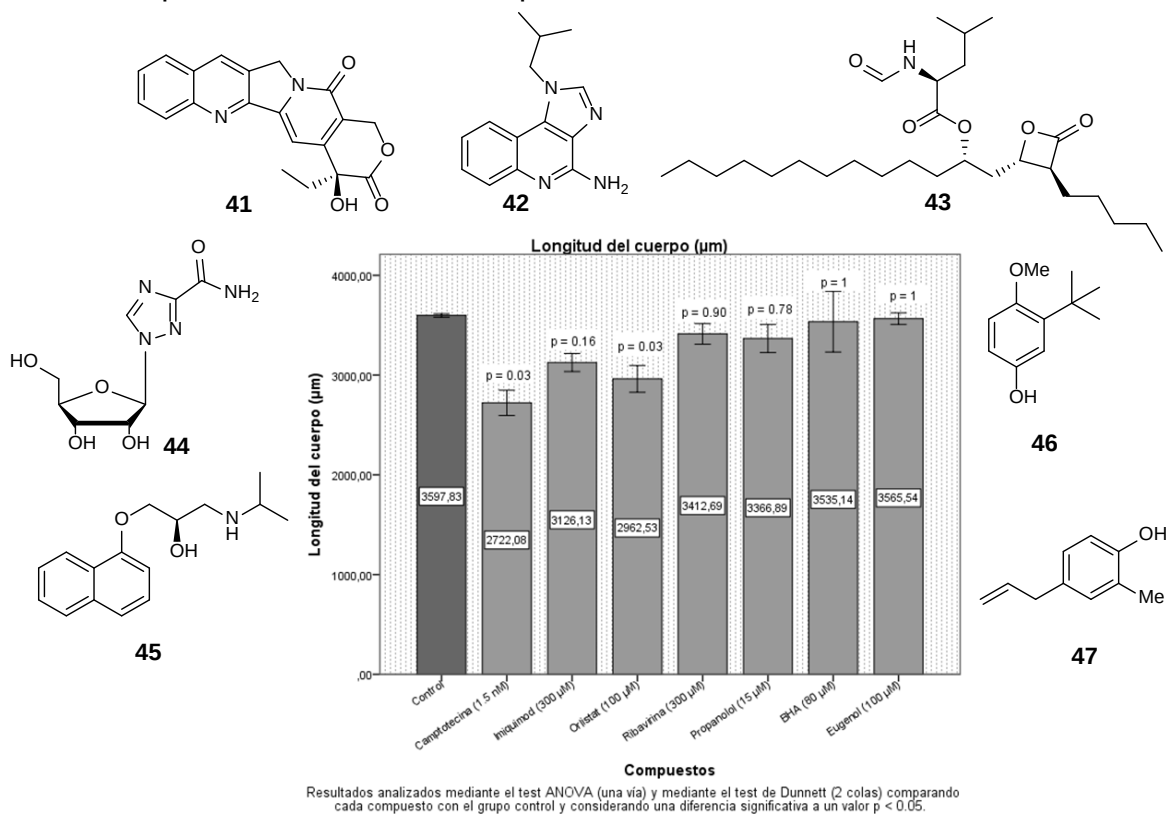
En primer lugar, es importante mencionar que la evaluación de los cambios fenotípicos inducidos por los controles positivos **41-47**, y las moléculas obtenidas en esta investigación, se realizó a las 96 hpf y a concentraciones por debajo de su respectiva LC₅₀. Gracias al software DanioScope™, se logró establecer cuatro parámetros morfológicos que determinaron los efectos causados por las moléculas seleccionadas: longitud del cuerpo, tamaño del ojo, edema pericárdico y edema en el saco vitelino.

El primero de ellos, el tamaño de los especímenes (longitud) se determinó para los embriones control y para aquellos embriones expuestos a los compuestos **41-47**. Zhu y colaboradores reportaron que uno de los factores que determina el tamaño del cuerpo durante las primeras 96 hpf en embriones de pez cebra es la regulación de las enzimas GTPasas (guanosina trifosfatasas), las cuales intervienen en diversas funciones biológicas [80]. Específicamente, la proteína *Rho A* de la subfamilia *Rho* de las guanosina trifosfatasas, es aquella que juega un papel fundamental en la regulación de la actina en el citoesqueleto durante la

embriogénesis, y su inhibición induce apoptosis durante este periodo que se expresa en una reducción del tamaño en el pez cebra [81].

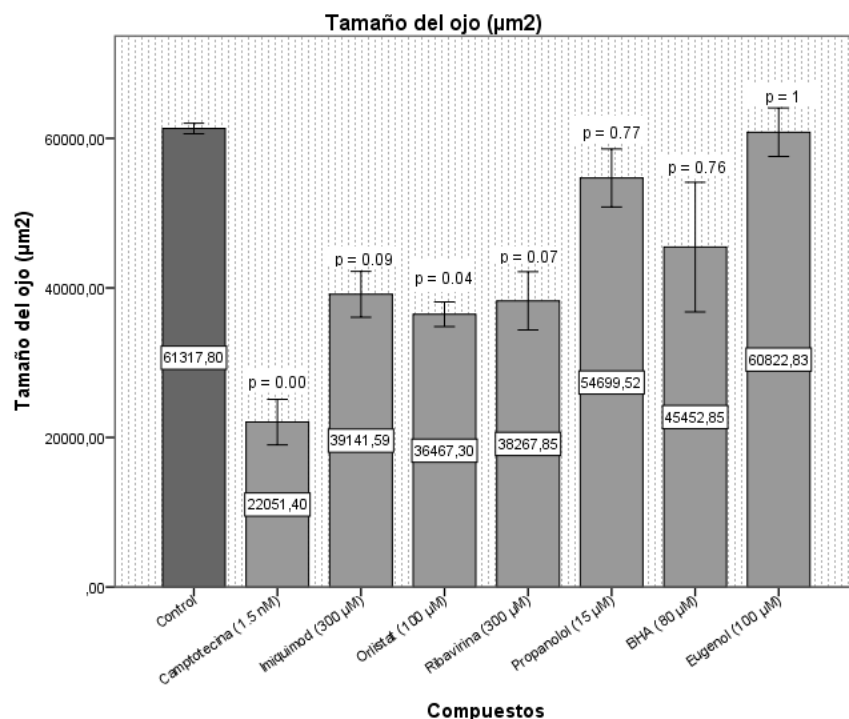
Para el grupo de compuestos **41-47** se observó que significativamente la camptotecina **41** y el orlistat **43** presentaron los efectos más drásticos, reduciendo medianamente el tamaño de los embriones en comparación con los embriones control, mientras que el BHA **46** y el eugenol **47** fueron aquellas moléculas que no exhibieron reducción significativa sobre esta variable a las concentraciones evaluadas (Figura 28).

Figura 28. Tamaño (μm) de los embriones (96 hpf) expuestos a los controles positivos **41-47** junto con el error estándar de la media para tres réplicas ($N = 3$) analizados por el software DanioScope™.



El segundo parámetro es el tamaño del ojo, el cual se reduce principalmente cuando se afectan las enzimas que actúan sobre la glándula de la tiroides, especialmente las peroxidasas [82]. Es el caso de la feniltiourea, un agente empleado en el estudio de melanomas y otros tipos de cáncer de piel en el modelo del pez cebra, el cual ha alterado la regulación de la enzima peroxidasa del tiroides reduciendo el tamaño del ojo en embriones de pez cebra tras 4 días de tratamiento químico [83]. Para el grupo de moléculas control, a excepción del propanolol **45**, el BHA **46** y el eugenol **47**, cuyos resultados no fueron significativos, los demás compuestos resultaron reducir moderadamente el tamaño del ojo, aunque la reducción más severa se observó para la camptotecina **41**, con una reducción cercana al 60 % en comparación con los embriones control (Figura 29).

Figura 29. Tamaño del ojo de los embriones (96 hpf) expuestos a los controles positivos **41-47** junto con el error estándar de la media para tres réplicas (N = 3) analizados por el software DanioScope™.

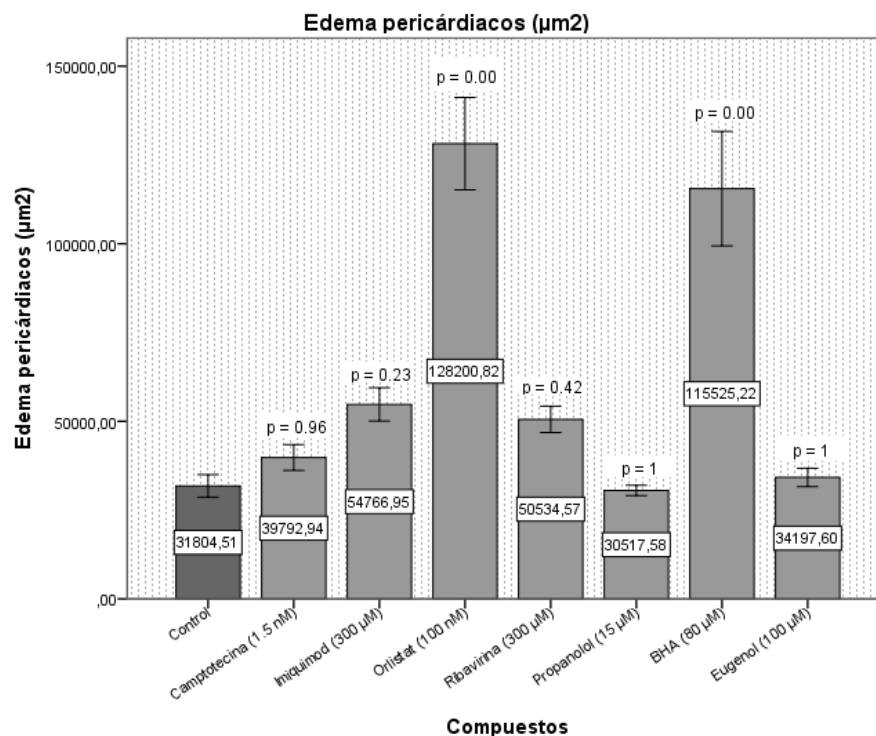


Resultados analizados mediante el test ANOVA (una vía) y mediante el test de Dunnett (2 colas) comparando cada compuesto con el grupo control y considerando una diferencia significativa a un valor $p < 0,05$.

El tercer parámetro tomado en cuenta fue los edemas generados en la cavidad cardíaca. Hoy en día, se han encontrado un sin número de estudios que reportan como algunas mutaciones y pequeñas moléculas inducen defectos cardíacos y problemas de circulación en los embriones de pez cebra [84]. Si bien el origen de estos defectos puede estar relacionado con algún daño en las células progenitoras del sistema circulatorio, la morfogénesis del corazón y de sus cavidades, problemas en los canales ventriculares o en las funciones cardiovasculares, cualquier cambio fenotípico a nivel cardíaco resulta de gran interés ya que incluso se ha encontrado que este órgano tiene la capacidad de regenerarse [85]. En la mayoría de los casos, los edemas pericárdicos son generados por una supresión

del gen *wwox*, que es una proteína cuyos dominios WW contienen el grupo de enzimas oxidorreductasas, y que de igual forma se encuentra ausente en distintos tipos de cáncer como de mama, próstata y ovario [86]. De igual forma los genes ricos en repetición de leucina que contienen proteína 10 (*Lrrc10*) son un factor específico que al ser perturbado induce edemas en la cavidad cardíaca y una deformación del ventrículo y el atrio [87]. Aunque son varias las rutas de señalización que pueden inducir este tipo de cambios fenotípicos, dos compuestos en particular, el orlistat **43** y el BHA **46**, exhibieron significativamente los edemas pericárdicos más severos, mientras que el propanolol **45**, agente que regula el ritmo cardíaco, y el eugenol **47** fueron los derivados que no mostraron prácticamente la expresión de este fenotipo. Por su parte, el resto de controles positivos si manifestaron este tipo de edema, aunque moderadamente (Figura 30).

Figura 30. Edemas pericárdiacos en los embriones (96 hpf) expuestos a los controles positivos **41-47** junto con el error estándar de la media para tres réplicas (N = 3) analizados por el software DanioScope™.

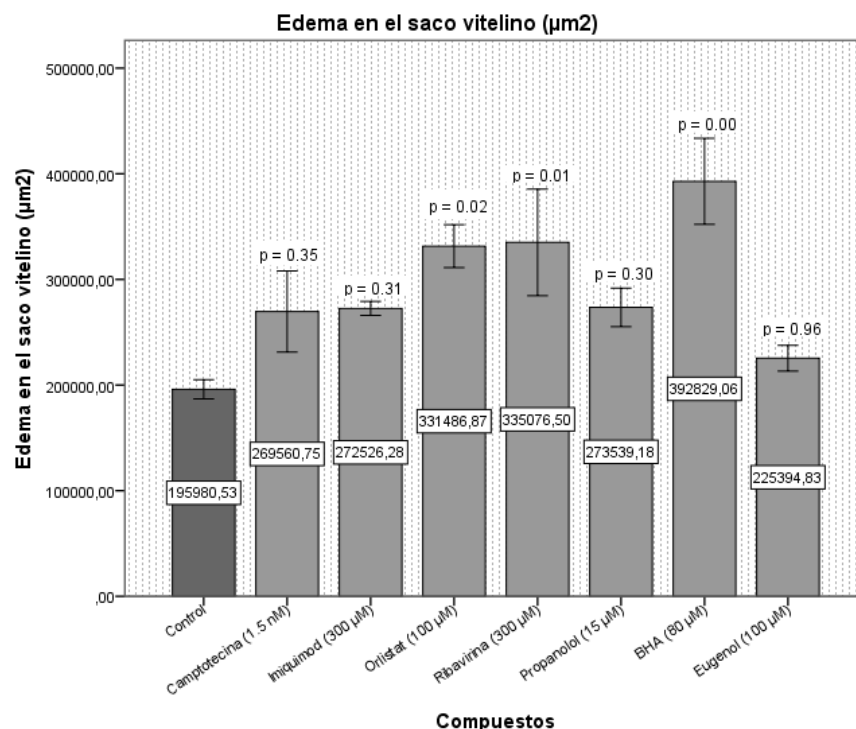


Resultados analizados mediante el test ANOVA (una vía) y mediante el test de Dunnett (2 colas) comparando cada compuesto con el grupo control y considerando una diferencia significativa a un valor $p < 0.05$.

Por último, los edemas en el saco vitelino fueron analizados para la serie de compuestos **41-47**. Este tipo de edemas está estrechamente relacionado con el desarrollo embrionario, pues un edema en esta región indica un daño severo sobre los órganos del sistema digestivo del embrión, ya que son de los primeros órganos que entran en contacto con las sustancias exógenas administradas [88]. Se ha establecido que de los órganos principales que se ven afectados durante el tratamiento químico son el hígado y el riñón, órganos encargados de almacenar y metabolizar los nutrientes, e incluso los agentes administrados [89]. Así, los daños a nivel digestivo se van a evidenciar a través de la inflamación de estos órganos o

debido a la acumulación de nutrientes que no pueden ser absorbidos y que afectan el pleno desarrollo embrionario [90]. De los controles positivos **41-47** evaluados, el BHA **46** fue el compuesto que exhibió el edema más severo en el saco vitelino. Sin embargo, observando que dichos embriones alcanzaron un desarrollo embrionario normal comparado con los embriones del control negativo (Figura 28), es posible establecer que estos edemas pueden ser causados por un daño e inflamación de otros órganos del sistema digestivo ya mencionados. Otros compuestos que tuvieron un efecto negativo sobre los órganos del saco vitelino fueron el orlistat **43** y la ribavirina **44**; para el caso particular del orlistat **43**, este es un compuesto que inhibe la absorción de lípidos al regular la actividad de la enzima PLA2, por lo que el edema manifestado en los embriones tratados con este compuesto deriva en un retraso en el desarrollo (Figura 28) al acumular e inhibir el metabolismo de nutrientes (Figura 31).

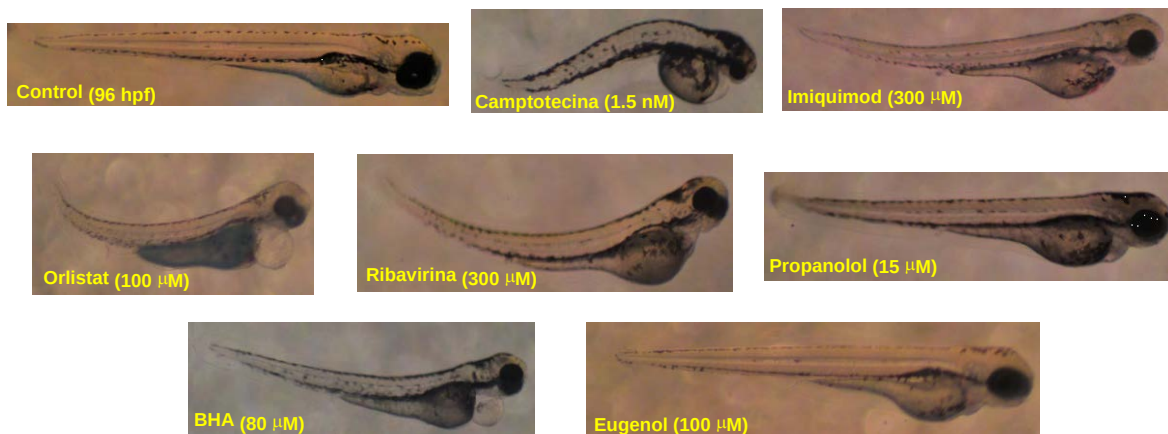
Figura 31. Edemas en el saco vitelino en los embriones (96 hpf) expuestos a los controles positivos **41-47** junto con el error estándar de la media para tres réplicas (N = 3) analizados por el software DanioScope™.



Resultados analizados mediante el test ANOVA (una vía) y mediante el test de Dunnett (2 colas) comparando cada compuesto con el grupo control y considerando una diferencia significativa a un valor $p < 0.05$.

A continuación, se muestra el registro fotográfico adquirido durante el análisis fenotípico de los controles seleccionados **41-47**, donde se pueden observar los cambios inducidos y procesados con el software DanioScope™ para estos compuestos y resumidos en las Figuras 28-31 (Figura 32).

Figura 32. Registro fotográfico de los cambios fenotípicos inducidos por los controles positivos **41-47** en embriones de pez cebra a las 96 hpf.



El grupo de cinamamidas **33n**, **33o**, **33p** y **33q** fueron seleccionadas para su estudio fenotípico teniendo en cuenta los grupos funcionales presentes y su similitud estructural con otros alcaloides superiores. En términos generales se puede establecer que la mayoría de los fenotipos observados son consecuencia de efectos pleiotrópicos causados por la perturbación de un solo gen o diana biológica, donde los estos cambios pueden o no estar relacionados entre sí.

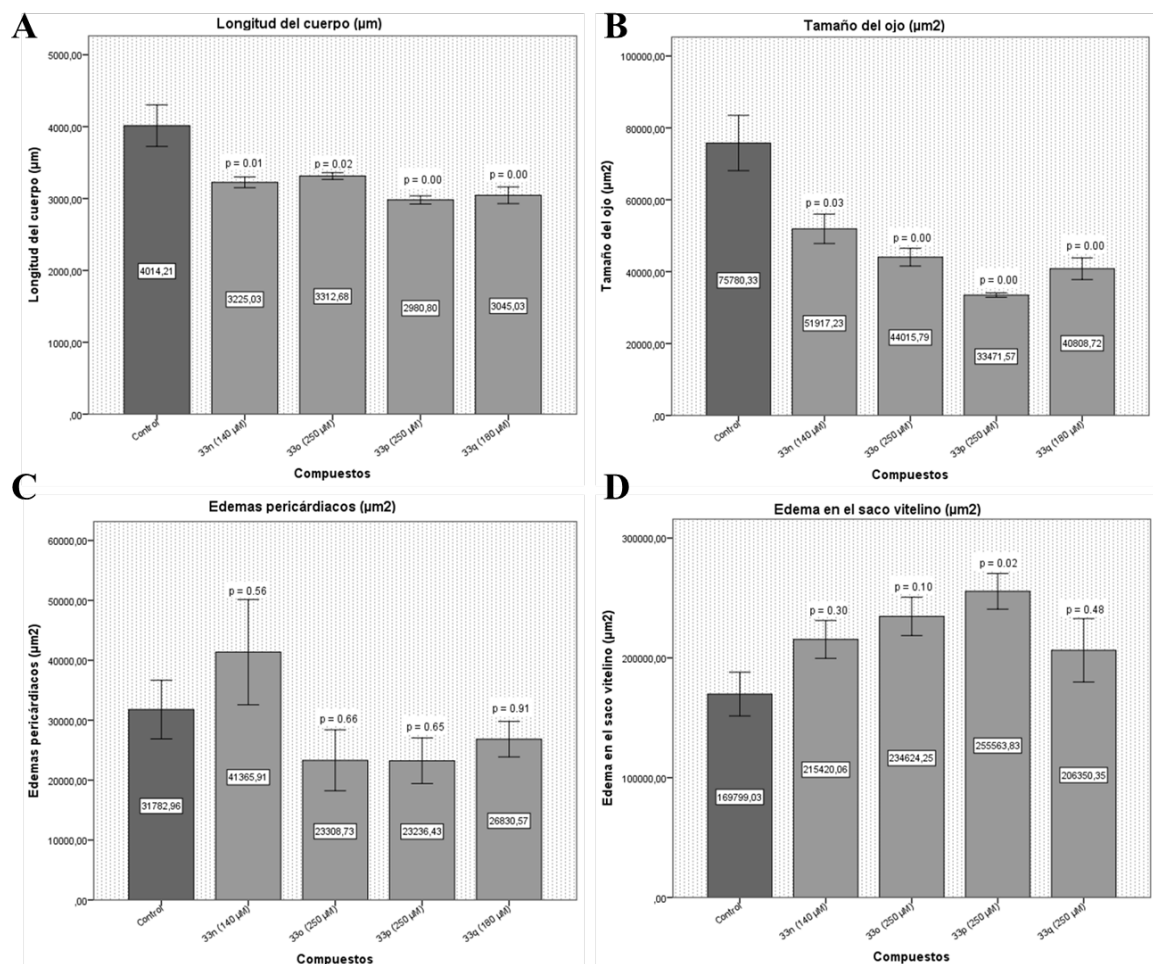
Al analizar los cambios fenotípicos inducidos por estas amidas a través del software DanioScope™ (Figura 33), se logró establecer que, para el primer fenotipo, el tamaño alcanzado por los embriones a las 96 hpf tras el tratamiento químico, estos compuestos reducen en aproximadamente un 15 % el tamaño normal que alcanzan los embriones control con un valor de significancia $p < 0.05$. Al parecer los sustituyentes de los derivados seleccionados **33n**, **33o**, **33p** y **33q** no influyen de manera directa sobre el tamaño de los embriones, aunque si se puede establecer que esta expresión está más relacionada con la función amida α,β -insaturada presente en la familia de las cinamamidas (Figura 33A). Por su

parte, un efecto neto de los sustituyentes se puede observar en el tamaño del ojo de los embriones tratados, donde este disminuye drásticamente al aumentar el grado de sustitución en el anillo aromático B **33n** (di-OMe) > **33o** (tri-OMe). Aunque es para la amida **33p** con el sustituyente 3,4-metilendioxi que se observó la mayor reducción, el resultado exhibido por parte del grupo acetilo (OAc) en el anillo B de **33q**, indica que a medida que se incorporan más sustituyentes de tipo OMe sobre este anillo, el tamaño del ojo se reduce proporcionalmente (Figura 33B).

Analizando los edemas pericárdiacos observados, se determinó para todos los casos se presentaba un desarrollo anormal de esta cavidad, dependiendo justamente del grado y tipo de sustitución. Así, para la amida sustituida con el grupo OAc **33q** se evidencia una cavidad cardiaca menos desarrollada que los embriones control, mientras que la presencia de dos grupos OMe en **33n** induce un edema cardiaco severo (Figura 33C). Por otro lado, la inclusión de un grupo OMe adicional sobre el anillo B de las cinamamidas **33o**, ó la presencia de fragmento metilendioxi en **33p**, generan casi los mismos efectos sobre esta cavidad exhibiendo un menor tamaño que en los embriones control (Figura 33C). Finalmente, se encontró que los edemas en el saco vitelino incrementan con el grado de sustitución de los grupos metoxi y se mantienen para el grupo 3,4-metilendioxi: **33n** (di-OMe) < **33o** (tri-OMe) = **33p** (3,4-OCH₂O-). Entre tanto, la inclusión del grupo acetilo (OAc) en el derivado **33q** no generó la formación de

edemas severos que evidenciaran un daño a nivel del sistema digestivo para los embriones tratados con este compuesto (Figura 33D).

Figura 33. A) Tamaño de los embriones. B) Tamaño del ojo. C) Edemas pericárdicos. D) Edemas en el saco vitelino analizados por el software DanioScope™ y manifestados en los embriones (96 hpf) expuestos a las cinamamidas **33n**, **33o**, **33p** y **33q** (N = 3).

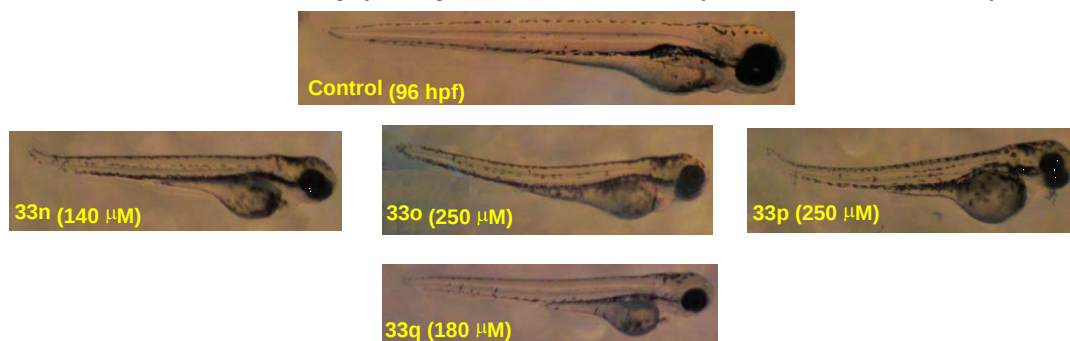


Resultados analizados mediante el test ANOVA (una vía) y mediante el test de Dunnett (2 colas) comparando cada compuesto con el grupo control y considerando una diferencia significativa a un valor $p < 0.05$.

A partir de estos resultados se puede sugerir que la rubemamina **33n**, compuesto más tóxico de la serie **33l-t**, afecta principalmente el desarrollo del sistema cardiovascular, incluido el corazón y sus cavidades cardiacas e induciendo

edemas severos. Mientras que la zantosina **33p**, compuesto menos tóxico de la serie **33l-t**, al parecer afecta de manera directa la regulación del metabolismo embrionario, pues se observó una reducción considerable del tamaño del ojo y un mayor edema en el saco vitelino (Figura 34).

Figura 34. Registro fotográfico de los cambios fenotípicos inducidos por las cinamamidas **33n**, **33o**, **33p** y **33q** en embriones de pez cebra a las 96 hpf.



1.6 CONCLUSIONES

En conclusión, se estableció un protocolo para la síntesis de *N*-feniletil cinamamidas análogas a los alcaloides zantoxylamida, incluidos los protoalcaloides rubemamina, zantosina y armatamida, a través de una reacción de amidación directa entre ácidos cinámicos y feniletilaminas de origen comercial. Tras haber estudiado diferentes catalizadores de boro se encontró que este proceso es promovido eficientemente por el $B(OCH_2CF_3)_3$, el cual permite efectuar esta reacción en un medio de reacción en el que los sustratos son totalmente solubles, por lo que los productos de interés se formaron en muy buen rendimiento y su aislamiento y purificación resultó bastante sencillo. La toxicidad y los cambios fenotípicos inducidos por estos derivados se determinaron en el modelo del pez cebra, el cual fue estandarizado y validado para algunos controles positivos

seleccionados. Así, se estableció que estos compuestos pueden ser clasificados como moderadamente tóxicos y que existe una relación estructura-actividad en la que entre mayor sea el número de grupos metoxi más se reduce el tamaño del ojo y se incrementan los edemas en el saco vitelino, que afectan de manera directa el desarrollo embrionario de los especímenes tratados químicamente al perturbar posiblemente glándulas ó enzimas que regulan el metabolismo.

La utilidad sintética de los alcaloides zantoxylamida se comprobó mediante el estudio de la reacción Bischler-Napieralski, los cuales son sustratos nunca antes reportados para esta reacción, obteniendo así las respectivas 3,4-dihidroisoquinolinas en buen rendimiento gracias a que durante el transcurso de la reacción efectuada en el líquido iónico BmimPF₆ se presentó un intercambio que permitió aislar los productos deseados como sales estables de hexafluorofosfato, tal y como se corroboró mediante técnicas instrumentales incluyendo difracción de rayos X. Adicionalmente, y para aprovechar la naturaleza de estas sales, se evaluó distintas condiciones para la reducción enantioselectiva del enlace C=N con el fin de acceder al núcleo 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinico, y aunque sólo se lograron aislar estos productos como mezclas racémicas, su obtención permitió la síntesis concisa de análogos a los alcaloides *Dysoxylum* en cuatro etapas, reconociendo sus principales propiedades.

1.7 PARTE EXPERIMENTAL

Materiales y reactivos

Los reactivos y catalizadores fueron obtenidos a través de compañías como Aldrich, Merck y Alfa Aesar; éstos fueron usados directamente sin purificación previa. Los disolventes usados en las reacciones y durante la purificación de los productos fueron destilados y secados previamente a su uso.

El progreso de las reacciones fue monitoreado mediante cromatografía de capa fina (CCF) sobre cromatoplasmas de Alufol y Silifol UV de 0,25 mm de grosor. La purificación de los compuestos obtenidos se llevó a cabo a través de cromatografía en columna (CC) utilizando gel de sílice 70 Å, 40-75 µm como fase estacionaria y mezclas éter de petróleo/acetato de etilo y diclorometano/metanol como fase móvil, dependiendo de la naturaleza del compuesto.

Equipos

La separación y purificación de los compuestos sintetizados se llevó a cabo por cromatografía flash asistida por el equipo Isolera One™ de Biotage® empleando como eluyentes mezclas isocráticas o por gradiente de éter de petróleo y acetato de etilo.

La elucidación estructural de los compuestos sintetizados se realizó mediante métodos instrumentales. Los espectros de infrarrojo (IR) se obtuvieron en un espectrómetro LUMEX INFRALUM FT-02 sobre discos de KBr o películas líquidas. Los espectros de resonancia magnética nuclear (^1H , ^{13}C , DEPT-135, COSY, HSQC y HMBC) se registraron en un espectrómetro BRUKER Avance-400,

empleando como disolvente cloroformo (CDCl_3) y dimetilsulfóxido (DMSO-d_6) deuterados, según corresponda. Los espectros de masas se adquirieron en un cromatógrafo de gases HP 5890A serie II, acoplado a un detector selectivo de masas HP 5972, impacto de electrones (IE) (70 eV). Los puntos de fusión se determinaron en un fusiómetro FISHER-JHONES. El análisis de difracción de rayos X se realizó en un difractómetro marca Agilent SuperNova (Dual, Cu at zero, Atlas).

Mantenimiento de acuarios

Los especímenes adultos de pez cebra, línea salvaje *Danio rerio* wild-type (WT), fueron adquiridos en tiendas de mascotas locales y se mantuvieron bajo fotoperiodos naturales de luz oscuridad en un rack de acuarios con recirculación de agua, sistema de filtración (sedimentos y carbón activado) y esterilización mediante una lámpara ultravioleta (UV). La calidad del agua fue monitoreada semanalmente, estableciendo parámetros óptimos de pH, amoníaco, nitritos y nitratos. Los peces fueron alimentados dos veces por día con alimento granular concentrado para peces domésticos.

Reproducción: En horas de la tarde se ubicó en una pecera con fondo de malla una hembra y tres machos adultos. A la mañana siguiente, los huevos fueron recolectados, lavados y reservados con medio embrionario (0.137 M NaCl, 5.4 mM KCl, 0.25 mM Na_2HPO_4 , 0.44 mM KH_2PO_4 , 1.3 mM CaCl_2 , 1.0 mM MgSO_4 , 4.2 mM NaHCO_3) por 24 horas en una incubadora a 28 ± 2 °C. Los embriones (24 hpf) fueron examinados en un estéreo microscopio trinocular marca Optika SZM-2,

seleccionando los embriones vivos y cuyo desarrollo correspondiera al estadio 24 hpf. Los embriones separados fueron expuestos a una solución de pronasa (1 mg/mL) por 15 minutos para remover el cronion y las larvas fueron lavadas con medio embrionario (3 x 15 mL) y distribuidas en una microplaca de 96 pozos, un embrión por pozo.

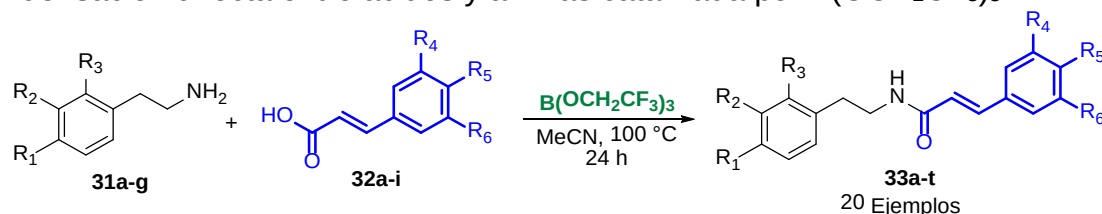
*1.7.1 Preparación de una nueva serie de N-feniletil cinamamidas **33a-t** como análogos del protoalcaloide zantoxylamida*

Metodología general

En un vial de 50 mL equipado con una barra de agitación se adicionó el respectivo ácido cinámico **32a-i** (5 mmol), el vial fue sellado y el aire fue evacuado estableciendo una atmósfera de argón y se procedió a añadir acetonitrilo anhidro (10 mL) seguido del tris-(2,2,2-trifluoroetil)borato ($\text{B}(\text{OCH}_2\text{CF}_3)_3$) (0.5 equiv). Tras 10 minutos de agitación se adicionó la respectiva feniletilamina **31a-g** (5 mmol) gota a gota a temperatura ambiente y el sistema fue calentado a 100 °C por un periodo de 24 horas, monitoreando la reacción a través de cromatografía en capa fina (CCF). Tras enfriar el sistema a temperatura ambiente, el solvente fue evaporado a presión reducida y el crudo fue neutralizado con 30 mL de una solución de NaHCO_3 1 M hasta alcanzar un pH igual a 9. La fase orgánica fue extraída con acetato de etilo (3 x 10 mL), separada y secada sobre sulfato de sodio anhidro. Tras eliminar el disolvente a presión reducida se purificó las correspondientes N-feniletil cinamamidas **33a-t** mediante cromatografía en

columna empleando un cartucho de gel de sílice (25 g) utilizando una mezcla de 50 % acetato de etilo/éter de petróleo con un flujo de 10 ml/min (Esquema 12).

Esquema 12. Síntesis de *N*-feniletíl cinamamidas **33a-t** a través de la condensación directa entre ácidos y aminas catalizada por $B(OCH_2CF_3)_3$.



Comp.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Comp.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
33a	H	H	H	H	H	H	33k	H	OMe	H	H	OAc	OMe
33b	Cl	H	H	H	H	H	33l	H	OMe	OMe	H	H	H
33c	F	H	H	H	H	H	33m*	H	OMe	OMe	H	OMe	H
33d	OMe	H	H	H	H	H	33n	H	OMe	OMe	H	OMe	OMe
33e	H	OMe	H	H	H	H	33o	H	OMe	OMe	OMe	OMe	OMe
33f	H	H	OMe	H	H	H	33p	H	OMe	OMe	H	-OCH ₂ O-	
33g	H	OMe	H	H	OMe	OMe	33q	H	OMe	OMe	H	OAc	H
33h	H	OMe	H	OMe	OMe	OMe	33r	H	OMe	OMe	H	OAc	OMe
33i	H	OMe	H	H	-OCH ₂ O-		33s	H	OMe	OMe	H	OMe	OAc
33j	H	OMe	H	H	OAc	H	33t	H	OMe	OMe	OMe	OAc	OMe

*Amida derivada del ácido 3-fenilpropanoico

N-(Feniletíl)cinamamida (**33a**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de ácido *trans*-cinámico **32a** (0.74 g, 5 mmol), feniletilamina **31a** (0.60 g, 5 mmol), $B(OCH_2CF_3)_3$ (538 μ L, 2.5 mmol) y acetonitrilo anhidro (10 mL). Después de cromatografía en columna se obtuvieron 1.23 g (4.9 mmol) de la correspondiente *N*-(feniletíl)cinamamida **33a** como un sólido blanco con rendimiento del 98 %; R_f = 0.36 (2:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 125-127 °C; IR (disco de KBr): 3248 ν (NH), 3063 ν (CH₂-Ar), 1651 ν (C=O), 1612 ν (C=C), 1558 ν (NH), 1342 ν (CH₂-Ar), 1226 ν (C-N) cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 7.63 (1H, d, J = 15.6 Hz, =CHPh), 7.47 (2H, dd, J = 6.5, 2.8 Hz, 6 y 10- H_{Ar}), 7.35-7.29 (5H, m, 5',6',7',8' y 9'- H_{Ar}), 7.23 (3H,

dd, $J = 6.3, 5.1$ Hz, 7, 8 y 9- H_{Ar}), 6.37 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $=CHCO$), 5.93 (1H, t, $J = 6.9$ Hz, NH), 3.66 (2H, q, $J = 6.9$ Hz, $-CH_2NH$), 2.89 (2H, t, $J = 7.0$ Hz, $-CH_2Ph$). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 166.0, 141.0 (+), 138.9, 134.8, 129.7 (+), 128.9 (+) (4), 128.7 (+, 2C), 127.8 (+) (2C), 126.6 (+), 120.7 (+), 40.9 (-), 35.7 (-). GC-EM (IE): $t_R = 23.65$ min.; m/z (%): 251 (M^+ , 12), 160 (10), 146 (20), 131 (100), 103 (42). Fórmula molecular: $C_{17}H_{17}NO$ (P.M.: 251.32 g/mol).

N-(4-Clorofeniletil)cinamamida (**33b**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de ácido *trans*-cinámico **32a** (0.74 g, 5 mmol), 4-clorofeniletilamina **31b** (0.77 g, 5 mmol), $B(OCH_2CF_3)_3$ (538 μ L, 2.5 mmol) y acetonitrilo anhidro (10 mL). Después de cromatografía en columna se obtuvieron 1.12 g (3.95 mmol) de la correspondiente *N*-(4-clorofeniletil)cinamamida **33b** como un sólido blanco con rendimiento del 79 %; $R_f = 0.51$ (2:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 173-175 °C; IR (disco de KBr): 3301 $\nu_{(NH)}$, 3085 $\nu_{(CH_2-Ar)}$, 1650 $\nu_{(C=O)}$, 1619 $\nu_{(C=C)}$, 1542 $\nu_{(NH)}$, 1342 $\nu_{(CH_2-Ar)}$, 1218 $\nu_{(C-N)}$, 663 $\nu_{(C-Cl)}$ cm^{-1} ; 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 7.62 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $=CHPh$), 7.49-7.45 (2H, m, 6 y 10- H_{Ar}), 7.36-7.32 (3H, m, 7, 8 y 9'- H_{Ar}), 7.29-7.25 (2H, m, 6' y 8'- H_{Ar}), 7.14 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, 5' y 9'- H_{Ar}), 6.36 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $=CHCO$), 5.88 (1H, t, $J = 6.9$ Hz, NH), 3.61 (2H, q, $J = 6.9$ Hz, $-CH_2NH$), 2.85 (2H, t, $J = 7.0$ Hz, $-CH_2Ph$). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 166.0, 141.3 (+), 137.4, 134.7, 132.4, 130.2 (+, 2C), 129.86 (+), 128.9 (+, 2C), 128.8 (+, 2C), 127.91 (+, 2C), 120.5 (+), 40.8 (-), 35.1 (-). GC-EM (IE): $t_R = 17.51$ min.; m/z (%): 285 (M^+ ,

7), 160 (14), 146 (13), 131 (100), 103 (41). Fórmula molecular: $C_{17}H_{16}ClNO$ (P.M.: 285.77 g/mol).

N-(4-Fluorofeniletil)cinamamida (**33c**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de ácido *trans*-cinámico **32a** (0.74 g, 5 mmol), 4-fluorofeniletilamina **31c** (0.69 g, 5 mmol), $B(OCH_2CF_3)_3$ (538 μ L, 2.5 mmol) y acetonitrilo anhidro (10 mL). Después de cromatografía en columna se obtuvieron 0.86 g (3.2 mmol) de la correspondiente *N*-(4-fluorofeniletil)cinamamida **33c** como un sólido blanco con rendimiento del 64 %; R_f = 0.70 (2:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 150-152 °C; IR (disco de KBr): 3332 $\nu(NH)$, 3070 $\nu(CH_2-Ar)$, 1650 $\nu(C=O)$, 1619 $\nu(C=C)$, 1542 $\nu(NH)$, 1326 $\nu(CH_2-Ar)$, 1218 $\nu(C-N)$, 632 $\nu(C-F)$ cm^{-1} ; 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 7.62 (1H, d, J = 15.6 Hz, =CHPh), 7.49-7.45 (2H, m, 7 y 9- H_{Ar}), 7.33 (3H, dd, J = 6.7, 3.6 Hz, 6', 7' y 8'- H_{Ar}), 7.19-7.13 (2H, m, 6 y 10- H_{Ar}), 7.01-6.95 (2H, m, 5' y 9'- H_{Ar}), 6.37 (1H, d, J = 15.6 Hz, =CHCO), 5.97 (1H, t, J = 6.9 Hz, NH), 3.61 (2H, q, J = 6.9 Hz, -CH₂NH), 2.85 (2H, t, J = 7.0 Hz, -CH₂Ph). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 166.1, 161.7 (d, J = 244.4 Hz), 141.2 (+), 134.7, 134.5 (d, J = 3.2 Hz), 130.2 (d, J = 7.9 Hz; +, 2C), 129.8 (+), 128.9 (+, 2C), 127.8 (+, 2C), 120.5 (+), 115.5 (d, J = 21.2 Hz; +, 2C), 41.0 (+), 34.9 (+). GC-EM (IE): t_R = 28.64 min.; m/z (%): 269 (M^+ , 30), 160 (14), 131 (100), 122 (24), 103 (38), 77 (21). Fórmula molecular: $C_{17}H_{16}FNO$ (P.M.: 269.31 g/mol).

N-(4-Metoxifeniletil)cinamamida (**33d**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de ácido *trans*-cinámico **32a** (0.74 g, 5 mmol), 4-metoxifeniletilamina **31d** (0.75 g, 5 mmol), B(OCH₂CF₃)₃ (538 µL, 2.5 mmol) y acetonitrilo anhidro (10 mL). Después de cromatografía en columna se obtuvieron 1.25 g (4.45 mmol) de la correspondiente *N*-(4-metoxifeniletil)cinamamida **33d** como un sólido blanco con rendimiento del 89 %; *R_f* = 0.54 (1:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 145-147 °C; IR (disco de KBr): 3317 ν (NH), 3070 ν (CH₂-Ar), 2962 ν (OCH₃), 1651 ν (C=O), 1619 ν (C=C), 1542 ν (NH), 1326 ν (CH₂-Ar), 1234 ν (C-N) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.62 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, =CHPh), 7.47 (2H, dd, *J* = 6.3, 2.9 Hz, 7 y 9-*H*_{Ar}), 7.34 (3H, dd, *J* = 5.0, 1.6 Hz, 6', 7' y 8'-*H*_{Ar}), 7.14 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, 6 y 10-*H*_{Ar}), 6.86 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, 5' y 9'-*H*_{Ar}), 6.34 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, =CHCO), 5.79 (1H, t, *J* = 6.8 Hz, NH), 3.79 (3H, s, OCH₃), 3.62 (2H, q, *J* = 6.8 Hz, -CH₂NH), 2.83 (2H, t, *J* = 6.9 Hz, -CH₂Ph). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 165.9, 158.3, 141.1 (+), 134.8, 130.9, 129.8 (+, 2C), 129.7 (+), 128.9 (+, 2C), 127.8 (+, 2C), 120.7 (+), 114.1 (+, 2C), 55.3 (+), 41.1(-), 34.8 (-). GC-EM (IE): *t_R* = 18.78 min.; *m/z* (%): 281 (M⁺, 1), 134 (100), 131 (27), 121 (17), 103 (20). Fórmula molecular: C₁₈H₁₉NO₂ (P.M.: 281.35 g/mol).

N-(3-Metoxifeniletil)cinamamida (**33e**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de ácido *trans*-cinámico **32a** (0.74 g, 5 mmol), 3-metoxifeniletilamina **31e** (0.75 g, 5 mmol), B(OCH₂CF₃)₃ (538 µL, 2.5 mmol) y acetonitrilo anhidro (10 mL). Después de cromatografía en columna se obtuvieron 1.04 g (3.70 mmol) de la correspondiente

N-(3-metoxifeniletil)cinamamida **33d** como un sólido blanco con rendimiento del 74%; $R_f = 0.55$ (1:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 76-78 °C; IR (disco de KBr): 3270 $\nu(\text{NH})$, 3070 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$, 2931 $\nu(\text{OCH}_3)$, 1666 $\nu(\text{C=O})$, 1619 $\nu(\text{C=C})$, 1450 $\nu(\text{NH})$, 1265 $\nu(\text{C-N})$, 1033 $\nu(\text{C-O})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 7.62 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, =CHPh), 7.46-7.41 (2H, m, 6 y 8- H_{Ar}), 7.33-7.29 (3H, m, 6', 7' y 8'- H_{Ar}), 7.21 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, 9- H_{Ar}), 6.81-6.76 (3H, m, 10, 5' y 9'- H_{Ar}), 6.40 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, =CHCO), 6.21 (1H, t, $J = 6.5$ Hz, NH), 3.76 (3H, s, OCH_3), 3.64 (2H, q, $J = 6.5$ Hz, - CH_2NH), 2.86 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, - CH_2Ph). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 166.0, 159.8, 140.8 (+), 140.5, 134.8, 129.6 (+), 129.6 (+), 128.8 (+, 2C), 127.8 (+, 2C), 121.1 (+), 120.8 (+), 114.4 (+), 111.9 (+), 55.1 (+), 40.8 (-), 35.7 (-). Fórmula molecular: $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}_2$ (P.M.: 281.35 g/mol).

N-(2-Metoxifeniletil)cinamamida (**33f**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de ácido *trans*-cinámico **32a** (0.74 g, 5 mmol), 2-metoxifeniletilamina **31f** (0.75 g, 5 mmol), $\text{B}(\text{OCH}_2\text{CF}_3)_3$ (538 μL , 2.5 mmol) y acetonitrilo anhidro (10 mL). Después de cromatografía en columna se obtuvieron 1.12 g (4.00 mmol) de la correspondiente *N*-(2-metoxifeniletil)cinamamida **33f** como un sólido blanco con rendimiento del 80 %; $R_f = 0.46$ (1:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 141-143 °C; IR (disco de KBr): 3255 $\nu(\text{NH})$, 3085 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$, 2931 $\nu(\text{OCH}_3)$, 1650 $\nu(\text{C=O})$, 1619 $\nu(\text{C=C})$, 1558 $\nu(\text{NH})$, 1342 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$, 1234 $\nu(\text{C-N})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 7.59 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, =CHPh), 7.49-7.46 (2H, m, 5' y 9'- H_{Ar}), 7.38-7.32 (3H, m, 6', 7' y 8'- H_{Ar}),

7.26-7.21 (1H, m, 6- H_{Ar}), 7.16 (1H, dd, $J = 7.4, 1.6$ Hz, 9- H_{Ar}), 6.94-6.87 (2H, m, 7 y 8- H_{Ar}), 6.33 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, =CHCO), 5.98 (1H, t, $J = 6.7$ Hz, NH), 3.85 (3H, s, -OCH₃), 3.63 (2H, dd, $J = 6.7$ Hz, -CH₂NH), 2.91 (2H, t, $J = 6.7$ Hz, -CH₂Ph). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), $\delta_{(ppm)}$: 166.0, 157.5, 140.6 (+), 134.9, 130.7 (+), 129.6 (+), 128.8 (+, 2C), 128.0 (+), 127.8 (+, 2C), 127.4, 121.0 (+), 120.8 (+), 110.5 (+), 55.4 (+), 40.0 (-), 30.3 (-). GC-EM (IE): $t_R = 17.21$ min.; m/z (%): 281 (M⁺, 7), 134 (100), 131 (97), 119 (37), 103 (44), 91 (28). Fórmula molecular: C₁₈H₁₉NO₂ (P.M.: 281.35 g/mol).

N-(3-Metoxifeniletil)-3,4-dimetoxicinamamida (**33g**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de ácido *trans*-3,4-dimetoxicinámico **32b** (1.04 g, 5 mmol), 3-metoxifeniletilamina **31e** (0.75 g, 5 mmol), B(OCH₂CF₃)₃ (538 μ L, 2.5 mmol) y acetonitrilo anhidro (10 mL). Después de cromatografía en columna se obtuvieron 1.33 g (3.9 mmol) de la correspondiente *N*-(3-metoxifeniletil)-3,4-dimetoxicinamamida **33g** como un sólido blanco con rendimiento del 78 %; $R_f = 0.47$ (1:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 89-91°C; IR (disco de KBr): 3301 $\nu_{(NH)}$, 3054 $\nu_{(CH_2-Ar)}$, 2931 $\nu_{(OCH_3)}$, 1650 $\nu_{(C=O)}$, 1604 $\nu_{(C=C)}$, 1450 $\nu_{(NH)}$, 1326 $\nu_{(CH_2-Ar)}$, 1249 $\nu_{(C-N)}$ cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), $\delta_{(ppm)}$: 7.54 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, =CHPh), 7.22-7.17 (1H, m, 9- H_{Ar}), 7.02 (1H, dd, $J = 8.3, 1.7$, 9'- H), 6.96 (1H, d, $J = 1.7$, 5'- H_{Ar}), 6.80-6.74 (4H, m, 6, 8, 10 and 8'- H_{Ar}), 6.25 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, =CHCO), 6.06 (1H, t, $J = 6.7$ Hz, NH), 3.85 (3H, s, OCH₃), 3.82 (3H, s, OCH₃), 3.75 (3H, s, OCH₃), 3.62 (2H, q, $J = 6.7$ Hz, -CH₂NH), 2.84 (2H, t, $J = 6.9$ Hz, -CH₂Ph). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), $\delta_{(ppm)}$: 166.2, 159.7,

150.4, 149.0, 140.7 (+), 140.5, 129.6 (+), 127.7, 121.9 (+), 121.1 (+), 118.5 (+), 114.4 (+), 111.8 (+), 110.9 (+), 109.5 (+), 55.9 (+), 55.7 (+), 55.1 (+), 40.7 (-), 35.7 (-). GC-EM (IE): t_R = 44.49 min.; m/z (%): 341 (M^+ , 36), 206 (79), 192 (19), 191 (100), 190 (22). Fórmula molecular: $C_{20}H_{23}NO_4$ (P.M.: 341.41 g/mol).

***N*-(3-Metoxifeniletíl)-3,4,5-trimetoxicinamamida (**33h**)**

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de ácido *trans*-3,4,5-trimetoxicinámico **32c** (1.19 g, 5 mmol), 3-metoxifeniletilamina **31e** (0.75 g, 5 mmol), $B(OCH_2CF_3)_3$ (538 μ L, 2.5 mmol) y acetonitrilo anhidro (10 mL). Después de cromatografía en columna se obtuvieron 1.57 g (4.25 mmol) de la correspondiente *N*-(3-metoxifeniletíl)-3,4,5-trimetoxicinamamida **33h** como un sólido blanco con rendimiento del 85 %; R_f = 0.37 (1:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 72-74 °C; IR (disco de KBr): 3317 $\nu_{(NH)}$, 3054 $\nu_{(CH_2-Ar)}$, 2931 $\nu_{(OCH_3)}$, 1650 $\nu_{(C=O)}$, 1619 $\nu_{(C=C)}$, 1542 $\nu_{(NH)}$, 1249 $\nu_{(C-N)}$, 1126 $\nu_{(C-O)}$ cm^{-1} ; 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 7.52 (1H, d, J = 15.5 Hz, =CHPh), 7.27-7.22 (1H, m, 9- H_{Ar}), 6.83-6.74 (3H, m, 6, 8, 10- H), 6.70 (2H, s, 5' y 9'- H_{Ar}), 6.24 (1H, d, J = 15.5 Hz, =CHCO), 5.71 (1H, t, J = 6.6 Hz, NH), 3.86 (6H, s, 2xOCH₃), 3.86 (3H, s, OCH₃), 3.79 (3H, s, OCH₃), 3.66 (2H, q, J = 6.6 Hz, -CH₂NH), 2.86 (2H, t, J = 6.7 Hz, -CH₂Ph). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 165.9, 159.9, 153.4 (3C), 141.1 (+), 139.5, 130.4, 129.8 (+), 121.2 (+), 119.9 (+), 114.6 (+), 111.9 (+), 104.9 (2C, +), 61.0 (+), 56.2 (2C, +), 55.3 (+), 40.7 (-), 35.7 (-). Fórmula molecular: $C_{21}H_{25}NO_5$ (P.M.: 371.43 g/mol).

***N*-(3-Metoxifeniletíl)-3,4-metilendioxicinamamida (33i)**

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de ácido *trans*-3,4-metilendioxicinámico **32d** (0.96 g, 5 mmol), 3-metoxifeniletilamina **31e** (0.75 g, 5 mmol), B(OCH₂CF₃)₃ (538 µL, 2.5 mmol) y acetonitrilo anhidro (10 mL). Después de cromatografía en columna se obtuvieron 1.43 g (4.4 mmol) de la correspondiente *N*-(3-metoxifeniletíl)-3,4-metilendioxicinamamida **33i** como un sólido blanco con rendimiento del 88 %; R_f = 0.41 (1:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 100-102 °C; IR (disco de KBr): 3317 $\nu_{(NH)}$, 3054 $\nu_{(CH_2-Ar)}$, 2962 $\nu_{(OCH_3)}$, 2915 $\nu_{(-OCH_2O-)}$, 1650 $\nu_{(C=O)}$, 1600 $\nu_{(C=N)}$, 1542 $\nu_{(NH)}$, 1326 $\nu_{(CH_2-Ar)}$, 1265 $\nu_{(C-N)}$ cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), $\delta_{(ppm)}$: 7.55 (1H, d, J = 15.5 Hz, =CHPh), 7.30-7.24 (1H, m, 9- H_{Ar}), 6.99-6.96 (2H, m, 5' y 9'- H_{Ar}), 6.85-6.81 (1H, m, 10- H_{Ar}), 6.81-6.78 (3H, m, 6, 8 y 8'- H_{Ar}), 6.20 (1H, d, J = 15.5 Hz, =CHCO), 6.00 (2H, s, -OCH₂O-), 5.87 (1H, t, J = 6.8 Hz, NH), 3.82 (3H, s, OCH₃), 3.67 (2H, q, J = 6.8 Hz, -CH₂NH), 2.88 (2H, t, J = 6.9 Hz, -CH₂Ph). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), $\delta_{(ppm)}$: 166.1, 159.8, 149.1, 148.2, 140.8 (+), 140.6, 129.7 (+), 129.2, 123.9 (+), 121.2 (+), 118.7 (+), 114.5 (+), 111.9 (+), 108.5 (+), 106.3 (+), 101.5 (-), 55.2 (+), 40.7 (-), 35.7 (-). Fórmula molecular: C₁₉H₁₉NO₄ (P.M.: 325.36 g/mol).

***N*-(3-Metoxifeniletíl)-4-acetoxicinamamida (33j)**

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de ácido *trans*-4-acetoxicinámico **32e** (1.03 g, 5 mmol), 3-metoxifeniletilamina **31e** (0.75 g, 5 mmol), B(OCH₂CF₃)₃ (538 µL, 2.5 mmol) y acetonitrilo anhidro (10 mL). Después de cromatografía en columna se obtuvieron 1.54 g (4.55 mmol) de la

correspondiente *N*-(3-metoxifeniletíl)-4-acetoxicinamamida **33j** como un sólido beige con rendimiento del 91 %; $R_f = 0.35$ (1:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 181-183 °C; IR (disco de KBr): 3301 $\nu(\text{NH})$, 3070 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$, 2931 $\nu(\text{OCH}_3)$, 1751 $\nu(\text{C=O})$, 1666 $\nu(\text{C=O})$, 1619 $\nu(\text{C=C})$, 1542 $\nu(\text{NH})$, 1218 $\nu(\text{C-O})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta(\text{ppm})$: 7.56 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, $=\text{CHPh}$), 7.43 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, 6' y 8'- H_{Ar}), 7.21 (1H, t, $J = 7.7$ Hz, 9- H_{Ar}), 7.04 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, 5' y 9'- H_{Ar}), 6.80-6.74 (3H, m, 6, 8 y 10- H_{Ar}), 6.29 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $=\text{CHCO}$), 6.13 (1H, t, $J = 6.5$ Hz, NH), 3.76 (3H, s, OCH_3), 3.61 (2H, q, $J = 6.5$ Hz, $-\text{CH}_2\text{NH}$), 2.84 (2H, t, $J = 6.9$ Hz, $-\text{CH}_2\text{Ph}$), 2.29 (3H, s, CH_3). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta(\text{ppm})$: 169.4, 165.9, 159.8, 151.5, 140.5, 139.8 (+), 132.5, 129.7 (+), 128.9 (2C, +), 122.0 (2C, +), 121.1 (+), 120.9 (+), 114.4 (+), 111.9 (+), 55.2 (+), 40.8 (-), 35.6 (-), 21.1 (+). GC-EM (IE): $t_R = 44.19$ min.; m/z (%): 339 (M^+ , 100), 338 (66), 324 (17), 294 (15). Fórmula molecular: $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{NO}_4$ (P.M.: 339.39 g/mol).

N-(3-Metoxifeniletíl)-4-acetoxi-3-metoxicinamamida (**33k**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de ácido *trans*-4-acetoxi-3-metoxicinámico **32f** (1.18 g, 5 mmol), 3-metoxifeniletilamina **31e** (0.75 g, 5 mmol), $\text{B}(\text{OCH}_2\text{CF}_3)_3$ (538 μL , 2.5 mmol) y acetonitrilo anhidro (10 mL). Después de cromatografía en columna se obtuvieron 1.27 g (3.45 mmol) de la correspondiente *N*-(3-metoxifeniletíl)-4-acetoxi-3-metoxicinámamida **33k** como un sólido beige con rendimiento del 69 %; $R_f = 0.28$ (1:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 81-83 °C; IR (disco de KBr): 3301 $\nu(\text{NH})$, 3070 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$, 2931 $\nu(\text{OCH}_3)$, 1758

$\nu(\text{C=O})$, 1666 $\nu(\text{C=O})$, 1604 $\nu(\text{C=C})$, 1511 $\nu(\text{NH})$, 1265 $\nu(\text{C-O})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta(\text{ppm})$: 7.54 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $=\text{CHPh}$), 7.23 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, 9- H_{Ar}), 7.06-7.02 (2H, m, 5' y 9'- H_{Ar}), 6.99 (2H, d, $J = 8.1$ Hz, 8'- H_{Ar}), 6.82-6.75 (3H, m, 6, 8 y 10- H_{Ar}), 6.26 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $=\text{CHCO}$), 5.90 (1H, t, $J = 6.8$ Hz, NH), 3.81 (3H, s, OCH_3), 3.78 (3H, s, OCH_3), 3.63 (2H, q, $J = 6.8$ Hz, $-\text{CH}_2\text{NH}$), 2.84 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, $-\text{CH}_2\text{Ph}$), 2.31 (3H, s, CH_3). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta(\text{ppm})$: 169.0, 165.8, 159.8, 151.2, 140.8, 140.5, 140.3 (+), 133.9, 129.7 (+), 123.1 (+), 121.1 (+), 120.9 (+), 120.6 (+), 114.5 (+), 111.9 (+), 111.3 (+), 55.9 (+), 55.2 (+), 40.7 (-), 35.6 (-), 20.7 (+). Fórmula molecular: $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{NO}_5$ (P.M.: 369.42 g/mol).

N-(3,4-Dimetoxifeniletil)cinamamida (**33I**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de ácido *trans*-cinámico **32a** (0.74 g, 5 mmol), 3,4-dimetoxifeniletilamina **31g** (0.90 g, 5 mmol), $\text{B}(\text{OCH}_2\text{CF}_3)_3$ (538 μL , 2.5 mmol) y acetonitrilo anhidro (10 mL). Después de cromatografía en columna se obtuvieron 1.27 g (4.30 mmol) de la correspondiente *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)cinamamida **33I** como un sólido blanco con rendimiento del 86 %; $R_f = 0.64$ (1:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 122-214 °C; IR (disco de KBr): 3317 $\nu(\text{NH})$, 3070 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$, 2962 $\nu(\text{OCH}_3)$, 1651 $\nu(\text{C=O})$, 1619 $\nu(\text{C=C})$, 1542 $\nu(\text{NH})$, 1326 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$, 1234 $\nu(\text{C-N})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta(\text{ppm})$: 7.61 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $=\text{CHPh}$), 7.47-7.44 (2H, m, 6 y 7- H_{Ar}), 7.34-7.31 (3H, m, 6', 7' y 8'- H_{Ar}), 6.80 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, 10- H_{Ar}), 6.74 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, 5' y 9'- H_{Ar}), 6.36 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $=\text{CHCO}$), 5.94 (1H, t, $J = 6.7$ Hz, NH), 3.84 (3H, s, OCH_3), 3.84 (3H, s,

OCH₃), 3.62 (2H, q, $J = 6.7$ Hz, -CH₂NH), 2.83 (2H, t, $J = 6.9$ Hz, -CH₂Ph). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 166.0, 149.0, 147.7, 141.0 (+), 134.8, 131.4, 129.7 (+), 128.8 (+, 2C), 127.8 (+, 3C), 120.7 (+), 111.9 (+), 111.4 (+), 55.9 (+), 55.9 (+), 41.0 (-), 35.2 (-). GC-EM (IE): $t_R = 40.44$ min.; m/z (%): 311 (M⁺, 3), 165 (13), 164 (100), 151 (22), 131 (25), 103 (17). Fórmula molecular: C₁₉H₂₁NO₃ (P.M.: 311.15 g/mol).

N-(3,4-Dimetoxifeniletil)-3-(4-metoxifenil)propanamida (**33m**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de ácido 3-(4-metoxifenil)propanoico **32g** (0.90 g, 5 mmol), 3,4-dimetoxifeniletilamina **31g** (0.90 g, 5 mmol), B(OCH₂CF₃)₃ (538 μ L, 2.5 mmol) y acetonitrilo anhidro (10 mL). Después de cromatografía en columna se obtuvieron 1.59 g (4.65 mmol) de la correspondiente *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3-(4-metoxifenil)propanamida **33m** como un sólido blanco con rendimiento del 93 %; $R_f = 0.66$ (1:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 118-120 °C; IR (disco de KBr): 3301 $\nu_{\text{(NH)}}$, 3070 $\nu_{\text{(CH}_2\text{-Ar)}}$, 2931 $\nu_{\text{(OCH}_3\text{)}}$, 1635 $\nu_{\text{(C=O)}}$, 1542 $\nu_{\text{(NH)}}$, 1511 $\nu_{\text{(C-N)}}$, 1234 $\nu_{\text{(C-N)}}$ cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 7.08 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, 6' y 8'-H_{Ar}), 6.80 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, 5' y 9'-H_{Ar}), 6.76 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, 9-H_{Ar}), 6.66-6.59 (2H, m 6 y 10-H_{Ar}), 5.46 (1H, t, $J = 6.8$ Hz, NH), 3.85 (3H, s, OCH₃), 3.84 (3H, s, OCH₃), 3.77 (3H, s, OCH₃), 3.44 (2H, q, $J = 6.8$ Hz, -CH₂NH), 2.87 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, -CH₂CO), 2.68 (2H, t, $J = 7.0$ Hz, -CH₂Ph), 2.87 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, -CH₂Ph). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 172.2, 158.0, 149.0, 147.6, 132.9, 131.3, 129.3 (2C, +), 120.6 (+), 113.9 (2C, +),

111.8 (+), 111.2 (+), 55.9 (+), 55.9 (+), 55.3 (+), 40.7 (-), 38.8 (-), 35.3 (-), 30.9 (-).

Fórmula molecular: $C_{20}H_{25}NO_4$ (P.M.: 343.42 g/mol).

N-(3,4-Dimetoxifeniletil)-3,4-dimetoxicinamamida (**33n**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de ácido *trans*-3,4-dimetoxicinámico **32b** (1.04 g, 5 mmol), 3,4-dimetoxifeniletilamina **31g** (0.90 g, 5 mmol), $B(OCH_2CF_3)_3$ (538 μ L, 2.5 mmol) y acetonitrilo anhidro (10 mL). Después de cromatografía en columna se obtuvieron 1.50 g (4.05 mmol) de la correspondiente *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4-dimetoxicinamamida **33n** como un sólido blanco con rendimiento del 81 %; $R_f = 0.44$ (1:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 123-125 °C; IR (disco de KBr): 3301 $\nu_{(NH)}$, 2931 $\nu_{(OCH_3)}$, 1650 $\nu_{(C=O)}$, 1619 $\nu_{(C=C)}$, 1511 $\nu_{(C-N)}$, 1265 $\nu_{(C-N)}$, 1141 $\nu_{(C-O)}$ cm^{-1} ; 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 7.52 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, =CHPh), 7.00 (1H, dd $J = 8.3, 1.8$ Hz, 9- H_{Ar}), 6.95 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, 6- H_{Ar}), 6.76 (2H, dd, $J = 8.5, 4.3$ Hz, 8' y 9'- H_{Ar}), 6.72-6.69 (2H, m, 10 y 5'- H_{Ar}), 6.24 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, =CHCO), 6.02 (1H, t, $J = 6.9$ Hz, NH), 3.84 (3H, s, OCH_3), 3.81 (3H, s, OCH_3), 3.80 (6H, s, 2x OCH_3), 3.59 (2H, q $J = 6.9$ Hz, - CH_2NH), 2.80 (2H, t, $J = 7.0$ Hz, - CH_2Ph). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 166.2, 150.5, 149.0, 149.0, 147.6, 140.7 (+), 131.4, 127.7, 121.9 (+), 120.6 (+), 118.6 (+), 112.0 (+), 111.4 (+), 111.0 (+), 109.6 (+), 55.9 (2C, +), 55.8 (+), 55.8 (+), 40.9 (-), 35.2 (-). Fórmula molecular: $C_{21}H_{25}NO_5$ (P.M.: 371.43 g/mol).

N-(3,4-Dimetoxifeniletil)-3,4,5-trimetoxicinamamida (**33o**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de ácido *trans*-3,4,5-trimetoxicinámico **32c** (1.19 g, 5 mmol), 3,4-dimetoxifeniletilamina **31g** (0.90 g, 5 mmol), B(OCH₂CF₃)₃ (538 µL, 2.5 mmol) y acetonitrilo anhidro (10 mL). Después de cromatografía en columna se obtuvieron 1.64 g (4.10 mmol) de la correspondiente *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4,5-trimetoxicinamamida **33o** como un sólido blanco con rendimiento del 81 %; R_f = 0.36 (1:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 128-130 °C; IR (disco de KBr): 3286 ν (NH), 2931 ν (OCH₃), 1650 ν (C=O), 1619 ν (C=C), 1511 ν (C-N), 1265 ν (C-N), 1141 ν (C-O) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.52 (1H, d, J = 15.5 Hz, =CHPh), 6.82 (1H, d J = 8.0 Hz, 9- H_{Ar}), 6.77-6.73 (2H, m, 6 y 10- H_{Ar}), 6.70 (2H, s, 5' y 9'- H_{Ar}), 6.23 (1H, d, J = 15.5 Hz, =CHCO), 5.68 (1H, t, J = 6.8 Hz, NH), 3.86 (12H, s, OCH₃), 3.85 (3H, s, OCH₃), 3.64 (2H, q, J = 6.8 Hz, -CH₂NH), 2.83 (2H, t, J = 6.8 Hz, -CH₂Ph). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 165.9, 153.5 (3C), 149.2, 147.8, 141.1 (+), 131.4, 130.4, 120.8 (+), 120.0 (+), 112.1 (+), 111.5 (+), 105.0 (2C, +), 61.0 (+), 56.2 (2C, +), 56.0 (+), 56.0 (+), 40.9 (-), 35.2 (-). GC-EM (IE): t_R = 47.73 min.; m/z (%): 401 (M⁺, 3), 237 (20), 236 (47), 221 (32), 164 (100). Fórmula molecular: C₂₂H₂₇NO₆ (P.M.: 401.46 g/mol).

N-(3,4-Dimetoxifeniletil)-3,4-metilendioxicinamamida (**33p**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de ácido *trans*-3,4-metilendioxicinámico **32d** (0.96 g, 5 mmol), 3,4-dimetoxifeniletilamina **31g** (0.90 g, 5 mmol), B(OCH₂CF₃)₃ (538 µL, 2.5 mmol) y acetonitrilo anhidro (10 mL). Después de cromatografía en columna se obtuvieron 1.52 g (4.30 mmol) de la

correspondiente *N*-(3,4-dimetoxifeniletíl)-3,4-metilendioxicinamamida **33p** como un sólido blanco con rendimiento del 86 %; $R_f = 0.39$ (1:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 165-167 °C; IR (disco de KBr): 3301 $\nu(\text{NH})$, 3070 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$, 2977 $\nu(\text{OCH}_3)$, 2900 $\nu(\text{-OCH}_2\text{O-})$, 1650 $\nu(\text{C=O})$, 1619 $\nu(\text{C=N})$, 1542 $\nu(\text{NH})$, 1326 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$, 1249 $\nu(\text{C-N})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta(\text{ppm})$: 7.51 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, $=\text{CHPh}$), 6.94 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, 7 y 10- H_{Ar}), 6.81-6.76 (2H, m, 8' y 9'- H_{Ar}), 6.74 (2H, d, $J = 9.7$ Hz, 5' y 6- H_{Ar}), 6.16 (1H, d, $J = 15.4$ Hz, $=\text{CHCO}$), 5.96 (2H, s, $-\text{OCH}_2\text{O-}$), 5.84 (1H, t, $J = 6.3$ Hz, NH), 3.84 (6H, s, $2\times\text{OCH}_3$), 3.60 (2H, q, $J = 6.3$ Hz, $-\text{CH}_2\text{NH}$), 2.81 (2H, t, $J = 6.7$ Hz, $-\text{CH}_2\text{Ph}$). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta(\text{ppm})$: 166.1, 149.1, 149.0, 148.2, 147.7, 140.8 (+), 131.4, 129.2, 123.9 (+), 120.7 (+), 118.7 (+), 111.9 (+), 111.4 (+), 108.5 (+), 106.3 (+), 101.5 (-), 55.9 (+), 55.9 (+), 41.0 (-), 35.3 (-). GC-EM (IE): $t_R = 47.11$ min.; m/z (%): 355 (M^+ , 5), 175 (22), 165 (10), 164 (100), 145 (12), 89 (13). Fórmula molecular: $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{NO}_5$ (P.M.: 355.11 g/mol).

N-(3,4-Dimetoxifeniletíl)-4-acetoxicinamamida (**33q**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de ácido *trans*-4-acetoxicinámico **32e** (1.03 g, 5 mmol), 3,4-dimetoxifeniletilamina **31g** (0.90 g, 5 mmol), $\text{B}(\text{OCH}_2\text{CF}_3)_3$ (538 μL , 2.5 mmol) y acetonitrilo anhidro (10 mL). Después de cromatografía en columna se obtuvieron 1.52 g (4.30 mmol) de la correspondiente *N*-(3,4-dimetoxifeniletíl)-4-acetoxicinamamida **33q** como un sólido blanco con rendimiento del 78 %; $R_f = 0.31$ (1:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 143-145 °C; IR (disco de KBr): 3301 $\nu(\text{NH})$, 3070 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$, 2931 $\nu(\text{OCH}_3)$, 1758

$\nu(\text{C=O})$, 1650 $\nu(\text{C=O})$, 1619 $\nu(\text{C=C})$, 1542 $\nu(\text{NH})$, 1203 $\nu(\text{C-N})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 7.55 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $=\text{CHPh}$), 7.44 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, 6' y 8'- H_{Ar}), 7.05 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, 5' y 9'- H_{Ar}), 6.79 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, 10- H_{Ar}), 6.74-6.72 (2H, m, 6 y 9- H_{Ar}), 6.28 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $=\text{CHCO}$), 5.98 (1H, t, $J = 6.9$ Hz, NH), 3.84 (3H, s, OCH_3), 3.83 (3H, s, OCH_3), 3.60 (2H, q, $J = 6.9$ Hz, $-\text{CH}_2\text{NH}$), 2.81 (2H, t, $J = 7.0$ Hz, $-\text{CH}_2\text{Ph}$), 2.28 (3H, s, CH_3). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 169.3, 166.1, 151.7, 149.1, 147.8, 140.1 (+), 132.5, 131.3, 128.9 (2C, +), 122.1 (2C, +), 120.7 (+), 120.7 (+), 112.0 (+), 111.5 (+), 56.0 (+), 55.9 (+), 41.1 (-), 35.2 (-), 21.2 (-). Fórmula molecular: $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{NO}_5$ (P.M.: 369.42 g/mol).

N-(3,4-Dimetoxifeniletíl)-4-acetoxi-3-metoxicinamamida (**33r**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de ácido *trans*-4-acetoxi-3-metoxicinámico **32f** (1.18 g, 5 mmol), 3,4-dimetoxifeniletilamina **31g** (0.90 g, 5 mmol), $\text{B}(\text{OCH}_2\text{CF}_3)_3$ (538 μL , 2.5 mmol) y acetonitrilo anhidro (10 mL). Después de cromatografía en columna se obtuvieron 1.75 g (4.40 mmol) de la correspondiente *N*-(3,4-dimetoxifeniletíl)-4-acetoxi-3-metoxicinamamida **33r** como un sólido blanco con rendimiento del 88 %; $R_f = 0.22$ (1:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 78-80 °C; IR (disco de KBr): 3440 $\nu(\text{NH})$, 3008 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$, 2900 $\nu(\text{OCH}_3)$, 1697 $\nu(\text{C=O})$, 1666 $\nu(\text{C=O})$, 1619 $\nu(\text{C=C})$, 1511 $\nu(\text{NH})$, 1419 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$, 1280 $\nu(\text{C-N})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 7.54 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $=\text{CHPh}$), 7.06-7.01 (2H, m, $J = 8.6$ Hz, 5' y 9'- H_{Ar}), 6.99 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, 8'- H_{Ar}), 6.80 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, 10- H_{Ar}), 6.75-6.72 (2H, m, 6 y 9- H_{Ar}), 6.26 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $=\text{CHCO}$), 5.85 (1H,

t, $J = 6.8$ Hz, NH), 3.84 (6H, s, OCH₃), 3.81 (3H, s, OCH₃), 3.61 (2H, q, $J = 6.8$ Hz, -CH₂NH), 2.81 (2H, t, $J = 7.0$ Hz, -CH₂Ph), 2.30 (3H, s, CH₃). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 169.0, 165.8, 151.3, 149.1, 147.8, 140.9, 140.4 (+), 133.9, 131.4, 123.2 (+), 121.0 (+), 120.7 (+), 120.6 (+), 112.0 (+), 111.5 (+), 111.4 (+), 56.0 (+), 55.9 (+), 55.9 (+), 41.0 (-), 35.2 (-), 20.7 (+). Fórmula molecular: C₂₂H₂₅NO₆ (P.M.: 399.16 g/mol).

N-(3,4-Dimetoxifeniletil)-3-acetoxi-4-metoxicinamamida (**33s**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de ácido *trans*-3-acetoxi-4-metoxicinámico **32h** (1.18 g, 5 mmol), 3,4-dimetoxifeniletilamina **31g** (0.90 g, 5 mmol), B(OCH₂CF₃)₃ (538 μ L, 2.5 mmol) y acetonitrilo anhidro (10 mL). Después de cromatografía en columna se obtuvieron 1.79 g (4.50 mmol) de la correspondiente *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3-acetoxi-4-metoxicinamamida **33s** como un sólido blanco con rendimiento del 90 %; $R_f = 0.25$ (1:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 126-128 °C; IR (disco de KBr): 3317 $\nu_{\text{(NH)}}$, 3070 $\nu_{\text{(CH}_2\text{-Ar)}}$, 2931 $\nu_{\text{(OCH}_3\text{)}}$, 1758 $\nu_{\text{(C=O)}}$, 1650 $\nu_{\text{(C=O)}}$, 1604 $\nu_{\text{(C=C)}}$, 1265 $\nu_{\text{(C-N)}}$ cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 7.49 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, =CHPh), 7.29-7.26 (1H, m, $J = 8.6$ Hz, 8'-H_{Ar}), 7.16 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, 5'-H_{Ar}), 6.90 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, 9'-H_{Ar}), 6.79 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, 10'-H_{Ar}), 6.74-6.71 (2H, m, 6 y 9-H_{Ar}), 6.18 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, =CHCO), 5.95 (1H, t, $J = 6.8$ Hz, NH), 3.83 (6H, s, OCH₃), 3.81 (3H, s, OCH₃), 3.58 (2H, q, $J = 6.8$ Hz, -CH₂NH), 2.81-2.76 (2H, m, -CH₂Ph), 2.28 (3H, s, CH₃). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 166.1, 162.6, 152.3, 149.1, 147.7, 139.9, 139.7 (+), 131.5, 128.0, 127.4 (+), 121.5 (+), 120.7 (+), 119.4 (+), 112.3 (+), 112.0 (+), 111.4 (+), 56.0 (+),

55.9 (+), 55.9 (+), 41.0 (-), 35.2 (-), 20.6 (+). Fórmula molecular: $C_{22}H_{25}NO_6$ (P.M.: 399.16 g/mol).

N-(3,4-Dimetoxifeniletil)-4-acetoxi-3,5-dimetoxicinamamida (**33t**)

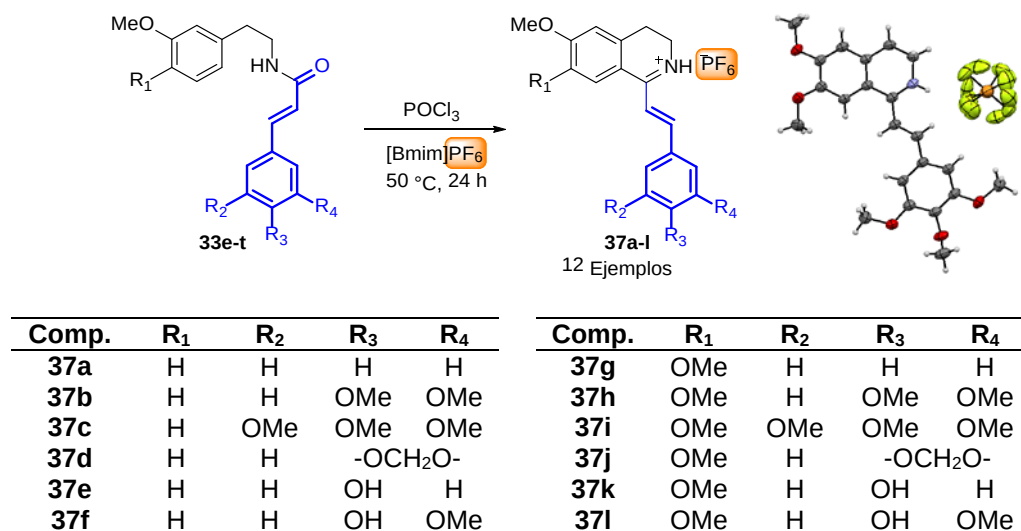
Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de ácido *trans*-4-acetoxi-3,5-dimetoxicinámico **32i** (1.33 g, 5 mmol), 3,4-dimetoxifeniletilamina **31g** (0.90 g, 5 mmol), $B(OCH_2CF_3)_3$ (538 μ L, 2.5 mmol) y acetonitrilo anhidro (10 mL). Después de cromatografía en columna se obtuvieron 1.97 g (4.60 mmol) de la correspondiente *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-4-acetoxi-3,5-dimetoxicinamamida **33t** como un sólido blanco con rendimiento del 92 %; R_f = 0.17 (1:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 133-135 °C; IR (disco de KBr): 3363 $\nu_{(NH)}$, 3070 $\nu_{(CH_2-Ar)}$, 2931 $\nu_{(OCH_3)}$, 1758 $\nu_{(C=O)}$, 1666 $\nu_{(C=O)}$, 1604 $\nu_{(C=C)}$, 1511 $\nu_{(NH)}$, 1203 $\nu_{(C-N)}$ cm^{-1} ; 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 7.51 (1H, d, J = 15.5 Hz, =CHPh), 6.80 (1H, d, J = 8.1 Hz, 10- H_{Ar}), 6.75-6.73 (2H, m, 6 y 9- H_{Ar}), 6.69 (2H, s, 5' y 9'- H_{Ar}), 6.26 (1H, d, J = 15.5 Hz, =CHCO), 5.82 (1H, t, J = 6.8 Hz, NH), 3.85 (6H, s, OCH_3), 3.80 (6H, s, OCH_3), 3.61 (2H, q, J = 6.8 Hz, - CH_2NH), 2.81 (2H, t, J = 6.9 Hz, - CH_2Ph), 2.32 (3H, s, OAc). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 168.7, 165.7, 152.4 (2C), 149.1, 147.8, 140.7 (+), 133.2, 131.4, 129.9, 121.0 (+), 120.7 (+), 112.0 (+), 111.5 (+), 104.4 (2C, +), 56.2 (2C, +), 56.0 (+), 55.9 (+), 40.9 (-), 35.2 (-), 20.5 (+). Fórmula molecular: $C_{23}H_{27}NO_7$ (P.M.: 429.46 g/mol).

1.7.2 Preparación de una nueva serie de 1-estiril-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfatos **37a-l** a través de la reacción Bichler-Napieralski

Metodología general

En un reactor de 10 mL equipado con una barra de agitación se adicionó la respectiva *N*-feniletil cinamamida **33e-t** (2 mmol) y hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazolio ([bmim]PF₆) (1 mL). Una vez disuelta la amida, y a temperatura ambiente, se añadió el cloruro de fosforilo (POCl₃) (3 mmol, 1.5 equiv) y el sistema fue calentado a 50 °C por un periodo de 24 horas, monitoreando la reacción a través de cromatografía en capa fina (CCF). Tras enfriar el sistema a temperatura ambiente, se añadió hielo picado y el sólido precipitado fue filtrado, lavado con acetato de etilo frio y secado a 60 °C, obteniendo así las respectivas 1-estiril-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfatos **37a-l** (Esquema 13).

Esquema 13. Síntesis de 1-estiril-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfatos **37a-l** a través de la reacción Bichler-Napieralski promovida por el líquido iónico [bmim]PF₆.



1-Estiril-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato (37a)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3-metoxifeniletil)cinámamida **33e** (0.56 g, 2 mmol), POCl₃ (280 µL g, 3 mmol) y [bmim]PF₆ (1 mL). Después filtrar, lavar y secar el sólido obtenido se obtuvieron 0.49 g (1.22 mmol) de la correspondiente 1-estiril-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37a** como un sólido naranja con rendimiento del 61 %; R_f = 0.35 (2:1 diclorometano/metanol); pf. 197-199 °C; IR (disco de KBr): 2977 ν(OCH₃), 2838 ν(NH⁺), 1619 ν(C=N), 1558 ν(C-N), 1280 ν(C-O), 848 ν(P-F) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ_(ppm): 10.05 (1H, br. s, NH⁺), 7.95 (1H, d, J = 16.1 Hz, =CHPh), 7.91 (1H, d, J = 8.8 Hz, 8-H_{Ar}), 7.73 (2H, dd, J = 7.9, 1.3 Hz, 5' and 9'-H_{Ar}), 7.54-7.44 (3H, m, 6', 7' y 8'-H_{Ar}), 7.27 (1H, d, J = 16.2 Hz, =CH), 7.02 (1H, dd, J = 8.9, 2.5 Hz, 7-H_{Ar}), 6.94 (1H, d, J = 2.6 Hz, 5-H_{Ar}), 3.98 (3H, s, OCH₃), 4.01-3.96 (2H, m, -CH₂N), 3.16-3.11 (2H, m, -CH₂Ph). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), δ_(ppm): 167.2, 150.7 (+), 142.0, 136.6, 133.7 (+), 133.6, 132.8 (+), 129.7 (2C, +), 129.6 (2C, +), 117.9, 115.4 (+), 114.9 (+), 114.5 (+), 58.6 (-), 56.3 (+), 26.7 (-). Fórmula molecular: C₁₈H₁₈F₆NO (P.M.: 409.31 g/mol).

1-(3,4-Dimetoxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato (37b)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3-metoxifeniletil)-3,4-dimetoxicinámamida **33g** (0.68 g, 2 mmol), POCl₃ (280 µL g, 3 mmol) y [bmim]PF₆ (1 mL). Después filtrar, lavar y secar el sólido obtenido se obtuvieron 0.87 g (1.86 mmol) de la correspondiente 1-(3,4-dimetoxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37b** como un sólido naranja con

rendimiento del 93 %; $R_f = 0.28$ (2:1 diclorometano/metanol); pf. 206-208 °C; IR (disco de KBr): 2946 $\nu(\text{OCH}_3)$, 2854 $\nu(\text{NH}^+)$, 1604 $\nu(\text{C}=\text{N})$, 1511 $\nu(\text{C}-\text{N})$, 1265 $\nu(\text{C}-\text{O})$, 817 $\nu(\text{P}-\text{F})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 13.85 (1H, br. s, NH^+), 8.30 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, $=\text{CHPh}$), 7.90 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 8- H_{Ar}), 7.39-7.34 (2H, m, $=\text{CH}$ y 5- H_{Ar}), 7.27 (1H, s, 5'- H_{Ar}), 6.99 (1H, d, $J = 6.9$ Hz, 8'- H_{Ar}), 6.90-6.88 (2H, m, 7 y 9'- H_{Ar}), 3.96 (3H, s, OCH_3), 3.94 (3H, s, OCH_3), 3.94 (3H, s, OCH_3), 3.91-3.87 (2H, m, $-\text{CH}_2\text{N}$), 3.03 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, $-\text{CH}_2\text{Ph}$). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 166.8, 165.7, 152.9, 150.7 (+), 149.5, 141.4, 132.9, 130.4, 127.3 (+), 125.0 (+), 118.7, 114.4 (+), 113.8 (+), 113.4 (+), 111.1 (+), 110.7 (+), 56.3 (+), 56.2 (+), 56.1 (+), 40.2 (-), 26.9 (-). Fórmula molecular: $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{F}_6\text{NO}_3\text{P}$ (P.M.: 469.36 g/mol).

1-(3,4,5-Trimetoxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato (37c)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3-metoxifeniletil)-3,4,5-trimetoxicinámamida **33h** (0.74 g, 2 mmol), POCl_3 (280 μL , 3 mmol) y $[\text{bmim}]\text{PF}_6$ (1 mL). Después filtrar, lavar y secar el sólido obtenido se obtuvieron 0.88 g (1.78 mmol) de la correspondiente 1-(3,4,5-trimetoxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37c** como un sólido naranja con rendimiento del 89 %; $R_f = 0.27$ (2:1 diclorometano/metanol); pf. 186-188 °C; IR (disco de KBr): 2931 $\nu(\text{OCH}_3)$, 2838 $\nu(\text{NH}^+)$, 1650 $\nu(\text{C}=\text{N})$, 1542 $\nu(\text{C}-\text{N})$, 1226 $\nu(\text{C}-\text{O})$, 817 $\nu(\text{P}-\text{F})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 13.85 (1H, br. s, NH^+), 8.19 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, $=\text{CHPh}$), 7.95 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 8- H_{Ar}), 7.45 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, $=\text{CH}$), 7.01-6.95 (3H, m, 5, 5' y 9'- H_{Ar}), 6.88 (1H, m, 7- H_{Ar}), 3.92 (3H, s, OCH_3), 3.89 (6H,

s, OCH₃), 3.87 (3H, s, OCH₃), 3.84-3.83 (2H, m, -CH₂N), 3.01-2.96 (2H, m, -CH₂Ph). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), δ_(ppm): 166.9, 165.9, 153.5 (2C), 150.2 (+), 141.3, 133.2 (+), 129.6, 118.4, 115.2 (+), 114.4 (+), 113.9 (+), 106.7 (2C, +), 61.1 (+), 56.5 (2C, +), 56.1 (+), 40.2 (-), 26.6 (-). Fórmula molecular: C₂₁H₂₄F₆NO₄P (P.M.: 499.39 g/mol).

1-(3,4-Metilendioxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato (37d)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3-metoxifeniletil)-3,4-metilendioxicinámamida **33i** (0.65 g, 2 mmol), POCl₃ (280 µL g, 3 mmol) y [bmim]PF₆ (1 mL). Después filtrar, lavar y secar el sólido obtenido se obtuvieron 0.83 g (1.84 mmol) de la correspondiente 1-(3,4-metilendioxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37d** como un sólido amarillo con rendimiento del 92 %; R_f = 0.31 (2:1 diclorometano/metanol); pf. 199-201 °C; IR (disco de KBr): 3101 ν_(CHAr-CHAr), 3023 ν_(OCH₃), 2915 ν_(NH⁺), 1589 ν_(C=N), 1450 ν_(C-N), 1249 ν_(C-O), 833 ν_(P-F) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, DMSO), δ_(ppm): 12.10 (1H, br. s, NH⁺), 8.19 (1H, d, J = 8.8 Hz, 8-H_{Ar}), 7.77 (1H, d, J = 15.9 Hz, =CHPh), 7.66 (1H, m, 5-H_{Ar}), 7.49 (1H, d, J = 15.9 Hz, =CHCO), 7.27 (1H, dd, J = 8.2, 1.6, 7-H_{Ar}), 7.13 – 7.03 (3H, m, 5', 6' y 9'-H_{Ar}), 6.14 (2H, s, -OCH₂O-), 3.92 (3H, s, OCH₃), 3.79 (2H, t, J = 7.6 Hz, -CH₂N), 3.09 (2H, t, J = 7.5 Hz, -CH₂Ph). ¹³C RMN (101 MHz, DMSO), δ_(ppm): 165.8, 150.7, 148.5 (+), 146.8, 141.8, 133.6 (+), 128.6 (+), 127.2, 118.3, 114.7 (+), 114.2 (+), 113.8 (+), 108.9 (+), 106.9 (+), 102.2 (-), 56.2 (+), 40.3 (-), 25.5 (-). Fórmula molecular: C₁₉H₁₈F₆NO₃P (P.M.: 453.32 g/mol).

1-(4-Hidroxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato (37e)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3-metoxifeniletil)-3,4-metilendioxicinámamida **33i** (0.67 g, 2 mmol), POCl₃ (280 µL g, 3 mmol) y [bmim]PF₆ (1 mL). Después filtrar, lavar y secar el sólido obtenido se obtuvieron 0.75 g (1.78 mmol) de la correspondiente 1-(4-hidroxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37e** como un sólido naranja con rendimiento del 89 %; $R_f = 0.34$ (1:1 diclorometano/metanol); pf. 155-157 °C; IR (disco de KBr): 3332 $\nu(\text{OH})$, 2993 $\nu(\text{OCH}_3)$, 2946 $\nu(\text{NH}^+)$, 1589 $\nu(\text{C}=\text{N})$, 1450 $\nu(\text{C}-\text{N})$, 1265 $\nu(\text{C}-\text{O})$, 817 $\nu(\text{P}-\text{F})$ cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, DMSO), $\delta_{(\text{ppm})}$: 12.54 (1H, br. s, NH^+), 8.18 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, 8- H_{Ar}), 8.01 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, =CHPh), 7.90 (1H, br. s, OH), 7.73 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, 6' y 8'- H_{Ar}), 7.41 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, =CH), 7.14-7.03 (2H, m, 5 y 7- H_{Ar}), 6.92 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, 5' y 9'- H_{Ar}), 3.91 (3H, s, OCH₃), 3.76 (2H, t, $J = 7.0$ Hz, -CH₂N), 3.07 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, -CH₂Ph). ¹³C RMN (101 MHz, DMSO), $\delta_{(\text{ppm})}$: 167.0, 165.8, 161.9, 148.3 (+), 142.1, 133.8, 132.1 (2C, +), 125.7 (+), 118.8, 116.7 (2C, +), 114.5 (+), 114.1 (+), 113.0 (+), 56.5 (+), 40.4 (-), 39.1 (-). Fórmula molecular: C₁₈H₁₈F₆NO₂P (P.M.: 425.31 g/mol).

1-(4-Hidroxi-3-metoxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato (37f)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3-metoxifeniletil)-4-acetoxi-3-metoxicinámamida **33k** (0.67 g, 2 mmol), POCl₃ (280 µL g, 3 mmol) y [bmim]PF₆ (1 mL). Después filtrar, lavar y secar el sólido obtenido se obtuvieron 0.85 g (1.88 mmol) de la correspondiente 1-(4-hidroxi-3-metoxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37f** como un sólido

naranja con rendimiento del 94 %; $R_f = 0.35$ (1:1 diclorometano/metanol); pf. 168-170 °C; IR (disco de KBr): 3378 $\nu(\text{OH})$, 2946 $\nu(\text{OCH}_3)$, 2885 $\nu(\text{NH}^+)$, 1619 $\nu(\text{C}=\text{N})$, 1573 $\nu(\text{C}-\text{N})$, 1265 $\nu(\text{C}-\text{O})$, 817 $\nu(\text{P}-\text{F})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, DMSO), $\delta(\text{ppm})$: 13.44 (1H, br. s, NH^+), 8.22 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, 7- H_{Ar}), 8.07 (1H, br. s, OH), 8.01 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, =CHPh), 7.50 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, 5'- H_{Ar}), 7.47 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, =CH), 7.26 (1H, dd, $J = 8.3, 1.9$ Hz, 9'- H_{Ar}), 7.12 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, 5- H_{Ar}), 7.09 (1H, dd, $J = 8.8, 2.6$ Hz, 8- H_{Ar}), 6.93 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, 8'- H_{Ar}), 3.92 (3H, s, OCH_3), 3.86 (3H, s, OCH_3), 3.79-3.76 (2H, m, $-\text{CH}_2\text{N}$), 3.08 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, $-\text{CH}_2\text{Ph}$). ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO), $\delta(\text{ppm})$: 166.6, 165.4, 151.3, 148.3 (+), 148.2, 141.8, 133.4, 125.9 (+), 125.5 (+), 118.5, 115.9 (+), 114.1 (+), 113.8 (+), 112.8 (+), 111.7 (+), 56.2 (+), 56.0 (+), 40.1 (-), 38.8 (-). Fórmula molecular: $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{F}_6\text{NO}_3\text{P}$ (P.M.: 455.33 g/mol).

1-Estiril-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato (37g)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)cinámamida **33I** (0.62 g, 2 mmol), POCl_3 (280 μL g, 3 mmol) y $[\text{bmim}]\text{PF}_6$ (1 mL). Después filtrar, lavar y secar el sólido obtenido se obtuvieron 0.86 g (1.96 mmol) de la correspondiente 1-estiril-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37g** como un sólido naranja con rendimiento del 98 %; $R_f = 0.30$ (2:1 diclorometano/metanol); pf. 213-215 °C; IR (disco de KBr): 2931 $\nu(\text{OCH}_3)$, 2838 $\nu(\text{NH}^+)$, 1604 $\nu(\text{C}=\text{N})$, 1465 $\nu(\text{C}-\text{N})$, 1280 $\nu(\text{C}-\text{O})$, 833 $\nu(\text{P}-\text{F})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta(\text{ppm})$: 11.00 (1H, br. s, NH^+), 7.97 (1H, d, $J = 16.3$ Hz, =CHPh), 7.77-7.73 (2H, m, 8 y 7'- H_{Ar}), 7.51-7.43 (4H, m, 5', 6', 8' y 9'- H_{Ar}), 7.30

(1H, d, $J = 16.3$ Hz, =CH), 6.89 (1H, s, 5- H_{Ar}), 4.05 (3H, s, OCH_3), 3.96 (3H, s, OCH_3), 3.95-3.91 (2H, m, $-CH_2N$), 3.07 (2H, t, $J = 7.7$ Hz, $-CH_2Ph$). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 168.4, 156.8, 150.4 (+), 148.9, 134.8, 133.6, 132.6 (+), 129.6 (+, 2C), 129.5 (+, 2C), 117.5, 115.7 (+), 112.3 (+), 111.4 (+), 56.8 (+), 56.6 (+), 41.1 (-), 26.1 (-). Fórmula molecular: $C_{19}H_{20}F_6NO_2P$ (P.M.: 439.33 g/mol).

1-(3,4-Dimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato (37h)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4-dimetoxicinámamida **33n** (0.74 g, 2 mmol), $POCl_3$ (280 μ L g, 3 mmol) y [bmim] PF_6 (1 mL). Después filtrar, lavar y secar el sólido obtenido se obtuvieron 0.74 g (1.58 mmol) de la correspondiente 1-(3,4-dimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37h** como un sólido naranja con rendimiento del 79 %; $R_f = 0.24$ (2:1 diclorometano/metanol); pf. 212-214 °C; IR (disco de KBr): 2931 $\nu(OCH_3)$, 2838 $\nu(NH^+)$, 1604 $\nu(C=N)$, 1511 $\nu(C-N)$, 1265 $\nu(C-O)$, 802 $\nu(P-F)$ cm^{-1} ; 1H RMN (400 MHz, DMSO), $\delta_{(ppm)}$: 12.06 (1H, br. s, NH^+), 7.85 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, =CHPh), 7.58 – 7.49 (3H, m, =CHCO, 5' y 8- H_{Ar}), 7.43 (1H, dd, $J = 8.4$, 1.5 Hz, 8'- H_{Ar}), 7.22 (2H, m, 5- H_{Ar}), 7.12 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 9'- H_{Ar}), 3.94 (3H, s, OCH_3), 3.89 (3H, s, OCH_3), 3.87 (3H, s, OCH_3), 3.86 (3H, s, OCH_3), 3.80 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, $-CH_2N$), 3.07 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, $-CH_2Ph$). ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO), $\delta_{(ppm)}$: 167.2, 155.7, 152.4, 149.2, 147.9, 147.5 (+), 134.5, 126.9 (+), 124.87, 117.6 (+), 114.6 (+), 113.2, 111.8 (+), 111.7 (+), 111.1 (+), 56.3 (+), 56.3 (+), 55.8 (+), 55.7 (+), 40.2 (-), 25.0 (-). Fórmula molecular: $C_{21}H_{24}F_6NO_4P$ (P.M.: 499.39 g/mol).

1-(3,4,5-Trimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato (37i)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4,5-trimetoxicinámamida **33o** (0.80 g, 2 mmol), POCl₃ (280 µL g, 3 mmol) y [bmim]PF₆ (1 mL). Después filtrar, lavar y secar el sólido obtenido se obtuvieron 0.91 g (1.76 mmol) de la correspondiente 1-(3,4,5-trimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37i** como un sólido naranja con rendimiento del 86 %; $R_f = 0.20$ (2:1 diclorometano/metanol); pf. 191-192 °C; IR (disco de KBr): 2946 $\nu(\text{OCH}_3)$, 2838 $\nu(\text{NH}^+)$, 1604 $\nu(\text{C}=\text{N})$, 1465 $\nu(\text{C}-\text{N})$, 1280 $\nu(\text{C}-\text{O})$, 833 $\nu(\text{P}-\text{F})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl₃), $\delta_{(\text{ppm})}$: 9.92 (1H, br. s, NH^+), 7.86 (1H, d, $J = 16.3$ Hz, $=\text{CHPh}$), 7.30 (1H, s, 8- H_{Ar}), 7.16 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, $=\text{CH}$), 7.00 (2H, s, 5' y 9'- H_{Ar}), 6.90 (1H, s, 5- H_{Ar}), 4.05 (3H, s, OCH_3), 3.96 (3H, s, OCH_3), 3.95 (3H, s, OCH_3), 3.93 (6H, s, OCH_3), 3.92-3.90 (2H, m, $-\text{CH}_2\text{N}$), 3.08 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, $-\text{CH}_2\text{Ph}$). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl₃), $\delta_{(\text{ppm})}$: 168.7, 161.8, 154.0 (+), 151.1 (2C), 149.3 (2C), 140.0, 135.0, 128.9, 115.0 (+), 114.5 (+), 113.5 (+), 107.7 (+, 2C), 56.8 (+, 2C), 56.7 (+, 2C), 56.7 (+), 41.2 (-), 26.3 (-). Fórmula molecular: C₂₂H₂₆F₆NO₅P (P.M.: 529.41 g/mol).

1-(3,4-Metilendioxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato (37j)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4-metilendioxicinámamida **33p** (0.71 g, 2 mmol), POCl₃ (280 µL g, 3 mmol) y [bmim]PF₆ (1 mL). Después filtrar, lavar y secar el sólido obtenido se obtuvieron 0.87 g (1.80 mmol) de la correspondiente 1-(3,4-metilendioxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37j** como un sólido amarillo con

rendimiento del 90 %; $R_f = 0.29$ (2:1 diclorometano/metanol); pf. 207-209 °C; IR (disco de KBr): 2931 $\nu(\text{OCH}_3)$, 2823 $\nu(\text{NH}^+)$, 1635 $\nu(\text{C}=\text{N})$, 1493 $\nu(\text{C}-\text{N})$, 1280 $\nu(\text{C}-\text{O})$, 817 $\nu(\text{P}-\text{F})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, DMSO), $\delta_{(\text{ppm})}$: 12.64 (1H, br. s, NH^+), 8.04 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, $=\text{CHPh}$), 7.68 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, $5'-\text{H}_{\text{Ar}}$), 7.57 (1H, s, $8-\text{H}_{\text{Ar}}$), 7.52 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, $=\text{CH}$), 7.29 (1H, dd, $J = 8.1, 1.6$ Hz $9'-\text{H}_{\text{Ar}}$), 7.17 (1H, s, $5-\text{H}_{\text{Ar}}$), 7.05 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, $8-\text{H}_{\text{Ar}}$), 6.13 (2H, s, $-\text{OCH}_2\text{O}-$), 3.91 (3H, s, OCH_3), 3.88 (3H, s, OCH_3), 3.76 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, $-\text{CH}_2\text{N}$), 3.03 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, $-\text{CH}_2\text{Ph}$). ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO), $\delta_{(\text{ppm})}$: 166.9, 155.8, 150.8, 148.5 (+), 148.1, 147.3, 134.5, 128.9 (+), 127.4 (+), 117.9, 114.7 (+), 113.1, 111.8 (+), 109.0 (+), 107.2 (+), 102.2 (-), 56.5 (+), 56.5 (+), 40.3 (-), 38.4 (-). Fórmula molecular: $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{F}_6\text{NO}_4\text{P}$ (P.M.: 483.34 g/mol).

1-(4-Hidroxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato (37k)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-4-acetoxicinámamida **33q** (0.73 g, 2 mmol), POCl_3 (280 μL g, 3 mmol) y $[\text{bmim}]\text{PF}_6$ (1 mL). Después filtrar, lavar y secar el sólido obtenido se obtuvieron 0.80 g (1.76 mmol) de la correspondiente 1-(4-hidroxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37k** como un sólido naranja con rendimiento del 88 %; $R_f = 0.20$ (1:1 diclorometano/metanol); pf. 218-220 °C; IR (disco de KBr): 3378 $\nu(\text{OH})$, 2946 $\nu(\text{OCH}_3)$, 2854 $\nu(\text{NH}^+)$, 1604 $\nu(\text{C}=\text{N})$, 1465 $\nu(\text{C}-\text{N})$, 1280 $\nu(\text{C}-\text{O})$, 848 $\nu(\text{P}-\text{F})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 11.58 (1H, br. s, NH^+), 8.31 (1H, br. s, OH), 7.90 (1H, d, $J = 15.2$ Hz, $=\text{CHPh}$), 7.74 (2H, d, $J = 7.2$ Hz, $6'$ y

8'- H_{Ar}), 7.27 (2H, s, 5 y 8- H_{Ar}), 7.14 (2H, d, $J = 7.4$ Hz, 5' y 9'- H_{Ar}), 6.86 (2H, d, $J = 15.2$ Hz, $=CHCO$), 4.01 (3H, s, OCH_3), 3.95 (3H, s, OCH_3), 3.84-3.80 (2H, m, - CH_2N), 3.02-2.98 (2H, m, - CH_2Ph). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 169.0, 168.1, 157.0, 153.8, 149.1 (+), 134.8, 131.5, 130.8 (+, 2C), 122.7 (+, 2C), 117.7, 116.3 (+), 112.7 (+), 111.6 (+), 56.8 (+), 56.8 (+), 41.1 (-), 26.0 (-). Fórmula molecular: $C_{19}H_{20}F_6NO_3P$ (P.M.: 455.33 g/mol).

1-(4-Hidroxi-3-metoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato

(37I)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-4-acetoxi-3-metoxicinamamida **33r** (0.79 g, 2 mmol), $POCl_3$ (280 μ L g, 3 mmol) y [bmim] PF_6 (1 mL). Después filtrar, lavar y secar el sólido obtenido se obtuvieron 0.88 g (1.82 mmol) de la correspondiente 1-(4-hidroxi-3-metoxiestiril)-6,7-dimetoxi-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37I** como un sólido naranja con rendimiento del 91 %; $R_f = 0.12$ (1:1 diclorometano/metanol); pf. 223-225 °C; IR (disco de KBr): 3440 $\nu(OH)$, 2915 $\nu(OCH_3)$, 2875 $\nu(NH^+)$, 1604 $\nu(C=N)$, 1496 $\nu(C-N)$, 1280 $\nu(C-O)$, 817 $\nu(P-F)$ cm^{-1} ; 1H RMN (400 MHz, DMSO), $\delta_{(ppm)}$: 12.40 (1H, br. s, NH^+), 8.66 (1H, br.s, -OH), 7.88 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, $=CHPh$), 7.42 (1H, s, 8- H_{Ar}), 7.34 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, $=CH$), 7.33 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, 5'- H_{Ar}), 7.15 (1H, dd, $J = 8.3, 1.9$ Hz, 9'- H_{Ar}), 7.01 (1H, s, 5- H_{Ar}), 6.77 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, 8'- H_{Ar}), 3.74 (3H, s, OCH_3), 3.71 (3H, s, OCH_3), 3.68 (3H, s, OCH_3), 3.57 (2H, t, $J = 6.4$ Hz, - CH_2N), 2.86 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, - CH_2Ph). ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO), $\delta_{(ppm)}$: 166.8, 155.6, 151.4, 148.5, 148.3 (+), 148.0, 134.4 (+), 126.0 (+), 125.4, 118.0, 116.0 (+),

113.3 (+), 113.3 (+), 112.5 (+), 111.8 (+), 56.5 (+), 56.5 (+), 56.2 (+), 38.4 (-), 34.3 (-). Fórmula molecular: C₂₀H₂₂F₆NO₄P (P.M.: 485.36 g/mol).

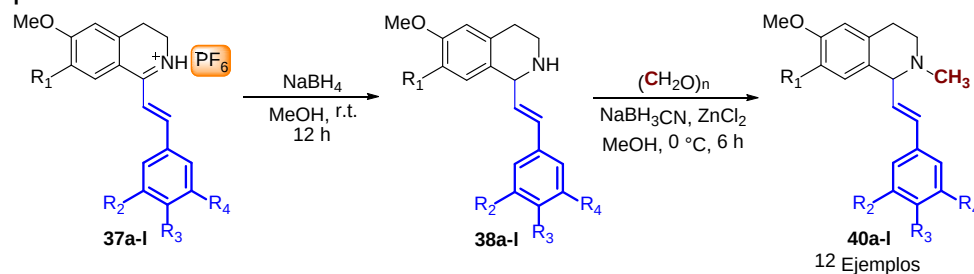
*1.7.3 Preparación de una nueva serie de 1-estiril-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas **40a-I** en dos etapas a través de la secuencia de reacciones: reducción/metilación reductiva*

Metodología general

En un reactor de 20 mL equipado con una barra de agitación se adicionó la respectiva 1-estiril-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37a-I** (1.5 mmol) y metanol (10 mL) a temperatura ambiente. A continuación, se adicionó borohidruro de sodio (NaBH₄) (3 mmol, 2 equiv) en pequeñas porciones, observando la decoloración de la solución, y el sistema se aisló en agitación por un periodo de 12 horas, monitoreando la reacción a través de cromatografía en capa fina (CCF). Al finalizar la reacción, ésta fue extraída con diclorometano (3 x 10 mL) y la fase orgánica se separó y secó sobre sulfato de sodio anhidro. Tras la eliminación del solvente a presión reducida, se obtuvo la respectiva 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38a-I**, la cual se empleó en la segunda etapa sin purificación previa. En un reactor de 20 mL equipado con una barra de agitación se adicionó cianoborohidruro de sodio (NaBH₃CN) (1.65 mmol, 1.1 equiv), cloruro de zinc (ZnCl₂) (0.75 mmol, 0.5 equiv) y metanol (2 mL) a 0 °C. Sobre esta solución se adicionó gota a gota la respectiva 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38a-I** y paraformaldehído (4.5 mmol, 3 equiv) disueltos en metanol (8 mL) por un periodo de 15 minutos. Tras 6 horas de agitación, un monitoreo por cromatografía en capa fina (CCF) indicó el final de la

reacción, la cual se neutralizó con una solución acuosa de bicarbonato de sodio (1 M) y la extracción del producto de interés se realizó con diclorometano (3 x 10 mL). La fase orgánica se separó y secó sobre sulfato de sodio anhidro y el solvente se eliminó a presión reducida. La purificación de las correspondientes 1-estiril-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas **40a-l** se realizó mediante cromatografía en columna (CC) sobre gel de sílice empleando diclorometano/metanol (90/10) (Esquema 14).

Esquema 14. Síntesis de 1-estiril-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas **40a-l** en dos etapas a través de la secuencia de reacciones: reducción/metilación reductiva.



Comp.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
40a	H	H	H	H
40b	H	H	OMe	OMe
40c	H	OMe	OMe	OMe
40d	H	H	-OCH ₂ O-	
40e	H	H	OH	OMe
40f	H	H	OH	OMe

Comp.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
40g	OMe	H	H	H
40h	OMe	H	OMe	OMe
40i	OMe	OMe	OMe	OMe
40j	OMe	H	-OCH ₂ O-	
40k	OMe	H	OH	OMe
40l	OMe	H	OH	OMe

(±)-1-Estiril-6-metoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (40a)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 1-estiril-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37a** (0.61, 1.5 mmol), NaBH₄ (0.11 g, 3 mmol) y metanol (10 mL). Tras la extracción líquido-líquido se obtuvo 0.39 g de la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38a**; ¹H RMN (400 MHz,

CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 7.32 (2H, d, $J = 7.1$ Hz, 5' y 9'-H_{Ar}), 7.23 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, 7'-H_{Ar}), 7.17 (2H, d, $J = 7.4$ Hz, 6' y 8'-H_{Ar}), 6.95 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, 8-H_{Ar}), 6.63 (1H, dd, $J = 8.5, 2.7$ Hz, 7-H_{Ar}), 6.58 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, 5-H_{Ar}), 6.50 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, =CHPh), 6.25 (1H, dd, $J = 15.8, 8.0$ Hz, =CH), 4.55 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, -CH), 3.70 (3H, s, OCH₃), 3.22 (1H, dt, $J = 11.7, 5.2$ Hz, CH_a-NH), 3.04-2.96 (1H, m, CH_a-Ph), 2.91-2.82 (1H, m, CH_b-NH), 2.76-2.66 (2H, m, CH_b-Ph y NH). Continuando con la metodología general, la segunda etapa se realizó a partir de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38a** (0.39 g), NaBH₃CN (103.6 mg, 1.65 mmol), ZnCl₂ (102.2 mg, 0.75 mmol), paraformaldehído (135.1 mg, 4.5 mmol) y metanol (10 mL). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.37 g (1.33 mmol) de la correspondiente 1-estiril-6-metoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40a** como un sólido blanco con rendimiento del 89 %; $R_f = 0.51$ (10:1 diclorometano/metanol); pf. 101-103 °C; IR (disco de KBr): 2931 $\nu_{\text{(CH}_2\text{-Ar)}}$, 2838 $\nu_{\text{(OCH}_3\text{)}}$, 1604 $\nu_{\text{(C=C)}}$, 1496 $\nu_{\text{(N-C)}}$, 1234 $\nu_{\text{(CH}_3\text{)}}$, 1033 $\nu_{\text{(C-O)}}$ cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 7.35 (2H, d, $J = 7.4$ Hz, 5' y 9'-H_{Ar}), 7.25 (1H, t, $J = 7.4$ Hz, 7'-H_{Ar}), 7.11 (2H, d, $J = 7.4$ Hz, 6' y 8'-H_{Ar}), 6.97 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 8-H_{Ar}), 6.63-6.57 (2H, m, 5 y 7-H_{Ar}), 6.54 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, =CHPh), 6.06 (1H, dd, $J = 15.8, 8.9$ Hz, =CH), 3.82 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, -CH), 3.69 (3H, s, OCH₃), 3.07-2.97 (2H, m, -CH₂Ph), 2.74 (1H, dd, $J = 17.7, 5.9$ Hz, CH_a-N), 2.57-2.49 (1H, m, CH_b-N), 2.39 (3H, s, NCH₃). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 158.2, 136.6, 135.2, 133.9 (+), 130.5 (+), 129.2 (+), 128.7 (2C, +), 128.2, 127.8 (+), 126.6 (2C, +), 113.2 (+), 112.4

(+), 68.5 (+), 55.3 (+), 51.2 (-), 48.3 (+), 29.2 (-). Fórmula molecular: C₁₉H₂₁NO (P.M.: 279.38 g/mol).

(±)-1-(3,4-Dimetoxiestiril)-6-metoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (40b)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 1-(3,4-dimetoxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37b** (0.70, 1.5 mmol), NaBH₄ (0.11 g, 3 mmol) y metanol (10 mL). Tras la extracción líquido-líquido se obtuvo 0.48 g de la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38b**; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ_(ppm): 7.05 (1H, d, J = 8.6 Hz, 8'-H_{Ar}), 6.97 (1H, d, J = 1.9 Hz, 5-H_{Ar}), 6.92 (1H, dd, J = 8.2, 1.9 Hz, 7-H_{Ar}), 6.81 (1H, d, J = 8.3 Hz, 8-H_{Ar}), 6.71 (1H, dd, J = 8.5, 2.7 Hz, 9'-H_{Ar}), 6.66 (1H, d, J = 2.6 Hz, 5'-H_{Ar}), 6.52 (1H, d, J = 15.7 Hz, =CHPh), 6.19 (1H, dd, J = 15.7, 8.0 Hz, =CH), 4.61 (1H, d, J = 8.2 Hz, -CH), 3.87 (3H, s, OCH₃), 3.86 (3H, s, OCH₃), 3.78 (3H, s, OCH₃), 3.30 (1H, dt, J = 11.8, 5.2 Hz, CH_a-NH), 3.11-3.04 (1H, m, CH_a-Ph), 2.99-2.90 (1H, m, CH_b-NH), 2.84-2.74 (1H, m, CH_b-Ph), 2.27 (1H, br.s., NH). Continuando con la metodología general, la segunda etapa se realizó a partir de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38b** (0.48 g), NaBH₃CN (103.6 mg, 1.65 mmol), ZnCl₂ (102.2 mg, 0.75 mmol), paraformaldehído (135.1 mg, 4.5 mmol) y metanol (10 mL). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.46 g (1.36 mmol) de la correspondiente 1-(3,4-dimetoxiestiril)-6-metoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40b** como un sólido blanco con rendimiento del 91 %; R_f = 0.47 (10:1 diclorometano/metanol); pf. 100-102 °C; IR (disco de KBr): 2936 ν_(CH₂-Ar), 2900 ν_(OCH₃), 1604 ν_(C=C), 1465 ν_(N-C), 1234 ν_(CH₃), 1033 ν_(C-O) cm⁻¹; ¹H RMN (400

MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 7.06 (1H, d, J = 8.6 Hz, 8'-H_{Ar}), 7.00 (1H, d, J = 2.0 Hz, 5-H_{Ar}), 6.95 (1H, dd, J = 8.2, 2.0 Hz, 7-H_{Ar}), 6.83 (1H, d, J = 8.3 Hz, 8-H_{Ar}), 6.70 (1H, dd, J = 8.7, 2.8 Hz, 9'-H_{Ar}), 6.66 (1H, d, J = 2.5 Hz, 5'-H_{Ar}), 6.56 (1H, d, J = 15.7 Hz, =CHPh), 6.01 (1H, dd, J = 15.7, 8.9 Hz, =CH), 3.88 (3H, s, OCH₃), 3.87 (3H, s, OCH₃), 3.85 (1H, d, J = 8.9 Hz, -CH), 3.77 (3H, s, OCH₃), 3.15-3.05 (2H, m, -CH₂Ph), 2.85-2.77 (1H, m, CH_a-N), 2.62 (1H, ddd, J = 12.7, 10.5, 4.2 Hz, CH_b-N), 2.48 (3H, s, NCH₃). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 158.2, 149.1, 148.9, 135.1, 133.6, 129.7 (+), 129.2 (+), 128.4 (+), 128.2, 119.8, 113.1 (+), 112.3 (+), 111.1 (+), 108.7 (+), 68.5 (+), 55.9 (+), 55.8 (+), 55.2 (+), 51.1 (-), 48.3 (+), 29.1 (-). Fórmula molecular: C₂₁H₂₅NO₃ (P.M.: 339.44 g/mol).

(±)-1-(3,4,5-Trimetoxiestiril)-6-metoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (40c)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 1-(3,4,5-trimetoxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37c** (0.74, 1.5 mmol), NaBH₄ (0.11 g, 3 mmol) y metanol (10 mL). Tras la extracción líquido-líquido se obtuvo 0.53 g de la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38c**; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 7.05 (1H, d, J = 8.5 Hz, 8-H_{Ar}), 6.71 (1H, dd, J = 8.5, 2.7 Hz, 7-H_{Ar}), 6.67 (1H, d, J = 2.4 Hz, 5-H_{Ar}), 6.63 (2H, s, 5' y 9'-H_{Ar}), 6.49 (1H, d, J = 15.7 Hz, =CHPh), 6.23 (1H, dd, J = 15.6, 8.0 Hz, =CH), 4.60 (1H, d, J = 8.1 Hz, -CH), 3.85 (6H, s, OCH₃), 3.84 (3H, s, OCH₃), 3.79 (3H, s, OCH₃), 3.32-3.26 (1H, m, CH_a-NH), 3.11-3.03 (1H, m, CH_a-Ph), 2.97-2.89 (1H, m, CH_b-NH), 2.77-2.64 (1H, m, CH_b-Ph), 1.83 (1H, br.s., NH). Continuando con la metodología general, la segunda etapa se realizó a partir de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina

38c (0.53 g), NaBH₃CN (103.6 mg, 1.65 mmol), ZnCl₂ (102.2 mg, 0.75 mmol), paraformaldehído (135.1 mg, 4.5 mmol) y metanol (10 mL). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.49 g (1.35 mmol) de la correspondiente 1-(3,4,5-trimetoxiestiril)-6-metoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40c** como un sólido blanco con rendimiento del 90 %; *R_f* = 0.44 (10:1 diclorometano/metanol); pf. 97-98 °C; IR (disco de KBr): 2931 $\nu_{(\text{CH}_2\text{-Ar})}$, 2838 $\nu_{(\text{OCH}_3)}$, 1650 $\nu_{(\text{C}=\text{C})}$, 1465 $\nu_{(\text{N-C})}$, 1234 $\nu_{(\text{CH}_3)}$, 1126 $\nu_{(\text{C-O})}$ cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), $\delta_{(\text{ppm})}$: 7.04 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, 8-*H_{Ar}*), 6.70 (1H, dd, *J* = 8.9, 2.4 Hz, 7-*H_{Ar}*), 6.66 (3H, m, 5, 5' y 9'-*H_{Ar}*), 6.54 (1H, d, *J* = 15.7 Hz, =*CHPh*), 6.07 (1H, dd, *J* = 15.6, 8.9 Hz, =*CH*), 3.94 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, -*CH*), 3.85 (6H, s, *OCH*₃), 3.83 (3H, s, *OCH*₃), 3.77 (3H, s, *OCH*₃), 3.18-3.06 (2H, m, -*CH*₂Ph), 2.86-2.78 (1H, m, *CH_a*-N), 2.71-2.62 (1H, m, *CH_b*-N), 2.51 (3H, s, *NCH*₃). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), $\delta_{(\text{ppm})}$: 158.3, 153.4 (2C), 138.0, 135.1, 134.0 (+), 132.2, 129.8 (+), 129.2 (+), 127.6, 113.2 (+), 112.5 (+), 103.6 (2C, +), 68.4 (+), 61.0 (+), 56.1 (2C, +), 55.3 (+), 51.1 (-), 43.8 (+), 29.0 (-). Fórmula molecular: C₂₂H₂₇NO₄ (P.M.: 369.46 g/mol).

(±)-1-(3,4-Metilendioxiestiril)-6-metoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (40d)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 1-(3,4-metilendioxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37d** (0.67, 1.5 mmol), NaBH₄ (0.11 g, 3 mmol) y metanol (10 mL). Tras la extracción líquido-líquido se obtuvo 0.46 g de la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38d**; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), $\delta_{(\text{ppm})}$: 7.03 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, 8-*H_{Ar}*), 6.94 (1H, d, *J* = 1.4 Hz, 5'-*H_{Ar}*), 6.83 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.5 Hz, 9'-*H_{Ar}*), 6.75 (1H, d, *J* = 8.0, 8'-*H_{Ar}*),

6.73-6.68 (1H, m, 7- H_{Ar}), 6.66 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, 5- H_{Ar}), 6.49 (1H, d, $J = 15.7$ Hz, =CHPh), 6.13 (1H, dd, $J = 15.7, 8.1$ Hz, =CH), 5.94 (2H, s, -OCH₂O-), 4.56 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, -CH), 3.78 (3H, s, OCH₃), 3.31-3.23 (1H, m, CH_a-NH), 3.09-3.00 (1H, m, CH_a-Ph), 2.97-2.87 (1H, m, CH_b-NH), 2.81-2.71 (1H, m, CH_b-Ph), 2.03 (1H, br.s., NH). Continuando con la metodología general, la segunda etapa se realizó a partir de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38d** (0.46 g), NaBH₃CN (103.6 mg, 1.65 mmol), ZnCl₂ (102.2 mg, 0.75 mmol), paraformaldehído (135.1 mg, 4.5 mmol) y metanol (10 mL). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.45 g (1.39 mmol) de la correspondiente 1-(3,4-metilendioxiestiril)-6-metoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidro isoquinolina **40d** como un sólido blanco con rendimiento del 93 %; $R_f = 0.55$ (10:1 diclorometano/metanol); pf. 111-113 °C; IR (disco de KBr): 2946 $\nu_{(CH_2-Ar)}$, 2900 $\nu_{(OCH_3)}$, 1604 $\nu_{(C=C)}$, 1450 $\nu_{(N-C)}$, 1249 $\nu_{(CH_3)}$, 1033 $\nu_{(C-O)}$ cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), $\delta_{(ppm)}$: 7.03 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 8- H_{Ar}), 6.95 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, 5'- H_{Ar}), 6.85 (1H, dd, $J = 8.1, 1.5$ Hz, 9'- H_{Ar}), 6.76 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, 8'- H_{Ar}), 6.70-6.64 (2H, m, 5 y 7- H_{Ar}), 6.52 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, =CHPh), 5.98-5.89 (1H, m, =CH), 5.93 (2H, s, -OCH₂O-), 3.80 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, -CH), 3.77 (3H, s, OCH₃), 3.13-3.03 (2H, m, -CH₂Ph), 2.80-2.74 (1H, m, CH_a-N), 2.61-2.52 (1H, m, CH_b-N), 2.45 (3H, s, NCH₃). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), $\delta_{(ppm)}$: 158.1, 148.1, 147.3, 135.6, 132.9 (+), 131.4, 129.7 (+), 129.1 (+), 128.8, 121.1 (+), 113.2 (+), 112.2 (+), 108.3 (+), 105.9 (+), 101.1 (-), 68.6 (+), 55.3 (+), 51.4 (-), 44.2 (+), 29.6 (-). Fórmula molecular: C₂₀H₂₁NO₃ (P.M.: 323.39 g/mol).

(±)-1-(4-Hidroxiestiril)-6-metoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (40e)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 1-(4-hidroxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37e** (0.63, 1.5 mmol), NaBH₄ (0.11 g, 3 mmol) y metanol (10 mL). Tras la extracción líquido-líquido se obtuvo 0.44 g de la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38e**; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ_(ppm): 9.49 (1H, br. S., -OH), 7.23 (2H, d, J = 8.6 Hz, 6' y 8'-H_{Ar}), 6.96 (1H, d, J = 8.4 Hz, 8-H_{Ar}), 6.71 (2H, d, J = 8.5 Hz, 5' y 9'-H_{Ar}), 6.69 (1H, s, 5-H_{Ar}), 6.66 (1H, dd, J = 9.7, 2.5 Hz, 7-H_{Ar}), 6.43 (1H, d, J = 15.7 Hz, =CHPh), 6.07 (1H, dd, J = 15.8, 7.8 Hz, =CH), 4.42 (1H, d, J = 7.7 Hz, -CH), 3.70 (3H, s, OCH₃), 3.34 (1H, br.s., NH), 3.12-3.05 (1H, m, CH_a-NH), 2.88-2.81 (1H, m, CH_b-NH), 2.78-2.70 (1H, m, CH_a-Ph), 2.78-2.70 (1H, m, CH_b-Ph). Continuando con la metodología general, la segunda etapa se realizó a partir de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38e** (0.44 g), NaBH₃CN (103.6 mg, 1.65 mmol), ZnCl₂ (102.2 mg, 0.75 mmol), paraformaldehído (135.1 mg, 4.5 mmol) y metanol (10 mL). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.49 g (1.35 mmol) de la correspondiente 1-(4-hidroxiestiril)-6-metoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40e** como un sólido blanco con rendimiento del 90 %; R_f = 0.41 (10:1 diclorometano/metanol); pf. 188-189 °C; IR (disco de KBr): 3455 ν(OH), 2946 ν(CH₂-Ar), 2792 ν(OCH₃), 1604 ν(C=C), 1450 ν(N-C), 1265 ν(CH₃), 1141 ν(C-O) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ_(ppm): 6.81 (2H, d, J = 8.5 Hz, 6' y 8'-H_{Ar}), 6.68 (1H, d, J = 8.5 Hz, 8-H_{Ar}), 6.37 (2H, d, J = 8.6 Hz, 5' y 9'-H_{Ar}), 6.35-6.29 (3H, m, OH, 5 y 7-H_{Ar}), 6.15 (1H, d, J = 15.8 Hz, =CHPh), 5.54 (1H, dd, J = 15.8, 8.9 Hz, =CH), 3.52

(1H, d, $J = 8.9$ Hz, -CH), 3.41 (3H, s, OCH₃), 2.84-2.75 (2H, m, -CH₂Ph), 2.49-2.39 (1H, m, CH_a-N), 2.31-2.23 (1H, m, CH_b-N), 2.14 (3H, s, NCH₃). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 158.2, 156.2, 135.2, 133.7, 129.3 (+), 128.9 (+), 128.0 (2C, +), 121.2, 116.0 (2C, +), 115.5 (+), 113.2 (+), 112.5 (+), 68.7 (+), 55.3 (+), 51.4 (-), 43.9 (+), 29.0 (-). Fórmula molecular: C₁₉H₂₁NO₂ (P.M.: 295.38 g/mol).

(±)-1-(4-Hidroxi-3-metoxiestiril)-6-metoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina
(40f)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 1-(4-hidroxi-3-metoxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37f** (0.68, 1.5 mmol), NaBH₄ (0.11 g, 3 mmol) y metanol (10 mL). Tras la extracción líquido-líquido se obtuvo 0.53 g de la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38f**; ¹H RMN (400 MHz, DMSO), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 7.05 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, 8'-HAr), 6.91 (1H, s, 5'-HAr), 6.87-6.79 (2H, m, 7 y 8'-HAr), 6.71 (1H, dd, $J = 7.9, 2.6$ Hz, 9'-HAr), 6.67 (1H, s, 5-HAr), 6.49 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, =CHPh), 6.13 (1H, dd, $J = 15.7, 8.3$ Hz, =CH), 5.63 (1H, br.s., -OH), 4.58 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, -CH), 3.83 (3H, s, OCH₃), 3.79 (3H, s, OCH₃), 3.32-3.27 (2H, m, CH_a-NH y NH), 3.11-3.03 (1H, m, CH_a-Ph), 2.99-2.91 (1H, m, CH_b-NH), 2.78 (1H, dd, $J = 12.0, 8.0$ Hz, CH_b-Ph). Continuando con la metodología general, la segunda etapa se realizó a partir de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38f** (0.53 g), NaBH₃CN (103.6 mg, 1.65 mmol), ZnCl₂ (102.2 mg, 0.75 mmol), paraformaldehído (135.1 mg, 4.5 mmol) y metanol (10 mL). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.40 g (1.23 mmol) de la correspondiente 1-(4-hidroxi-3-metoxiestiril)-6-metoxi-N-metil-1,2,3,4-

tetrahidro isoquinolina **40f** como un sólido blanco con rendimiento del 82 %; $R_f = 0.36$ (10:1 diclorometano/metanol); pf. 160-162 °C; IR (disco de KBr): 3425 $\nu(\text{OH})$, 2946 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$, 2864 $\nu(\text{OCH}_3)$, 1604 $\nu(\text{C}=\text{C})$, 1465 $\nu(\text{N-C})$, 1265 $\nu(\text{CH}_3)$, 1033 $\nu(\text{C-O})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 7.26 (1H, br. s., OH), 7.06 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 8'- H_{Ar}), 6.96 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, 5- H_{Ar}), 6.88 (1H, dd, $J = 8.1, 1.8$ Hz, 7- H_{Ar}), 6.84 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, 8- H_{Ar}), 6.69 (1H, dd, $J = 8.5, 2.7$ Hz, 9'- H_{Ar}), 6.66 (1H, d, $J = 2.6$ Hz, 7'- H_{Ar}), 6.53 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, =CHPh), 5.98 (1H, dd, $J = 15.8, 8.9$ Hz, =CH), 3.85 (1H, d, $J = 9.1$ Hz, -CH), 3.83 (3H, s, OCH_3), 3.77 (3H, s, OCH_3), 3.16-3.04 (2H, m, - CH_2Ph), 2.82-2.74 (1H, m, $\text{CH}_a\text{-N}$), 2.65-2.56 (1H, m, $\text{CH}_b\text{-N}$), 2.48 (3H, s, NCH_3). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 158.1, 146.9, 145.8, 135.4, 133.4, 129.3 (+), 129.2 (+), 128.7 (+), 128.6, 120.6 (+), 114.6 (+), 113.1 (+), 112.2 (+), 108.1 (+), 68.6 (+), 55.8 (+), 55.3 (+), 51.4 (-), 44.1 (+), 29.4 (-). Fórmula molecular: $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{NO}_3$ (P.M.: 325.40 g/mol).

(±)-1-Estiril-6,7-dimetoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (40g)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 1-estiril-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37g** (0.65, 1.5 mmol), NaBH_4 (0.11 g, 3 mmol) y metanol (10 mL). Tras la extracción líquido-líquido se obtuvo 0.44 g de la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38g**; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 7.41 (2H, d, $J = 7.3$ Hz, 5' and 9'- H_{Ar}), 7.31 (2H, t, $J = 7.3$ Hz, 6' and 8'- H_{Ar}), 7.26-7.22 (1H, m, 7'- H_{Ar}), 6.63-6.56 (3H, m, =CHPh, 5 y 8- H_{Ar}), 6.34 (1H, dd, $J = 15.7, 8.0$ Hz, =CH), 4.59 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, CH), 3.86 (3H, s, OCH_3), 3.77 (3H, s, OCH_3), 3.32- 3.03 (1H, m, $\text{CH}_a\text{-NH}$), 3.06 (1H, ddd, $J = 12.2, 7.5, 4.7$

Hz CH_a -Ph), 2.90-2.80 (1H, m, CH_b -NH), 2.75-2.68 (1H, m, CH_b -Ph), 2.09 (1H, br. s., NH). Continuando con la metodología general, la segunda etapa se realizó a partir de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **5g** (0.44 g), $NaBH_3CN$ (103.6 mg, 1.65 mmol), $ZnCl_2$ (102.2 mg, 0.75 mmol), paraformaldehído (135.1 mg, 4.5 mmol) y metanol (10 mL). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.40 g (1.32 mmol) de la correspondiente 1-estiril-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38g** como un sólido blanco con rendimiento del 88 %; R_f = 0.42 (10:1 diclorometano/metanol); pf. 128-130 °C; IR (disco de KBr): 2931 $\nu_{(CH_2-Ar)}$, 2838 $\nu_{(OCH_3)}$, 1604 $\nu_{(C=C)}$, 1450 $\nu_{(N-C)}$, 1249 $\nu_{(CH_3)}$, 1018 $\nu_{(C-O)}$ cm^{-1} ; 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 7.35 (2H, d, J = 7.4 Hz, 5' y 9'- H_{Ar}), 7.25 (2H, t, J = 7.5 Hz, 6 y 8'- H_{Ar}), 7.19-7.16 (1H, m, 7'- H_{Ar}), 6.55 (1H, d, J = 15.6 Hz, = $CHPh$), 6.54 (2H, s, 5 y 8'- H_{Ar}), 6.07 (1H, dd, J = 15.8, 8.9 Hz, = CH), 3.77 (3H, s, OCH_3), 3.75 (1H, d, J = 8.9 Hz, - CH), 3.66 (3H, s, OCH_3), 3.04-2.90 (2H, m, - CH_2Ph), 2.67-2.61 (1H, m, CH_a -N), 2.54-2.46 (1H, m, CH_b -N), 2.39 (3H, s, NCH_3). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 147.8, 147.2, 136.8, 133.4 (+), 131.5 (+), 128.7 (2C, +), 128.2, 127.7 (+), 126.6 (2C, +), 126.5, 111.3 (+), 110.9 (+), 68.6 (+), 56.0 (+), 55.9 (+), 51.4 (-), 44.2 (+), 28.9 (-). Fórmula molecular: $C_{20}H_{23}NO_2$ (P.M.: 309.41 g/mol).

(±)-1-(3,4-Dimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (40h)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 1-(3,4-dimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37h** (0.74, 1.5 mmol), $NaBH_4$ (0.11 g, 3 mmol) y metanol (10 mL). Tras la extracción líquido-líquido se obtuvo 0.53 g de la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38h**;

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 6.97 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, 5'- H_{Ar}), 6.93 (1H, dd, $J = 8.2, 1.7$ Hz, 9'- H_{Ar}), 6.80 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, 8'- H_{Ar}), 6.60 (1H, s, 8- H_{Ar}), 6.57 (1H, s, 5- H_{Ar}), 6.52 (1H, d, $J = 15.7$ Hz, =CHPh), 6.24 (1H, dd, $J = 15.7, 7.9$ Hz, =CH), 4.64 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, -CH), 3.86 (3H, s, OCH_3), 3.86 (3H, s, OCH_3), 3.85 (3H, s, OCH_3), 3.77 (3H, s, OCH_3), 3.34-3.25 (1H, m, $\text{CH}_a\text{-NH}$), 3.17 (1H, br.s., NH), 3.08 (1H, ddd, $J = 12.4, 7.8, 4.9$ Hz, $\text{CH}_a\text{-Ph}$), 2.93-2.83 (1H, m, $\text{CH}_b\text{-NH}$), 2.75 (1H, dt, $J = 16.2, 5.1$ Hz, $\text{CH}_b\text{-Ph}$). Continuando con la metodología general, la segunda etapa se realizó a partir de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38h** (0.53 g), NaBH_3CN (103.6 mg, 1.65 mmol), ZnCl_2 (102.2 mg, 0.75 mmol), paraformaldehído (135.1 mg, 4.5 mmol) y metanol (10 mL). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.50 g (1.38 mmol) de la correspondiente 1-(3,4-dimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40h** como un sólido blanco con rendimiento del 92 %; $R_f = 0.40$ (10:1 diclorometano/metanol); pf. 95-97 °C; IR (disco de KBr): 2915 $\nu_{(\text{CH}_2\text{-Ar})}$, 2838 $\nu_{(\text{OCH}_3)}$, 1604 $\nu_{(\text{C}=\text{C})}$, 1465 $\nu_{(\text{N-C})}$, 1265 $\nu_{(\text{CH}_3)}$, 1018 $\nu_{(\text{C-O})}$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 6.99 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, 5'- H_{Ar}), 6.95 (1H, dd, $J = 8.3, 1.9$ Hz, 9'- H_{Ar}), 6.82 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, 8'- H_{Ar}), 6.61 (2H, s, 5 y 8- H_{Ar}), 6.56 (1H, dd, $J = 15.8$ Hz, =CHPh), 6.01 (1H, dd, $J = 15.7, 8.9$ Hz, =CH), 3.87 (3H, s, OCH_3), 3.86 (3H, s, OCH_3), 3.85 (3H, s, OCH_3), 3.83 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, -CH), 3.74 (3H, s, OCH_3), 3.13-2.96 (2H, m, - CH_2NH), 2.74 (1H, dt, $J = 7.5, 3.6$ Hz $\text{CH}_a\text{-Ph}$), 2.62-2.54 (1H, m, $\text{CH}_b\text{-Ph}$), 2.47 (3H, s, NCH_3). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 149.1, 148.9, 147.7, 147.1, 133.4, 129.7, 128.8 (+), 128.1, 126.2 (+), 119.8 (+), 111.2 (+), 111.0 (+), 110.8 (+), 108.6 (+), 68.5 (+), 56.0

(+), 55.9 (+), 55.9 (+), 55.8 (+), 51.2 (-), 44.0 (+), 28.6 (-). Fórmula molecular: $C_{22}H_{27}NO_4$ (P.M.: 369.46 g/mol).

(±)-1-(3,4,5-Trimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina
(40i)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 1-(3,4,5-trimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37i** (0.79, 1.5 mmol), $NaBH_4$ (0.11 g, 3 mmol) y metanol (10 mL). Tras la extracción líquido-líquido se obtuvo 0.57 g de la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38i**; 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 6.63 (2H, s, 5' y 9'- H_{Ar}), 6.62 (1H, s, 8- H_{Ar}), 6.60 (1H, s, 5- H_{Ar}), 6.7 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, 5- H_{Ar}), 6.48 (1H, d, $J = 15.7$ Hz, = $CHPh$), 6.26 (1H, dd, $J = 15.7, 7.9$ Hz, = CH), 4.58 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, - CH), 3.86 (3H, s, OCH_3), 3.85 (6H, s, OCH_3), 3.84 (3H, s, OCH_3), 3.79 (3H, s, OCH_3), 3.31-3.23 (1H, m, CH_a-NH), 3.10-3.02 (1H, m, CH_a-Ph), 2.90-2.80 (1H, m, CH_b-NH), 2.72 (1H, dt, $J = 15.9, 4.7$ Hz, CH_b-Ph), 1.98 (1H, br.s., NH). Continuando con la metodología general, la segunda etapa se realizó a partir de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38i** (0.57 g), $NaBH_3CN$ (103.6 mg, 1.65 mmol), $ZnCl_2$ (102.2 mg, 0.75 mmol), paraformaldehído (135.1 mg, 4.5 mmol) y metanol (10 mL). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.56 g (1.41 mmol) de la correspondiente 1-(3,4,5-trimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40i** como un sólido blanco con rendimiento del 94 %; $R_f = 0.28$ (10:1 diclorometano/metanol); pf. 135-137 °C; IR (disco de KBr): 2946 $\nu_{(CH_2-Ar)}$, 2838 $\nu_{(OCH_3)}$, 1589 $\nu_{(C=C)}$, 1465 $\nu_{(N-C)}$, 1234 $\nu_{(CH_3)}$, 1002 $\nu_{(C-O)}$ cm^{-1} ; 1H RMN (400

MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 6.65 (2H, s, 5' y 9'-H_{Ar}), 6.62 (1H, s, 8-H_{Ar}), 6.61 (1H, s, 5-H_{Ar}), 6.53 (1H, d, $J = 15.7$ Hz, =CHPh), 6.06 (1H, dd, $J = 15.7, 8.8$ Hz, =CH), 3.85 (9H, s, 3xOMe), 3.84 (3H, s, OCH₃), 3.82 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, -CH), 3.76 (3H, s, OCH₃), 3.12-2.97 (2H, m, -CH₂Ph), 2.73 (1H, dt, $J = 7.5, 3.5$ Hz, CH_a-N), 2.62-2.56 (1H, m, CH_b-N), 2.47 (3H, s, NCH₃). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 153.4 (2C), 147.9, 147.3, 137.9, 133.3 (+), 132.5, 130.9 (+), 128.0, 126.5, 111.3 (+), 111.0 (+), 103.6 (2C, +), 68.4 (+), 61.0 (+), 56.1 (2C, +), 56.1 (+), 55.9 (+), 51.3 (-), 44.2 (+), 28.8 (-). Fórmula molecular: C₂₃H₂₉NO₅ (P.M.: 399.48 g/mol).

(±)-1-(3,4-Metilendioxiestiril)-6,7-dimetoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina
(40j)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 1-(3,4-metilendioxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37j** (0.72, 1.5 mmol), NaBH₄ (0.11 g, 3 mmol) y metanol (10 mL). Tras la extracción líquido-líquido se obtuvo 0.50 g de la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38j**; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 6.95 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, 5'-H_{Ar}), 6.83 (1H, dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz, 9'-H_{Ar}), 6.76 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, 8'-H_{Ar}), 6.61 (1H, s, 8-H_{Ar}), 6.58 (1H, s, 5-H_{Ar}), 6.50 (1H, d, $J = 15.7$ Hz, =CHPh), 6.16 (1H, dd, $J = 15.7, 8.1$ Hz, =CH), 5.94 (2H, s, -OCH₂O-), 4.55 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, -CH), 3.86 (3H, s, OCH₃), 3.78 (3H, s, OCH₃), 3.31-3.24 (1H, m, CH_a-NH), 3.09-3.01 (1H, m, CH_a-NH), 2.90-2.81 (1H, m, CH_b-Ph), 2.71 (1H, $J = 15.9, 4.8$ Hz, CH_b-Ph), 2.02 (1H, br.s., NH). Continuando con la metodología general, la segunda etapa se realizó a partir de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38j** (0.50 g), NaBH₃CN (103.6 mg, 1.65 mmol), ZnCl₂ (102.2

mg, 0.75 mmol), paraformaldehído (135.1 mg, 4.5 mmol) y metanol (10 mL). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.47 g (1.35 mmol) de la correspondiente 1-(3,4-metilendioxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidro isoquinolina **40j** como un sólido blanco con rendimiento del 90 %; $R_f = 0.40$ (10:1 diclorometano/metanol); pf. 95-97 °C; IR (disco de KBr): 2931 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$, 2900 $\nu(\text{-OCH}_2\text{O-})$, 2838 $\nu(\text{OCH}_3)$, 1650 $\nu(\text{C=C})$, 1450 $\nu(\text{N-C})$, 1265 $\nu(\text{CH}_3)$, 1033 $\nu(\text{C-O})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 6.96 (1H, s, 5'- H_{Ar}), 6.86 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, 9'- H_{Ar}), 6.77 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, 8'- H_{Ar}), 6.61 (1H, s, 8- H_{Ar}), 6.59 (1H, s, 5- H_{Ar}), 6.53 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, = CHPh), 6.01-5.95 (1H, m, = CH), 5.94 (2H, s, - $\text{OCH}_2\text{O-}$), 3.85 (3H, s, OCH_3), 3.82 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, - CH), 3.75 (3H, s, OCH_3), 3.11-2.96 (2H, m, - CH_2NH), 2.76-2.67 (1H, m, $\text{CH}_a\text{-Ph}$), 2.58 (1H, dd, $J = 13.3, 7.8$ Hz, $\text{CH}_b\text{-Ph}$), 2.45 (3H, s, NCH_3). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 147.9, 147.5, 147.1, 146.9, 132.8 (+), 131.1, 129.5 (+), 128.1, 126.2, 120.9 (+), 111.0 (+), 110.6 (+), 108.1 (+), 105.6 (+), 100.9 (-), 68.4 (+), 55.8 (+), 55.7 (+), 51.2 (-), 44.0 (+), 28.6 (-). Fórmula molecular: $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{NO}_4$ (P.M.: 353.41 g/mol).

(±)-1-(4-Hidroxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (40k)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 1-(4-hidroxiestiril)-6-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37k** (0.68, 1.5 mmol), NaBH_4 (0.11 g, 3 mmol) y metanol (10 mL). Tras la extracción líquido-líquido se obtuvo 0.46 g de la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38k**; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 7.66 (1H, br. S., - OH), 7.19 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, 6' y 8'- H_{Ar}), 6.73 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, 5' y 9'- H_{Ar}), 6.62 (2H, s, 5 y 8- H_{Ar}), 6.49 (1H, d, J

= 15.4 Hz, =CHPh), 6.11 (1H, dd, $J = 14.7, 7.0$ Hz, =CH), 4.57 (1H, d, $J = 7.1$ Hz, -CH), 3.86 (3H, s, OCH₃), 3.77 (3H, s, OCH₃) 3.33-3.30 (1H, m, CH_a-NH), 3.09-3.06 (1H, m, CH_b-NH), 2.88-2.85 (1H, m, CH_a-Ph), 2.76-2.66 (1H, m, CH_b-Ph), 2.48 (1H, br.s., NH). Continuando con la metodología general, la segunda etapa se realizó a partir de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38k** (0.46 g), NaBH₃CN (103.6 mg, 1.65 mmol), ZnCl₂ (102.2 mg, 0.75 mmol), paraformaldehído (135.1 mg, 4.5 mmol) y metanol (10 mL). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.34 g (1.06 mmol) de la correspondiente 1-(4-hidroxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40k** como un sólido blanco con rendimiento del 71 %; $R_f = 0.20$ (10:1 diclorometano/metanol); pf. 73-75 °C; IR (disco de KBr): 3455 ν (OH), 2931 ν (CH₂-Ar), 2838 ν (OCH₃), 1604 ν (C=C), 1450 ν (N-C), 1249 ν (CH₃), 1018 ν (C-O) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), $\delta_{(ppm)}$: 7.14 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, 5' y 9'-H_{Ar}), 6.69 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, 6' y 8'-H_{Ar}), 6.61 (1H, s, 8-H_{Ar}), 6.59 (1H, s, 5-H_{Ar}), 6.51 (1H, d, $J = 5.8$ Hz, =CHPh), 5.89 (1H, dd, $J = 15.8, 8.9$ Hz, =CH), 3.87 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, -CH), 3.85 (3H, s, OCH₃), 3.73 (3H, s, OCH₃), 3.18-3.01 (2H, m, -CH₂Ph), 2.77-2.69 (1H, m, CH_a-N), 2.67-2.59 (1H, m, CH_b-N), 2.50 (3H, s, NCH₃). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), $\delta_{(ppm)}$: 156.6, 147.9, 147.3, 133.9 (+), 128.5, 128.0 (2C, +), 127.9, 127.8 (+), 126.1, 116.2 (2C, +), 111.3 (+), 111.1 (+), 68.6 (+), 56.1 (+), 55.9 (+), 51.3 (-), 43.8 (+), 28.1 (-). Fórmula molecular: C₂₀H₂₃NO₃ (P.M.: 325.41 g/mol).

(±)-1-(4-Hidroxi-3-metoxiestiril)-6,7-dimetoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina
(40I)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 1-(4-hidroxi-3-metoxiestiril)-6,7-dimetoxi-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37I** (0.72, 1.5 mmol), NaBH₄ (0.11 g, 3 mmol) y metanol (10 mL). Tras la extracción líquido-líquido se obtuvo 0.51 g de la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38I**; ¹H RMN (400 MHz, DMSO), δ_(ppm): 7.03 (1H, d, J = 1.9 Hz, 5'-H_{Ar}), 6.86 (1H, dd, J = 8.2, 1.9 Hz, 9'-H_{Ar}), 6.75 (1H, s, 8-H_{Ar}), 6.75 (1H, d, J = 8.1 Hz, 8'-H_{Ar}), 6.61 (1H, s, 5-H_{Ar}), 6.57 (1H, d, J = 15.7 Hz, =CHPh), 6.23 (1H, dd, J = 15.7, 7.9 Hz, =CH), 5.75 (1H, br. s., -OH), 4.78 (1H, d, J = 8.0 Hz, -CH), 3.77 (3H, s, OCH₃), 3.73 (3H, s, OCH₃), 3.65 (3H, s, OCH₃), 3.47 (1H, br. s., -NH), 3.31-3.23 (1H, m, CH_a-NH), 3.13-3.06 (1H, m, CH_b-NH), 2.82 (2H, dd, J = 14.7, 6.5 Hz, CH₂-Ph). Continuando con la metodología general, la segunda etapa se realizó a partir de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **38I** (0.51 g), NaBH₃CN (103.6 mg, 1.65 mmol), ZnCl₂ (102.2 mg, 0.75 mmol), paraformaldehído (135.1 mg, 4.5 mmol) y metanol (10 mL). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.48 g (1.36 mmol) de la correspondiente 1-(4-hidroxi-3-metoxiestiril)-6,7-dimetoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidro isoquinolina **40I** como un sólido blanco con rendimiento del 82 %; R_f = 0.14 (10:1 diclorometano/metanol); pf. 120-122 °C; IR (disco de KBr): 3425 ν(OH), 2931 ν(CH₂-Ar), 2838 ν(OCH₃), 1604 ν(C=C), 1465 ν(N-C), 1265 ν(CH₃), 1033 ν(C-O) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ_(ppm): 6.96 (1H, d, J = 1.6 Hz, 5'-H_{Ar}), 6.88 (1H, dd, J = 8.2, 1.7 Hz, 9'-H_{Ar}), 6.84 (1H, d, J = 8.1 Hz, -H_{Ar}), 6.61 (2H, s, 5 y 8-

H_{Ar}), 6.53 (1H, d, $J = 15.7$ Hz, $=CHPh$), 5.99 (1H, dd, $J = 15.7, 8.8$ Hz, $=CH$), 5.28 (1H, br. s., OH), 3.87 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, $-CH$), 3.85 (3H, s, OCH_3), 3.84 (3H, s, OCH_3), 3.75 (3H, s, OCH_3), 3.15-2.99 (2H, m, $-CH_2NH$), 2.74 (1H, dt, $J = 16.3, 3.9$ Hz, CH_a-Ph), 2.66-2.58 (1H, m, CH_b-Ph), 2.49 (3H, s, NCH_3). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 147.9, 147.3, 146.9, 145.8, 133.7, 129.2 (+), 128.4, 128.0, 126.3 (+), 120.6 (+), 114.6 (+), 111.3 (+), 111.0 (+), 108.1 (+), 68.5 (+), 56.1 (+), 55.9 (+), 55.9 (+), 51.1 (-), 43.9 (+), 28.5 (-). Fórmula molecular: $C_{21}H_{25}NO_4$ (P.M.: 355.43 g/mol).

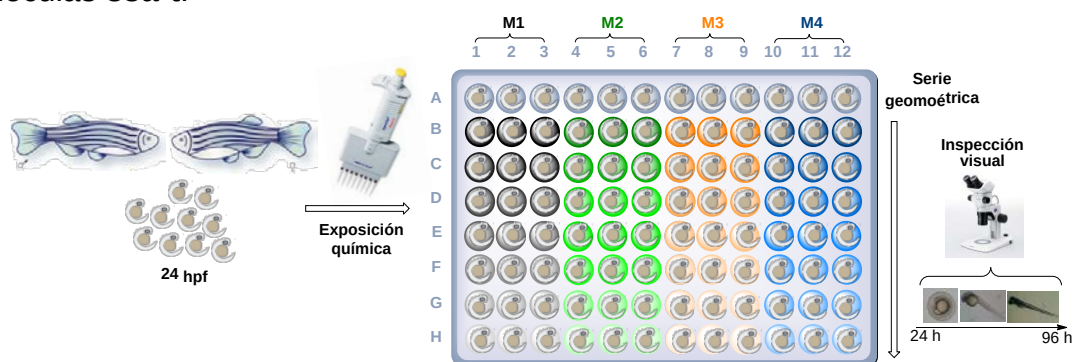
*1.7.4 Determinación de la concentración letal media (LC_{50}) de cada una de las N-feniletil cinamamidas **33a-t** en embriones de pez cebra*

La determinación de la toxicidad en embriones del pez cebra de las moléculas seleccionadas requirió establecer en primer lugar un rango de concentraciones donde la mortalidad fuera del 0 % y 100 % para cada estructura, y dentro de este rango se establecieron siete concentraciones, o serie geométrica, para la evaluación de cada molécula. Cada compuesto fue disuelto en DMSO y se estableció una concentración final de DMSO menor al 0.5 %.

Tras distribuir un embrión (24 hpf) por pocillo en una microplaca de 96 pozos, 24 embriones fueron empleados por muestra (M), los cuales fueron expuestos a la serie geométrica establecida para las moléculas **33a-t**. Los embriones tratados fueron aislados en una incubadora a 28 °C y la mortalidad y supervivencia de cada embrión se determinó tras 96 hpf al examinar el movimiento y los latidos del corazón de los embriones al ser estimulados bajo un estéreo microscopio. En cada

experimento se realizaron tres ensayos para determinar un valor de CL_{50} (expresada en $\mu\text{mol/L}$) y cada experimento fue repetido por triplicado empleando embriones provenientes de distintos padres en distintos días. El análisis estadístico se realizó con el modelo Probit usando el programa SPSS, versión 19.0 para Windows (Esquema 15).

Esquema 15. Determinación de la CL_{50} en embriones de pez cebra para las moléculas **33a-t**.



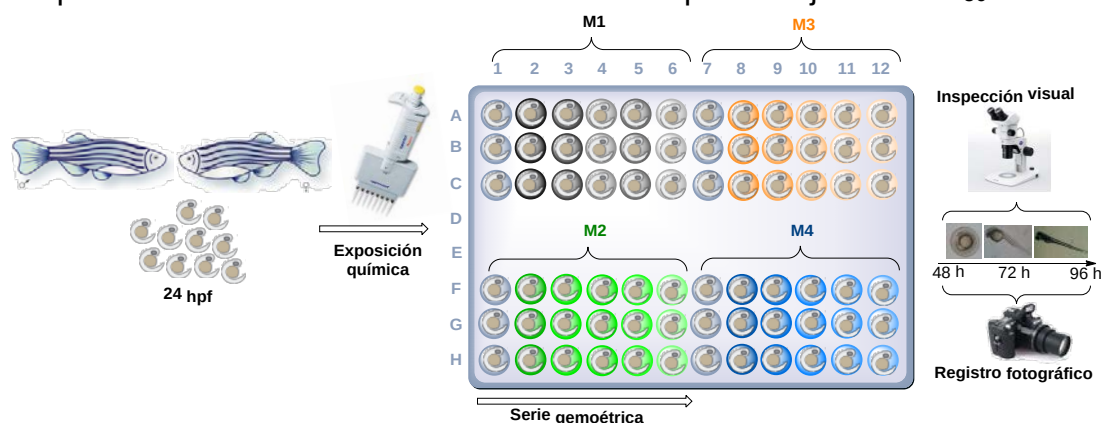
1.7.5 Análisis de los cambios fenotípicos de cada una de las *N*-feniletil cinamamidas **33a-t** en embriones de pez cebra

Habiendo determinado la CL_{50} para cada una de las moléculas seleccionadas, se estableció una serie geométrica de cinco concentraciones por debajo del valor CL_{50} para cada molécula. Así, en una microplaca de 96 pozos se distribuyeron embriones a 24 hpf, empleando un total de 18 embriones por muestra (M), y se procedió a exponer los especímenes al respectivo tratamiento químico con las moléculas **33a-t**.

Los embriones tratados fueron aislados en una incubadora a 28 °C y fueron examinados y fotografiados a las 96 hpf. Cada registro fotográfico fue agrupado, de acuerdo a la muestra, concentración y replica para ser finalmente analizado a

través del software DanioScope (Noldus) el cual realizó automáticamente el análisis estadístico y generó las respectivas gráficas. Se identificaron y analizaron parámetros como la longitud del cuerpo, tamaño del ojo, de la cavidad cardiaca y del saco vitelino, en comparación con la organogénesis y morfogénesis de los embriones control a las 96 hpf. Los resultados fueron analizados mediante el test ANOVA (una vía) y mediante el test de Dunnett (2 colas) comparando cada compuesto con el grupo control y considerando una diferencia significativa a un valor $p < 0.05$ (Esquema 16).

Esquema 16. Determinación de los cambios fenotípicos en embriones de pez cebra para las moléculas **33a-t** a concentraciones por debajo de la CL_{50} .



BIBLIOGRAFÍA

- [1]. PILO, Monica; PORCHEDDU, Andrea; DE LUCA, Lidia. A Copper-Catalysed Amidation of Aldehydes via N-Hydroxysuccinimide Ester Formation. En: Organic and Biomolecular Chemistry, 2013, vol. 11, p. 8241-8246.
- [2]. a) DEMING, Timothy. J. Synthetic polypeptides for biomedical applications. En: Progress in Polymer Science, 2007, vol. 32, p. 858-875. b) CAO, Hujun,

- et al.* Materials design and modification on amide-based composites for hydrogen storage. En: Progress in Natural Science, 2012, vol. 22, p. 550-560.
- c) DEMING, Timothy. J. Preparation and development of block copolypeptide vesicles and hydrogels for biological and medical applications. En: Wiley Interdisciplinary Reviews in Nanomedicine and Nanobiotechnology., 2014, vol. 6, p. 283-297.
- [3]. a) GHOSE, Arup K.; VISWANADHAN, Vellarkard N.; WENDOLOSKI, Jhon J. A Knowledge-Based Approach in Designing Combinatorial or Medicinal Chemistry Libraries for Drug Discovery. 1. A Qualitative and Quantitative Characterization of Known Drug Databases. En: Journal of Combinatorial Chemistry, 1999, vol. 1, p. 55-68. b) CAREY, Jhon. S., *et al.* Analysis of the reactions used for the preparation of drug candidate molecules. En: Organic and Biomolecular Chemistry, 2006, vol. 4, p. 2337-2347.
- [4]. a) ENTHALER, Stephan; INOUE, Shigeyoshi. An efficient zinc-catalyzed dehydration of primary amides to nitriles. En: Chemistry Asian Journal, 2012, vol: 7, p. 169-175. b) YOSHIMURA, Akira, *et al.* Hypervalent iodine catalyzed Hofmann rearrangement of carboxamides using oxone as terminal oxidant. En: Journal of Organic Chemistry, 2012, vol. 77, p. 11399-11404. c) HUANG, Pei-Qiang; LANG, Qi-Wei; WANG, Yan-Rong. Mild Metal-Free Hydrosilylation of Secondary Amides to Amines. En: Journal of Organic Chemistry, 2016, vol: 81, p. 4235-4243. d) KUMAR, Arepalli Sateesh; NAGARAJAN, Rajagopal. Synthesis of α -Carbolines via Pd-Catalyzed Amidation and Vilsmeier-Haack

- Reaction of 3-Acetyl-2-chloroindoles. EN: Organic Letters, 2011, vol: 13, p. 1398-1401. e) VACCARI, Daniele, *et al.* A Very Mild Access to 3,4-Dihydroisoquinolines Using Triphenyl Phosphite-Bromine-Mediated Bischler-Napieralski-Type Cyclization. EN: Synlett, 2008, vol: 18, p. 2807-2810.
- [5]. a) CHEN, Gaozhi, *et al.* Discovery of a New Inhibitor of Myeloid Differentiation 2 from Cinnamamide Derivatives with Anti-Inflammatory Activity in Sepsis and Acute Lung Injury. EN: Journal of Medicinal Chemistry, 2016, vol: 59, p. 2436-2451. b) LI, Linhu, *et al.* Design, Synthesis and Antimycobacterial Activity of Novel Imidazo[1,2-a]pyridine Amide-Cinnamamide Hybrids. EN: Molecules, 2015, vol. 21, p. E49. c) JIANG, Xiao-feng; ZHEN, Yong-su. Cinnamamide, an antitumor agent with low cytotoxicity acting on matrix metalloproteinase. EN: Anticancer Drugs, 2000, vol. 11, p. 49-54.
- [6]. a) XU, Jian; YU, Xiaoxia; SONG, Qiuling. Silver-Catalyzed Radical-Involved Cascade Cyclization of Diphenylphosphine with Cinnamamides: Access to 2-Phosphinoyl-3H-pyrrolo[1,2-a]indoles. EN: Organic Letters, 2017, vol. 19, p. 980-983. b) GU, Zhangxi, *et al.* Visible-Light-Induced Radical Tandem Aryldifluoroacetylation of Cinnamamides: Access to Difluoroacetylated Quinolone-2-ones And 1-Azaspiro[4.5]decanes. EN: Advanced Synthesis and Catalysis, 2015, vol. 357, p. 3057-3063. c) YANG, Hua; GUO, Li-Na; DUAN, Xin-Hua. Silver-catalyzed tandem radical acylarylation of cinnamamides in aqueous media. EN: RSC Advances, 2014, vol. 4, p. 52986-52990. d) ZHOU, Shi-Liu, *et al.* Copper-catalyzed tandem oxidative cyclization of

- cinnamamides with benzyl hydrocarbons through cross-dehydrogenative coupling. En: Chemical Communications, 2014, vol. 50, p. 3589-3591. e)
- PUERTO GALVIS, Carlos Eduardo; HERNÁNDEZ BARAJAS, José Gregorio; KOUZNETSOV, Vladimir V. Yb(OTf)₃-Catalyzed Bromination Reactions of Natural Product-like N-Benzyl Cinnamamides: A Facile Route to Diverse N-Substituted Amides of Pharmacological Interest. En: Current Organic Chemistry, 2013, vol. 17, p. 1545-1554.
- [7]. CUTILLO, Francesca. *et al.* Cinnamic acid amide from *Chenopodium album*: effects on seeds germination and plant growth. En: Phytochemistry, 2003, vol. 64, p. 1381-1387.
- [8]. ADESINA, Simeon K. *et al.* Natural product chemistry. Part 122. Transcinnamoylamides from *Zanthoxylum rubescens* pericarbs. En: Pharmazie, 1988, vol. 43, p. 517-518.
- [9]. KALIA, Narendra. K.; SINGH, Bikram; SOOD, Ram P. A New Amide from *Zanthoxylum armatum*. En: Journal of Natural Products, 1999, vol. 62, p. 311-312.
- [10]. KIM, Dae Keun; LEE, Kieseung. Inhibitory effect of trans-N-p-coumaroyl tryamine from the twigs of *Celtis chinensis* on the acetylcholinesterase. En: Archives of Pharmacal Research, 2003, vol, 26, p. 735-738.
- [11]. NESTERENKO, Vitaliy; PUTT, Karson S.; HERGENROTHER, Paul J. Identification from a Combinatorial Library of a Small Molecule that

- Selectively Induces Apoptosis in Cancer Cells. En: Journal of the American Chemical Society, 2003, vol. 125, p. 14672-14673.
- [12]. ICHIKAWA, Makoto, *et al.* Identification of six phenylpropanoids from garlic skin as major antioxidants. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, vol. 51, p. 7313-7317.
- [13]. KUMAR, Vishal, *et al.* Quantitative and structural analysis of amides and lignans in *Zanthoxylum armatum* by UPLC-DAD-ESI-QTOF-MS/MS. En: Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2014, vol. 94, p. 23-29.
- [14]. MOODY, J. O.; SOFOWORA, A. Leaf Alkaloids of *Zanthoxylum rubescens*. En: Planta Medica, 1984, vol. 50, p. 101-103.
- [15]. SINGH, Thokchom Prasanta; and SINGH, Okram Mukherjee. Phytochemical and pharmacological profile of *Zanthoxylum armatum* DC.-an overview. Indian Journal of Natural Products and Resources, 2011, vol. 2, p. 275-285.
- [16]. FREROT, Eric, *et al.* New Umami Amides: Structure-Taste Relationship Studies of Cinnamic Acid-Derived Amides and Natural Occurrence of an Intense Umami Amide in *Zanthoxylum piperitum*. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2015, vol. 63, p. 7161-7168.
- [17]. BACKES, Michael, *et al.* Rubemamine and Rubescenamine, Two Naturally Occurring N-Cinnamoyl Phenethylamines with Umami-Taste-Modulating Properties. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2015, vol. 63, p. 8694-8704.

- [18]. LEE, Choonghwan, *et al.* Two new constituents of *Isodon excisus* and their evaluation in an apoptosis inhibition assay. En: Journal of Natural Products, 2001, vol. 64, p. 659-660.
- [19]. DE FIGUEIREDO, Renata Marcia; SUPPO, Jean-Simon; CAMPAGNE, Jean-Marc. Nonclassical Routes for Amide Bond Formation. En: Chemical Reviews, 2016, vol. 116, p. 12029-12122. b) ALLEN, C. Liana; WILLIAMS, Jhonathan M. J. Metal-catalysed approaches to amide bond formation. En: Chemical Society Reviews, 2011, vol. 40, p. 3405-3415. c) LANIGAN, Rachel M.; SHEPPARD, Tom D. Recent Developments in Amide Synthesis: Direct Amidation of Carboxylic Acids and Transamidation Reactions. En: European Journal of Organic Chemistry, 2013, vol. 33, p. 7453-7465. d) OJEDA-PORRAS, Andrea; GAMBA-SANCHEZ, Diego. Recent Developments in Amide Synthesis Using Nonactivated Starting Materials. En: Journal of Organic Chemistry, 2016, vol. 81, p. 11548-11555.
- [20]. OJEDA-PORRAS, Andrea; HERNÁNDEZ-SANTANA, Alejandra; GAMBA-SANCHEZ, Diego. Direct amidation of carboxylic acids with amines under microwave irradiation using silica gel as a solid support. En: Green Chemistry, 2015, vol. 17, p. 3157-3163.
- [21]. LI, Jie-Jack. Name Reactions in Heterocyclic Chemistry, 2005, p. 376-385. ISBN: 9780471302155.

- [22]. HERVI, Mahid M; NAZARI, Niousha. Bischler-Napieralski Reaction in Total Synthesis of Isoquinoline-based Natural Products. An Old Reaction, a New Application. En: Current Organic Chemistry, 2015, vol. 19, p. 2358-2408.
- [23]. FODOR, Gabor.; GAL, J.; PHILLIPS, B. A. The Mechanism of the Bischler-Napieralski Reaction. En: Angewandte Chemie, International Edition, 1972, vol. 11, p. 919-920.
- [24]. LI, Jie-Jack. Name Reactions: A Collection of Detailed Mechanisms and Synthetic Applications. 2009, p. 48-49. ISBN: 978-3-642-01053-8.
- [25]. AGUIRRE, J. M., *et al.* Reaction of 1,2-diarylethylamides with ethyl polyphosphate (Epp): Correlation of the Von Braun, Ritter and Bischler-Napieralski reactions. En: Journal of Heterocyclic Chemistry, 1989, vol. 26, p. 25-27.
- [26]. a) SHANKAR, R., *et al.* Synthesis of Isoquinoline Alkaloids via Oxidative Amidation–Bischler–Napieralski Reaction. En: Synlett, 2012, vol. 23, p. 1013-1020. b) SCHRITTWIESER, Joerg. H.; RESCH, Verena. The role of biocatalysis in the asymmetric synthesis of alkaloids. En: RSC Advances, 2013, vol. 3, p. 17602-17632.
- [27]. TAKAHASHI, Yohei, *et al.* Eudistomidin G, a new β -carboline alkaloid from the Okinawan marine tunicate Eudistoma glaucus and structure revision of eudistomidin B. En: Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters. 2010, vol. 20, p. 4100-4103.

- [28]. WHITE, Richard; ROSE, Kristin; ZON, LEONARD. Zebrafish cancer: the state of the art and the path forward. En: Nature Reviews Cancer, 2013, vol. 13, p. 624-636.
- [29]. KIMMEL, Charles B., *et al.* Stages of embryonic development of the zebrafish. En: Deveolpment Dynamics, 1995, vol. 203, p. 253-310.
- [30]. BASU, Sandeep.; SACHIDANANDAN, Chetana. Zebrafish: A Multifaceted Tool for Chemical Biologists. En: Chemical Reviews, 2013, vol. 113, p. 7952-7980.
- [31]. GATES, Michael. A., *et al.* A genetic linkage map for zebrafish: comparative analysis and localization of genes and expressed sequences. En: Genome Research, 1999, vol. 9, p. 334-347.
- [32]. SCHOLZ, Stephan, *et al.* The zebrafish embryo model in environmental risk assessment-applications beyond acute toxicity testing. En: Environmental Science and Pollution Research, 2008, vol. 15, p. 394-404.
- [33]. OECD. *OECD guideline for testing of chemicals. Test No. 203: Acute fish test*; Organization for Economic Cooperation and Development: Paris, Francia, 1992.
- [34]. HE, Jian-Hui, *et al.* Zebrafish models for assessing developmental and reproductive toxicity. En: Neurotoxicology and Teratology, 2014, vol. 42, p. 35-42.
- [35]. LAMMER, E., *et al.* Is the fish embryo toxicity test (FET) with the zebrafish (*Danio rerio*) a potential alternative for the fish acute toxicity test?. En:

Comparative Biochemistry and Physiology C Toxicology and Pharmacology, 2009, vol. 149, p. 196-209.

- [36]. OECD. *OECD guideline for testing of chemicals. Test No. 236: Fish embryo acute toxicity (FET) test*; Organization for Economic Cooperation and Development: Paris, Francia, 2013.
- [37]. KLÜVER, Niels, *et al.* Fish embryo toxicity test: identification of compounds with weak toxicity and analysis of behavioral effects to improve prediction of acute toxicity for neurotoxic compounds. En: Environmental Science and Technology, 2015, vol. 49, p. 7002-7011.
- [38]. SIPES, Nisha S.; PADILLA, Stephanie; KNUDSEN, Thomas B. Zebrafish: as an integrative model for twenty-first century toxicity testing. En: Birth Defects Research C Embryo Today, 2011, vol. 93, p. 256-267.
- [39]. ALI, Shaukat; VAN MIL, Harald G. J.; RICHARDSON, Michael K. Large-Scale Assessment of the Zebrafish Embryo as a Possible Predictive Model in Toxicity Testing. En: PLoS ONE, 2011, vol. 6, p. e21076.
- [40]. DUCHARME, Nicole A., *et al.* Comparison of toxicity values across zebrafish early life stages and mammalian studies: Implications for chemical testing. En: Reproductive Toxicology, 2015, vol. 55, p. 3-10.
- [41]. SWINNEY, David C.; ANTHONY, Jason. How were new medicines discovered?. En: Nature Reviews Drug Discovery, 2011, vol. 10, p. 507-519.

- [42]. CASTORENO, Adam B.; EGGERT, Ulrike S. Small molecule probes of cellular pathways and networks. En: ACS Chemical Biology, 2011, vol. 6, p. 86-94.
- [43]. MACRAE, Calum A.; PETERSON, Randall T. Zebrafish as tools for drug discovery. En: Nature Reviews Drug Discovery, 2015, vol. 14, p. 721-731.
- [44]. DULLA, Balakrishna, *et al.* Isovanillin derived N-(un)substituted hydroxylamines possessing an ortho-allylic group: valuable precursors to bioactive N-heterocycles. En: Organic and Biomolecular Chemistry, 2014, vol. 12, p. 2552-2558.
- [45]. NEGRON, Javier F.; LOCKSHIN, Richard A. Activation of apoptosis and caspase-3 in zebrafish early gastrulae. Developmental Dynamics, 2004, vol. 231, p. 161-170.
- [46]. BABU, P. Vijaya, *et al.* Zebrafish based strategy for the identification of a potential pharmacophore for apoptosis: a greener CuAAC approach for novel 1,2,3-triazoles derived from mefenamic acid. En: RSC Advances, 2014, vol. 4, p. 4878-4882.
- [47]. HERNANDEZ BARAJAS, José Gregorio; VARGAS MÉNDEZ, Leonor Yamile; KOUZNETSOV, Vladimir V.; STASHENCKO, Elena E. Efficient Synthesis of New N-Benzyl- or N-(2-Furylmethyl)cinnamamides Promoted by the 'Green' Catalyst Boric Acid, and Their Spectral Analysis. En: Synthesis, 2008, p. 377-382.

- [48]. GERNIGON, Nicolas.; AL-ZOUBI, Raed M.; HALL, Dennis G. Direct Amidation of Carboxylic Acids Catalyzed by ortho-Iodo Arylboronic Acids: Catalyst Optimization, Scope, and Preliminary Mechanistic Study Supporting a Peculiar Halogen Acceleration Effect. En: Journal Organic Chemistry, 2012, vol. 77, p. 8386-8400.
- [49]. LANIGAN, Rachel M.; STARKOV, Pavel; SHEPPARD, Tom. D. Direct Synthesis of Amides from Carboxylic Acids and Amines Using B(OCH₂CF₃)₃. En: Journal of Organic Chemistry, 2013, vol. 78, p. 4512-4523.
- [50]. CADOT, Stephane, *et al.* Preparation of functional styrenes from biosourced carboxylic acids by copper catalyzed decarboxylation in PEG. En: Green Chemistry, 2014, vol. 16, p. 3089-3097.
- [51]. MARCELLI, Tommaso. Mechanistic insights into direct amide bond formation catalyzed by boronic acids: halogens as Lewis bases. En: Angewandte Chemie International Edition, 2010, vol. 49, p. 6840-6843.
- [52]. HERVI, Mahid M; NAZARI, Niousha. Bischler-Napieralski Reaction in Total Synthesis of Isoquinoline-based Natural Products. An Old Reaction, a New Application. En: Current Organic Chemistry, 2015, vol. 19, p. 2358-2408.
- [53]. a) NAIR, Vijay, *et al.* Stereoselective Synthesis of 3,4-trans-Disubstituted γ -Lactams by Cerium(IV) Ammonium Nitrate Mediated Radical Cyclization of Cinnamamides. En: Synthesis, 2007, p. 1179-1184. b) HARTUNG, Andreas, *et al.* One-Pot Ugi/Aza-Michael Synthesis of Highly Substituted 2,5-

- Diketopiperazines with Anti-Proliferative Properties. En: *Molecules*, 2012, vol. 17, p. 14685-14699. c) NAI, Youfeng; XU, Jiaxi. Synthesis of substituted homotaurines from 2-alkenamides. En: *Helvetica Chimica Acta*, 2013, vol. 96, p. 1355-1365.
- [54]. BERENGUER, Inmaculada, *et al.* Tetrahydroisoquinolines as dopaminergic ligands: 1-Butyl-7-chloro-6-hydroxy-tetrahydroisoquinoline, a new compound with antidepressant-like activity in mice. En: *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2009, vol. 17, p. 4968-4980.
- [55]. MISTRYUKOV, Electron A.; SOROKINA, Olga. N.; MISTRYUKOV, Alexander. E. Lewis Acid Mediated Cyclization of β Phenylethylamides with an Unactivated Benzene Ring: An Efficient Preparation of Dihydroisoquinolines. En: *Mendeleev Communications*, 1996, vol. 6, p. 239-241.
- [56]. PÁRRGA, Javier, *et al.* Synthesis of hexahydrocyclopenta[*ij*]isoquinolines as a new class of dopaminergic agents. En: *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, vol. 90, p. 101-106.
- [57]. JUDEH, Zaher M. A., *et al.* The first Bischler-Napieralski cyclization in a room temperature ionic liquid. En: *Tetrahedron Letters*, 2002, vol. 43, p. 5089-5091.
- [58]. SWATLOSKI, Richard P.; HOLBREY Jhon D.; ROGERS, Robin D. Ionic liquids are not always green: hydrolysis of 1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate. En: *Green Chemistry*, 2003, vol. 5, p. 361-363.

- [59]. SZEFCZYK, Borys; SOKALSKI, W. Andrzej. Physical Nature of Intermolecular Interactions in [BMIM][PF₆] Ionic Liquid. En: Journal of Physical Chemistry B, 2014, vol. 118, p. 2147-2156.
- [60]. HEACOCK, R. A.; MARION, Leo. The infrared spectra of secondary amines and their salts. En: Canadian Journal Chemistry, 1956, vol. 34, p. 1782-1795.
- [61]. GREEN, Theodora. W.; WUTS, Peter G. M. Protective Groups in Organic Synthesis, 1999, p. 150-160 y p. 712-715. ISBN: 9780471160199.
- [62]. VÁCLAVÍK, Jiry, *et al.* Experimental and Theoretical Perspectives of the Noyori-Ikariya Asymmetric Transfer Hydrogenation of Imines. En: Molecules, 2014, vol. 19, p. 6987-7007.
- [63]. UEMATSU, Nobuyuki, *et al.* Asymmetric Transfer Hydrogenation of Imines. En: Journal of the American Chemical Society, 1996, vol. 118, p. 4916-4917.
- [64]. SHENDE, Vaishali S., *et al.* Asymmetric Transfer Hydrogenation of Imines in Water by Varying the Ratio of Formic Acid to Triethylamine. En: Organic Letters, 2015, vol. 17, p. 2878-2881.
- [65]. LIN, Weilong; MA, Shengming. Highly efficient and general enantioselective synthesis of naturally occurring isoquinoline alkaloids. En: Organic Chemistry Frontiers, 2014, vol. 1, p. 338-346.
- [66]. SONG, Chun Xia, *et al.* Effect of camptothecin on the embryonic development and angiogenesis of zebrafish embryos. En: Advanced Materials Research, 2013, vol. 750, p. 1742-1475.

- [67]. KIM, Chul-Ho, *et al.* Imiquimod induces apoptosis of human melanocytes. En: Archives Dermatology Research, 2010, vol. 302, p. 301-306.
- [68]. CLIFTON, Justin D., *et al.* Identification of Novel Inhibitors of Dietary Lipid Absorption Using Zebrafish. En: PLoS ONE, 2010, vol. 5, p. e12386.
- [69]. MORICK, Danny; SARAGОВI, Amijai. Inhibition of nervous necrosis virus by ribavirin in a zebrafish larvae model. En: Fish Shellfish Immunology, 2017, vol. 60, p. 537-544.
- [70]. WILLIAMS, G. M.; LATROPOULOS, M. J.; WHYSNER, J. Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives. En: Food and Chem Toxicology, 1999, vol. 37, p. 1027-1038.
- [71]. GRUSH, J.; NOAKES, D. L.; MOCCIA, R. D. The efficacy of clove oil as an anesthetic for the zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton). En: Zebrafish. 2004, vol. 1, p. 46-53.
- [72]. AL-MAJED, Abdulrahman A., *et al.* Propranolol. En: Profiles of Drug Substances Excipients and Related Methodologies, 2017, vol. 42, p. 287-338.
- [73]. NARAYANA, K.; D'SOUZA, U. J.; SEETHARMA RAO, K. P. The genotoxic and cytotoxic effects of ribavirin in rat bone marrow. En: *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, **2002**, vol. 521, p. 179-185.
- [74]. CHUN-GUANG, M., *et al.* Successful Treatment of Giant Basal Cell Carcinoma with Topical Imiquimod 5% Cream with Long Term Follow-up. En: Indian Journal of Dermatology, 2014, vol. 59, p. 575-578.

- [75]. JAGANATHAN, Saravana Kumar; SUPRIYANTO, Eko. Antiproliferative and molecular mechanism of eugenol-induced apoptosis in cancer cells. En: *Molecules*, 2012, vol. 17, p. 6290-6304.
- [76]. SPITSBERGEN, Jan. M.; KENT, Michael. L. The state of the art of the zebrafish model for toxicology and toxicologic pathology research-advantages and current limitations. En: *Toxicology and Pathology*, 2003, vol. 31, p. 62-87
- [77]. WILLIAMS, Charles H.; HONG, Charles C. Zebrafish small molecule screens: Taking the phenotypic plunge. En: *Computational Structure and Biotechnology Journal*, 2016, vol. 14, p. 350-356.
- [78]. JEANRAY, Nathalie, *et al.* Phenotype Classification of Zebrafish Embryos by Supervised Learning. En: *PLoS ONE*, 2015, vol. 10, p. e0116989.
- [79]. PETERSON, Randall. T., *et al.* Small molecule developmental screens reveal the logic and timing of vertebrate development. En: *Proceeding of the National Academy of Sciences of the USA*, 2000, vol. 97, p. 12965-12969.
- [80]. ZHU, Shizhen; LOW, Boon Chuan. Using zebrafish for studying Rho GTPases signaling in vivo. En: *Methods in Molecular Biology*, 2012, vol. 827, p. 321-337.
- [81]. ZHU, S., *et al.* RhoA prevents apoptosis during zebrafish embryogenesis through activation of Mek/Erk pathway. En: *Oncogene*, 2008, vol. 27, p. 1580-1589.

- [82]. PORAZZI, P., *et al.* Thyroid gland development and function in the zebrafish model. En: *Molecular Cell Endocrinology*, 2009, vol. 312, p. 14-23.
- [83]. LI, Zeran, *et al.* Phenylthiourea specifically reduces zebrafish eye size. En: *PLoS One*, 2012, vol. 7, p. e40132.
- [84]. MIURA, Grant I.; YELON, Deborah. A guide to analysis of cardiac phenotypes in the zebrafish embryo. En: *Methods in Cell Biology*, 2011, vol. 101, p. 161-180.
- [85]. GONZÁLEZ-ROSA, Juan Manuel; BURNS, Caroline E.; BURNS Geoffrey. Zebrafish heart regeneration: 15 years of discoveries. En: *Regeneration (Oxf)*. 2017, vol. 4, p. 105-123.
- [86]. TSURUWAKA, Yasuke; KONISHI, Masataka; SHIMADA, Eriko. Loss of *wwox* expression in zebrafish embryos causes edema and alters Ca^{2+} dynamics. En: *PeerJ*, 2015, vol. 3, p. e727.
- [87]. MARTÍNEZ BONILLA, Carlos Andres, *et al.* $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ -catalysed the highly diastereoselective synthesis of tetrahydroquinolines via an imino Diels Alder ABB' type reaction and their in vivo toxicity and imaging in zebrafish embryos. En: *RSC Advances*, 2016, vol. 6, p. 37478-37486
- [88]. RALDUA, Demetrio.; ANDRE, Michele; BABIN, Patrick J. Clofibrate and gemfibrozil induce an embryonic malabsorption syndrome in zebrafish. En: *Toxicology Applied Pharmacology*, 2008, vol. 228, p. 301-314.

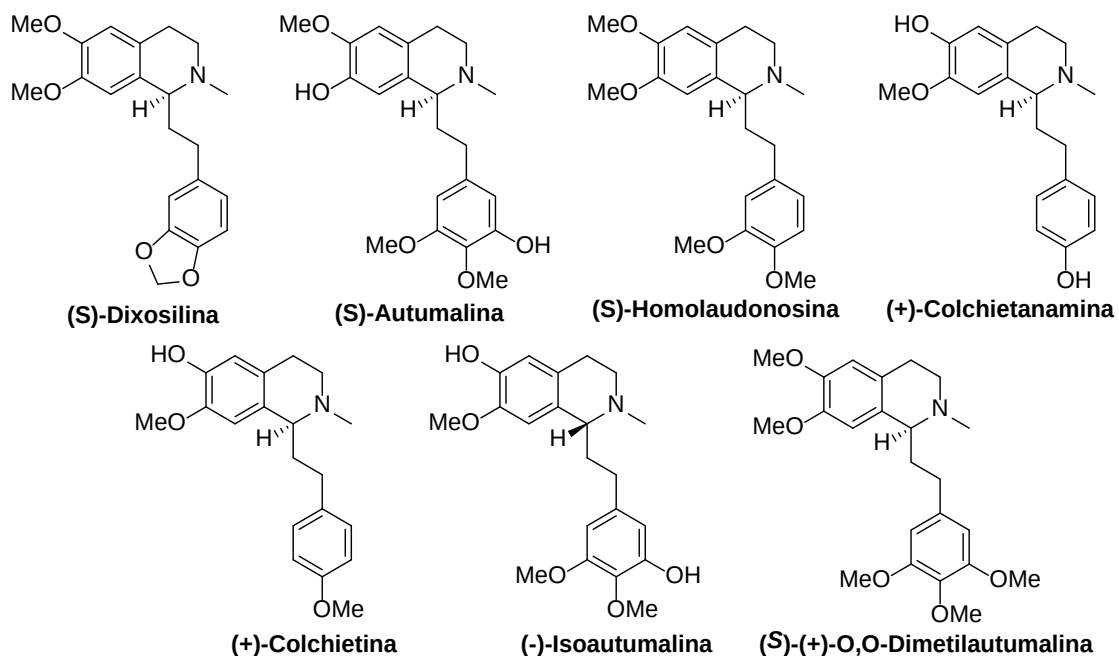
- [89]. HE, Jian-Hui, *et al.* A zebrafish phenotypic assay for assessing drug-induced hepatotoxicity. En: Journal Pharmacology Toxicology Methods, 2013, vol. 67, p. 25-32.
- [90]. PUERTO GALVIS, Carlos Eduardo; KOUZNETSOV, Vladimir V. Regio- and stereoselective synthesis of spirooxindole 1'-nitro pyrrolizidines with five concurrent stereocenters under aqueous medium and their bioprospection using the zebrafish (*Danio rerio*) embryo model. En: Organic and Biomolecular Chemistry, 2013, vol. 11, p. 7372-7386.

CAPÍTULO 2. Síntesis biomimética de alcaloides 1-feniletiltetrahydroisoquinolínicos. Transformación química de los protoalcaloides zantoxylamida a los alcaloides *Dysoxylum*

2.1 INTRODUCCIÓN

El aislamiento de la (S)-autumalina, primer alcaloide 1-feniletil tetrahydroisoquinolínico descubierto, incentivó en los químicos orgánicos y fitoquímicos el estudio de su preparación y propiedades biológicas [1]. Estos esfuerzos resultaron en el aislamiento de otros metabolitos secundarios análogos a la (S)-autumalina que se denominaron (S)-dixosilina y la (S)-homolaudonosina, y que exhibieron una actividad cardiovascular como cronotrópicos negativos. Con el transcurrir de los años, diversos estudios fitoquímicos han revelado la existencia de siete alcaloides 1-feniletil tetrahydroisoquinolínicos, familia denominada alcaloides *Dysoxylum*, donde se encuentran, además de la (S)-autumalina, la (S)-dixosilina y la (S)-homolaudonosina, los derivados (+)-colchietanamina, (+)-colchietina, (-)-isoautumalina y (S)-(+)-O,O-dimetilautumalina (Figura 35).

Figura 35. Metabolitos de la familia de los alcaloides *Dysoxylum*.



Por su parte, la síntesis total de estos alcaloides, ya aislados y caracterizados, ha sido siempre un reto para los químicos orgánicos que continuamente están formulando planes de síntesis que involucren tácticas y estrategias modernas. Así, los primeros esfuerzos direccionados hacia la preparación de estos alcaloides iniciaron en 1987 donde se emplearon formamidas quirales para la construcción del centro estereogénico en el carbono C-1 a través de la formación de un nuevo enlace C-C de manera enantioselectiva [2]. Aunque de 1990 a 2016 se han desarrollado novedosas estrategias para la síntesis asimétrica de diversas tetrahydroisoquinolinas con un gran potencial terapéutico en el tratamiento de varias enfermedades como el cáncer, Alzheimer y Parkinson, trabajos muy bien documentados en varias revisiones literarias [3], dichos protocolos no han logrado ser aplicados en la síntesis total de los alcaloides *Dysoxylum*, cuyas propiedades

biológicas fueron reveladas en 1987, pero debido a los bajos porcentajes de aislamiento y a la falta de una estrategia sintética eficiente, el estudio y desarrollo de nuevos fármacos basados en la estructura de los alcaloides *Dysoxylum* no ha avanzado con la misma intensidad que otros derivados naturales.

Durante los últimos seis años, diferentes estrategias de síntesis enantioselectiva para la preparación de alcaloides *Dysoxylum* se han desarrollado, obteniendo buenos resultados en términos de rendimiento global y muy buen exceso enantiomérico (ee%). Sin embargo, las limitaciones y desventajas no han logrado proveer estos compuestos con rendimientos o con la versatilidad estructural deseada para poder explorar su potencial biológico (Tabla 12).

Tabla 12. Enfoques recientes para la síntesis total de alcaloides *Dysoxylum*.

	Compuesto	Estrategia	Etapas	Rendimiento global	ee %
2011[4]	(S)-Homolaudonosina	Alilación asimétrica de iminas cíclicas	8	30	72
2012[5]	(S)-Dixosilina	Reacción Julia-Kocienski	18	17	88
	(+)-Colchietanamina		17	12	86
	(+)-Colchietina		17	14	87
2014[6]	(S)-Dixosilina	Alquilación asimétrica	5	39	98
2014[7]	(R)-(+)-Colchietina	Pictet-Spengler	7	24	98
2015[8]	(±)-Homolaudonosina	Mukaiyama-Mannich	6	41	50/50

De acuerdo con esta información, cabe resaltar que: i) hasta el momento, todos los esfuerzos sintéticos se han enfocado en la preparación de tres alcaloides de

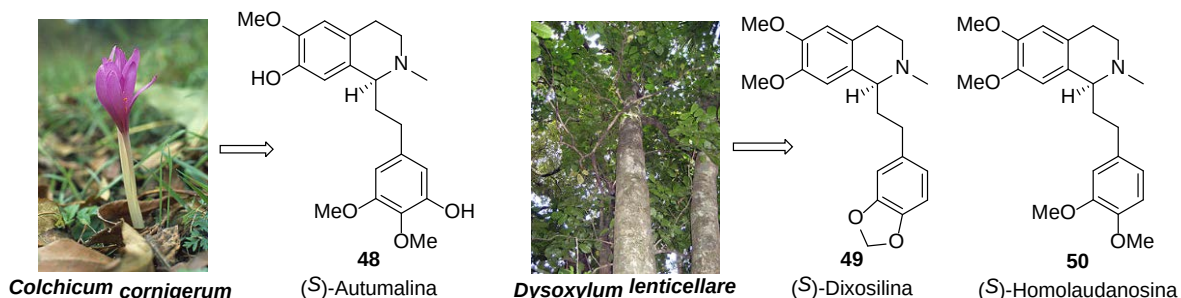
los siete que conforman la familia de los alcaloides *Dysoxylum*, la homolaudonosina, dixosilina y colchietina; *ii*) a excepción de un reporte, todas las estrategias enantioselectivas se han centrado en la generación del centro quiral en el carbono C-1 con configuración *S*, dificultando la prospección farmacológica de los enantiómeros *R*; *iii*) el uso de reactivos específicos y condiciones especiales de reacción han impedido generar diversidad estructural en los productos finales, la cual sólo se ha logrado incrementando el número de etapas sintéticas; y *iv*) ninguno de los enfoques reportados hasta el momento ha tenido en cuenta la biosíntesis de los alcaloides *Dysoxylum*, por lo que los bajos rendimientos globales han dificultado poder obtener estos derivados a gran escala.

2.2 ESTADO DEL ARTE

2.2.1 Alcaloides 1-feniletiltetrahydroisoquinolínicos. Origen, síntesis y propiedades biológicas. El interés por el estudio de los alcaloides 1-feniletiltetrahydroisoquinolínicos se remonta a 1971 cuando se aisló el primer derivado con esta estructura de la planta *Colchicum cornigerum*, denominado (*S*)-autumalina **48** (Figura 36) [9]. Fue sólo hasta 1983 que se reportó la existencia de más derivados 1-feniletiltetrahydroisoquinolínicos con el estudio de las plantas del género *Dysoxylum* (familia Meliaceae) distribuidas en la Polinesia y en la región Indo-Malaya [10]. Hoy en día existen cerca de 60 especies de este género de donde se han aislado un sin número de alcaloides. Particularmente, en el extracto metanólico de las hojas de la especie *D. lenticellare*, un árbol grande endemico de las islas Fiji, de donde se aislaron y caracterizaron dos de los alcaloides 1-

feniletiltetrahidroisoquinolínicos más representativos: la (S)-dixosilina **49** (0.01 %) y la (S)-homolaudanosina **50** (0.03 %) junto con otros metabolitos secundarios (Figura 36) [11].

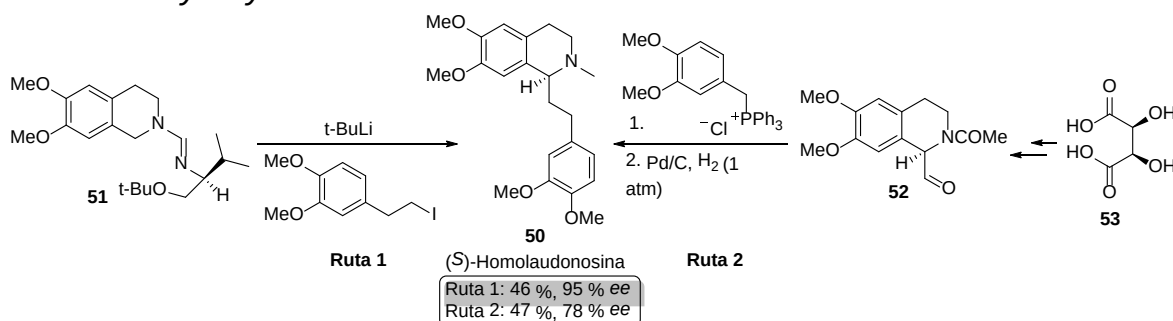
Figura 36. Alcaloides 1-feniletiltetrahidroisoquinolínicos aislados de fuentes naturales.



Se conoce que los alcaloides isoquinolínicos son biosintetizados por las plantas a través de una serie de transformaciones enzimáticas que ocurren sobre el aminoácido tirosina, y en el caso de los alcaloides 1-feniletiltetrahidroisoquinolínicos, este proceso resulta en la formación de dopamina, la cual es posteriormente O-metilada, oxidada y posteriormente condensada para dar lugar a los metabolitos **48-50** [12]. Tras su aislamiento y caracterización, el reto para la preparación en el laboratorio de los alcaloides 1-feniletil tetrahidroisoquinolínicos recayó en la química orgánica, cuyo principal objetivo consistía en la preparación del núcleo tetrahidroisoquinolínico y el control absoluto de la estereoquímica del carbono C-1. El desarrollo de estrategias para la síntesis total de los alcaloides *Dysoxylum* inició en el año 1987 con la preparación de la (S)-homolaudanosina **50** a través de dos rutas que se enfocaron en la construcción del centro estereogénico en C-1. Se reportó así el uso de

formamidinas quirales **51** y su interacción con el butil-litio (Ruta 1, Esquema 17) [13a], y el empleo de tetrahydroisoquinolíneas quirales **52** obtenidas a partir de ácido D-(-)-tartárico **53** como precursores en la reacción de Wittig (Ruta 2, Esquema 17) [13b].

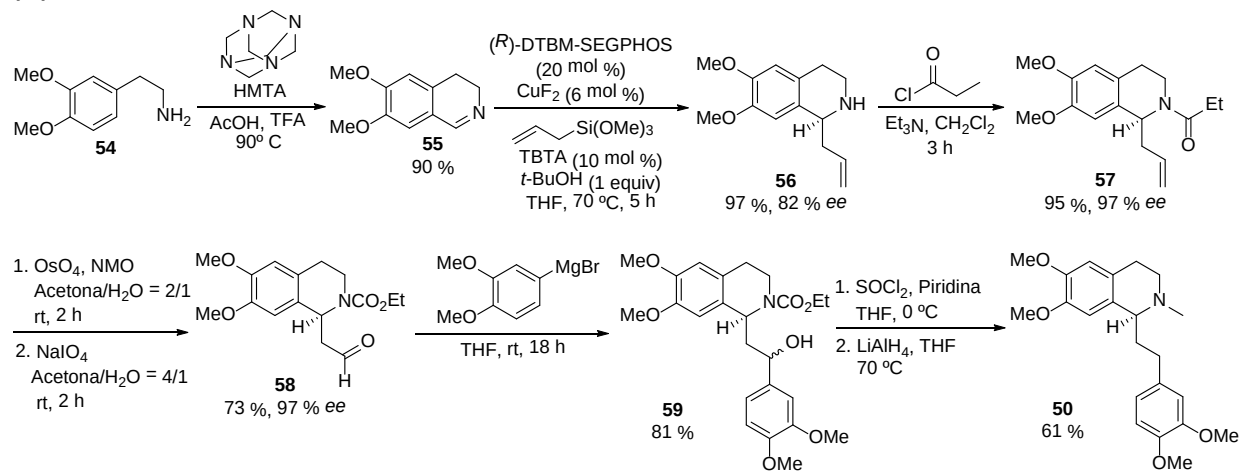
Esquema 17. Primeras estrategias desarrolladas para la síntesis total de alcaloides *Dysoxylum*.



Desde 1990 hasta hoy, se han desarrollado diversos protocolos para la síntesis asimétrica de alcaloides isoquinolínicos. Esta información ha sido recopilada en tres excelentes revisiones, en las que si bien se incluyen estrategias para la síntesis enantioselectiva de alcaloides 1-feniletiltetrahydroisoquinolínicos, estas metodologías involucran múltiples etapas de reacción, el uso de reactivos y catalizadores de difícil acceso y/o muy específicos que han limitado la obtención a gran escala de estos derivados para su evaluación biológica [3a,14]. Las investigaciones realizadas durante los últimos seis años en relación al desarrollo de estrategias para la síntesis enantioselectiva de alcaloides *Dysoxylum* ponen en evidencia las limitaciones y desventajas de estos protocolos, advirtiendo que aún son válidos y necesarios nuevos estudios, a nivel sintético y biológico, relacionados con estos metabolitos. En el año 2011, se reportó la alilación

asimétrica de iminas cíclicas y su aplicación a la preparación de alcaloides isoquinolínicos, específicamente para el caso de la síntesis de (S)-homolaudanosina **50** la cual fue obtenida en una ruta de 8 etapas a partir de la 3,4-dimetoxifeniletilmina **54**, generando en primer lugar la respectiva 3,4-dihidroisoquinolina **55** que fue alilada en presencia de Cu(II) y (R)-(-)-5,5'-bis[di(3,5-di-tert-butyl-4-methoxyphenyl)fosfino]-4,4'-bi-1,3-benzodioxol (DTBM-SEGPPOS) como ligando para formar la correspondiente 1-aliltetrahidroisoquinolina **56** con un 82 % ee, constituyéndose en la etapa principal de este estudio. Después de ser acetilado el grupo NH de **56**, el doble enlace del grupo alilo fue oxidado para luego ser formilado y obtener el derivado **58**, compuesto que se sometió a la reacción de Grignard con el respectivo bromuro de aril magnesio, formando el intermediario **59** que finalmente fue reducido al compuesto de interés **50** con un rendimiento global del 30 %. Adicionalmente, los autores reportaron la racemización durante las últimas etapas lo que disminuyó el exceso enantiomérico con el que se obtuvo el producto **50** (Esquema 18) [4].

Esquema 18. Alilación asimétrica de iminas cíclicas aplicada a la síntesis total de (S)-homolaudanosa **50**.



En el año 2012, se reportó la síntesis del alcaloide (S)-dixosilina **49** mediante una ruta sintética de 18 etapas a partir de la isovainillina **60**, la cual deriva en el núcleo tetrahidroisoquinolínico **62** a través una reacción de transferencia de quiralidad [1,3] promovida por triflato de bismuto (BiOTf)₃ [15]. Tras la ozonólisis y reducción de **62**, y sus posteriores transformaciones químicas, se generó la respectiva sulfona **66**, precursor de la reacción fundamental en este estudio: la reacción Julia-Kocienski, la cual dio lugar a la formación del esqueleto 1-feniletiltetrahidroisoquinolínico que, tras procesos de protección y desprotección, resultó en la formación del alcaloide **49** con un rendimiento del global del 17 % y un 88 % ee (Esquema 19) [5].

Reaction scheme showing the synthesis of (+)-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene-1-carboxamide derivatives:

60 $\xrightarrow{7 \text{ etapas}}$ 61 (72 %)

61 $\xrightarrow{\text{Bi(OTf)}_3, 10 \text{ mol \%}, \text{MS-4 } \text{\AA}, \text{CH}_2\text{Cl}_2, -15^\circ\text{C}, 30 \text{ min}}$ 62 (86 %, 96 % ee)

62 $\xrightarrow{\text{Ozono}, \text{CH}_2\text{Cl}_2, -78^\circ\text{C}}$ 63

64 $\xrightarrow{\text{NaBH}_4, \text{MeOH}, 30 \text{ min}}$ 64 (85 %, 96 % ee)

64 $\xrightarrow{\text{HS-C}_6\text{H}_4\text{-N}_3, \text{DIAD}, \text{PPh}_3, \text{THF}, \text{rt}, 30 \text{ min}}$ 65 (90 %)

65 $\xrightarrow{(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} (20 \text{ mol \%}), \text{H}_2\text{O}_2, \text{EtOH}, \text{rt}, 12 \text{ h}}$ 66 (91 %)

67 $\xrightarrow{\text{LiHMDS}, \text{THF}, -35^\circ\text{C}, 1 \text{ h}}$ 67 (85 %)

67 $\xrightarrow{\text{Hidrogenación}, \text{Hidrolisis}}$ 68 (91 %)

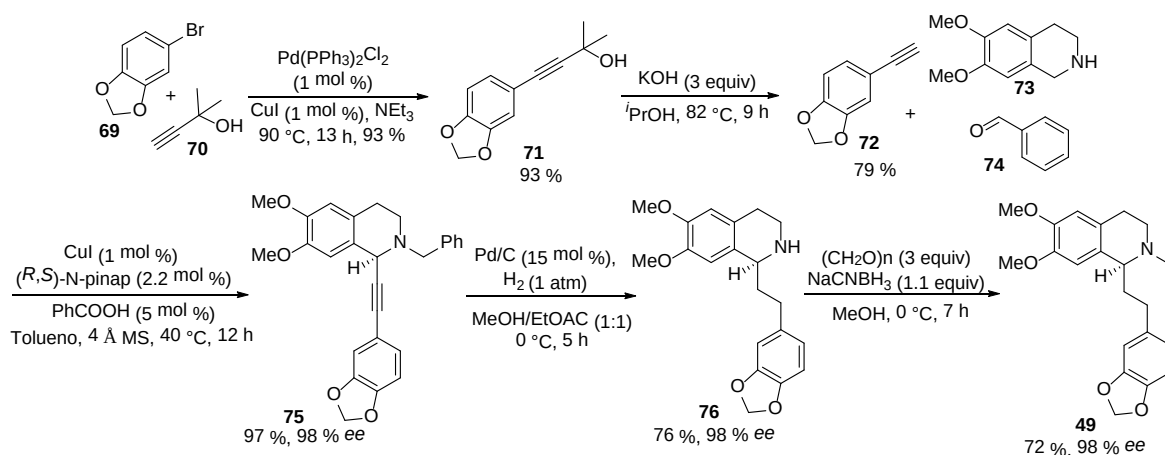
68 $\xrightarrow{\text{O-Desmetilación}, \text{NBoc-Desprotección}, \text{N-Metilación reductiva}}$ 49 (90 %, 88 % ee)

Olefinación Julia-Kocienski

198

de este protocolo es la poca versatilidad para la preparación de otros alcaloides 1-feniletiltetrahidroisoquinolínicos y el uso de condiciones de reacción específicas de difícil acceso para preparar sustratos como el alquino **72**, a los cuales no se puede acceder comercialmente (Esquema 20) [6].

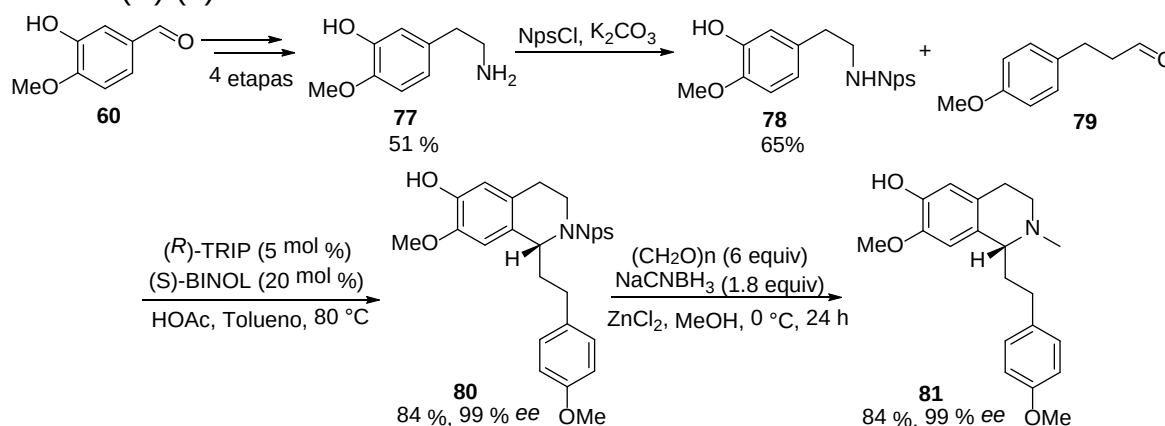
Esquema 20. Reacción alquilación asimétrica aplicada a la síntesis total de (*S*)-dixosilina **49**.



Aunque no se incluyó la síntesis de los alcaloides **49** y **50**, es importante destacar los esfuerzos de Mons y colaboradores, quienes se interesaron en la síntesis de otro alcaloide 1-feniletiltetrahidroisoquinolínico conocido como (*R*)-(+)-colchietina **81** a través de una reacción Pictet-Spengler enantioselectiva. Esta ruta sintética consistió en 7 etapas en las que en primer lugar se transformó la isovainillina **60** en la respectiva feniletilamina **78** que se encontraba *N*-sustituida con el grupo *ortho*-nitrofenilsulfenilo (Nps). Este grupo, además de estabilizar la amina, contribuyó a la selectividad de la reacción Pictet-Spengler entre **78** y el aldehído **79** cuando se empleó como catalizador quiral el derivado del ácido fosfórico, el (*R*)-3,3'-bis(2,4,6-triisopropilfenil)-1,1'-binaftil-2,2'-dihidrogenofosfato ((*R*)-TRIP), y como co-

catalizador el (S)-(-)-1,1'-bi(2-naftol) ((S)-BINOL), generando la respectiva tetrahydroisoquinolina **80** con un rendimiento del 84 % y 99 % ee. Por último, el nitrógeno de este derivado fue desprotegido y posteriormente sometido a una metilación reductiva para dar lugar a la respectiva (R)-(+)-colchietina **81** con un rendimiento global del 24 % y 98 % ee (Esquema 21) [7].

Esquema 21. Reacción Pictet-Spengler enantioselectiva aplicada a la síntesis total de (R)-(+)-colchietina **81**.

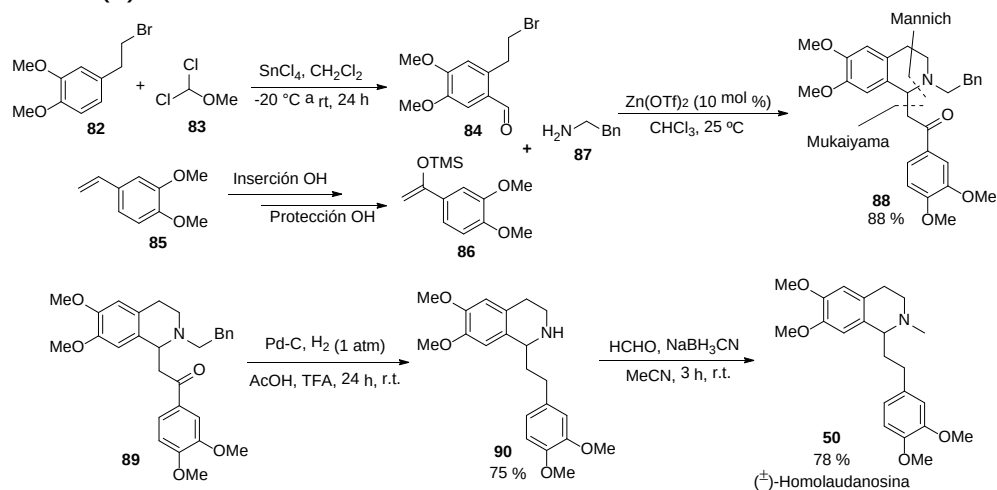


La síntesis del alcaloide **81**, junto con su aislamiento de la planta *Colchicum szovitsii*, demuestra que en la naturaleza también se encuentran derivados 1-feniletiltetrahydro isoquinolínicos en donde el carbono C-1 presenta una configuración (R)-, de los cuales se desconoce por completo su perfil farmacológico y sobre los cuales la química orgánica ha prestado poca atención en desarrollar ligandos quirales para su síntesis con base en las metodologías ya descritas para los enantiómeros (S)-.

Una de las evidencias más contundentes que sostienen el argumento de que aún existen retos pendientes por resolver respecto a la síntesis de los alcaloides *Dysoxylum*, es la gran acogida dentro de la comunidad científica por el reciente

trabajo publicado por Dhanasekaran y colaboradores [8], donde se reporta la síntesis de (±)-homolaudanosina **50** con base en una secuencia de reacciones Mukaiyama-Mannich. Para esta reacción *one-pot* se requirió como precursores el compuesto **84**, producto de la formilación del bromuro **82**, el estireno modificado **86**, formado a partir de la inserción y protección del grupo hidroxilo de **85**, y la bencilamina **87**. Así, bajo la catálisis de triflato de zinc ($\text{Zn}(\text{OTf})_2$) se promovió la reacción de Mukaiyama, originando el nuevo enlace C-C, seguida de la reacción Mannich donde se forma el enlace C-N y se forma el núcleo isoquinolínico **88** con un rendimiento del 88 %. A continuación, se reduce la función carbonílica junto con la desprotección del nitrógeno mediante una hidrogenación catalítica en medio ácido, y finalmente, la metilación reductiva genera la correspondiente (±)-homolaudanosina **50** con un rendimiento global del 41 %. Evidentemente, la ausencia de un control enantiomérico sobre esta reacción resulta ser la mayor desventaja de este protocolo (Esquema 22) [8].

Esquema 22. Reacción dominó Mukaiyama-Mannich aplicada a la síntesis racémica de (±)-homolaudanosina **50**.



Las moléculas con el núcleo isoquinolínico, tanto de origen natural y sintético, han recibido especial atención por parte de la química medicinal debido a sus propiedades biológicas [16]. Sin embargo, hasta el momento el único reporte de la actividad biológica relacionada con los alcaloides *Dysoxylum* se remonta a 1987 cuando se evaluó la actividad cardíaca del extracto de la planta *D. lenticellare* y la de sus principales componentes: la (S)-dixosilina **49** y la (S)-homolaudanosina **50**. En este estudio se encontró que el extracto de la planta exhibía un efecto cronotrópico negativo, es decir, que producía una disminución en la frecuencia cardíaca y al mismo tiempo generaba un aumento en la amplitud de las contracciones sobre el músculo auricular de los ratones. Los mismos autores, al evaluar el efecto individual de cada uno de los derivados **49** y **50** sobre la actividad cardíaca en ratones, determinando que ambos tenían un efecto cronotrópico negativo más leve, pero una amplitud en las contracciones mucho mayor que el extracto (Tabla 13) [17].

Tabla 13. Efecto del extracto y los constituyentes de la planta *D. lenticellare* en la frecuencia y amplitud de la actividad cardíaca en ratones.

Nombre	Dosis	Cambios con respecto al control (%) ^a	
		Frecuencia	Amplitud
Extracto <i>D. lenticellare</i>	0.8 mg/mL	- 24.18 ± 1.1	+ 10.34 ± 2.6
(S)-Dixosilina 49	80 nM	- 6.4 ± 2.2	+11.8 ± 3.3
(S)-Homolaudanosina 50	80 nM	- 6.7 ± 1.8	+ 16.3 ± 3.0
3-epi-12-Hidroxischelhamericina	80 nM	- 6.0 ± 2.1	+ 11.5 ± 1.6

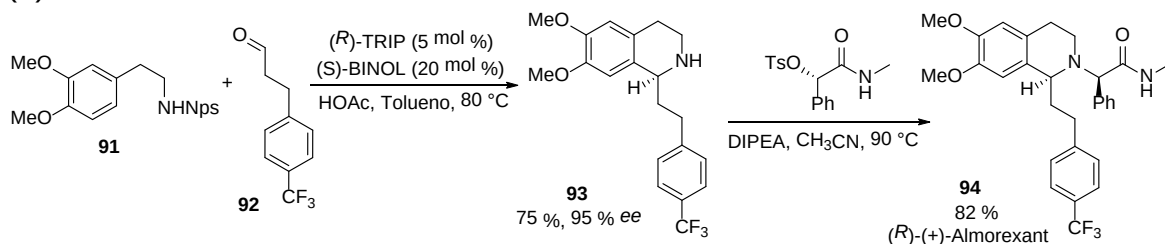
^a Control negativo: ratones no expuestos a ningún agente exógeno.

De los 10 metabolitos aislados del extracto de la planta *D. lenticellare*, tan sólo 3 manifestaron estos efectos sobre la actividad cardíaca de los ratones, proponiendo a estas estructuras como candidatos para el desarrollo de nuevos agentes con

actividad cardiovascular. Sin embargo, la poca disponibilidad de estos alcaloides en la naturaleza y la baja eficiencia de los protocolos desarrollados hasta el momento, han limitado su estudio en investigaciones enfocadas en elucidar su mecanismo de acción o explorar otras dianas biológicas.

Adicionalmente, un derivado con el núcleo 1-feniletiltetrahydroisoquinolínico de origen sintético, y que ha sobresalido en la química medicinal, es el (*R*)-(+)-almorexant **94**, el cual resultó ser un antagonista dual de los receptores de la orexina convirtiéndolo en un potencial fármaco para el tratamiento del insomnio [18]. Este agente fue descubierto por las compañías Actelion y GlaxoSmithKline en el 2007 quienes invirtieron USD 147 millones para el desarrollo de este fármaco, esperando una ganancia de USD 3.2 billones si finalmente era aprobado por la FDA para su comercialización. A pesar de haber alcanzado ensayos clínicos de fase III en el 2009 y ser más potente que algunas benzodiacepinas reconocidas, el proyecto fue abandonado en el 2011 debido a efectos secundarios que causaba, como mareos, náuseas, fatiga y dolor de cabeza. No obstante, algunos grupos de investigación continúan estudiando su síntesis [19] y los efectos o propiedades biológicas de este compuesto bajo el enfoque del redescubrimiento de nuevos fármacos a partir de estructuras denominadas “candidatos fallidos” provenientes de estudios clínicos realizados en décadas anteriores (Esquema 23) [20].

Esquema 23. Síntesis de la 1-feniletiltetrahidroisoquinolina **93**, precursor del (*R*)-(+)-almorexant **94**.



2.2.2 Transferencia Asimétrica de Hidrógeno (AHT). Historia, mecanismo y

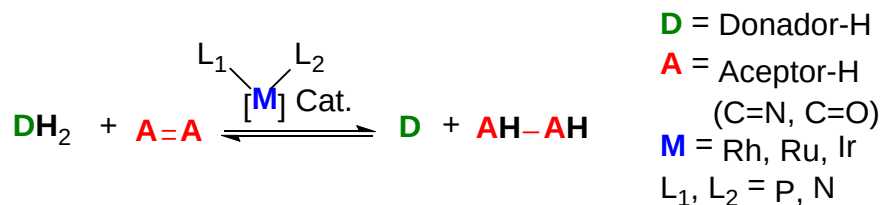
aspectos generales. La hidrogenación es una de las transformaciones más relevantes en la síntesis orgánica; en términos generales, es una reacción entre un sustrato insaturado e hidrógeno molecular (H_2) catalizada por un metal (Pd, Ni, Pt). Hoy en día, es un proceso común en el laboratorio y en la industria para la obtención de compuestos saturados como alcanos, alcoholes y aminas, sin embargo, su baja selectividad y la formación de productos como mezclas racémicas ha limitado su uso en áreas como la industria farmacéutica y agroquímica, las cuales demandan nuevos alcoholes y aminas ópticamente activas, ya sea como intermediarios o productos finales.

Para superar estas limitaciones, a partir de 1956 comenzó el desarrollo de la hidrogenación asimétrica con la introducción de catalizadores de paladio depositados en fibras de seda, pero fue sólo hasta principios de 1980 que en realidad inició el desarrollo de lo que hoy se conoce como Transferencia Asimétrica de Hidrógeno (AHT por sus siglas en inglés) [21] con la introducción de catalizadores quirales de iridio (Ir), rodio (Rh) y rutenio (Ru) para reducir de manera enantioselectiva cetonas, aldehídos, enaminas e iminas. Investigaciones

que fueron lideradas por William Standish Knowles y Ryōji Noyori a quienes se les otorgó el premio Nobel en química en 2001 [22].

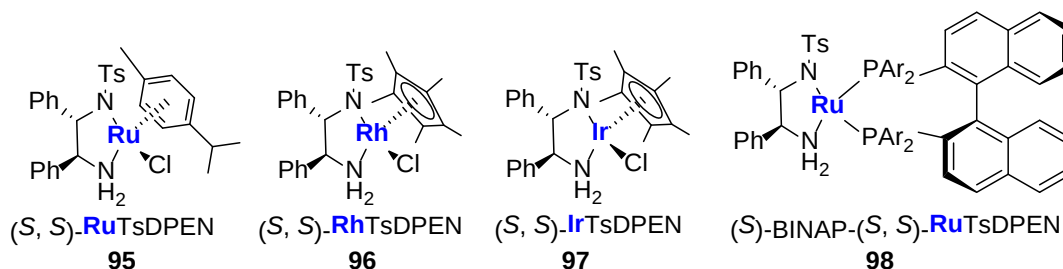
La reacción AHT es un proceso en el que una molécula de hidrógeno, proveniente de un reactivo denominado donador-H, se adiciona a un sustrato instaurado, denominado aceptor-H. Esta transferencia es promovida por un catalizador metálico quiral, quien abstrae el H₂ del donador-H y debido a la interacción de sus ligandos con el aceptor-H, transfiere este grupo de manera enantioselectiva al sustrato por una de sus dos caras (Esquema 24).

Esquema 24. Esquema general de una reacción de Transferencia Asimétrica de Hidrógeno.



En la actualidad, se han desarrollado varios catalizadores metálicos, especialmente complejos de iridio, rodio y rutenio que utilizan como ligandos compuestos de fosforo o diaminas en diversas conformaciones, como carbenos *N*-heterociclos, complejos medio sándwich y di- o tri-dentados, los cuales son empleados en la síntesis de compuestos de origen natural y sintético (Esquema 25) [23].

Esquema 25. Principales catalizadores empleados en las reacciones AHT.

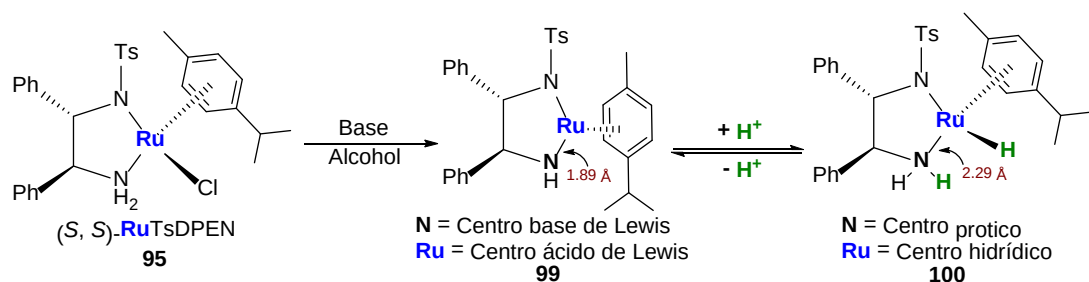


Los catalizadores **95-98** se han denominado catalizadores de Noyori de primera (**95-97**) y segunda generación (**98**), los cuales particularmente presentan más de un ligando quiral en su estructura (BINAP y DPEN) y son más empleados en la reducción enantioselectiva de cetonas [24]. Uno de los sustratos más estudiados en reacciones de AHT son las iminas, no sólo debido a la importancia de obtener aminas quirales, sino porque su uso implica de por sí un reto para la química orgánica ya que son compuestos inestables y poco reactivos en reacciones de hidrogenación enantioselectiva. Los complejos **95** y **96** han sido los catalizadores más estudiados en la reacción AHT, donde el ligando ópticamente activo *N*-toluensulfonil-1,2-difeniletildiamino (TsDPEN), ha permitido la obtención de aminas en excelentes rendimientos, con excesos enantioméricos superiores al 99 % y al ser empleado en cantidades menores a 5 mol %. Si bien se encuentran disponibles comercialmente, su preparación es relativamente sencilla y puede realizarse en tres etapas a partir del ácido *p*-toluensulfónico, el ligando quiral (1*S*,2*S*)-1,2-difeniletildiamina y el cloruro de rutenio [25].

La primera reacción AHT de iminas catalizada por el complejo **95** fue reportada por Noyori en 1996 [26]. No obstante, su mecanismo de reacción continúa siendo

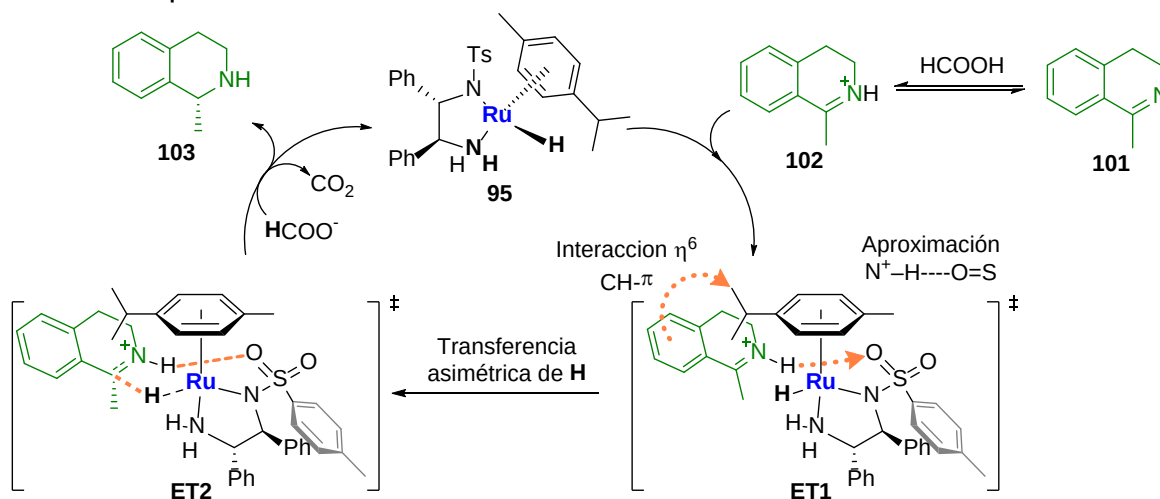
estudiado y discutido hasta hoy día, describiendo desde el comportamiento del catalizador, los posibles intermediarios de la reacción, estados de transición e interacciones entre el sustrato, disolventes y fuentes de hidrógeno. El complejo **95**, que en realidad no es el verdadero catalizador de la reacción AHT, reacciona en presencia de una base y un alcohol rápidamente para convertirse en una especie denominada complejo amido de Ru quirál **99**, un complejo neutral de 16 electrones con una geometría cuadrada plana donde la distancia Ru-N es de 1.89 Å. Finalmente, la reacción de **99** con un donador de protones produce el complejo amino hidrido de Ru **100**, quien es realmente el catalizador de la reacción AHT y el cual es un complejo de 18 electrones con una geometría octaédrica distorsionada que presenta una distancia del enlace Ru-N de 2.29 Å. La interacción electrostática generada en **100**, gracias a la distancia entre el NH $\cdots$ RuH, genera sobre este nitrógeno un centro prótico y sobre el metal un centro hidrídico, los cuales son los responsables de que esta especie se comporte como un catalizador molecular bifuncional. De esta forma ocurre la aproximación del catalizador (centro metálico) al grupo insaturado, y una vez se encuentra en la conformación más estable gracias a las interacciones del ligando quirál, se produce la transferencia de hidrógeno (Esquema 26) [27].

Esquema 26. Interconversión entre los complejos amido **99** y amino hídrido **100** de Ru, catalizadores moleculares bifuncionales.



Identificada la especie catalítica, se ha propuesto que la imina **101** es protonada, por lo general por el ácido fórmico, e ingresa al ciclo catalítico como un ion iminio **102** donde el grupo NH^+ es orientado a la conformación más estable debido a la interacción con los oxígenos del grupo sulfonilo, mientras que el carbono se ubica espacialmente más cerca al metal. Gracias a las interacciones $\text{CH}-\pi$ entre la nube electrónica η^6 del sustrato y los grupos CH del ligando en el catalizador, se conduce a la formación del estado de transición **ET1**. Así, se promueve la transferencia de hidrógeno de manera enantioselectiva a través del estado de transición **ET2**, generando la respectiva amina quiral **103** y regenerando el catalizador gracias a la transformación del ion formiato en dióxido de carbono, para dar inicio a otro ciclo catalítico (Esquema 27) [27b].

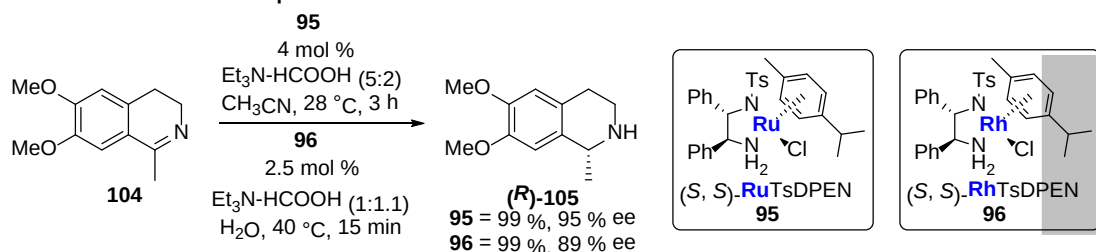
Esquema 27. Posible mecanismo de reacción para la AHT de iminas cíclicas **101** en aminas quirales **103**.



Durante el desarrollo de la reacción AHT, Noyori y otros investigadores establecieron las condiciones óptimas para esta reacción, donde se encontró que: una mezcla azeotrópica conformada por ácido fórmico y trietilamina en relación 5:2, actuaba como fuente de hidrógeno, mientras que una proporción de 4 mol % del catalizador **95** en acetonitrilo como disolvente a una temperatura de 28 °C por un periodo de 3 horas generaba la respectiva amina **105** a partir de la 3,4-dihidroisoquinolina **104** con un rendimiento del 99 % y un ee del 95% (Esquema 28) [27a]. Sin embargo, varios estudios que han revelado la versatilidad y diversas aplicaciones de la reacción AHT en la reducción enantioselectiva de distintas iminas, han encontrado que este proceso también puede llevarse a cabo en agua cuando se emplean tensoactivos como el bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB) y ligandos especiales que generan complejos de rutenio solubles en agua [28], o también empleando complejos de rodio **96** variando las cantidades de trietilamina y el ácido fórmico hasta una proporción de 1:1.1 y a una mayor

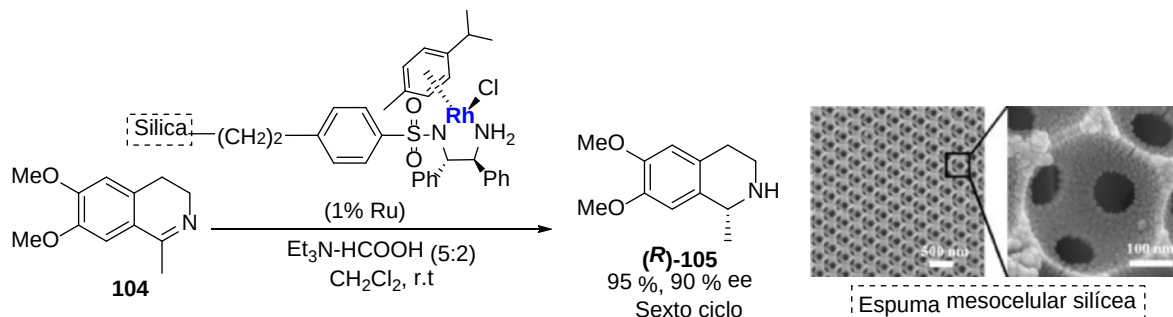
temperatura, lo que mejora los tiempos y los rendimientos de la reacción aunque sacrifica la enantioselectividad (Esquema 28) [29].

Esquema 28. Síntesis enantioselectiva de (*R*)-1-metil-6,7-dimetoxitetrahydroisoquinolina **105**.



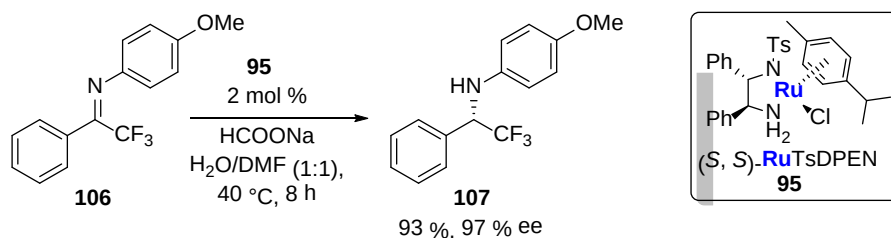
La posibilidad de emplear agua como disolvente incentivó la investigación de metodologías verdes y amigables que pudieran aplicarse a las reacciones AHT y el siguiente paso fue el desarrollo de materiales en los que el complejo metálico pudiera ser soportado y de esta forma reutilizado en varios ciclos. Un ejemplo de ello fue el material conocido como espuma mesocelular sílicea, caracterizada por tener unos poros (20-50 nm) conectados cada 9-26 nm. Esta sílice microesférica facilitó el transporte de los sustratos a través de los complejos catalíticos inmovilizados sin ningún impedimento estérico y permitió obtener el compuesto **105**, en el sexto ciclo, con un rendimiento del 95 % y un 90 % ee (Esquema 29) [30].

Esquema 29. Síntesis enantioselectiva de (*R*)-1-metil-6,7-dimetoxitetrahidroisoquinolina **105** empleado el complejo **196** soportado en espuma mesocelular sílicea.



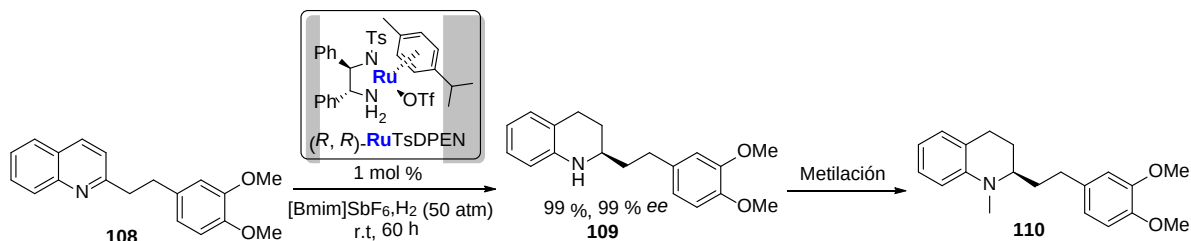
Además de emplear la mezcla azeotrópica $\text{Et}_3\text{N-HCO}_2\text{H}$ como fuente de hidrógeno, donde al protonarse la trietilamina se forma la especie Et_3NH^+ capaz de competir con el sustrato por los oxígenos del grupo sulfonilo, otras fuentes como el formiato de sodio (HCOONa) han sido empleadas como fuentes de hidrógeno alternativas para la reacción AHT con el propósito de evitar que el catalizador se “envenene”. Una de las más recientes investigaciones que emplea el formiato de sodio como fuente de hidrógeno en la reacción AHT, es el reporte donde se reduce de manera asimétrica las α -trifluorometiliminas **106** para generar las respectivas aminas quirales **107** de interés con un rendimiento del 93 % y un 97 % ee al emplear tan sólo 2 mol % del catalizador **95**, en una mezcla agua/dimetilformamida (1:1) como disolvente y una temperatura de 40 °C (Esquema 30) [31].

Esquema 30. Síntesis enantioselectiva de α -trifluorometilaminas **107** empleado formiato de sodio como fuente de H.



Los complejos de Noyori no sólo han sido empleados para la reducción de iminas y cetonas, bajo ciertas condiciones de reacción también se han obtenido tetrahydroquinolinas de manera enantioselectiva mediante la reacción AHT de quinolinas sustituidas. Es el caso de la síntesis del alcaloide (+)-cuspareina **110**, el cual fue obtenido por la reducción y posterior metilación de la quinolina **108** (Esquema 31), empleando 1 mol % de catalizador, un líquido iónico como disolvente cuyo rol era el de estabilizar e inmovilizar el catalizador, y una presión de hidrógeno (H₂) de 50 atm. La respectiva tetrahydroquinolina **109** fue obtenida en un rendimiento del 99 % y un 99 % ee tras 60 horas de reacción y finalmente fue metilada para generar el compuesto de interés (Esquema 31) [32].

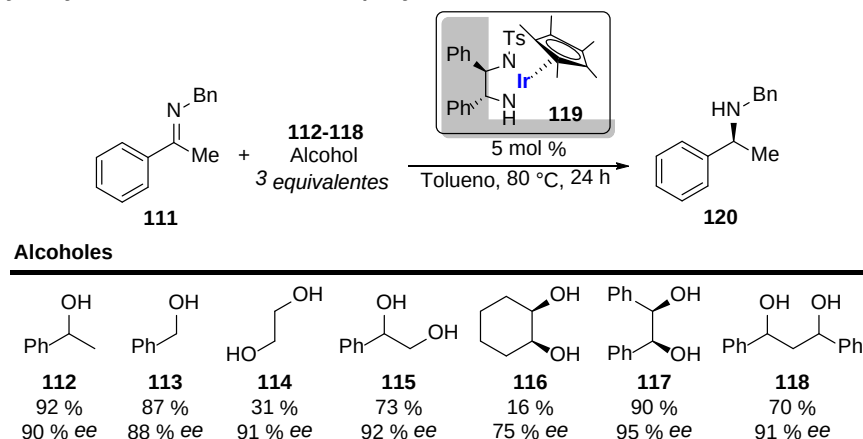
Esquema 31. Reacción AHT empleada para la reducción enantioselectiva de quinolinas bajo atmosfera de hidrógeno.



Recientemente, Pan y colaboradores reportaron el uso de diversos alcoholes como moléculas donador-H en la reducción enantioselectiva de iminas con el fin

de evitar el uso de aditivos o el uso de donadores de hidrógeno tradicionales [33]. Así, empleando el catalizador de iridio **119**, estudiaron el efecto de diversos alcoholes **112-118** como fuentes de hidrógeno de la reacción AHT para la reducción de la imina **111** (Esquema 32). La correspondiente amina quiral **120** fue obtenida con un rendimiento del 90 % y un 95 % ee al emplear el alcohol **117** y tras 24 horas de reacción a una temperatura de 80 °C. Este trabajo ha revelado aún más detalles del mecanismo de la reacción AHT, donde contrario a lo que se creía en un principio, el sistema Et₃N-HCO₂H o el HCOONa como fuentes de hidrógeno, no juegan un papel determinante sobre la enantioselectividad de la reacción AHT (Esquema 32) [33].

Esquema 32. Reacción AHT empleando alcoholes como fuente alternativa de hidrógeno y bajo la catálisis de complejos de iridio.

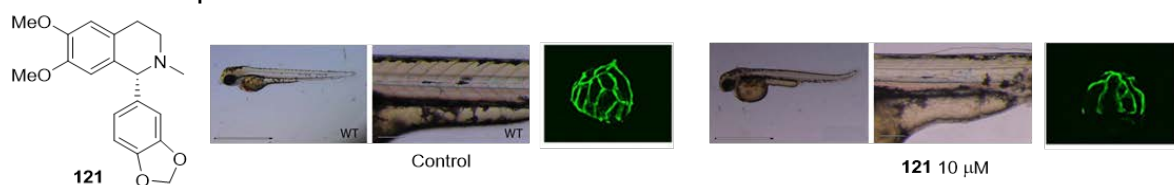


Se ha establecido que la reacción AHT es muy sensible a cualquier cambio en los parámetros de reacción, estructura y naturaleza de los sustratos, concentración del sustrato y catalizador, fuente de hidrógeno, temperatura y solvente; parámetros que determinan la cinética de la reacción, el rendimiento y la

enantioselectividad del proceso. Por tal motivo, algunos autores han descrito la relación que puede existir entre estos parámetros en términos de la eficiencia de la reacción AHT, sugiriendo que al evaluar la reducción enantioselectiva de nuevos sustratos (C=O y C=N), se deben estudiar cada una de las variables que afectan este proceso puesto que los protocolos ya descritos por lo general no pueden ser extrapolados a dichos sistemas insaturados [34].

2.2.3 Cambios fenotípicos inducidos en embriones de pez cebra por tetrahydro isoquinolinas. Se ha reportado que algunos compuestos *N*-metil-tetrahydroisoquinolínicos análogos a los alcaloides *Dysoxylum*, como el derivado **121**, han sido patentados como agentes anti-angiogénicos y promisorios agentes anticancerígenos, donde los principales cambios fenotípicos han determinado la formación de edemas en el saco vitelino y en la región intestinal, además de curvatura dorsal en la cola. El efecto anti angiogénico se evidencio con la inhibición en la formación de somitas en la espina dorsal, confirmándolo mediante ensayos de fluorescencia empleando peces transgénicos *Tg(fli1:EGFP)^{y1}* (Figura 37) [35].

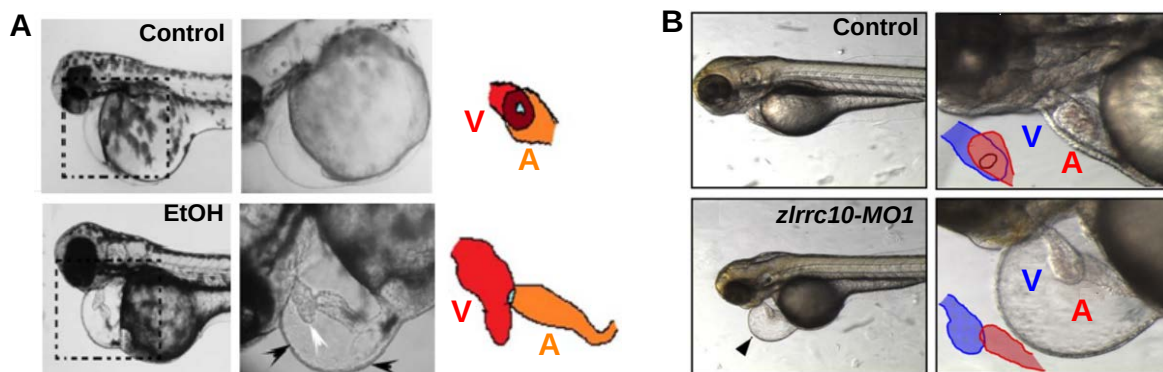
Figura 37. Principales cambios fenotípicos inducidos por la *N*-metil-tetrahydroisoquinolína **121**.



Teniendo en cuenta los reportes previos en los que se ha establecido la actividad cardiaca de los alcaloides *Dysoxylum*, el modelo del pez cebra resultaría ideal

para determinar el efecto de los compuestos que se planean sintetizar sobre el sistema cardiovascular de este organismo, identificando aquellas moléculas más activas. Como principales fenotipos visibles que podrían establecer esta relación estructura-actividad, se encuentran la estimación de los latidos del corazón después de la exposición química, que en el pez cebra es de 120-180 latidos/minuto bajo condiciones normales [36a], así como también aquellas defectos de la cavidad cardiaca, conocidas como edemas pericárdicos, o alteraciones durante el desarrollo del corazón, manifestadas por la elongación de estas cavidades ventricular (V) y auricular (A), separándolas y afectando la funcionalidad de los ventrículos y el flujo sanguíneo en embriones tratados con etanol (3 %, 1 hora/día) (Figura 38A) [36b]. Por su parte Kim y colaboradores realizaron la modificación genética de embriones de pez cebra para reducir la expresión del gen *lrrc10* empleando oligonucleótidos morfolino. Así, al evaluar el desarrollo cardiovascular de la línea genética *zlrrc10-MO1* se encontró que en estos embriones las cavidades cardiacas exhiben una elongación de las cavidades ventricular y auricular similar a la mostrada por el tratamiento de embriones no modificados genéticamente al ser expuestos al etanol, estableciendo que posiblemente el etanol afecte la expresión del gen *lrrc10* (Figura 38B) [36c].

Figura 38. Cambios fenotípicos relacionados con el desarrollo y la actividad cardíaca en el pez cebra. **A** edemas pericárdiacos y malformaciones en la cámara ventricular (V) y auricular (A) inducidas por etanol. **B** malformaciones en las cámaras ventriculares en embriones modificados *zlrrc10-MO1* donde se ha reducido la expresión del gen *Lrrc10*.



2.3 HIPÓTESIS

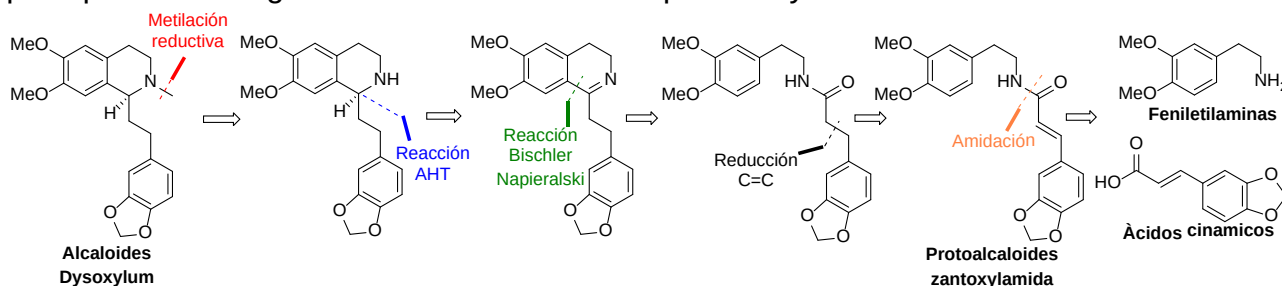
Al revisar y evaluar la bibliografía científica con respecto a las rutas actuales para la síntesis de alcaloides *Dysoxylum*, se planteó realizar la síntesis total de estos alcaloides a partir de reactivos comerciales y de fácil acceso y evitando el uso de condiciones de reacción drásticas y de múltiples etapas, diseñando una novedosa ruta sintética de cinco etapas que tienen como eje central la reacción Bischler-Napieralski y la reacción de transferencia asimétrica de hidrógeno (AHT). Así, con base en los resultados obtenidos en el capítulo anterior, se espera dar respuesta a los siguientes interrogantes:

¿Podrán los protoalcaloides zantoxylamidas y sus derivados sintéticos ser empleados como materiales de partida para la síntesis de las respectivas 3,4-dihidroisoquinolinas?

¿Se logrará establecer que catalizador, aditivo, y temperatura favorecerán la reducción enantioselectiva de las 3,4-dihidroisoquinolinas para formar el núcleo

tetrahidroisoquinolínico, fundamental para la síntesis de los alcaloides *Dysoxylum* según el análisis retrosintético descrito en el Esquema 33?

Esquema 33. Análisis retrosintético de la (S)-dixosilina empleando como principales estrategias la reacción Bischler-Napieralski y la reacción AHT.



¿Resultarán los alcaloides *Dysoxylum* más o menos tóxicos que sus precursores, los protoalcaloides zantoxylamidas, y se podrá correlacionar los cambios fenotípicos inducidos en el modelo del pez cebra con la actividad cardiovascular cronotrópica que estos metabolitos secundarios han presentado en otros ensayos biológicos ya reportados?

2.4 OBJETIVOS

2.4.1 Objetivo general

Plantear una ruta para la síntesis enantioselectiva de alcaloides *Dysoxylum* a partir de compuestos análogos al protoalcaloide zantoxylamida con base en las reacciones Bischler-Napieralski y transferencia asimétrica de hidrógeno y determinar su toxicidad y cambios fenotípicos inducidos en el modelo del pez cebra con el fin de comparar su bioprospección con las cinamamidas precursoras.

2.4.2 Objetivos específicos

- Realizar la reducción del doble enlace C=C en la serie de *N*-feniletil cinamamidas seleccionadas empleando la reacción de hidrogenación catalítica empleando paladio soportado en carbón activado como catalizador.
- Promover la ciclación intramolecular de las *N*-feniletil-3-fenil-propanamidas preparadas a través de la reacción Bichler-Napieralski estableciendo las mejores condiciones de reacción para la obtención de una nueva librería de 1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolinas.
- Establecer los parámetros adecuados que involucren las variables: catalizador, solvente, temperatura, tiempo y fuente de hidrógeno, que promuevan la transferencia asimétrica de hidrógeno de las 1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolinas para la obtención de las respectivas 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas con un alto exceso enantiomérico.
- Realizar la *N*-metilación de las 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas obtenidas previamente para generar los alcaloides 1-feniletiltetrahidroisoquinolinicos y sus respectivos análogos estructurales.
- Caracterizar los compuestos obtenidos (intermediarios y finales) por medio de métodos espectroscópicos y espectrométricos.
- Determinar la toxicidad, concentración letal media (LC₅₀), de los alcaloides *Dysoxylum* en embriones de pez cebra durante las primeras 96 hpf con base en el ensayo ZFET.

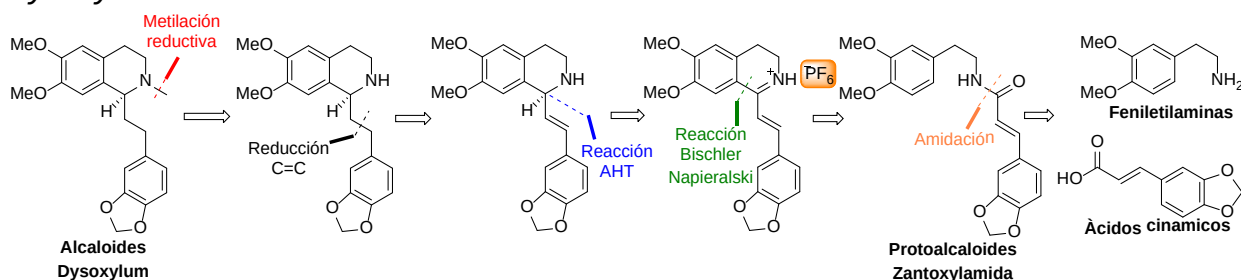
- Reconocer y describir los cambios morfológicos congénitos (en cabeza, espina dorsal, saco vitelino y órganos principales) inducidos por los alcaloides *Dysoxylum* durante el desarrollo del pez cebra a concentraciones por debajo de la LC₅₀.

2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.5.1 Síntesis biomimética de alcaloides 1-feniletiltetrahidroisoquinolínicos.

Transformación química de los protoalcaloides zantoxylamida a los alcaloides *Dysoxylum*. En la propuesta aprobada, y como objetivo principal de esta investigación, se planteó un análisis retrosintético para los alcaloides *Dysoxylum*, empleando las *N*-feniletíl cinamamidas **33a-t** como sustratos de partida. Así, se describiría la síntesis biomimética de los alcaloides 1-feniletiltetrahidroisoquinolínicos, emulando las transformaciones que ocurren en la naturaleza para dar lugar a la formación de los intermediarios y productos deseados según el análisis retrosintético descrito en el Esquema 34 [37].

Esquema 34. Análisis retrosintético planteado para la obtención de los alcaloides *Dysoxylum*.

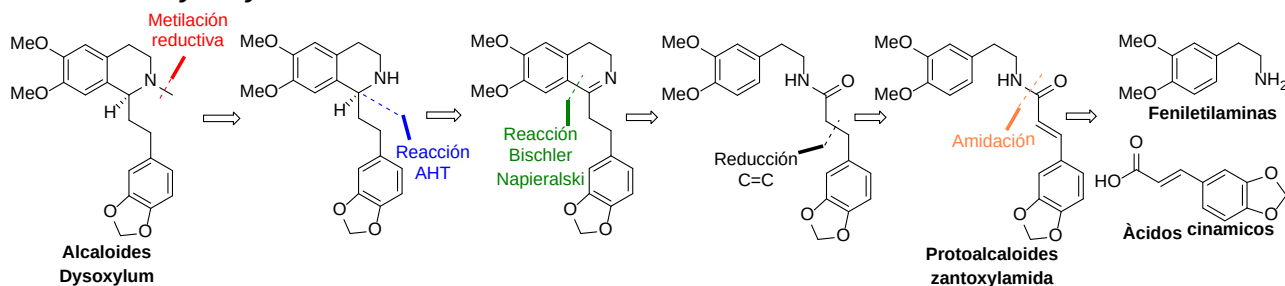


No obstante, al ejecutar esta hipótesis, tal y como se describe en el Capítulo 1, se presentaron ciertas dificultades donde las respectivas 1-estiril-3,4-dihidroisoquinolinas no resultaron reactivas bajo las condiciones de la reacción AHT para la formación del centro estereogénico en el carbono C-1, ya que estos intermediarios fueron aislados como sales de hexafluorofosfato (Tabla 7).

Por tal motivo, un nuevo análisis retrosintético debía ser planteado bajo los mismos principios y filosofía. Conociendo que los metabolitos secundarios **33a-t** son biosintetizados a partir de tirosina y derivados cinamil coenzima-A bajo la acción de las enzimas tirosin descarboxilasa (TYDC) y la tiramin *N*-hidroxicinamoil transferasa (THT) [38]; que estas amidas pueden generar intermediarios isoquinolínicos por la acción de la estrictosidina sintasa (Pictet-Spenglerasa) [39], tal y como ocurre durante la biosíntesis de la colchicina [40]; y teniendo en cuenta los resultados obtenidos durante la ejecución de la estrategia descrita en el Esquema 33. Así, la hipótesis replanteada para este capítulo demuestra argumentos que validan su formulación y aseguran su éxito; como el uso de las 3,4-dihidroisoquinolinas como bases libres. Habiendo estipulado en el Capítulo 1 que el aislamiento y estabilidad de los productos de la reacción Bischler-Napieralski **37a-I** obtenidos previamente como sales estaba relacionado con el doble enlace C=C presente en las cinamamidas, el nuevo análisis retrosintético sólo se modificó en el intercambio de una de las etapas sintéticas en donde se debe eliminar el doble enlace C=C antes de efectuar la reacción Bischler-Napieralski. Formulando así una estrategia en la que no se afecta el número de

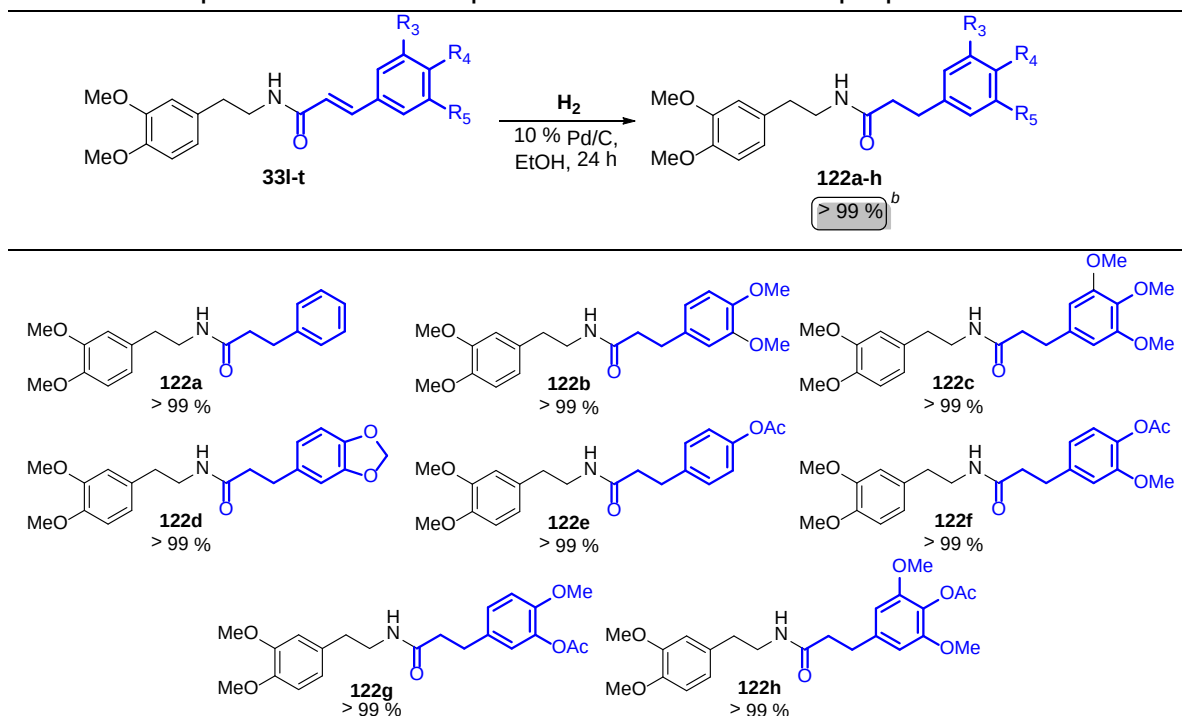
etapas y que continua bajo los principios de la síntesis biomimética: la obtención de los alcaloides *Dysoxylum* a través de una serie de intermediarios y transformaciones químicas similares a los procesos naturales que ocurren durante su biosíntesis (Esquema 35).

Esquema 35. Análisis retrosintético replanteado para la obtención de los alcaloides *Dysoxylum*.



De esta forma, la hidrogenación catalítica para la reducción del doble enlace C=C presente en los carbonos α - y β - de las cinamamidas se realizó bajo atmósfera de hidrógeno (1 atm), a temperatura ambiente y empleando paladio sobre carbón activado como catalizador (10 % Pd/C). Con base al estudio previo donde se establecieron los parámetros estructurales para la reactividad de las feniletilamidas en la reacción Bischler-Napieralski (Tabla 4) y revisando la estructura de los alcaloides *Dysoxylum*, se seleccionaron aquellas *N*-feniletil cinamamidas **33l-t** aptas para la preparación de los productos deseados, obteniendo en esta etapa las respectivas *N*-feniletil-3-fenil-propanamidas **122a-i** en rendimientos cuantitativos (Tabla 14).

Tabla 14. Preparación de las respectivas *N*-feniletil-3-fenil-propanamidas **122a-h**.^a

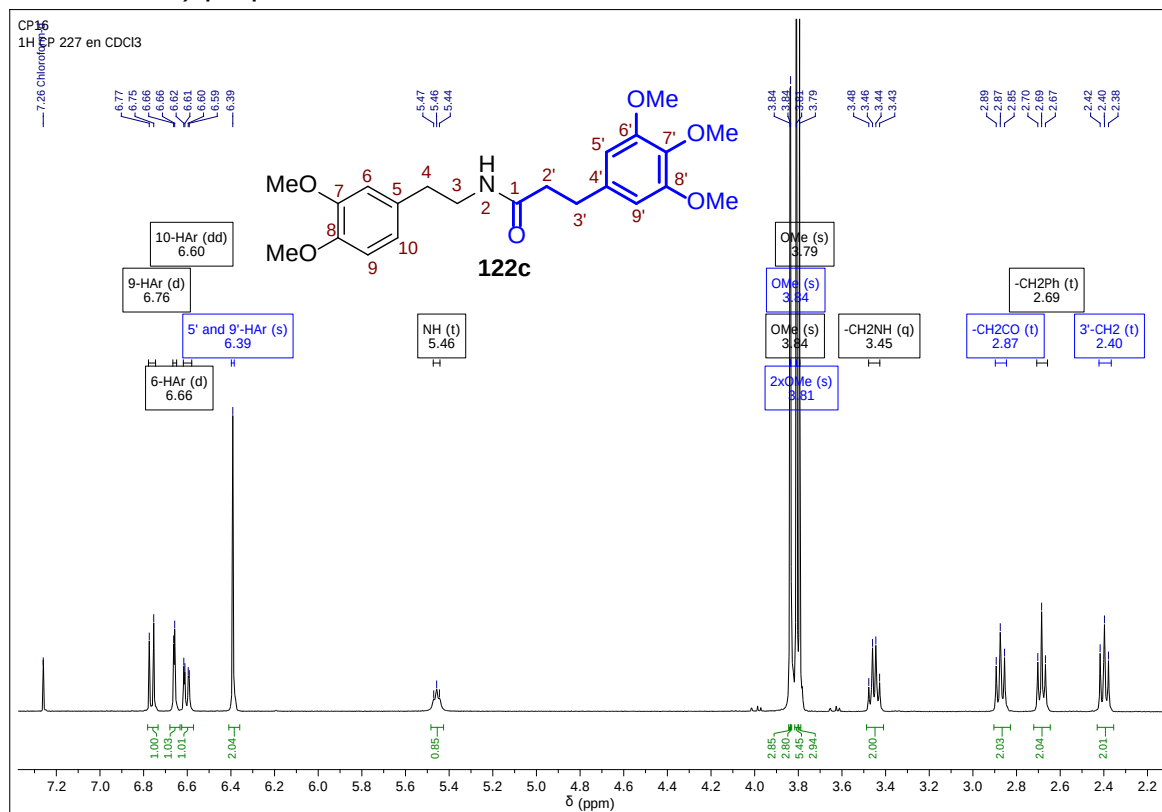


^a Condiciones de reacción: *N*-feniletil cinamamidas **33l-t** (3 mmol), 10 % Pd/C (50 mg), EtOH (20 ml, 0.15 M), bajo atmósfera de H_2 a temperatura ambiente por 12 h. ^b Rendimiento del producto después de eliminar el catalizador por filtración y el solvente a presión reducida.

Las respectivas *N*-feniletil-3-fenil-propanamidas **122a-h** se obtuvieron como sólidos estables y en todos los casos con una alta selectividad y con rendimientos cuantitativos, aspectos característicos de esta reacción, donde ninguno de los grupos funcionales presentes en los sustratos **33l-t** interfirieron o se vieron afectados durante el transcurso de la hidrogenación. Los productos **122a-h** pudieron ser caracterizados a través de la determinación de sus propiedades físicas y espectroscópicas: punto de fusión, espectroscopía IR y espectrometría de masas, pero fueron los experimentos de resonancia magnética nuclear de protones los que confirmaron el éxito de la reacción (ANEXOS 45-52). A manera

de ejemplo, se muestra el espectro ^1H -RMN de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletíl)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-propanamida **122c** (Figura 39).

Figura 39. Espectro de ^1H RMN de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletíl)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-propanamida **122c**.



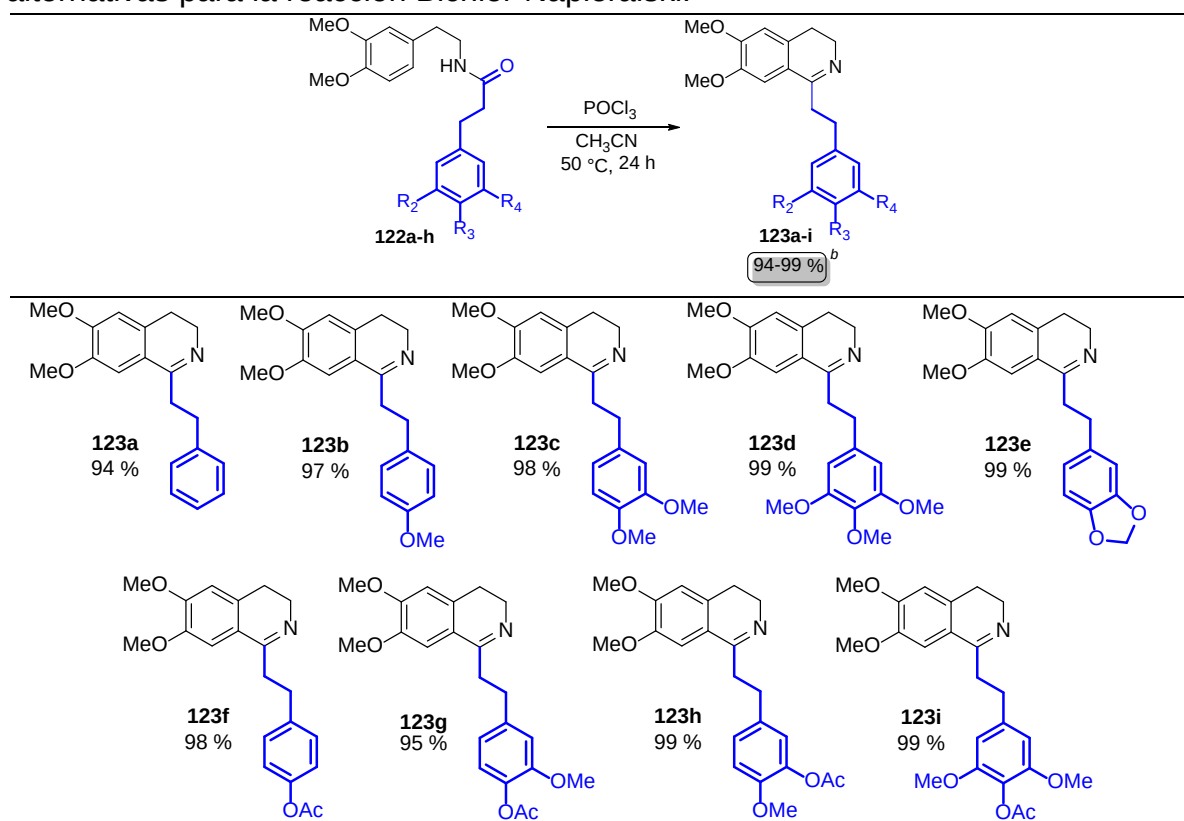
La reducción del doble enlace $\text{C}=\text{C}$ se confirma en el espectro de ^1H -RMN con la desaparición de las señales de los protones olefínicos ubicadas en la región aromática (6-7 ppm), que se presentaban como dobletes e interactuaban con una constante de acoplamiento de aproximadamente 15 Hz, y con la aparición de las nuevas señales en la región alifática (2-3 ppm). Comenzando desde campos altos a campos bajos, se encuentra la señal a 2.40 ppm desdoblada como un triplete ($J = 7.6$ Hz) correspondiente al nuevo grupo metilénico ($3'-\text{CH}_2$) que

interacciona con el segundo grupo 2'-CH₂ enlazado al carbono carbonílico (2.87 ppm, t, $J = 7.6$ Hz). Por su parte, el grupo -CH₂ unido al anillo aromático del fragmento amina se ubica a 2.69 ppm y se desdobra como un triplete con constante de acoplamiento $J = 7.0$ Hz, mientras que el otro grupo metilénico (-CH₂-NH) enlazado al nitrógeno amídico se desdobra como un cuartete ($J = 6.9$ Hz). A continuación, se encuentran las señales intensas como un singuletes que corresponden a los cinco grupos metoxi entre a 3.79-3.84 ppm, y hacia valores de campo más bajo se encuentra la señal del grupo NH a 5.46 ppm desdoblada como un triplete ($J = 6.9$ Hz). Finalmente, los protones aromáticos de los dos anillos se encuentran en la región comprendida entre 6.39-6.66 ppm (Figura 39).

Tras la obtención y caracterización de las *N*-feniletil-3-fenil-propanamidas **122a-h**, se continuó con la ejecución del análisis retrosintético planteado en el Esquema 34 para la obtención de los alcaloides *Dysoxylum*, donde el paso a seguir conllevaba el uso de los compuestos **122a-h** como precursores de la reacción Bischler-Napieralski. A pesar de haber optimizado las condiciones para esta reacción (Tabla 5, Esquema 10), en esta etapa se optó por no emplear el mismo disolvente ([bmim]PF₆) para la formación de las respectivas 1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolinas **123a-i** con el fin de obtener los compuestos deseados como bases libres y no como sales de hexafluorofosfato, que dificultaría efectuar la reacción AHT tal y como se evidenció en los experimentos realizados (Tabla 7). Para esta etapa, la reacción Bischler-Napieralski con las *N*-feniletil-3-fenil-propanamidas **122a-h** se realizó con acetonitrilo (CH₃CN) bajo los mismos parámetros de temperatura,

tiempo y cantidades estequiométricas descritos en la Tabla 5 (Experimento 6), encontrando satisfactoriamente que bajo estas condiciones (*N*-feniletil-3-fenilpropanamida **122a-h** (2 mmol), POCl₃ (3 mmol, 1.5 equiv), CH₃CN (5 mL) a 50 °C por 24 horas), las respectivas 1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolinas **123a-i** deseadas se obtuvieron con excelente rendimiento y selectividad (Tabla 15).

Tabla 15. Síntesis de 1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolinas **123a-i** bajo condiciones alternativas para la reacción Bichler-Napieralski.^a



^a Condiciones de reacción: *N*-feniletil-3-fenilpropanamidas **122a-h** (2 mmol), POCl₃ (3 mmol, 1.5 equiv), CH₃CN (5 mL) a 50 °C. ^b Rendimiento del producto después de purificado por cromatografía en columna (SiO₂).

Todos los compuestos **123a-i** fueron obtenidos como sólidos estables y en muy buen rendimiento, aspecto que no sorprendió debido a que se emplearon propanamidas sustituidas con grupos metoxi, los cuales favorecieron el transcurso

de la reacción Bischler-Napieralski (sustitución electrofílica aromática) al ser sustratos altamente activados, según lo discutido en el capítulo anterior. Adicionalmente, durante la caracterización de los productos **123a-i**, cuya función hidroxilo se encontraba protegida con el grupo acetilo (-OAc), se observó que bajo las condiciones de reacción empleadas sólo se promovía la ciclación Bischler-Napieralski y no la desacetilación del grupo -OAc, a diferencia de los resultados obtenidos previamente para los sustratos **37e-f** y **37k-l**. Esto pone en evidencia el efecto de emplear [bmim]PF₆ como disolvente, que si bien promueve la ciclación Bischler-Napieralski de manera eficiente, también promueve la desacetilación y regeneración del grupo -OH. Probablemente, el efectuar la reacción en este líquido iónico, el pH del medio cae por debajo 1 a tal punto que se induce y facilita la desacetilación de los grupos -OAc, mientras que al llevar a cabo la reacción en acetonitrilo, donde el pH del medio se mantiene en valores superiores a 1 y el grupo -OAc no se ve afectado a pesar de que la temperatura se mantiene a 50 °C por 24 horas, condiciones en las cuales la estabilidad de este grupo protector es alta y la función acetilo no es lábil.

La pureza y la caracterización estructural de las 1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolinas **123a-i** se determinaron a través de sus propiedades físicas (puntos de fusión, *R_f*) y espectroscopias (IR y RMN) (Tabla 16).

Tabla 16. Propiedades físicas y espectroscópicas de las 1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolinas **123a-i** sintetizadas.

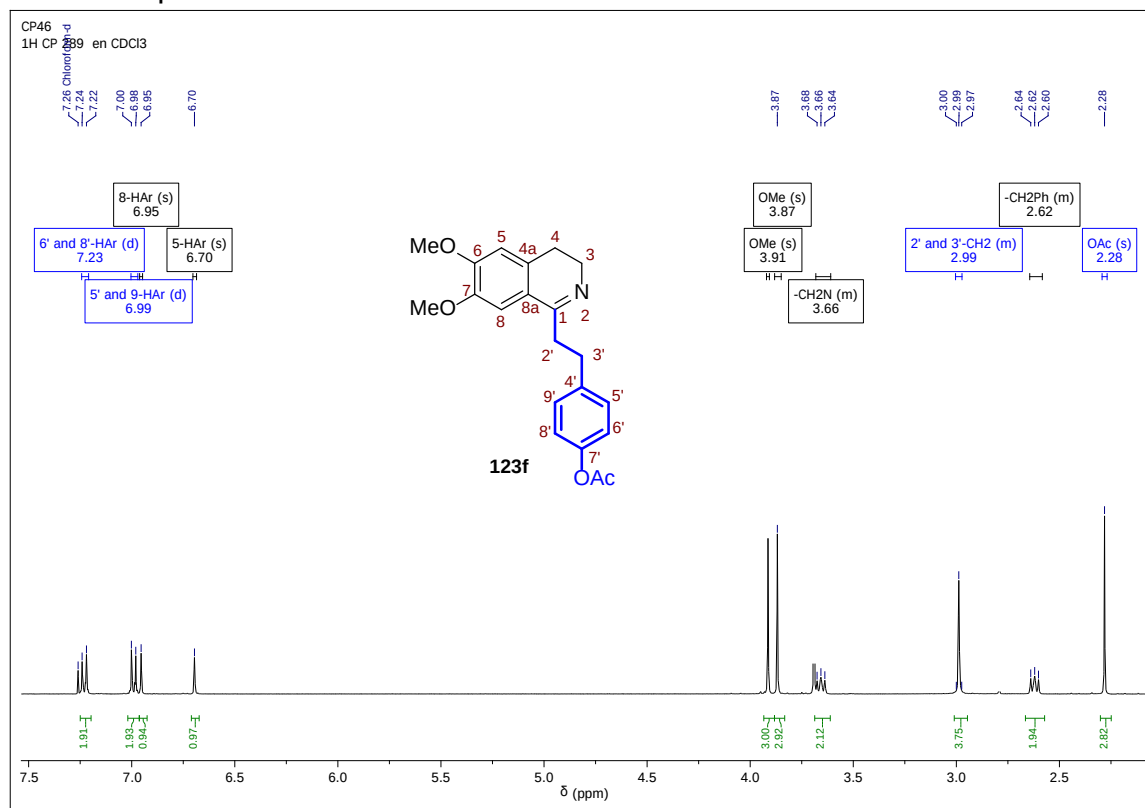
Comp.	Formula Molecular	PM (g/mol)	p.f. (°C)	<i>R_f</i> *	Rend. (%)	Bandas de absorción IR (cm ⁻¹)	
						Tensión C=N	Tensión C-C

123a	C ₁₉ H ₂₁ NO ₂	295.38	81-83	0.52	94	1604	1265
123b	C ₂₀ H ₂₃ NO ₃	325.40	143-145	0.51	91	1650	1280
123c	C ₂₁ H ₂₅ NO ₄	355.43	95-97	0.48	98	1604	1265
123d	C ₂₂ H ₂₇ NO ₅	355.46	104-106	0.42	99	1604	1265
123e	C ₂₀ H ₂₁ NO ₄	339.39	125-127	0.50	99	1604	1295
123f	C ₂₁ H ₂₃ NO ₄	353.41	132-134	0.45	98	1604	1280
123g	C ₂₂ H ₂₅ NO ₅	383.44	119-121	0.42	95	1604	1280
123h	C ₂₂ H ₂₅ NO ₅	383.44	82-84	0.43	99	1604	1280
123i	C ₂₃ H ₂₇ NO ₆	413.47	104-105	0.39	99	1635	1280

* Placas Silufol UV254. 8:1 Diclorometano/metanol

Como ejemplo se muestra el espectro ¹H RMN de la 6,7-dimetoxi-1-(4-acetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123f**, donde se aprecian las señales más representativas para la serie de moléculas **123a-i** (Figura 40).

Figura 40. Espectro de ¹H RMN de la 6,7-dimetoxi-1-(4-acetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123f**.



Se destacan las señales aromáticas a 6.95 y 6.70 ppm correspondientes a los protones 5- y 8-H_{Ar} que conforman el núcleo isoquinolínico, confirmando el éxito

de la reacción Bischler-Napieralski. Como se mencionó anteriormente, a diferencia de lo ocurrido sobre los sustratos **37e-f** y **37k-l** (Figura 20), el grupo protector -OAc no se afectó durante la reacción y se pudo ubicar la señal de esta función (-CH₃) a 2.28 ppm como un singulete. De igual forma, las señales características de los demás grupos funcionales presentes en la molécula fueron asignadas: los grupos metilénicos, tanto los -CH₂- del núcleo isoquinolínico como los del fragmento 1-feniletil, se ubicaron entre 3.66-2.62 ppm; los sustituyentes metoxi en posición C-6 y C-7 se encontraron a 3.91 y 3.87 ppm. Finalmente, los protones aromáticos restantes, 5'-9'-H_{Ar}, se encontraron a 6.99 y 7.23 ppm desdoblados como dos dobletes con constante de acoplamiento $J = 8.5$ Hz, debido a la simetría de este anillo aromático.

Los espectros obtenidos mediante espectroscopia infrarroja, espectrometría de masas y resonancia magnética nuclear, relacionados con cada uno de estos compuestos **123a-i**, se encuentran en los ANEXOS 53-61.

Una vez obtenidos los sustratos adecuados para la reacción AHT, compuestos 3,4-dihidroisoquinolínicos como bases libres, se procedió a estudiar las condiciones para esta reacción evaluando distintos solventes, fuentes de hidrógeno, temperatura y catalizador, seleccionando como sustrato modelo la 6,7-dimetoxi-1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolina **123a**. Adicionalmente, y con el fin de prevenir la degradación de la amina intermediaria, se ejecutó la secuencia de reacciones AHT/metilación reductiva, tal y como se procedió para la síntesis de las *N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas (**±**)-**40a-l** (Tabla 8), estableciendo el mejor

protocolo de reacción en función de los rendimientos globales de los dos procesos y el exceso enantiómero del producto obtenido (Tabla 17).

Tabla 17. Evaluación de las condiciones óptimas de reacción para la preparación de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **(R)-125a**^a

Exp.	Fuente de H	Disolvente	Temperatura, °C	Rendimiento (R)-125a , % ^b	ee % ^c
1	H _{2(g)} (1 atm)	CH ₃ OH	25	N.R. ^d	N.D. ^e
2	HCOOH/TEA (1.1/1)	CH ₃ OH	60	78	62
3	HCOOH/TEA (2.5/1)	CH ₃ OH	60	81	91
4	HCOONa (5 equiv)	H ₂ O/CH ₃ OH (1/3)	60	80	87
5	HCOONa (5 equiv)	H ₂ O/DMF (1/3)	60	86	88
6	HCOONa (5 equiv)	H ₂ O/DMF (1/3)	40	89	93
7	HCOONa (5 equiv)	H ₂ O/DMF (1/1)	40	92	95
8	HCOONa (5 equiv)	H ₂ O/DMF (1/1)	25	64	89
9	HCOONa (5 equiv)	H ₂ O/DMF (1/1)	40	90 ^f	94 ^f

^a Condiciones de reacción: *Primera etapa*: 3,4-dihidroisoquinolina **123a** (0.5 mmol), catalizador **95a** (2 mol %), fuente de hidrógeno, disolvente (3 mL), temperatura, 12 horas. *Segunda etapa*: **(R)-124a** (0.5 mmol), (CH₂O)_n (1.5 mmol), NaBH₃CN (0.55 mmol), ZnCl₂ (0.25 mmol), MeOH (10 mL), 6 horas. ^b Rendimiento de la reacción tras dos etapas: reacción AHT/metilación reductiva. ^c Determinado por HPLC equipado con una columna quiral KROMASIL 5-CelluCoat, Hexano:isopropanol:DEA=90:10:0,1. ^d N.R.: No hubo reacción. ^e N.D.: No determinado. ^f Reacción AHT efectuada con el catalizador **(R,R)-RuTsDPEN 95b**, obteniendo el enantiómero **(S)-125j**.

El hecho de estudiar las condiciones para la reacción AHT, teniendo en cuenta los parámetros de eficiencia y enantioselectividad, con base en el producto obtenido de la secuencia de reacciones AHT/metilación reductiva, no representa un resultado engañoso sobre el efecto que tendrían el catalizador, fuente de hidrógeno, disolvente y temperatura en la formación del producto **(R)-124**. Hoy en día, se ha establecido que la metilación reductiva es un protocolo altamente eficiente, generando derivados *N*-metil con rendimientos casi cuantitativos, y aun

cuando Ma y colaboradores [6] reportaron que bajo ciertas condiciones si se induce la racemización de los productos obtenidos, también establecieron que al efectuar este proceso a bajas temperaturas (0 °C), este fenómeno no se producía y se mantenía la configuración del centro estereogénico en el C-1.

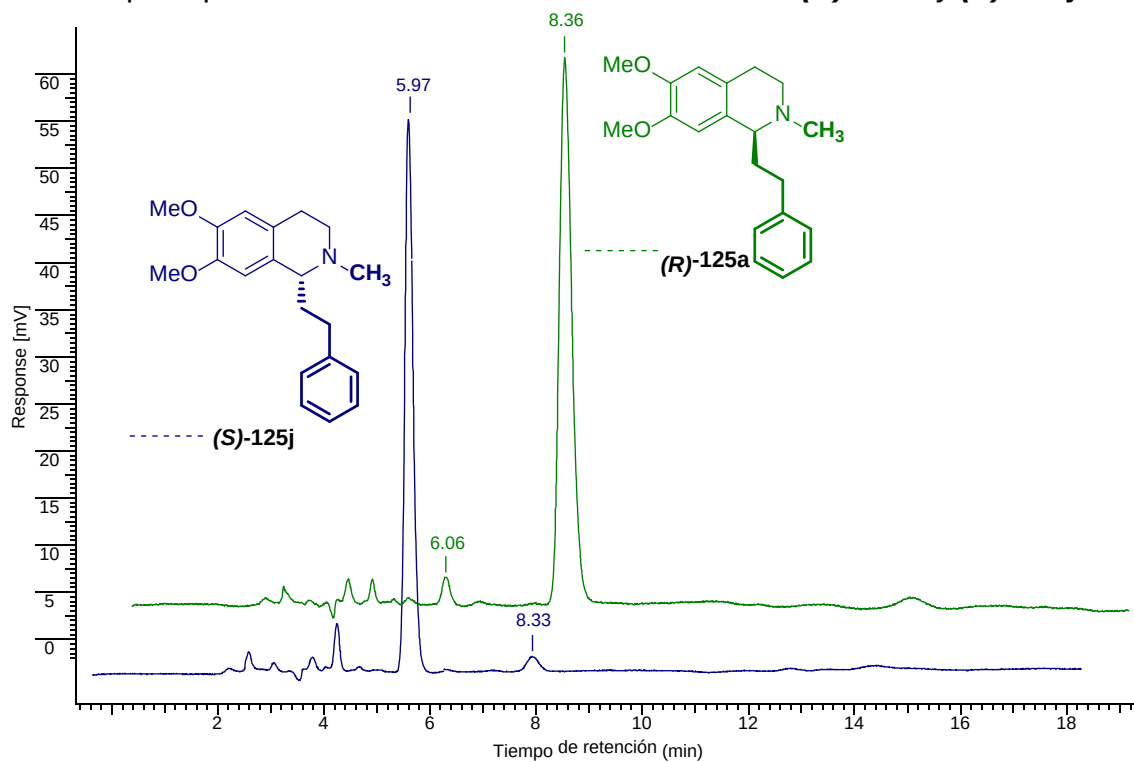
Analizando los resultados obtenidos en la Tabla 15, en primer lugar, se ha reportado el uso de hidrógeno gaseoso como fuente de H para la hidrogenación enantioselectiva de quinolinas empleando catalizadores de Noyori [41]. Sin embargo, al evaluar estas condiciones no se observó la formación del producto deseado, debido a que la reacción se llevó a cabo a presión atmosférica (Exp. 1, Tabla 17). Otras fuentes de hidrógeno se han desarrollado para la reacción AHT, principalmente el complejo azeotrópico formado entre el ácido fórmico y la trietilamina (HCOOH/Et₃N) ha sido uno de los más empleados, funcionando muy bien en términos de eficiencia y enantioselectividad en medios acuosos [42]. Debido a la insolubilidad de los compuestos **123a-i** en agua, se estudió el efecto de la relación HCOOH/Et₃N sobre el transcurso de la reacción, pudiendo aislar el producto de interés con un rendimiento del 78 % al emplear una relación 1.1/1 en un medio alternativo como el metanol. Sin embargo, el producto aislado mostró un bajo exceso enantiomérico (Exp. 2, Tabla 17). Se ha establecido que el control del pH en esta reacción resulta fundamental para la enantioselectividad, la cual está determinada por la relación HCOOH/Et₃N utilizada, siendo la más óptima 2.5/1 [29]. Satisfactoriamente, al emplear esta relación se observó una mejoría en el rendimiento y en el exceso enantiomérico del producto obtenido, 81 y 91 %

respectivamente (Exp. 3, Tabla 17). Uno de los mayores inconvenientes del sistema $\text{HCOOH}/\text{Et}_3\text{N}$ como fuente de H es que, al emplear un exceso de ácido fórmico, este tiende a descomponer los sustratos, disminuyendo el rendimiento [43], ó afectando la enantioselectividad de la reacción al perturbar el estado de transición que determina la quiralidad del proceso al interferir con las interacciones $\text{CH}-\pi$ y $\text{N}-\text{H}$ del catalizador [44]. Recientemente, se ha empleado el sistema $\text{HCCONa}/\text{H}_2\text{O}$ como fuente de H alternativa, ya que interactúa directamente con el catalizador, no con el sustrato, y se puede emplear en grandes cantidades, acelerando la reacción sin afectar la enantioselectividad, e incluyendo en el medio de reacción agua, haciéndolo un protocolo más amigable [27a]. No obstante, los resultados no fueron los esperados al emplear $\text{HCCONa}/\text{H}_2\text{O}$ como fuente de H, ya que se obtuvieron rendimientos similares y una disminución en la enantioselectividad en comparación con el sistema $\text{HCOOH}/\text{Et}_3\text{N}$ utilizando $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{OH}$ en relación 1/3 como solvente (Exp. 4, Tabla 17). Aunque al sustituir el metanol por dimetilformamida y emplear la mezcla $\text{H}_2\text{O}/\text{DMF}$ en relación 1/3 como solvente, el rendimiento de la reacción se aumentó y el exceso enantiomérico no presentó cambios significativos (Exp. 5, Tabla 17).

Otra variable determinante en la reacción AHT es la temperatura, se ha establecido según la ecuación de Arrhenius que a temperaturas entre 10-60 °C se incrementan los tiempos de reacción, pero se disminuye la enantioselectividad debido a que a altas temperaturas se favorecen estados de transición de mayor demanda energética que pueden derivar en la formación del enantiómero no

deseado [34]. Al disminuir la temperatura de reacción a 40 °C, bajo las mismas condiciones de reacción (HCCONa y H₂O/DMF), se observó un aumento leve en el rendimiento como un considerable incremento de la enantioselectividad del producto **(R)-125a** (Exp. 6, Tabla 17). Este experimento motivó a examinar la relación H₂O/DMF en proporción 1/1, donde satisfactoriamente se logró el aislamiento del producto de interés con un rendimiento del 92 % y un 95 % ee tras la secuencia de reacciones AHT/metilación reductiva, estableciéndose como el mejor protocolo de síntesis (Exp. 7, Tabla 17). Finalmente, una disminución de la temperatura de reacción a 25 °C redujo de manera considerable el rendimiento como de la enantioselectividad con la que se aislaba el producto **(R)-125a** (Exp. 8, Tabla 17). Una vez establecidas las condiciones de reacción óptimas para la síntesis enantioselectiva de la respectiva (*R*)-6,7-dimetoxi-1-feniletil-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **(R)-125a**, la robustez de nuestro protocolo se extendió al catalizador (*R, R*)-RuTsDPEN **95b**, pudiendo aislar la correspondiente (*S*)-6,7-dimetoxi-1-feniletil-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **(S)-125j** con un rendimiento del 90 % y un 94 % ee (Exp. 9, Tabla 17). La determinación del exceso enantiomérico (ee %) se realizó a través de HPLC empleando una columna quiral KROMASIL 5-CelluCoat 4.6 x 250 mm (Figura 41).

Figura 41. Cromatogramas obtenidos a través del análisis HPLC empleando columna quiral para la identificación de los enantiómeros **(R)**-125a y **(S)**-125j.

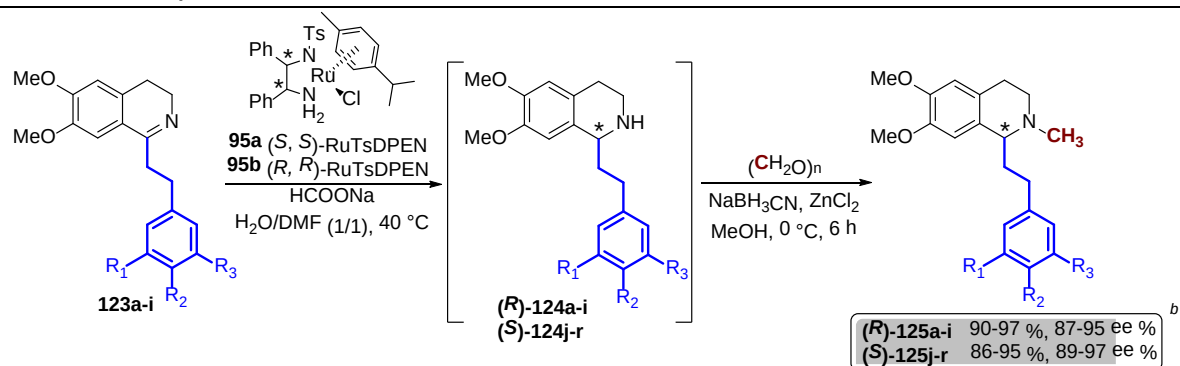


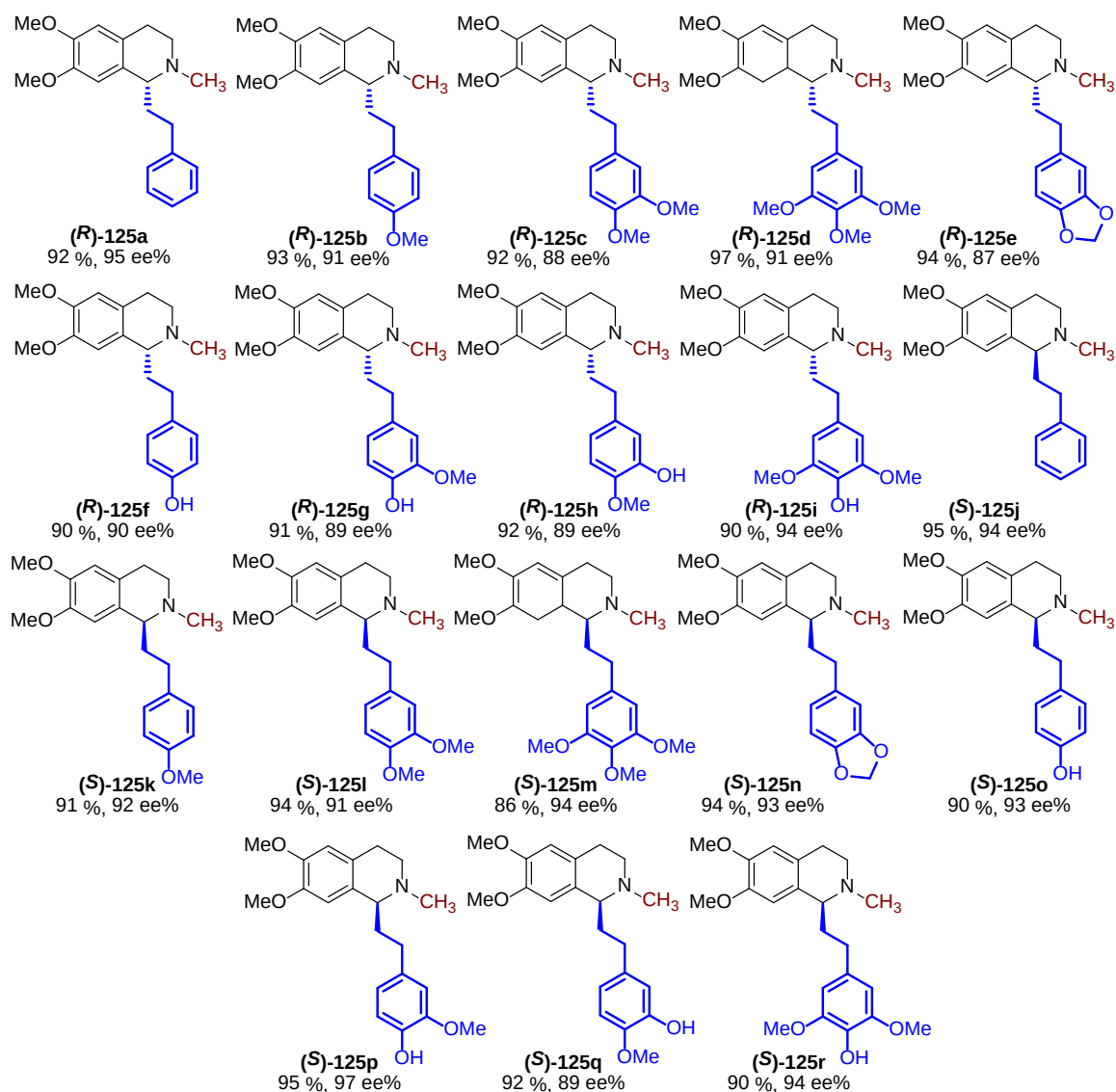
(R)-125a			
Pico	Tiempo (min)	Área [uV*sec]	Área %
1	6.06	11599.59	2.58
2	8.36	437996.74	97.42
Total		449596.33	100

(S)-125j			
Pico	Tiempo (min)	Área [uV*sec]	Área %
1	5.97	747963.04	97.05
2	8.33	22713.81	2.95
Total		770676.85	100

Una vez establecidas las condiciones para la secuencia de reacciones AHT/metilación reductiva, se procedió a extender este protocolo para la preparación de los respectivos alcaloides *Dysoxylum* y sus análogos estructurales **125a-r** partir de las correspondientes 1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolinas **123a-i** (Tabla 18).

Tabla 18. Síntesis enantioselectiva de 1-feniletil-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas **125a-r**.^a





^a Condiciones de reacción: *Primera etapa*: 3,4-dihidroisoquinolina **123a-i** (0.5 mmol), catalizador **95a-b** (2 mol %), HCOONa (2.5 mmol), (H₂O/DMF) (3 mL, 1/1), 40 °C, 12 horas. *Segunda etapa*: **124a-r** (0.5 mmol), (CH₂O)_n (1.5 mmol), NaBH₃CN (0.55 mmol), ZnCl₂ (0.25 mmol), MeOH (10 mL), 6 horas. ^b Rendimiento después de dos etapas y tras la purificación del producto obtenido por cromatografía en columna (SiO₂).

El alcance de las condiciones optimizadas para la secuencia de reacciones AHT/metilación reductiva se examinó para la serie de 1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolinas **123a-i**, estableciendo que por los rendimientos en los que se aisló cada compuesto, que ninguno de los sustituyentes presentes en los anillos

aromáticos afecta el transcurso de los procesos realizados. Hasta el momento, los trabajos científicos donde se reporta el uso de la reacción AHT y, más aún, aquellos que involucran síntesis total, describen el uso de determinado catalizador quiral (Ru, Ir, Rh) para la obtención de un determinado enantiómero (*R* o *S*), asumiendo que la robustez del protocolo establecido no se afectaría por la configuración espacial del ligando quiral en el catalizador, es decir, si un protocolo es enantioselectivo para la preparación de un enantiómero (*R* o *S*), debería ser igual de eficiente para la preparación del otro enantiómero (*S* o *R*), con sólo cambiar la configuración del catalizador.

En el caso particular de los alcaloides *Dysoxylum*, todos los esfuerzos sintéticos se han enfocado en la preparación de los análogos con configuración (*S*-), puesto que son aislados de sus respectivas fuentes naturales con esta configuración y son justamente aquellos a los que se les ha explorado sus propiedades biológicas. Por su parte, dentro de la familia de alcaloides *Dysoxylum*, la (-)-isoautumalina (Figura 35), es el único derivado que se ha aislado con configuración (*R*-), y hasta el momento se desconoce por completo sus propiedades biológicas y el potencial farmacológico que podrían llegar a tener el resto de estos alcaloides con la configuración (*R*-) en el carbono C-1.

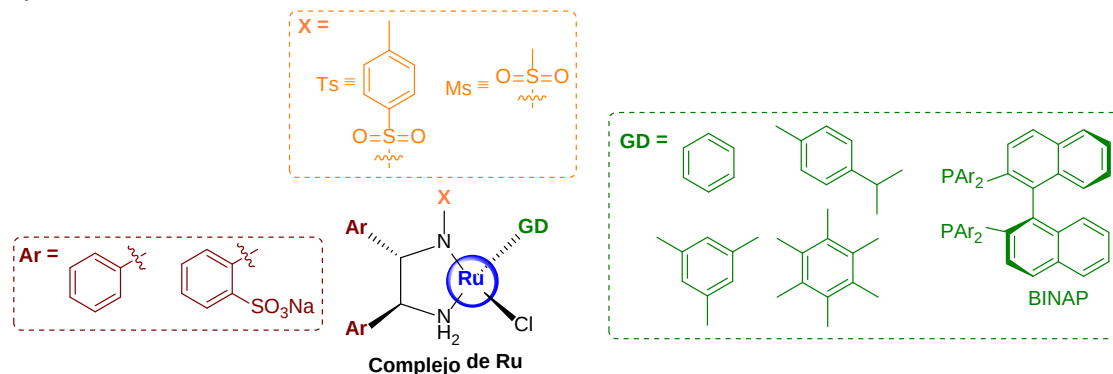
Con base en estos argumentos, además de optimizar las condiciones para la secuencia de reacciones AHT/metilación reductiva, nuestro plan sintético también tenía como objetivo la preparación de los enantiómeros *R*- y *S*- de la familia de los alcaloides *Dysoxylum*, a fin de poder establecer las propiedades biológicas de

cada enantiómero. De acuerdo a los análisis realizados por HPLC empleando una columna quiral y descritos en la Tabla 16, la pureza enantiomérica con la que los alcaloides *Dysoxylum* fueron aislados fue excelente, determinando un exceso enantiomérico entre 87-95 ee % para los derivados **(R)-125a-i**, y un porcentaje entre 89-97 ee % para los enantiómeros **(S)-125j-r**. Estos valores altos de ee % indican que la enantioselectividad de la reacción AHT no se ve afectada durante la secuencia de reacciones que involucra la respectiva metilación reductiva, la cual al ser llevada a cabo a baja temperatura (0 °C) detiene o disminuye la racemización de los intermediarios y productos finales. En general, el alcaloide **(R)-125e**, la (*R*)-dixosilina, resultó ser el compuesto que se obtuvo con el menor ee % (87 %), mientras que el compuesto **(S)-125p** se aisló con el mayor ee % (97 %). Aunque no fue posible establecer una relación entre el ee % observado para la serie **125a-r** con los factores estéricos y electrónicos de estos derivados, si vale la pena resaltar que el valor de ee % exhibido por los enantiómeros *S*- resultó ser ligeramente mayor con respecto a los enantiómeros *R*-, y que el hecho de que la función hidroxilo en los derivados **125f-i** y **125o-r** estuviera libre no tuvo ningún efecto negativo sobre la enantioselectividad de la reacción, es decir que este grupo funcional no afectó ni tuvo alguna interacción secundaria con el catalizador quiral **95a-b**.

La enantioselectividad de la reacción AHT se explica analizando el rol del catalizador y la configuración de su ligando en el mecanismo de reacción. Los complejos de rutenio comúnmente empleados como catalizadores de la reacción

AHT constan de dos ligandos que coordinan con el centro metálico (Ru): un ligando, que dona sus electrones π al metal, y un ligando quiral, que induce la transferencia asimétrica además de donar sus electrones al centro metálico. Compuestos aromáticos (benceno, el *p*-cimeno, el 1,3,5-trimetilbenceno y el hexametilbenceno) u organofosforados (BINAP) han sido empleados como ligandos que dependiendo de su grado de sustitución favorecen la cesión de densidad electrónica al metal [42], mientras que ligandos quirales de nitrógeno (DPEN) sustituidos con grupos sulfonilo (Ts, Ms), atraen de manera enantioselectiva el sustrato a la esfera de coordinación y ceden electrones al centro metálico (Figura 42) [43].

Figura 42. Complejos de rutenio y sus requerimientos estructurales para ser empleados en reacciones AHT.

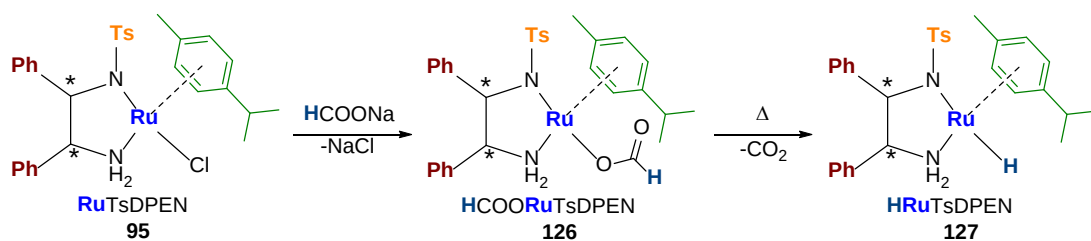


Para esta investigación se seleccionaron los complejos de rutenio **95a** ((*S*, *S*)-RuTsDPEN) y **95b** ((*R*, *R*)-RuTsDPEN) para el estudio de la reacción AHT empleando los sustratos **123a-i**. Su selección se basó en que son los catalizadores comerciales de más fácil acceso, emplean como ligando donador el *p*-cimeno, compuesto natural que coordina muy bien con el rutenio, mientras que

la diamina sustituida con el grupo tosilo (TsDPEN) es un ligando quiral voluminoso que interactúa muy bien con iminas cíclicas como los sustratos **123a-i**.

Si bien los complejos **95a-b** son compuestos estables (18 electrones), no son reactivos, por lo que en realidad se consideran como pre-catalizadores de la reacción AHT. Una vez interactúan los complejos **95a-b** con la fuente de hidrógeno (HCOONa) en medio acuoso, ocurre un intercambio en el que el fragmento formiato resulta unido al centro metálico y el átomo de cloro se libera como NaCl, generando la especie **126**. Un rearreglo promovido por la temperatura de la reacción, induce la descarboxilación de **126** y genera la especie **127**, un complejo rutenio de 18 electrones quien es en realidad el catalizador ya que posee en el centro metálico y en el ligando, protones que puede transferir de manera enantioselectiva al doble enlace C=N (Esquema 36) [44].

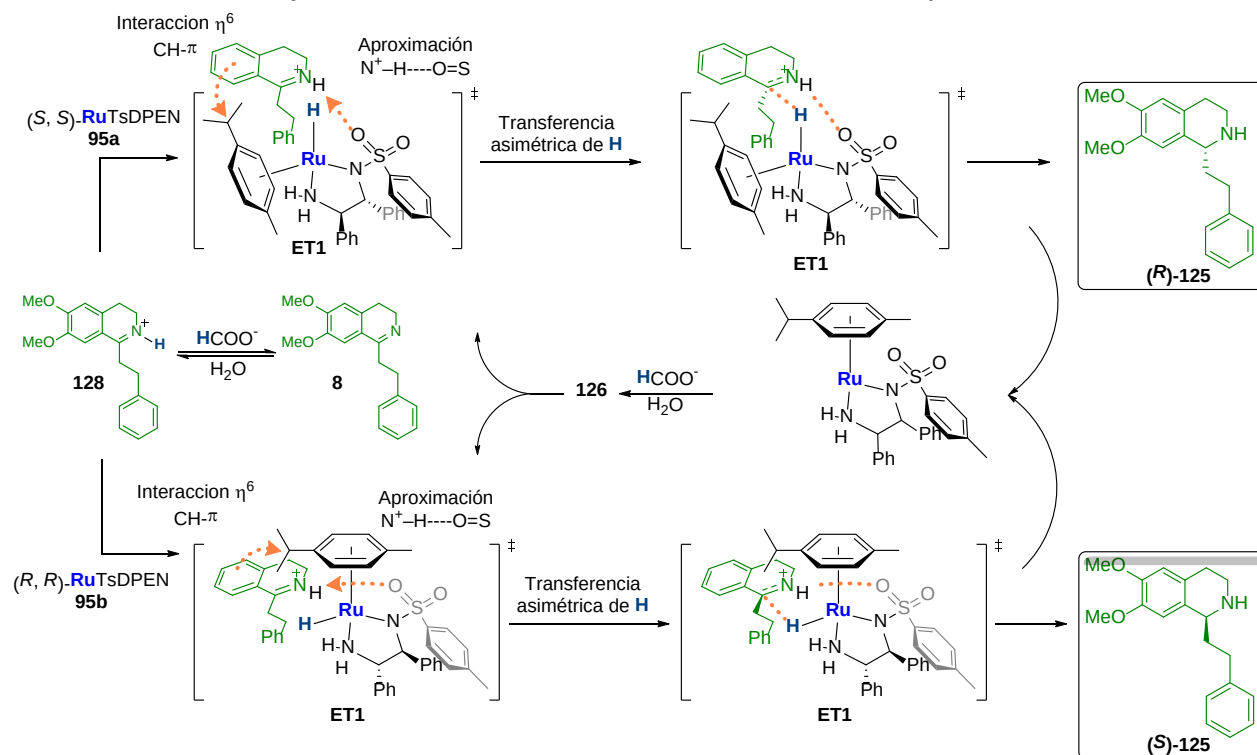
Esquema 36. Activación del pre-catalizador **9** y formación de la especie catalítica **26**.



Por su parte, la imina cíclica, las respectivas 1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolinas **123a-i**, entran al ciclo catalítico como una especie iónica (sal) **128**, no como una base libre, ya que probablemente es protonada tras la hidrólisis del formiato de sodio (Esquema 37). Dependiendo de la configuración de los grupos fenilo en el ligando quiral, tanto el ligando donador (*p*-cimeno) como el grupo sulfonilo (tosilo),

van a adoptar una posición, fuera o dentro del plano, que serán los responsables de la atracción y orientación del sustrato **128** hacia la esfera de coordinación. La especie **128** se ve atraída por el complejo metálico debido a la interacción $N^+-H\cdots O=S$, mientras que la orientación mediante la cual **128** entra a la esfera está determinada por las interacciones $CH-\pi$ entre la nube electrónica η^6 del sustrato y los grupos CH del ligando en el catalizador, ubicando el carbono $C=N^+$ espacialmente más cerca al centro metálico, formando así el primer estado de transición **ET1**. Finalmente, ya con el sustrato dentro de la esfera de coordinación y en la orientación más estable, ocurre la transferencia de hidrógeno al carbono $C=N^+$ de manera enantioselectiva por parte del rutenio a través del estado de transición **ET2**, generando las respectivas tetrahidroisoquinolinas quirales **(R)-124** y **(S)-125**. Este proceso libera un complejo de 17 electrones el cual, por la acción del anión formato, regenera en la especie **126** que inicia un nuevo ciclo catalítico (Esquema 37).

Esquema 37. Posible mecanismo de reacción para explicar la enantioselectividad de la reacción AHT y la formación de los derivados tetrahidroisoquinolínicos **124**.



Tras la secuencia de reacciones AHT/metilación reductiva, los productos **125a-r** fueron obtenidos como aceites y caracterizados a través de la determinación de sus propiedades físicas, espectrométricas y espectroscópicas: espectroscopía IR y resonancia magnética nuclear. En la Tabla 19 se resumen las principales propiedades físicas y químicas de los compuestos obtenidos en esta etapa.

Tabla 19. Propiedades físicas y espectroscópicas de las 1-feniletil-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas **125a-r**.

Comp.	Formula Molecular	PM (g/mol)	R _f [*]	Rend. (%)	Rotación específica ^{**}	Análisis por HPLC		
						t _R (min)	Área (%) ^{***}	ee (%)
125a	C ₂₀ H ₂₅ NO ₂	311.42	0.65	89	-11.4	8.35	97.42	95
125b	C ₂₁ H ₂₇ NO ₃	341.19	0.61	93	-5.9	11.07	95.30	91
125c	C ₂₂ H ₂₉ NO ₄	371.47	0.59	92	-3.9	20.75	94.07	88

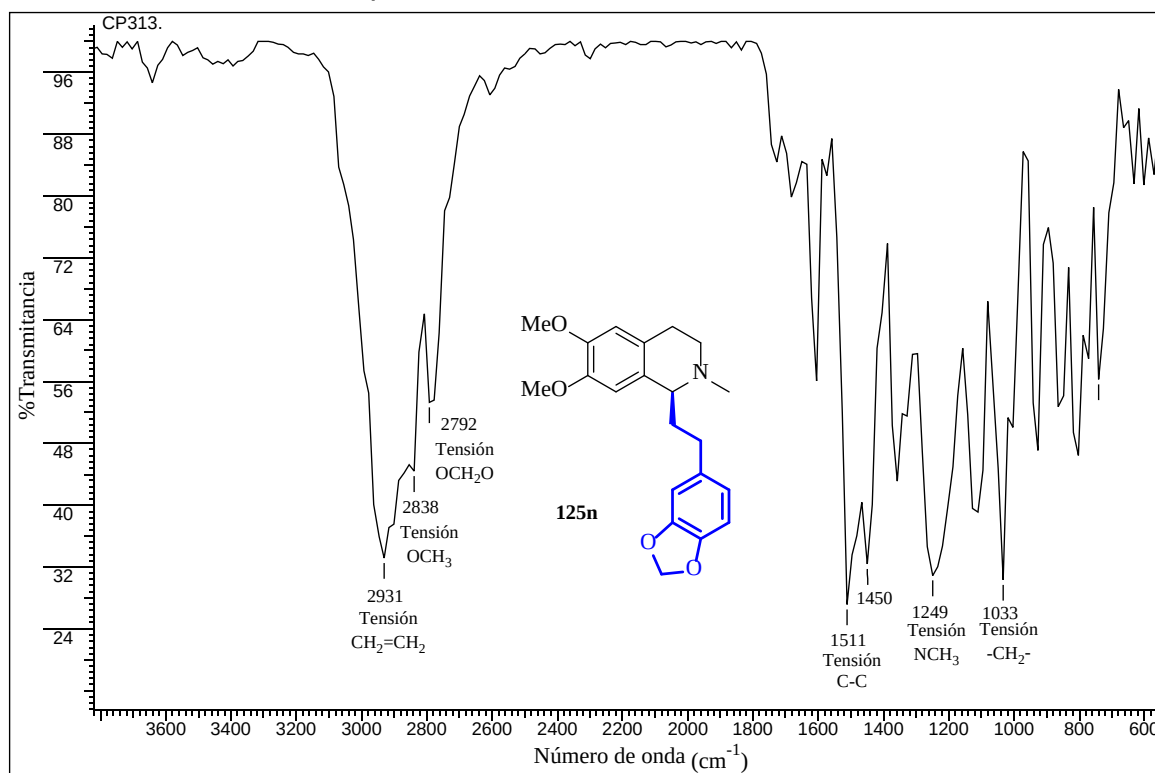
125d	C ₂₃ H ₃₁ NO ₅	401.50	0.52	97	-5.6	21.84	95.60	91
125e	C ₂₁ H ₂₅ NO ₄	355.43	0.60	94	-3.6	11.81	93.61	87
125f	C ₁₉ H ₂₁ NO ₃	311.38	0.47	90	-5.1	32.37	94.78	90
125g	C ₂₀ H ₂₃ NO ₄	341.40	0.43	91	-4.3	31.86	94.45	89
125h	C ₂₀ H ₂₃ NO ₄	341.40	0.42	92	-4.0	25.01	94.31	89
125i	C ₂₀ H ₂₃ NO ₄	371.43	0.40	90	-9.3	36.48	96.97	94
125j	C ₂₀ H ₂₅ NO ₂	311.42	0.65	95	+7.9	5.97	97.05	94
125k	C ₂₁ H ₂₇ NO ₃	341.19	0.61	91	+6.3	6.45	95.85	92
125l	C ₂₂ H ₂₉ NO ₄	371.47	0.59	94	+4.7	12.51	95.42	91
125m	C ₂₃ H ₃₁ NO ₅	401.50	0.52	86	+8.7	13.07	97.04	94
125n	C ₂₁ H ₂₅ NO ₄	355.43	0.60	94	+6.4	7.83	96.69	93
125o	C ₁₉ H ₂₁ NO ₃	311.38	0.47	90	+6.9	13.21	96.66	93
125p	C ₂₀ H ₂₃ NO ₄	341.40	0.43	95	+14.9	16.53	98.28	97
125q	C ₂₀ H ₂₃ NO ₄	341.40	0.42	92	+4.0	16.67	94.62	89
125r	C ₂₀ H ₂₃ NO ₄	371.43	0.40	90	+10.2	24.58	97.52	94

* Placas Silufol UV254. 10:1 Diclorometano/metanol. ** Rotación óptica específica determinada a 25 °C, a una concentración de 0.025 g/ml (EtOH) y en una cubeta de 0.5 dm de longitud. *** Área del pico mayoritario

Los espectros obtenidos por espectroscopia infrarroja (IR) para la serie de 1-feniletil-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas **125a-r** permitieron reconocer las bandas de absorción que proporcionaron los primeros indicios del éxito de la secuencia de reacciones AHT/metilación reductiva. Para el caso particular del alcaloide (*S*)-dixosilina, se analiza el espectro IR de la respectiva (*S*)-6,7-dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125n**. La ausencia de alguna banda en la región comprendida entre 3000-3500 cm⁻¹ indica que el grupo NH, formado durante la reacción AHT tras la reducción del enlace C=N de **123**, sufre la metilación con éxito en la segunda etapa, proceso corroborado por la banda alrededor de 1265 cm⁻¹ característica del grupo metilo enlazado al nitrógeno (N-CH₃). Para la (*S*)-dixosilina **125n**, se identifican las bandas de tensión de sus grupos funcionales como los grupos metoxi (OCH₃) y el fragmento

metilendioxi (OCH_2O) a 2838 y 2792 cm^{-1} , respectivamente. Finalmente, se puede reconocer la banda de tensión características de los protones aromáticos a 2931 cm^{-1} y las bandas de tensión de los grupos metilenicos ($-\text{CH}_2-$) a 1450 y 1033 cm^{-1} (Figura 43).

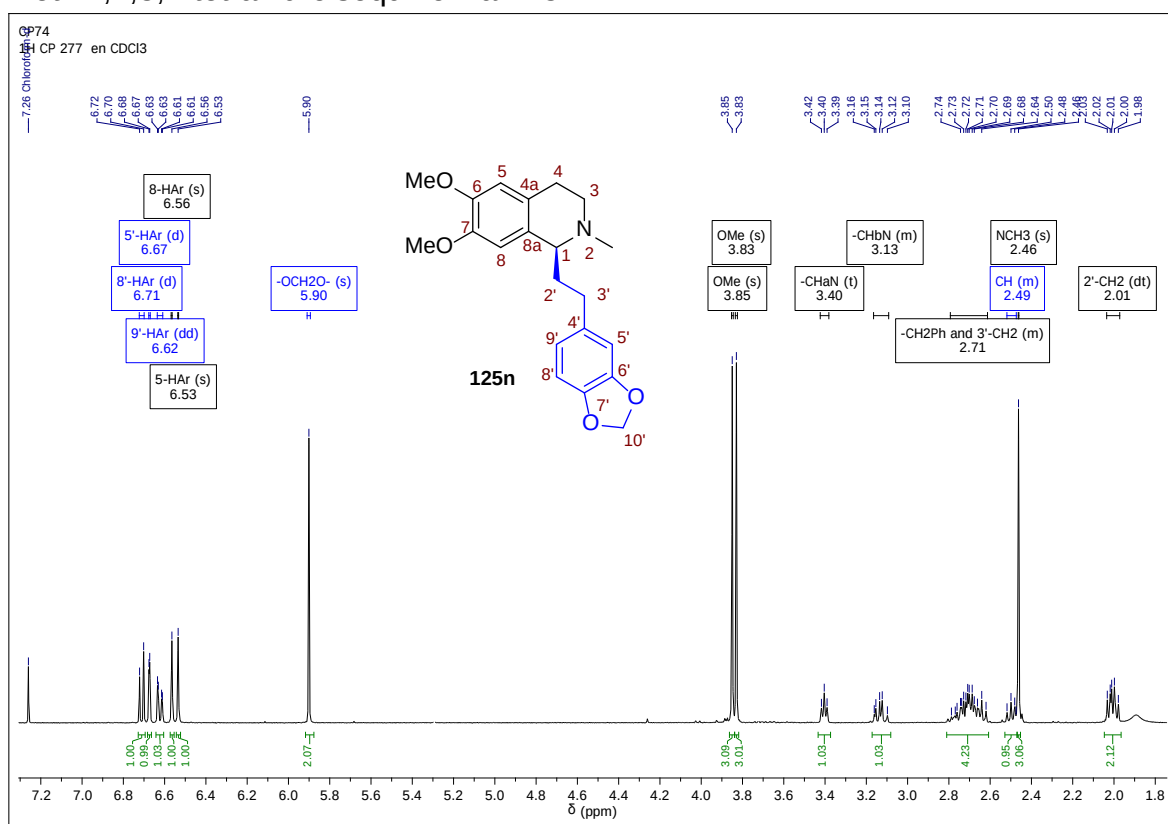
Figura 43. Espectro infrarrojo de la (*S*)-6,7-dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125n**.



El análisis del espectro ^1H RMN obtenido para la (*S*)-dixosilina **125n** permitió identificar los grupos de protones presentes en la molécula, cuya asignación coincide con los datos reportados en la literatura para este alcaloide [6]. Señales representativas como las encontradas a 5.90 ppm, grupo metilendioxi ($-\text{OCH}_2\text{O}-$), 3.85-3.83 ppm, grupos metoxi, y 2.46 ppm, grupo NCH_3 , corroboran la síntesis total del alcaloide (*S*)-dixosilina **125n**. Adicionalmente, las señales de los protones

aromáticas ubicadas entre 6.71-6.53 ppm se ajustan al grado de sustitución de los dos anillos aromáticos. Para finalizar, los grupos metilénicos (-CH₂-) del núcleo tetrahydroisoquinolínico, como del fragmento que sustituye el carbono C-1, se encuentran agrupados en la región entre 3.40-2.01 ppm, resaltando los protones diastereotópicos del grupo -CH₂- enlazado al nitrógeno, que presentan desplazamientos químicos diferentes (Figura 44).

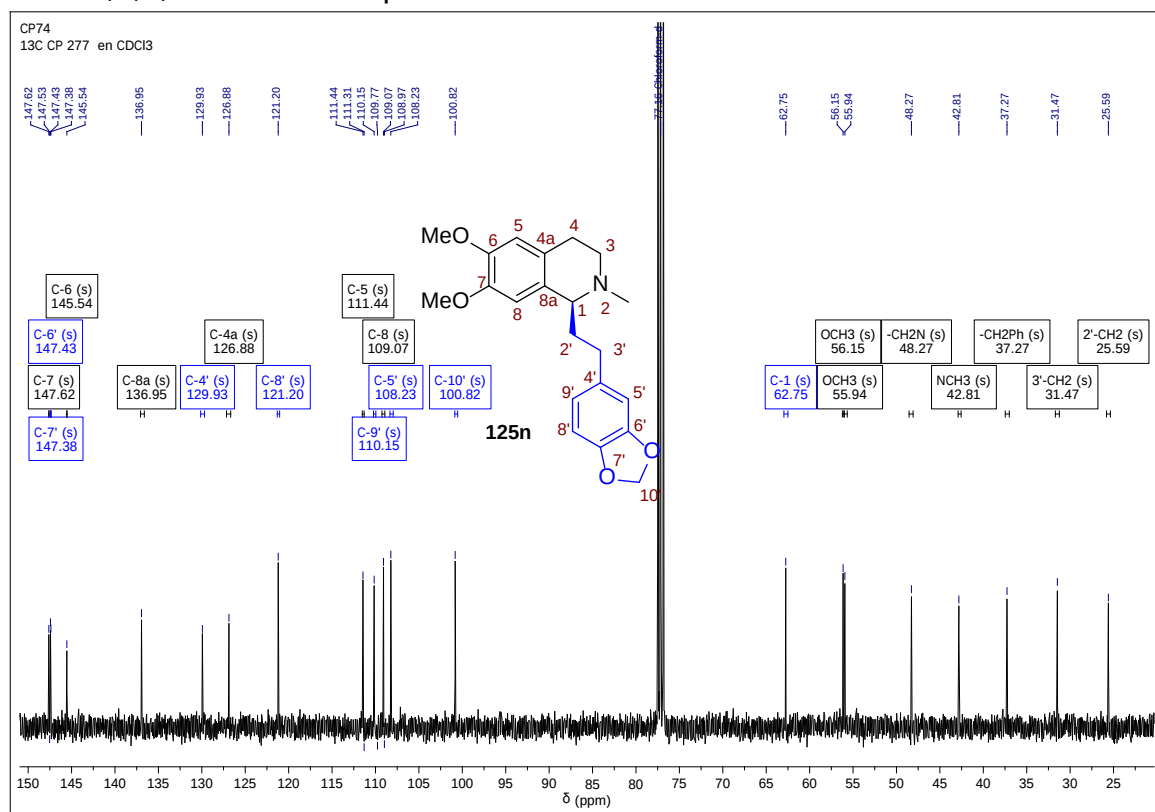
Figura 44. Espectro de ¹H RMN de la (S)-6,7-dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolina **125n**.



Analizando el espectro de ¹³C RMN de la (S)-dixosilina **125n** se pudo determinar que el número de señales presentes es equivalente al número de carbonos esperado para este compuesto. La naturaleza de cada núcleo se estableció

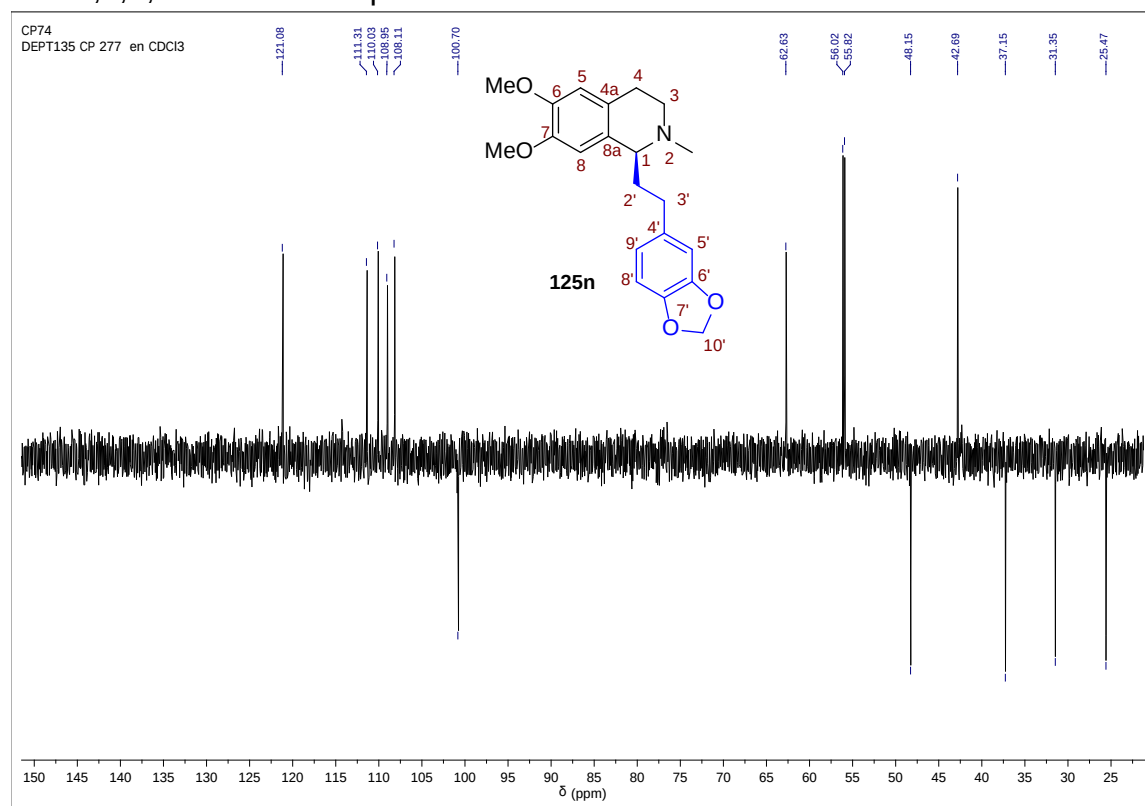
considerando la región en la cual se encuentra cada señal. Así, los carbonos aromáticos, incluidos los cuaternarios, se ubican entre 147.6-108.2 ppm, mientras los carbonos metilénicos se encuentran entre 48.2 y 25.5 ppm. Cabe resaltar la presencia del carbono del grupo metilo enlazado al nitrógeno (NCH₃) a 42.8 ppm; el carbono metilénico del grupo metilendioxi (-OCH₂O-) a 100.8 ppm; el carbono C-1 (62.7 ppm) que se desplaza hacia campos más altos, con respecto a la 3,4-dihidroisoquinolina **123e**; y los carbonos de los dos grupos metoxi a 56.1 y 55.9 ppm, respectivamente (Figura 45).

Figura 45. Espectro de ¹³C RMN de la (S)-6,7-dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125n**.



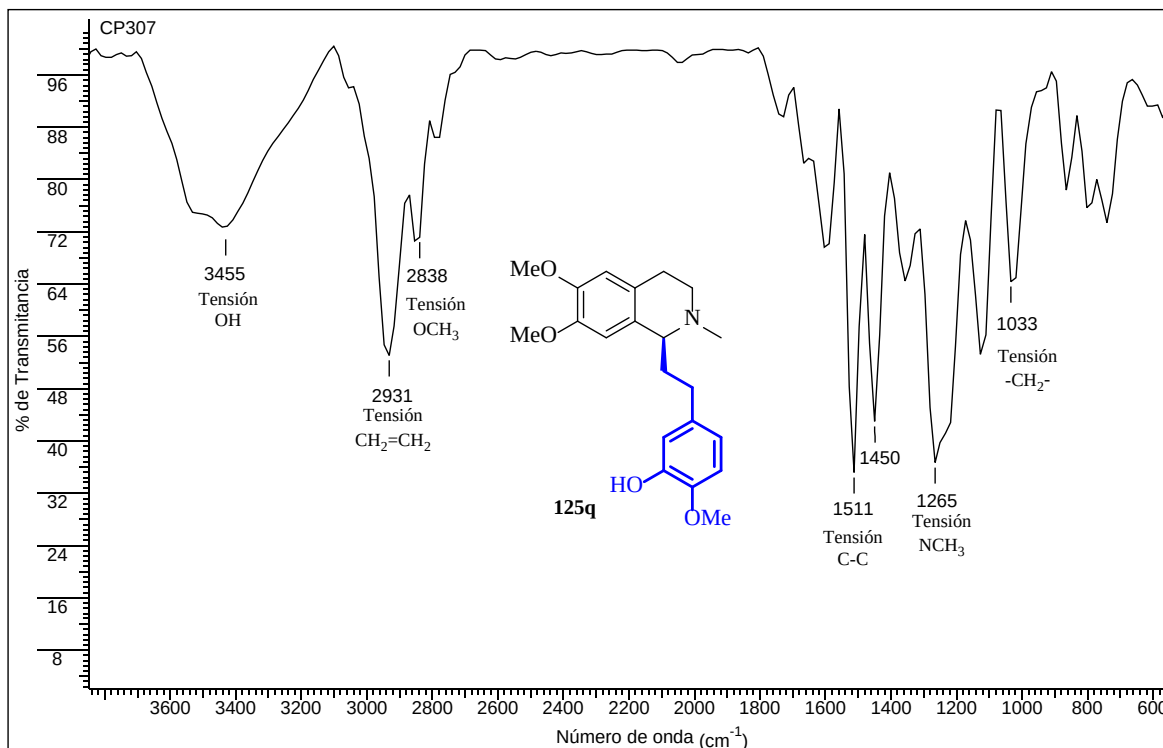
Para finalizar con la elucidación estructural de la (S)-dixosilina **125n**, a través del análisis del espectro DEPT-135 se logró identificar los carbonos: C, CH, CH₂ y CH₃, dependiendo de su multiplicidad. Se ubicaron los carbonos aromáticos que presentaban sustitución con las funciones metoxi o metilendioxi (147.6-145.5 ppm) y los carbonos cuaternarios C-4a y C-8a a 136.9 y 126.8 ppm, respectivamente. Los grupos metilénicos, incluido el de la función metilendioxi fueron fácilmente identificados por su fase negativa en el espectro DEPT-135, mientras que los grupos CH y CH₃, correspondiente a los grupos metoxilo y al metilo que sustituye al nitrógeno, se ubicaron con fase positiva a campos más altos (Figura 46).

Figura 46. Espectro DEPT-135 de la (S)-6,7-dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125n**.



Al no observar la desprotección del grupo Ac y regeneración de la función -OH durante la reacción Bischler-Napieralski para los derivados **125f-i**, como si se evidenció para los sustratos **37e**, **37f**, **37k** y **37l**, nuestro plan sintético contemplaba realizar la respectiva desacetilación de los grupos OAc en una etapa adicional con base en los protocolos ya descritos [45]. Sin embargo, y para nuestra fortuna, durante la caracterización de los alcaloides *Dysoxylum* obtenidos a partir de los sustratos **125f-i** a través de la secuencia de reacciones AHT/metilación reductiva, se pudo establecer que en alguno de estos procesos, el grupo Ac resulta ser lábil y la funciones -OH ser regeneran. Al ser favorecidos por esta situación fortuita y al sospechar de la inestabilidad de los correspondientes intermediarios **10**, no se realizó un estudio en el que se pudiera determinar en qué proceso (reacción AHT ó metilación reductiva) ocurre la desacetilación de los productos obtenidos. Como evidencia de la desprotección del grupo OAc se muestra el espectro IR del derivado (S)-6,7-dimetoxi-1-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125q** donde se puede observar la banda de tensión del grupo -OH a 3455 cm^{-1} (Figura 47).

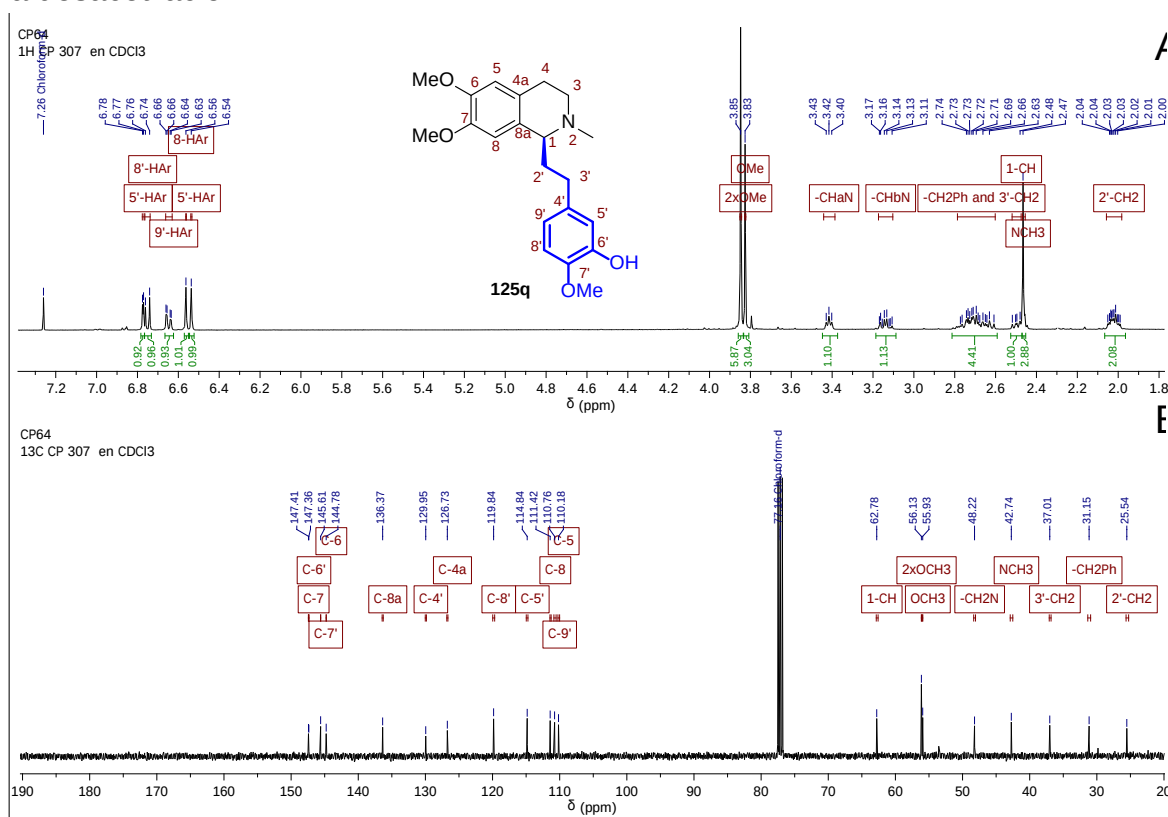
Figura 47. Espectro infrarrojo de la (S)-6,7-dimetoxi-1-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125q** como evidencia de la desprotección de los productos O-acetilados.



Por último, a través de los experimentos ¹H RMN y ¹³C RMN se corroboró el proceso de desacetilación durante la formación del producto **11q**. Aunque la señal del protón -OH no pudo ser identificada en ninguno de los espectros ¹H RMN de los compuestos desacetilados, probablemente debido al intercambio H/D, esta función si pudo ser identificada por otras técnicas instrumentales. Mas allá de no poder identificar esta señal, la ausencia de la señal de la función CH₃ (-OAc), alrededor de 2.30 ppm en el espectro ¹H RMN, y la desaparición en el espectro de ¹³C RMN de las señales del grupo acetilo: el carbono cuaternario C=O (≈ 170 ppm) y la función CH₃ (≈ 20 ppm) evidencian claramente el proceso de desacetilación. Posiblemente este fenómeno estaría asociado al proceso de

metilación reductiva, el cual se llevó a cabo en medio ácido (ZnCl_2) y con una fuente de hidruro como el NaBH_3CN (Figura 48).

Figura 48. A) Espectro ^1H RMN y **B)** Espectro ^{13}C RMN de la (S)-6,7-dimetoxi-1-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolina **125q**, evidencia de la desacetilación.



Los espectros obtenidos mediante espectroscopia infrarroja, espectrometría de masas y resonancia magnética nuclear, relacionados con cada uno de estos compuestos **125a-r**, se encuentran en los ANEXOS 62-79, dando por finalizado este capítulo donde se estableció un protocolo nuevo y eficiente para la síntesis de alcaloides *Dysoxylum* a partir de los protoalcaloides zantoxylamida.

2.5.2 Aplicación del ensayo ZFET para la determinación de la concentración letal media (LC₅₀) en embriones de pez cebra para los alcaloides *Dysoxylum*.

La determinación de la toxicidad para los alcaloides *Dysoxylum* **125a-r** se llevó a cabo mediante la misma metodología descrita para la determinación de la LC₅₀ de los controles positivos seleccionados y los protoalcaloides zantoxylamida. Los resultados se resumen en la Tabla 18.

Es importante destacar que el núcleo isoquinolínico resulta más tóxico que las amidas precursoras, presentando valores de LC₅₀ hasta 20 veces menos que los exhibidos por los alcaloides zantoxylamida **3l-t**. En segundo lugar, tras haber realizado 3 experimentos independientes, cada uno integrado por tres replicas, se determinó que los enantiómeros **(R)-125a-i** resultaron más tóxicos que los derivados **(S)-125j-r**. Posiblemente, la o las dianas biológicas sobre las cuales actúan los alcaloides *Dysoxylum* **125a-r** tienen mayor afinidad por uno de los dos enantiómeros y discriminan la respuesta biológica inducida por los embriones en función de la estereoquímica del carbono C-1 de los compuestos tetrahydroisoquinolínicos. Para argumentar esta hipótesis, se hace referencia al estudio que demuestra que el modelo del pez cebra resulta ser una herramienta excepcional para el análisis de la toxicidad de moléculas quirales, justamente Xu y colaboradores reportaron el uso de este modelo para determinar la toxicidad de los enantiómeros del insecticida acetofenato [46], donde encontraron que el enantiómero (S)- era el responsable de los efectos tóxicos y de los cambios fenotípicos inducidos sobre el desarrollo del pez cebra mientras que el

enantiómero (*R*)- no presentaba ningún tipo de efecto. Adicionalmente, al evaluar el ($\pm$)-acetofenato como mezcla racémica en embriones de pez cebra observaron los mismos cambios fenotípicos, aunque en menor proporción.

Analizando la toxicidad exhibida por los enantiómeros (***R***)-**125a-i**, se encontró que el alcaloide (*R*)-metilcolchietanamina **125f**, sustituido con un grupo hidroxilo en el carbono C-7', resultó ser el compuesto más tóxico de la serie con un valor de LC_{50} de $12.19 \pm 1.14 \mu M$. De la misma manera, la letalidad de estos derivados fue disminuyendo con la sustitución del grupo -OH, así la (*R*)-metilcolchietina **125b** mostró una $LC_{50} = 15.21 \pm 1.70 \mu M$ y a medida que aumentaba el grado de sustitución en el anillo aromático del fragmento 1-estiril, (*R*)-homolaudonosina **125c** y (*R*)-(+)-*O,O*-dimetilautumalina **125d**, se obtuvieron los valores más altos de LC_{50} , 32.86 y 36.80 μM , respectivamente (Tabla 20). Para el subgrupo de los alcaloides con la función -OH presente en el anillo del fragmento 1-feniletil **125g-i**, se observó que al incluir grupos metoxi la toxicidad disminuía con respecto al derivado **125f**, alcanzando un máximo para la (*R*)-metilisoautumalina **125i** de $24.19 \pm 1.52 \mu M$. Por último, el alcaloide sintético (*R*)-dixosilina **125e** presentó una toxicidad moderada dentro de la serie **125a-i** con un valor de $LC_{50} = 14.99 \pm 0.93 \mu M$, si bien el fragmento 1-feniletil se encuentra di-sustituido como en el análogo **125c**, es probable que la toxicidad de este derivado esté relacionada con el grupo funcional 3,4-metilendioxi (Tabla 20).

Por su parte, los enantiómeros (***S***)-**125j-r**, cuya configuración es propia de los alcaloides *Dysoxylum* de origen natural, mostraron un patrón comportamiento

similar al observado por los derivados **(R)-125a-i**. La (S)-metilcolchietanamina **125o** resultó ser el compuesto más tóxico ($LC_{50} = 18.10 \pm 1.15 \mu M$) de esta serie, mientras que la (S)-(+)-O,O-dimetilautumalina **125m** presentó el mayor valor de $LC_{50} = 48.91 \pm 1.42 \mu M$. Se pudo determinar que de igual forma al aumentar el grado de sustitución en el anillo del fragmento 1-feniletil con grupos metoxi la toxicidad disminuye, como fue el caso de los derivados **125k-m** ($LC_{50} = 21.67-48.91 \mu M$), mientras que al incluir el grupo -OH sobre este mismo anillo la toxicidad aumentaba, compuestos **125o-r** ($LC_{50} = 18.10-30.07 \mu M$). Finalmente, el alcaloide (S)-dixosilina **125n** ($LC_{50} = 19.07 \pm 2.60 \mu M$) resultó ligeramente menos tóxico que su enantiómero **125e**, pero si presentó una toxicidad muy similar al alcaloide más tóxico de la serie **125j-r**, el derivado **125o** (Tabla 20).

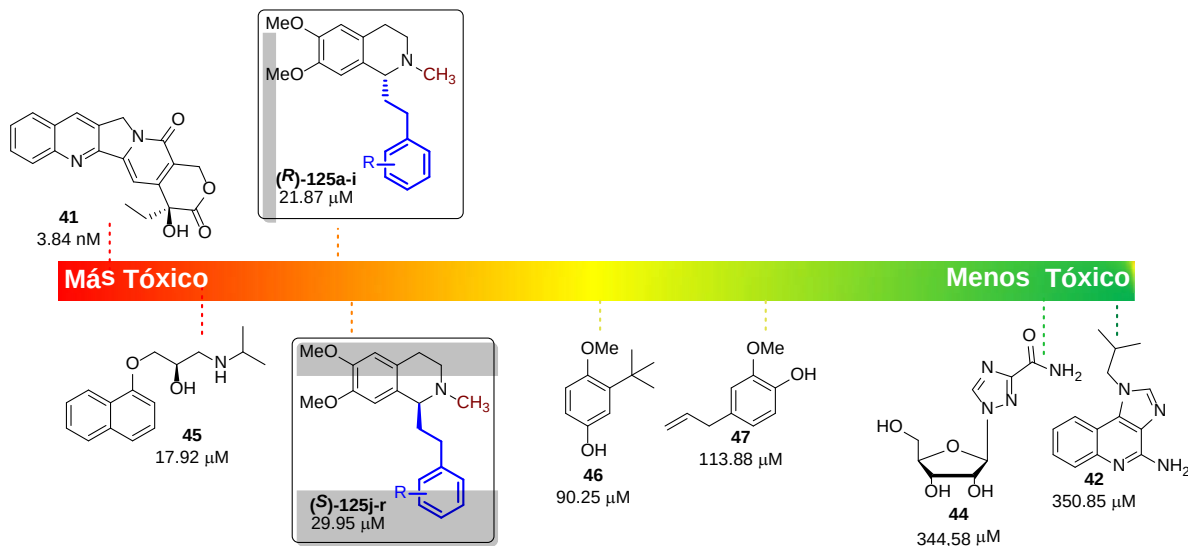
Tabla 20. Determinación de la toxicidad (LC₅₀) de los alcaloides *Dysoxylum* **125a-i** en embriones de pez cebra empleando el ensayo ZFET.^a

(R)-125a LC ₅₀ = 23.78 ± 1.33	(R)-125b LC ₅₀ = 15.21 ± 1.70	(R)-125c LC ₅₀ = 32.86 ± 1.44	(R)-125d LC ₅₀ = 36.80 ± 1.78	(R)-125e LC ₅₀ = 14.99 ± 0.93
(R)-125f LC ₅₀ = 12.19 ± 1.14	(R)-125g LC ₅₀ = 14.52 ± 0.88	(R)-125h LC ₅₀ = 22.28 ± 0.58	(R)-125i LC ₅₀ = 24.19 ± 1.52	(S)-125j LC ₅₀ = 35.44 ± 3.10
(S)-125k LC ₅₀ = 21.67 ± 2.05	(S)-125l LC ₅₀ = 45.70 ± 2.51	(S)-125m LC ₅₀ = 48.91 ± 1.42	(S)-125n LC ₅₀ = 19.07 ± 2.60	(S)-125o LC ₅₀ = 18.10 ± 1.15
(S)-125p LC ₅₀ = 22.65 ± 1.06	(S)-125q LC ₅₀ = 27.85 ± 1.44	(S)-125r LC ₅₀ = 30.07 ± 1.05		

^a LC₅₀ Determinada a partir de la metodología general, empleando 72 embriones por muestra para tres replicas independientes. LC₅₀ expresada en $\mu\text{M} \pm \text{SEM}$.

Para resumir la toxicidad de los alcaloides *Dysoxylum* **125a-r**, clasificándolos según su configuración del carbono C-1, y en comparación con los controles positivos seleccionados, se grafican los valores de LC₅₀ promedio donde se puede establecer que estos derivados presentan una toxicidad moderada (Figura 49).

Figura 49. Valores de LC₅₀ promedio para los alcaloides *Dysoxylum* y su comparación con los controles positivos seleccionados en embriones de pez cebra tras 96 hpf.

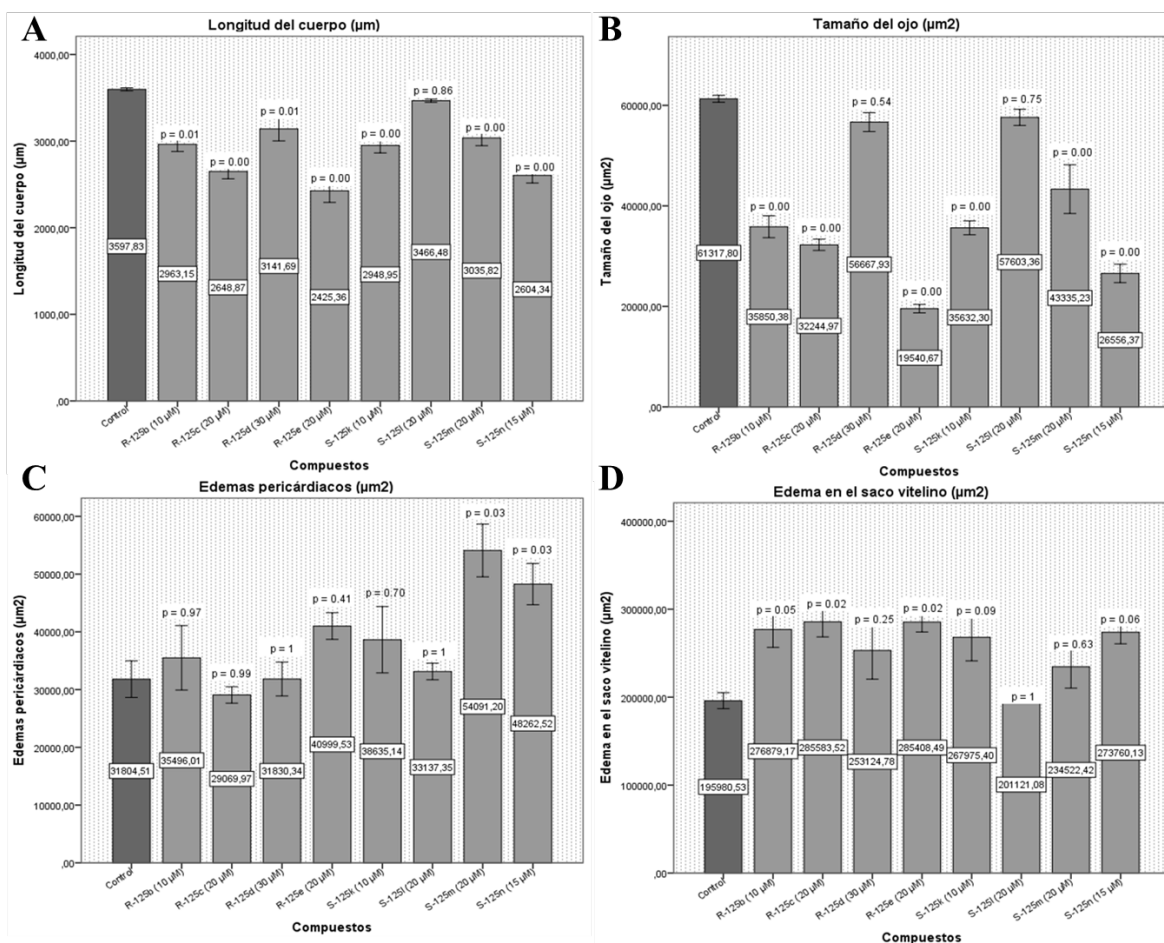


2.5.3 Análisis de los cambios fenotípicos en embriones de pez cebra para los alcaloides *Dysoxylum*. A través de la evaluación de los cambios fenotípicos inducidos por los alcaloides *Dysoxylum* se encontró que uno de los derivados menos tóxicos, la (*S*)-homolaudonosina **125i** (LC₅₀ = 45.70 μM), prácticamente no presentó ninguna alteración o cambio visual en los embriones tratados, exhibiendo un tamaño de cuerpo, ojo, cavidad cardiaca y saco vitelino similar al presentado por los embriones control (Figura 50A-D). Mientras que la (*R*)-dixosilina **125e** (LC₅₀ = 14.99 μM) resultó ser el compuesto que más afectó el normal desarrollo embrionario al reducir significativamente y de manera simultánea el tamaño del cuerpo, del ojo y el saco vitelino (Figura 50A, B y D). Por su parte, el alcaloide (*S*)-(+)-O,O-dimetilautumalina **125m** (LC₅₀ = 48.91 μM) generó los edemas

pericárdiacos más graves, presentando de igual forma una reducción considerable del tamaño del ojo (Figura 50B y C).

Aunque estos efectos pueden ser considerados como fenotipos causados por el pleiotropismo inducido por los alcaloides *Dysoxylum*, resulta interesante observar la correlación que se presenta entre el tamaño alcanzado por los embriones y el tamaño de los ojos, al ser tratados con los alcaloides **125l-n**, el cual va disminuyendo en el orden **125l** (di-OMe) > **125m** (tri-OMe) > **125n** (3,4-metilendioxi), con los edemas manifestados en el saco vitelino, relación que resultó ser inversamente proporcional **125l** < **125m** < **125n** (Figura 50A, B y D).

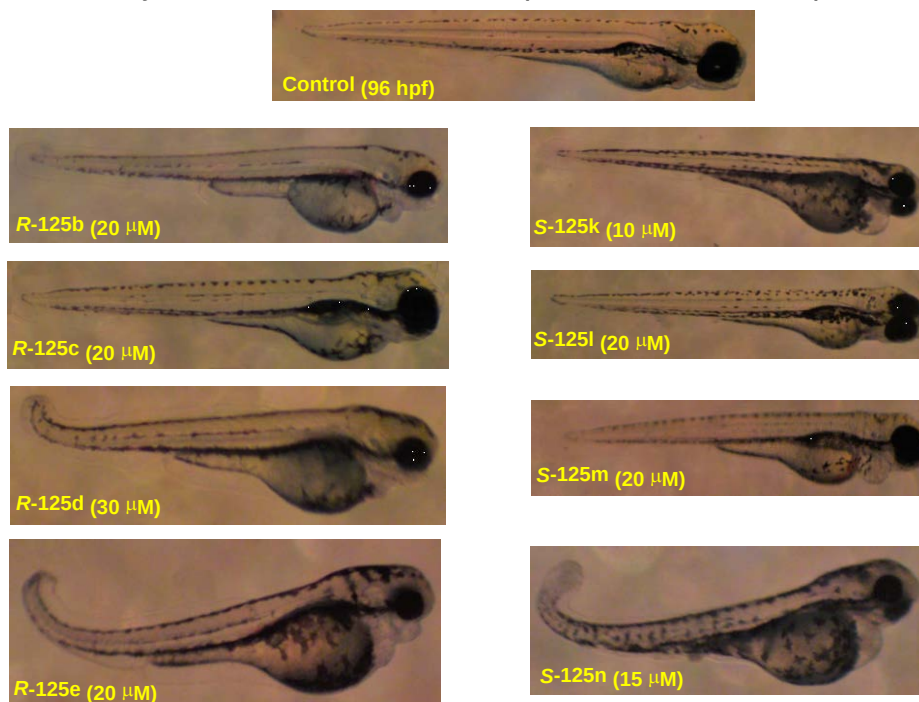
Figura 50. A) Tamaño de los embriones. B) Tamaño del ojo. C) Edemas pericárdiacos. D) Edemas en el saco vitelino analizados por el software DanioScope™ y manifestados en los embriones (96 hpf) expuestos a los alcaloides **125b-e** y **125k-n**.



Resultados analizados mediante el test ANOVA (una vía) y mediante el test de Dunnett (2 colas) comparando cada compuesto con el grupo control y considerando una diferencia significativa a un valor $p < 0.05$.

En términos generales, los enantiómeros *R*-, que resultaron ser más tóxicos, exhibieron cambios fenotípicos más pronunciados que los enantiómeros *S*-. Al examinar los sustituyentes en el anillo B de los alcaloides *Dysoxylum*, se evidencia que el fragmento 3,4-metilendioxi genera más alteraciones sobre el desarrollo embrionario que cuando este anillo se encuentra tri-sustituido con grupos metoxi (Figura 51).

Figura 51. Registro fotográfico de los cambios fenotípicos inducidos por a los alcaloides **125b-e** y **125k-n** en embriones de pez cebra a las 96 hpf.



2.6 CONCLUSIONES

En conclusión, se llevó a cabo con éxito la síntesis de 1-feniletiltetrahidroisoquinolinas de acuerdo a lo planteado en nuestro análisis retrosintético (Esquema 34), implementando una metodología para la preparación de los compuestos de interés que da solución a muchos de los problemas que han afectado el buen desarrollo de los alcaloides *Dysoxylum* y sus análogos estructurales, tanto a nivel químico como farmacológico. Inspirados en la naturaleza y en los procesos bioquímicos que podrían estar involucrados en la biosíntesis de estos compuestos, es posible categorizar nuestra ruta sintética como: “síntesis biomimética de alcaloides *Dysoxylum*”, a partir de la cual se pudo obtener compuestos de origen natural y sintético, de amplia versatilidad

estructural, con buen rendimiento y a gran escala, promoviendo su estudio biológico que pueda derivar en el desarrollo de nuevos agentes farmacológicos basados en la estructura de los alcaloides *Dysoxylum*.

De igual forma se logró establecer la toxicidad de estos alcaloides, determinando que resultaron ser más tóxicos que los respectivos protoalcaloides empleados como sustratos de partida, y que su toxicidad está relacionada con la configuración del centro estereogénico en C-1, resultando los enantiómeros (*R*)-levemente más tóxicos que los enantiómeros (*S*)-. Adicionalmente, fue posible identificar la relación estructural que existe entre los cambios fenotípicos inducidos con los sustituyentes presentes en los alcaloides *Dysoxylum*, revelando así la influencia de los grupos metoxi. Por su parte, la bioprospección del alcaloide más representativo de esta familia, la (*S*)-dixosilina, queda expuesta para que, junto con el desarrollo de una ruta sintética más eficiente, pueda ser explorada en otros bioensayos y este compuesto pueda ser considerado como candidato en el descubrimiento de nuevos fármacos.

2.7 PARTE EXPERIMENTAL

Materiales y reactivos

Los reactivos y catalizadores fueron obtenidos a través de compañías como Aldrich, Merck y Alfa Aesar; éstos fueron usados directamente sin purificación previa. Los disolventes usados en las reacciones y durante la purificación de los productos fueron destilados y secados previamente a su uso.

El progreso de las reacciones fue monitoreado mediante cromatografía de capa fina (CCF) sobre cromatoplasmas de Alufol y Silifol UV de 0,25 mm de grosor. La purificación de los compuestos obtenidos se llevó a cabo a través de cromatografía en columna (CC) utilizando gel de sílice 70 Å, 40-75 µm como fase estacionaria y mezclas éter de petróleo/acetato de etilo y diclorometano/metanol como fase móvil, dependiendo de la naturaleza del compuesto.

Equipos

La separación y purificación de los compuestos sintetizados se llevó a cabo por cromatografía flash asistida por el equipo Isolera One™ de Biotage® empleando como eluyentes mezclas isocráticas o por gradiente de éter de petróleo y acetato de etilo.

La elucidación estructural de los compuestos sintetizados se realizó mediante métodos instrumentales. Los espectros de infrarrojo (IR) se obtuvieron en un espectrómetro LUMEX INFRALUM FT-02 sobre discos de KBr o películas líquidas. Los espectros de resonancia magnética nuclear (¹H, ¹³C, DEPT-135, COSY, HSQC y HMBC) se registraron en un espectrómetro BRUKER Avance-400, empleando como disolvente cloroformo (CDCl₃) y dimetilsulfóxido (DMSO-d₆) deuterados, según corresponda. Los puntos de fusión se determinaron en un fusímetro FISHER-JHONES. El exceso enantiomérico fue determinado mediante el análisis HPLC empleando una columna quiral Kromasil® 5-Amycoat™ (250 × 4.6 mm) y utilizando mezclas de hexano, 2-isopropanol y dietilamina como aditivo. Los análisis de HPLC se realizaron en el cromatógrafo líquido de alta resolución marca

Hitachi, serie L-2000 acoplado a un detector UV/Vis modelo L-2420. La determinación de la rotación óptica de los compuestos quirales se realizó en el polarímetro marca Optical Activity^{TD} Serie 19-79-38/A.

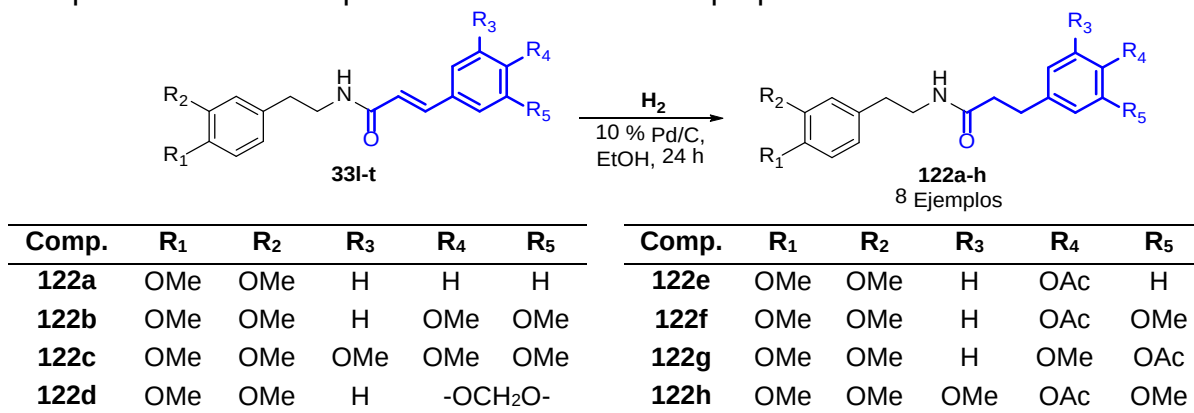
2.7.1 Hidrogenación catalítica de la serie de *N*-feniletil cinamamidas **33I-t**.

Preparación de las respectivas *N*-feniletil-3-fenil-propanamidas **122a-h**

Metodología general

En un balón Schlenk de 50 mL se adicionó 50 mg de paladio sobre carbón activado (10% Pd/C), el reactor fue sellado y el aire fue evacuado estableciendo una atmosfera de hidrógeno y se procedió a añadir la respectiva *N*-feniletil cinamamida **33I-t** (3 mmol) disuelta en etanol (20 mL). El sistema se agitó vigorosamente a temperatura ambiente por un periodo de 12 horas y fue monitoreado a través de cromatografía en capa fina (CCF). Tras finalizar la reacción, el catalizador fue removido por filtración a través de pre-columna de celita y el solvente fue removido a presión reducida obteniendo la correspondiente *N*-feniletil-3-fenil-propanamidas **122a-h** en rendimiento cuantitativo (Esquema 38).

Esquema 38. Hidrogenación catalítica de las *N*-feniletil cinamamidas **33I-t**. Preparación de las respectivas *N*-feniletil-3-fenil-propanamidas **122a-h**.



N-(3,4-Dimetoxifeniletil)-3-fenil-propanamida (**122a**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3,4-dimetoxifeniletil) cinamamida **33i** (0.93 g, 3 mmol), 10% Pd/C (50 mg) y etanol (20 mL). Después de filtrar y eliminar el solvente se obtuvieron 0.94 g (3 mmol) de la correspondiente *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3-fenil-propanamida **122a** como un sólido blanco con rendimiento cuantitativo; R_f = 0.65 (2:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 120-122 °C; IR (disco de KBr): 3301 $\nu_{\text{(NH)}}$, 3070 $\nu_{\text{(CH}_2\text{-Ar)}}$, 2931 $\nu_{\text{(OCH}_3\text{)}}$, 1635 $\nu_{\text{(C=O)}}$, 1542 $\nu_{\text{(C-N)}}$, 1326 $\nu_{\text{(CH}_2\text{-Ar)}}$, 1234 $\nu_{\text{(C-C)}}$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 7.20 (2H, t, J = 7.3 Hz, 5' y 9'- H_{Ar}), 7.11 (3H, dd, J = 12.0, 7.1 Hz, 6', 7' y 8'- H_{Ar}), 6.69 (1H, d, J = 8.1 Hz, 10'- H_{Ar}), 6.58 (1H, s, 6- H_{Ar}), 6.54 (1H, d, J = 8.1 Hz, 9- H_{Ar}), 5.41 (1H, br. s, NH), 3.78 (3H, s, OCH_3), 3.76 (3H, s, OCH_3), 3.38 (2H, q, J = 6.6 Hz, $-\text{CH}_2\text{NH}$), 2.86 (2H, t, J = 7.6 Hz, 2'- CH_2), 2.61 (2H, t, J = 7.0 Hz, $-\text{CH}_2\text{Ph}$), 2.35 (2H, t, J = 7.7 Hz, 3'- CH_2). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 172.1, 149.0, 147.6, 140.9, 131.3, 128.5 (2C, +), 128.4 (2C, +), 126.3 (+), 120.6 (+), 111.7 (+), 111.2 (+), 55.9 (+), 55.9 (+), 40.7 (-), 38.5 (-), 35.2 (-), 31.7 (-). Fórmula molecular: $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{NO}_3$ (P.M.: 313.40 g/mol).

N-(3,4-Dimetoxifeniletil)-3-(3,4-dimetoxifenil)-propanamida (**122b**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4-dimetoxicinamamida **33n** (1.11 g, 3 mmol), 10% Pd/C (50 mg) y etanol (20 mL). Después de filtrar y eliminar el solvente se obtuvieron 1.12 g (3 mmol) de la correspondiente *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3-(3,4-dimetoxifenil)-propanamida **122b** como un sólido blanco con rendimiento cuantitativo; R_f = 0.43

(2:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 84-86 °C; IR (disco de KBr): 3332 $\nu(\text{NH})$, 3054 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$, 2931 $\nu(\text{OCH}_3)$, 1635 $\nu(\text{C=O})$, 1589 $\nu(\text{C-N})$, 1465 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$, 1234 $\nu(\text{C-C})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 6.76 (2H, d, $J = 8.1$ Hz, 9 y 8'- H_{Ar}), 6.71-6.68 (2H, m, 5' y 9'- H_{Ar}), 6.66 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, 6- H_{Ar}), 6.60 (1H, dd, $J = 8.1, 1.9$ Hz, 10- H_{Ar}), 5.44 (1H, t, $J = 6.8$ Hz, NH), 3.84 (3H, s, OCH_3), 3.83 (9H, s, OCH_3), 3.45 (2H, q, $J = 6.8$ Hz, $-\text{CH}_2\text{NH}$), 2.88 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, 2'- CH_2), 2.68 (2H, t, $J = 6.9$ Hz, $-\text{CH}_2\text{Ph}$), 2.40 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, 3'- CH_2). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 172.2, 149.0, 148.9, 147.7, 147.4, 133.5, 131.3, 120.6 (+), 120.2 (+), 111.7 (+), 111.6 (+), 111.2 (+), 111.2 (+), 55.9 (+), 55.9 (2C, +), 55.8 (+), 40.7 (-), 38.9 (-), 35.3 (-), 31.4 (-). Fórmula molecular: $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{NO}_5$ (P.M.: 373.45 g/mol).

N-(3,4-Dimetoxifeniletil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-propanamida (**122c**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4,5-trimetoxicinamamida **33o** (1.20 g, 3 mmol), 10% Pd/C (50 mg) y etanol (20 mL). Después de filtrar y eliminar el solvente se obtuvieron 1.21 g (3 mmol) de la correspondiente *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-propanamida **122c** como un sólido blanco con rendimiento cuantitativo; $R_f = 0.35$ (2:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 111-113 °C; IR (disco de KBr): 3301 $\nu(\text{NH})$, 3070 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$, 2931 $\nu(\text{OCH}_3)$, 1650 $\nu(\text{C=O})$, 1589 $\nu(\text{C-N})$, 1542 $\nu(\text{NH})$, 1342 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$, 1249 $\nu(\text{C-N})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 6.76 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, 9- H_{Ar}), 6.66 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, 6- H_{Ar}), 6.60 (1H, dd, $J = 8.1, 1.9$ Hz, 10- H_{Ar}), 6.39 (2H, s, 5' y 9'- H_{Ar}), 5.46 (1H, t, $J = 6.9$ Hz, NH), 3.84 (3H, s, OCH_3), 3.83 (3H, s, OCH_3), 3.81

(6H, s, 2xOCH₃), 3.79 (3H, s, OCH₃), 3.45 (2H, q, *J* = 6.9 Hz, -CH₂NH), 2.87 (2H, t, *J* = 7.6 Hz, 2'-CH₂), 2.69 (2H, t, *J* = 7.0 Hz, -CH₂Ph), 2.40 (2H, t, *J* = 7.6 Hz, 3'-CH₂). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), δ_(ppm): 172.0, 153.2 (2C), 149.0, 147.7, 136.8, 136.3, 131.27, 120.6 (+), 111.8 (+), 111.3 (+), 105.2 (2C, +), 60.9 (+), 56.1 (2C, +), 55.9 (+), 55.9 (+), 40.7 (-), 38.8 (-), 35.3 (-), 32.2 (-). Fórmula molecular: C₂₂H₂₉NO₆ (P.M.: 403.47 g/mol).

N-(3,4-Dimetoxifeniletil)-3-(3,4-metilendioxfenil)-propanamida (**122d**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4-metilendioxicinamamida **33p** (1.06 g, 3 mmol), 10% Pd/C (50 mg) y etanol (20 mL). Después de filtrar y eliminar el solvente se obtuvieron 1.07 g (3 mmol) de la correspondiente *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3-(3,4-metilendioxi)-propanamida **122d** como un sólido blanco con rendimiento cuantitativo; *R_f* = 0.38 (2:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 151-153 °C; IR (disco de KBr): 3270 ν_(NH), 3085 ν_(CH₂-Ar), 2931 ν_(OCH₃), 2894 ν_(-OCH₂O-), 1635 ν_(C=O), 1558 ν_(C-N), 1425 ν_(CH₂-Ar), 1234 ν_(C-C) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ_(ppm): 6.78 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, 9-*H_{Ar}*), 6.70 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, 8'-*H_{Ar}*), 6.67-6.65 (2H, m, 10 y 5'-*H_{Ar}*), 6.64-6.60 (2H, m, 6 y 9'-*H_{Ar}*), 5.90 (2H, s, -OCH₂O-), 5.42 (1H, br. s., NH), 3.85 (3H, s, OCH₃), 3.84 (3H, s, OCH₃), 3.45 (2H, q, *J* = 6.9 Hz, -CH₂NH), 2.85 (2H, t, *J* = 7.6 Hz, 2'-CH₂), 2.69 (2H, t, *J* = 7.0 Hz, -CH₂Ph), 2.37 (2H, t, *J* = 7.6 Hz, 3'-CH₂). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), δ_(ppm): 172.1, 149.1, 147.7 (2C), 146.0, 134.7, 131.3, 121.2 (+), 120.6

(+), 111.8 (+), 111.3 (+), 108.9 (+), 108.1 (+), 100.9 (-), 56.0 (+), 55.9 (+), 40.7 (-), 38.8 (-), 35.3 (-), 31.5 (-). Fórmula molecular: C₂₀H₂₃NO₅ (P.M.: 357.41 g/mol).

N-(3,4-Dimetoxifeniletil)-3-(4-acetoxifenil)-propanamida (**122e**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-4-acetoxicinamamida **33q** (1.10 g, 3 mmol), 10% Pd/C (50 mg) y etanol (20 mL). Después de filtrar y eliminar el solvente se obtuvieron 1.11 g (3 mmol) de la correspondiente *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3-(4-acetoxifenil)-propanamida **122e** como un sólido blanco con rendimiento cuantitativo; *R*_f = 0.30 (2:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 125-127 °C; IR (disco de KBr): 3317 ν (NH), 3054 ν (CH₂-Ar), 2931 ν (OCH₃), 1758 ν (C=O), 1650 ν (C=O), 1542 ν (C-N), 1465 ν (CH₂-Ar), 1265 ν (C-C) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.15 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, 6' y 8'-H_{Ar}), 6.96 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, 5' y 9'-H_{Ar}), 6.77 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, 9-H_{Ar}), 6.67 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, 6-H_{Ar}), 6.63 (1H, dd, *J* = 8.1, 2.0 Hz, 10-H_{Ar}), 5.42 (1H, t, *J* = 7.0 Hz, NH), 3.84 (3H, s, OCH₃), 3.83 (3H, s, OCH₃), 3.43 (2H, q, *J* = 7.0 Hz, -CH₂NH), 2.91 (2H, t, *J* = 7.6 Hz, 2'-CH₂), 2.68 (2H, t, *J* = 7.1 Hz, -CH₂Ph), 2.39 (2H, t, *J* = 7.6 Hz, 3'-CH₂), 2.26 (3H, s, CH₃). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 172.0, 169.7, 149.1 (2C), 147.7, 138.5, 131.4, 129.4 (2C, +), 121.6 (2C, +), 120.7 (+), 111.9 (+), 111.4 (+), 56.0 (+), 55.9 (+), 40.7 (-), 38.4 (-), 35.2 (-), 31.1 (-), 21.1 (+). Fórmula molecular: C₂₁H₂₅NO₅ (P.M.: 371.43 g/mol).

N-(3,4-Dimetoxifeniletil)-3-(4-acetoxi-3-metoxifenil)-propanamida (**122f**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-4-acetoxi-3-metoxicinamamida **33r** (1.19 g, 3 mmol), 10% Pd/C (50 mg) y etanol (20 mL). Después de filtrar y eliminar el solvente se obtuvieron 1.20 g (3 mmol) de la correspondiente *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3-(4-acetoxi-3-metoxifenil)-propanamida **122f** como un sólido blanco con rendimiento cuantitativo; $R_f = 0.21$ (2:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 108-110 °C; IR (disco de KBr): 3317 $\nu(\text{NH})$, 3070 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$, 2931 $\nu(\text{OCH}_3)$, 1758 $\nu(\text{C=O})$, 1635 $\nu(\text{C=O})$, 1542 $\nu(\text{C-N})$, 1425 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$, 1234 $\nu(\text{C-C})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta(\text{ppm})$: 6.91 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, 9- H_{Ar}), 6.79-6.76 (2H, m, 5' y 8'- H_{Ar}), 6.72 (1H, dd, $J = 8.0, 1.9$ Hz, 9'- H_{Ar}), 6.67 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, 6- H_{Ar}), 6.64 (1H, dd, $J = 8.1, 2.0$ Hz, 10- H_{Ar}), 5.46 (1H, t, $J = 7.0$ Hz, NH), 3.84 (3H, s, OCH_3), 3.83 (3H, s, OCH_3), 3.78 (3H, s, OCH_3), 3.45 (2H, q, $J = 7.0$ Hz, $-\text{CH}_2\text{NH}$), 2.91 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, 2'- CH_2), 2.69 (2H, t, $J = 7.0$ Hz, $-\text{CH}_2\text{Ph}$), 2.40 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, 3'- CH_2), 2.28 (3H, s, CH_3). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta(\text{ppm})$: 171.9, 169.3, 151.0, 149.1, 147.7, 140.0, 138.1, 131.3, 122.7 (+), 120.7 (+), 120.4 (+), 112.7 (+), 111.9 (+), 111.4 (+), 56.0 (+), 55.8 (+), 55.9 (+), 40.7 (-), 38.5 (-), 35.3 (-), 31.7 (-), 20.7 (+). Fórmula molecular: $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NO}_6$ (P.M.: 401.45 g/mol).

N-(3,4-Dimetoxifeniletil)-3-(3-acetoxi-4-metoxifenil)-propanamida (**122g**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3-acetoxi-4-metoxicinamamida **33s** (1.19 g, 3 mmol), 10% Pd/C (50 mg) y etanol (20 mL). Después de filtrar y eliminar el solvente se obtuvieron

1.20 g (3 mmol) de la correspondiente *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3-(3-acetoxi-4-metoxifenil)-propanamida **122g** como un sólido blanco con rendimiento cuantitativo; $R_f = 0.24$ (2:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 89-91 °C; IR (disco de KBr): 3332 $\nu_{\text{(NH)}}$, 3008 $\nu_{\text{(CH}_2\text{-Ar)}}$, 2931 $\nu_{\text{(OCH}_3\text{)}}$, 1758 $\nu_{\text{(C=O)}}$, 1650 $\nu_{\text{(C=O)}}$, 1511 $\nu_{\text{(C-N)}}$, 1450 $\nu_{\text{(CH}_2\text{-Ar)}}$, 1265 $\nu_{\text{(C-C)}}$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 6.98 (1H, dd, $J = 8.4, 1.8$ Hz, 9'- H_{Ar}), 6.85-6.83 (2H, m, 5' y 8'- H_{Ar}), 6.77 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, 9- H_{Ar}), 6.67 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, 6- H_{Ar}), 6.63 (1H, dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz, 10- H_{Ar}), 5.53 (1H, t, $J = 6.8$ Hz, NH), 3.84 (3H, s, OCH_3), 3.83 (3H, s, OCH_3), 3.78 (3H, s, OCH_3), 3.42 (2H, q, $J = 6.8$ Hz, $-\text{CH}_2\text{NH}$), 2.86 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, 2'- CH_2), 2.67 (2H, t, $J = 7.0$ Hz, $-\text{CH}_2\text{Ph}$), 2.36 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, 3'- CH_2), 2.28 (3H, s, CH_3). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 172.0, 169.2, 149.5, 149.1, 147.7, 139.6, 133.5, 131.4, 126.6 (+), 122.8 (+), 120.7 (+), 112.5 (+), 111.9 (+), 111.4 (+), 56.0 (+), 55.9 (+), 55.9 (+), 40.7 (-), 38.5 (-), 35.2 (-), 30.7 (-), 20.7 (+). Fórmula molecular: $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NO}_6$ (P.M.: 401.45 g/mol).

N-(3,4-Dimetoxifeniletil)-3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-propanamida (**122h**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-4-acetoxi-3,5-dimetoxicinamamida **33t** (1.28 g, 3 mmol), 10% Pd/C (50 mg) y etanol (20 mL). Después de filtrar y eliminar el solvente se obtuvieron 1.29 g (3 mmol) de la correspondiente *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-propanamida **122h** como un sólido blanco con rendimiento cuantitativo; $R_f = 0.16$ (2:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 96-98 °C; IR (disco de KBr): 3363 $\nu_{\text{(NH)}}$, 3008 $\nu_{\text{(CH}_2\text{-Ar)}}$, 2931 $\nu_{\text{(OCH}_3\text{)}}$, 1758 $\nu_{\text{(C=O)}}$, 1666

$\nu(\text{C=O})$, 1511 $\nu(\text{C-N})$, 1465 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$, 1265 $\nu(\text{C-C})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 6.77 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, 9- H_{Ar}), 6.67 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, 6- H_{Ar}), 6.63 (1H, dd, $J = 8.1$, 1.8 Hz, 10- H_{Ar}), 6.42 (2H, s, 5' y 9'- H_{Ar}), 5.52 (1H, br. s., NH), 3.84 (6H, s, OCH_3), 3.76 (6H, s, OCH_3), 3.44 (2H, q, $J = 6.9$ Hz, $-\text{CH}_2\text{NH}$), 2.89 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, 2'- CH_2), 2.69 (2H, t, $J = 7.0$ Hz, $-\text{CH}_2\text{Ph}$), 2.39 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, 3'- CH_2), 2.30 (3H, s, OAc) ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 172.0, 169.0, 152.0 (2C), 149.1, 147.7, 139.6, 131.3, 127.0, 120.7 (+), 111.9 (+), 111.4 (+), 105.0 (2C, +), 56.1 (2C, +), 55.9 (+), 55.9 (+), 40.8 (-), 38.6 (-), 35.2 (-), 32.3 (-), 20.5 (+). Fórmula molecular: $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{NO}_7$ (P.M.: 431.48 g/mol).

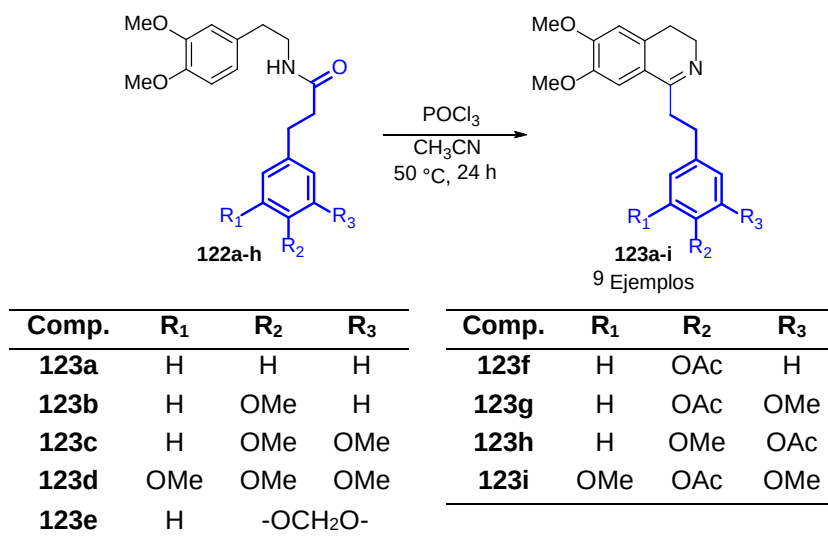
2.7.2 Preparación de una nueva serie de 1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolinas **123a-i** a través de la reacción Bichler-Napieralski

Metodología general

En un reactor de 10 mL equipado con una barra de agitación se adicionó *N*-feniletil-3-fenil-propanamida **122a-h** (2 mmol) y acetonitrilo anhidro (CH_3CN) (5 mL). Una vez disuelta la amida, y a temperatura ambiente, se añadió el cloruro de fosforilo (POCl_3) (3 mmol, 1.5 equiv) y el sistema fue calentado a 50 °C por un periodo de 24 horas, monitoreando la reacción a través de cromatografía en capa fina (CCF). Tras enfriar el sistema a temperatura ambiente, la reacción fue neutralizada con 30 mL de una solución de NaHCO_3 1 M hasta alcanzar un pH igual a 9. La fase orgánica fue extraída con diclorometano (3 x 10 mL), separada y secada sobre sulfato de sodio anhidro. Tras eliminar el disolvente a presión reducida se purificó las correspondientes 1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolinas **123a-i**

mediante cromatografía en columna (CC) sobre gel de sílice empleando una mezcla de diclorometano/metanol (90/10) (Esquema 39).

Esquema 39. Síntesis de 1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolinas **123a-i** a través de la reacción Bichler-Napieralski.



6,7-Dimetoxi-1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolina (**123a**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3-fenil-propanamida **122a** (0.62 g, 2 mmol), POCl₃ (280 μL g, 3 mmol) y CH₃CN (5 mL). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.55 g (1.88 mmol) de la correspondiente 6,7-dimetoxi-1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolina **123a** como un sólido amarillo con rendimiento del 94 %; R_f = 0.52 (8:1 diclorometano/metanol); pf. 81-83 °C; IR (disco de KBr): 2993 ν_(CH₂-Ar), 2838 ν_(OCH₃), 1604 ν_(C=N), 1511 ν_(C-N), 1465 ν_(CH₂-Ar), 1265 ν_(C-C) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ_(ppm): 7.33-7.28 (2H, m, 5' y 9'-H_{Ar}), 7.27-7.18 (3H, m, 6', 7' y 8'-H_{Ar}), 6.96 (1H, s, 8-H_{Ar}), 6.71 (1H, s, 5-H_{Ar}), 3.92 (3H, s, OCH₃), 3.86 (3H, s, OCH₃), 3.70-3.64 (2H, m, -CH₂N), 3.03-2.97 (4H, m, 2' y 3'-CH₂), 2.65-2.59 (2H, m, -

CH_2Ph). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 165.9, 150.7, 147.5, 142.1, 131.5, 128.5 (4C, +), 126.0 (+), 122.0, 110.3 (+), 108.4 (+), 56.2 (+), 56.0 (+), 47.0 (-), 37.9 (-), 33.2 (-), 25.9 (-). Fórmula molecular: $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}_2$ (P.M.: 295.38 g/mol).

6,7-Dimetoxi-1-(4-metoxifeniletil)-3,4-dihidroisoquinolina (123b)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3-(4-metoxifenil)propanamida **33m** (0.68 g, 2 mmol), POCl_3 (280 μL , 3 mmol) y CH_3CN (5 mL). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.63 g (1.94 mmol) de la correspondiente 6,7-dimetoxi-1-(4-metoxifeniletil)-3,4-dihidroisoquinolina **123b** como un sólido amarillo con rendimiento del 97 %; $R_f = 0.51$ (8:1 diclorometano/metanol); pf. 143-145 °C; IR (disco de KBr): 2915 $\nu_{(\text{CH}_2\text{-Ar})}$, 2854 $\nu_{(\text{OCH}_3)}$, 1650 $\nu_{(\text{C=N})}$, 1511 $\nu_{(\text{C-N})}$, 1465 $\nu_{(\text{CH}_2\text{-Ar})}$, 1280 $\nu_{(\text{C-C})}$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 7.15 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, 6' y 8'- H_{Ar}), 6.95 (1H, s, 8- H_{Ar}), 6.84 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, 5' y 9'- H_{Ar}), 6.70 (1H, s, 5- H_{Ar}), 3.91 (3H, s, OCH_3), 3.86 (3H, s, OCH_3), 3.78 (3H, s, OCH_3), 3.67-3.61 (2H, m, - CH_2N), 2.97-2.92 (4H, m, 2' y 3'- CH_2), 2.66-2.57 (2H, m, - CH_2Ph). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 166.0, 157.9, 150.7, 147.5, 134.1, 131.5, 129.4 (2C, +), 122.0, 113.9 (2C, +), 110.3 (+), 108.5 (+), 56.2 (+), 56.0 (+), 55.3 (+), 47.0 (-), 38.2 (-), 32.4 (-), 25.9 (-). Fórmula molecular: $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{NO}_3$ (P.M.: 325.40 g/mol).

6,7-Dimetoxi-1-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4-dihidroisoquinolina (123c)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3-(3,4-dimetoxifenil)-propanamida **122b** (0.74 g, 2 mmol), POCl_3

(280 μ L g, 3 mmol) y CH_3CN (5 mL). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.69 g (1.96 mmol) de la correspondiente 6,7-dimetoxi-1-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4-dihidroisoquinolina **123c** como un sólido amarillo con rendimiento del 98 %; R_f = 0.48 (8:1 diclorometano/metanol); pf. 95-97 °C; IR (disco de KBr): 2931 $\nu_{(\text{CH}_2\text{-Ar})}$, 2838 $\nu_{(\text{OCH}_3)}$, 1604 $\nu_{(\text{C=N})}$, 1511 $\nu_{(\text{C-N})}$, 1465 $\nu_{(\text{CH}_2\text{-Ar})}$, 1265 $\nu_{(\text{C-C})}$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 6.96 (1H, s, 8- H_{Ar}), 6.80 (1H, d, J = 8.6 Hz, 8'- H_{Ar}), 6.77-6.74 (2H, m, 5' y 9'- H_{Ar}), 6.70 (1H, s, 5- H_{Ar}), 3.91 (3H, s, OCH_3), 3.86 (3H, s, OCH_3), 3.85 (3H, s, OCH_3), 3.84 (3H, s, OCH_3), 3.68-3.62 (2H, m, $-\text{CH}_2\text{N}$), 2.98-2.91 (4H, m, 2' y 3'- CH_2), 2.64-2.59 (2H, m, $-\text{CH}_2\text{Ph}$). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 166.3, 151.0, 149.0, 147.6, 147.4, 134.6, 131.7, 122.0, 120.3 (+), 112.0 (+), 111.4 (+), 110.5 (+), 108.8 (+), 56.3 (+), 56.1 (+), 56.0 (+), 55.9 (+), 46.8 (-), 38.0 (-), 33.0 (-), 26.0 (-). Fórmula molecular: $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{NO}_4$ (P.M.: 355.43 g/mol).

6,7-Dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina (123d)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-propanamida **122c** (0.80 g, 2 mmol), POCl_3 (280 μ L g, 3 mmol) y CH_3CN (5 mL). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.76 g (1.98 mmol) de la correspondiente 6,7-dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123d** como un sólido amarillo con rendimiento del 99 %; R_f = 0.42 (8:1 diclorometano/metanol); pf. 104-106 °C; IR (disco de KBr): 2993 $\nu_{(\text{CH}_2\text{-Ar})}$, 2838 $\nu_{(\text{OCH}_3)}$, 1604 $\nu_{(\text{C=N})}$, 1511 $\nu_{(\text{C-N})}$, 1465

$\nu_{(\text{CH}_2\text{-Ar})}$, 1265 $\nu_{(\text{C-C})}$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 7.03 (1H, s, 8- H_{Ar}), 6.77 (1H, s, 5- H_{Ar}), 6.41 (2H, s, 5' y 9'- H_{Ar}), 3.96 (3H, s, OCH_3), 3.89 (3H, s, OCH_3), 3.81 (6H, s, 2x OCH_3), 3.80 (3H, s, OCH_3), 3.74-3.69 (2H, m, $-\text{CH}_2\text{N}$), 3.17-3.11 (2H, m, 2'- CH_2), 2.96 (2H, dd, $J = 8.7, 6.7$ Hz, 3'- CH_2), 2.81-2.75 (2H, m, $-\text{CH}_2\text{Ph}$). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 183.2, 153.4 (3C), 148.2, 136.4, 132.9, 123.5 (+), 122.0, 110.7 (+), 110.05 (s), 105.4 (+, 2C), 60.9 (+), 56.4 (+, 2C), 56.1 (+, 2C), 50.0 (-), 37.0 (-), 33.9 (-), 25.7 (-). Fórmula molecular: $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NO}_5$ (P.M.: 355.46 g/mol).

6,7-Dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-3,4-dihidroisoquinolina (123e)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3-(3,4-metilendioxi)-propanamida **122d** (0.71 g, 2 mmol), POCl_3 (280 μL g, 3 mmol) y CH_3CN (5 mL). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.64 g (1.90 mmol) de la correspondiente 6,7-dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123e** como un sólido amarillo con rendimiento del 99 %; $R_f = 0.50$ (8:1 diclorometano/metanol); pf. 125-127 °C; IR (disco de KBr): 2915 $\nu_{(\text{CH}_2\text{-Ar})}$, 2777 $\nu_{(-\text{OCH}_2\text{O-})}$, 1604 $\nu_{(\text{C=N})}$, 1496 $\nu_{(\text{C-N})}$, 1465 $\nu_{(\text{CH}_2\text{-Ar})}$, 1295 $\nu_{(\text{C-C})}$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 6.98 (1H, s, 8- H_{Ar}), 6.79 (1H, s, 5- H_{Ar}), 6.70 (1H, d, $J = 1.3$ Hz, 5'- H_{Ar}), 6.65 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, 8'- H_{Ar}), 6.61 (1H, dd, $J = 7.9, 1.4$ Hz, 9'- H_{Ar}), 5.87 (2H, s, $-\text{OCH}_2\text{O-}$), 3.98 (3H, s, OCH_3), 3.85 (3H, s, OCH_3), 3.84-3.79 (2H, m, $-\text{CH}_2\text{N}$), 3.47 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, 2'- CH_2), 3.06 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, $-\text{CH}_2\text{Ph}$), 2.93 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, 3'- CH_2). ^{13}C RMN

(101 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 176.2, 156.2, 148.7, 147.9, 146.5, 133.6, 132.3, 121.6 (+), 117.6 (-), 111.3 (+), 111.0 (+), 109.0 (+), 108.5 (+), 101.0 (-), 56.6 (+), 56.4 (+), 40.7 (-), 34.8 (-), 34.5 (-), 25.5 (-). Fórmula molecular: C₂₀H₂₁NO₄ (P.M.: 339.39 g/mol).

6,7-Dimetoxi-1-(4-acetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina (123f)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3-(4-acetoxifenil)-propanamida **122e** (0.74 g, 2 mmol), POCl₃ (280 μ L g, 3 mmol) y CH₃CN (5 mL). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.69 g (1.96 mmol) de la correspondiente 6,7-dimetoxi-1-(4-acetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123f** como un sólido amarillo con rendimiento del 98 %; R_f = 0.45 (8:1 diclorometano/metanol); pf. 132-134 °C; IR (disco de KBr): 2931 $\nu_{\text{(CH}_2\text{-Ar)}}$, 2854 $\nu_{\text{(OCH}_3\text{)}}$, 1758 $\nu_{\text{(C=O)}}$, 1604 $\nu_{\text{(C=N)}}$, 1511 $\nu_{\text{(C-N)}}$, 1465 $\nu_{\text{(CH}_2\text{-Ar)}}$, 1280 $\nu_{\text{(C-C)}}$ cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 7.23 (2H, d, J = 8.5 Hz, 6' y 8'-H_A), 6.99 (2H, d, J = 8.5 Hz, 5' y 9'-H_A), 6.95 (1H, s, 8-H_{Ar}), 6.70 (1H, s, 5-H_{Ar}), 3.91 (3H, s, OCH₃), 3.87 (3H, s, OCH₃), 3.68-3.61 (2H, m, -CH₂N), 3.00-2.97 (4H, m, 2' y 3'-CH₂), 2.64-2.58 (2H, m, -CH₂Ph), 2.28 (3H, s, OAc). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 169.8, 157.1, 151.1, 149.0, 147.7, 139.6, 131.6, 129.5 (2C, +), 121.8, 121.6 (2C, +), 110.5 (+), 108.6 (+), 56.3 (+), 56.1 (+), 46.8 (-), 37.6 (-), 32.5 (-), 25.9 (-), 21.2 (+). Fórmula molecular: C₂₁H₂₃NO₄ (P.M.: 353.41 g/mol).

6,7-Dimetoxi-1-(4-acetoxi-3-metoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina (123g)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3-(4-acetoxi-3-metoxifenil)-propanamida **122f** (0.80 g, 2 mmol), POCl₃ (280 µL g, 3 mmol) y CH₃CN (5 mL). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.72 g (1.90 mmol) de la correspondiente 6,7-dimetoxi-1-(4-acetoxi-3-metoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123g** como un sólido amarillo con rendimiento del 95 %; *R_f* = 0.42 (8:1 diclorometano/metanol); pf. 119-121 °C; IR (disco de KBr): 2931 $\nu_{(\text{CH}_2\text{-Ar})}$, 2838 $\nu_{(\text{OCH}_3)}$, 1758 $\nu_{(\text{C=O})}$, 1604 $\nu_{(\text{C=N})}$, 1511 $\nu_{(\text{C-N})}$, 1465 $\nu_{(\text{CH}_2\text{-Ar})}$, 1280 $\nu_{(\text{C-C})}$ cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), $\delta_{(\text{ppm})}$: 6.96 (1H, s, 8-*H_{Ar}*), 6.93 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, 8'-*H_{Ar}*), 6.84 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, 5'-*H_{Ar}*), 6.79 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.8 Hz, 9'-*H_{Ar}*), 6.70 (1H, s, 5-*H_{Ar}*), 3.91 (3H, s, OCH₃), 3.88 (3H, s, OCH₃), 3.79 (3H, s, OCH₃), 3.68-3.62 (2H, m, -CH₂N), 2.98-2.95 (4H, m, 2' y 3'-CH₂), 2.64-2.59 (2H, m, -CH₂Ph), 2.30 (3H, s, CH₃). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), $\delta_{(\text{ppm})}$: 169.4, 165.9, 151.0, 150.9, 147.7, 141.1, 138.0, 131.6, 122.6 (+), 122.0, 120.6 (+), 112.9 (+), 110.5 (+), 108.6 (+), 56.4 (+), 56.1 (+), 55.9 (+), 46.9 (-), 37.8 (-), 33.1 (-), 25.9 (-), 20.8 (+). Fórmula molecular: C₂₂H₂₅NO₅ (P.M.: 383.44 g/mol).

6,7-Dimetoxi-1-(3-acetoxi-4-metoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina (123h)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3-(3-acetoxi-4-metoxifenil)-propanamida **122g** (0.80 g, 2 mmol), POCl₃ (280 µL g, 3 mmol) y CH₃CN (5 mL). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.75 g (1.98 mmol) de la correspondiente 6,7-dimetoxi-1-(3-acetoxi-4-metoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123h** como un sólido

amarillo con rendimiento del 99 %; $R_f = 0.43$ (8:1 diclorometano/metanol); pf. 82-84 °C; IR (disco de KBr): 2931 $\nu_{(\text{CH}_2\text{-Ar})}$, 2838 $\nu_{(\text{OCH}_3)}$, 1758 $\nu_{(\text{C=O})}$, 1604 $\nu_{(\text{C=N})}$, 1511 $\nu_{(\text{C-N})}$, 1465 $\nu_{(\text{CH}_2\text{-Ar})}$, 1280 $\nu_{(\text{C-C})}$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 7.05 (1H, dd, $J = 8.3, 2.1$ Hz, 9'- H_{Ar}), 6.95 (1H, s, 8- H_{Ar}), 6.90-6.86 (2H, m, 5' y 8'- H_{Ar}), 6.69 (1H, s, 5- H_{Ar}), 3.90 (3H, s, OCH_3), 3.86 (3H, s, OCH_3), 3.79 (3H, s, OCH_3), 3.64 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, $-\text{CH}_2\text{N}$), 2.97-2.89 (4H, m, 2' y 3'- CH_2), 2.63-2.57 (2H, m, $-\text{CH}_2\text{Ph}$), 2.29 (3H, s, CH_3). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 169.2, 166.0, 150.9, 149.3, 147.6, 139.6, 134.6, 131.6, 126.7 (+), 122.8 (+), 121.9, 112.5 (+), 110.4 (+), 108.6 (+), 56.3 (+), 56.0 (+), 46.8 (-), 37.6 (-), 32.1 (-), 25.9 (-), 20.7 (+). Fórmula molecular: $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{NO}_5$ (P.M.: 383.44 g/mol).

6,7-Dimetoxi-1-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina (123i)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-propanamida **122h** (0.82 g, 2 mmol), POCl_3 (280 μL g, 3 mmol) y CH_3CN (5 mL). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.81 g (1.98 mmol) de la correspondiente 6,7-dimetoxi-1-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123i** como un sólido amarillo con rendimiento del 99 %; $R_f = 0.39$ (8:1 diclorometano/metanol); pf. 104-105 °C; IR (disco de KBr): 2931 $\nu_{(\text{CH}_2\text{-Ar})}$, 2838 $\nu_{(\text{OCH}_3)}$, 1758 $\nu_{(\text{C=O})}$, 1635 $\nu_{(\text{C=N})}$, 1511 $\nu_{(\text{C-N})}$, 1465 $\nu_{(\text{CH}_2\text{-Ar})}$, 1280 $\nu_{(\text{C-C})}$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 7.01 (1H, s, 8- H_{Ar}), 6.72 (1H, s, 5- H_{Ar}), 6.47 (2H, s, 5' y 9'- H_{Ar}), 3.93 (3H, s, OCH_3), 3.89 (3H, s, OCH_3), 3.77 (6H, s, OCH_3), 3.71-3.66 (2H,

m, -CH₂N), 3.21-3.15 (2H, m, 2'-CH₂), 3.00 (2H, dd, *J* = 9.3, 6.7 Hz, -CH₂Ph), 2.71-2.64 (2H, m, 3'-CH₂), 2.31 (3H, s, CH₃). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), δ(ppm): 169.1, 169.0, 152.7, 152.1 (2C), 148.1, 139.4, 132.3, 127.1, 120.6, 110.6 (+), 109.5 (+), 105.3 (2C, +), 56.4 (+), 56.2 (+), 44.9 (-), 36.4 (-), 34.1 (-), 25.8 (-), 20.5 (+).
Fórmula molecular: C₂₃H₂₇NO₆ (P.M.: 413.47 g/mol).

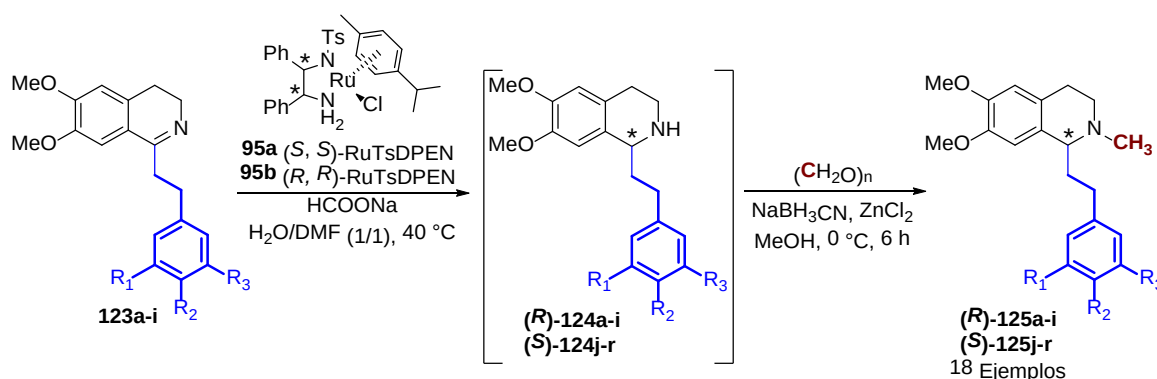
*2.7.3 Síntesis enantioselectiva de 1-feniletil-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas **125a-r** en dos etapas a través de la secuencia de reacciones: Transferencia asimétrica de hidrógeno (AHT)/metilación reductiva*

Metodología general

En un reactor de 15 mL equipado con una barra de agitación se adicionó el respectivo complejo de rutenio (RuTsDPEN) **95a-b** (10 μmol, 2 mol %), formiato de sodio (HCOONa) (2.5 mmol, 5 equiv) y la correspondiente 1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolina **123a-i** (0.5 mmol) a temperatura ambiente. El vial fue sellado y el aire fue evacuado estableciendo una atmosfera de argón y se procedió a añadir una mezcla de agua/dimetilformamida (H₂O/DMF) en relación 1/1 (3 mL). El sistema fue calentado a 40 °C por un periodo de 12 horas, monitoreando la reacción a través de cromatografía en capa fina (CCF), tras enfriar el sistema a temperatura ambiente, la reacción fue extraída con acetato de etilo (3 x 10 mL) y la fase orgánica se separó y secó sobre sulfato de sodio anhidro. Tras la eliminación del disolvente a presión reducida se obtuvo la respectiva 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **124a-r**, la cual se empleó en la segunda etapa sin purificación previa. A continuación, en un reactor de 15 mL equipado con una

barra de agitación se adicionó cianoborohidruro de sodio (NaBH_3CN) (0.55 mmol, 1.1 equiv), cloruro de zinc (ZnCl_2) (0.25 mmol, 0.5 equiv) y metanol (1 mL) a 0 °C. Sobre esta solución se adicionó gota a gota la respectiva 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **1124a-r** y paraformaldehído (1.5 mmol, 3 equiv) disueltos en metanol (4 mL) por un periodo de 15 minutos. Tras 6 horas de agitación, un monitoreo por cromatografía en capa fina (CCF) indicó el final de la reacción, la cual se neutralizó con una solución acuosa de bicarbonato de sodio (1 M) y la extracción del producto de interés se realizó con diclorometano (3 x 10 mL). La fase orgánica se separó y secó sobre sulfato de sodio anhidro y el solvente se eliminó a presión reducida. La purificación de las correspondientes 1-feniletíl-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas **125a-r** se realizó mediante cromatografía en columna (CC) sobre gel de sílice empleando una mezcla de diclorometano/metanol (90/10) (Esquema 40).

Esquema 40. Síntesis de 1-estiril-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas **125a-r**, alcaloides *Dysoxylum*, en dos etapas a través de la secuencia de reacciones: reacción AHT/metilación reductiva.



Comp.	C-1	R ₁	R ₂	R ₃
125a	<i>R</i>	H	H	H
125b	<i>R</i>	H	OMe	H

Comp.	C-1	R ₁	R ₂	R ₃
125j	<i>S</i>	H	H	H
125k	<i>S</i>	H	OMe	H

125c	<i>R</i>	H	OMe	OMe	125l	<i>S</i>	H	OMe	OMe	
125d	<i>R</i>	OMe	OMe	OMe	125m	<i>S</i>	OMe	OMe	OMe	
125e	<i>R</i>	H	-OCH ₂ O-		125n	<i>S</i>	H	-OCH ₂ O-		
125f	<i>R</i>	H	OH	H	125o	<i>S</i>	H	OH	H	
125g	<i>R</i>	H	OH	OMe	125p	<i>S</i>	H	OH	OMe	(<i>R</i>)-
125h	<i>R</i>	H	OMe	OH	125q	<i>S</i>	H	OMe	OH	
125i	<i>R</i>	OMe	OH	OMe	125r	<i>S</i>	OMe	OH	OMe	6,7-

Dimetoxi-1-feniletil-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (125a)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 6,7-dimetoxi-1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolina **123a** (0.14 g, 0.5 mmol), (*S*, *S*)-RuTsDPEN **95a** (6.36 mg, 10 μ mol, 2 mol %), HCOONa (0.17 g, 2.5 mmol) y (H₂O/DMF) (3 mL, 1/1). Tras la extracción líquido-líquido, la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **124a** (0.14 g) fue empleada en la segunda etapa sin purificación previa. Continuando con la metodología general, se utilizó paraformaldehído (1.5 mmol), NaBH₃CN (34.5 mg, 0.55 mmol), ZnCl₂ (34.0 mg, 0.25 mmol) y metanol (5 mL). Tras la extracción y purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.13 g (0.44 mmol) de la correspondiente (*R*)-6,7-dimetoxi-1-feniletil-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125a** como aceite amarillo con un rendimiento del 89 %; *R*_f = 0.65 (10:1 diclorometano/metanol); IR (Película líquida): 2931 ν (CH₂-Ar), 2838 ν (OCH₃), 2792 ν (N-C), 1604 ν (C-C), 1511 ν (C-N), 1218 ν (CH₃), 1110 ν (C-O) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.29-7.24 (2H, m, 5' y 9'-*H*_{Ar}), 7.19-7.14 (3H, m, 6', 7' y 8'-*H*_{Ar}), 6.57 (1H, s, 8-*H*_{Ar}), 6.54 (1H, s, 5-*H*_{Ar}), 3.85 (3H, s, OCH₃), 3.82 (3H, s, OCH₃), 3.42 (1H, t, *J* = 5.3 Hz, CH_a-N), 3.18-3.10 (1H, m, CH_b-N), 2.80-2.67 (4H, m, -CH₂Ph y 3'-CH₂), 2.61-2.52 (1H, m, 1-CH), 2.48 (3H, s, NCH₃), 2.09-2.03 (2H, m, 2'-CH₂). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 147.4,

147.3, 143.1, 129.9, 128.5 (2C, +), 128.4 (2C, +), 126.9, 125.7 (+), 111.4 (+), 110.1 (+), 62.9 (+), 56.1 (+), 55.9 (+), 48.9 (-), 42.8 (+), 36.9 (-), 31.7 (-), 25.7 (-). HPLC (KROMASIL® 5-CelluCoat 4.6 x 250 mm, fase móvil: hexano/*i*-PrOH = 90/10, 0.1 % DEA, λ = 254 nm, flujo: 1.0 mL/min, 25 °C): t_{R1} = 6.06 min (minoritario, 2.5 %), t_{R2} = 8.35 min (mayoritario, 97.4 %), exceso enantiomérico: 95 % ee; $[\alpha]_D^{25}$ = -11.4 (c = 0.025, EtOH). Fórmula molecular: C₂₀H₂₅NO₂ (P.M.: 311.42 g/mol).

(R)-6,7-Dimetoxi-1-(4-metoxifeniletil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (**125b**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 6,7-dimetoxi-1-(4-metoxifeniletil)-3,4-dihidroisoquinolina **123b** (0.16 g, 0.5 mmol), (*S*, *S*)-RuTsDPEN **95a** (6.36 mg, 10 μ mol, 2 mol %), HCOONa (0.17 g, 2.5 mmol) y (H₂O/DMF) (3 mL, 1/1). Tras la extracción líquido-líquido, la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **124b** (0.16 g) fue empleada en la segunda etapa sin purificación previa. Continuando con la metodología general, se utilizó paraformaldehído (1.5 mmol), NaBH₃CN (34.5 mg, 0.55 mmol), ZnCl₂ (34.0 mg, 0.25 mmol) y metanol (5 mL). Tras la extracción y purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.15 g (0.46 mmol) de la correspondiente (*R*)-6,7-dimetoxi-1-(4-metoxifeniletil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125b** como aceite amarillo con un rendimiento del 93 %; R_f = 0.61 (10:1 diclorometano/metanol); IR (Película líquida): 2931 $\nu_{(CH_2-Ar)}$, 2838 $\nu_{(OCH_3)}$, 2792 $\nu_{(N-C)}$, 1604 $\nu_{(C-C)}$, 1511 $\nu_{(C-N)}$, 1249 $\nu_{(CH_3)}$, 1033 $\nu_{(C-O)}$ cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), $\delta_{(ppm)}$: 7.12 (2H, d, J = 8.7 Hz, 6' y 8'-*H*_{Ar}), 6.84 (2H, d, J = 8.7 Hz, 5' y 9'-*H*_{Ar}), 6.59 (1H, s, 8-*H*_{Ar}), 6.56 (1H, s, 5-*H*_{Ar}), 3.88 (3H, s, OCH₃), 3.85 (3H, s, OCH₃), 3.80

(3H, s, OCH₃), 3.44 (1H, t, *J* = 5.4 Hz, CH_a-N), 3.22-3.13 (1H, m, CH_b-N), 2.81-2.66 (4H, m, -CH₂Ph y 3'-CH₂), 2.55 (1H, dd, *J* = 15.1, 7.8 Hz, 1-CH), 2.49 (3H, s, NCH₃), 2.09-2.00 (2H, m, 2'-CH₂). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), δ_(ppm): 157.6, 147.2, 147.2, 134.9, 129.9, 129.3 (2C, +), 126.7, 113.7 (2C, +), 111.3 (+), 110.0 (+), 62.7 (+), 56.0 (+), 55.8 (+), 55.2 (+), 48.1 (-), 42.6 (+), 37.1 (-), 30.7 (-), 25.4 (-). HPLC (KROMASIL[®] 5-CelluCoat 4.6 x 250 mm, fase móvil: hexano/*i*-PrOH = 90/10, 0.1 % DEA, λ = 254 nm, flujo: 1.0 mL/min, 25 °C): *t*_{R1} = 6.88 min (minoritario, 4.7 %), *t*_{R2} = 11.07 min (mayoritario, 95.3 %), exceso enantiomérico: 91 % ee; [α]_D²⁵ = -5.9 (c = 0.025, EtOH). Fórmula molecular: C₂₁H₂₇NO₃ (P.M.: 341.19 g/mol).

(R)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4-dimetoxifeniletil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina
(**125c**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 6,7-dimetoxi-1-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4-dihidroisoquinolina **123c** (0.17 g, 0.5 mmol), (*S*, *S*)-RuTsDPEN **95a** (6.36 mg, 10 μmol, 2 mol %), HCOONa (0.17 g, 2.5 mmol) y (H₂O/DMF) (3 mL, 1/1). Tras la extracción líquido-líquido, la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **124c** (0.17 g) fue empleada en la segunda etapa sin purificación previa. Continuando con la metodología general, se utilizó paraformaldehído (1.5 mmol), NaBH₃CN (34.5 mg, 0.55 mmol), ZnCl₂ (34.0 mg, 0.25 mmol) y metanol (5 mL). Tras la extracción y purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.17 g (0.46 mmol) de la correspondiente (*R*)-6,7-dimetoxi-1-(3,4-dimetoxifeniletil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125c** como

aceite amarillo con un rendimiento del 92 %; $R_f = 0.59$ (10:1 diclorometano/metanol); IR (Película líquida): 2931 $\nu_{(\text{CH}_2\text{-Ar})}$, 2838 $\nu_{(\text{OCH}_3)}$, 2792 $\nu_{(\text{N-C})}$, 1604 $\nu_{(\text{C-C})}$, 1511 $\nu_{(\text{C-N})}$, 1265 $\nu_{(\text{CH}_3)}$, 1041 $\nu_{(\text{C-O})}$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 6.81 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, 8'- H_{Ar}), 6.76-6.72 (2H, m, 5' y 9'- H_{Ar}), 6.60 (1H, s, 8- H_{Ar}), 6.56 (1H, s, 5- H_{Ar}), 3.88 (3H, s, OCH_3), 3.87 (3H, s, OCH_3), 3.87 (3H, s, OCH_3), 3.85 (3H, s, OCH_3), 3.45 (1H, t, $J = 5.4$ Hz, $\text{CH}_a\text{-N}$), 3.21-3.14 (1H, m, $\text{CH}_b\text{-N}$), 2.83-2.66 (4H, m, $-\text{CH}_2\text{Ph}$ y 3'- CH_2), 2.55 (1H, dd, $J = 14.7, 8.3$ Hz, 1- CH), 2.50 (3H, s, NCH_3), 2.05 (2H, ddd, $J = 7.9, 7.0, 3.6$ Hz, 2'- CH_2). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 148.8, 147.3, 147.3, 147.1, 135.6, 129.9, 126.8, 120.2 (+), 112.0 (+), 111.4 (+), 111.3 (+), 110.2 (+), 62.15 (+), 56.1 (+), 56.0 (+), 55.9 (2C, +), 48.1 (-), 42.8 (+), 37.1 (-), 31.3 (-), 25.4 (-). HPLC (KROMASIL® 5-CelluCoat 4.6 x 250 mm, fase móvil: hexano/*i*-PrOH = 90/10, 0.1 % DEA, $\lambda = 254$ nm, flujo: 1.0 mL/min, 25 °C): $t_{\text{R1}} = 12.48$ min (minoritario, 5.9 %), $t_{\text{R2}} = 20.75$ min (mayoritario, 94.0 %), exceso enantiomérico: 88 % ee; $[\alpha]_D^{25} = -3.9$ ($c = 0.025$, EtOH). Fórmula molecular: $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{NO}_4$ (P.M.: 371.47 g/mol).

(R)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenilet)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina
(**125d**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 6,7-dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123d** (0.19 g, 0.5 mmol), (S, S)-RuTsDPEN **95a** (6.36 mg, 10 μmol , 2 mol %), HCOONa (0.17 g, 2.5 mmol) y ($\text{H}_2\text{O}/\text{DMF}$) (3 mL, 1/1). Tras la extracción líquido-líquido, la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **124d** (0.19 g) fue empleada en la segunda etapa sin

purificación previa. Continuando con la metodología general, se utilizó paraformaldehído (1.5 mmol), NaBH₃CN (34.5 mg, 0.55 mmol), ZnCl₂ (34.0 mg, 0.25 mmol) y metanol (5 mL). Tras la extracción y purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.19 g (0.48 mmol) de la correspondiente (*R*)-6,7-dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifeniletil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125d** como aceite amarillo con un rendimiento del 97 %; *R_f* = 0.52 (10:1 diclorometano/metanol); IR (Película líquida): 2931 $\nu_{\text{(CH}_2\text{-Ar)}}$, 2838 $\nu_{\text{(OCH}_3\text{)}}$, 2792 $\nu_{\text{(N-C)}}$, 1589 $\nu_{\text{(C-C)}}$, 1511 $\nu_{\text{(C-N)}}$, 1249 $\nu_{\text{(CH}_3\text{)}}$, 1026 $\nu_{\text{(C-O)}}$ cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 6.58 (1H, s, 8-*H_{Ar}*), 6.54 (1H, s, 5-*H_{Ar}*), 6.39 (2H, s, 5' y 9'-*H_{Ar}*) 3.85 (3H, s, OCH₃), 3.83 (6H, s, OCH₃), 3.83 (3H, s, OCH₃), 3.81 (3H, s, OCH₃), 3.43 (1H, t, *J* = 5.5 Hz, *CH_a*-N), 3.19-3.11 (1H, m, *CH_b*-N), 2.81-2.64 (4H, m, -CH₂Ph y 3'-CH₂), 2.52 (1H, dd, *J* = 14.5, 7.1 Hz, 1-CH), 2.48 (3H, s, NCH₃), 2.05 (2H, ddd, *J* = 13.3, 8.2 Hz, 2'-CH₂). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 153.1 (3C), 147.4, 138.8, 136.0, 129.8, 126.9, 111.4 (+), 110.2 (+), 105.4 (2C, +), 62.8 (+), 60.9 (+), 56.1 (+), 56.1 (2C, +), 55.9 (+), 48.1 (-), 42.8 (+), 37.0 (-), 32.1 (-), 25.5 (-). HPLC (KROMASIL® 5-CelluCoat 4.6 x 250 mm, fase móvil: hexano/*i*-PrOH = 90/10, 0.1 % DEA, λ = 254 nm, flujo: 1.0 mL/min, 25 °C): *t_{R1}* = 13.35 min (minoritario, 4.4 %), *t_{R2}* = 21.84 min (mayoritario, 95.6 %), exceso enantiomérico: 91 % ee; $[\alpha]_D^{25}$ = -5.6 (c = 0.025, EtOH). Fórmula molecular: C₂₃H₃₁NO₅ (P.M.: 401.50 g/mol).

(R)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina
(**125e**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 6,7-dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123e** (0.11 g, 0.5 mmol), (S, S)-RuTsDPEN **95a** (6.36 mg, 10 μ mol, 2 mol %), HCOONa (0.17 g, 2.5 mmol) y (H₂O/DMF) (3 mL, 1/1). Tras la extracción líquido-líquido, la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **124e** (0.11 g) fue empleada en la segunda etapa sin purificación previa. Continuando con la metodología general, se utilizó paraformaldehído (1.5 mmol), NaBH₃CN (34.5 mg, 0.55 mmol), ZnCl₂ (34.0 mg, 0.25 mmol) y metanol (5 mL). Tras la extracción y purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.16 g (0.47 mmol) de la correspondiente (*R*)-6,7-dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125e** como aceite amarillo con un rendimiento del 94 %; R_f = 0.60 (10:1 diclorometano/metanol); IR (Película líquida): 2931 $\nu_{\text{(CH}_2\text{-Ar)}}$, 2838 $\nu_{\text{(OCH}_3\text{)}}$, 2792 $\nu_{\text{(N-C)}}$, 1604 $\nu_{\text{(C-C)}}$, 1511 $\nu_{\text{(C-N)}}$, 1357, $\nu_{\text{(-OCH}_2\text{O-)}}$, 1249 $\nu_{\text{(CH}_3\text{)}}$, 1110 $\nu_{\text{(C-O)}}$ cm^{-1} ; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 6.70 (1H, d, J = 7.9 Hz, 8'- H_{Ar}), 6.67 (1H, d, J = 1.5 Hz, 5'- H_{Ar}), 6.62 (1H, dd, J = 7.9, 1.6 Hz, 9'- H_{Ar}), 6.56 (1H, s, 8- H_{Ar}), 6.53 (1H, s, 5- H_{Ar}), 5.88 (2H, s, -OCH₂O-), 3.84 (3H, s, OCH₃), 3.82 (3H, s, OCH₃), 3.41 (1H, t, J = 5.4 Hz, CH_a-N), 3.17-3.08 (1H, m, CH_b-N), 2.79-2.61 (4H, m, -CH₂Ph y 3'-CH₂), 2.52-2.47 (1H, m, 1-CH), 2.46 (3H, s, NCH₃), 2.01 (2H, dt, J = 10.2, 6.6 Hz, 2'-CH₂). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 147.5, 147.3, 147.3, 145.4, 136.7, 129.7, 126.7, 121.1 (+), 111.3 (+), 110.0 (+), 108.9 (+), 108.1 (+), 100.7 (-), 62.6 (+), 56.0 (+), 55.8 (+), 48.1 (-), 42.6 (+), 37.1 (-), 31.4 (-), 25.4 (-). HPLC (KROMASIL® 5-CelluCoat 4.6 x 250 mm, fase móvil: hexano/*i*-PrOH = 90/10, 0.1 % DEA, λ = 254

nm, flujo: 1.0 mL/min, 25 °C): t_{R1} = 7.69 min (minoritario, 6.3 %), t_{R2} = 11.81 min (mayoritario, 93.6 %), exceso enantiomérico: 87 % ee; $[\alpha]_D^{25}$ = -3.6 (c = 0.025, EtOH). Fórmula molecular: $C_{21}H_{25}NO_4$ (P.M.: 355.43 g/mol).

***(R)*-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (125f)**

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 6,7-dimetoxi-1-(4-acetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123f** (0.17 g, 0.5 mmol), (*S*, *S*)-RuTsDPEN **95a** (6.36 mg, 10 μ mol, 2 mol %), HCOONa (0.17 g, 2.5 mmol) y (H_2O/DMF) (3 mL, 1/1). Tras la extracción líquido-líquido, la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **124f** (0.17 g) fue empleada en la segunda etapa sin purificación previa. Continuando con la metodología general, se utilizó paraformaldehído (1.5 mmol), $NaBH_3CN$ (34.5 mg, 0.55 mmol), $ZnCl_2$ (34.0 mg, 0.25 mmol) y metanol (5 mL). Tras la extracción y purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.14 g (0.45 mmol) de la correspondiente *(R)*-6,7-dimetoxi-1-(4-hidroxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125f** como aceite rojo con un rendimiento del 90 %; R_f = 0.47 (10:1 diclorometano/metanol); IR (Película líquida): 3455 $\nu_{(OH)}$, 2946 $\nu_{(CH_2-Ar)}$, 2838 $\nu_{(OCH_3)}$, 2792 $\nu_{(N-C)}$, 1604 $\nu_{(C-C)}$, 1511 $\nu_{(C-N)}$, 1249 $\nu_{(CH_3)}$, 1110 $\nu_{(C-O)}$ cm^{-1} ; 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 7.03 (1H, br. s., -OH), 6.99 (2H, d, J = 8.5 Hz, 6' y 8'- H_{Ar}), 6.70 (2H, d, J = 8.5 Hz, 5' y 9'- H_{Ar}), 6.57 (1H, s, 8- H_{Ar}), 6.53 (1H, s, 5- H_{Ar}), 3.85 (3H, s, OCH_3), 3.82 (3H, s, OCH_3), 3.45 (1H, t, J = 5.6 Hz, CH_a-N), 3.21-3.16 (1H, m, CH_b-N), 2.84-2.62 (4H, m, - CH_2Ph y 3'- CH_2), 2.54 (1H, dd, J = 9.9, 5.3 Hz, 1- CH), 2.46 (3H, s, NCH_3), 2.11-1.93 (2H, m, 2'- CH_2). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 154.3, 147.4, 147.3, 283

134.2, 129.7, 129.5 (2C, +), 126.3, 115.5 (2C, +), 111.5 (+), 110.4 (+), 62.7 (+), 56.1 (+), 55.9 (+), 47.6 (-), 42.4 (+), 37.3 (-), 31.2 (-), 25.0 (-). ¹³C-NMR HPLC (KROMASIL® 5-CelluCoat 4.6 x 250 mm, fase móvil: hexano/*i*-PrOH = 90/10, 0.1 % DEA, λ = 254 nm, flujo: 1.0 mL/min, 25 °C): t_{R1} = 13.13 min (minoritario, 5.2 %), t_{R2} = 32.37 min (mayoritario, 94.7 %), exceso enantiomérico: 90 % ee; $[\alpha]_D^{25}$ = -5.1 (c = 0.025, EtOH). Fórmula molecular: C₁₉H₂₁NO₃ (P.M.: 311.38 g/mol).

(R)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina

(125g)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 6,7-dimetoxi-1-(4-acetoxi-3-metoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123g** (0.19 g, 0.5 mmol), (S, S)-RuTsDPEN **95a** (6.36 mg, 10 μ mol, 2 mol %), HCOONa (0.17 g, 2.5 mmol) y (H₂O/DMF) (3 mL, 1/1). Tras la extracción líquido-líquido, la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **124g** (0.19 g) fue empleada en la segunda etapa sin purificación previa. Continuando con la metodología general, se utilizó paraformaldehído (1.5 mmol), NaBH₃CN (34.5 mg, 0.55 mmol), ZnCl₂ (34.0 mg, 0.25 mmol) y metanol (5 mL). Tras la extracción y purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.15 g (0.45 mmol) de la correspondiente *(R)*-6,7-dimetoxi-1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125g** como aceite marrón con un rendimiento del 91 %; R_f = 0.43 (10:1 diclorometano/metanol); IR (Película líquida): 3440 ν (OH), 2931 ν (CH₂-Ar), 2854 ν (OCH₃), 2792 ν (N-C), 1604 ν (C-C), 1511 ν (C-N), 1265 ν (CH₃), 1110 ν (C-O) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 6.81 (1H, d, J = 7.7 Hz, 8'-H_{Ar}), 6.76 (1H, br. s., -

OH), 6.70-6.65 (2H, m, 5' y 9'-H_{Ar}), 6.57 (1H, s, 8-H_{Ar}), 6.52 (1H, s, 5-H_{Ar}), 3.85 (6H, s, OCH₃), 3.82 (3H, s, OCH₃), 3.46 (1H, t, *J* = 4.9 Hz, CH_a-N), 3.23-3.16 (1H, m, CH_b-N), 2.82-2.64 (4H, m, -CH₂Ph y 3'-CH₂), 2.54 (1H, dd, *J* = 10.0, 5.0 Hz, 1-CH), 2.49 (3H, s, NCH₃), 2.16-1.95 (2H, m, 2'-CH₂). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), δ_(ppm): 147.5, 147.4, 146.5, 143.7, 134.6, 129.4, 126.3, 120.9 (+), 114.3 (+), 111.4 (+), 111.2 (+), 110.2 (+), 62.7 (+), 56.1 (+), 56.0 (+), 55.9 (+), 47.8 (-), 42.5 (+), 37.2 (-), 31.5 (-), 25.1 (-). HPLC (KROMASIL® 5-CelluCoat 4.6 x 250 mm, fase móvil: hexano/*i*-PrOH = 90/10, 0.1 % DEA, λ = 254 nm, flujo: 1.0 mL/min, 25 °C): *t*_{R1} = 16.70 min (minoritario, 5.5 %), *t*_{R2} = 31.86 min (mayoritario, 94.4 %), exceso enantiomérico: 89 % ee; [α]_D²⁵ = -4.3 (c = 0.025, EtOH). Fórmula molecular: C₂₀H₂₃NO₄ (P.M.: 341.40 g/mol).

(*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (125h)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 6,7-dimetoxi-1-(3-acetoxi-4-metoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123h** (0.19 g, 0.5 mmol), (*S, S*)-RuTsDPEN **95a** (6.36 mg, 10 μmol, 2 mol %), HCOONa (0.17 g, 2.5 mmol) y (H₂O/DMF) (3 mL, 1/1). Tras la extracción líquido-líquido, la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **124h** (0.19 g) fue empleada en la segunda etapa sin purificación previa. Continuando con la metodología general, se utilizó paraformaldehído (1.5 mmol), NaBH₃CN (34.5 mg, 0.55 mmol), ZnCl₂ (34.0 mg, 0.25 mmol) y metanol (5 mL). Tras la extracción y purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.15 g (0.46 mmol) de la

correspondiente (*R*)-6,7-dimetoxi-1-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125h** como aceite marrón con un rendimiento del 92 %; R_f = 0.42 (10:1 diclorometano/metanol); IR (Película líquida): 3455 $\nu_{(OH)}$, 2931 $\nu_{(CH_2-Ar)}$, 2838 $\nu_{(OCH_3)}$, 2792 $\nu_{(N-C)}$, 1604 $\nu_{(C-C)}$, 1511 $\nu_{(C-N)}$, 1265 $\nu_{(CH_3)}$, 1126 $\nu_{(C-O)}$ cm^{-1} ; 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 6.98 (1H, br. s., -OH), 6.77 (1H, d, J = 1.2 Hz, 5'- H_{Ar}), 6.75 (1H, d, J = 8.3 Hz, 8'- H_{Ar}), 6.65 (1H, dd, J = 7.8, 1.5 Hz, 9'- H_{Ar}), 6.56 (1H, s, 8- H_{Ar}), 6.54 (1H, s, 5- H_{Ar}), 3.85 (6H, s, OCH_3), 3.83 (3H, s, OCH_3), 3.42 (1H, t, J = 5.3 Hz, CH_a-N), 3.16-3.10 (1H, m, CH_b-N), 2.80-2.60 (4H, m, - CH_2Ph y 3'- CH_2), 2.50 (1H, dd, J = 8.8, 6.6 Hz, 1- CH), 2.47 (3H, s, NCH_3), 2.05-1.99 (2H, m, 2'- CH_2). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 147.4, 147.3, 145.6, 144.7, 136.3, 129.9, 126.7, 119.8 (+), 114.8 (+), 111.4 (+), 110.7 (+), 110.1 (+), 62.7 (+), 56.1 (2C, +), 55.9 (+), 48.2 (-), 42.7 (+), 37.0 (-), 31.1 (-), 25.5 (-). $^{25}HPLC$ (KROMASIL® 5-CelluCoat 4.6 x 250 mm, fase móvil: hexano/*i*-PrOH = 90/10, 0.1 % DEA, λ = 254 nm, flujo: 1.0 mL/min, 25 °C): t_{R1} = 17.06 min (minoritario, 5.6 %), t_{R2} = 25.01 min (mayoritario, 94.3 %), exceso enantiomérico: 89 % ee; $[\alpha]_D^{25}$ = -4.0 (c = 0.025, EtOH). Fórmula molecular: $C_{20}H_{23}NO_4$ (P.M.: 341.40 g/mol).

(R)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (**125i**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 6,7-dimetoxi-1-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123i** (0.20 g, 0.5 mmol), (*S, S*)-RuTsDPEN **95a** (6.36 mg, 10 μ mol, 2 mol %), $HCOONa$ (0.17 g, 2.5 mmol) y (H_2O/DMF) (3 mL, 1/1). Tras la extracción líquido-líquido, la

correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **124i** (0.19 g) fue empleada en la segunda etapa sin purificación previa. Continuando con la metodología general, se utilizó paraformaldehído (1.5 mmol), NaBH₃CN (34.5 mg, 0.55 mmol), ZnCl₂ (34.0 mg, 0.25 mmol) y metanol (5 mL). Tras la extracción y purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.16 g (0.45 mmol) de la correspondiente (*R*)-6,7-dimetoxi-1-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125i** como aceite café con un rendimiento del 90 %; *R*_f = 0.40 (10:1 diclorometano/metanol); IR (Película líquida): 3425 ν (OH), 2931 ν (CH₂-Ar), 2854 ν (OCH₃), 2792 ν (N-C), 1604 ν (C-C), 1511 ν (C-N), 1249 ν (CH₃), 1110 ν (C-O) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.05 (1H, br. s., -OH), 6.58 (1H, s, 8-*H*_{Ar}), 6.50 (1H, s, 5-*H*_{Ar}), 6.43 (2H, s, 5' y 9'-*H*_{Ar}), 3.86 (6H, s, OCH₃), 3.85 (3H, s, OCH₃), 3.82 (3H, s, OCH₃), 3.51 (1H, t, *J* = 5.6 Hz, CH_a-N), 3.28-3.20 (1H, m, CH_b-N), 2.85-2.67 (4H, m, -CH₂Ph y 3'-CH₂), 2.75 (1H, dd, *J* = 9.6, 4.8 Hz, 1-CH), 2.52 (3H, s, NCH₃), 2.21-1.94 (2H, m, 2'-CH₂). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 147.7, 147.5, 147.0 (2C), 133.8 111.4 (+), 110.3 (+), 105.1 (2C, +), 62.7 (+), 56.4 (2C, +), 56.1 (+), 55.9 (+), 45.9 (-), 42.3 (+), 37.1 (-), 32.0 (-), 24.7 (-). HPLC (KROMASIL® 5-CelluCoat 4.6 x 250 mm, fase móvil: hexano/*i*-PrOH = 90/10, 0.1 % DEA, λ = 254 nm, flujo: 1.0 mL/min, 25 °C): *t*_{R1} = 27.10 min (minoritario, 3.0 %), *t*_{R2} = 36.48 min (mayoritario, 96.9 %), exceso enantiomérico: 94 % ee; $[\alpha]_D^{25}$ = -9.3 (c = 0.025, EtOH). Fórmula molecular: C₂₀H₂₃NO₄ (P.M.: 371.43 g/mol).

(*S*)-6,7-Dimetoxi-1-feniletíl-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (**125j**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 6,7-dimetoxi-1-feniletíl-3,4-dihidroisoquinolina **123a** (0.14 g, 0.5 mmol), (*R, R*)-RuTsDPEN **95b** (6.36 mg, 10 μ mol, 2 mol %), HCOONa (0.17 g, 2.5 mmol) y (H₂O/DMF) (3 mL, 1/1). Tras la extracción líquido-líquido, la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **124j** (0.14 g) fue empleada en la segunda etapa sin purificación previa. Continuando con la metodología general, se utilizó paraformaldehído (1.5 mmol), NaBH₃CN (34.5 mg, 0.55 mmol), ZnCl₂ (34.0 mg, 0.25 mmol) y metanol (5 mL). Tras la extracción y purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.14 g (0.45 mmol) de la correspondiente (*S*)-6,7-dimetoxi-1-feniletíl-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125j** como aceite amarillo con un rendimiento del 95 %; *R*_f = 0.65 (10:1 diclorometano/metanol); IR (Película líquida): 2931 ν (CH₂-Ar), 2838 ν (OCH₃), 2792 ν (N-C), 1604 ν (C-C), 1511 ν (C-N), 1218 ν (CH₃), 1110 ν (C-O) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.29-7.25 (2H, m, 5' y 9'-*H*_{Ar}), 7.19-7.16 (3H, m, 6', 7' y 8'-*H*_{Ar}), 6.57 (1H, s, 8'-*H*_{Ar}), 6.55 (1H, s, 5'-*H*_{Ar}), 3.86 (3H, s, OCH₃), 3.83 (3H, s, OCH₃), 3.43 (1H, t, *J* = 5.4 Hz, CH_a-N), 3.18-3.11 (1H, m, CH_b-N), 2.81-2.67 (4H, m, -CH₂Ph y 3'-CH₂), 2.61-2.53 (1H, m, 1-CH), 2.48 (3H, s, NCH₃), 2.07 (2H, ddd, *J* = 13.1, 7.4, 5.5 Hz, 2'-CH₂). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 147.4, 147.3, 143.1, 129.9, 128.5 (2C, +), 128.4 (2C, +), 126.8, 125.7 (+), 111.4 (+), 110.1 (+), 62.9 (+), 56.1 (+), 55.9 (+), 48.3 (-), 42.8 (+), 36.9 (-), 31.7 (-), 25.6 (-). HPLC (KROMASIL® 5-CelluCoat 4.6 x 250 mm, fase móvil: hexano/*i*-PrOH = 90/10, 0.1 % DEA, λ = 254 nm, flujo: 1.0 mL/min, 25 °C): *t*_{R1} = 5.97 min (mayoritario, 96.5 %), *t*_{R2} = 8.33 min (minoritario, 6.4 %), exceso enantiomérico: 94

% ee; = +7.9 (c = 0.025, EtOH). Fórmula molecular: C₂₀H₂₅NO₂ (P.M.: 311.42 g/mol).

(S)-6,7-Dimetoxi-1-(4-metoxifeniletil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (**125k**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 6,7-dimetoxi-1-(4-metoxifeniletil)-3,4-dihidroisoquinolina **123b** (0.16 g, 0.5 mmol), (*R,R*)-RuTsDPEN **95b** (6.36 mg, 10 μmol, 2 mol %), HCOONa (0.17 g, 2.5 mmol) y (H₂O/DMF) (3 mL, 1/1). Tras la extracción líquido-líquido, la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **124k** (0.16 g) fue empleada en la segunda etapa sin purificación previa. Continuando con la metodología general, se utilizó paraformaldehído (1.5 mmol), NaBH₃CN (34.5 mg, 0.55 mmol), ZnCl₂ (34.0 mg, 0.25 mmol) y metanol (5 mL). Tras la extracción y purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.15 g (0.45 mmol) de la correspondiente (*S*)-6,7-dimetoxi-1-(4-metoxifeniletil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125k** como aceite amarillo con un rendimiento del 91 %; *R_f* = 0.61 (10:1 diclorometano/metanol); IR (Película líquida): 2931 $\nu_{(\text{CH}_2\text{-Ar})}$, 2838 $\nu_{(\text{OCH}_3)}$, 2792 $\nu_{(\text{N-C})}$, 1604 $\nu_{(\text{C-C})}$, 1511 $\nu_{(\text{C-N})}$, 1249 $\nu_{(\text{CH}_3)}$, 1033 $\nu_{(\text{C-O})}$ cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), $\delta_{(\text{ppm})}$: 7.10 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, 6' y 8'-*H_{Ar}*), 6.82 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, 5' y 9'-*H_{Ar}*), 6.57 (1H, s, 8-*H_{Ar}*), 6.54 (1H, s, 5-*H_{Ar}*), 3.85 (3H, s, OCH₃), 3.83 (3H, s, OCH₃), 3.78 (3H, s, OCH₃), 3.41 (1H, t, *J* = 5.4 Hz, CH_a-N), 3.18-3.11 (1H, m, CH_b-N), 2.79-2.64 (4H, m, -CH₂Ph y 3'-CH₂), 2.52 (1H, dd, *J* = 15.0, 8.0 Hz, 1-CH), 2.47 (3H, s, NCH₃), 2.05-1.99 (2H, m, 2'-CH₂). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), $\delta_{(\text{ppm})}$: 157.7, 147.4, 147.3, 135.1, 130.0, 129.4 (2C, +), 126.8, 113.8 (2C, +), 111.4 (+), 110.1

(+), 62.8 (+), 56.1 (+), 55.9 (+), 55.3 (+), 48.2 (-), 42.8 (+), 37.2 (-), 30.8 (-), 25.5 (-). HPLC (KROMASIL[®] 5-CelluCoat 4.6 x 250 mm, fase móvil: hexano/*i*-PrOH = 90/10, 0.1 %⁵ DEA, λ = 254 nm, flujo: 1.0 mL/min, 25 °C): t_{R1} = 6.45 min (mayoritario, 95.8 %), t_{R2} = 11.05 min (minoritario, 4.1 %), exceso enantiomérico: 92 % ee; $[\alpha]_D^{25}$ = +6.3 (c = 0.025, EtOH). Fórmula molecular: C₂₁H₂₇NO₃ (P.M.: 341.19 g/mol).

(S)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4-dimetoxifeniletil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina

(125I)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 6,7-dimetoxi-1-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4-dihidroisoquinolina **123c** (0.17 g, 0.5 mmol), (*R, R*)-RuTsDPEN **95b** (6.36 mg, 10 μ mol, 2 mol %), HCOONa (0.17 g, 2.5 mmol) y (H₂O/DMF) (3 mL, 1/1). Tras la extracción líquido-líquido, la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **124I** (0.17 g) fue empleada en la segunda etapa sin purificación previa. Continuando con la metodología general, se utilizó paraformaldehído (1.5 mmol), NaBH₃CN (34.5 mg, 0.55 mmol), ZnCl₂ (34.0 mg, 0.25 mmol) y metanol (5 mL). Tras la extracción y purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.18 g (0.47 mmol) de la correspondiente (*S*)-6,7-dimetoxi-1-(3,4-dimetoxifeniletil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125I** como aceite amarillo con un rendimiento del 94 %; R_f = 0.59 (10:1 diclorometano/metanol); IR (Película líquida): 2931 $\nu_{(CH_2-Ar)}$, 2838 $\nu_{(OCH_3)}$, 2792 $\nu_{(N-C)}$, 1604 $\nu_{(C-C)}$, 1511 $\nu_{(C-N)}$, 1265 $\nu_{(CH_3)}$, 1041 $\nu_{(C-O)}$ cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), $\delta_{(ppm)}$: 6.79 (1H, d, J = 7.8 Hz, 8'-*H*_{Ar}), 6.74-6.71 (2H, m, 5' y 9'-*H*_{Ar}), 6.57 (1H, s, 8-

H_{Ar}), 6.54 (1H, s, 5- H_{Ar}), 3.86 (3H, s, OCH_3), 3.85 (3H, s, OCH_3), 3.84 (3H, s, OCH_3), 3.82 (3H, s, OCH_3), 3.42 (1H, t, $J = 5.5$ Hz, CH_a-N), 3.18-3.11 (1H, m, CH_b-N), 2.81-2.64 (4H, m, $-CH_2Ph$ y $3'-CH_2$), 2.56-2.49 (1H, m, 1- CH), 2.47 (3H, s, NCH_3), 2.07-2.00 (2H, m, $2'-CH_2$). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 148.9, 147.4 (2C), 147.1, 135.6, 129.9, 126.8, 120.2 (+), 112.0 (+), 111.4 (+), 111.3 (+), 110.2 (+), 62.7 (+), 56.1 (+), 56.0 (+), 55.9 (2C, +), 48.0 (-), 42.7 (+), 37.1 (-), 31.4 (-), 25.4 (-). HPLC (KROMASIL® 5-CelluCoat 4.6 x 250 mm, fase móvil: hexano/*i*-PrOH = 90/10, 50.1 % DEA, $\lambda = 254$ nm, flujo: 1.0 mL/min, 25 °C): $t_{R1} = 12.51$ min (mayoritario, 95.4 %), $t_{R2} = 23.52$ min (minoritario, 4.5 %), exceso enantiomérico: 91 % ee; $[\alpha]_D^{25} = +4.7$ ($c = 0.025$, EtOH). Fórmula molecular: $C_{22}H_{29}NO_4$ (P.M.: 371.47 g/mol).

(S)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenilet)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (125m)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 6,7-dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123d** (0.19 g, 0.5 mmol), (*R, R*)-RuTsDPEN **95b** (6.36 mg, 10 μ mol, 2 mol %), $HCOONa$ (0.17 g, 2.5 mmol) y (H_2O/DMF) (3 mL, 1/1). Tras la extracción líquido-líquido, la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **124m** (0.19 g) fue empleada en la segunda etapa sin purificación previa. Continuando con la metodología general, se utilizó paraformaldehído (1.5 mmol), $NaBH_3CN$ (34.5 mg, 0.55 mmol), $ZnCl_2$ (34.0 mg, 0.25 mmol) y metanol (5 mL). Tras la extracción y purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.17 g (0.43 mmol) de la correspondiente (S)-6,7-

dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifeniletil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125m** como aceite amarillo con un rendimiento del 86 %; $R_f = 0.52$ (10:1 diclorometano/metanol); IR (Película líquida): 2931 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$, 2838 $\nu(\text{OCH}_3)$, 2792 $\nu(\text{N-C})$, 1589 $\nu(\text{C-C})$, 1511 $\nu(\text{C-N})$, 1249 $\nu(\text{CH}_3)$, 1026 $\nu(\text{C-O})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 6.58 (1H, s, 8- H_{Ar}), 6.54 (1H, s, 5- H_{Ar}), 6.39 (2H, s, 5' y 9'- H_{Ar}), 3.85 (3H, s, OCH_3), 3.83 (6H, s, OCH_3), 3.82 (3H, s, OCH_3), 3.81 (3H, s, OCH_3), 3.44 (1H, t, $J = 5.4$ Hz, $\text{CH}_a\text{-N}$), 3.19-3.12 (1H, m, $\text{CH}_b\text{-N}$), 2.80-2.64 (4H, m, $-\text{CH}_2\text{Ph}$ y 3'- CH_2), 2.52 (1H, dd, $J = 15.0, 7.8$ Hz, 1- CH), 2.48 (3H, s, NCH_3), 2.05 (2H, dt, $J = 13.1, 6.7$ Hz, 2'- CH_2). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 153.0 (2C), 147.3, 147.2, 138.7, 135.9, 129.7, 126.7, 111.3 (+), 110.1 (+), 105.3 (2C, +), 62.7 (+), 60.8 (+), 56.0 (2C, +), 56.0 (+), 55.8 (+), 47.9 (-), 42.7 (+), 36.8 (-), 32.0 (-), 25.3 (-). HPLC (KROMASIL® 5-CelluCoat 4.6 x 250 mm, fase móvil: hexano/*i*-PrOH = 90/10, 10.1 % DEA, $\lambda = 254$ nm, flujo: 1.0 mL/min, 25 °C): $t_{R1} = 13.07$ min (mayoritario, 97.0 %), $t_{R2} = 21.18$ min (minoritario, 2.9 %), exceso enantiomérico: 94 % ee; $[\alpha]_D^{25} = +8.7$ ($c = 0.025$, EtOH). Fórmula molecular: $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{NO}_5$ (P.M.: 401.50 g/mol).

(S)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **(125n)**

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 6,7-dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123e** (0.11 g, 0.5 mmol), (*R, R*)-RuTsDPEN **95b** (6.36 mg, 10 μmol , 2 mol %), HCOONa (0.17 g, 2.5 mmol) y ($\text{H}_2\text{O}/\text{DMF}$) (3 mL, 1/1). Tras la extracción líquido-líquido, la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **124n** (0.11 g) fue empleada en la segunda etapa sin

purificación previa. Continuando con la metodología general, se utilizó paraformaldehído (1.5 mmol), NaBH₃CN (34.5 mg, 0.55 mmol), ZnCl₂ (34.0 mg, 0.25 mmol) y metanol (5 mL). Tras la extracción y purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.16 g (0.47 mmol) de la correspondiente (S)-6,7-dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125n** como aceite amarillo con un rendimiento del 94 %; R_f = 0.60 (10:1 diclorometano/metanol); IR (Película líquida): 2931 ν (CH₂-Ar), 2838 ν (OCH₃), 2792 ν (OCH₂O), 1604 ν (C-C), 1511 ν (C-N), 1357, ν (-OCH₂O-), 1249 ν (CH₃), 1110 ν (C-O) cm⁻¹; 6.71 (1H, d, J = 7.9 Hz, 8'-H_{Ar}), 6.67 (1H, d, J = 1.4 Hz, 5'-H_{Ar}), 6.62 (1H, dd, J = 7.9, 1.6 Hz, 9'-H_{Ar}), 6.56 (1H, s, 8-H_{Ar}), 6.53 (1H, s, 5-H_{Ar}), 5.90 (2H, s, -OCH₂O-), 3.85 (3H, s, OCH₃), 3.83 (3H, s, OCH₃), 3.40 (1H, t, J = 5.5 Hz, CH_a-N), 3.16-3.09 (1H, m, CH_b-N), 2.79-2.61 (4H, m, -CH₂Ph y 3'-CH₂), 2.52-2.47 (1H, m, 1-CH), 2.46 (3H, s, NCH₃), 2.01 (2H, dt, J = 13.0, 6.7 Hz, 2'-CH₂). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 147.6, 147.4, 147.3, 145.5, 136.9, 129.9, 126.8, 121.2 (+), 111.4 (+), 110.1 (+), 109.0 (+), 108.2 (+), 100.8 (-), 62.7 (+), 56.1 (+), 55.9 (+), 48.2 (-), 42.8 (+), 37.2 (-), 31.4 (-), 25.5 (+). HPLC (KROMASIL® 5-CelluCoat 4.6 x 250 mm, fase móvil: hexano/*i*-PrOH = 90/10, 0.1 % DEA, λ = 254 nm, flujo: 1.0 mL/min, 25 °C): t_{R1} = 7.83 min (mayoritario, 96.6 %), t_{R2} = 21.18 min (minoritario, 3.3 %), exceso enantiomérico: 93 % ee; $[\alpha]_D^{25}$ = +6.4 (c = 0.025, EtOH). Fórmula molecular: C₂₁H₂₅NO₄ (P.M.: 355.43 g/mol).

(S)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (**125o**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 6,7-dimetoxi-1-(4-acetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123f** (0.17 g, 0.5 mmol), (*R, R*)-RuTsDPEN **95b** (6.36 mg, 10 μ mol, 2 mol %), HCOONa (0.17 g, 2.5 mmol) y (H₂O/DMF) (3 mL, 1/1). Tras la extracción líquido-líquido, la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **124o** (0.17 g) fue empleada en la segunda etapa sin purificación previa. Continuando con la metodología general, se utilizó paraformaldehído (1.5 mmol), NaBH₃CN (34.5 mg, 0.55 mmol), ZnCl₂ (34.0 mg, 0.25 mmol) y metanol (5 mL). Tras la extracción y purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.14 g (0.45 mmol) de la correspondiente (*S*)-6,7-dimetoxi-1-(4-hidroxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125o** como aceite rojo con un rendimiento del 90 %; *R_f* = 0.47 (10:1 diclorometano/metanol); IR (Película líquida): 3455 ν (OH), 2946 ν (CH₂-Ar), 2838 ν (OCH₃), 2792 ν (N-C), 1604 ν (C-C), 1511 ν (C-N), 1249 ν (CH₃), 1110 ν (C-O) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.03 (1H, br. s., -OH), 6.99 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, 6' y 8'-H_{Ar}), 6.70 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, 5' y 9'-H_{Ar}), 6.57 (1H, s, 8-H_{Ar}), 6.53 (1H, s, 5-H_{Ar}), 3.85 (3H, s, OCH₃), 3.82 (3H, s, OCH₃), 3.45 (1H, t, *J* = 5.5 Hz, CH_a-N), 3.22-3.15 (1H, m, CH_b-N), 2.83-2.62 (4H, m, -CH₂Ph y 3'-CH₂), 2.54 (1H, dd, *J* = 9.9, 5.3 Hz, 1-CH), 2.47 (3H, s, NCH₃), 2.11-1.93 (2H, ddd, m, 2'-CH₂). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 154.3, 147.5, 147.3, 134.2, 129.6, 129.5 (2C, +), 126.3, 115.5 (2C, +), 111.5 (+), 110.4 (+), 62.7 (+), 56.1 (+), 55.9 (+), 47.5 (-), 42.4 (+), 37.2 (-), 31.2 (-), 25.0 (-). HPLC (KROMASIL® 5-CelluCoat 4.6 x 250 mm, fase móvil: hexano/*i*-PrOH = 90/10, 0.1 % DEA, λ = 254 nm, flujo: 1.0 mL/min, 25 °C): *t_{R1}* = 13.21 min (mayoritario, 96.6%),

t_{R2} = 32.23 min (minoritario, 3.3 %), exceso enantiomérico: 93 % ee; $\alpha_D^{25} = +6.9$
($c = 0.025$, EtOH). Fórmula molecular: $C_{19}H_{21}NO_3$ (P.M.: 311.38 g/mol).

(S)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina
(**125p**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 6,7-dimetoxi-1-(4-acetoxi-3-metoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123g** (0.19 g, 0.5 mmol), (*R, R*)-RuTsDPEN **95b** (6.36 mg, 10 μ mol, 2 mol %), HCOONa (0.17 g, 2.5 mmol) y (H_2O/DMF) (3 mL, 1/1). Tras la extracción líquido-líquido, la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **124p** (0.19 g) fue empleada en la segunda etapa sin purificación previa. Continuando con la metodología general, se utilizó paraformaldehído (1.5 mmol), $NaBH_3CN$ (34.5 mg, 0.55 mmol), $ZnCl_2$ (34.0 mg, 0.25 mmol) y metanol (5 mL). Tras la extracción y purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.16 g (0.47 mmol) de la correspondiente (*S*)-6,7-dimetoxi-1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125p** como aceite marrón con un rendimiento del 95 %; $R_f = 0.43$ (10:1 diclorometano/metanol); IR (Película líquida): 3440 $\nu_{(OH)}$, 2931 $\nu_{(CH_2-Ar)}$, 2854 $\nu_{(OCH_3)}$, 2792 $\nu_{(N-C)}$, 1604 $\nu_{(C-C)}$, 1511 $\nu_{(C-N)}$, 1265 $\nu_{(CH_3)}$, 1110 $\nu_{(C-O)}$ cm^{-1} ; 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 6.80 (2H, dd, $J = 7.4, 4.8$ Hz, 5' y 8'- H_{Ar}), 6.76 (1H, br. s., -OH), 6.66 (1H, dd, $J = 8.0, 1.5$ Hz, 9'- H_{Ar}), 6.59 (1H, s, 8- H_{Ar}), 6.45 (1H, s, 5- H_{Ar}), 3.85 (3H, s, OCH_3), 3.83 (3H, s, OCH_3), 3.80 (3H, s, OCH_3), 3.44-3.35 (1H, m, CH_a-N), 3.09-2.99 (1H, m, CH_b-N), 2.91-2.74 (4H, m, - CH_2Ph y 3'- CH_2), 2.65

(1H, dd, $J = 9.1, 5.6$ Hz, 1-CH), 2.46 (3H, s, NCH₃), 2.07-1.91 (2H, m, 2'-CH₂). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 148.3, 147.8, 146.8, 144.1, 133.0, 126.1, 123.9, 120.9 (+), 114.5 (+), 111.4 (+), 111.3 (+), 110.3 (+), 62.7 (+), 56.1 (+), 56.1 (+), 55.9 (+), 46.4 (-), 41.3 (+), 36.7 (-), 31.6 (-), 23.5 (-). HPLC (KROMASIL® 5-CelluCoat 4.6 x 250 mm, fase móvil: hexano/*i*-PrOH = 90/10, 0.1 % DEA, $\lambda = 254$ nm, flujo: 1.0 mL/min, 25 °C): $t_{\text{R1}} = 16.53$ min (mayoritario, 98.2 %), $t_{\text{R2}} = 31.15$ min (minoritario, 1.7 %), exceso enantiomérico: 97 % ee; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +14.9$ (c = 0.025, EtOH). Fórmula molecular: C₂₀H₂₃NO₄ (P.M.: 341.40 g/mol).

(S)-6,7-Dimetoxi-1-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina
(**125q**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 6,7-dimetoxi-1-(3-acetoxi-4-metoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123h** (0.19 g, 0.5 mmol), (*R, R*)-RuTsDPEN **95b** (6.36 mg, 10 μ mol, 2 mol %), HCOONa (0.17 g, 2.5 mmol) y (H₂O/DMF) (3 mL, 1/1). Tras la extracción líquido-líquido, la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **124q** (0.19 g) fue empleada en la segunda etapa sin purificación previa. Continuando con la metodología general, se utilizó paraformaldehído (1.5 mmol), NaBH₃CN (34.5 mg, 0.55 mmol), ZnCl₂ (34.0 mg, 0.25 mmol) y metanol (5 mL). Tras la extracción y purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.15 g (0.46 mmol) de la correspondiente (*S*)-6,7-dimetoxi-1-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125q** como aceite marrón con un rendimiento del 92 %; $R_f = 0.42$ (10:1 diclorometano/metanol); IR (Película líquida): 3455 $\nu_{\text{(OH)}}$, 2931 $\nu_{\text{(CH}_2\text{-Ar)}}$,

2838 $\nu(\text{OCH}_3)$, 2792 $\nu(\text{N-C})$, 1604 $\nu(\text{C-C})$, 1511 $\nu(\text{C-N})$, 1265 $\nu(\text{CH}_3)$, 1126 $\nu(\text{C-O})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 6.98 (1H, br. s., -OH), 6.77 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, 5'- H_{Ar}), 6.75 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, 8'- H_{Ar}), 6.65 (1H, dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, 9'- H_{Ar}), 6.56 (1H, s, 8- H_{Ar}), 6.54 (1H, s, 5- H_{Ar}), 3.85 (6H, s, OCH_3), 3.83 (3H, s, OCH_3), 3.42 (1H, t, $J = 5.4$ Hz, $\text{CH}_a\text{-N}$), 3.17-3.10 (1H, m, $\text{CH}_b\text{-N}$), 2.79-2.60 (4H, m, $-\text{CH}_2\text{Ph}$ y 3'- CH_2), 2.50 (1H, dd, $J = 8.8, 6.3$ Hz, 1- CH), 2.47 (3H, s, NCH_3), 2.06-1.98 (2H, ddd, m, 2'- CH_2). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta_{(\text{ppm})}$: 147.4, 147.3, 145.6, 144.7, 136.3, 129.9, 126.7, 119.8 (+), 114.8 (+), 111.4 (+), 110.7 (+), 110.1 (+), 62.7 (+), 56.1 (2C, +), 55.9 (+), 48.2 (-), 42.7 (+), 37.0 (-), 31.1 (-), 25.5 (-). **ANÁLISIS** HPLC (KROMASIL® 5-CelluCoat 4.6 x 250 mm, fase móvil: hexano/*i*-PrOH = 90/10, 0.1 % DEA, $\lambda = 254$ nm, flujo: 1.0 mL/min, 25 °C): $t_{\text{R1}} = 16.67$ min (mayoritario, 94.6 %), $t_{\text{R2}} = 26.48$ min (minoritario, 5.3 %), exceso enantiomérico: 89 % ee; $[\alpha]_D^{25} = +4.0$ ($c = 0.025$, EtOH). Fórmula molecular: $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{NO}_4$ (P.M.: 341.40 g/mol).

(S)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (**125r**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 6,7-dimetoxi-1-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123i** (0.20 g, 0.5 mmol), (*R, R*)-RuTsDPEN **95b** (6.36 mg, 10 μmol , 2 mol %), HCOONa (0.17 g, 2.5 mmol) y ($\text{H}_2\text{O}/\text{DMF}$) (3 mL, 1/1). Tras la extracción líquido-líquido, la correspondiente 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **124r** (0.19 g) fue empleada en la segunda etapa sin purificación previa. Continuando con la metodología general, se utilizó paraformaldehído (1.5 mmol), NaBH_3CN (34.5 mg, 0.55 mmol), ZnCl_2 (34.0

mg, 0.25 mmol) y metanol (5 mL). Tras la extracción y purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.16 g (0.45 mmol) de la correspondiente (S)-6,7-dimetoxi-1-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125r** como aceite café con un rendimiento del 90 %; R_f = 0.40 (10:1 diclorometano/metanol); IR (Película líquida): 3425 $\nu_{(OH)}$, 2931 $\nu_{(CH_2-Ar)}$, 2854 $\nu_{(OCH_3)}$, 2792 $\nu_{(N-C)}$, 1604 $\nu_{(C-C)}$, 1511 $\nu_{(C-N)}$, 1249 $\nu_{(CH_3)}$, 1110 $\nu_{(C-O)}$ cm^{-1} ; 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 7.05 (1H, br. s., -OH), 6.58 (1H, s, 8- H_{Ar}), 6.52 (1H, s, 5- H_{Ar}), 6.41 (2H, s, 5' y 9'- H_{Ar}), 3.86 (6H, s, OCH_3), 3.85 (3H, s, OCH_3), 3.82 (3H, s, OCH_3), 3.46 (1H, t, J = 5.7 Hz, CH_a-N), 3.24-3.16 (1H, m, CH_b-N), 2.85-2.64 (4H, m, - CH_2Ph y 3'- CH_2), 2.54 (1H, dd, J = 9.8, 4.8 Hz, 1- CH), 2.50 (3H, s, NCH_3), 2.05 (2H, tdd, J = 23.2, 16.2 Hz, 2'- CH_2). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$), $\delta_{(ppm)}$: 147.5, 147.5, 147.0 (2C), 143.2, 133.8, 132.8, 126.3, 111.4 (+), 110.3 (+), 105.1 (2C, +), 62.7 (+), 56.4 (2C, +), 56.1 (+), 55.9 (+), 47.7 (-), 42.5 (+), 37.2 (-), 32.0 (-), 25.0 (-). HPLC (KROMASIL® 5-CelluCoat 4.6 x 250 mm, fase móvil: hexano/*i*-PrOH = 90/10, 0.1 % DEA, λ = 254 nm, flujo: 1.0 mL/min, 25 °C): t_{R1} = 24.58 min (mayoritario, 97.5 %), t_{R2} = 2.4 min (minoritario, 1.7 %), exceso enantiomérico: 94 % ee; $[\alpha]_D^{25} = +10.2$ (c = 0.025, EtOH). Fórmula molecular: $C_{20}H_{23}NO_4$ (P.M.: 371.43 g/mol).

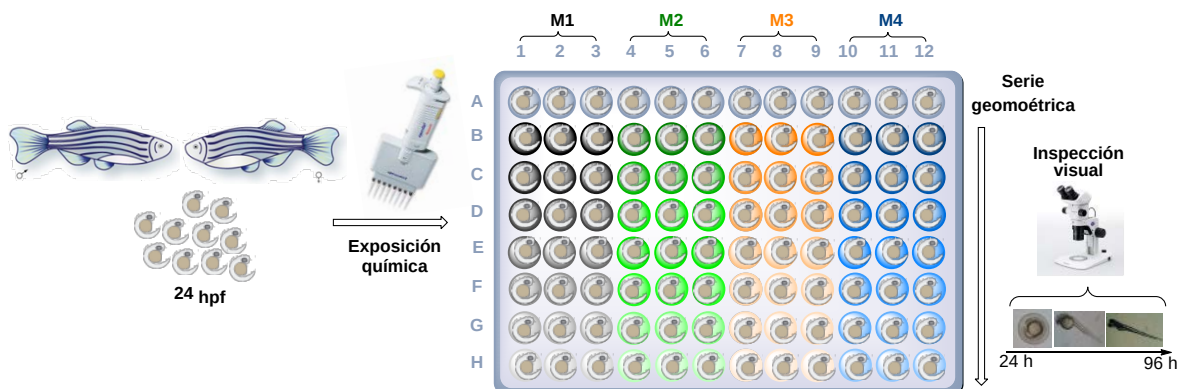
2.7.4 Determinación de la concentración letal media (LC_{50}) de cada una de las 1-feniletíl-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas **125a-r** en embriones de pez cebra

Para la determinación de la toxicidad en embriones del pez cebra de las moléculas seleccionadas, inicialmente para cada compuesto se estableció un rango de

concentraciones en donde la mortalidad fuera del 0 % y 100 %, y dentro de este rango se establecieron siete concentraciones, o serie geométrica, para la evaluación de cada molécula. Cada compuesto fue disuelto en DMSO y se estableció una concentración final de DMSO menor al 0.5 %.

Tras distribuir un embrión (24 hpf) por pocillo en una microplaca de 96 pozos, 24 embriones fueron empleados por muestra (M), los cuales fueron expuestos a la serie geométrica establecida para las moléculas **125a-r**. Los embriones tratados fueron aislados en una incubadora a 28 °C y la mortalidad y supervivencia de cada embrión se determinó tras 96 hpf al examinar el movimiento y los latidos del corazón de los embriones al ser estimulados bajo un estéreo microscopio. En cada experimento se realizaron tres ensayos para determinar un valor de CL₅₀ (expresada en µmol/L) y cada experimento fue repetido por triplicado empleando embriones provenientes de distintos padres en distintos días. El análisis estadístico se realizó con el modelo Probit usando el programa SPSS, versión 19.0 para Windows (Esquema 41).

Esquema 41. Determinación de la CL₅₀ en embriones de pez cebra para las moléculas **125a-r**.

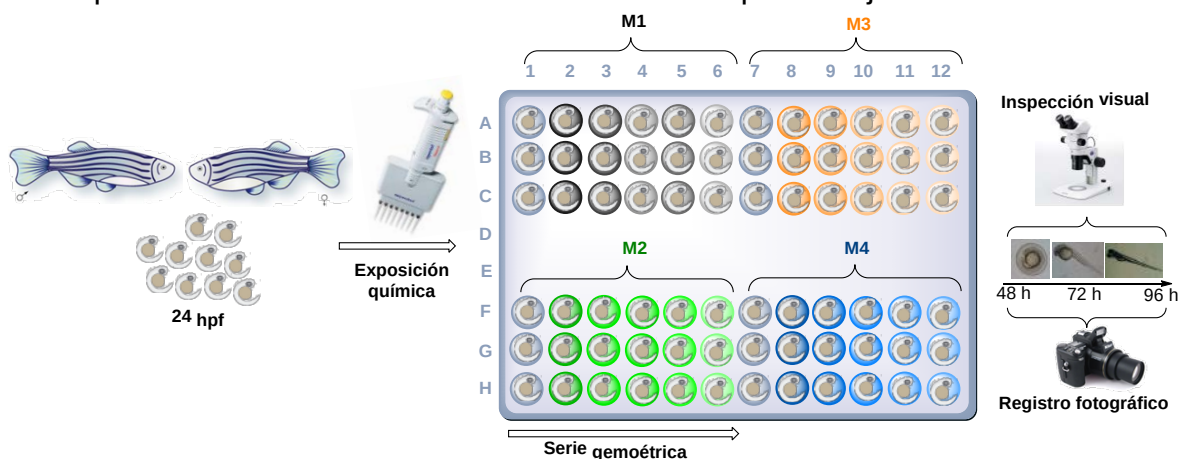


*2.7.5 Análisis de los cambios fenotípicos de cada una de las 1-feniletil-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas **125a-r** en embriones de pez cebra*

Habiendo determinado la CL₅₀ para cada una de las moléculas seleccionadas, se estableció una serie geométrica de cinco concentraciones por debajo del valor CL₅₀ para cada molécula. Así, en una microplaca de 96 pozos se distribuyeron embriones a 24 hpf, empleando un total de 18 embriones por muestra (M), y se procedió a exponer los especímenes al respectivo tratamiento químico con las moléculas **125a-r**.

Los embriones tratados fueron aislados en una incubadora a 28 °C y fueron examinados y fotografiados a las 96 hpf. Cada registro fotográfico fue agrupado, de acuerdo a la muestra, concentración y replica para ser finalmente analizado a través del software DanioScope (Noldus) el cual realizó automáticamente el análisis estadístico y generó las respectivas gráficas. Se identificaron y analizaron parámetros como la longitud del cuerpo, tamaño del ojo, de la cavidad cardiaca y del saco vitelino, en comparación con la organogénesis y morfogénesis de los embriones control a las 96 hpf. Los resultados fueron analizados mediante el test ANOVA (una vía) y mediante el test de Dunnett (2 colas) comparando cada compuesto con el grupo control y considerando una diferencia significativa a un valor $p < 0.05$ (Esquema 42).

Esquema 42. Determinación de los cambios fenotípicos en embriones de pez cebra para las moléculas **125a-r** a concentraciones por debajo de la CL₅₀.



BIBLIOGRAFÍA

- [1]. PAUL, Pijush; HALDER, Mihir; JHA, Sumita. *Alkaloids Derived from Tyrosine: Penethylisoquinoline (Autumnaline, Colchicine)*. En: *Natural Products: Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes*, Capitulo 16, 2013, Editores: RAMAWAT, Kishan Gopal; MERILLON, Jean-Michael. Springer, Berlin Heidelberg, p. 461-478.
- [2]. MEYERS, A. I.; DICKMAN, Daniel A.; BOES, Michael. Asymmetric synthesis of isoquinoline alkaloids. En: *Tetrahedron*, 1987, vol. 43, p. 5095-5108.
- [3]. a) CHRZANOWSKA, Maria, ROZWADOWSKA, Maria D. Asymmetric Synthesis of Isoquinoline Alkaloids. En: *Chemical Reviews*, 2004, vol. 104, p. 3341-3370. (b) LIU, Wangsheng, et al. Novel strategies for catalytic asymmetric synthesis of C1-chiral 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines and 3,4-dihydrotetrahydroisoquinolines. En: *Organic Chemistry Frontiers*, 2015, vol. 2, p. 288-299.

- [4]. MIYAZAKI, Michiko, *et al.* Catalytic Asymmetric Allylation of 3,4-Dihydroisoquinolines and Its Application to the Synthesis of Isoquinoline Alkaloids. En: Journal of Organic Chemistry, 2011, vol. 76, p. 534-542.
- [5]. REDDY, Raju Jannapu; KAWAI, Nobuyuki; UENISHI, Jun'ichi. Synthesis of the 1-Phenethyltetrahydroisoquinoline Alkaloids (+)-Dysoxyline, (+)-Colchiethanamine, and (+)-Colchiethine. En: Journal of Organic Chemistry, 2012, vol. 77, p. 11101-11108.
- [6]. LIN, Weilong; MA, Shengming. Highly efficient and general enantioselective synthesis of naturally occurring isoquinoline alkaloids. En: Organic Chemistry Frontiers, 2014, vol. 1, p. 338-346.
- [7]. MONS, Elma, *et al.* Organocatalytic Enantioselective Pictet–Spengler Reactions for the Syntheses of 1-Substituted 1,2,3,4-Tetrahydroisoquinolines. En: Journal Organic Chemistry, 2014, vol. 79, p. 7380-7390.
- [8]. DHANASEKARAN, Sivasankaran, *et al.* Unified Approach to Isoindolinones and THIQs via Lewis Acid Catalyzed Domino Mukaiyama-Mannich Lactamization/Alkylations: Application in the Synthesis of (±)-Homolaudanosine. En: Organic Letters, 2015, vol. 17, p. 2780-2783.
- [9]. BATTERSBY, A. R., *et al.* 1-Phenethylisoquinoline alkaloids. II. The structures of alkaloids from *Colchicum cornigerum* (Sweinf.) Tackh. et Drar. En: Journal of the Chemical Society Perkin 1., 1971, vol. 20, p. 3514-3518.

- [10]. FRANKLIN, Janet, *et al.* Dispersal limitations, speciation, environmental filtering and niche differentiation influence forest tree communities in West Polynesia. En: Journal of Biogeography, 2013, vol. 40, p. 988-999.
- [11]. ALADESANMI, Adetunji J.; KELLEY, Charles J.; LEARY, Jhon D. The Constituents of *Dysoxylum lenticellare*. I. Phenylethylisoquinoline, Homoerythrina, and Dibenzazecine Alkaloids. En: Journal Natural Products, 1983, vol. 46, p. 127-131.
- [12]. SHAMMA, Maurice. The Isoquinoline Alkaloids Chemistry and Pharmacology. Academic Press, 1972, p. 32-40.
- [13]. CRAMOCKI, Zbigniew; MACLEAN, David B.; SZAREK, Walter. A. (R)-2-Alkoxy carbonyl-1-formyl-1,2,3,4-tetrahydro-6,7 dimethoxyisoquinolines from D-(-)-Tartaric Acid: Synthesis of (S)-Homolaudanosine and (S)-2,3,9,10,11-Pentamethoxyhomoprotoberberine. En: Journal of the Chemical Society, 1987, p. 493-494.
- [14]. CHRZANOWSKA, Maria, GRAJEWSKA, Agnieszka; ROZWADOWSKA, Maria D. Asymmetric Synthesis of Isoquinoline Alkaloids: 2004–2015. En: Chemical Reviews, 2016, vol. 116, p. 12369-12465
- [15]. KAWAI, Nobuyuki, *et al.* Synthesis of Chiral 1-Substituted Tetrahydroisoquinolines by the Intramolecular 1,3 Chirality Transfer Reaction Catalyzed by Bi(OTf)₃. En: Journal of Organic Chemistry, 2011, vol. 76, p. 2102–2114.

- [16]. a) SCOTT, Jack D.; WILLIAMS, Robert M. Chemistry and Biology of the Tetrahydroisoquinoline Antitumor Antibiotics. En: Chemical Reviews, 2002, vol. 102, p. 1669-1730. b) OZTURK, Turan. En *The Alkaloids*; CORDELL, Geoffrey A., Ed.; Academic Press: San Diego, 2000; vol. 53, p. 119-238.
- [17]. ALADESANMI, Adetunji J.; ILESANMI, Olapade R. Phytochemical and Pharmacological Investigation of the Cardioactive Constituents of the Leaf of *Dysoxylum lenticellare*. En: Journal of Natural Products, 1987, vol. 50, p. 1041-1044.
- [18]. NEUBAUER, David. N. Almorexant, a dual orexin receptor antagonist for the treatment of insomnia. En: Current Opinion in Investigational Drugs. 2010, vol. 11, p. 101-110.
- [19]. FAÑANAS-MASTRAL, Martin, *et al.* Enantioselective synthesis of almorexant via iridium-catalysed intramolecular allylic amidation. En: Organic and Biomolecular Chemistry, **2013**, vol. 11, p. 4521-4525.
- [20]. MANG, Geraldine M., *et al.* The dual orexin receptor antagonist almorexant induces sleep and decreases orexin-induced locomotion by blocking orexin 2 receptors. En: Sleep. 2012, vol. 35, p. 1625-1635.
- [21]. WANG, Dong; ASTRUC, Didier. The golden age of transfer hydrogenation. En: Chemical Reviews, 2015, vol. 115, p. 6621-6686.
- [22]. IKARIYA, Takao; MURATA, Kunihiro.; NOYORI, Ryoji. Bifunctional transition metal-based molecular catalysts for asymmetric syntheses. En: Organic and Biomolecular Chemistry, 2006, vol. 4, p. 393-406.

- [23]. XIE Jian-Hua; ZHU, Shou-Fei; ZHOU, Qui-Lin. Transition metal-catalyzed enantioselective hydrogenation of enamines and imines. En: Chemical Reviews, 2011, vol. 111, p. 1713-1760.
- [24]. ZANOTTI-GEROSA, Antonio, *et al.* Ruthenium-Catalysed Asymmetric Reduction of Ketones. En: Platinum Metals Reviews, 2005, vol. 49, p. 158-165.
- [25]. HUANG, Xiaohua; YING, Jackie Y. Asymmetric transfer hydrogenation over Ru-TsDPEN catalysts supported on siliceous mesocellular foam. En: Chemical Communications, 2007, 1825-1827.
- [26]. UEMATSU, Nobuyuki, *et al.* Asymmetric Transfer Hydrogenation of Imines. En: Journal American Chemical Society, 1996, vol. 118, p. 4916-4917.
- [27]. a) VÁCLAVIK, Jiri, *et al.* Experimental and Theoretical Perspectives of the Noyori-Ikariya Asymmetric Transfer Hydrogenation of Imines. En: Molecules, 2014, vol. 19, p. 6987-7007. b) KUZMA, Marek, *et al.* New insight into the role of a base in the mechanism of imine transfer hydrogenation on a Ru(II) half-sandwich complex. En: Dalton Transitions, 2013, vol. 42, p. 5174-5182.
- [28]. WU, Jiashou, *et al.* Asymmetric transfer hydrogenation of imines and iminiums catalyzed by a water-soluble catalyst in water. Chemical Communications, 2006, 1766-1768.
- [29]. SHENDE, Vaishali S., *et al.* Asymmetric Transfer Hydrogenation of Imines in Water by Varying the Ratio of Formic Acid to Triethylamine. En: Organic Letters, 2015, vol. 17, p. 2878-2881.

- [30]. HUANG, Xiaohua; YING, Jackie Y. Asymmetric transfer hydrogenation over Ru–TsDPEN catalysts supported on siliceous mesocellular foam. En: Chemical Communications, 2007, 1825-1827.
- [31]. WU, Meng, *et al.* Ru-Catalyzed Asymmetric Transfer Hydrogenation of α -Trifluoromethylimines. En: Journal of Organic Chemistry, 2005, vol. 80, p. 3708-3713.
- [32]. DING, Zi-Yuan, *et al.* Highly Enantioselective Synthesis of Chiral Tetrahydroquinolines and Tetrahydroisoquinolines by Ruthenium-Catalyzed Asymmetric Hydrogenation in Ionic Liquid. En: Advanced Synthesis and Catalysis, 2013, vol. 355, p. 3727-3735.
- [33]. PAN, Hui-Jie, *et al.* Asymmetric Transfer Hydrogenation of Imines using Alcohol: Efficiency and Selectivity are Influenced by the Hydrogen Donor. En: Angewandte Chemie, 2016, vol. 55, p. 9615-9619.
- [34]. VÁCLAVIK, Jiri, *et al.* Practical Aspects and Mechanism of Asymmetric Hydrogenation with Chiral Half-Sandwich Complexes. En: Molecules, 2013, vol. 18, p. 6804-6828.
- [35]. KENNEDY, Breandan; ALVAREZ, Yolanda; O’SULLIVAN, Jacintha. Anti-angiogenic compound. U. S Patent, US 2013/0289066 A1, Octubre 31, 2013.
- [36]. a) DE LUCA, Elisa, *et al.* ZebraBeat: a flexible platform for the analysis of the cardiac rate in zebrafish embryos. En: Scientific Reports, 2014, vol. 4, p. 4898. (b) IBRAHIM, Muhammed, *et al.* Effect of Ethanol Exposure on Heart Development in Zebra Fish (*Danio rerio*) Embryos. En: International Journal

- of Anatomical Sciences, 2014, vol. 5, p. 26-33. (c) KIM, Ki-Hyun, *et al.* Lrrc10 is required for early heart development and function in zebrafish. En: Developmental Biology, 2007, vol. 308, p. 494-506.
- [37]. a) RAZZAK, Mina; DE BRABANDER, Jef K. Lessons and revelations from biomimetic syntheses. En: Nature Chemical Biology, 2011, vol. 7, p. 865-875.
b) BULGER, Paul G.; BAGAL, Sharan K.; MARQUEZ, Rodolfo. Recent advances in biomimetic natural product synthesis. En: Nature Products Reports, 2008, vol. 25, p. 254-297.
- [38]. FACCHINI, Peter J.; YU, Min; PENZES-YOST, Catherine. Decreased Cell Wall Digestibility in Canola Transformed with Chimeric Tyrosine Decarboxylase Genes from Opium Poppy. En: Plant Physiology, 1999, vol. 120, p. 653-663.
- [39]. STÖCKIGT, Joachim, *et al.* The Pictet-Spengler reaction in nature and in organic chemistry. En: Angewandte Chemie International Edition, 2011, vol. 50, p. 8538-8564.
- [40]. a) ADE, Ravindra; RAI, Mahendra Kumar. Review: Colchicine, current advances and future prospects. En: Bioscience, 2010, vol. 2, p. 90-96. b) BATTERSBY, Alan Rushton, *et al.* Alkaloid biosynthesis. 18. Biosynthesis of colchicine from the 1-phenethylisoquinoline system. En: Journal Chemical Society Perkin 1, 1972, vol. 14, p. 1741-1746.
- [41]. WANG, Tianli, *et al.* Highly Enantioselective Hydrogenation of Quinolines Using Phosphine-Free Chiral Cationic Ruthenium Catalysts: Scope,

- Mechanism, and Origin of Enantioselectivity. En: Journal of the American Chemical Society, 2011, vol. 133, p. 9878-9891.
- [42]. HASHIGUCHI, Shohei, *et al.* Asymmetric Transfer Hydrogenation of Aromatic Ketones Catalyzed by Chiral Ruthenium(II) Complexes. En: Journal of the American Chemical Society, 1995, vol. 117, p. 7562–7563.
- [43]. WU, Meng, *et al.* Ru-Catalyzed asymmetric transfer hydrogenation of α trifluoromethylimines. En: Journal of Organic Chemistry, 2015, vol. 80, p. 3708-3713.
- [44]. WU, Xiaofeng, *et al.* Accelerated asymmetric transfer hydrogenation of aromatic ketones in water. En: Organic and Biomolecular Chemistry, 2004, vol. 2, p. 1818-1821.
- [45]. LEBLANC, Luc M, *et al.* Synthesis and Antiradical/Antioxidant Activities of Caffeic Acid Phenethyl Ester and Its Related Propionic, Acetic, and Benzoic Acid Analogues. En: Molecules, 2012, vol. 17, p. 14637-14650.
- [46]. XU, Chao, *et al.* Enantioselectivity in Zebrafish Embryo Toxicity of the Insecticide Acetofenate. En: Chemical Research Toxicology, 2008, vol. 21, p. 1050-1055.

CAPÍTULO 3. Preparación de 1-metil- β -carbolinas como análogos del alcaloide harmina y estudio de su transformación química para la obtención de 1-estiril- β -carbolinas

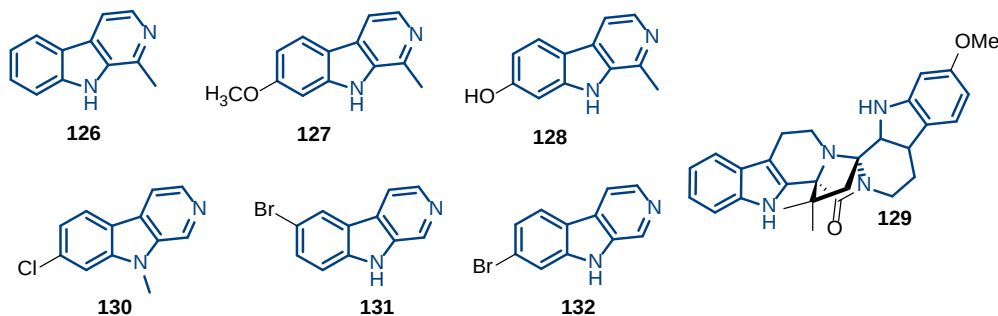
3.1 INTRODUCCIÓN

Existe un gran número de compuestos indólicos fusionados con un anillo de piridina que conforman una parte importante de la familia de los alcaloides nitrogenados. Dentro de este grupo, los alcaloides β -carbolínicos han atraído la atención de la química orgánica y medicinal debido a las diversas propiedades biológicas que estos alcaloides y sus derivados sintéticos poseen, donde se destaca su actividad antialérgica, antimalárica, anti-inflamatoria, antitumoral, antioxidante, antibacterial, insecticida, analgésica y neuroprotectora [1]. Adicionalmente, se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, incluidas plantas, animales marinos, insectos, algunos mamíferos e incluso están presentes en tejidos y órganos humanos [2].

La planta *Peganum harmala* (familia de Nitrariaceae) es reconocida como la fuente vegetal más importante de alcaloides β -carbolínicos [3], siendo ampliamente utilizada en la medicina tradicional para el tratamiento de distintas enfermedades [4]. Los estudios fitoquímicos de esta planta han revelado que en sus semillas se encuentran muchos de los alcaloides de interés farmacológico; casi el 2-6 % de los metabolitos secundarios presentes resultan ser compuestos con el núcleo β -carbolínico, desde los más sencillos (harman **126**, harmina **127** y harmol **128**)

hasta derivados de mayor complejidad estructural (peganumina A **129**) (Figura 52) [5,6].

Figura 52. Alcaloides β -carbolínicos más representativos aislados de las semillas de la planta *P. Harmala* (**126-129**) y de organismos marinos (**130-132**).



Adicionalmente, algunos compuestos β -carbolínicos han sido aislados de organismos marinos como los tunicados, cordados que se encuentran en aguas de mediana profundidad y que gracias a los procesos de biooxidación que tienen lugar en estos ambientes y ecosistemas, han resultado en la incorporación de átomos de cloro y bromo en la estructura del núcleo β -carbolínico durante la biosíntesis de estos alcaloides, incrementando su diversidad estructural [7]. En este sentido, los alcaloides halogenados de esta familia han sido aislados de especímenes marinos y se conocen como bauerina A **130**, eudistomina N **131** y O **132** (Figura 52) [8,9].

A pesar de su estructura simple, la harmina **127** sigue siendo un modelo interesante en la búsqueda de nuevos agentes farmacológicos. Hoy en día, diversos estudios biológicos han demostrado su potencial farmacológico, reportando su actividad antibacterial (MIC = 0.75 mg/L contra *Escherichia coli*) [9], antifúngico (MIC = 0.5 mg/L contra *Candida albicans*) [9], inhibición de la enzima

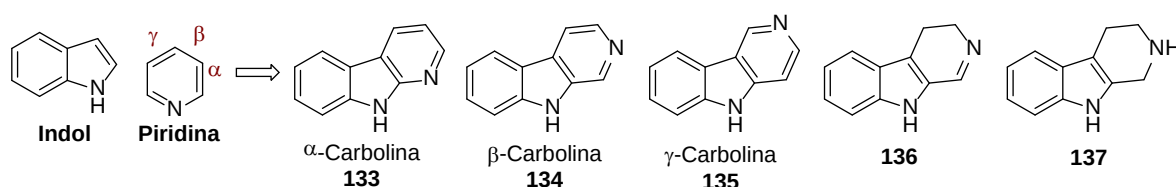
monamina oxidasa ($IC_{50} = 3.49 \text{ nM}$) [10] y antitumoral ($IC_{50} = 46 \text{ }\mu\text{M}$ contra HepG2) [11], además de otras propiedades biológicas comprendidas en revisiones publicadas en los últimos años [11b,12]. Sin embargo, la estructura de la harmina **127** aún no es considerada para estudios clínicos avanzados, lo que ha limitado el desarrollo de nuevos medicamentos y principios activos basados en esta estructura para el tratamiento de las enfermedades mencionadas. Justamente, una de las mayores desventajas resulta de la determinación de sus propiedades biológicas en ensayos *in vitro*, desconociendo por completo su perfil toxicológico, el cual se ha examinado de manera superficial en algunos ensayos *in vivo* realizados en ratones, donde se ha establecido su dosis letal ($LD_{50} = 59 \text{ mg/kg}$), pero sin revelar su mecanismo o el daño que causa en el corazón, hígado, riñón y otros órganos importantes [11].

3.2 ESTADO DEL ARTE

3.2.1 Alcaloides β -carbolínicos. Origen, síntesis y propiedades biológicas.

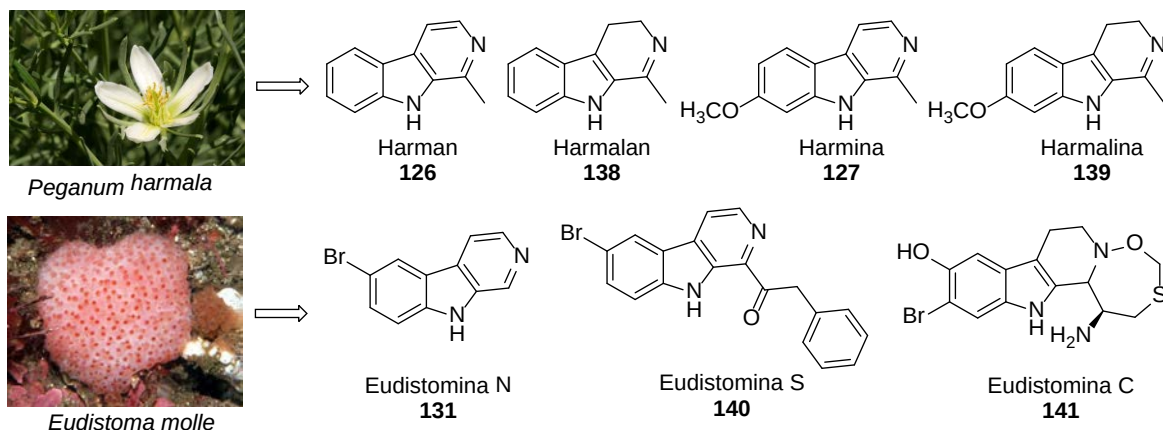
Las carbolinas son una clase de heterociclos nitrogenados que pertenecen a la familia de los alcaloides indólicos cuya estructura está compuesta por la fusión entre un anillo del indol y de piridina. Dependiendo de la fusión entre estos dos ciclos se pueden presentar tres posibles isómeros conocidos como α -, β - y γ -carbolina (**133-135**), de igual forma dependiendo de la saturación del anillo de piridina se conocen las dihidrocarbolinas **136** y las tetrahydrocarbolinas **137** (Figura 53).

Figura 53. Estructura de las carbolinas y sus isómeros estructurales.



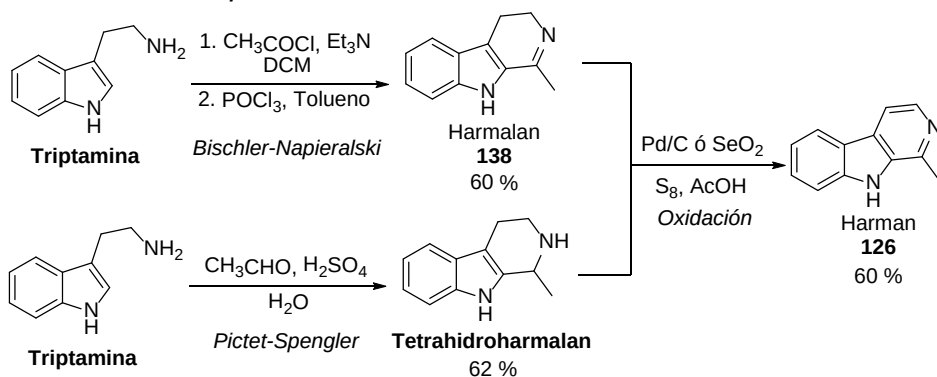
De los derivados descritos en la Figura 53, las β -carbolinas (saturadas e insaturadas) constituyen una de las familias de alcaloides indólicos con más relevancia para la química orgánica y la química medicinal. Estos compuestos son abundantes en la naturaleza y están presentes en muchas plantas y especies marinas de donde se han aislado tanto derivados simples como otros de alta complejidad estructural, que comparten un precursor común durante su biosíntesis: el triptófano [2a]. Como ejemplo de ello, la especie *Peganum harmala* (harmal), una planta de la familia Nitrariaceae endémica de las regiones del Mediterráneo y el suroeste de Asia, ha sido reconocida como una de las fuentes naturales más importante de β -carbolinas como el harman **126**, harmalan **138**, harmina **127** y harmalina **139** [4]. Por otro lado, los tunicados (animales cordados) del género *Eudistoma* y *Lissoclinum* que habitan las costas Australianas, biosintetizan una familia de alcaloides conocidos como eudistominas dentro de las que se encuentran la eudistomina N **131**, eudistomina S **140** y eudistomina C **141** (Figura 54) [13].

Figura 54. Alcaloides β -carbolínicos aislados de fuentes naturales tanto vegetales como animales.



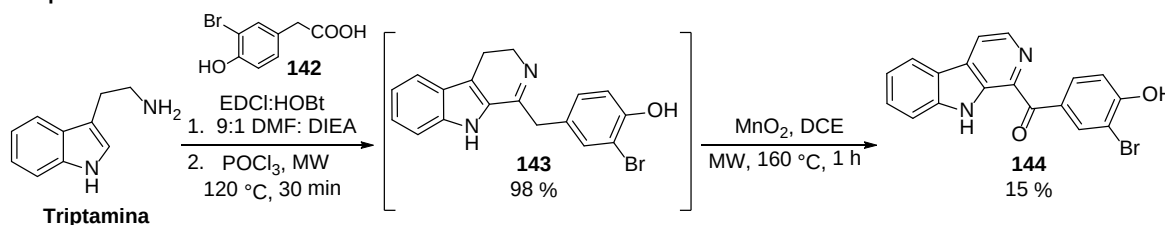
La síntesis de alcaloides β -carbolínicos tiene como reto la formación del núcleo indólico a partir del correspondiente derivado de la triptamina y su posterior ciclación para generar el respectivo anillo fusionado de piridina. En la actualidad, estos dos desafíos se han subsanado a través de la reacción Bischler-Napieralski y la reacción Pictet-Spengler, reacciones que han permitido la construcción del núcleo β -carbolínico y sus derivados insaturados, contribuyendo a la diversificación de este sistema (Esquema 43) [14].

Esquema 43. Reacciones Bischler-Napieralski y Pictet-Spengler en la construcción del núcleo β -carbolínico.



La síntesis de eudistomina Y₃ **144** constituye un ejemplo de la reacción Bischler-Napieralski aplicada a la preparación de β -carbolinas. Así, empleando la triptamina como sustrato de partida para ser condensada con el ácido **142**, se ha reportado la ciclación intramolecular asistida por radiación de microondas para generar la respectiva dihidrocarbolina **143** con un rendimiento del 98 %. Sin embargo, la última etapa de esta estrategia, la oxidación bencílica promovida por MnO₂ para generar la función carbonílica C=O, no resultó eficiente y el rendimiento de la eudistomina Y₃ **144** fue del 15 %, constituyéndose en la principal desventaja de este proceso (Esquema 44) [15].

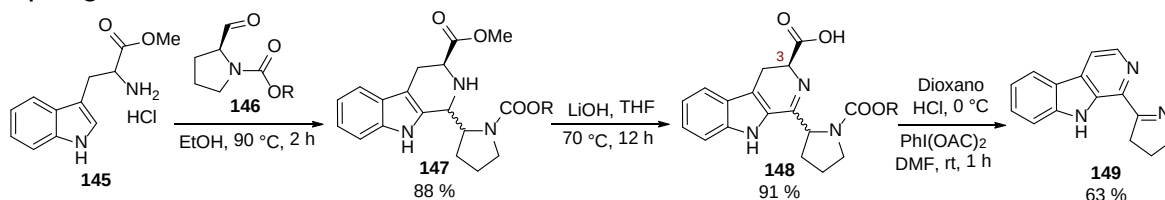
Esquema 44. Síntesis de eudistomina Y₃ **144** empleando la reacción Bischler-Napieralski.



Por su parte, la síntesis de eudistomina I **149** constituye el ejemplo de la reacción Pictet-Spengler empleada para preparación de β -carbolinas. Esta condensación entre el triptófano metil éster **145** y el 2-formil pirrolidincarboxilato **146** se realizó bajo condiciones suaves y generó la respectiva tetrahidrocarbolina **147** con un rendimiento del 88 %, posteriormente y tras la desprotección del grupo éster en la posición C-3 de **148**, se estudió la aromatización del anillo de 6 miembros junto con la descarboxilación del anillo de 5 miembros para generar el alcaloide **149** con un rendimiento del 63 %. Sin embargo, esta estrategia está limitada a los

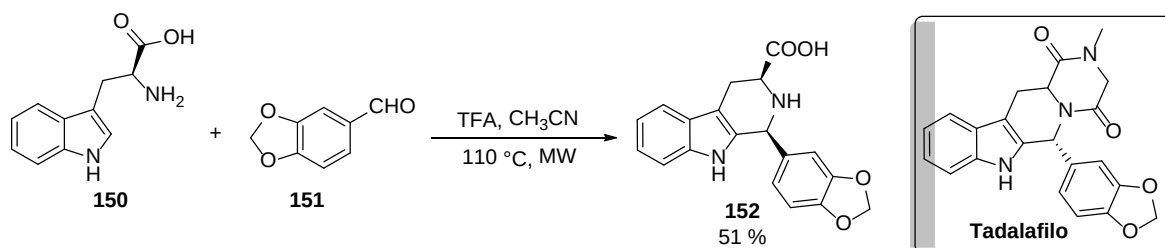
requerimientos estructurales del precursor y son pocos los análogos de estos alcaloides que se han podido preparar bajo estas condiciones de reacción (Esquema 45) [16].

Esquema 45. Síntesis de eudistomina I **149** empleando la reacción Pictet-Spengler.



Además de la preparación de derivados naturales, las reacciones Bischler-Napieralski y Pictet-Spengler han permitido la preparación de compuestos sintéticos que contienen el núcleo de la β -carbolina. Tal es el caso del derivado **152** obtenido a través de la reacción Pictet-Spengler asistida por radiación de microondas (MW) y que se reportó como posible precursor del Tadalafilo, un potente vasodilatador utilizado para tratar la disfunción eréctil (aprobado por la FDA en 2003) y que ha resultado ser 9 veces más potente que el sildenafil (Viagra) (Esquema 46) [17].

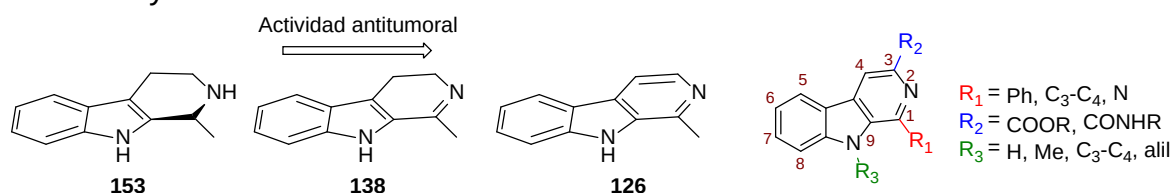
Esquema 46. Síntesis de la tetrahidrocarbolina **152**, posible precursor del Tadalafilo.



Al ser derivados de origen vegetal y animal, la librería de moléculas con el núcleo β -carbolínico es abundante y de igual forma su espectro de bioactividades es muy

extenso. Este núcleo ha sido empleado como unidad farmacofórica en varios estudios que reportan las propiedades biológicas de este tipo de alcaloides, logrando establecer una relación estructura-actividad (SAR) para la familia de alcaloides β -carbolínicos, incluidos los numerosos análogos sintéticos que se han reportado durante los últimos años. Por ejemplo, estos estudios SAR han concluido que la actividad antitumoral de las β -carbolinas está relacionada con dos aspectos importantes: *i*. La planaridad del núcleo, entre más plano sea el sistema más a fin será a las dianas biológicas y más activa será la molécula; y *ii*. Los sustituyentes, al sustituir las posiciones 1, 3 y 9 del núcleo β -carbolínico se incrementa la actividad antitumoral. Adicionalmente, y en general para todos los compuestos con este sistema, su toxicidad disminuye cuando en la posición C-1 se encuentran sustituyentes alifáticos o aromáticos (Figura 55) [18].

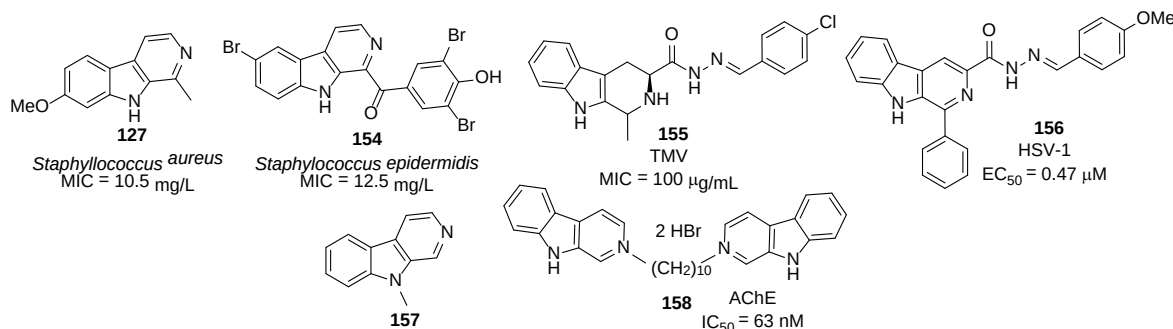
Figura 55. Estudios SAR realizados para las β -carbolinas. Planaridad y efecto de los sustituyentes sobre la actividad antitumoral.



Dentro de las propiedades biológicas que han demostrado los alcaloides β -carbolínicos se destacan: su actividad antibacterial, encontrado que la harmina **127** y la eudistomina Y₆ **154** inhiben el crecimiento de las bacterias del género *Staphylococcus* [19]; la actividad antiviral de **155** contra el virus del mosaico del tabaco (TMV) y del agente **156** contra el virus herpes simplex tipo 1 (HSV-1) [20]. Por su parte, la 9-metil- β -carbolina **157** demostró tener efectos regenerativos en

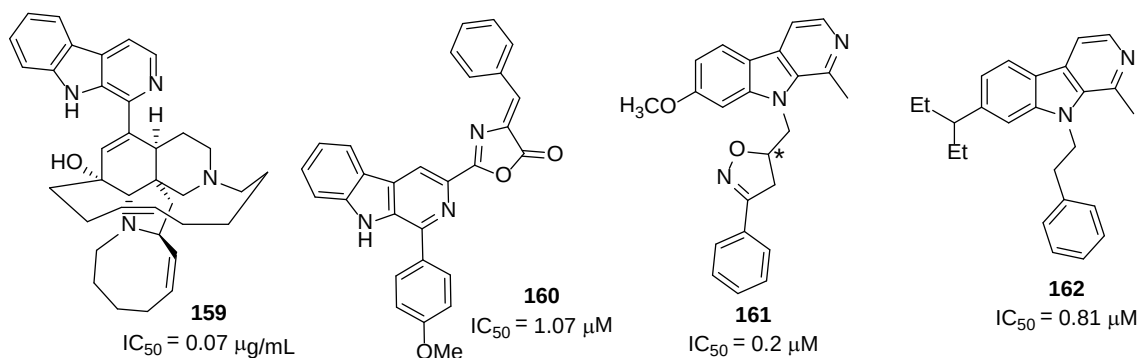
el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, mientras que el híbrido **158** resultó ser un potente inhibidor de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) (Figura 56) [21].

Figura 56. Moléculas bioactivas con el núcleo β -carbolina.



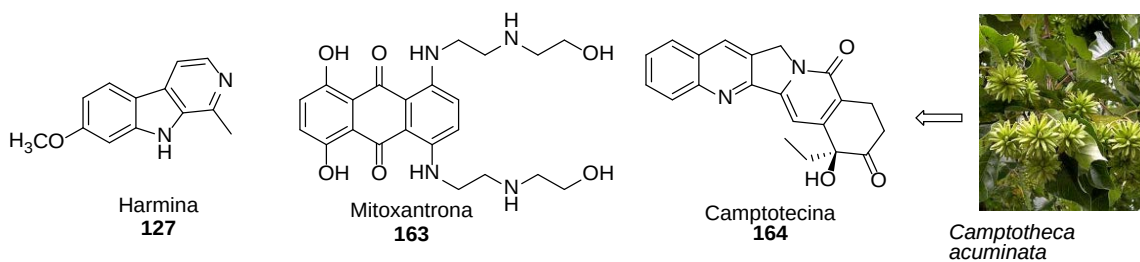
Tal vez, la actividad antitumoral y citotóxica resulten ser las propiedades biológicas más atractivas y estudiadas de este sistema que tiene como principales exponentes compuestos de alta y baja complejidad estructural. Es el caso de la manzamina A **159**, un compuesto aislado de los tunicados (esponjas marinas *Haliclona* sp. y *Xestospongia* sp), que presenta actividad inhibitoria contra el crecimiento de células tumorales de leucemia P-388 [22]. A través de extensos estudios SAR se han reportado varios compuestos sintéticos con el núcleo β -carbólico como unidad farmacofórica que han potencializado la actividad citotóxica de este núcleo contra varias líneas celulares, es el caso de la carbolina disustituida **160** que tiene actividad contra células humanas de carcinoma de ovario (OVCAR-03) [23], el derivado **161** que resulta activo contra las células MCF-7, una línea celular de cáncer de mama [24], y la carbolina **162**, un potente agente citotóxico contra la línea celular tumoral hepática BEL7402 (Figura 57) [11a].

Figura 57. Moléculas con el núcleo β -carbolínico que presentan actividad citotóxica.



Sin embargo, el estudio de β -carbolidinas con actividad antitumoral se centró nuevamente en derivados de menor complejidad estructural al descubrir que el mismo alcaloide harmina **127** inhibía la proteína de resistencia de cáncer de mama (BCRP), reversando la resistencia generada por fármacos tradicionales empleados en el tratamiento del cáncer de mama, como la mitoxantrona **163**, compuesto sintético citotóxico, y la camptotecina **164**, derivado aislado del árbol *Camptotheca acuminata* que es un potente inhibidor de la ADN topoisomerasa I (Figura 58) [25].

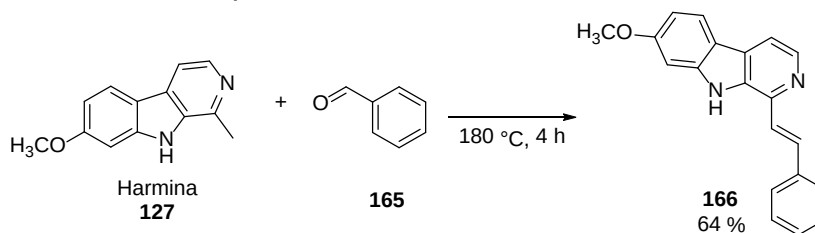
Figura 58. Harmina **127** y fármacos reconocidos (**163-164**) que generan resistencia en células de cáncer de mama.



Este descubrimiento promovió la síntesis de una amplia librería de compuestos basados en la estructura de la harmina que concluyó en 2008 con la preparación del derivado JKA97 **166**, compuesto que resultó ser un potente agente

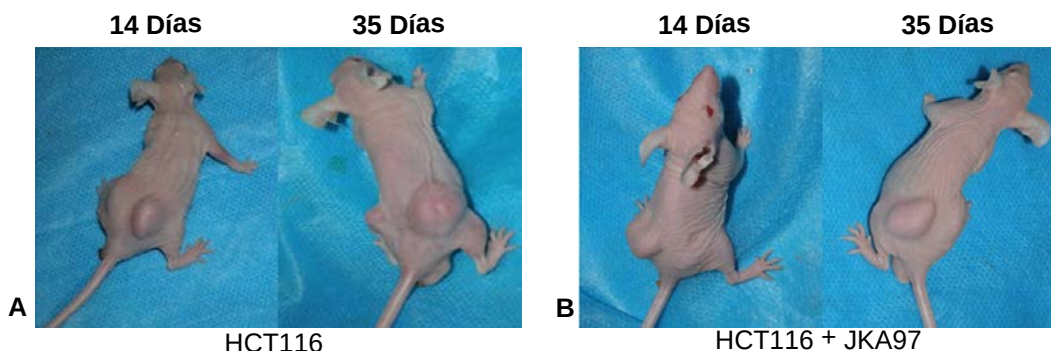
anticancerígeno del cual se ha estudiado su mecanismo de acción frente a diferentes líneas tumorales (Esquema 47) [26].

Esquema 47. Síntesis de la β -carbolina JKA97 **166**.



Una de las características más importantes del agente JKA97 **106** es que induce la apoptosis de células cancerosas a través de una vía independiente del gen p53, el cual es el responsable de promover la muerte programada de estas células, pero que al ser uno de los genes que más mutaciones presenta en tejidos cancerosos, genera una fuerte resistencia a los tratamientos antitumorales. Un estudio realizado sobre células de cáncer de colon HCT116 demostró que el mecanismo de acción del compuesto JKA97 **166** es dependiente del gen Bax, un miembro de la familia de proteínas Bcl-2, que regula los procesos de permeabilización mitocondrial e induce la apoptosis celular [27]. Al evaluar en ensayos *in vivo* la actividad apoptótica del compuesto JKA97 **166** sobre tumores HCT116 inoculados en ratones se encontró que tras 21 días de tratamiento (0.2 mg/kg por día) el tamaño de los tumores disminuía hasta en un 75 % (Figura 59) [26].

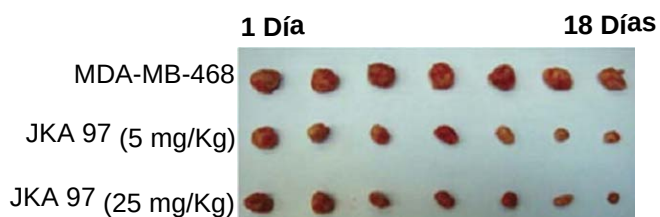
Figura 59. **A** Ratones inoculados con células HCT116. **B** Ratones inoculados con células HCT116 que recibieron tratamiento diario del compuesto JKA97 **166** por 21 días.



Los estudios adicionales relacionados con la actividad del compuesto JKA97 **166** en otros tipos de tejidos tumorales revelaron más evidencias sobre su posible mecanismo de acción. Así, se determinó que, para varias líneas celulares de cáncer de mama, con tres diferentes bases genéticas, como las MCF-7, MDA-MB-468 y la MCF7/p53, el compuesto JKA97 **166** presentó una actividad citotóxica *in vitro* muy buena (6.6–19.0 μM) y que además detenía el ciclo celular de estas líneas en la fase G1. Al evaluar su actividad *in vivo* sobre estos tejidos tumorales se encontró que también reducían el tamaño de los tumores tras un tratamiento de 18 días (5 mg/kg por día) hasta en un 60 % (Figura 60) [28].

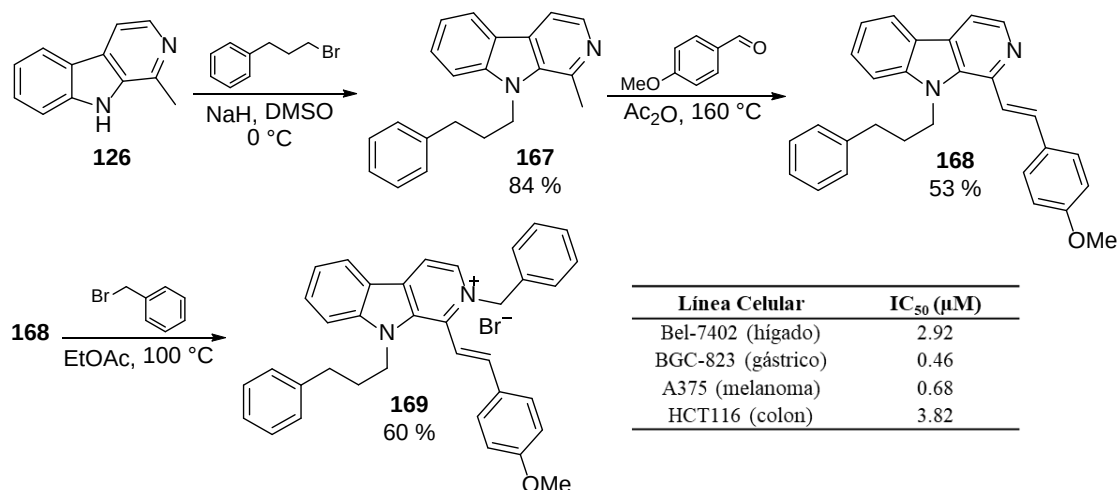
Figura 60. Citotoxicidad del compuesto JKA97 **166** en tres líneas celulares y tumores removidos que fueron infectados con células MDA-MB-468 y tratados a diario por 18 días.

Línea celular	IC ₅₀ (μM)
MCF-7	19.0
MDA-MB-468	6.6
MCF7/p53	10.3



Recientemente, nuevos estudios a nivel sintético y biológico reportaron la preparación de un análogo del compuesto **166**, la β -carbolina **168** que fue transformada en la sal **169** obtenida con un rendimiento global del 26 % (Esquema 48) [29]. Este último derivado presentó baja toxicidad hacia células sanas, pero frente a diversos tejidos tumorales resultó muy activo al inducir apoptosis sobre estas células al mediar en la señalización de la fosfatidilinositol 3 quinasa (PI3K/Akt), inhibiendo la fosforilación de la serina/treonina quinasa (Akt) y generando especies reactivas de oxígeno [30].

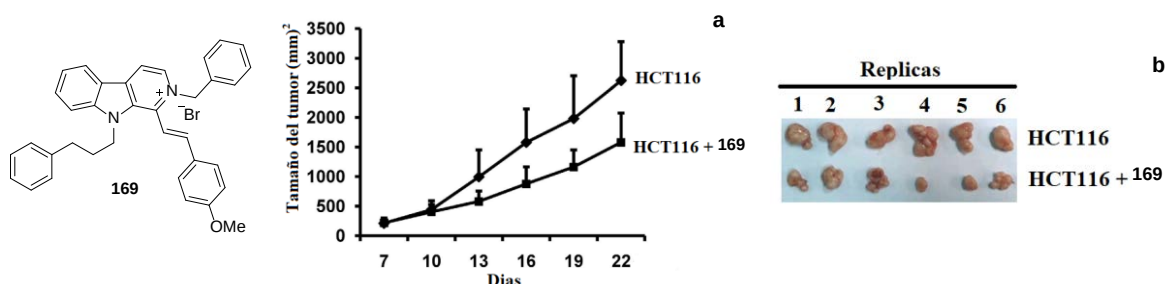
Esquema 48. Síntesis del derivado **169** y su actividad citotóxica en varias líneas celulares.



Adicionalmente, pruebas *in vivo* realizadas en ratones, similares a las expuestas en la Figura 60, determinaron que para el compuesto **169** se observó una reducción del tumor de células HCT116 implantado en ratones en casi un 50 % tras 21 días de tratamiento (Figura 61a). Hecho que fue confirmado con seis réplicas en donde después de la implantación de células HCT116 en ratones y la

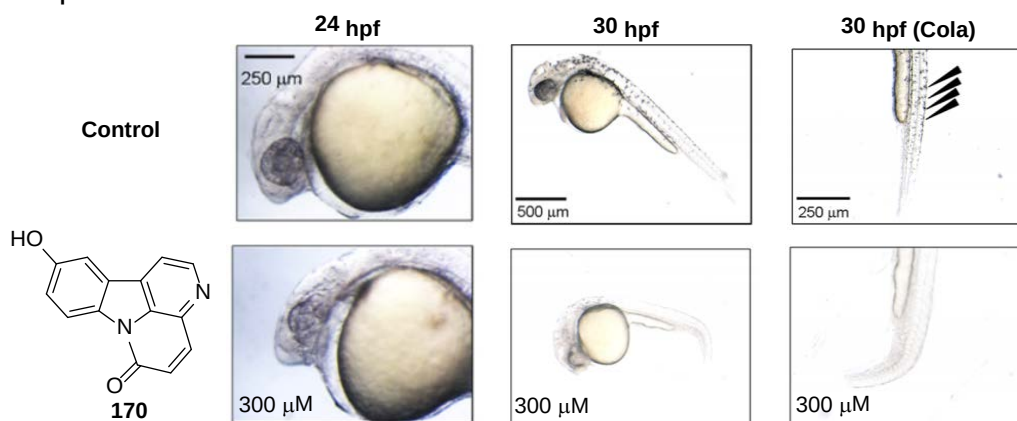
administración de una dosis diaria del compuesto **169** (50 mg/Kg) por 21 días, los tumores fueron extraídos y medidos (Figura 61b) [29].

Figura 61. Citotoxicidad del compuesto **169** en la línea celular HCT116 y tumores removidos que fueron infectados con estas células y tratados a diario por 21 días.



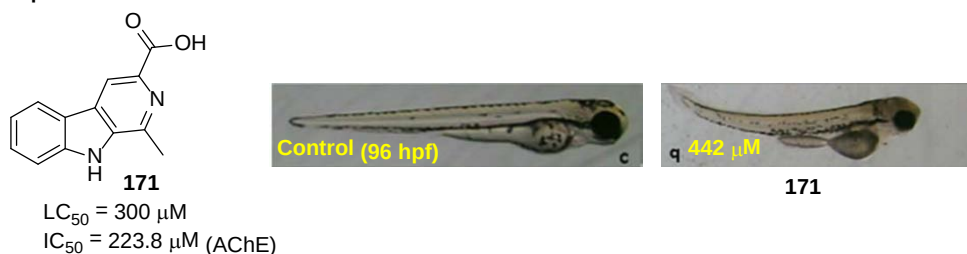
3.2.2 Cambios fenotípicos inducidos en embriones de pez cebra por β -carbolinas. Dentro de los más recientes reportes literarios que incluyen la evaluación de β -carbolinas en el modelo del pez cebra, se ha identificado un alcaloide β -carbolínico **170**, aislado de la planta *Eurycoma longifolia*, que fue evaluado por Ohishi y colaboradores en ensayos *in vitro* encontrando que en células de cáncer de colon SW480 su IC₅₀ era de 17.4 μ M. Estos estudios preliminares sirvieron de punto de partida para analizar los cambios fenotípicos inducidos por este compuesto en embriones de pez cebra, observando un retraso en el desarrollo de los embriones tras 24 hpf y 30 hpf donde también se pudo observar una reducción en el número de células de pigmentación que se asoció a la inhibición de las vías de señalización Wnt, las cuales juegan un papel decisivo en los procesos de regulación, diferenciación, proliferación y muerte celular (Figura 62) [31].

Figura 62. Cambios fenotípicos inducidos en el pez cebra por la β -carbolina **170** tras 30 hpf.



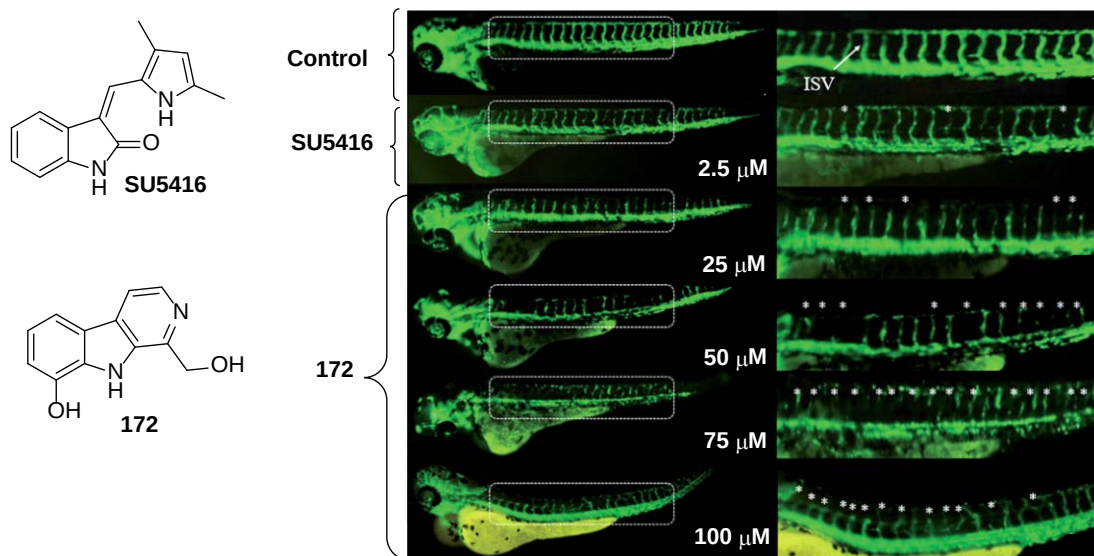
Por su parte, Bertelli y colaboradores aislaron de la planta *Palicourea deflexa* el alcaloide ácido 3-carboxi-harmánico **171** y determinaron su toxicidad en embriones de pez cebra ($LC_{50} = 319 \mu M$), su actividad inhibitoria de la enzima AChE ($IC_{50} = 223.8 \mu M$) y los cambios fenotípicos inducidos por este alcaloide en el desarrollo de los embriones de pez cebra [32]. Los cambios fenotípicos identificados en los embriones tratados con el compuesto **171** a una concentración de 442 μM evidencian la inhibición de la maduración de las células mesodérmicas ubicadas a lado y lado de la espina dorsal (somitas), lo cual está relacionado con la inhibición de la enzima AChE, la disminución en la pigmentación y la formación de edemas en el saco vitelino con respecto a los embriones control (Figura 63) [31].

Figura 63. Cambios fenotípicos inducidos en el pez cebra por la β -carbolina **171** tras 96 hpf.



Otros compuestos relacionados con la estructura β -carbolinas, y que se encuentran en fuentes vegetales, se han destacado por sus propiedades citotóxicas y anticancerígenas. Como ejemplo de ello, un estudio realizado en 2016 sobre los metabolitos secundarios de la planta *Picrasma quassioides* reveló que la β -carbolina **172** resultó ser un potente inhibidor de la angiogénesis en especímenes de pez cebra transgénicos *Tg(fli1:EGFP)^{y1}*, resultados comparables con los efectos causados por el derivado SU5416, empleado en la actualidad en tratamientos anticancerígenos (Figura 64).

Figura 64. Actividad anti-angiogénica determinada en embriones de pez cebra transgénicos *Tg(fli1:EGFP)^{y1}* inducidas por la β -carbolina **172**.



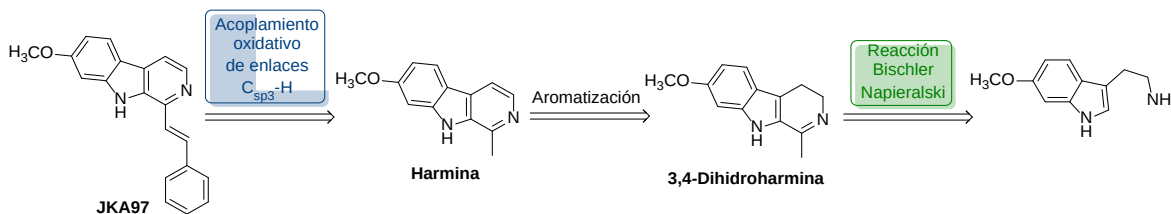
3.3 HIPÓTESIS

Ratificando la importancia biológica de los alcaloides β -carbolínicos y conociendo las estrategias sintéticas para la preparación y derivatización de estos compuestos, se cree que es posible realizar la síntesis de 1-estiril- β -carbolinas empleando como precursores derivados del alcaloide harmina obtenidos a través

de una ruta sintética de cuatro etapas que tiene como eje central la reacción Bischler-Napieralski.

Con base en la robustez y reciente desarrollo de las reacciones para la formación de enlaces C-C vía acoplamiento oxidativo de enlaces C_{sp^3} -H, se espera poder preparar nuevos análogos estructurales del derivado JKA97 a partir de 1-metil- β -carbolíνας (alcaloides harmina) obtenidos mediante una reacción Bischler-Napieralski, estudiando las condiciones de reacción que promuevan la formación del nuevo enlace C-C entre las 1-metil- β -carbolíνας y derivados bencílicos, como el uso de catalizadores metálicos, agentes oxidantes y disolventes. Se espera dirigir la síntesis a la obtención de un único producto, evitando reacciones indeseadas o en el peor de los casos la degradación estructural de sustratos y productos según el análisis retrosintético descrito en el Esquema 49.

Esquema 49. Análisis retrosintético del compuesto JKA97 empleando como principales estrategias la reacción de olefinación oxidativa y el acoplamiento oxidativo de enlaces C_{sp^3} -H.



Al revisar y evaluar la bibliografía científica con respecto al amplio espectro de bioactividades de las β -carbolíνας, donde se destaca su potencial antitumoral, se espera dar respuesta al siguiente interrogante:

¿Presentaran las β -carbolinas preparadas una toxicidad aguda y unos cambios fenotípicos que permitan proponer estas nuevas estructuras para estudios anticancerígenos especializados?

3.4 OBJETIVOS

3.4.1 Objetivo general

Preparar las respectivas 1-metil- β -carbolinas mediante la reacción Bischler-Napieralski para estudiar su transformación en compuestos análogos al agente JKA97 a través del acoplamiento oxidativo de enlaces C_{sp^3} -H y determinar su toxicidad y cambios fenotípicos inducidos en el modelo del pez cebra a fin de establecer si resultan ser moléculas promisoras para el estudio de su actividad anticancerígena.

3.4.2 Objetivos específicos

- Realizar la *N*-acetilación de diversos derivados comerciales de la triptamina para ser empleados como precursores de una secuencia de reacciones Bichler-Napieralski/oxidación para la obtención de los respectivos análogos del alcaloide harmina.
- Establecer los parámetros adecuados que involucren las variables: catalizador, disolvente, temperatura, tiempo y agente oxidante, que promuevan el acoplamiento oxidativo de enlaces C_{sp^3} -H entre las 1-metil- β -carbolinas y distintos sustratos (benzaldehídos, alcoholes bencílicos y/o bencilaminas) para la obtención de las respectivas 1-estiril- β -carbolinas en buenos rendimientos y selectividad.

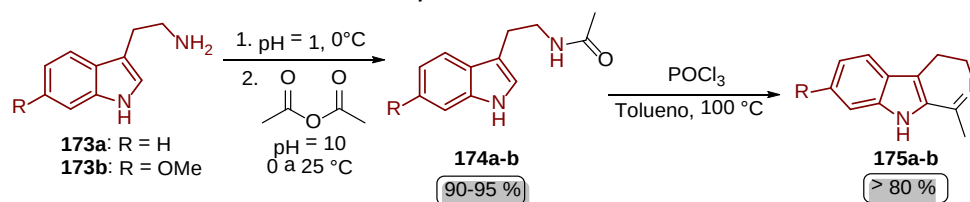
- Caracterizar los compuestos obtenidos (intermediarios y finales) por medio de métodos espectroscópicos y espectrométricos.
- Determinar la toxicidad, concentración letal media (LC₅₀), de las 1-metil- β -carbolinas en embriones de pez cebra durante las primeras 96 hpf con base en el ensayo ZFET.
- Reconocer y describir los cambios morfológicos congénitos (en cabeza, espina dorsal, saco vitelino y órganos principales) inducidos por las 1-metil- β -carbolinas durante el desarrollo del pez cebra a concentraciones por debajo de la LC₅₀.

3.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.5.1 Preparación de 1-metil- β -carbolinas como análogos del alcaloide harmina. La química orgánica ha encaminado sus esfuerzos en la transformación de los alcaloides β -carbolínicos en compuestos que generen una mejor respuesta biológica y que disminuyan los efectos adversos, ya que naturalmente estos derivados son biosintetizados por plantas y animales como armas de defensa química. Para adecuar esta investigación a este lineamiento, se propuso utilizar alcaloides β -carbolínicos, principalmente harman y harmina, para ser empleados como precursores de moléculas más complejas. Sin embargo, el cumplimiento de este objetivo requeriría de grandes cantidades de material de partida y su obtención de fuentes vegetales resultaría en un gran obstáculo debido al bajo porcentaje de extracción (harmina 4.3 %) [33]. Por tal motivo, se procedió a preparar estos alcaloides en el laboratorio a partir de derivados comerciales de

triptamina **173a-b**. Así, los derivados **173a-b** fueron acetilados según los procedimientos ya descritos en la literatura [34], obteniendo las correspondientes *N*-acetil triptaminas **174a-b** en excelentes rendimientos (Anexos 80-81). Enseguida, estos compuestos fueron sometidos a las condiciones de la reacción Bischler-Napieralski, para la obtención de las respectivas 3,4-dihidro- β -carbolinas **175a-b**, las cuales fueron obtenidas en rendimientos superiores al 80 % y empleadas en la siguiente etapa sin purificación previa (Esquema 50) [35].

Esquema 50. Secuencia de reacciones: *N*-acetilación/Bischler-Napieralski para la obtención de las 1-metil-3,4-dihidro- β -carbolinas **175a-b**.



Para la etapa final, cuyo objetivo era la obtención de las 1-metil- β -carbolinas **176a-b**, se requirió de un estudio de condiciones que promoviera la oxidación de los productos **175a-b** debido a que varios protocolos han sido reportados para ejecutar este proceso sin existir aún una metodología eficiente y robusta. Seleccionando así la 1-metil-3,4-dihidro- β -carbolina **175a** como sustrato modelo, se evaluaron varias condiciones de oxidación aplicadas para la obtención de β -carbolinas. Inicialmente, se probó una de las condiciones más comunes para la aromatización de compuestos saturados, el tratamiento del intermediario **175a** con paladio en carbón activado (10 %) en tolueno a 120 °C por 24 horas. Sin embargo, tras el proceso de extracción y purificación se obtuvo el producto de interés con un rendimiento del 24 % (Exp. 1, Tabla 21). Otros sistemas oxidantes empleados en

la oxidación de este tipo de derivados, como el yodo molecular en DMSO, 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ), y *N*-cloro succinimida con trietilamina (Exp. 2-4, Tabla 21), no generaron o resultaron poco eficientes para la obtención del producto **176a**. Finalmente, al emplear permanganato de potasio (KMnO₄) como agente oxidante en acetona a 0 °C por 24 horas, se logró aislar la respectiva 1-metil- β -carbolinas **176a** con un rendimiento del 69 % (Exp. 5, Tabla 21). No obstante, al extrapolar estas condiciones de reacción para el intermediario **175b**, el rendimiento de la reacción disminuyó, obteniendo la respectiva 1-metil-6-metoxi- β -carbolina **176b** con un 49 % (Tabla 21).

Tabla 21. Evaluación de las condiciones óptimas de reacción para la oxidación de la 1-metil-3,4-dihidro- β -carbolina **175a**^a

Cc1c[nH]c2cc(R)ccc2c1 **175a-b** $\xrightarrow[\text{Solvente, T}]{\text{Agente Oxidante}}$ Cc1c[nH]c2cc(R)ccc2c1 **176a** R = H
Cc1c[nH]c2cc(OC)ccc2c1 **176b** R = OMe

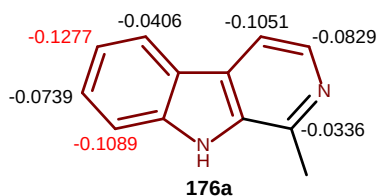
Exp.	Agente oxidante	Aditivo	Disolvente	Temperatura (°C)	Tiempo (horas)	Rendimiento (%)
1	Pd/C	---	Tolueno	120	24	24
2	I ₂	---	DMSO	90	12	N.R. ^b
3	DDQ	---	THF	50	12	<10
4	NCS	TEA	DMF	90	24	<10
5	KMnO ₄	---	Acetona	0	24	62

^a Condiciones de reacción: 1-metil-3,4-dihidro- β -carbolina **175a** (0.5 mmol), agente oxidante (3 mmol), aditivo (3 mmol), disolvente (3 mL), temperatura, ^b N.R.: No hubo reacción.

Con la síntesis del harman **176a** y la harmina **176b**, se procedió a modificar estos sustratos con el fin de generar una librería más amplia de 1-metil- β -carbolinas para ser empleadas en la preparación de nuevos derivados de estos alcaloides β -carbolínicos. Así, aprovechando la reactividad del harman **176a** frente a reacciones de sustitución electrofílica aromática (S_EAr), se realizaron reacciones de bromación, cloración y nitración. Sobre la química de las β -carbolinas, Ponce y

colaboradores reportaron un estudio en el que específicamente para el caso del harman **176a** se describió la densidad de carga de cada uno de los átomos del núcleo β -carbolínico. Así, a partir de cálculos computacionales a nivel semiempírico (AM1, PM3), se predijo la reactividad de este derivado frente a las especies electrofílicas: iones bromonio, cloronio y nitronio (Figura 65) [36].

Figura 65. Distribución de carga para el harman **176a**, predicción de su reactividad en reacciones de sustitución electrofílica aromática (S_EAr).

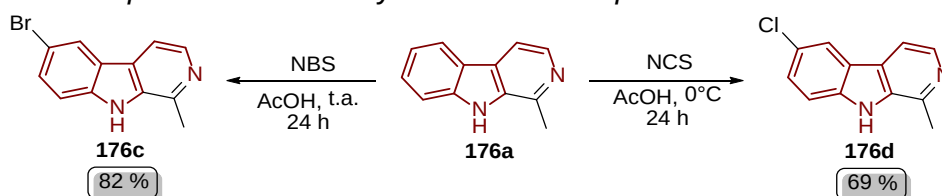


Como se observa en la Figura 65, las reacciones S_EAr sobre las β -carbolinas pueden generar dos posibles productos, regioisómeros, sustituidos en el carbono C-6 y C-8, donde la densidad de carga es mayor y se promueve la interacción con las especies electrofílicas. Si bien este fenómeno se ha comprobado experimentalmente, algunos reportes indican que es posible controlar la formación de un regioisómero con respecto al otro al controlar las condiciones de reacción, por ejemplo, orden de adición, temperatura, tiempo y tipo de electrófilo [37].

Para la bromación del harman **176a**, se empleó *N*-bromosuccinimida en ácido acético glacial como sistema de reacción, obteniendo la correspondiente 6-bromo-1-metil- β -carbolina **176c** con un rendimiento del 82 % tras 24 horas. Si bien el monitoreo a través cromatografía en capa fina (CCF) indicó la presencia de un segundo producto, posiblemente la 8-bromo-1-metil- β -carbolina, este derivado no se aisló ni caracterizó (Esquema 50). Por su parte, la cloración del harman **176a**

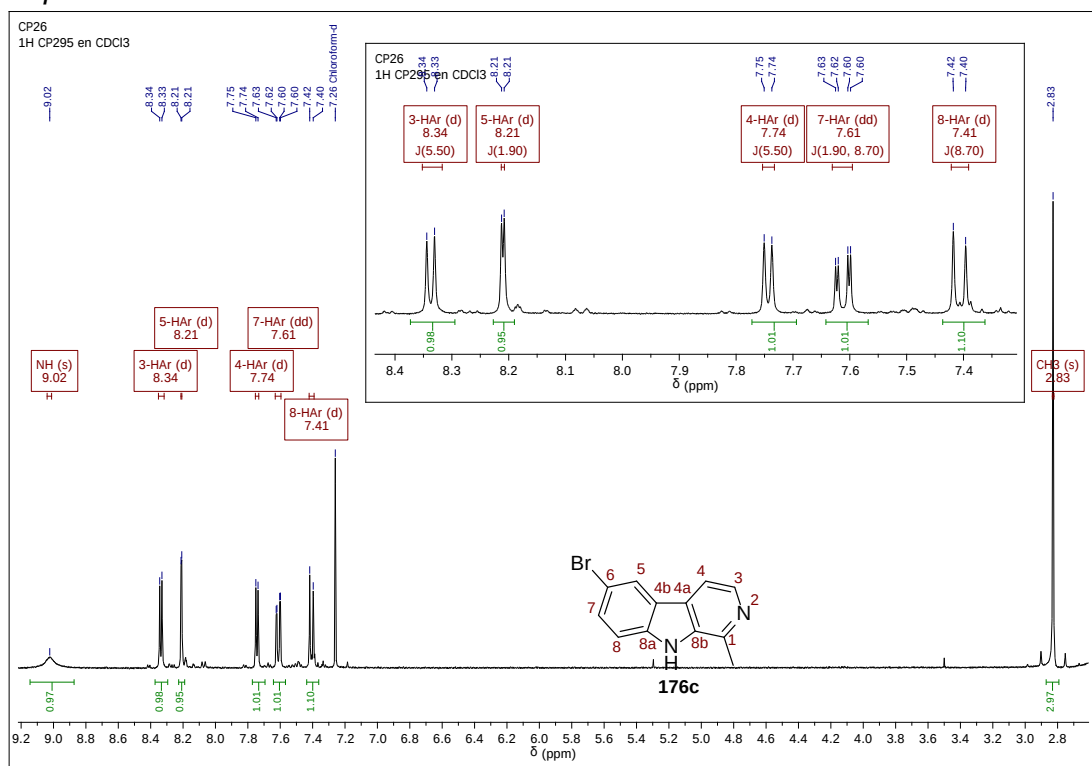
se llevó a cabo con *N*-clorosuccinimida en ácido acético glacial y a una temperatura de 0 °C. Aunque se obtuvo la correspondiente 6-cloro-1-metil- β -carbolina **176d** como producto mayoritario, esta solo logró ser aislada con un rendimiento sólo del 69 % tras 24 horas (Esquema 51). Por su parte, los esfuerzos para purificar y aislar el respectivo isómero de **176d**, la correspondiente 8-cloro-1-metil- β -carbolina resultaron tediosos y difíciles. En la actualidad se ha reportado la síntesis de los derivados halogenados **176c-d** a través de métodos similares a los desarrollados en ese trabajo de investigación, obteniendo rendimientos similares para cada uno de estos compuestos, los cuales fueron aislados con un rendimiento del 83 % (**176c**) [14] y 75 % (**176d**) [36], y donde se observaron los mismos inconvenientes en el tratamiento de la reacción y la formación de subproductos.

Esquema 51. Bromación y cloración de la 1-metil- β -carbolina **176a**. Síntesis de la 6-bromo-1-metil- β -carbolina **176c** y 6-cloro-1-metil- β -carbolina **176d**.



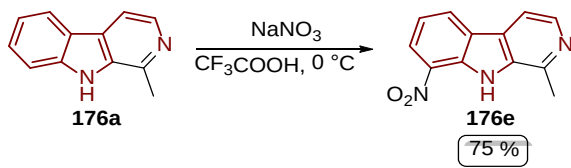
El patrón de sustitución, ubicando el átomo de bromo y cloro en el carbono C-6, se corroboró para estas dos reacciones a través del análisis por resonancia magnética nuclear, relacionando las constantes de acoplamiento de los protones aromáticos en el espectro ^1H RMN (Figura 66).

Figura 66. Región aromática ampliada del espectro ^1H RMN de la 6-bromo-1-metil- β -carbolina **176c**.



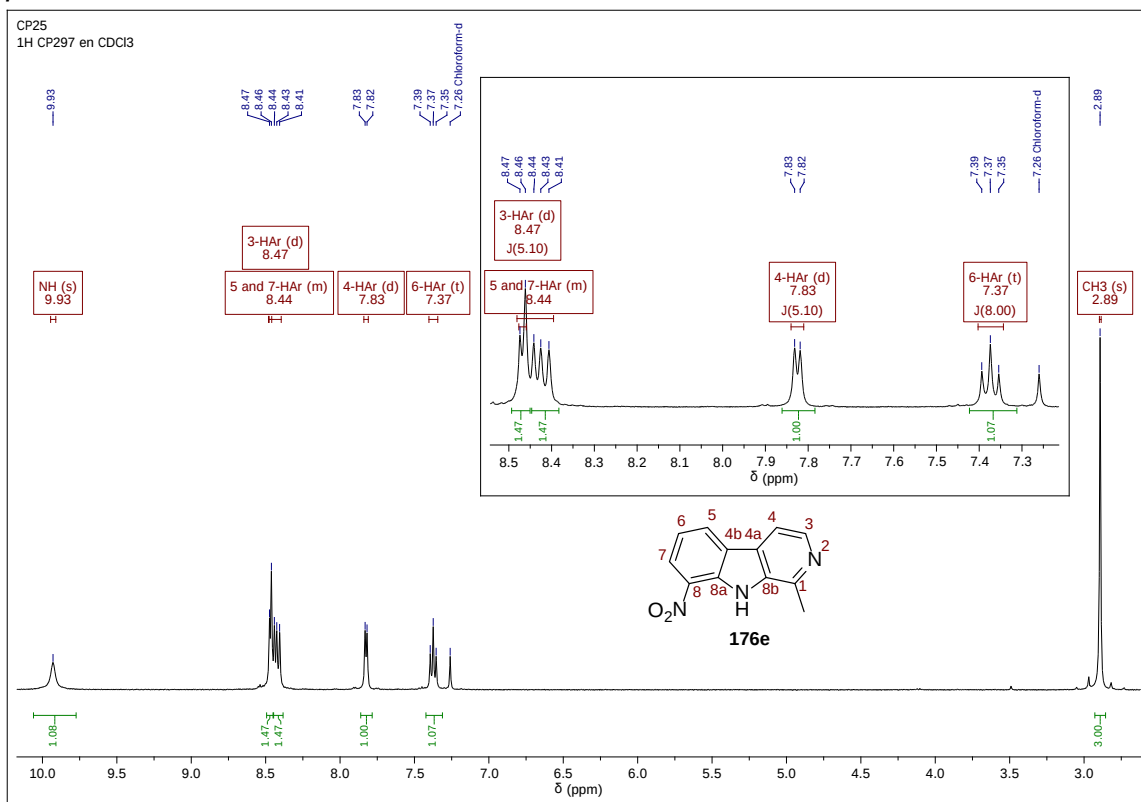
Finalmente, la nitración del harman **176a**, utilizando una mezcla de nitrato de sodio (NaNO_3) y ácido trifluoroacético a 0°C , generó la respectiva 8-nitro-1-metil- β -carbolina **15e** con un rendimiento del 75 % (Esquema 52). Un resultado que contrasta con lo reportado por Song y colaboradores [14], que bajo las mismas condiciones obtuvieron como producto mayoritario el isómero 6-nitro-1-metil- β -carbolina (72 %).

Esquema 52. Nitración de la 1-metil- β -carbolina **176a**. Síntesis de la 8-nitro-1-metil- β -carbolina **176e**.



Mediante el análisis realizado por ^1H RMN se pudo corroborar la regioselectividad de esta reacción, donde para el isómero 8-nitro-1-metil- β -carbolina **176e** los protones aromáticos muestran un patrón de desdoblamiento y desplazamiento completamente diferente a los reportados previamente para el isómero 6-nitro-1-metil- β -carbolina, los cuales si corresponden a la distribución de los protones aromáticos en el espectro ^1H RMN para el derivado **176e** indicando la presencia del grupo nitro en el carbono C-8 del núcleo β -carbolínico (Figura 67).

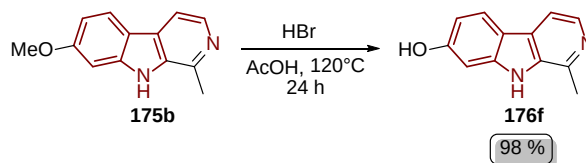
Figura 67. Región aromática ampliada del espectro ^1H RMN de la 8-nitro-1-metil- β -carbolina **176e**.



Por último, la formación del grupo hidroxilo dentro de la estructura de la β -carbolina se realizó a partir de la *O*-desmetilación de la harmina **176b**, obteniendo así el alcaloide harmol **176f**. Este proceso fue promovido por ácido bromhídrico en

presencia de ácido acético glacial a 120 °C por 48 horas, obteniendo el respectivo alcaloide **176f** con un rendimiento del 98 % (Esquema 53).

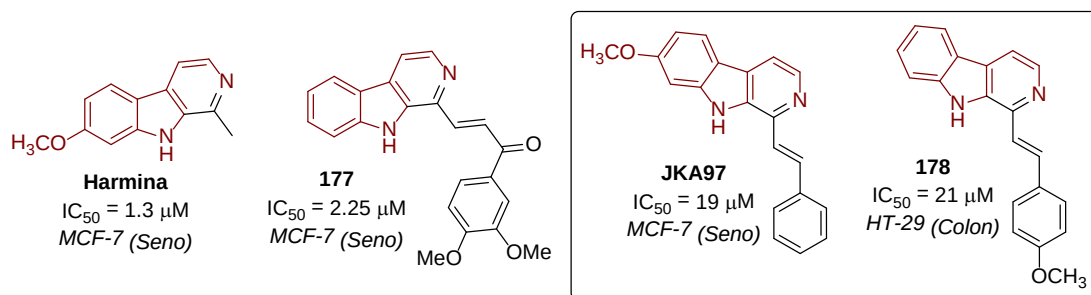
Esquema 53. O-Desmetilación de la 1-metil- β -carbolina **176b**. Síntesis del alcaloide harmol **176f**.



Con la síntesis y caracterización de las 1-metil- β -carbolinas **176a-f** (Anexos 82-87) se da por finalizada la primera etapa de esta sección, en la que se prepararon los respectivos sustratos para ser empleados en la síntesis de moléculas análogas al compuesto JKA97, potencial agente antitumoral.

3.5.2 Transformación química de las 1-metil- β -carbolinas hacia la construcción de nuevos compuestos *N*-heterociclos. Además del harman **176a**, harmina **176b** y harmol **176f**, se encuentran otros derivados de las 1-metil- β -carbolinas que poseen actividad antitumoral reconocida, incluso con mayor eficacia, como el compuesto **177**. Con base en este argumento, en esta investigación el interés por preparar nuevos análogos al compuesto JKA97 radica en que, según estudios de su mecanismo de acción, se ha establecido que la actividad citotóxica de este agente es independiente del gen p53, estando regulado por la expresión del gen p21, lo que dificulta que los tejidos tumorales generen resistencia hacia este tipo de agente y se disminuyan sus efectos secundarios (Figura 68) [32].

Figura 68. Actividad antitumoral de la harmina **176b** y los análogos del compuesto JKA97.



Desde el punto de vista biológico, se justifica el interés por evaluar y estudiar nuevos derivados del compuesto JKA97, pero desde el punto de vista de la química orgánica, el reto es aún mayor puesto que hasta el momento no se cuenta con un protocolo que permita acceder a estos sistemas de manera rápida y eficiente. Tradicionalmente, el agente JKA97 y sus derivados se han preparado al someter la respectiva β -carbolina a un calentamiento fuerte ($160^{\circ}C$) con un exceso de anhídrido acético y derivados del benzaldehído, dando lugar a la formación de estos compuestos en rendimientos que oscilan entre 12-65 % [31]. Así, con el fin de cumplir con el objetivo principal de esta sección, la síntesis de 1-estiril- β -carbolinas a partir de las 1-metil- β -carbolinas **176a-f**, se evaluaron varias condiciones de reacción para promover la respectiva condensación entre los derivados **176a-f** y distintos sustratos (benzaldehídos, alcoholes bencílicos y/o bencilaminas).

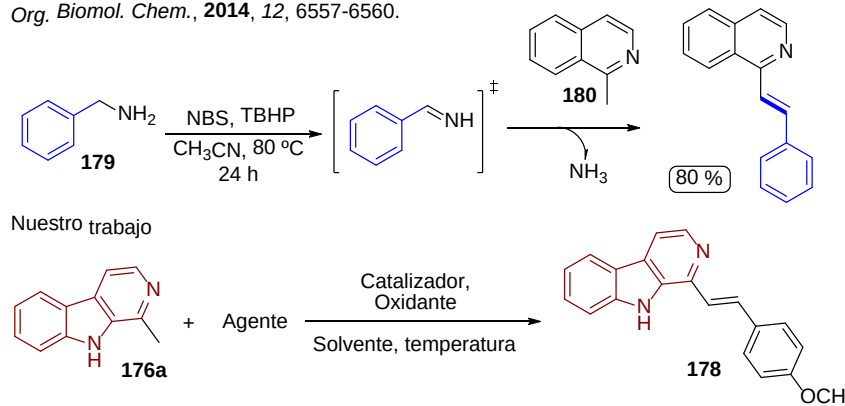
Los reportes literarios acerca de la olefinación de 1-metil- β -carbolinas son realmente escasos en comparación con los trabajos que describen la olefinación de 2-metilquinolinas y 1-metilisoquinolinas. Para la ejecución de nuestro plan

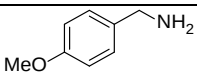
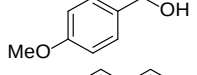
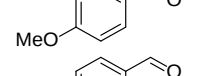
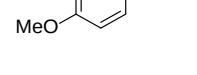
sintético se estudiaron y evaluaron estas condiciones de reacción buscando obtener las respectivas 1-estiril- β -carbolinas.

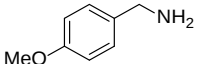
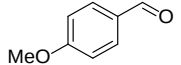
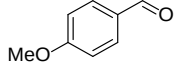
Uno de los trabajos que inspiraron nuestro estudio fue el reportado por Gong y colaboradores en el 2014 [38]. Estos autores describieron la olefinación oxidativa, a través del acoplamiento cruzado deshidrogenativo, entre bencilaminas **179** y metilaza-arenos. Aunque este protocolo pudo ser extendido a la 1-metilisoquinolina **180**, bajo condiciones libres de metales de transición y con muy buen rendimiento, al extrapolar estas condiciones de reacción al harman **176a**, la respectiva 1-estiril- β -carbolina **178** sólo pudo aislarse con un rendimiento del 8 % (Exp. 1, Tabla 22).

Tabla 22. Evaluación de las condiciones óptimas de reacción para la olefinación oxidativa del harman **176a**. Síntesis de la 1-estiril- β -carbolina **178**^a

Org. Biomol. Chem., **2014**, *12*, 6557-6560.



Exp.	Agente	Catalizador (Equiv)	Oxidante (Equiv)	Rendimiento (%)
1		NBS (0.2)	TBHP (1)	8 ^b
2		NBS (0.2)	TBHP (1)	N.R. ^c
3		NBS (0.2)	TBHP (1)	N.R. ^c
4		---	TBHP (1)	N.R. ^c

5		CuBr ₂ (10)	TBHP (1)	N.R. ^c
6		CuBr ₂ (10)	TBHP (1)	N.R. ^c
7		CuBr ₂ (10)	K ₂ S ₂ O ₈ (1)	N.R. ^c

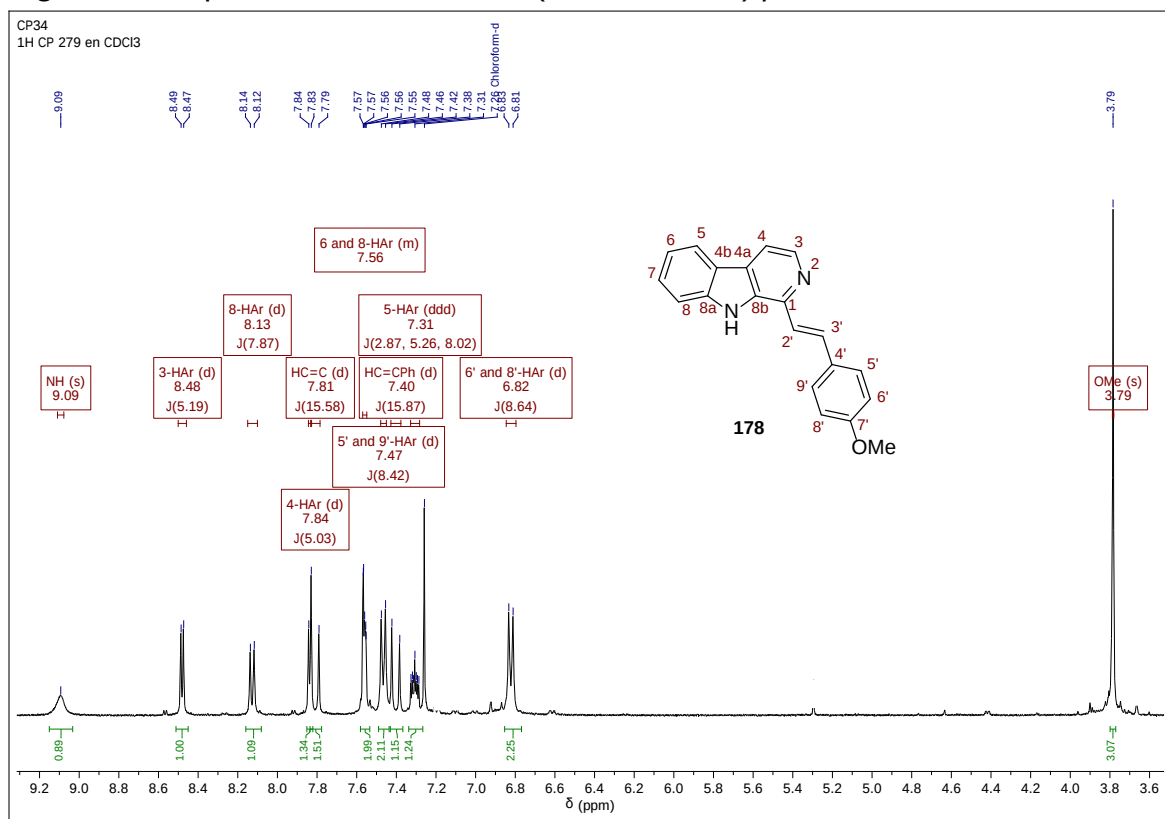
^a Condiciones de reacción: 1-metil- β -carbolina **176a** (1 mmol), agente (1.1 mmol), catalizador, oxidante y acetonitrilo (2 mL) a 100 °C por 24 horas. ^b Rendimiento del producto después de purificado por cromatografía en columna (SiO₂). ^c N.R.: No hubo reacción.

Las bencilaminas se reportaron como agentes idóneos para ser condensados con la carbolina **176a**, aunque estos sustratos son costosos y de difícil acceso. No obstante, durante el mecanismo de reacción, Gong y colaboradores proponen que bajo las condiciones establecidas la bencilamina se oxida *in situ* al correspondiente benzaldehído, quien es en realidad la especie que se condensa con la carbolina **176a**. Sin embargo, al evaluar otros agentes como el alcohol 4-metoxibencílico o el 4-anisalaldehído, bajo las mismas condiciones de reacción, no se observó la formación del producto de interés (Exp. 2 y 3, Tabla 23). Adicionalmente, no se obtuvieron los resultados esperados al evaluar estos agentes con otros catalizadores o agentes oxidantes (Exp. 4-7, Tabla 23).

Del experimento 1, Tabla 23, se logró aislar y caracterizar la correspondiente 1-(4-metoxiestiril)- β -carbolina **178** como un sólido estable de color amarillo (p.f.: 194-196), cuyas propiedades físicas y químicas se asemejaban a las descritas previamente cuando fue preparado a través de métodos clásicos y poco eficientes (rendimiento: 12 % p.f: 215-217 °C) [39]. La caracterización de este derivado se llevó a cabo a través de técnicas instrumentales como resonancia magnética nuclear, donde el experimento de ¹H RMN reveló las señales a 7.81 ppm (1H, d, *J* = 15.5 Hz, HC=C) y 7.40 ppm (1H, d, *J* = 15.8 Hz, HC=CPh) que corresponden a

los nuevos protones olefínicos que confirman el éxito de la condensación. De igual forma, se pueden identificar señales características de los fragmentos unidos a través del nuevo doble enlace C=C, como los son: el protón del grupo NH proveniente de la β -carbolina **176a** a 9.09 ppm y el grupo metoxi (OCH₃) del fragmento de la 4-metoxibencilamina a 3.73 ppm. Por último, las señales ubicadas entre 8.48 y 6.82 ppm corresponden a los protones aromáticos y están acordes al patrón de sustitución presente en la estructura de **178** (Figura 69).

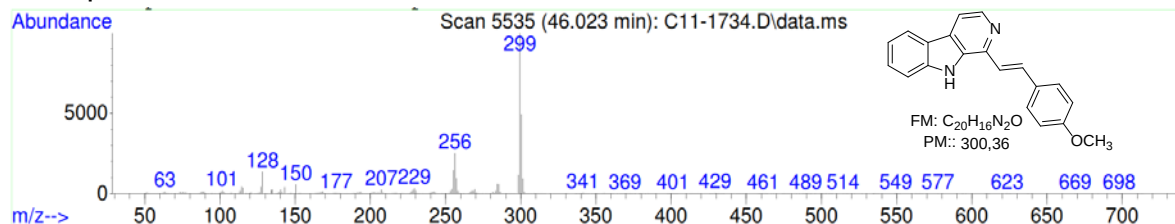
Figura 69. Espectro ¹H RMN de la 1-(4-metoxiestiril)- β -carbolina **178**.



Por su parte, el análisis del fragmentograma, obtenido a través de espectrometría de masas (IE, 70 eV), reveló el peso molecular correspondiente a la formula molecular condensada para el compuesto **178**, donde se identificó el ion pico del

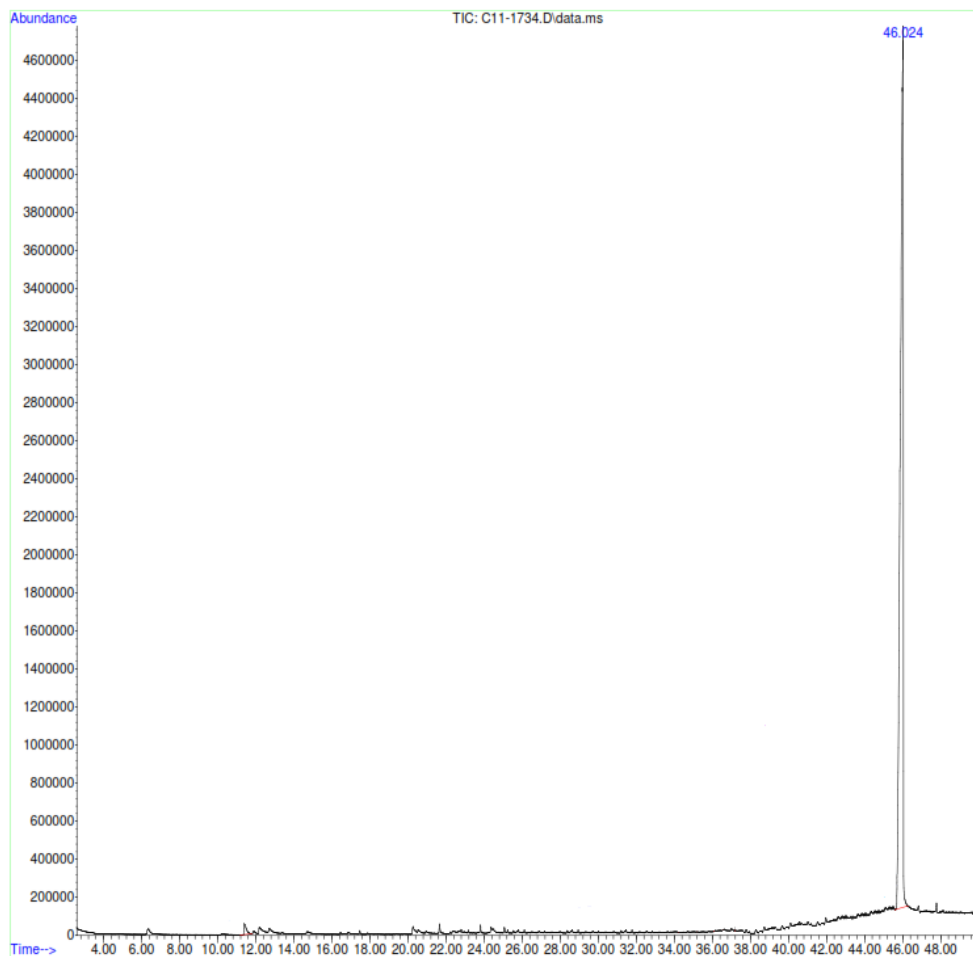
ion molecular ($m/z = 300$), el ion pico base ($m/z = 299$) generado por la pérdida del radical hidrógeno (Figura 70).

Figura 70. Fragmentograma (IE, 70 eV) obtenido para el compuesto **178** a través de espectrometría de masas.



Finalmente, la pureza del compuesto **178** fue establecida a través del cromatograma obtenido por cromatografía de gases acoplado a un detector FID (Figura 71).

Figura 71. Cromatograma para el compuesto **178** obtenido a través de CG-FID.

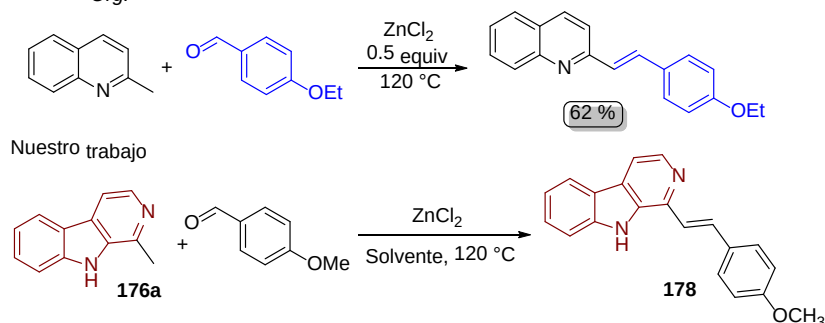


Continuando con la optimización de la reacción de olefinación, varios reportes literarios fueron evaluados e implementados con el fin de promover la formación del producto **36**. A pesar de que en dichos estudios se reporta principalmente la olefinación de 2-metilquinolinas con derivados del benzaldehído, los catalizadores empleados en esta transformación buscan activar el grupo metilo a través de la interacción con el nitrógeno heterocíclico, fenómeno que también se ocurriría con las 1-metil- β -carbolinas según nuestra hipótesis. De esta forma, con base en el trabajo reportado por Li y colaboradores [40], donde se describió el uso de cloruro

de zinc (ZnCl_2) como catalizador bajo condiciones libres de solvente, se llevó a cabo la reacción entre la β -carbolina **176a** y el 4-anisaldehído empleando ZnCl_2 a 120 °C sin solvente y luego empleando tolueno como medio de reacción. Desafortunadamente, ninguno de estos experimentos reveló la formación del producto deseado según el análisis realizado por TLC (Tabla 23).

Tabla 23. Evaluación de las condiciones óptimas de reacción para la olefinación del harman **176a**. Síntesis de la 1-estiril- β -carbolina **178** catalizada por ZnCl_2 ^a

Russ. J. Org. Chem., **2012**, 48, 823-828.



Exp.	Catalizador (Equiv)	Disolvente (mL)	Rendimiento (%)
1	ZnCl_2 (0.5)	---	N.R. ^b
2	ZnCl_2 (0.5)	Tolueno (3)	N.R. ^b
3	ZnCl_2 (0.2)	Tolueno (3)	N.R. ^b

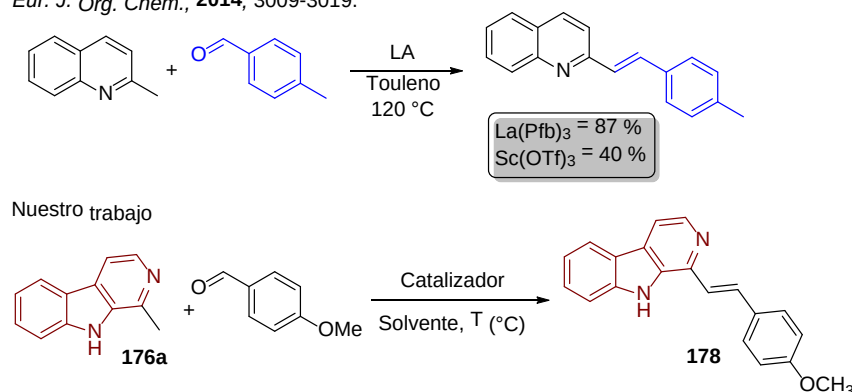
^a Condiciones de reacción: 1-metil- β -carbolina **176a** (1 mmol), catalizador, solvente a 120 °C por 24 horas. ^b N.R.: No hubo reacción.

Tras haber encontrado que el pentafluorobenzoato de lantánido ($\text{La}(\text{pfb})_3$), un ácido de Lewis, promovía la reacción entre la 2-metilquinolina y benzaldehídos, Mao y colaboradores reportaron la síntesis de la respectiva 2-estirilquinolina con un rendimiento del 88 % empleando tolueno como solvente [41]. Si bien el $\text{La}(\text{pfb})_3$ dio los mejores resultados, resulta ser un ácido de Lewis costoso y de difícil acceso. No obstante, en el mismo estudio estos autores encontraron que esta reacción podría ser promovida por el triflato de escandio ($\text{Sc}(\text{OTf})_3$), aunque en rendimientos menores (40 %). Teniendo el $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ disponible en nuestro

laboratorio, se procedió a extrapolar estas condiciones de reacción para la obtención del compuesto **178**. Lamentablemente, ni este catalizador ni los triflatos de gadolinio ($\text{Ga}(\text{OTf})_3$) e iterbio ($\text{Yb}(\text{OTf})_3$) generaron el producto de interés (Exp. 1-4, Tabla 24). Siguiendo con la hipótesis del uso de un ácido de Lewis para promover esta reacción, y aprovechando las ventajas que resultan de utilizar ácidos en fase líquida, se evaluó el comportamiento de los complejos: dietil eterato trifluoruro de boro ($\text{BF}_3 \cdot \text{EtO}_2$) y trifluoruro de boro en metanol ($\text{BF}_3 \cdot \text{MeOH}$) sin obtener un resultado positivo (Exp. 5-6, Tabla 24). Finalmente, nuestros esfuerzos se encaminaron en emplear un superácido, el ácido trifluorometansulfónico (TfOH), un ácido de Brønsted ($\text{pK}_a = -14.9$) el cual se utilizó como catalizador heterogéneo, soportado en gel de sílice (SiO_2), o como catalizador homogéneo en acetonitrilo y ácido acético glacial, aunque de igual forma no se observó la formación del producto de interés (Exp. 7-9, Tabla 24).

Tabla 24. Evaluación de las condiciones óptimas de reacción para la olefinación del harman **176a**. Síntesis de la 1-estiril- β -carbolina **178** catalizada por ácidos de Lewis y de Brønsted^a

Eur. J. Org. Chem., 2014, 3009-3019.



Exp.	Catalizador (Equiv)	Disolvente (mL)	Temperatura (°C)	Rendimiento (%)
1	$\text{Sc}(\text{OTf})_3$ (0.1)	Tolueno (3)	120	N.R. ^b
2	$\text{Sc}(\text{OTf})_3$ (0.1)	CH_3CN (3)	100	N.R. ^b

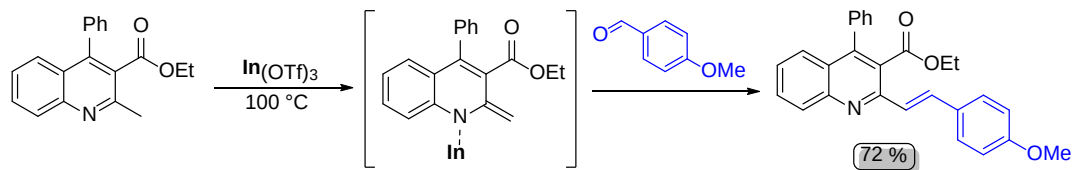
3	Ga(OTf) ₃ (0.1)	CH ₃ CN (3)	100	N.R. ^b
4	Yb(OTf) ₃ (0.1)	CH ₃ CN (3)	100	N.R. ^b
5	BF ₃ EtO ₂ (0.5)	CH ₃ CN (3)	100	N.R. ^b
6	BF ₃ MeOH (0.5)	---	100	N.R. ^b
7	TfOH/SiO ₂	CH ₃ CN (3)	100	N.R. ^b
8	TfOH (0.1)	AcOH (3)	100	N.R. ^b
9	TfOH (1)	AcOH (3)	100	N.R. ^b

^a Condiciones de reacción: 1-metil- β -carbolina **176a** (1 mmol), catalizador, solvente y temperatura por 24 horas. ^b N.R.: No hubo reacción.

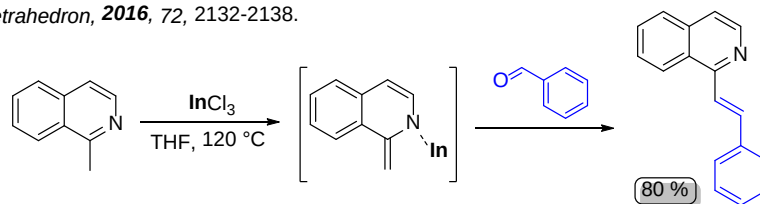
De manera independiente, Chakraborti y colaboradores [42] junto con Jamal y su grupo de investigación [43], reportaron el uso de catalizadores de indio (III) para activar el núcleo de la 2-metilquinolina y la 1-metilisoquinolina, generando como intermediario una especie In-enamida capaz de reaccionar fácilmente con benzaldehídos para y generar las respectivas 2-estirilquinolinas y 1-estirilisquinolinas. En primer lugar, el triflato de indio (In(OTf)₃) no resultó ser un buen catalizador y no dio lugar a la formación del producto esperado al ser evaluado en distintos disolventes (Exp. 1-4, Tabla 25). Por su parte, al emplear tricloruro de indio (InCl₃) como catalizador, se pudo observar que la respectiva β -carbolina **178** se formaba al utilizar tetrahidrofurano (THF) como disolvente, aunque con un rendimiento del 4 % (Exp. 5, Tabla 25). Otros experimentos, llevados a cabo en acetonitrilo y carbonato de propenilo (CP), desafortunadamente no derivaron en la formación del producto de interés (Exp. 6-7, Tabla 25).

Tabla 25. Evaluación de las condiciones óptimas de reacción para la olefinación del harman **176a**. Síntesis de la 1-estiril- β -carbolina **178** empleando catalizadores de indio^a

RSC Adv., 2015, 5, 2920-2927.



Tetrahedron, 2016, 72, 2132-2138.



Nuestro trabajo



Exp.	Catalizador (Equiv)	Disolvente (mL)	Temperatura (°C)	Rendimiento (%)
1	In(OTf) ₃ (0.1)	---	110	N.R. ^b
2	In(OTf) ₃ (0.1)	CH ₃ CN (3)	100	N.R. ^b
3	In(OTf) ₃ (0.1)	CP (3)	100	N.R. ^b
4	In(OTf) ₃ (0.1)	1,2-DCA (3)	100	N.R. ^b
5	InCl ₃ (0.1)	THF (3)	100	4 ^c
6	InCl ₃ (0.1)	CH ₃ CN (3)	100	N.R. ^b
7	InCl ₃ (0.1)	CP (3)	100	N.R. ^b

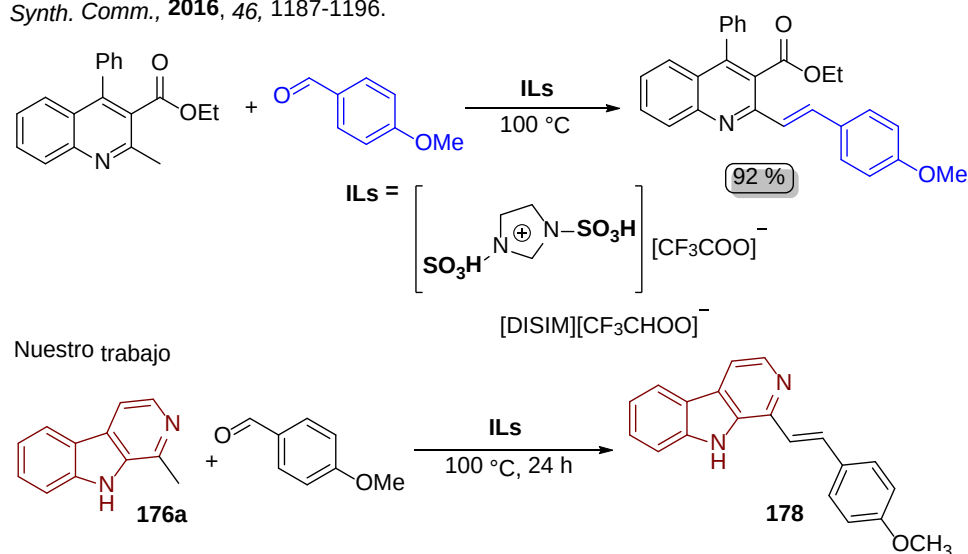
^a Condiciones de reacción: 1-metil- β -carbolina **176a** (0.5 mmol), catalizador, disolvente y temperatura por 24 horas. ^b N.R.: No hubo reacción. ^c Rendimiento de la reacción determinado por ¹H RMN empleando como estándar interno 1,3,5-trimetoxibenceno.

Con el fin de establecer un protocolo más amigable con el medio ambiente, Sarma y colaboradores reportaron el uso de un líquido iónico funcionalizado con el fragmento del ácido sulfónico (–SO₃H) como catalizador y medio de reacción [44]. El catión imidazolio coordinado con el anión –SO₃H genera un líquido iónico con características de un ácido de Brønsted, el cual es capaz de promover la condensación entre 2-metilquinolinas y benzaldehídos. Lamentablemente,

después de extrapolar estas condiciones de reacción y haber evaluado otros dos líquidos iónicos de iguales características, no se observó la formación del producto de interés (Tabla 26).

Tabla 26. Evaluación de las condiciones óptimas de reacción para la olefinación del harman **176a**. Síntesis de la 1-estiril- β -carbolina **178** catalizada por líquidos iónicos^a

Synth. Comm., **2016**, 46, 1187-1196.



Exp.	ILs (mL)	Rendimiento (%)
1	[DSIM][CF ₃ COO] ⁻	N.R. ^b
2	Bmim[PF ₆]	N.R. ^b
3	[DSIM]HSO ₄	N.R. ^b

^a Condiciones de reacción: 1-metil- β -carbolina **176a** (0.5 mmol), catalizador, solvente y temperatura por 24 horas. ^b N.R.: No hubo reacción.

Finalmente, promovidos por la acidez que la inclusión del fragmento $\text{--SO}_3\text{H}$ aporta a la estructura del líquido iónico [DISIM][CF₃CHCOO]⁻ y con base en los trabajos previos donde se reporta cómo este fragmento se ha utilizado en el desarrollo de nuevos catalizadores heterogéneos ácidos [45], se evaluó la actividad catalítica de nanopartículas de hierro funcionalizadas con ácido sulfónico en la reacción entre la β -carbolina **176a** y el 4-anisaldehído ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{-SO}_3\text{H}$); aunque no resultó ser un

catalizador eficiente al ser probado en distintos solventes (Exp. 1-4, Tabla 27). Por otro lado, con base en la experiencia de nuestro laboratorio en la preparación de catalizadores heterogéneos sulfonados de celulosa (Cell-SO₃H) [46], se empleó este catalizador con la fortuna de que se promovió la formación del producto deseado, aunque con un rendimiento del 7 % (Exp. 5, Tabla 27). Desafortunadamente, al efectuar la reacción a temperatura ambiente la reacción no transcurrió como se esperaba (Exp. 6, Tabla 27). Por último, la evaluación de silica sulfonada (SiO₂-SO₃H) tampoco generó los resultados esperados y no se evidenció la formación del derivado **178** (Exp. 6, Tabla 27).

Tabla 27. Evaluación de las condiciones óptimas de reacción para la olefinación del harman **176a**. Síntesis de la 1-estiril- β -carbolina **178** empleando catalizadores heterogéneos sulfonados^a

Reaction scheme: 1-methyl- β -carboline (**176a**) + 4-methoxybenzaldehyde $\xrightarrow[\text{Solvente, T (}^{\circ}\text{C)}]{\text{Catalizador}}$ 1-estiril- β -carboline (**178**)

Exp.	Catalizador (10 mg)	Disolvente (mL)	Temperatura (°C)	Rendimiento (%)
1	γ -Fe ₂ O ₃ -SO ₃ H	---	100	N.R. ^b
2	γ -Fe ₂ O ₃ -SO ₃ H	CH ₃ CN (3)	100	N.R. ^b
3	γ -Fe ₂ O ₃ -SO ₃ H	PEG-400 (1)	100	N.R. ^b
4	γ -Fe ₂ O ₃ -SO ₃ H	Bmim[PF ₆] (1)	100	N.R. ^b
5	Cell-SO ₃ H	CH ₃ CN (3)	100	7 ^c
6	Cell-SO ₃ H	CH ₃ CN (3)	25	N.R. ^b
7	SiO ₂ -SO ₃ H	CH ₃ CN (3)	100	N.R. ^b

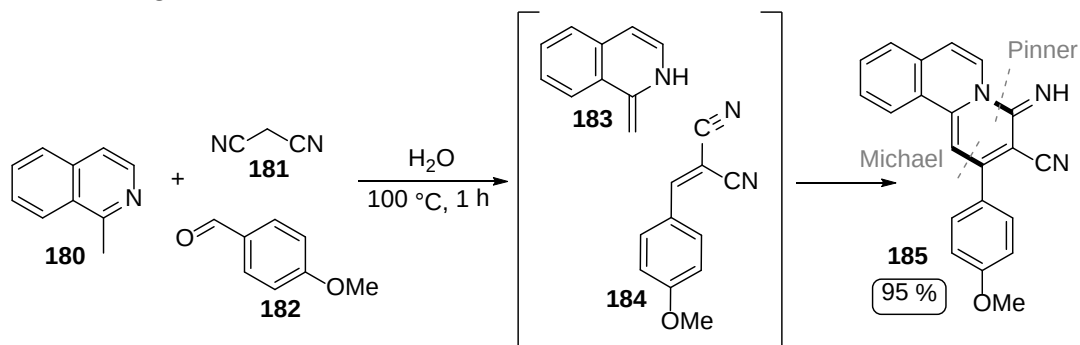
^a Condiciones de reacción: 1-metil- β -carbolina **176a** (0.5 mmol), catalizador, solvente y temperatura por 24 horas. ^b N.R.: No hubo reacción. ^c Rendimiento de la reacción determinado por ¹H RMN empleando como estándar interno 1,3,5-trimetoxibenceno.

Con los resultados consensados en las Tablas 23-27 se da por finalizado este estudio. Si bien el producto deseado sólo pudo ser aislado con un 8 % de rendimiento, los experimentos realizados permitirán poder establecer en un futuro

un protocolo eficiente para la preparación de 1-estiril- β -carbolinas. Es posible que la etapa determinante durante el transcurso de la reacción entre la β -carbolina **176a** y el 4-anisaldehído sea la formación de la especie enamida (Tabla 22), por lo que además de su formación se debe asegurar su estabilidad para que pueda atacar selectivamente a los derivados del benzaldehído y así dar lugar a los productos de interés.

Mas allá de preparar las 1-metil- β -carbolinas para examinar sus propiedades biológicas, el principal objetivo e interés por acceder a estos derivados era el de explorar la reactividad de las β -carbolinas en la preparación de nuevos sistemas *N*-heterocíclicos. Aunque el acoplamiento oxidativo de enlaces C_{sp^3} -H como estrategia sintética no resultó tan eficiente como se esperaba, el reto de investigar otras reacciones que permitieran la transformación de las 1-metil- β -carbolinas aún era bastante atractivo, por lo que esta investigación se extendió a examinar la reactividad de las carbolinas en un proceso tándem que involucrará las reacciones Knoevenagel/Michael/Pinner. Al igual que para el acoplamiento oxidativo de enlaces C_{sp^3} -H, este tipo de proceso también ha sido reportado con éxito para metilaza-arenos como las 1-metil-isoquinolinas **180**, resultando en la preparación de pirido[2,1-*a*]isoquinolinas **185** (Esquema 54) [47].

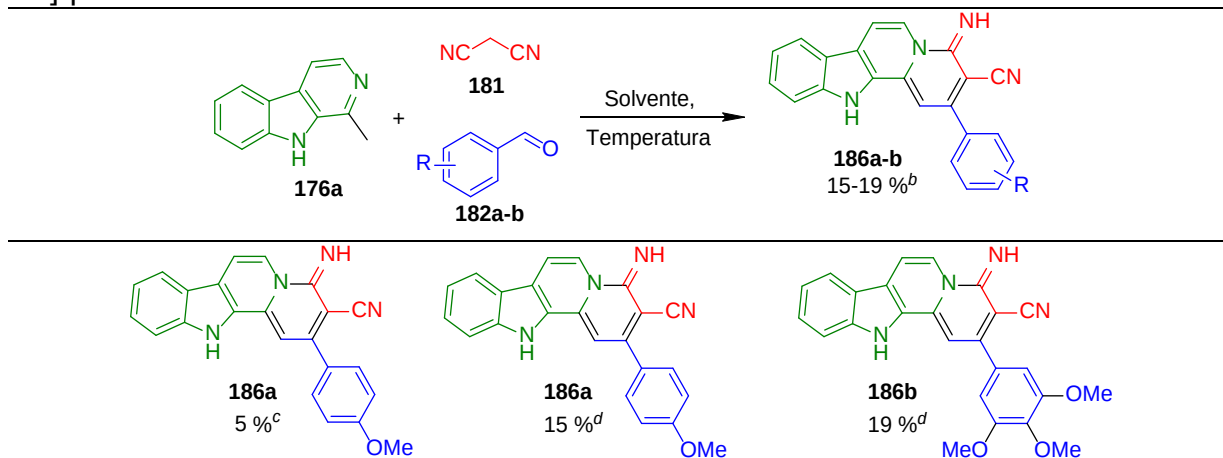
Esquema 54. Síntesis de la pirido[2,1-*a*]isoquinolina **185** vía reacción tándem Knoevenagel/Michael/Pinner.



Este proceso tándem se inicia con la reacción Knoevenagel entre el malononitrilo **181** y el 4-metoxibenzaldehído **182** para generar el respectivo intermediario **184**, el cual sufre una adición de Michael por parte de la enamida **183**. Finalmente, ocurre el ataque nucleofílico por parte del grupo NH al carbono del nitrilo CN (reacción de Pinner), esta ciclación intramolecular origina la función amidina y deriva en la formación de la correspondiente pirido[2,1-*a*]isoquinolina **185** (Esquema 53).

Comprendiendo el trabajo realizado por Kumar y colaboradores para acceder a las pirido[2,1-*a*]isoquinolinas **185** [47], y previendo que las 1-metil- β -carbolinas podrían resultar reactivas bajo las condiciones de este protocolo, se procedió a estudiar esta reacción empleando como sustratos modelo el haman **176a**, el malononitrilo **181** y los benzaldehídos **182a-b** con el fin de acceder a las respectivas dihidroindolo[2,3-*a*]quinolizidinas **186a-b** (Tabla 28).

Tabla 28. Evaluación de las condiciones óptimas para la reacción tándem: Knoevenagel/Michael/Pinner en la preparación de dihidroindolo[2,3-a]quinolizidinas **186**.^a



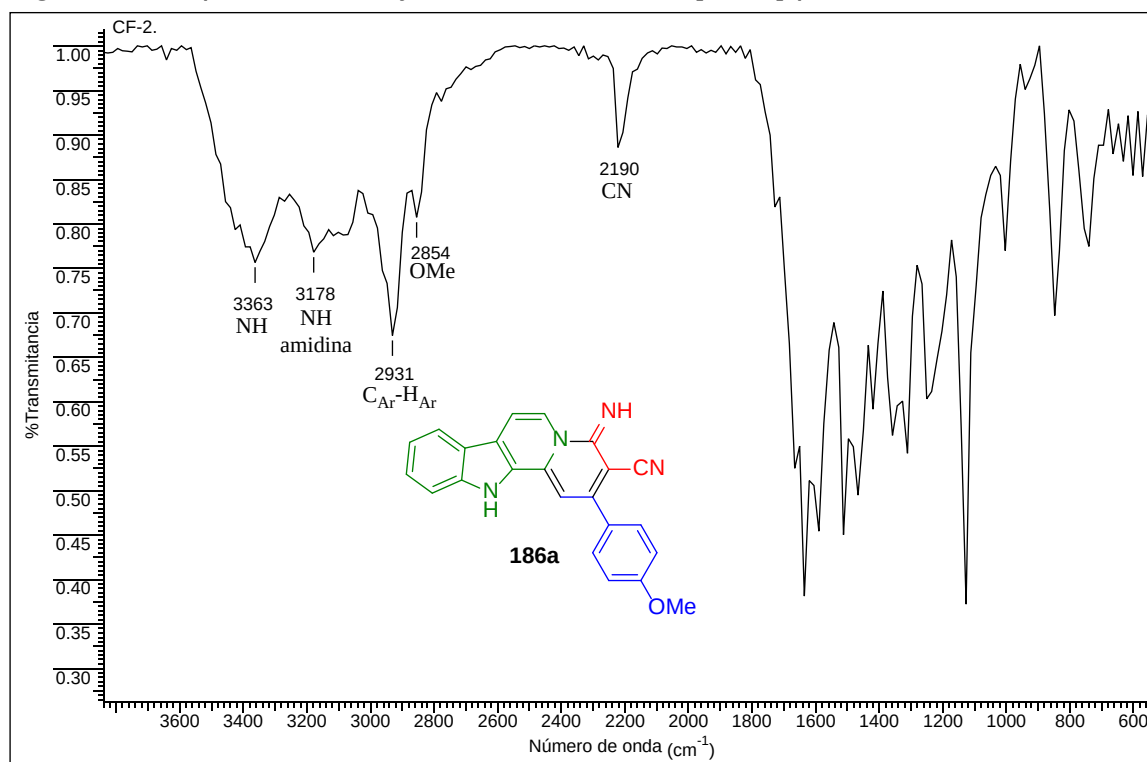
^a Condiciones de reacción: 1-metil- β -carbolina **176a** (0.2 mmol), malononitrilo **181** (0.2 mmol), benzaldehído **182a-b** (0.2 mmol), 100 °C, 24 horas. ^b Rendimiento de la reacción después de purificado el producto **186a-b** mediante recristalización. ^c Reacción efectuada en agua como disolvente (1 mL). ^d Reacción efectuada en una mezcla (1/1) H₂O/CP como solvente (1 mL).

Al efectuar la reacción entre el harman **176a**, el malononitrilo **181** y el 4-metoxibenzaldehído **182a** bajo las mismas condiciones reportadas por Kumar y colaboradores, se logró aislar la respectiva dihidroindolo[2,3-a]quinolizidina **186a** como un sólido naranja con un rendimiento del 5 %. Durante el transcurso y tratamiento de esta reacción se observó que los sustratos resultaron insolubles en el medio de reacción y probablemente esto afectó de manera negativa la formación del producto de interés. En un segundo experimento, se decidió adicionar un cosolvente para facilitar la solubilidad de los sustratos, el disolvente orgánico elegido fue el carbonato de propenilo (CP), co-disolvente previamente establecido en nuestro laboratorio para promover reacciones en medio acuoso [48].

Para nuestra fortuna, bajo estas condiciones de reacción: H₂O/CP en relación 1/1, 100 °C y 24 horas, el producto **186a** fue aislado con un 15 % de rendimiento, mientras que la reacción entre el harman **176a**, el malononitrilo **181** y el 3,4,5-trimetoxibenzaldehído **182b** generó la respectiva dihidroindolo[2,3-a]quinolizidina **186b** con un 19 % de rendimiento (Tabla 28).

Los productos **186a-b** fueron obtenidos como solidos estables de color naranja, **186a** p.f. 167-168 °C, **186b** p.f. 194-196 °C, y fueron caracterizados mediante espectroscopía IR y de resonancia magnética nuclear. Para el caso particular del derivado **186a** se analiza el espectro IR en el que se identifican las bandas de los principales grupos funcionales (Figura 72).

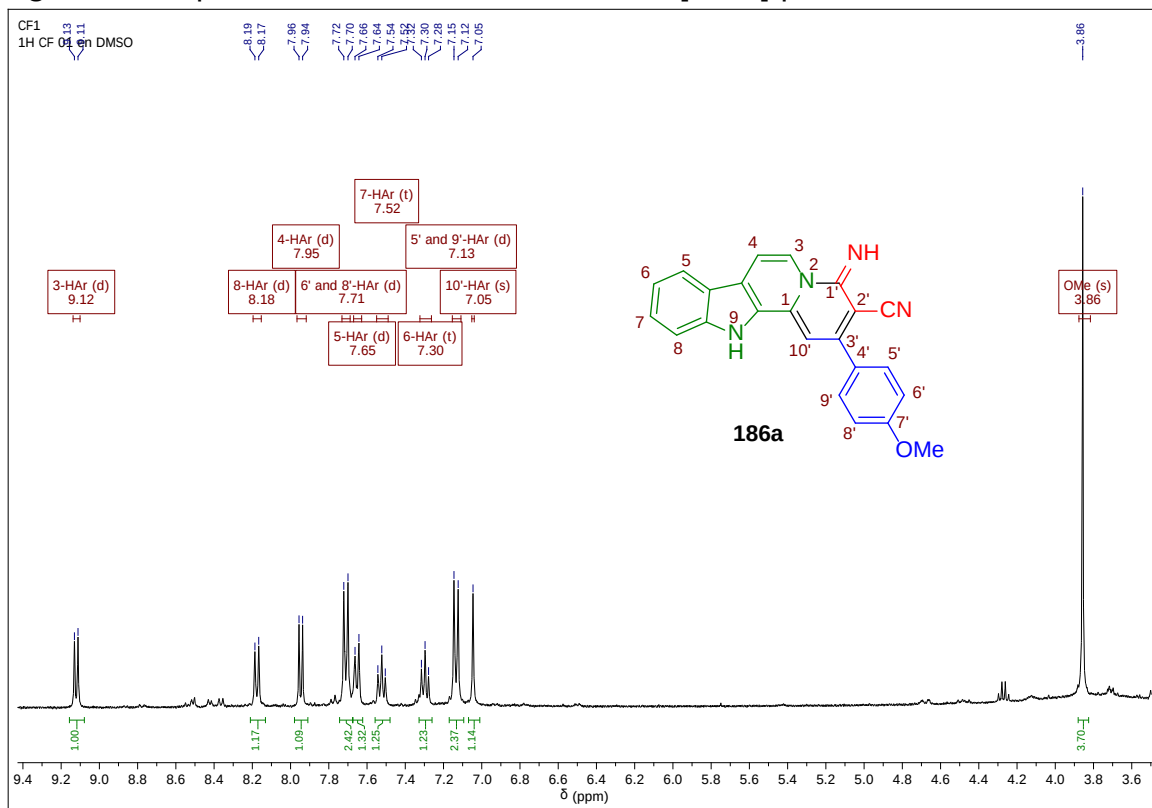
Figura 72. Espectro infrarrojo de la dihidroindolo[2,3-a]quinolizidina **186a**.



La banda del grupo NH presente en el núcleo de la carbolina a 3363 cm^{-1} , mientras que el NH del fragmento de la amidina se ubica a 3176 cm^{-1} . También se identifican las señales de correspondientes a la vibración de los enlaces C-H aromáticos en 2931 cm^{-1} de intensidad moderada pues la molécula es totalmente plana donde priman los carbonos con hibridación sp^2 . Finalmente, se reconoce la banda del grupo metoxi a 2854 cm^{-1} y del grupo CN a 2190 cm^{-1} las cuales corroboran y confirmando el éxito de la reacción (Figura 71).

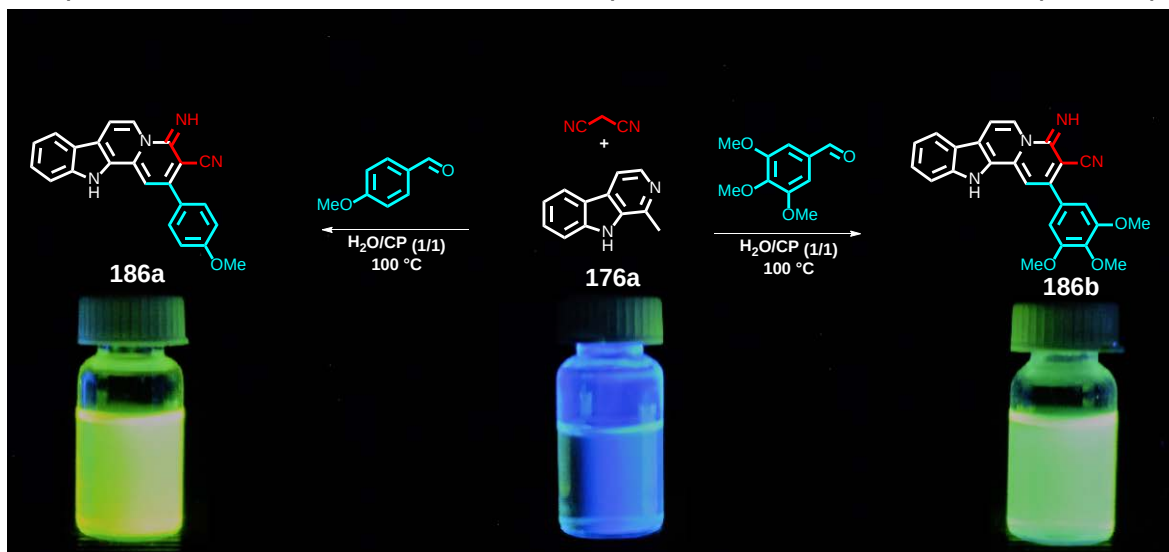
Por su parte, con el análisis del espectro ^1H RMN se completó la elucidación estructural del compuesto **186a**, donde se identificaron las señales del grupo metoxilo a 3.86 ppm y la señal del protón $10'\text{-H}_{\text{Ar}}$ a 7.05 ppm como las principales evidencias de este proceso. Aunque no se pudieron ubicar las señales de los protones NH presentes en el fragmento de la carbolina y de la amidina, debido al intercambio N-H/D, si se encuentran las señales de los protones aromáticos provenientes del 4-metoxibenzaldehído y las correspondientes al núcleo de la β -carbolína (Figura 73).

Figura 73. Espectro ^1H RMN de la dihidroindolo[2,3-a]quinolizidina **186a**.



Un aspecto interesante sobre los compuestos obtenidos fueron las propiedades fluorescentes que exhibieron bajo las condiciones normales del laboratorio, y más aún cuando fueron expuestos a la luz ultravioleta (254 nm), donde se acrecentaron y permitieron observar el cambio en el color de la luz emitida con respecto al harman **176a** y a los sustituyentes presentes en los derivados del benzaldehído (Figura 74).

Figura 74. Fluorescencia de los compuestos **186a-b**, en solución etanólica, en comparación con el harman **176a** al ser expuestos a una luz ultravioleta (254 nm).



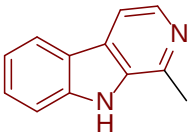
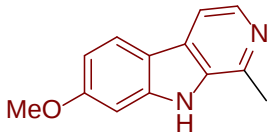
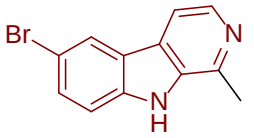
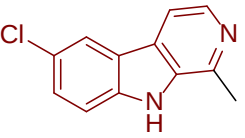
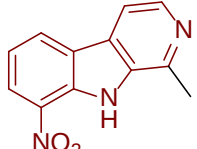
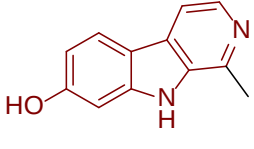
3.5.3 Aplicación del ensayo ZFET para la determinación de la concentración letal media (LC_{50}) en embriones de pez cebra para los alcaloides β -carbolinas. La determinación de la toxicidad para las 1-metil- β -carbolinas **176a-e** se llevó a cabo mediante la misma metodología descrita para la determinación de la LC_{50} de los controles positivos seleccionados (Tabla 29). Se encontró que dos de los compuestos reconocidos por tener propiedades antitumorales, la harmina **176b** ($\text{LC}_{50} = 3.98 \pm 0.30 \mu\text{M}$) con un grupo metoxi, y el harmol **176f** ($\text{LC}_{50} = 153.31 \pm 5.73 \mu\text{M}$) con el grupo $-\text{OH}$ libre, justamente resultaron ser los compuestos más y menos tóxicos de la serie **176a-f**, respectivamente [49,50].

Debido a su importancia y relevancia, fue posible correlacionar los datos toxicológicos en peces y mamíferos para estos derivados, ya que a la fecha se ha reportado que la harmina **176b** presenta una LD_{50} en ratones de 200 mg/Kg (subcutánea), mientras que el harmol **176f** exhibe un valor $\text{LD}_{50} = 243 \text{ mg/Kg}$

(subcutánea), corroborando el efecto de las β -carbolinas *O*-sustituidas en la toxicidad de estos derivados cuando este grupo se encuentra libre (-OH, harmol **176f**) o sustituido con un metilo (-OMe, harmina **176b**) [51].

Por su parte, las β -carbolinas sustituidas con grupos atractores de electrones, **16c-e** (LC_{50} = 16.76-21.10 μ M), exhibieron una toxicidad moderada siendo las 6-bromo- y 8-nitro- β -carbolinas más tóxicas que la 6-cloro- β -carbolina. Claramente, la toxicidad de las β -carbolinas está relacionada con la naturaleza electrónica de los sustituyentes presentes en este núcleo, siendo que el harman **176a** (LC_{50} = 36.64 ± 1.90 μ M) que no se encontraba sustituido, el derivado que exhibió una mediana toxicidad que fue incrementando a medida de los sustituyentes pasaron de electroatractores (Br, Cl, NO₂) a electrodonadores (OH) (Tabla 29).

Tabla 29. Determinación de la toxicidad (LC_{50}) de las β -carbolinas **176a-f** en embriones de pez cebra empleando el ensayo ZFET.^a

			
176a $LC_{50} = 36.64 \pm 1.90$	176b $LC_{50} = 3.98 \pm 0.30$	176c $LC_{50} = 16.76 \pm 1.55$	176d $LC_{50} = 21.10 \pm 1.25$
			
	176e $LC_{50} = 16.99 \pm 0.82$	176f $LC_{50} = 153.31 \pm 5.73$	

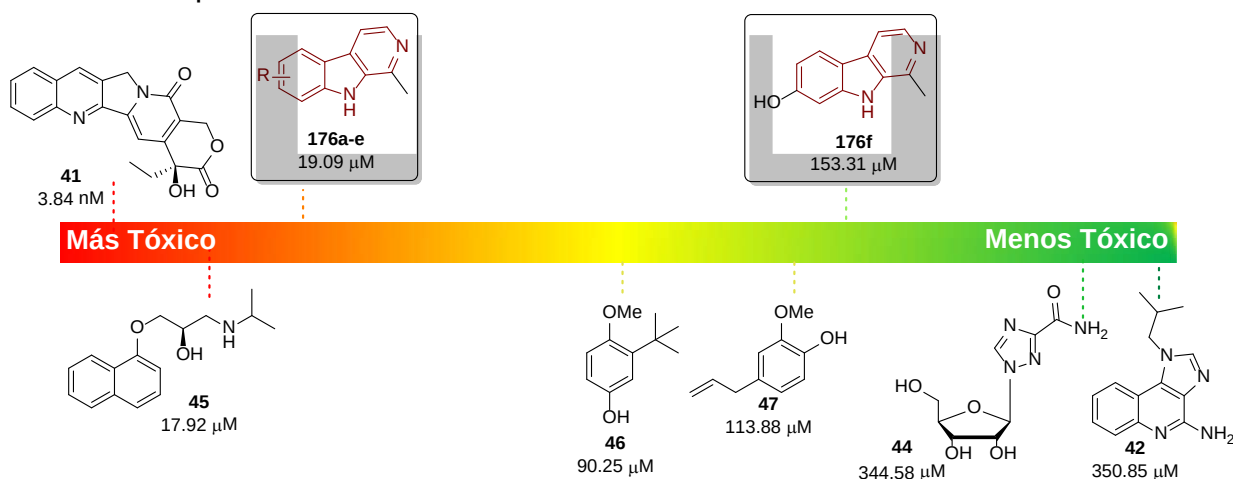
^a LC_{50} Determinada a partir de la metodología general, empleando 72 embriones por muestra para tres replicas independientes. LC_{50} expresada en μ M $\pm$ SEM.

Sin embargo, cabe resaltar que, para este tipo de estructuras, los grupos donadores de electrones y donadores de enlaces por puentes de hidrógeno, como

el grupo -OH en el harmol **176f**, generan derivados menos tóxicos. En concordancia con el diseño y desarrollo de nuevos compuestos antitumorales con base en el núcleo de la β -carbolina, que establece así que los grupos donadores de enlaces por puentes de hidrógeno se deben evitar y por el contrario se prefiere que los átomos de oxígeno o nitrógeno presentes como sustituyentes, estén enlazados a cadenas de más de tres carbonos [11a].

Resumiendo, y promediando la toxicidad determinada para las β -carbolinas, se grafican los valores de LC₅₀ para estas sustancias, excluyendo de este grupo al harmol **176f**, ya que debido a su baja toxicidad incrementaría el valor promedio de las demás β -carbolinas **176a-e**, el cual resulta ser 19.09 μ M, clasificándolas como tóxicas (Figura 75).

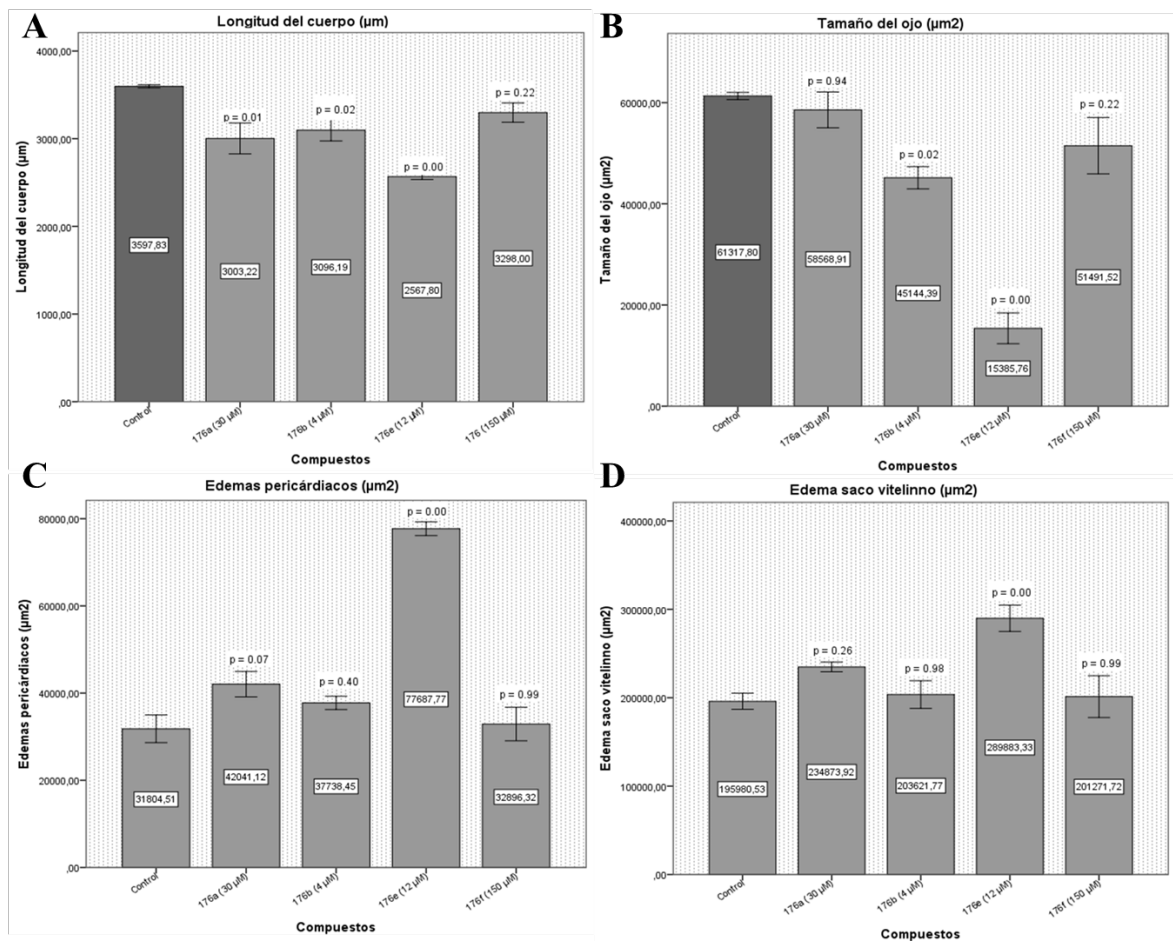
Figura 75. Valores de LC₅₀ promedio para las β -carbolinas y su comparación con los controles positivos seleccionados.



3.5.4 Análisis de los cambios fenotípicos en embriones de pez cebra para las β -carbolinas. El análisis de los cambios fenotípicos inducidos por la serie de β -

carbolinas permitió identificar el derivado 8-nitro- β -carbolina **176e** como el compuesto que más afectó significativamente el desarrollo de los embriones tratados químicamente. Los efectos causados en los embriones expuestos a esta molécula son los trastornos más severos observados durante esta investigación, incluso en comparación con los fenotipos manifestados por los controles positivos, los alcaloides zantoxylamida y *Dysoxylum*. Este compuesto demostró una considerable reducción en el tamaño del embrión y en el área del ojo, al igual que un mayor edema en la región pericárdica y en la región del saco vitelino. Por su parte, el harmol **176f**, en concordancia con su baja toxicidad, presentó parámetros muy similares a los expuestos por los embriones control, concluyendo que en términos generales la actividad biológica, en especial la actividad anticancerígena que se reporta para este compuesto valdría la pena ser explorada en humanos, siguiendo el principio del modelo del pez cebra en el descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos. Por su parte, la harmina **176b**, derivado más tóxico de la serie **176a-f**, y el harman **176a**, compuesto 10 veces menos tóxico que **176b**, mostraron malformaciones moderadas en las regiones examinadas lo que permite correlacionar estos cambios fenotípicos, que también resultan de efectos pleiotrópicos, con las propiedades anticancerígenas ya reportadas (Figura 76).

Figura 76. A) Tamaño de los embriones. B) Tamaño del ojo. C) Edemas pericárdicos. D) Edemas en el saco vitelino analizados por el software DanioScope™ y manifestados en los embriones (96 hpf) expuestos a las cinamamidas **33n**, **33o**, **33p** y **33q** (N = 3).

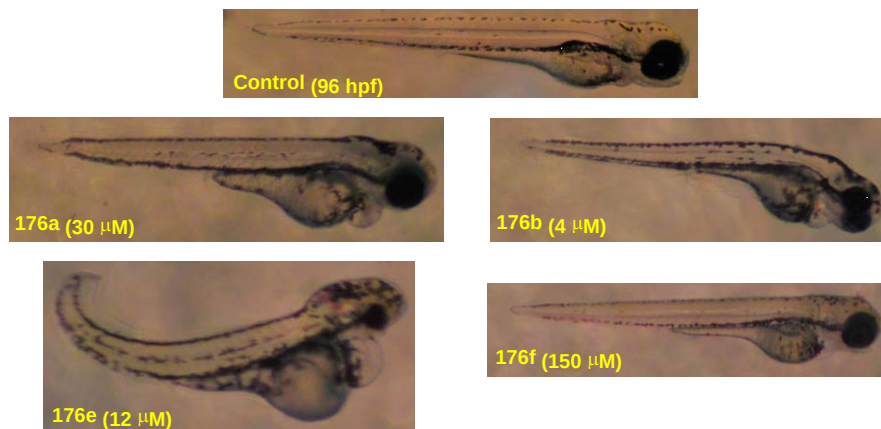


Resultados analizados mediante el test ANOVA (una vía) y mediante el test de Dunnett (2 colas) comparando cada compuesto con el grupo control y considerando una diferencia significativa a un valor $p < 0.05$.

Examinado en detalle el registro fotográfico recolectado para las β -carbolidinas **176a-b** y **176e-f**, se puede observar el daño que causa el compuesto **176e**, donde además de los parámetros discutidos causa anomalías en el desarrollo de la cabeza y curvatura en la espina dorsal (Figura 77). Otro fenotipo que vale la pena resaltar es la curvatura ventral que causa la harmina **176b** en el torso del cuerpo, curvatura que está relacionada con la inhibición del desarrollo embrionario durante

las etapas tempranas. Finalmente, es importante mencionar que durante la recolección del registro fotográfico de los embriones expuestos a los compuestos **176a** y **176b**, estos especímenes presentaron movimientos erráticos, similares a espasmos o convulsiones, lo cual está ligado a la reconocida inhibición de la enzima monoamino oxidasa A por parte de estos agentes, que a su vez está asociada a trastornos mentales y de comportamiento que incluyen enfermedad de Alzheimer, ansiedad, depresión, déficit de atención e hiperactividad (Figura 77) [52].

Figura 77. Registro fotográfico de los cambios fenotípicos inducidos por las β -carbolinas **176a-b** y **176e-f** en embriones de pez cebra a las 96 hpf.



3.6 CONCLUSIONES

En conclusión, se logró implementar con éxito una metodología para el fácil acceso a los alcaloides 1-metil- β -carbolinas, harman y harmina, a partir de relativos comerciales y de fácil acceso. La obtención de estos productos a escala de laboratorio permitió su estudio biológico y sintético ya que su aislamiento a partir de fuentes naturales limitaría las aplicaciones en las cuales se podrían ensayar estos derivados. Debido a su reactividad estos compuestos también

fueron transformados químicamente, donde la inserción de halógenos como cloro y bromo, permitirá a futuro realizar con esos sustratos reacciones de acoplamiento carbono-carbono, mientras que su *O*-desprotección contribuirá al desarrollo de compuestos más activos de acuerdo a los estudios SAR.

Aunque los esfuerzos por establecer un protocolo para la preparación de análogos al compuesto JKA97 no resultó como se esperaba, tan sólo se logró aislar el producto de interés con un 8 % de rendimiento, los experimentos realizados podrán ser tenidos en cuenta en próximas investigaciones donde se quiera extender esta idea, que de mejorar su eficiencia de seguro conducirá a la formación de compuestos altamente activos para el desarrollo de fármacos que puedan ser empleados en terapias para el tratamiento del cáncer.

La evaluación de las 1-metil- β -carbolinas en el modelo del pez cebra permitió establecer su toxicidad, que al ser comparada con sus propiedades biológicas ya reportadas y con los controles positivos seleccionados, indicó la relación que existe entre su actividad citotóxica con los valores bajos de LC₅₀. Así mismo, la 8-nitro-1-metil- β -carbolína **176e** se identificó como el derivado que más cambios fenotípicos indujo sobre el desarrollo de los embriones, por lo que es un compuesto que motivará continuar su estudio ya que es evidente que está alterando más de una diana biológica: enzima, proteína, ADN.

Por último, el objetivo de explorar nuevas reacciones en las cuales 1-metil- β -carbolinas pudieran ser empleadas como sustratos de partida para la generación de nuevos sistemas *N*-heterociclos se cumplió con la generación y caracterización

de las respectivas dihidroindolo[2,3-a]quinolizidinas **186a-b** a través del proceso tándem Knoevenagel/Michael/Pinner. Estos resultados abren la posibilidad de extender esta línea de investigación en nuestro laboratorio, cuyo éxito está asegurado a partir de los resultados obtenidos en este trabajo. Adicionalmente, las propiedades fluorescentes que exhibieron estos compuestos los ubican como posibles candidatos para explorar aplicaciones en la ciencia de los materiales en la fabricación de dispositivos de Diodos Orgánicos Dopados con Moléculas Fosforescentes de Emisión de Luz (PHOLEDs) o como biomarcadores en estudios biológicos *in vivo* justamente aprovechando la transparencia del modelo del pez cebra.

3.7 PARTE EXPERIMENTAL

Materiales y reactivos

Los reactivos y catalizadores fueron obtenidos a través de compañías como Aldrich, Merck y Alfa Aesar; éstos fueron usados directamente sin purificación previa. Los disolventes usados en las reacciones y durante la purificación de los productos fueron destilados y secados previamente a su uso.

El progreso de las reacciones fue monitoreado mediante cromatografía de capa fina (CCF) sobre cromatoplasmas de Alufol y Silifol UV de 0.25 mm de grosor. La purificación de los compuestos obtenidos se llevó a cabo a través de cromatografía en columna (CC) utilizando gel de sílice 70 Å, 40-75 µm como fase estacionaria y mezclas éter de petróleo/acetato de etilo y diclorometano/metanol como fase móvil, dependiendo de la naturaleza del compuesto.

Equipos

La separación y purificación de los compuestos sintetizados se llevó a cabo por cromatografía flash asistida por el equipo Isolera One™ de Biotage® empleando como eluyentes mezclas isocráticas o por gradiente de éter de petróleo y acetato de etilo.

La elucidación estructural de los compuestos sintetizados se realizó mediante métodos instrumentales. Los espectros de infrarrojo (IR) se obtuvieron en un espectrómetro LUMEX INFRALUM FT-02 sobre discos de KBr o películas líquidas. Los espectros de resonancia magnética nuclear (^1H , ^{13}C , DEPT-135, COSY, HSQC y HMBC) se registraron en un espectrómetro BRUKER Avance-400, empleando como disolvente cloroformo (CDCl_3) y dimetilsulfóxido (DMSO-d_6) deuterados, según corresponda. Los espectros de masas se adquirieron en un cromatógrafo de gases HP 5890A serie II, acoplado a un detector selectivo de masas HP 5972, impacto de electrones (IE) (70 eV). Los puntos de fusión se determinaron en un fusiómetro FISHER-JHONES.

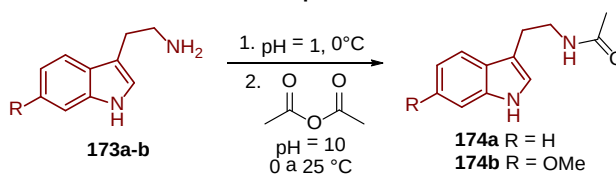
3.7.1 Acetilación de derivados de triptamina. Preparación de N-acetil triptaminas 174a-b

Metodología general [34]

En un reactor de 50 mL equipado con una barra de agitación se adicionó la respectiva triptamina **173a-b** (6.24 mmol) y agua destilada (30 mL). A continuación, se añadió una solución de HCl 6 N (5 mL) y la mezcla se enfrió a 0 °C en un baño de hielo. Tras adicionar anhídrido acético (9.36 mmol), se añadió

bicarbonato de sodio (NaHCO_3) en pequeñas porciones hasta alcanzar un pH de 7, asegurando la precipitación completa de la correspondiente *N*-acetil triptamina **174a-b**, la cual fue filtrada, lavada con agua destilada y secada a 40 °C por 24 horas (Esquema 55).

Esquema 55. Preparación de *N*-acetil triptaminas **174a-b**.



***N*-Acetil-triptamina (174a)**

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de triptamina **173a** (1 g, 6.24 mmol), anhídrido acético (0.88 mL, 9.36 mmol) y agua destilada (30 mL). Después filtrar, lavar y secar el sólido obtenido se obtuvieron 1.19 g (5.92 mmol) de la correspondiente *N*-acetil-triptamina **174a** como un sólido marrón con rendimiento del 95 %; $R_f = 0.63$ (5:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 68-70 °C; IR (disco de KBr): 3394 $\nu(\text{NH})$, 3295 $\nu(\text{NH})$, 3085 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$, 2931 $\nu(\text{CH=CH})$, 1635 $\nu(\text{C=O})$, 1558 $\nu(\text{C-N})$, 1373 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta(\text{ppm})$: 8.46 (1H, br. s., *NH*-Indol), 7.59 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, 4- H_{Ar}), 7.37 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, 7- H_{Ar}), 7.20 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, 5- H_{Ar}), 7.12 (1H, t, $J = 7.4$ Hz, 6- H_{Ar}), 7.01 (1H, s, 2- H_{Ar}), 5.69 (1H, br. s., *NH*-Amida), 3.59 (2H, q, $J = 6.5$ Hz, $-\text{CH}_2\text{NH}$), 2.97 (2H, t, $J = 6.7$ Hz, $-\text{CH}_2\text{Indol}$), 1.91 (3H, s, CH_3). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta(\text{ppm})$: 170.4, 136.5, 127.4, 122.2 (+), 122.2 (+), 119.5 (+), 118.7 (+), 112.8, 111.4 (+), 39.9 (-), 25.3 (-), 23.4 (+). Fórmula molecular: $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}$ (P.M.: 202.26 g/mol).

N-Acetil-6-metoxitriptamina (**174b**)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de 6-metoxitriptamina **173b** (1.18 g, 6.24 mmol), anhídrido acético (0.88 mL, 9.36 mmol) y agua destilada (30 mL). Después filtrar, lavar y secar el sólido obtenido se obtuvieron 1.30 g (5.61 mmol) de la correspondiente *N*-acetil-6-metoxitriptamina **174b** como un sólido amarillo con rendimiento del 90 %; R_f = 0.56 (5:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 105-107 °C; IR (disco de KBr): 3301 $\nu_{\text{(NH)}}$, 3294 $\nu_{\text{(NH)}}$, 3085 $\nu_{\text{(CH}_2\text{-Ar)}}$, 2931 $\nu_{\text{(CH=CH)}}$, 1619 $\nu_{\text{(C=O)}}$, 1558 $\nu_{\text{(C-N)}}$, 1218 $\nu_{\text{(CH}_2\text{-Ar)}}$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 8.30 (1H, br. s., *NH*-Indol), 7.25 (1H, d, J = 8.8 Hz, 4- H_{Ar}), 7.03 (1H, d, J = 2.4 Hz, 2- H_{Ar}), 6.99 (1H, d, J = 2.4 Hz, 7- H_{Ar}), 6.86 (1H, dd, J = 8.8, 2.4 Hz, 5- H_{Ar}), 5.68 (1H, br. s., *NH*-Amida), 3.58 (3H, s, OCH_3), 3.58 (2H, q, J = 6.7 Hz, $-\text{CH}_2\text{NH}$), 2.93 (2H, t, J = 6.8 Hz, $-\text{CH}_2\text{Indol}$), 1.92 (3H, s, CH_3). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 170.3, 154.1, 131.7, 127.8, 122.9 (+), 112.6, 112.4 (+), 112.1 (+), 100.5 (+), 56.06 (+), 39.8 (-), 25.3 (-), 23.4 (+). Fórmula molecular: $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$ (P.M.: 232.28 g/mol).

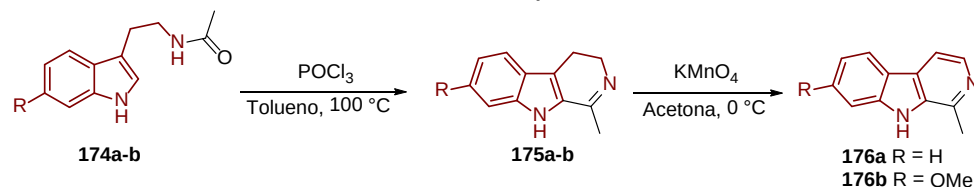
3.7.2 Ciclación de las *N*-acetil triptaminas **174a-b** y su posterior oxidación. Síntesis de alcaloides 1-metil- β -carbolinas **176a-b**

Metodología general

En un reactor de 20 mL equipado con una barra de agitación se adicionó la respectiva *N*-acetil triptamina **174a-b** (5 mmol) y tolueno anhidro (8 mL) y la solución se calentó a 100 °C. Una vez disuelta la amida se añadió el cloruro de fosforilo (POCl_3) (7.5 mmol, 1.5 equiv) gota a gota y el sistema fue aislado por un

periodo de 24 horas, monitoreando la reacción a través de cromatografía en capa fina (CCF). Tras enfriar el sistema a temperatura ambiente, la reacción fue neutralizada con 30 mL de una solución de NaHCO_3 1 M hasta alcanzar un pH igual a 9. La fase orgánica fue extraída con acetato de etilo (3 x 10 mL), separada y secada sobre sulfato de sodio anhidro. Tras la eliminación del solvente a presión reducida se obtuvo la respectiva 3,4-dihidro- β -carbolina **175a-b**, la cual se empleó en la segunda etapa sin purificación previa. En un reactor de 100 mL equipado con una barra de agitación se adicionó la respectiva 3,4-dihidro- β -carbolina **176a-b** (4 mmol) y acetona (30 mL) a 0 °C en un baño de hielo. A continuación, se adicionó permanganato de potasio (KMnO_4) (16 mmol, 4 equiv) en pequeñas porciones y el sistema se agitó por 6 horas a 0 °C. Un monitoreo por cromatografía en capa fina (CCF) indicó el final de la reacción, momento en el que la solución fue filtrada a través de una pre-columna de celita, lavada con acetona y concentrada a presión reducida. La purificación de las correspondientes 1-metil- β -carbolinas **176a-b** se realizó mediante cromatografía en columna empleando un cartucho de gel de sílice (25 g) utilizando una mezcla de 70 % acetato de etilo/éter de petróleo con un flujo de 10 ml/min (Esquema 56).

Esquema 56. Síntesis de alcaloides 1-metil- β -carbolinas **176a-b**.



1-Metil-β-carbolina (176a)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-acetil-triptamina **174a** (1 g, 5 mmol), POCl₃ (700 μL g, 7.5 mmol) y tolueno anhidro (8 mL). Tras la extracción líquido-líquido se obtuvo 0.80 g de la correspondiente 3,4-dihidro-β-carbolina **175a**; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ_(ppm): 7.38 (1H, d, *J* = 7.7 Hz, 8-*H*_{Ar}), 7.34 (1H, t, *J* = 7.5 Hz, 7-*H*_{Ar}), 7.22 (1H, d, *J* = 7.3 Hz, 6-*H*_{Ar}), 7.13 (1H, t, *J* = 7.6 Hz, 5-*H*_{Ar}), 4.38 (1H, td, *J* = 13.8, 3.0 Hz, CH_aN), 4.17-4.12 (1H, m, CH_bN), 2.65 (1H, dd, *J* = 10.6, 5.4 Hz, CH_a-Indol), 2.61-2.54 (1H, m, CH_b-Indol), 1.38 (3H, s, -CH₃). Continuando con la metodología general, la segunda etapa se realizó a partir de la 3,4-dihidro-β-carbolina **175a** (0.74 g), KMnO₄ (2.52 g, 16 mmol) y acetona (30 mL). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.45 g (2.48 mmol) de la correspondiente 1-metil-β-carbolina **176a** como un sólido amarillo con rendimiento del 62 %; R_f = 0.43 (1:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 247-249 °C (244-245 °C [14]); IR (disco de KBr): 3131 ν(NH), 3054 ν(CH₂-Ar), 2977 ν(CH=CH), 1558 ν(C=N), 1496 ν(CH₃), 1249 ν(C-C) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ_(ppm): 8.92 (1H, br. s., NH), 8.37 (1H, d, *J* = 5.4 Hz, 3-*H*_{Ar}), 8.12 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, 8-*H*_{Ar}), 7.83 (1H, d, *J* = 5.4 Hz, 4-*H*_{Ar}), 7.56-7.51 (1H, m, 6 y 7-*H*_{Ar}), 7.29 (1H, ddd, *J* = 8.09, 5.6, 2.5 Hz, 5-*H*_{Ar}), 2.84 (3H, s, -CH₃). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), δ_(ppm): 141.9, 140.3, 138.6 (+), 134.8, 128.5, 128.3 (+), 122.1, 121.9 (+), 120.2 (+), 113.0 (+), 111.7 (+), 20.3 (+). Fórmula molecular: C₁₂H₁₀N₂ (P.M.: 182.22 g/mol).

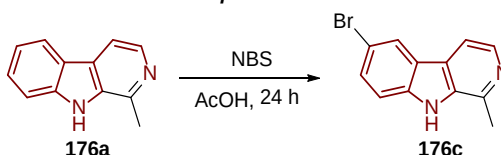
1-Metil-6-metoxi- β -carbolina (176b)

Compuesto preparado de acuerdo a la metodología general a partir de *N*-acetil-6-metoxitriptamina **174b** (1.16 g, 5 mmol), POCl₃ (700 μ L g, 7.5 mmol) y tolueno anhidro (8 mL). Tras la extracción líquido-líquido se obtuvo 0.89 g de la correspondiente 3,4-dihidro- β -carbolina **175b**; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 7.60 (1H, dd, *J* = 8.5, 3.5 Hz, 5-*H*_{Ar}), 6.92 (1H, dd, *J* = 8.5, 2.5 Hz, 6-*H*_{Ar}), 6.78 (1H, t, *J* = 2.1 Hz, 8-*H*_{Ar}), 4.58 (1H, ddt, *J* = 11.4, 8.5, 4.4 Hz, -CH_aN), 4.36-4.28 (1H, m, -CH_bN), 3.83 (3H, s, OCH₃), 2.89 (1H, dddd, *J* = 36.8, 13.1, 9.2, 5.6, -CH_aIndol), 2.27 (1H, tdd, *J* = 11.1, 8.5, 4.9 Hz, -CH_bIndol), 1.46 (3H, s, -CH₃). Continuando con la metodología general, la segunda etapa se realizó a partir de la 3,4-dihidro- β -carbolina **175b** (0.85 g), KMnO₄ (2.52 g, 16 mmol) y acetona (30 mL). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 0.41 g (1.96 mmol) de la correspondiente 1-metil-6-metoxi- β -carbolina **176b** como un sólido amarillo con rendimiento del 49 %; *R*_f = 0.23 (1:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 258-260 °C (262-264 °C [11a]); IR (disco de KBr): 3147 $\nu_{\text{(NH)}}$, 3070 $\nu_{\text{(CH}_2\text{-Ar)}}$, 2962 $\nu_{\text{(CH=CH)}}$, 1558 $\nu_{\text{(C=N)}}$, 1481 $\nu_{\text{(CH}_3\text{)}}$, 1280 $\nu_{\text{(C-C)}}$ cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 8.32 (1H, d, *J* = 5.3 Hz, 3-*H*_{Ar}), 8.09 (1H, br. s., NH), 7.97 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, 5-*H*_{Ar}), 7.71 (1H, d, *J* = 5.5 Hz, 4-*H*_{Ar}), 6.97 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, 8-*H*_{Ar}), 6.91 (1H, dd, *J* = 8.7, 2.2 Hz, 6-*H*_{Ar}), 3.92 (3H, s, -OCH₃), 2.80 (3H, s, -CH₃). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 161.1, 141.8, 141.1, 139.4 (+), 134.8, 128.9, 122.8 (+), 116.3, 112.3 (+), 109.9 (+), 95.2 (+), 55.8 (+), 20.2 (+). Fórmula molecular: C₁₃H₁₂N₂O (P.M.: 212.25 g/mol).

3.7.3 Derivatización de alcaloides 1-metil- β -carbolinas **176a-b**. Reacciones de bromación, cloración, nitración y O-desmetilación

Bromación:

Esquema 57. Bromación de la 1-metil- β -carbolina **176a**.



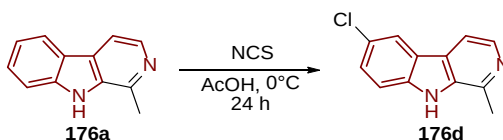
6-Bromo-1-metil- β -carbolina (**176c**)

En un reactor de 20 mL equipado con una barra de agitación se adicionó la respectiva 1-metil- β -carbolina **176a** (0.7 mmol) y ácido acético glacial (6 mL). Una vez disuelta la β -carbolina, se añadió *N*-bromosuccinimida (NBS) (0.7 mmol, 1 equiv) y el sistema fue aislado por un periodo de 24 horas a temperatura ambiente. Un monitoreo a través de cromatografía en capa fina (CCF) indicó el final de la reacción y la mezcla se adicionó gota a gota sobre una solución de NaHCO₃ 5 M (20 mL) hasta alcanzar un pH igual a 10. La fase orgánica fue extraída con acetato de etilo (3 x 10 mL), separada y secada sobre sulfato de sodio anhidro y la purificación de la correspondiente 6-bromo-1-metil- β -carbolina **176c** se realizó mediante cromatografía en columna empleando un cartucho de gel de sílice (25 g) y utilizando una mezcla de 60 % acetato de etilo/éter de petróleo con un flujo de 10 ml/min (Esquema 57). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 150 mg (0.57 mmol) de la correspondiente 6-bromo-1-metil- β -carbolina **176c** como un sólido marrón con rendimiento del 82 %; R_f = 0.55 (1:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 245-247 °C (256-257 °C [14]); IR (disco

de KBr): 3147 $\nu(\text{NH})$, 3070 $\nu(\text{CH}_2\text{-Ar})$, 2962 $\nu(\text{CH=CH})$, 1558 $\nu(\text{C=N})$, 1496 $\nu(\text{CH}_3)$, 802 $\nu(\text{C-Br})$ cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), $\delta(\text{ppm})$: 9.02 (1H, br. s., NH), 8.34 (1H, d, $J = 5.5$ Hz, 3- H_{Ar}), 8.21 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, 5- H_{Ar}), 7.74 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, 4- H_{Ar}), 7.61 (1H, dd, $J = 8.7, 1.9$ Hz, 7- H_{Ar}), 7.41 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, 8- H_{Ar}), 2.83 (3H, s, $-\text{CH}_3$). ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3), $\delta(\text{ppm})$: 142.0, 139.0, 138.3 (+), 135.0, 131.3 (+), 127.6, 124.7 (+), 123.7, 113.3 (+), 113.1 (+), 113.1, 20.1 (+). Fórmula molecular: $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{BrN}_2$ (P.M.: 261.12 g/mol).

Cloración:

Esquema 58. Cloración de la 1-metil- β -carbolina **176a**.



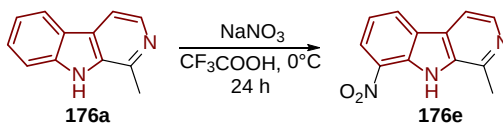
6-Cloro-1-metil- β -carbolina (176d)

En un reactor de 20 mL equipado con una barra de agitación se adicionó la respectiva 1-metil- β -carbolina **176a** (0.7 mmol) y ácido acético glacial (6 mL). Una vez disuelta la β -carbolina, se añadió *N*-clorosuccinimida (NCS) (0.7 mmol, 1 equiv) y el sistema fue aislado por un periodo de 24 horas a 0 °C bajo un baño de hielo. Un monitoreo a través de cromatografía en capa fina (CCF) indicó el final de la reacción y la mezcla se adicionó gota a gota sobre una solución de NaHCO_3 5 M (20 mL) hasta alcanzar un pH igual a 10. La fase orgánica fue extraída con acetato de etilo (3 x 10 mL), separada y secada sobre sulfato de sodio anhidro y la purificación de la correspondiente 6-cloro-1-metil- β -carbolina **176d** se realizó

mediante cromatografía en columna empleando un cartucho de gel de sílice (25 g) y utilizando una mezcla de 80 % acetato de etilo/éter de petróleo con un flujo de 10 mL/min (Esquema 58). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 104 mg (0.48 mmol) de la correspondiente 6-cloro-1-metil- β -carbolina **176d** como un sólido blanco con rendimiento del 69 %; R_f = 0.54 (1:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 211-213 °C (238-240 °C [36]); IR (disco de KBr): 3116 ν (NH), 3054 ν (CH₂-Ar), 2946 ν (CH=CH), 1558 ν (C=N), 1496 ν (CH₃), 802 ν (C-Cl) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 8.73 (1H, br. s., NH), 8.36 (1H, d, J = 5.4 Hz, 3- H_{Ar}), 8.07 (1H, d, J = 1.8 Hz, 5- H_{Ar}), 7.77 (1H, d, J = 5.5 Hz, 4- H_{Ar}), 7.49 (1H, dd, J = 8.7, 2.0 Hz, 7- H_{Ar}), 7.44 (1H, dd, J = 8.7, 0.6 Hz, 8- H_{Ar}), 2.82 (3H, s, -CH₃). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 142.0, 139.0, 138.3 (+), 135.0, 131.3 (+), 127.6, 124.7 (+), 123.7, 113.3 (+), 113.1 (+), 113.1, 20.1 (+). Fórmula molecular: C₁₂H₉ClN₂ (P.M.: 216.66 g/mol).

Nitración:

Esquema 59. Nitración de la 1-metil- β -carbolina **176a**.



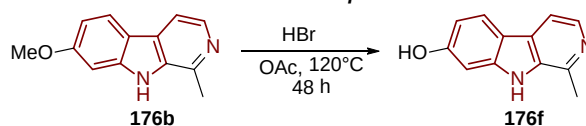
8-Nitro-1-metil- β -carbolina (**176e**)

En un reactor de 20 mL equipado con una barra de agitación se adicionó la respectiva 1-metil- β -carbolina **176a** (0.7 mmol) y nitrato de sodio (NaNO₃) (3.49 mmol). Sobre esta mezcla se agregó ácido trifluoroacético (600 μ L) gota a gota a 0

°C bajo un baño de hielo y el sistema fue agitado por 24 horas. Un monitoreo a través de cromatografía en capa fina (CCF) indicó el final de la reacción y la mezcla se adicionó gota a gota sobre una solución de NaHCO₃ 5 M (20 mL) hasta alcanzar un pH igual a 10. La fase orgánica fue extraída con acetato de etilo (3 x 10 mL), separada y secada sobre sulfato de sodio anhidro y la purificación de la correspondiente 6-nitro-1-metil- β -carbolina **176e** se realizó mediante cromatografía en columna empleando un cartucho de gel de sílice (25 g) y utilizando una mezcla de 50 % acetato de etilo/éter de petróleo con un flujo de 10 ml/min (Esquema 59). Tras la purificación por cromatografía en columna (CC) se obtuvieron 119 mg (0.52 mmol) de la correspondiente 8-nitro-1-metil- β -carbolina **176e** como un sólido amarillo con rendimiento del 75 %; R_f = 0.72 (1:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. 193-195 °C (207-210 °C [14]); IR (disco de KBr): 3394 $\nu_{\text{(NH)}}$, 3085 $\nu_{\text{(CH}_2\text{-Ar)}}$, 2915 $\nu_{\text{(CH=CH)}}$, 2900 $\nu_{\text{(-OCH}_2\text{O-)}}$, 1558 $\nu_{\text{(C=N)}}$, 1533 $\nu_{\text{(N-O)}}$, 1481 $\nu_{\text{(CH}_3)}$ cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 9.93 (1H, br. s., NH), 8.47 (1H, d, J = 5.1 Hz, 3- H_{Ar}), 8.48-8.40 (2H, m, 5 y 7- H_{Ar}), 7.83 (1H, d, J = 5.2 Hz, 4- H_{Ar}), 7.37 (1H, t, J = 7.9 Hz, 6- H_{Ar}), 2.89 (3H, s, -CH₃). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃), $\delta_{\text{(ppm)}}$: 143.2, 140.7 (+), 134.7, 133.8, 133.0, 129.4 (+), 127.5, 126.2, 124.5 (+), 119.6 (+), 112.9 (+), 20.5 (+). Fórmula molecular: C₁₂H₉N₃O₂ (P.M.: 227.22 g/mol).

O-Desmetilación:

Esquema 60. *O*-Desmetilación de la 1-metil- β -carbolina **176b**.



7-Hidroxi-1-metil- β -carbolina (176f)

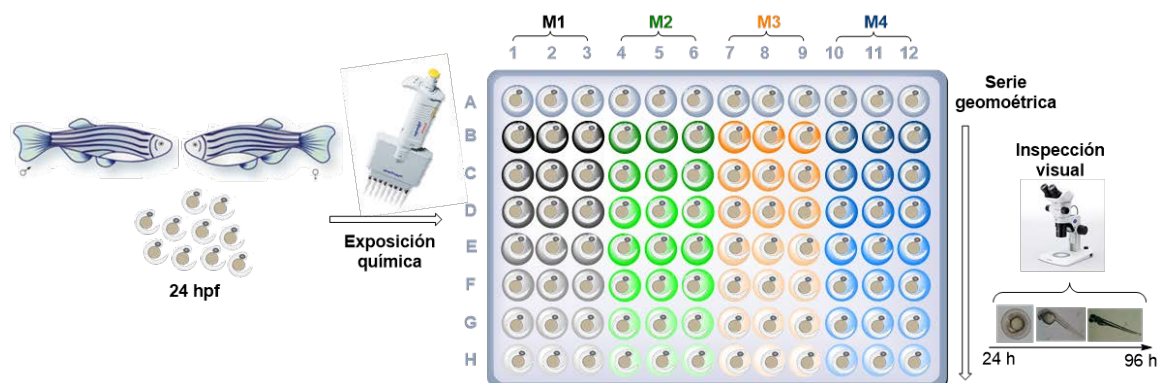
En un reactor de 20 mL equipado con una barra de agitación se adicionó la respectiva 1-metil- β -carbolina **176b** (0.7 mmol) y ácido acético glacial (5 mL). Sobre esta mezcla se agregó ácido bromhídrico (HBr) (5 mL) y el sistema fue aislado por un periodo de 48 horas a 120 °C. Un monitoreo a través de cromatografía en capa fina (CCF) indicó el final de la reacción y a continuación se adicionó la mezcla gota a gota sobre una solución de NaHCO₃ 5 M (20 mL) hasta alcanzar un pH igual a 8. La fase orgánica fue extraída con acetato de etilo (3 x 10 mL), separada y secada sobre sulfato de sodio anhidro, obteniendo la correspondiente 7-hidroxi-1-metil- β -carbolina **176f** como un sólido amarillo con rendimiento del 98 % (Esquema 60); R_f = 0.21 (1:1 éter de petróleo/acetato de etilo); pf. >280 °C (304-307 °C [14]); IR (disco de KBr): 3471 ν (OH), 3286 ν (NH), 3054 ν (CH₂-Ar), 2915 ν (CH=CH), 1573 ν (C=N), 1324 ν (CH₃) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, DMSO), δ (ppm): 11.22 (1H, s, OH), 9.83 (1H, br. s., NH), 8.11 (1H, d, J = 5.3 Hz, 3- H_{Ar}), 7.93 (2H, d, J = 8.5 Hz, 5- H_{Ar}), 7.72 (1H, d, J = 5.3 Hz, 4- H_{Ar}), 6.91 (1H, d, J = 2.0 Hz, 8- H_{Ar}), 6.70 (1H, dd, J = 8.5, 2.1 Hz, 6- H_{Ar}), 2.70 (3H, s, -CH₃). ¹³C RMN (101 MHz, DMSO), δ (ppm): 158.2 (+), 142.3, 140.9, 137.6 (+), 134.4, 127.5, 122.5 (+), 113.8, 111.6, 109.6 (+), 96.6 (+), 20.2 (+). Fórmula molecular: C₁₂H₁₀N₂O (P.M.: 198.22 g/mol).

*3.7.4 Determinación de la concentración letal media (LC_{50}) de cada una de las 1-metil- β -carbolinas **176a-f** en embriones de pez cebra*

Para la determinación de la toxicidad en embriones del pez cebra de las moléculas seleccionadas, inicialmente para cada compuesto se estableció un rango de concentraciones en donde la mortalidad fuera del 0 % y 100 %, y dentro de este rango se establecieron siete concentraciones, o serie geométrica, para la evaluación de cada molécula. Cada compuesto fue disuelto en DMSO y se estableció una concentración final de DMSO menor al 0.5 %.

Tras distribuir un embrión (24 hpf) por pocillo en una microplaca de 96 pozos, 24 embriones fueron empleados por muestra (M), los cuales fueron expuestos a la serie geométrica establecida para las moléculas **176a-f**. Los embriones tratados fueron aislados en una incubadora a 28 °C y la mortalidad y supervivencia de cada embrión se determinó tras 96 hpf al examinar el movimiento y los latidos del corazón de los embriones al ser estimulados bajo un estéreo microscopio. En cada experimento se realizaron tres ensayos para determinar un valor de CL_{50} (expresada en $\mu\text{mol/L}$) y cada experimento fue repetido por triplicado empleando embriones provenientes de distintos padres en distintos días. El análisis estadístico se realizó con el modelo Probit usando el programa SPSS, versión 19.0 para Windows (Esquema 61).

Esquema 61. Determinación de la CL₅₀ en embriones de pez cebra para las moléculas **176a-f**.



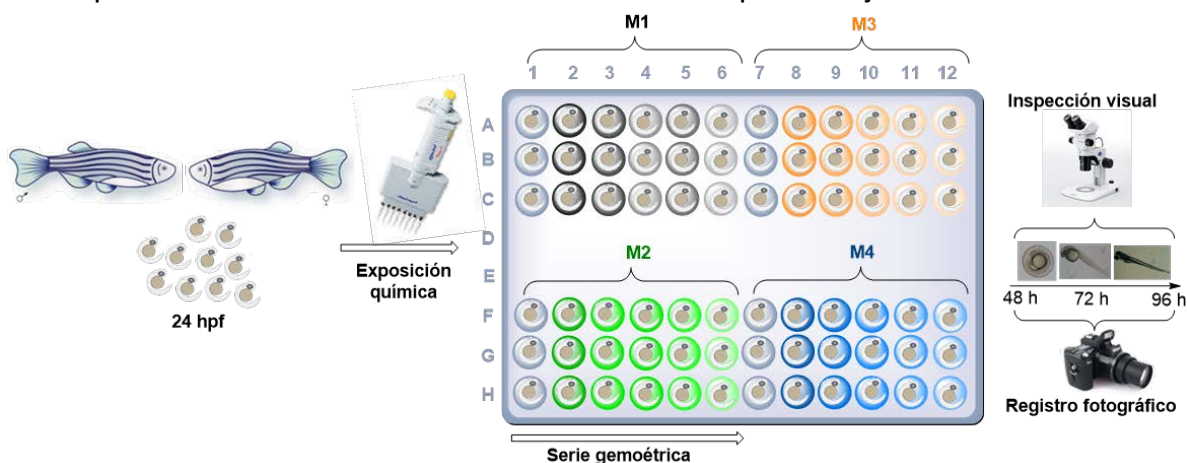
3.7.5 Análisis de los cambios fenotípicos de cada una de las 1-metil- β -carbolinas **176a-f** en embriones de pez cebra

Habiendo determinado la CL₅₀ para cada una de las moléculas seleccionadas, se estableció una serie geométrica de cinco concentraciones por debajo del valor CL₅₀ para cada molécula. Así, en una microplaca de 96 pozos se distribuyeron embriones a 24 hpf, empleando un total de 18 embriones por muestra (M), y se procedió a exponer los especímenes al respectivo tratamiento químico con las moléculas **176a-f**.

Los embriones tratados fueron aislados en una incubadora a 28 °C y fueron examinados y fotografiados a las 96 hpf. Cada registro fotográfico fue agrupado, de acuerdo a la muestra, concentración y replica para ser finalmente analizado a través del software DanioScope (Noldus) el cual realizó automáticamente el análisis estadístico y generó las respectivas gráficas. Se identificaron y analizaron parámetros como la longitud del cuerpo, tamaño del ojo, de la cavidad cardiaca y del saco vitelino, en comparación con la organogénesis y morfogénesis de los

embriones control a las 96 hpf. Los resultados fueron analizados mediante el test ANOVA (una vía) y mediante el test de Dunnett (2 colas) comparando cada compuesto con el grupo control y considerando una diferencia significativa a un valor $p < 0.05$ (Esquema 62).

Esquema 62. Determinación de los cambios fenotípicos en embriones de pez cebra para las moléculas **176a-f** a concentraciones por debajo de la CL₅₀.



BIBLIOGRAFÍA

- [1]. ZAYED, Rawia. Efficient in vitro elicitation of β -carboline alkaloids in transformed root cultures of *Peganum harmala*. En: Bulletin of Faculty of Pharmacy, 2011, vol. 49, p. 7-11. (b) KHAN, Farhan. A., *et al.* Recent pharmacological developments in β -carboline alkaloid "harmaline". En: European Journal of Pharmacology. 2013, vol. 721, p. 391-394. (c) FAROUK, Loubna, *et al.* Evaluation of the analgesic effect of alkaloid extract of *Peganum harmala* L.: Possible mechanisms involved. En: Journal of Ethnopharmacology. 2008, vol. 115, p. 449-454. (d) DARABPOUR, Esmaeil, *et al.* Antibacterial activity of different parts of *pegamun harmala* L. growing in

Iran against multi-drug resistant bacteria. En: Excli Journal. 2011, vol. 10, p. 252-263. (e) NENAAH, Gomah. Toxicity and growth inhibitory activities of methanol extract and the β -carboline alkaloids of *Peganum harmala* L. against two coleopteran stored-grain pests. En: Journal of Stored Products Research. 2011, vol. 47, p. 255-261. (f) MONSEF, Hamid Reza, *et al.* Antinociceptive effects of *Peganum harmala* L. alkaloid extract on mouse formalin test. En: Journal Pharm Pharmaceutical Science. 2004, vol. 7, p. 65-69. (g) BENSALAM, Sihem, *et al.* Inhibition of myeloperoxidase activity by the alkaloids of *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae). En: Journal Ethnopharmacology. 2014, vol. 154, p. 361-369. (h) KHLIFI, Daycem, *et al.* Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of artemisia herba-alba, *Ruta chalapensis* L. and *Peganum harmala* L. En: Food and Chemical Toxicology, 2013, vol. 55, p. 202-208.

- [2]. WADSWORTH, Andrew D.; NAYSMITH, Briar J.; BRIMBLE, Margaret A. A review of the synthesis of α -carbolines. En: European Journal of Medicinal Chemistry. 2015, vol. 97, p. 816-829. (b) KUMAR, Arepalli Sateesh; NAGARAJAN, Rajagopal. Synthesis of α -Carbolines via Pd-Catalyzed Amidation and Vilsmeier-Haack Reaction of 3-Acetyl-2-chloroindoles. En: Organic Letters, 2011, vol. 13, p. 1398-1401. (c) CAO, Jian, *et al.* Synthesis of δ -Carbolines via a Pd-Catalyzed Sequential Reaction from 2-Iodoanilines and N-Tosyl-enynamines. En: Organic Letters, 2012, vol. 14, p. 38-41. (d)

- CAO, Rihui, *et al.* beta-Carboline alkaloids: biochemical and pharmacological functions. En: Current Medicinal Chemistry, 2007, vol. 14, p. 479–500.
- [3]. WANG, Xiao, *et al.* Separation and purification of harmine and harmaline from *Peganum harmala* using pH-zone-refining counter-current chromatography. En: Journal of Separation Science, 2008, vol. 31, p. 3543-3547.
- [4]. (a) MOLOUDIZARFARI, Milad, *et al.* Pharmacological and therapeutic effects of *Peganum harmala* and its main alkaloids. En: Pharmacognosy Review, 2013, vol. 7, p. 199-212. (b) MINA, Cheraghi Niroumand; FARZAEI, Mohammad Hosein; GHOLAMREZA, Amin. Medicinal Properties of *Peganum Harmala* L. In Traditional Iranian Medicine and Modern Phytotherapy: A Review. En: Journal of Traditional Chinese Medicine, 2015, vol. 35, p. 104-109.
- [5]. NENAAH, Gomah. Antibacterial and Antifungal Activities of (Beta)-Carboline Alkaloids of *Peganum Harmala* (L) Seeds and Their Combination Effects. En: Fitoterapia, 2010, vol. 81, p. 779-782.
- [6]. WANG, Kai-Bo, *et al.* Peganumine A, a β -Carboline Dimer with a New Octacyclic Scaffold from *Peganum harmala*. En: Organic Letters, 2014, vol. 16, p. 4028-4031.
- [7]. GRIBBLE, Gordon. W. The diversity of naturally produced organohalogens. En: Chemosphere, 2003, vol. 52, p. 289-297.

- [8]. POHL, Berthold; LUCHTERHANDT, Thomas; BRACHER, Franz. Total Syntheses of the Chlorinated β -Carboline Alkaloids Bauerine A, B, and C. En: Synthetic Communications, 2007, vol. 37, p. 1273-1280.
- [9]. BONAZZI, Simone, *et al.* Antimalarial and Antitubercular Nostocarboline and Eudistomin Derivatives: Synthesis, *in Vitro* and *in Vivo* Biological Evaluation. En: Bioorganic and Medicinal Chemistry, 2010, vol. 18, p. 1464-1476.
- [10]. SANTILLO, Michael F., *et al.* Inhibition of monoamine oxidase (MAO) by β -carbolines and their interactions in live neuronal (PC12) and liver (HuH-7 and MH1C1) cells. En: Toxicology In Vitro, 2014, vol. 28, p. 403-410.
- [11]. a) CAO, Rihui, *et al.* Synthesis and structure–activity relationships of harmine derivatives as potential antitumor agents. En: European Journal Medicinal Chemistry, 2013, vol. 60, p. 135-143. b) ISHIDA, Junko, *et al.* Antitumor agents 201.1 Cytotoxicity of harmine and β -carboline analogs. En: Bioorganic Medicinal Chemistry Letters. 1999, vol. 9, p. 3319-3324.
- [12]. PATEL, K, *et al.* A review on medicinal importance, pharmacological activity and bioanalytical aspects of beta-carboline alkaloid “Harmine”. En: Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2012, vol. 2, p. 660-664. (b) BRIERLEY, Daniel I.; DAVIDSON, Colin. Developments in harmine pharmacology - Implications for ayahuasca use and drug-dependence treatment. En: Progress in Neuropsychopharmacology and Biology Psychiatry, 2012, vol. 39, p. 263-272.

- [13]. YAMASHITA, Tohru, *et al.* Stereocontrolled Total Synthesis of (–)-Eudistomin C. En: Journal of the American Chemical Society, 2005, vol. 127, p. 15038-15039.
- [14]. SONG, Hongjian, *et al.* Synthesis and Antiviral and Fungicidal Activity Evaluation of β -Carboline, Dihydro- β -carboline, Tetrahydro- β -carboline Alkaloids, and Their Derivatives. En: Journal of Agricultural Food Chemistry, 2014, vol. 62, p. 1010-1018.
- [15]. KENNEDY, J. Phillip; BREININGER, Micah L.; LINDSLEY, Craig W. Total synthesis of Eudistomins Y₁-Y₆. En: Tetrahedron Letters, 2009, vol. 50, p. 7067-7069.
- [16]. KAMAL, Ahmed, *et al.* PhI(OAc)₂-Mediated one-pot oxidative decarboxylation and aromatization of tetrahydro- β -carbolines: synthesis of norharmane, harmane, eudistomin U and eudistomin I. En: Organic and Biomolecular Chemistry, 2015, vol. 13, p. 8652-8662.
- [17]. EAGON, Scott; ANDERSON, Marc. O. Microwave-Assisted Synthesis of Tetrahydro- β -carbolines and β -carbolines. En: European Journal of Organic Chemistry, 2014, p. 1653-1665.
- [18]. CHEN, Hao, *et al.* Synthesis and biological evaluation of a novel class of β -carboline derivatives. En: New Journal of Chemistry, 2014, vol. 38, p. 4155-4166.
- [19]. WANG, Weihong, *et al.* Carboline Alkaloids from a Korean Tunicate Eudistoma sp. En: Journal of Natural Products, 2008, vol. 71, p. 163-166.

- [20]. a) NAZZARI FORMAGIO, Anelise S., *et al.* Synthesis and antiviral activity of β -carboline derivatives bearing a substituted carbohydrazide at C-3 against poliovirus and herpes simplex virus (HSV-1). En: *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2009, vol. 44, p. 4695-4701. b) LIU, Yongxian, *et al.* Design, Synthesis, and Antiviral, Fungicidal, and Insecticidal Activities of Tetrahydro- β -carboline-3-carbohydrazide Derivatives. En: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, vol. 41, p. 9987-9999.
- [21]. (a) WERNICKE, Catrin, *et al.* 9-Methyl-beta-carboline has restorative effects in an animal model of Parkinson's disease. En: *Pharmacological Reports*, 2010, vol. 62, p. 35-53. b) ROOK, Yvonne, *et al.* Bivalent β -Carbolines as Potential Multitarget Anti-Alzheimer Agents. En: *Journal of Medicinal Chemistry*, 2010, vol. 53, p. 3611-3617.
- [22]. JAKUBEC, Pavol, *et al.* Total Synthesis of Manzamine A and Related Alkaloids. En: *Journal of the American Chemical Society*, 2012, vol. 134, p. 17482-17485.
- [23]. SAVARIZ, Franciele Cristina, *et al.* Synthesis and Evaluation of New β -Carboline-3-(4-benzylidene)-4H-oxazol-5-one Derivatives as Antitumor Agents. En: *Molecules*, 2012, vol. 17, p. 6100-6113.
- [24]. FILALI, Insaf, *et al.* Synthesis of new isoxazoline derivatives from harmine and evaluation of their anti-Alzheimer, anti-cancer and anti-inflammatory activities. En: *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2015, vol. 30, p. 371-376.

- [25]. MA, Yonggang, WINK, Michael. The Beta-Carboline Alkaloid Harmine inhibits BCRP and Can Reverse Resistance to the Anticancer Drugs Mitoxantrone and Camptothecin in Breast Cancer Cells. En: *Phytotherapy Research*, 2010, vol. 24, p. 146-149.
- [26]. LUO, Wenjin, *et al.* Anti-cancer Effects of JKA97 Are Associated with Its Induction of Cell Apoptosis via a Bax-dependent and p53-independent Pathway. En: *Journal of Biological Chemistry*, 2008, vol. 283, p. 8624-8633.
- [27]. ANTONSSON, Bruno, *et al.* Bax oligomerization is required for channel-forming activity in liposomes and to trigger cytochrome c release from mitochondria. En: *Biochemical Journal*, 2000, vol. 345, p. 271-278.
- [28]. YANG, Xinyi, *et al.* JKA97, a novel benzylidene analog of harmine, exerts anti-cancer effects by inducing G1 arrest, apoptosis, and p53-independent up-regulation of p21. En: *PLoS One*, 2012, vol. 7, p. e34303.
- [29]. ZHANG, Xiao-Fei, *et al.* Synthesis and mechanisms of action of novel harmine derivatives as potential antitumor agents. En: *Scientific Reports*, 2016, vol. 6, p. 33204.
- [30]. FRESNO VARA, Juan Ángel, *et al.* PI3K/Akt signalling pathway and cancer. En: *Cancer Treatment Reviews*, 2004, vol. 30, p. 193-204.
- [31]. OHISHI, Kensuke, *et al.* 9-Hydroxycanthin-6-one, a β -Carboline Alkaloid from *Eurycoma longifolia*, Is the First Wnt Signal Inhibitor through Activation of Glycogen Synthase Kinase 3β without Depending on Casein Kinase 1α . En: *Journal of Natural Products*, 2015, vol. 78, p.1139-1146.

- [32]. BERTELLI, Pablo Ricardo, *et al.* Toxicological profile and acetylcholinesterase inhibitory potential of *Palicourea deflexa*, a source of β -carboline alkaloids. En: Comparative Biochemistry Physiology C Toxicology Pharmacology, 2017, vol. 201, p. 44-50.
- [33]. HERRAIZ, T., *et al.* beta-Carboline alkaloids in *Peganum harmala* and inhibition of human monoamine oxidase (MAO). En: Food Chemical Toxicology, 2010, vol. 48, p. 839-845.
- [34]. NAIK, Sarala, *et al.* Mild and eco-friendly chemoselective acylation of amines in aqueous medium. En: ARKIVOC, 2004, vol. 1, p. 55-63.
- [35]. GARCÍA, Marcos D., *et al.* Regioselective photo-oxidation of 1-benzyl-4,9-dihydro-3Hb-carbolines. En: Chemical Communications, 2006, p. 2586-2588.
- [36]. PONCE, Maria. A.; TARZI, Olga. I.; ERRA-BALSELLS, Rosa. Synthesis and Isolation of Chloro- β -carbolines Obtained by Chlorination of β -Carboline Alkaloids in Solution and in Solid State. En: Journal of Heterocyclic Chemistry, 2003, vol. 40, p. 419-426.
- [37]. NAKANO, Koji, *et al.* Chlorination of harman and norharman with sodium hypochlorite and co-mutagenicity of the chlorinated products. En: Mutation. Research, 2000, vol. 470, p. 141-146.
- [38]. GONG, Liang, *et al.* Metal-free oxidative olefination of primary amines with benzylic C–H bonds through direct deamination and C–H bond activation. En: Organic and Biomolecular Chemistry, 2014, vol. 12, p. 6557-6560

- [39]. ZHANG, Xiao-Fei, *et al.* Synthesis and mechanisms of action of novel harmine derivatives as potential antitumor agents. En: Scientific Reports, 2016, vol. 6, p. 33204.
- [40]. LI, V. M.; GAVRISHOVA, T. N.; BUDYKA, M. F. Microwave-Assisted Solvent-Free Synthesis of 2-Styrylquinolines in the Presence of Zinc Chloride. En: Russian Journal Organic Chemistry, 2012, vol. 48, p. 823-828.
- [41]. MAO, Dan, *et al.* Lewis-Acid-Catalyzed Benzylic Reactions of 2-Methylazaarenes with Aldehydes. En: European Journal of Organic Chemistry, 2014, p. 3009-3019.
- [42]. KUMAR, Dinesh, *et al.* In(OTf)₃-catalyzed synthesis of 2-styryl quinolines: scope and limitations of metal Lewis acids for tandem Friedländer annulation–Knoevenagel condensation. En: RSC Advances, 2015, vol. 5, p. 2920-2927.
- [43]. JAMAL, Zaini; TEO, Yong-Chua; LIM, Gina Shiyun. Direct alkenylation of alkylazaarenes with aldehydes through C(sp³)–H functionalization under catalytic InCl₃ activation. En: Tetrahedron, 2016, vol. 72, p. 2132-2138.
- [44]. SARMA, Parishmita; SAIKIA, Susmita; BORAH, Ruli. Studies on –SO₃H Functionalized Brønsted Acidic Imidazolium Ionic Liquids (ILs) for One-Pot Two Step Synthesis of 2-Styrylquinolines. En: Synthetic Communications, 2016, vol. 46, p. 1187-1196.
- [45]. KOUKABI, Nadiya, *et al.* Magnetic Particle-Supported Sulfonic Acid Catalyst: Tuning Catalytic Activity between Homogeneous and Heterogeneous

- Catalysis. En: Advanced Synthesis and Catalysis, 2012, vol. 354, p. 2001-2008.
- [46]. MERCHÁN ARENAS, Diego Rolando; KOUZNETSOV, Vladimir V. Diastereoselective Synthesis of Dihydroisoindolo[2,1-a]quinolin-11-ones by Solvent-Free AMCell-SO₃H-Catalyzed Imino Diels–Alder/Intramolecular Amide Cyclization Cascade Reactions. En: Journal of Organic Chemistry, 2014, vol. 79, p. 5327-5333.
- [47]. KUMAR, Nandigama Satish, *et al.* domino green method for the rapid synthesis of novel fused isoquinoline derivatives via Knoevenagel/Michael/cyclization reactions on aqueous media and their photophysical properties. En: RSC Advances, 2015, vol. 5, p. 95539-95544.
- [48]. PUERTO GALVIS, Carlos Eduardo; KOZNETSOV, Vladimir V. Regio- and stereoselective synthesis of spirooxindole 1'-nitro pyrrolizidines with five concurrent stereocenters under aqueous medium and their bioprospection using the zebrafish (*Danio rerio*) embryo model. En: Organic and Biomolecular Chemistry, 2013, vol. 11, p. 7372-7386.
- [49]. LI, Chuan, *et al.* Anticancer activities of harmine by inducing a pro-death autophagy and apoptosis in human gastric cancer cells. En: Phytomedicine, 2017, vol. 28, p. 10-18.
- [50]. ABE, Akihisa.; YAMADA, Hiroyuki. Harmol induces apoptosis by caspase-8 activation independently of Fas/Fas ligand interaction in human lung carcinoma H596 cells. En: Anticancer Drugs, 2009, vol. 20, p. 373-381.

- [51]. BUCKINGHAM, Jhon, *et al.* Dictionary of Alkaloids, CRC Press, Taylor & Francis Group. Second Edition. 2010, p. 960-961.
- [52]. GUPTA, Vinayak, *et al.* Molecular mechanism of monoamine oxidase A gene regulation under inflammation and ischemia-like conditions: key roles of the transcription factors GATA2, Sp1 and TBP. En: Journal of Neurochemistry, 2015, vol. 134, p. 21-38.

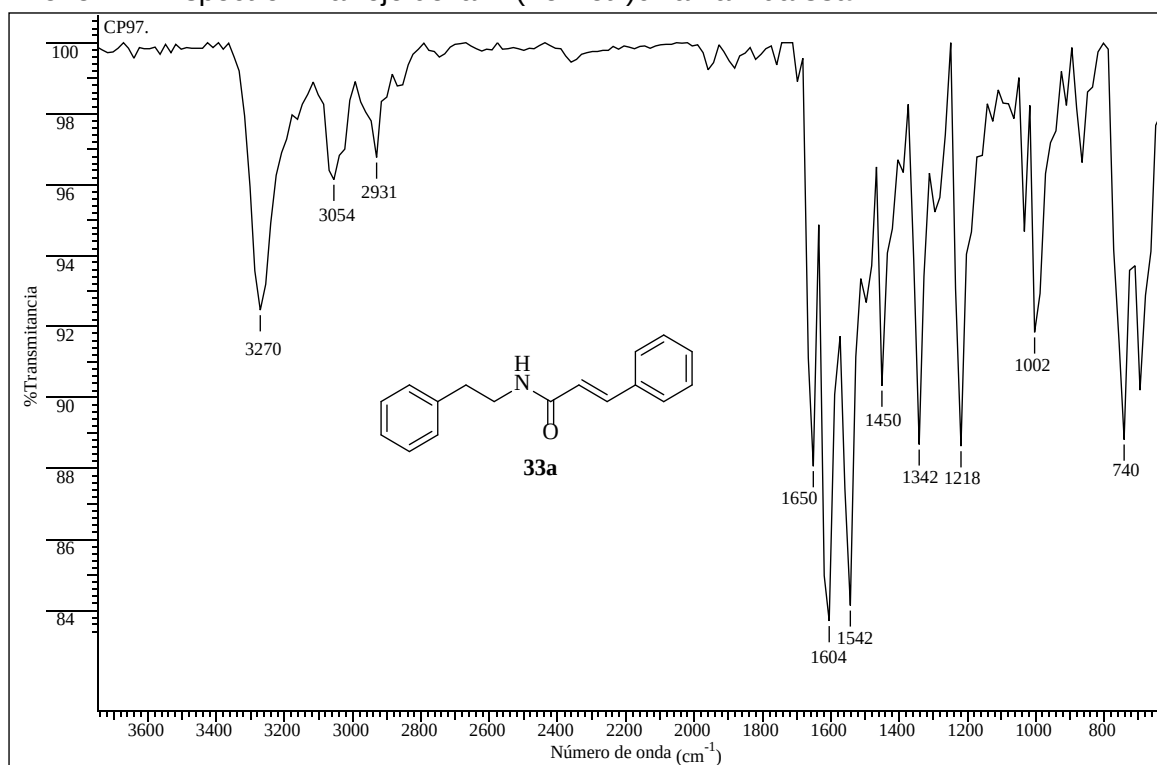
ANEXOS

ANEXOS 1-20

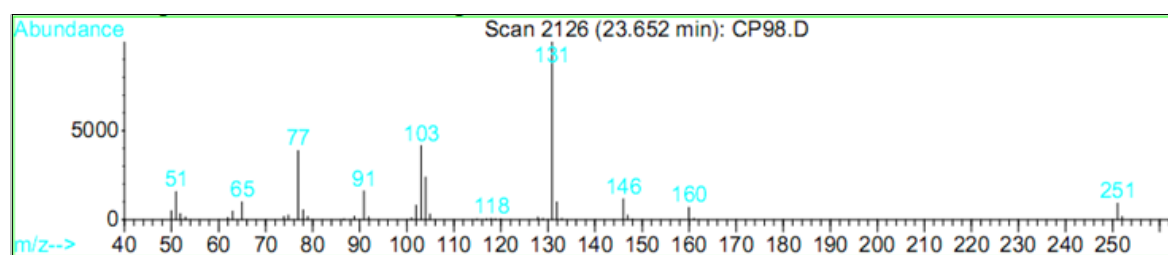
**Información espectral relacionada con las *N*-feniletil cinamamidas
preparadas 33a-t**

Anexo 1. Espectros relacionados con el compuesto **33a**.

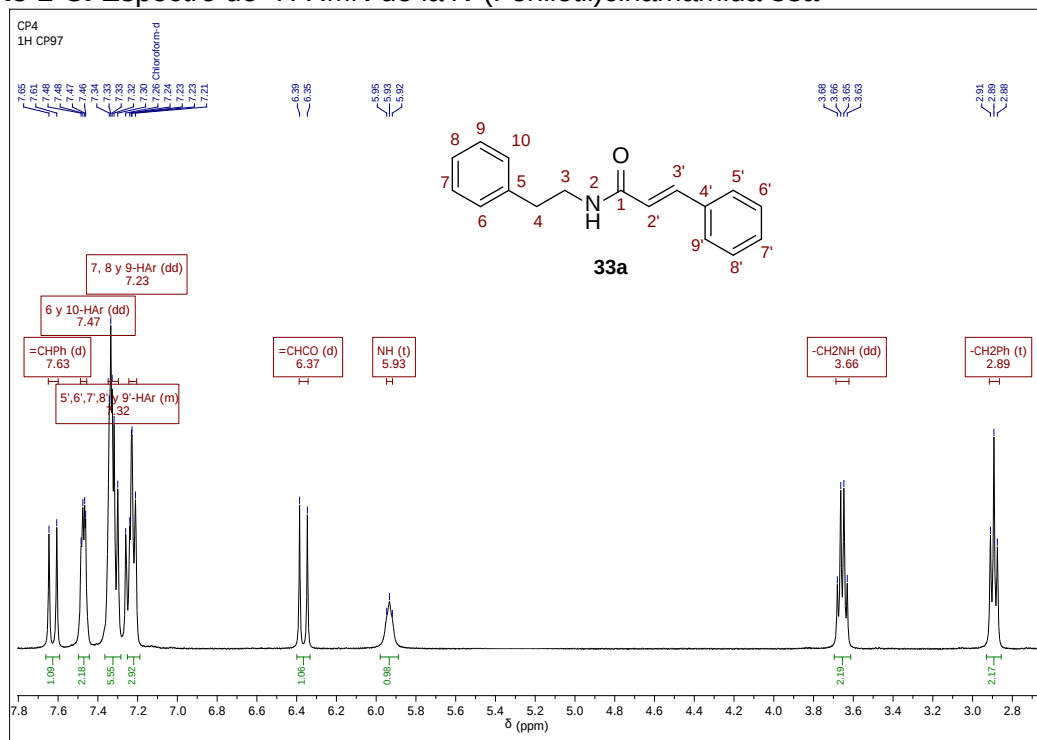
Anexo 1-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(Feniletil)cinámamida **33a**



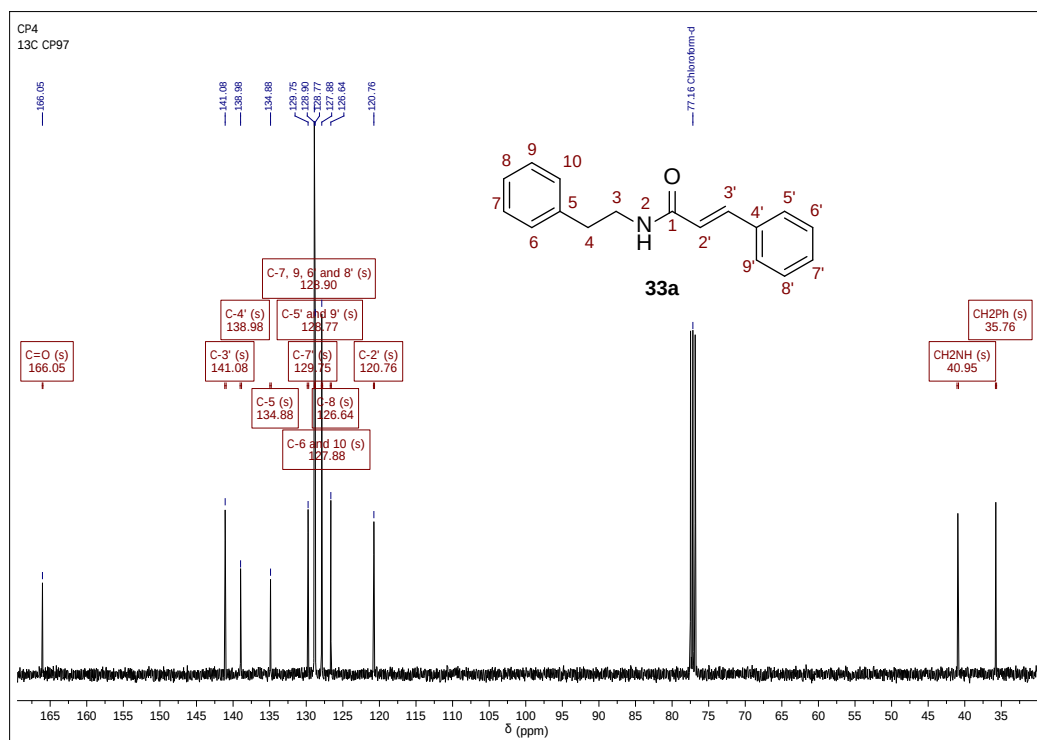
Anexo 1-B. Fragmentograma de la *N*-(Feniletil)cinámamida **33a**



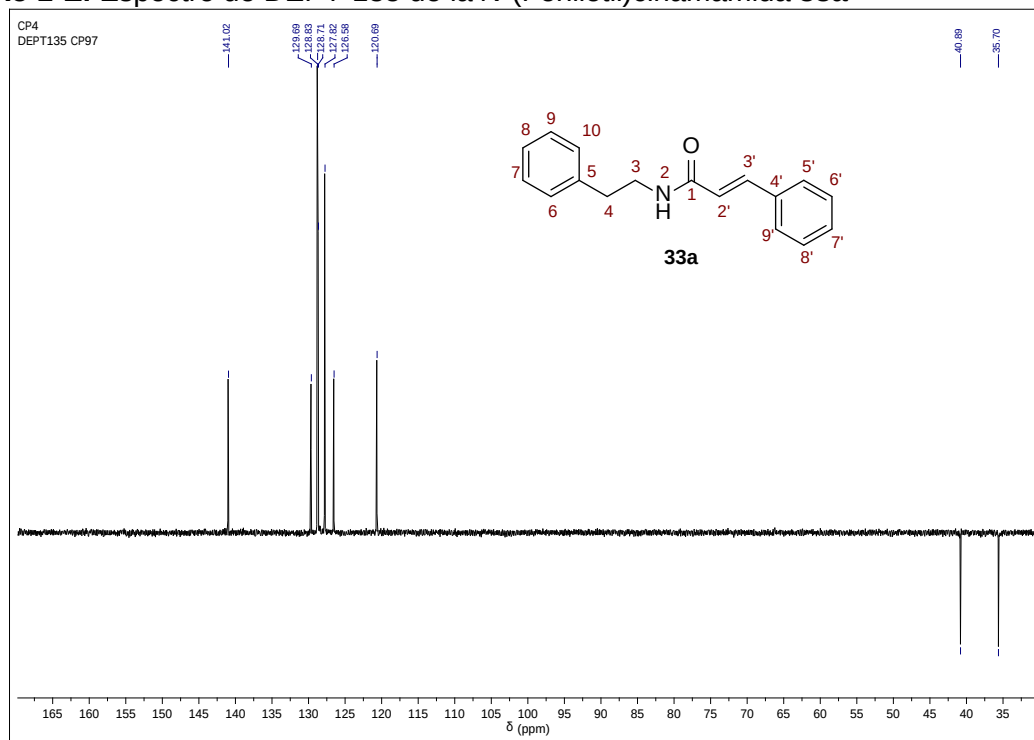
Anexo 1-C. Espectro de ^1H RMN de la *N*-(Feniletil)cinámamida **33a**



Anexo 1-D. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(Feniletil)cinámamida **33a**

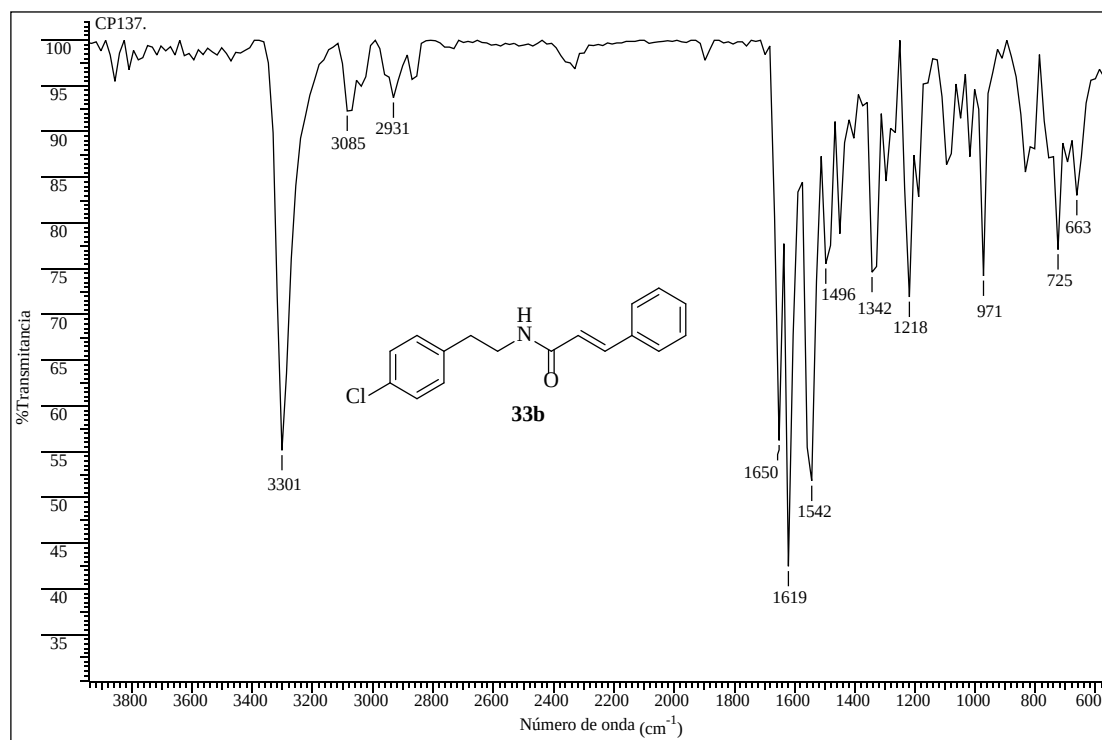


Anexo 1-E. Espectro de DEPT-135 de la *N*-(Feniletil)cinámamida **33a**

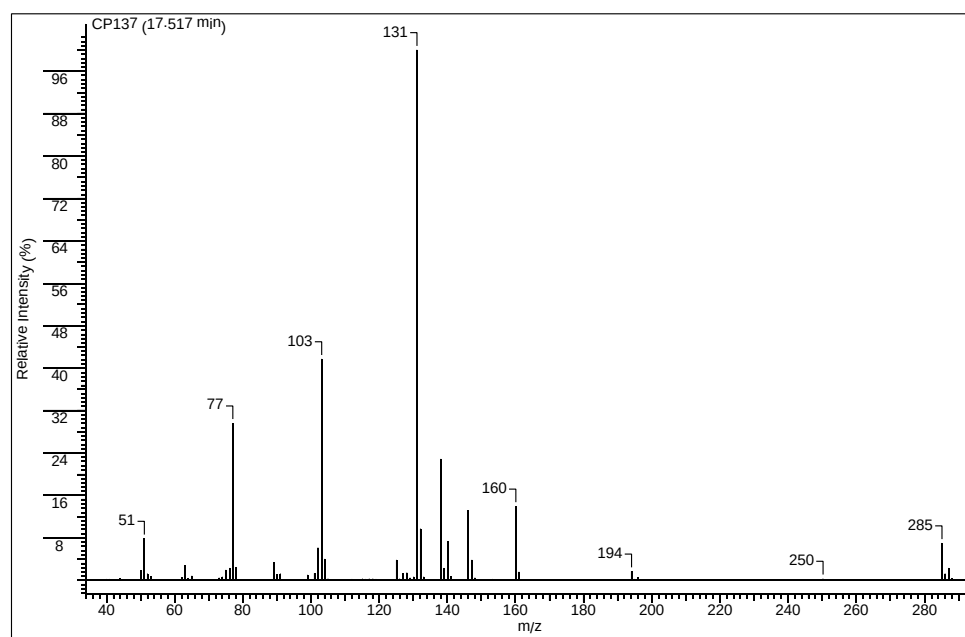


Anexo 2. Espectros relacionados con el compuesto **33b**.

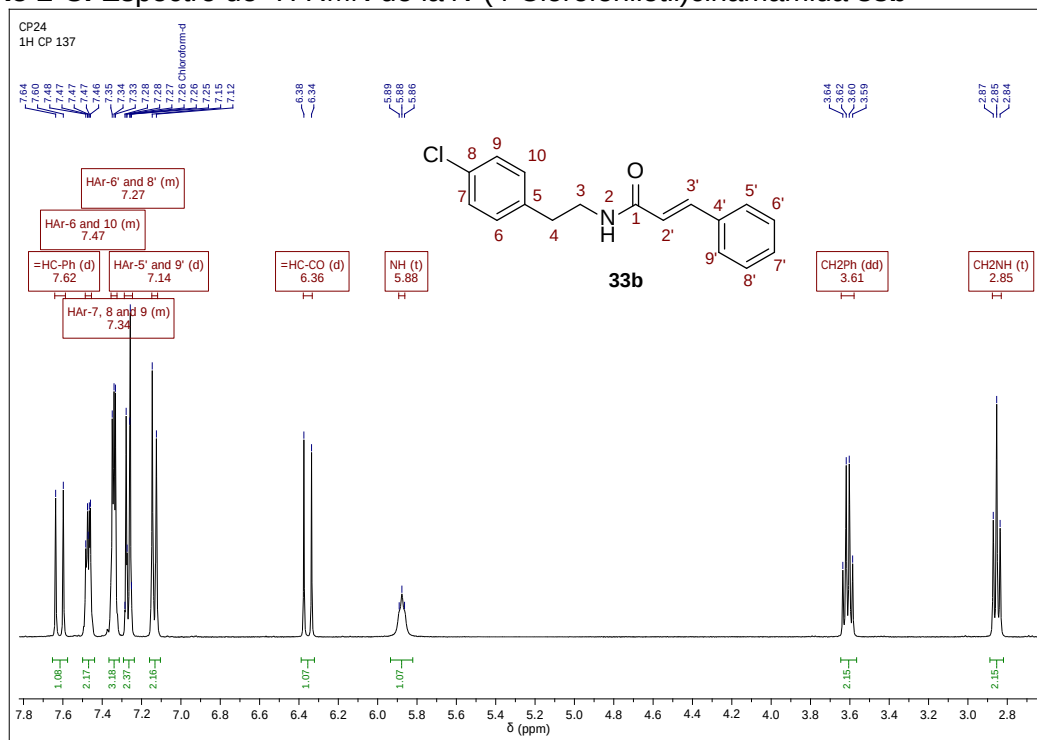
Anexo 2-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(4-Clorofeniletil)cinámamida **33b**



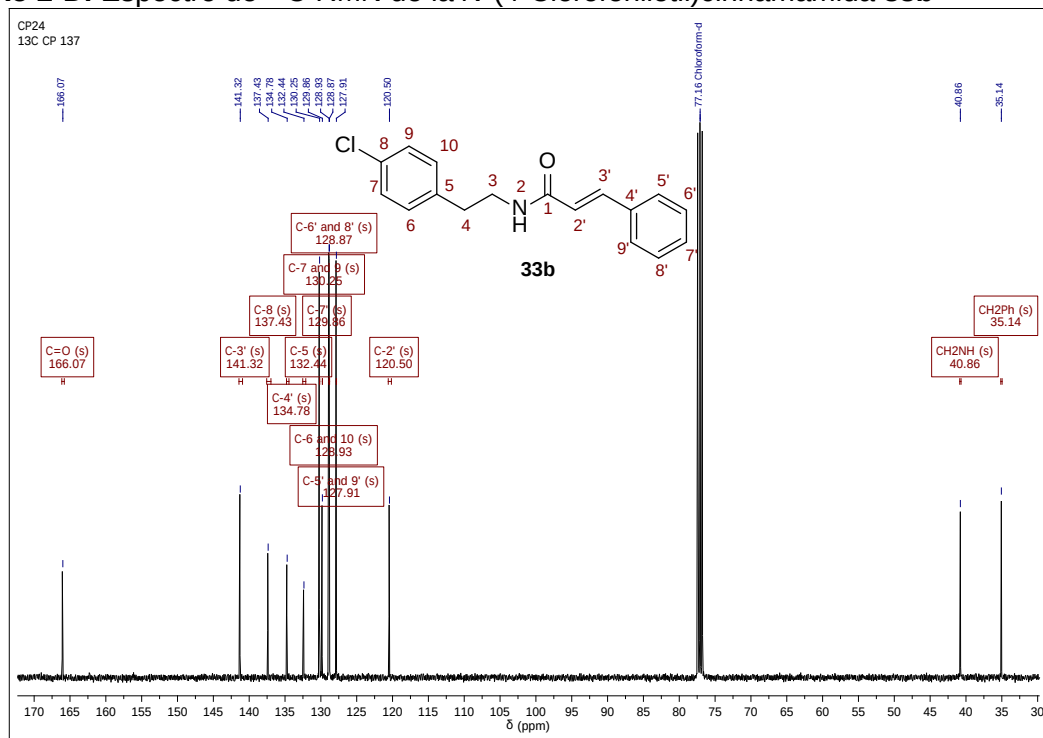
Anexo 2-B. Fragmentograma de la *N*-(4-Clorofeniletil)cinámamida **33b**



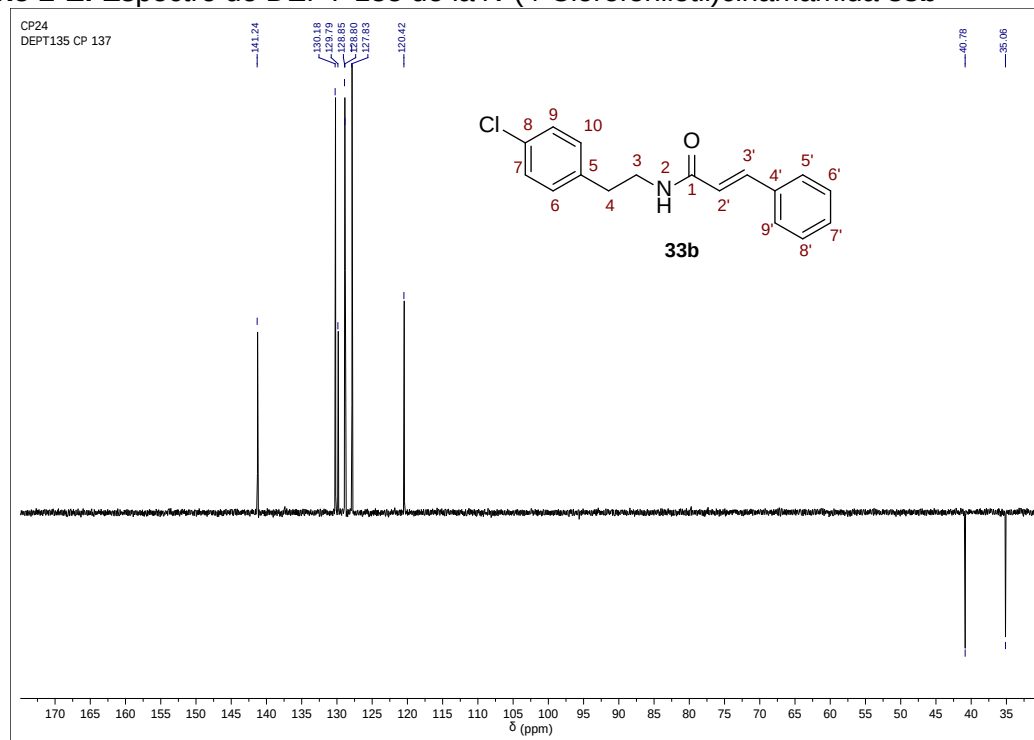
Anexo 2-C. Espectro de ^1H RMN de la *N*-(4-Clorofeniletil)cinámamida **33b**



Anexo 2-D. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(4-Clorofeniletil)cinámamida **33b**

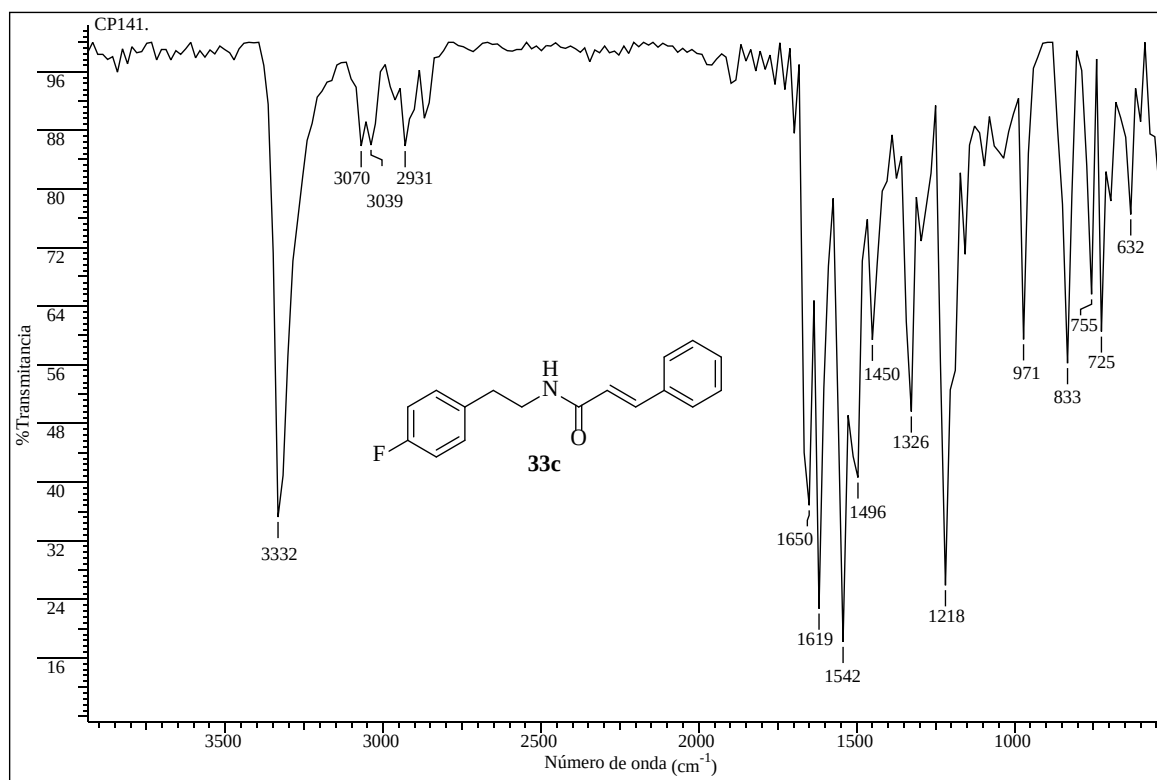


Anexo 2-E. Espectro de DEPT-135 de la *N*-(4-Clorofeniletil)cinámamida **33b**

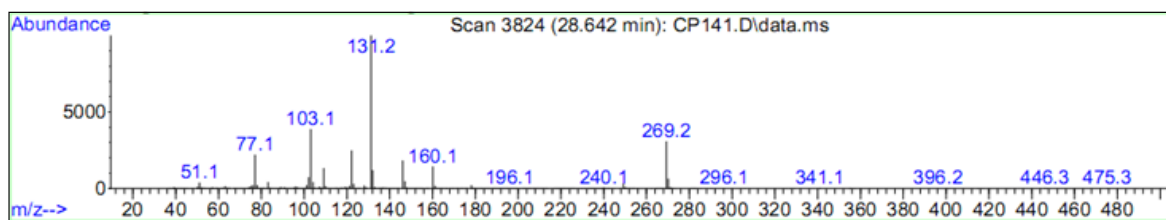


Anexo 3. Espectros relacionados con el compuesto **33c**.

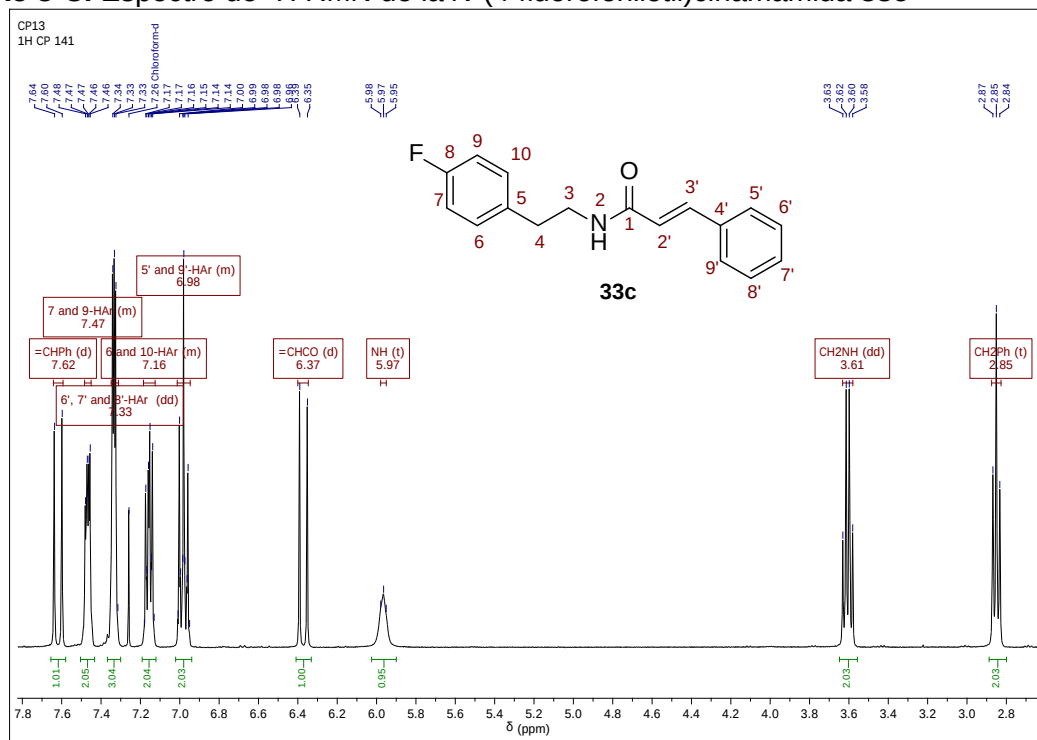
Anexo 3-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(4-fluorofeniletil)cinámamida **33c**



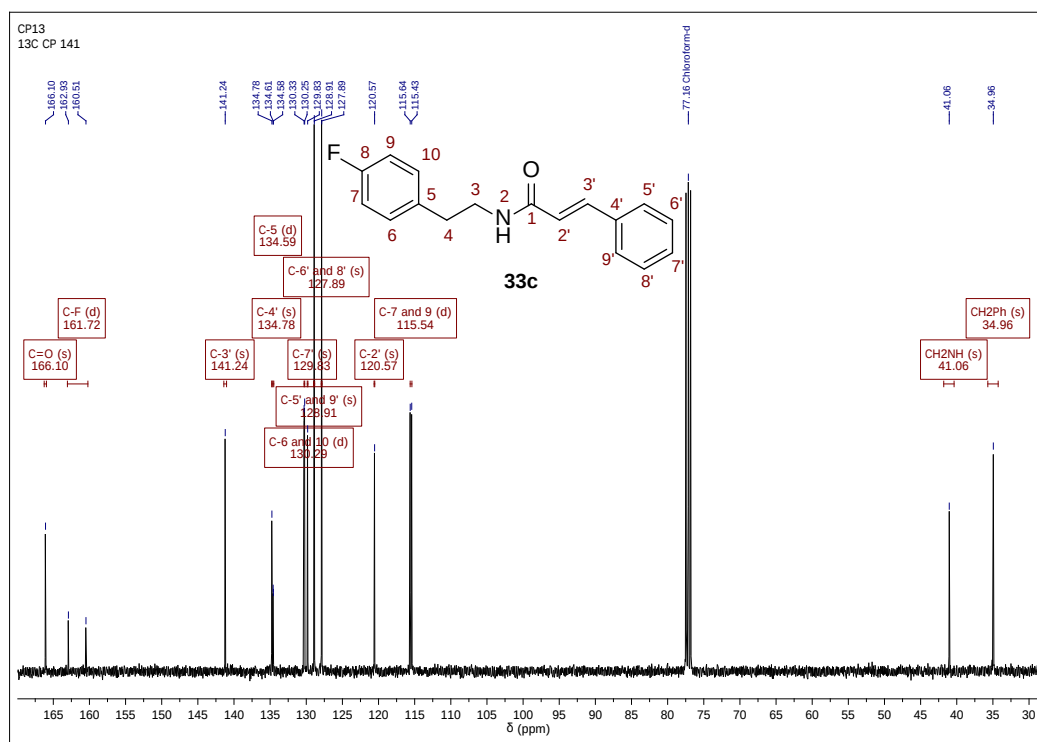
Anexo 3-B. Fragmentograma de la *N*-(4-fluorofeniletil)cinámamida **33c**



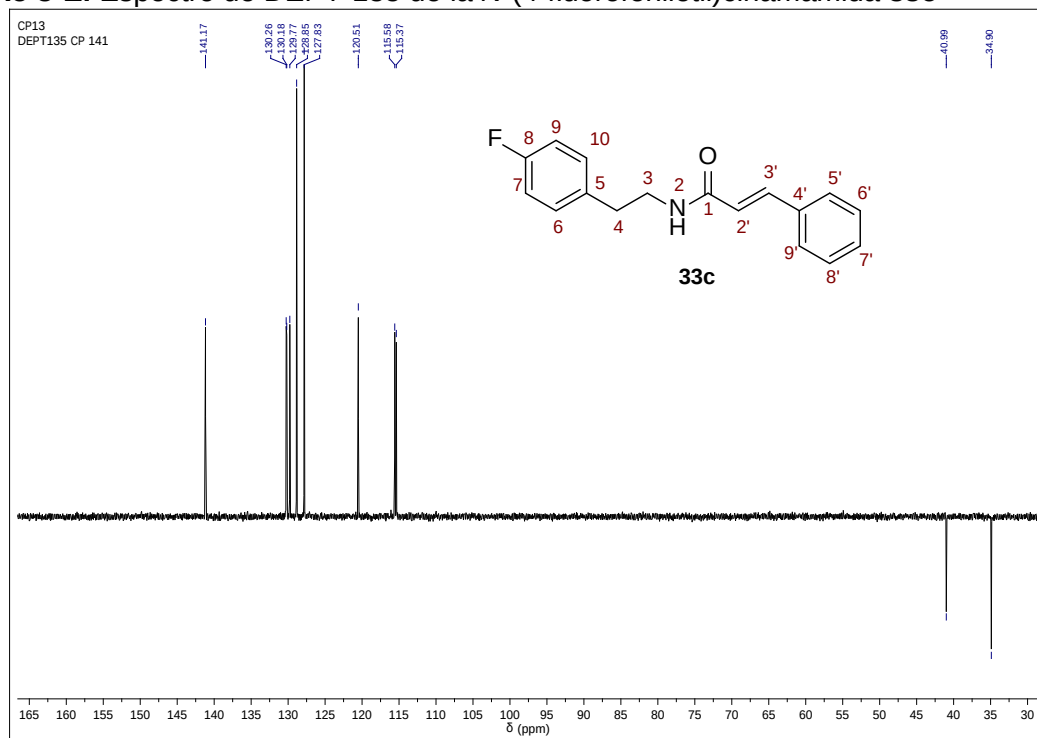
Anexo 3-C. Espectro de ^1H RMN de la *N*-(4-fluorofeniletil)cinámamida **33c**



Anexo 3-D. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(4-fluorofeniletil)cinámamida **33c**

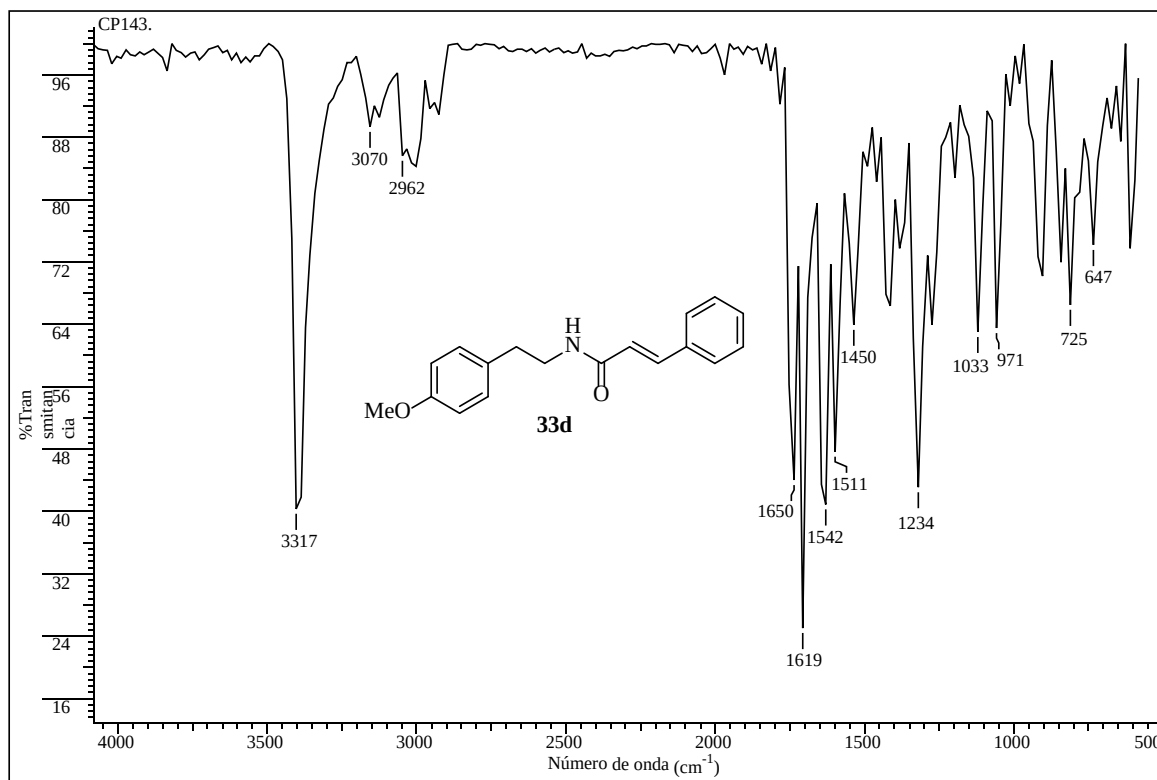


Anexo 3-E. Espectro de DEPT-135 de la *N*-(4-fluorofeniletil)cinámamida **33c**

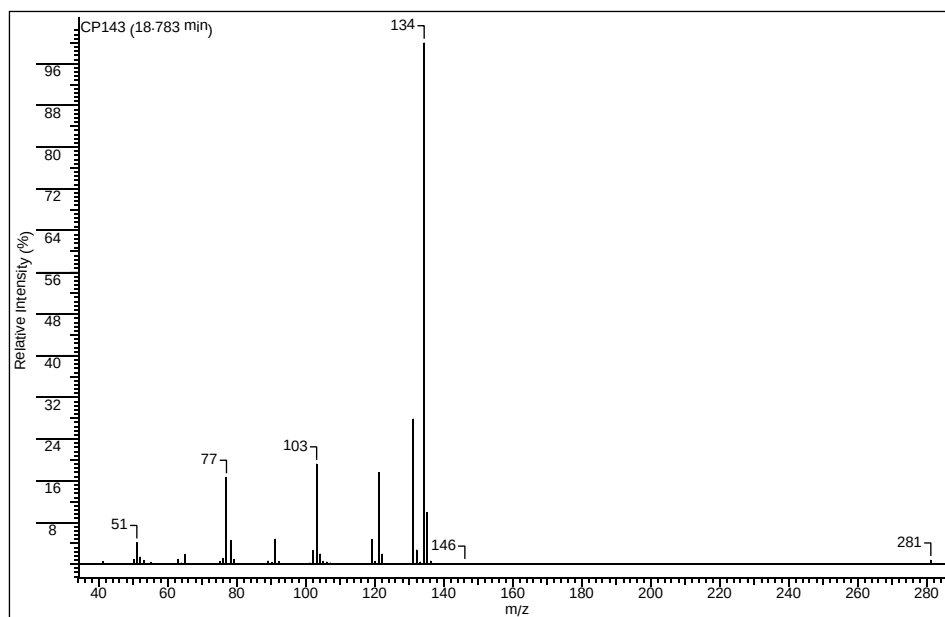


Anexo 4. Espectros relacionados con el compuesto **33d**.

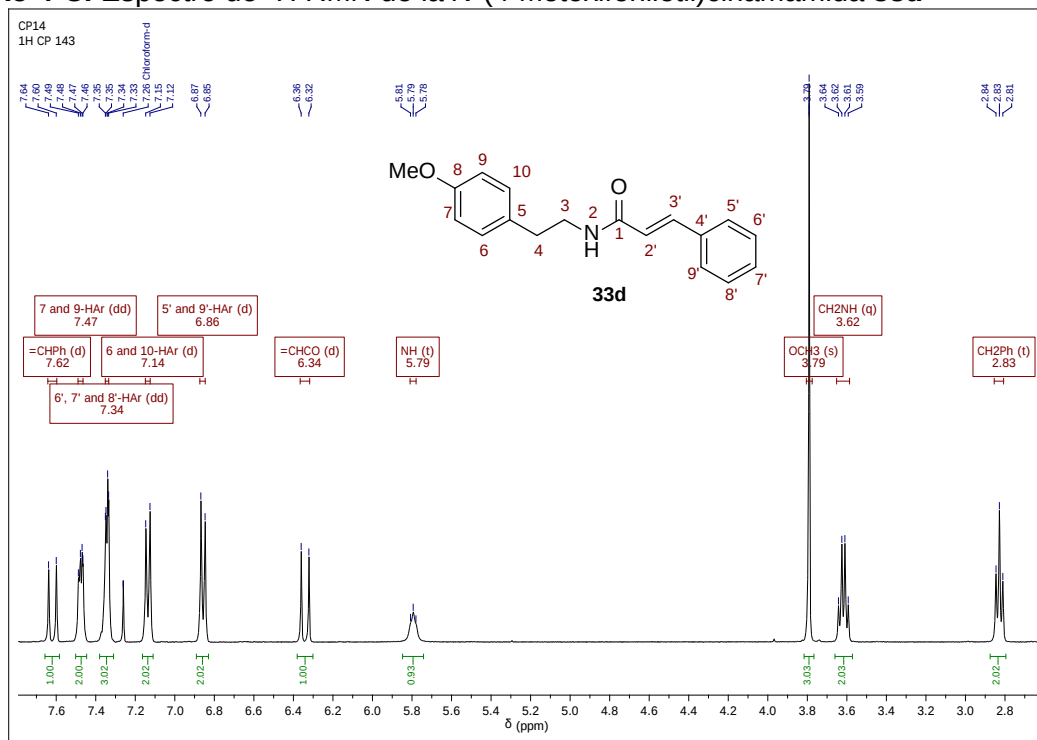
Anexo 4-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(4-Metoxifeniletil)cinámamida **33d**



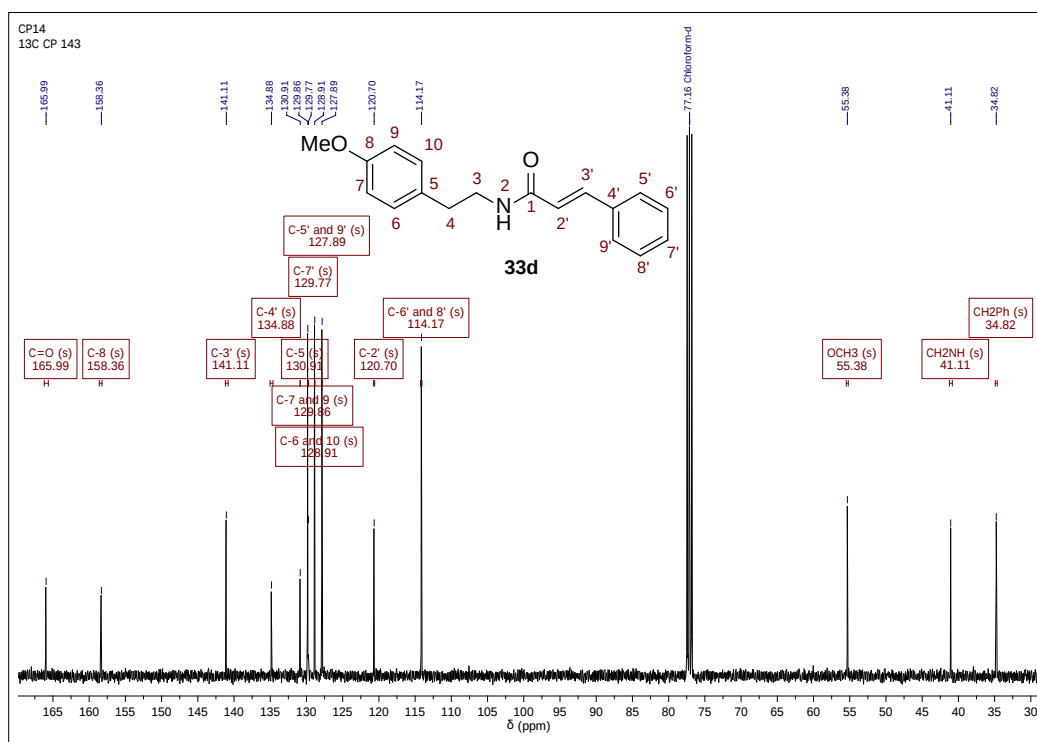
Anexo 4-B. Fragmentograma de la *N*-(4-Metoxifeniletil)cinámamida **33d**



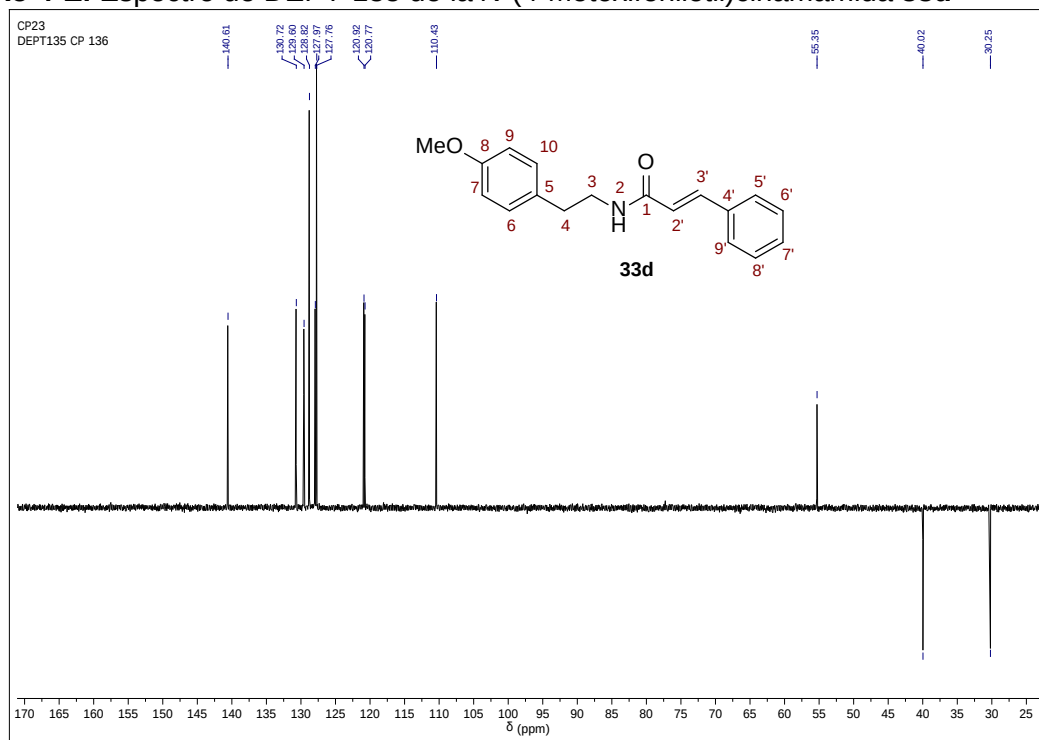
Anexo 4-C. Espectro de ^1H RMN de la *N*-(4-Metoxifeniletil)cinámamida **33d**



Anexo 4-D. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(4-Metoxifeniletil)cinámamida **33d**

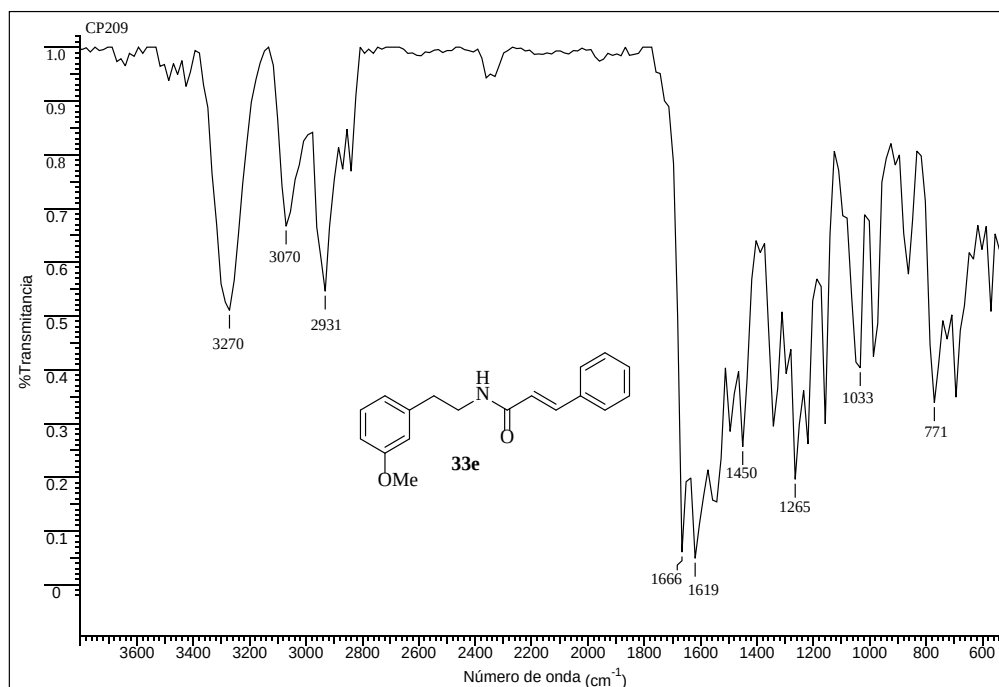


Anexo 4-E. Espectro de DEPT-135 de la *N*-(4-Metoxifeniletil)cinámamida **33d**

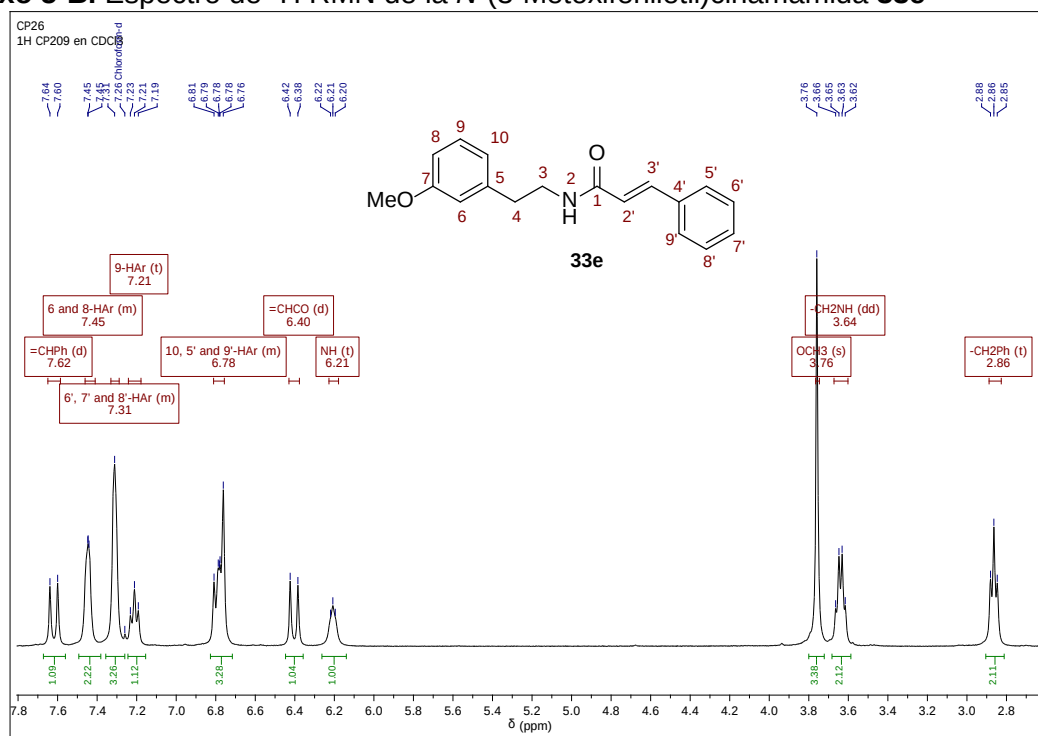


Anexo 5. Espectros relacionados con el compuesto **33e**.

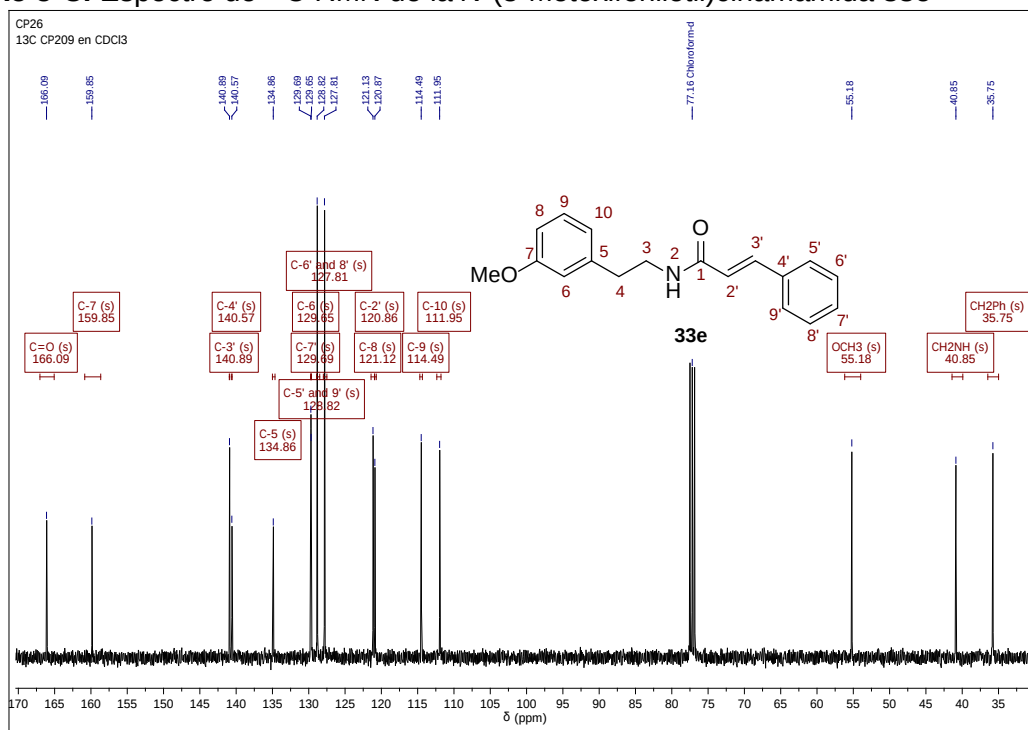
Anexo 5-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(3-Metoxifeniletil)cinámamida **33e**



Anexo 5-B. Espectro de ¹H RMN de la *N*-(3-Metoxifeniletil)cinámamida **33e**

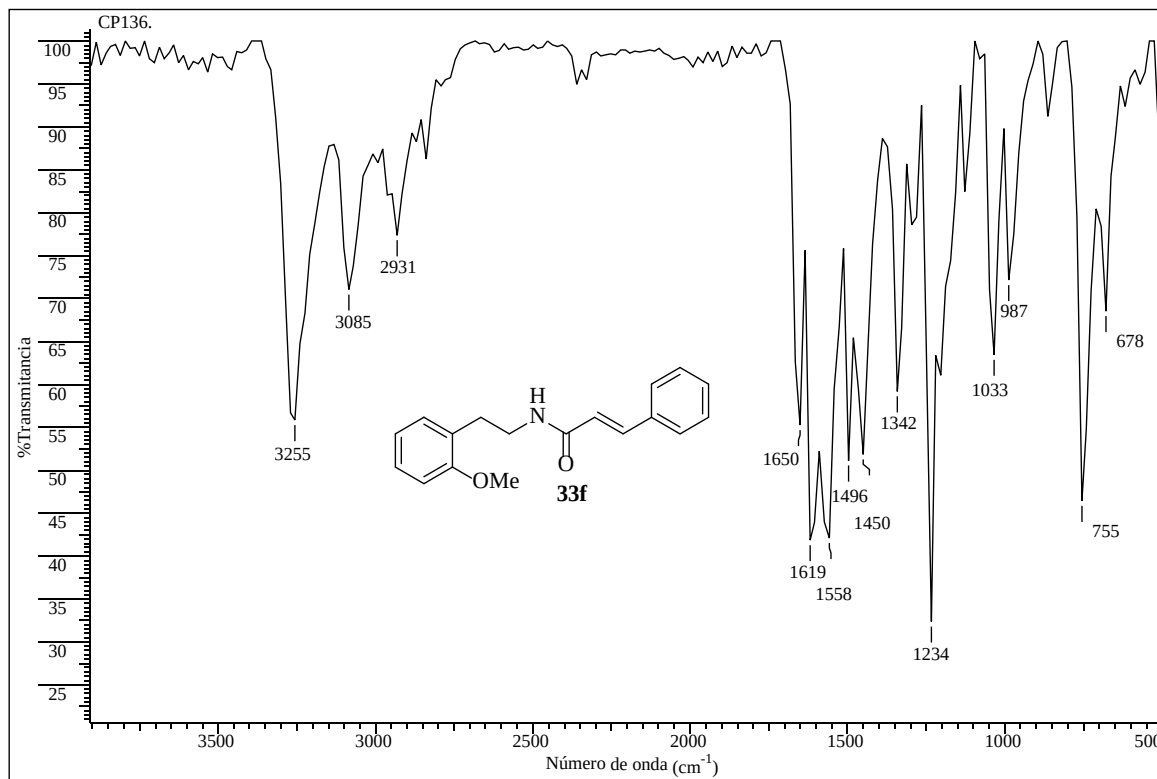


Anexo 5-C. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(3-Metoxifenil)etil)cinámamida **33e**

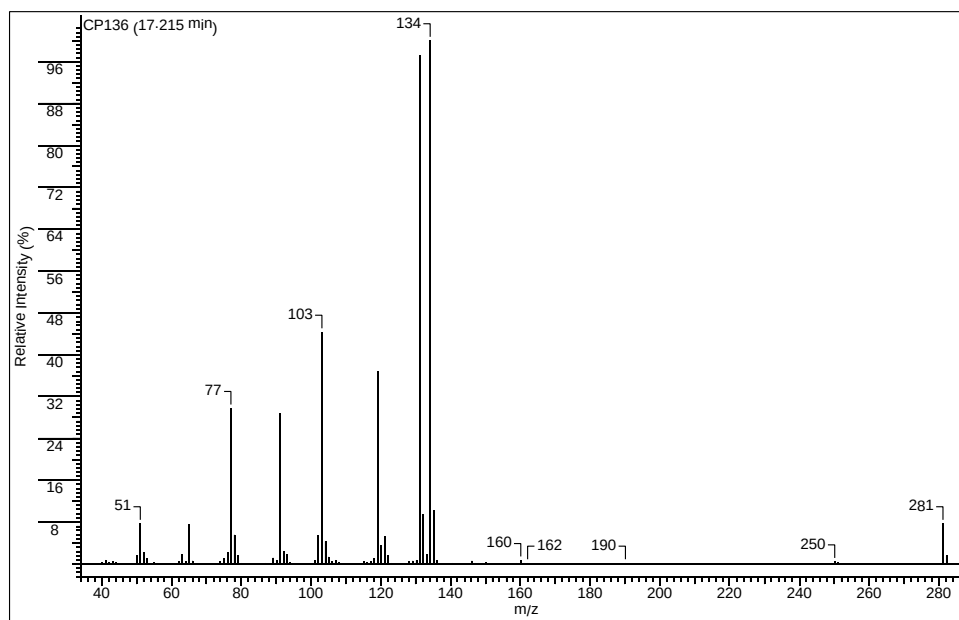


Anexo 6. Espectros relacionados con el compuesto **33f**.

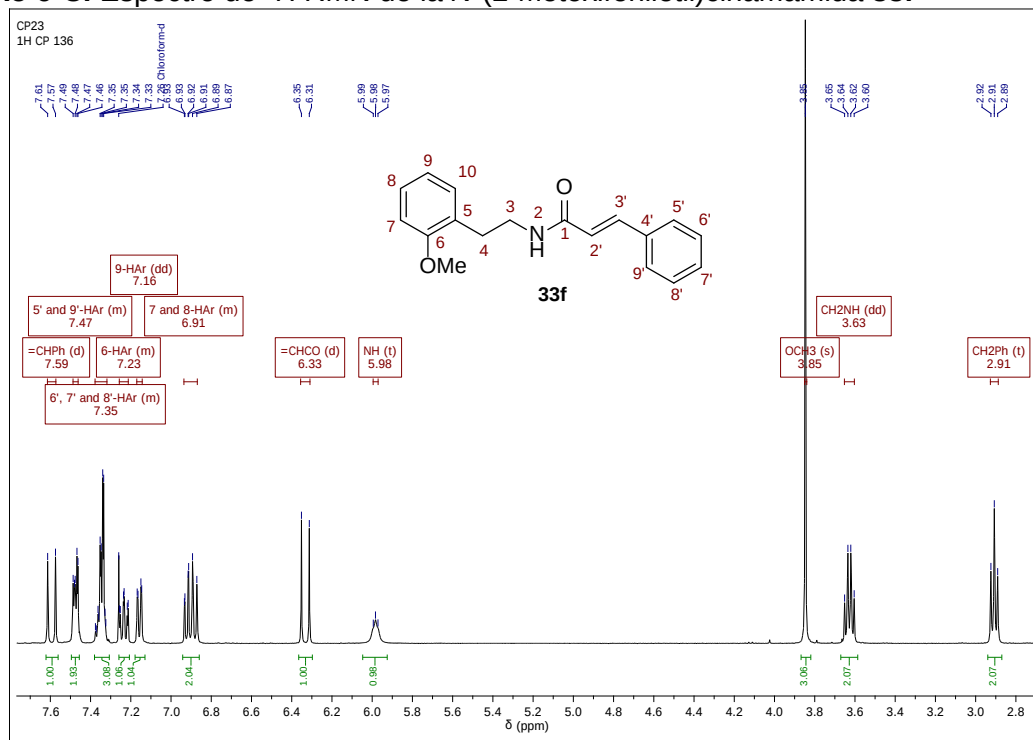
Anexo 6-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(2-Metoxifeniletíl)cinámamida **33f**



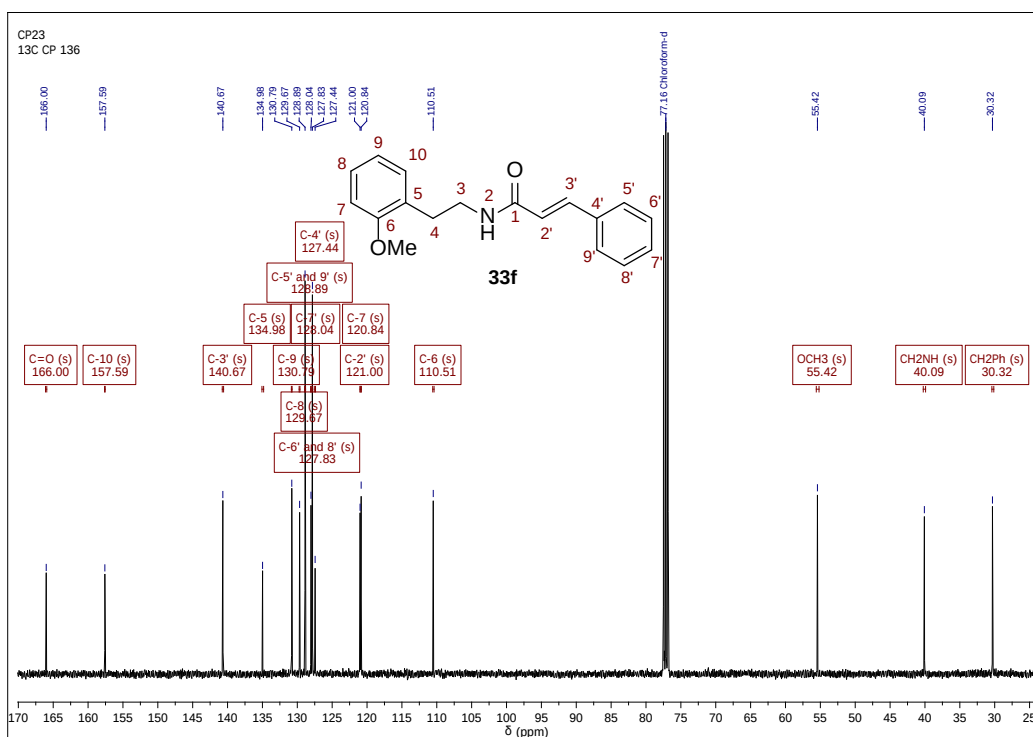
Anexo 6-B. Fragmentograma de la *N*-(2-Metoxifeniletíl)cinámamida **33f**



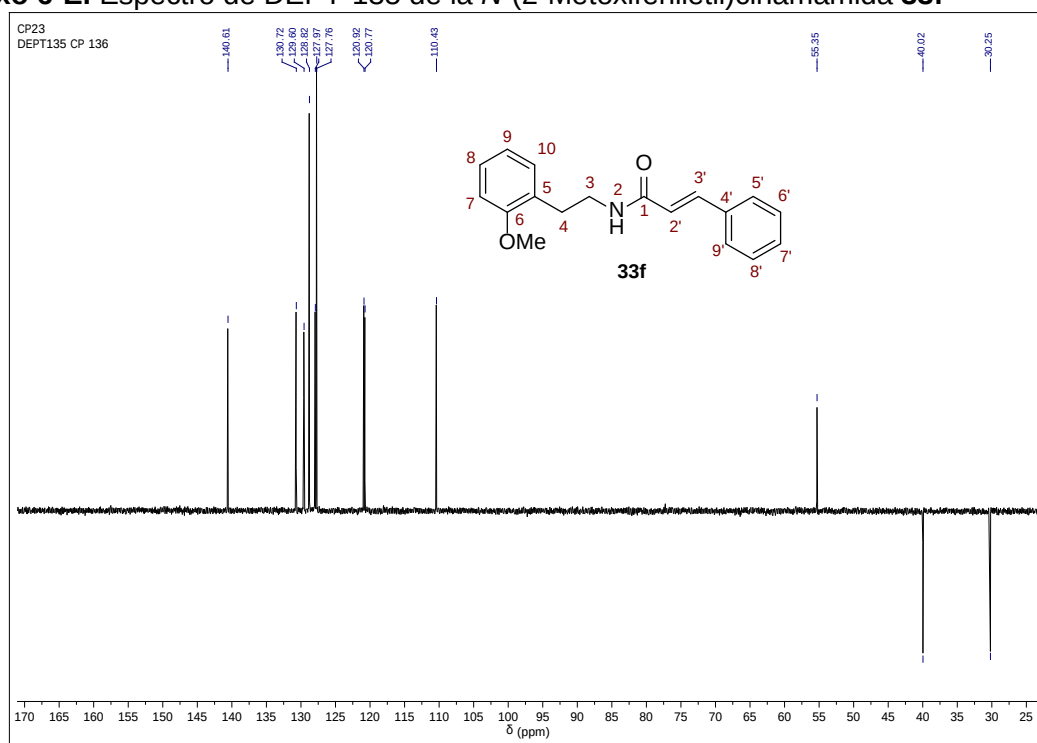
Anexo 6-C. Espectro de ^1H RMN de la *N*-(2-Metoxifeniletil)cinámamida **33f**



Anexo 6-D. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(2-Metoxifeniletil)cinámamida **33f**

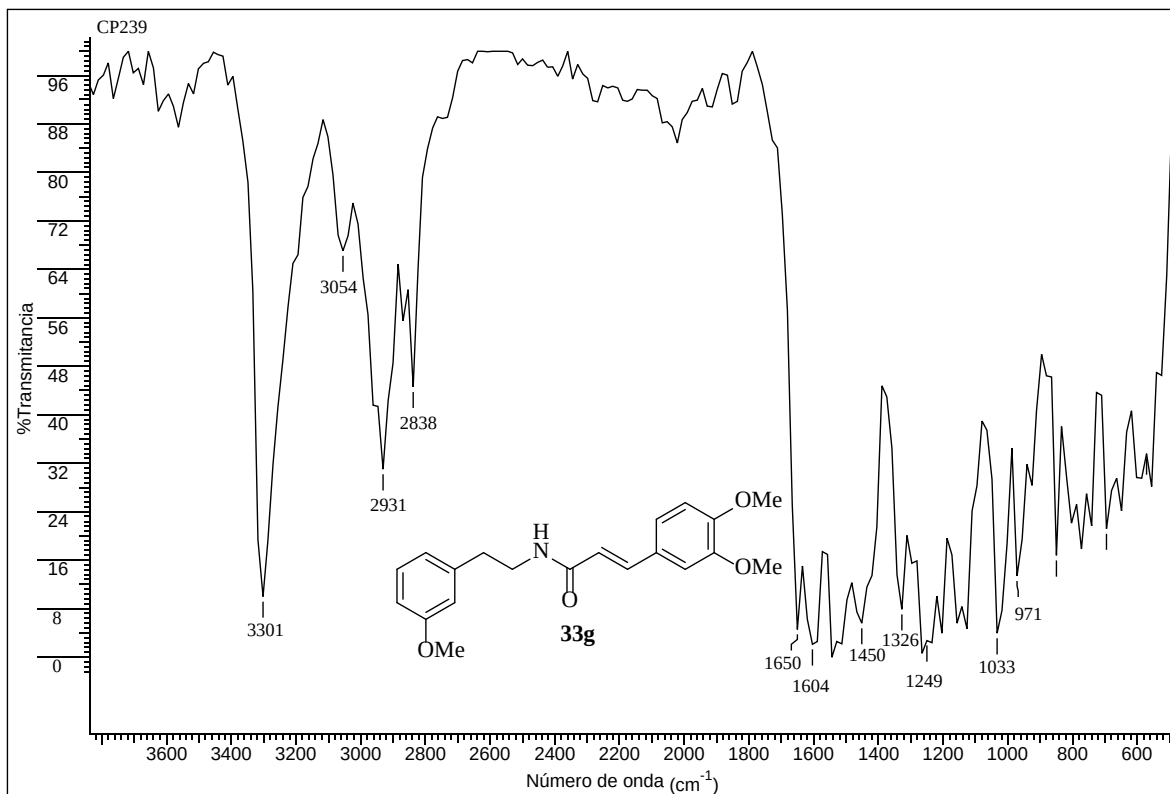


Anexo 6-E. Espectro de DEPT-135 de la *N*-(2-Metoxifeniletil)cinámamida **33f**

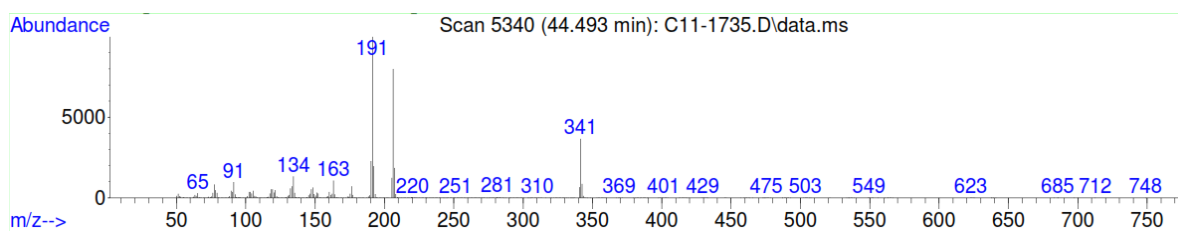


Anexo 7. Espectros relacionados con el compuesto **33g**.

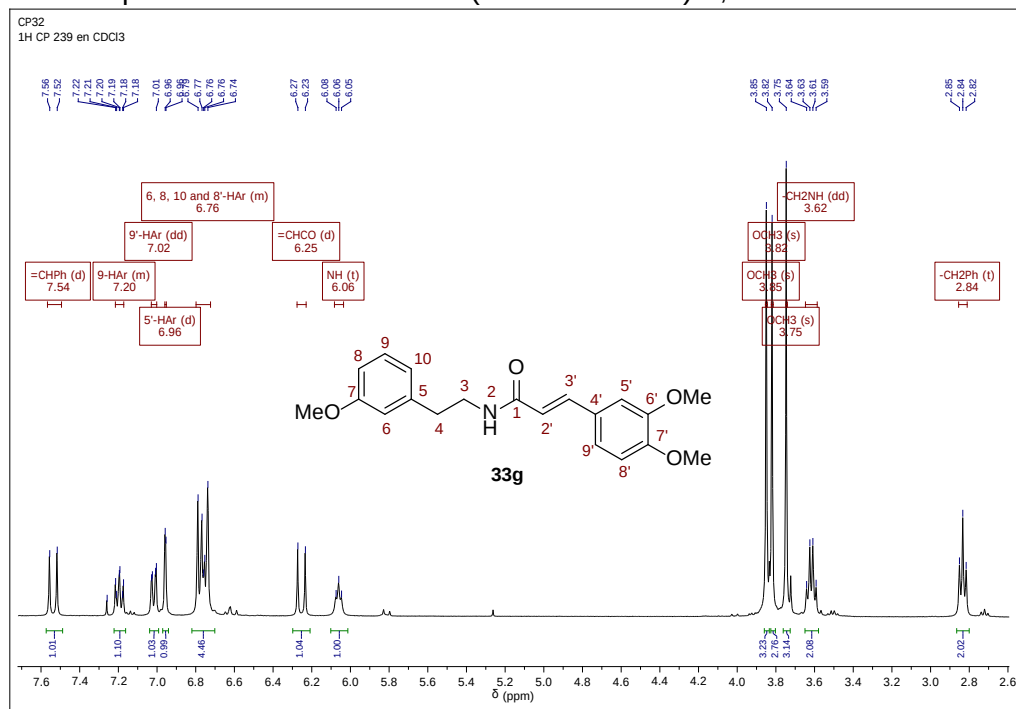
Anexo 7-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(3-Metoxifeniletil)-3,4-dimetoxicinamamida **33g**.



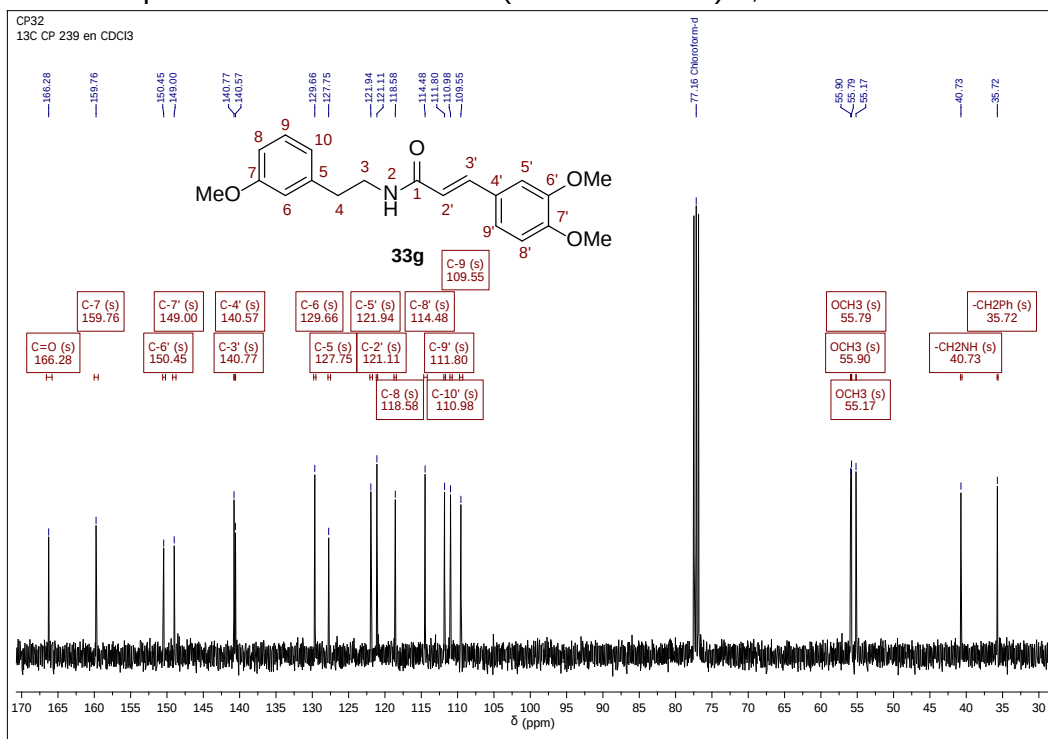
Anexo 7-B. Fragmentograma de la *N*-(3-Metoxifeniletil)-3,4-dimetoxicinamamida **33g**.



Anexo 7-C. Espectro de ^1H RMN de la *N*-(3-Metoxifeniletíl)-3,4-dimetoxicinamamida **33g.**

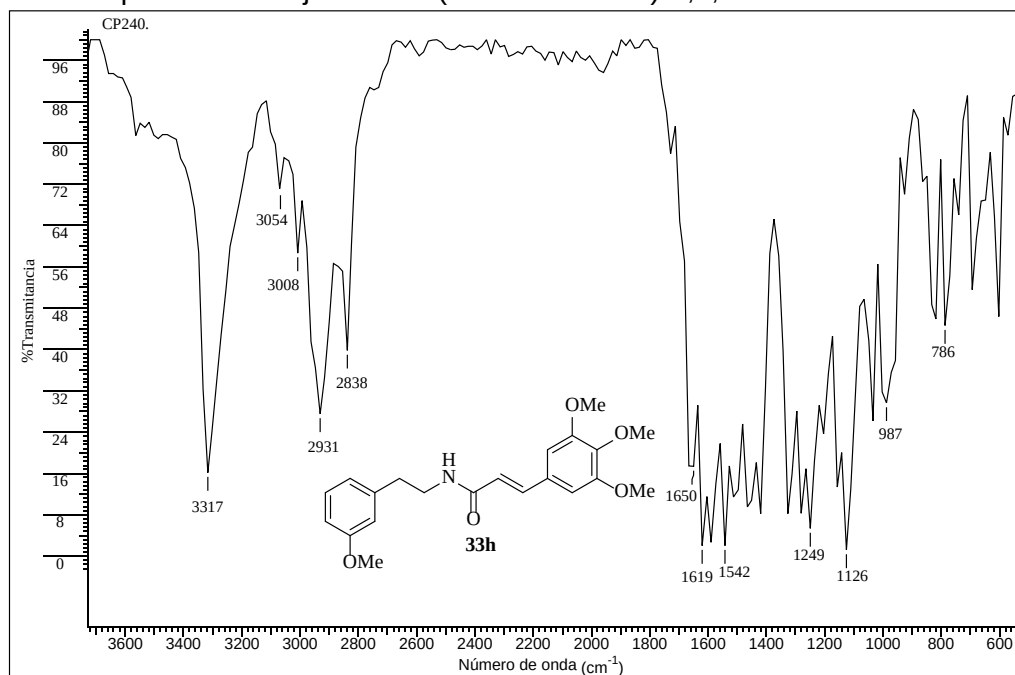


Anexo 7-D. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(3-Metoxifeniletíl)-3,4-dimetoxicinamamida **33g.**

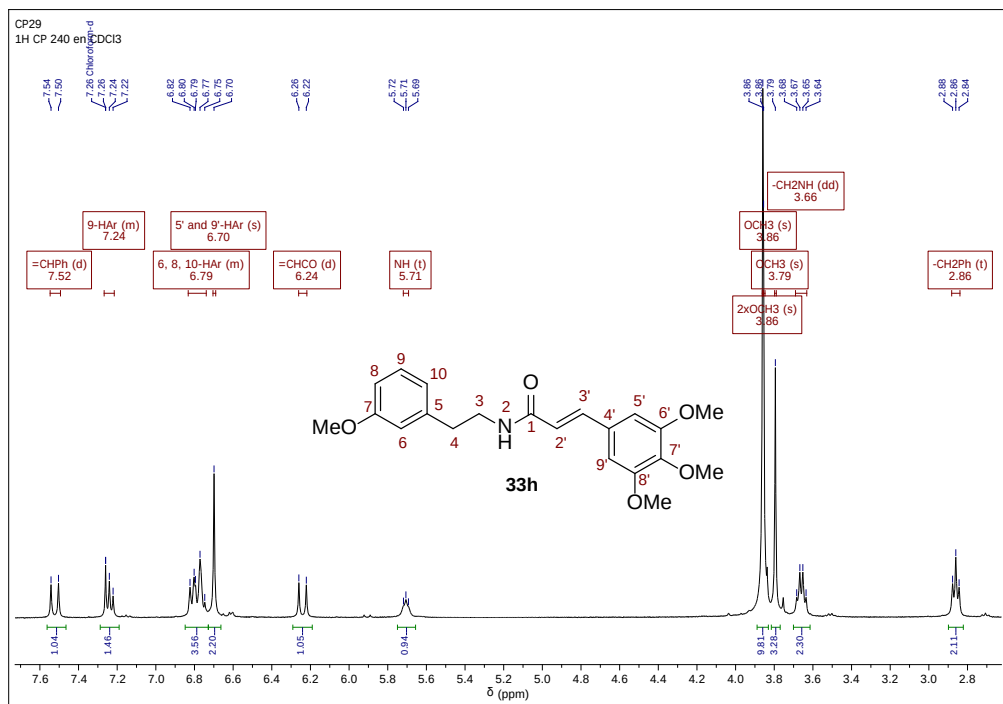


Anexo 8. Espectros relacionados con el compuesto 33h.

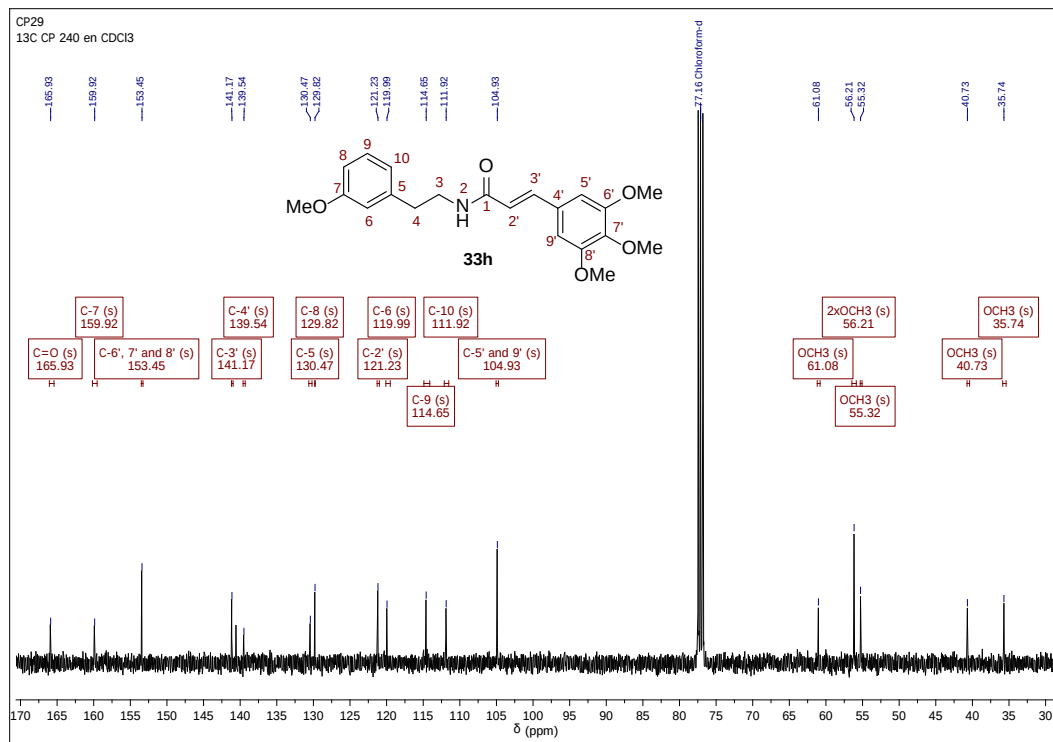
Anexo 8-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(3-Metoxifeniletíl)-3,4,5-trimetoxicinamamida 33h.



Anexo 8-B. Espectro de ¹H RMN de la *N*-(3-Metoxifeniletíl)-3,4,5-trimetoxicinamamida 33h.

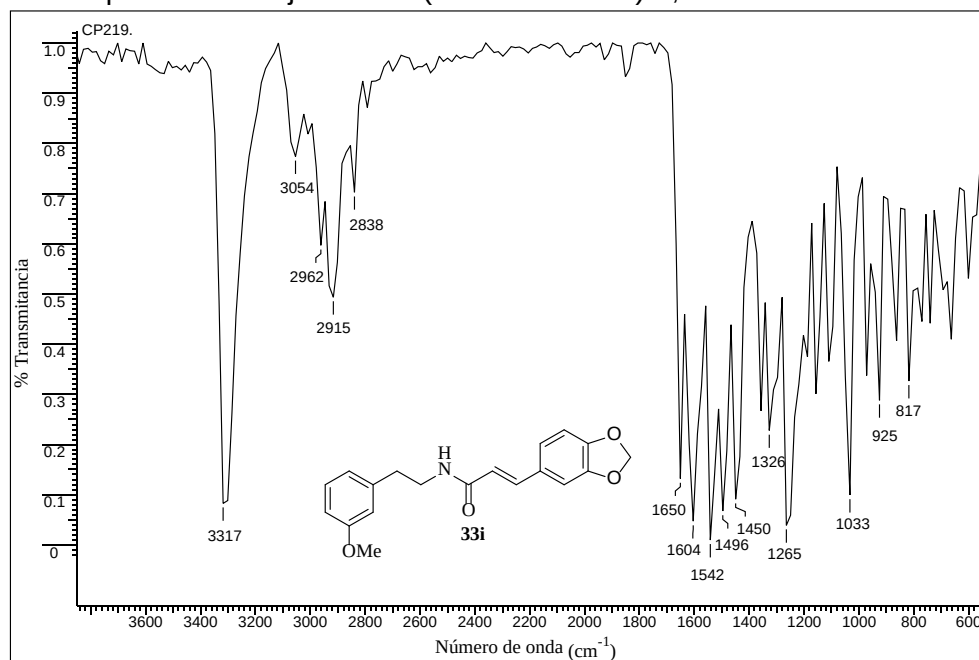


Anexo 8-C. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(3-Metoxifeniletil)-3,4,5-trimetoxicinamamida 33h.

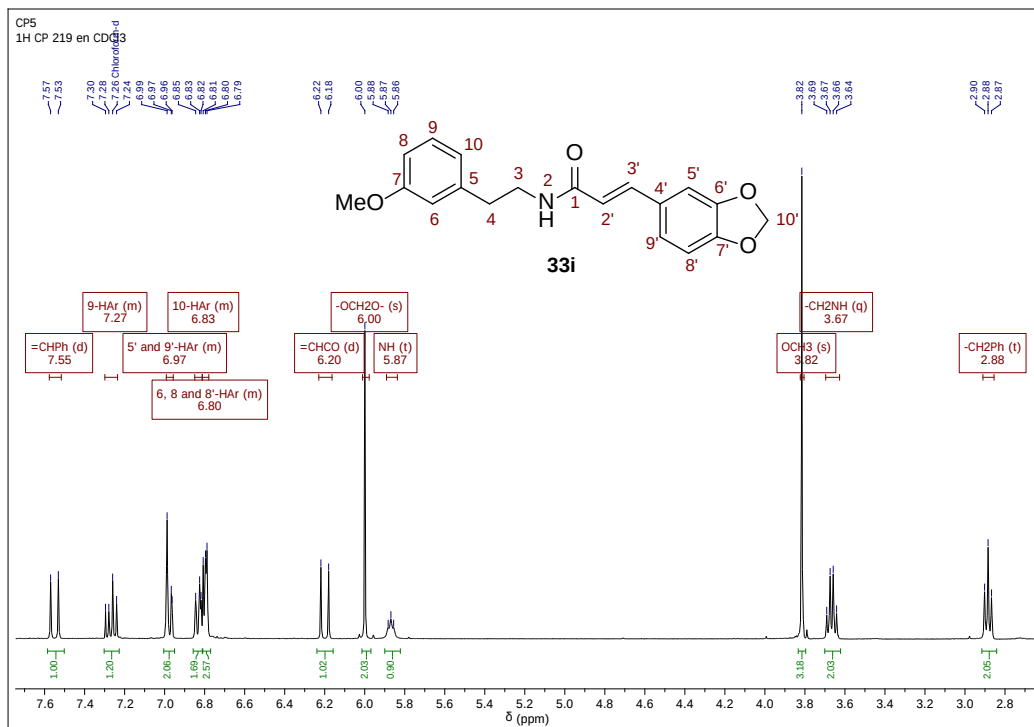


Anexo 9. Espectros relacionados con el compuesto **33i**.

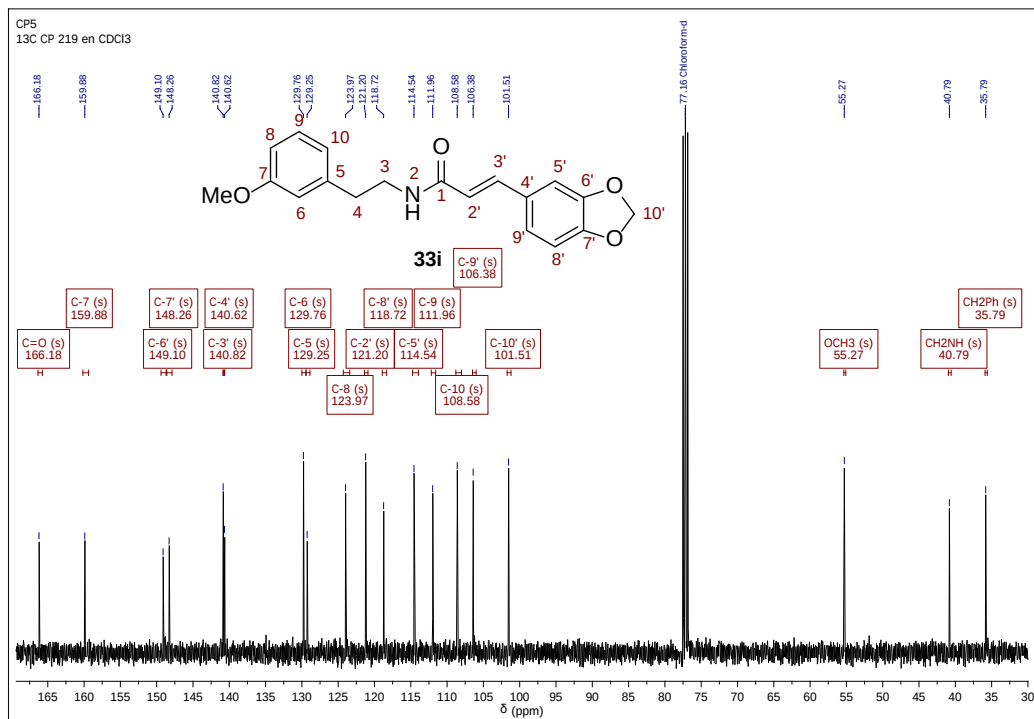
Anexo 9-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(3-Metoxifenilet)-3,4-metilendioxi-cinamamida **33i**



Anexo 9-B. Espectro de ¹H RMN de la *N*-(3-Metoxifenilet)-3,4-metilendioxi-cinamamida **33i**

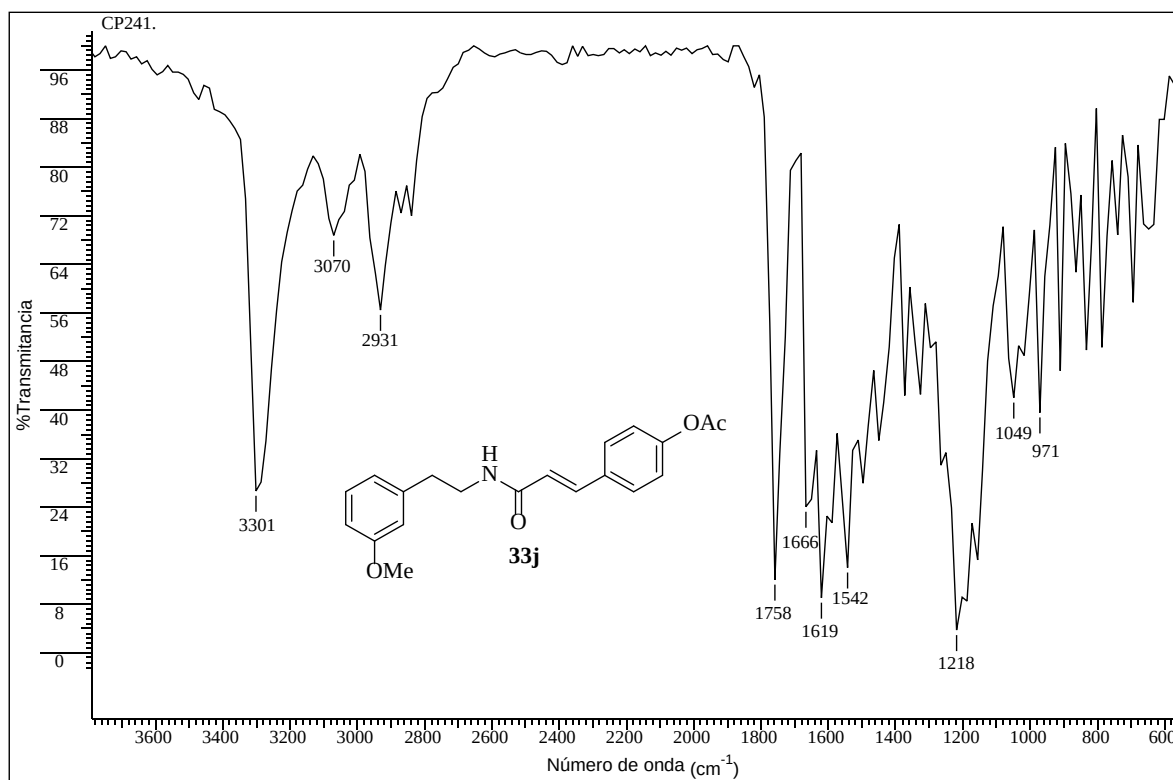


Anexo 9-C. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(3-Metoxifenil)-3,4-metilendioxi-cinamamida **33i**

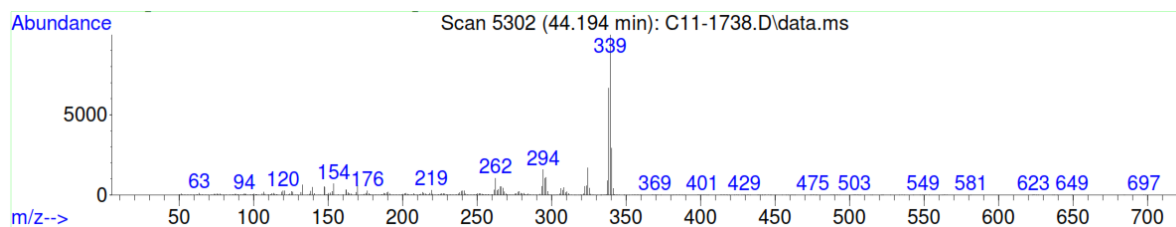


Anexo 10. Espectros relacionados con el compuesto **33j**.

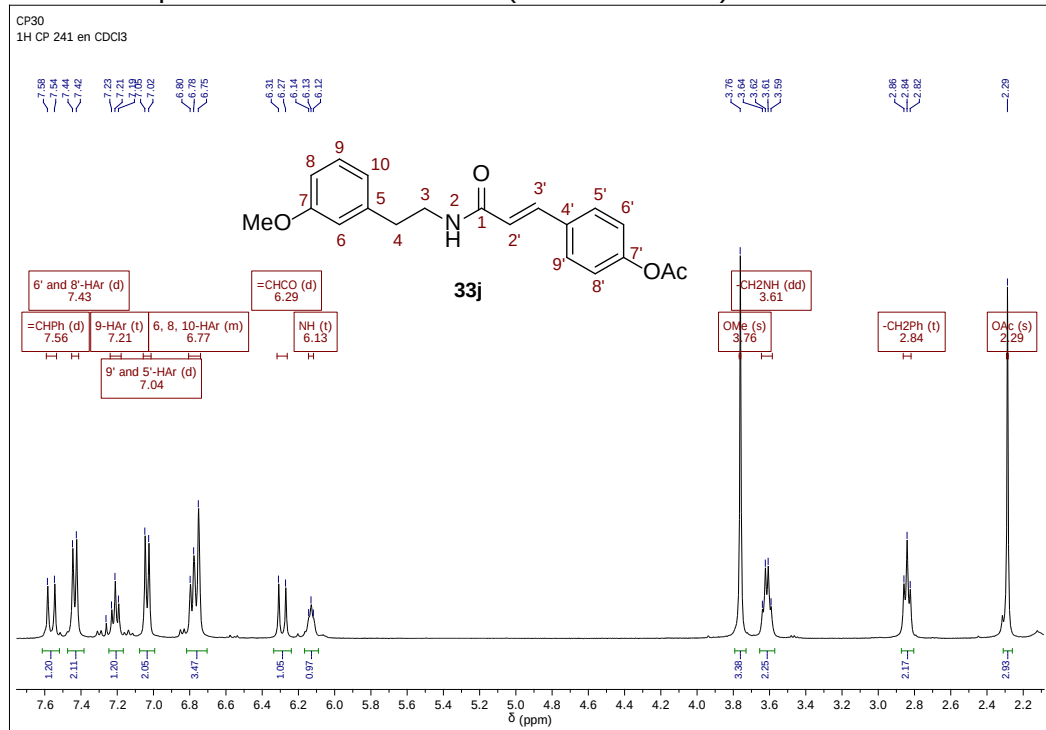
Anexo 10-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(3-metoxifeniletil)-4-acetoxicinamamida **33j**.



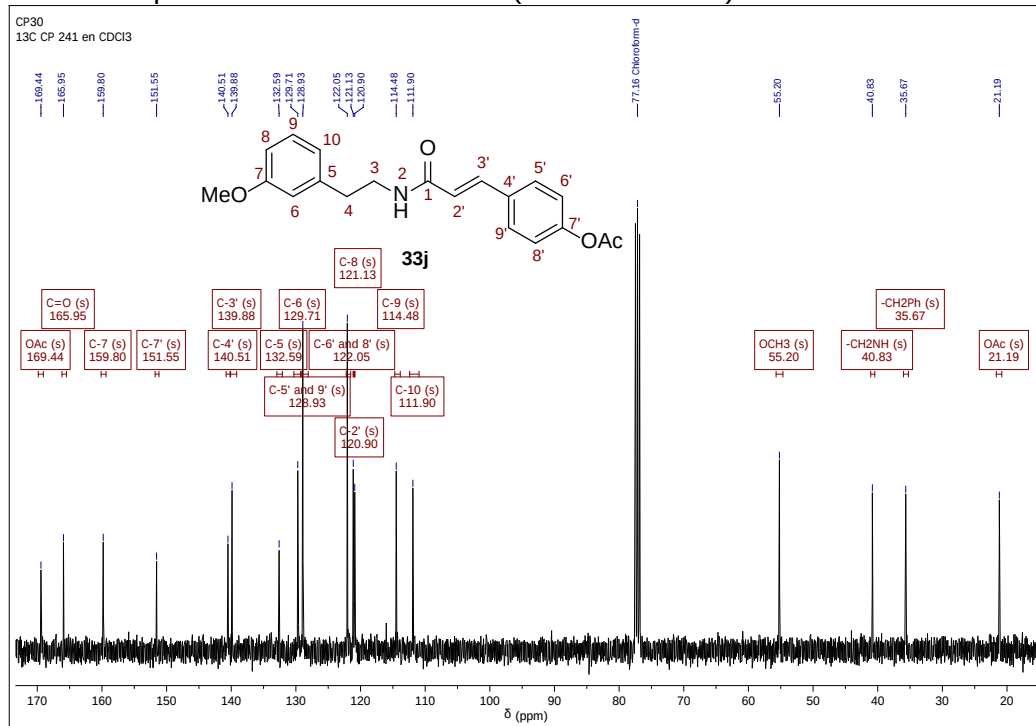
Anexo 10-B. Fragmentograma de la *N*-(3-metoxifeniletil)-4-acetoxicinamamida **33j**.



Anexo 10-C. Espectro de ^1H RMN de la *N*-(3-metoxifeniletil)-4-acetoxicinamamida **33j.**

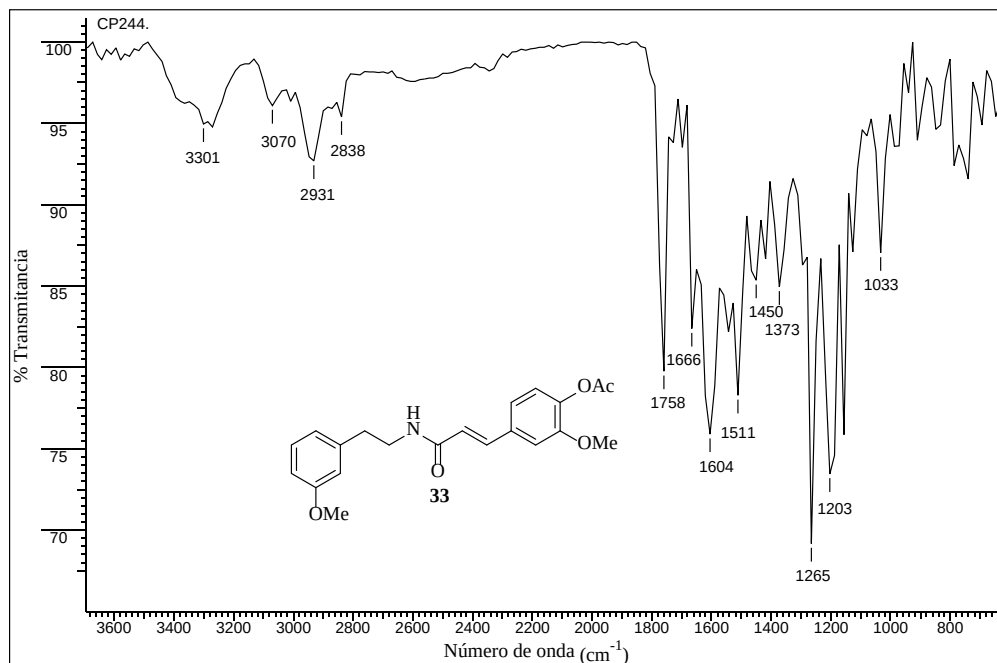


Anexo 10-D. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(3-metoxifeniletil)-4-acetoxicinamamida **33j.**

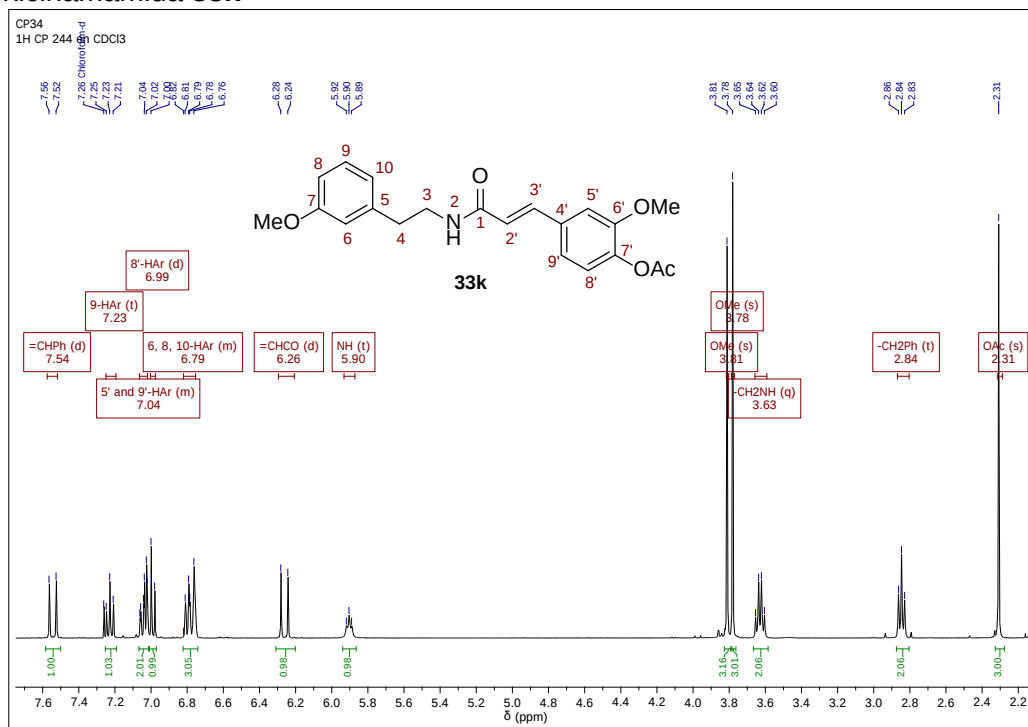


Anexo 11. Espectros relacionados con el compuesto **33k**.

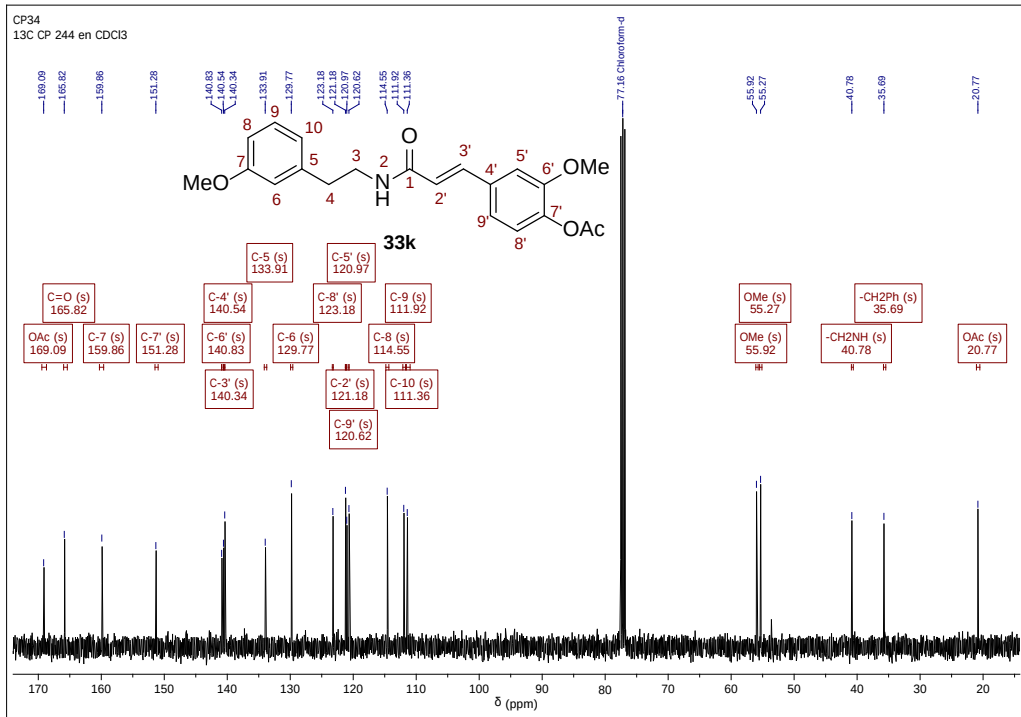
Anexo 11-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(3-Metoxifeniletíl)-4-acetoxi-3-metoxicinamamida **33k**



Anexo 11-B. Espectro de ^1H RMN de la *N*-(3-Metoxifeniletíl)-4-acetoxi-3-metoxicinamamida **33k**

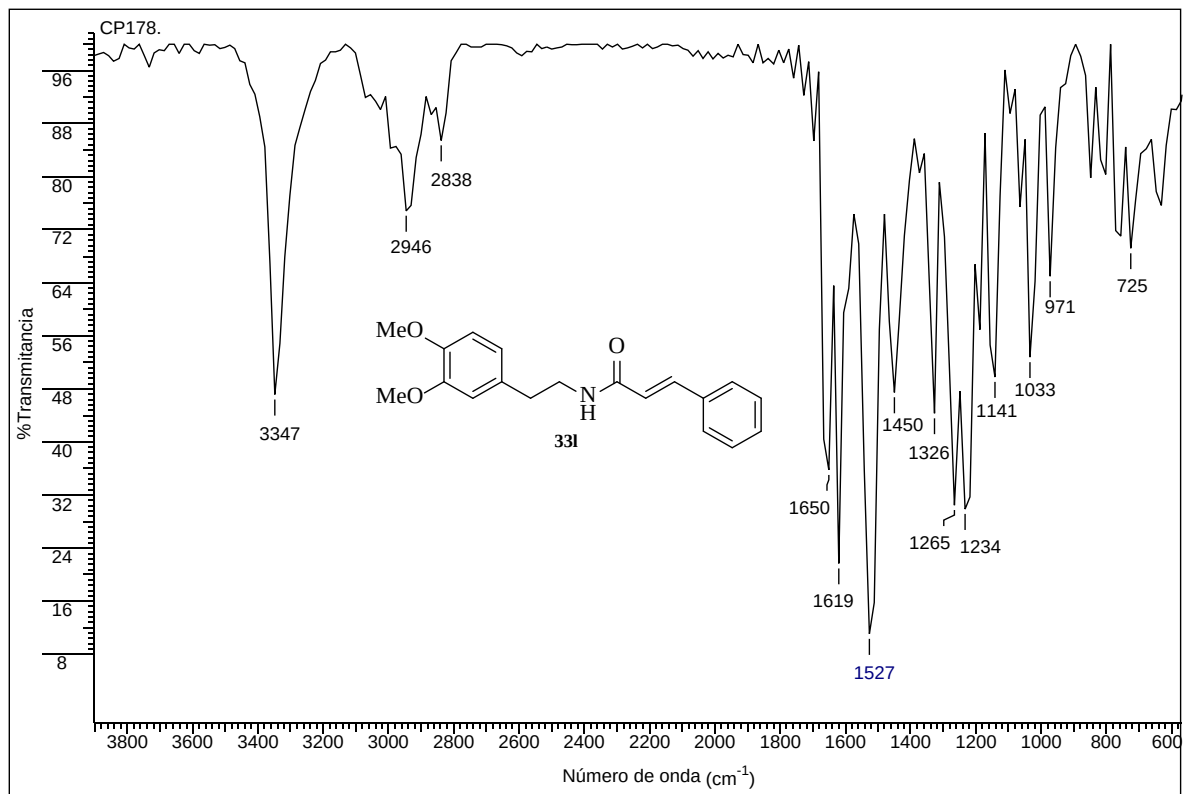


Anexo 11-C. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(3-Metoxifeniletíl)-4-acetoxi-3-metoxicinamamida **33k**

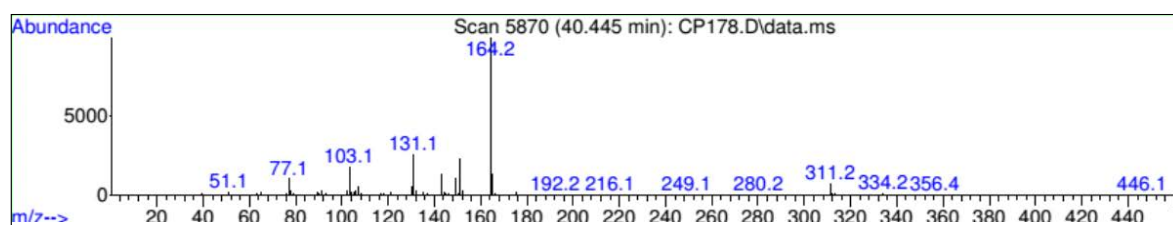


Anexo 12. Espectros relacionados con el compuesto **33I**.

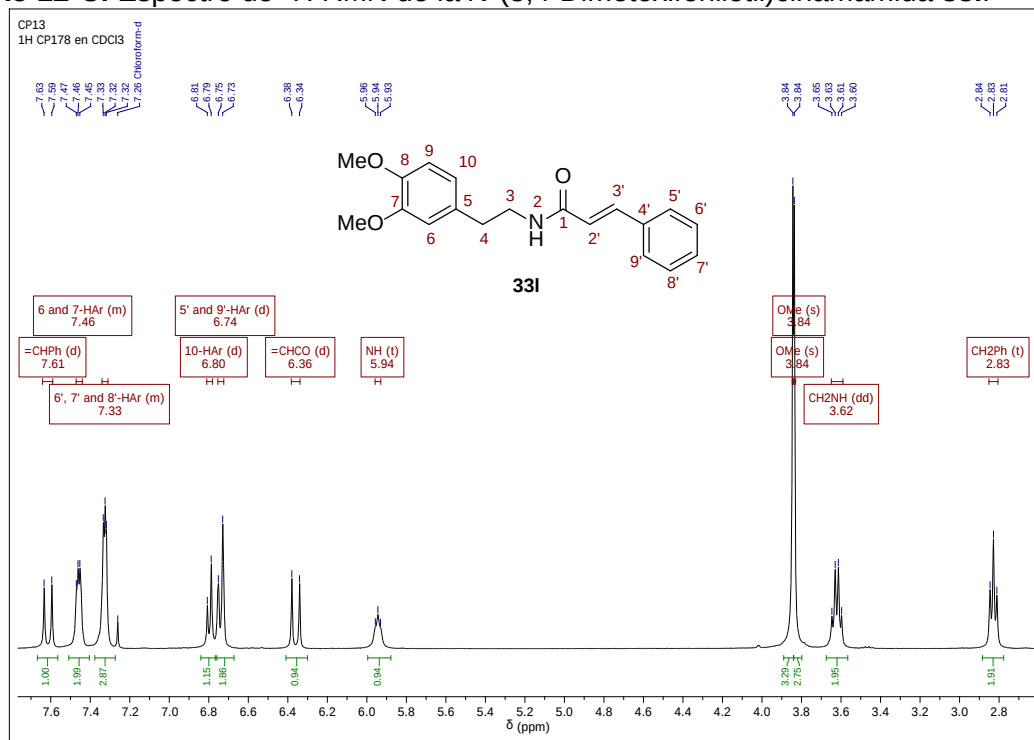
Anexo 12-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)cinámamida **33I**.



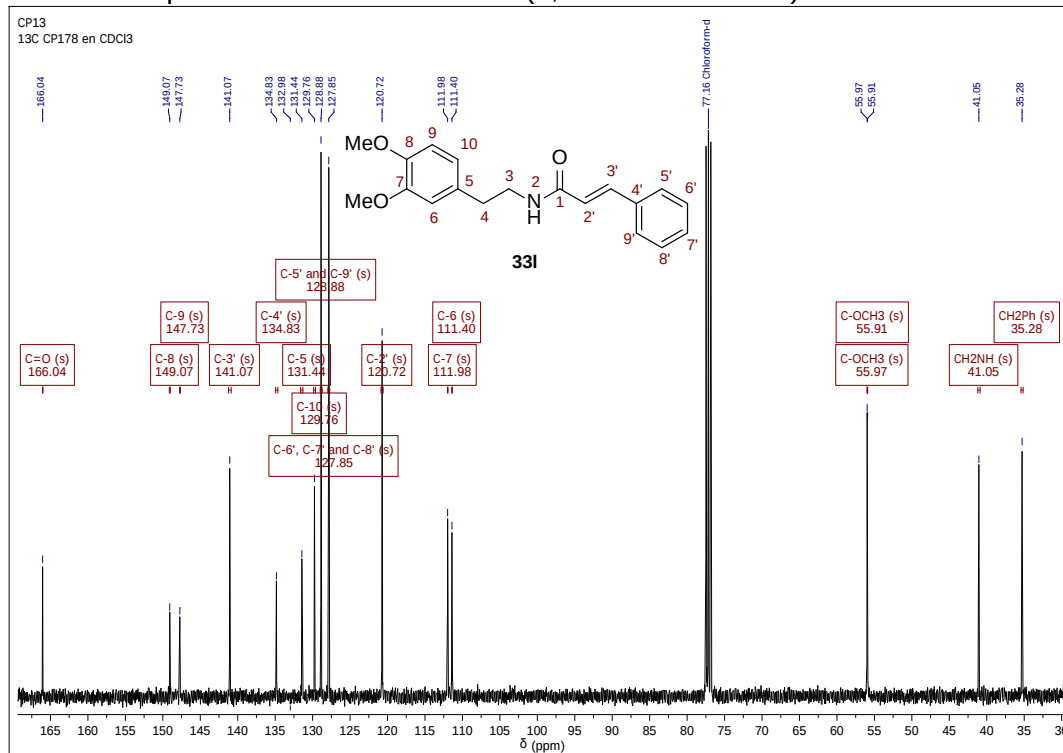
Anexo 12-B. Fragmentograma de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)cinámamida **33I**.



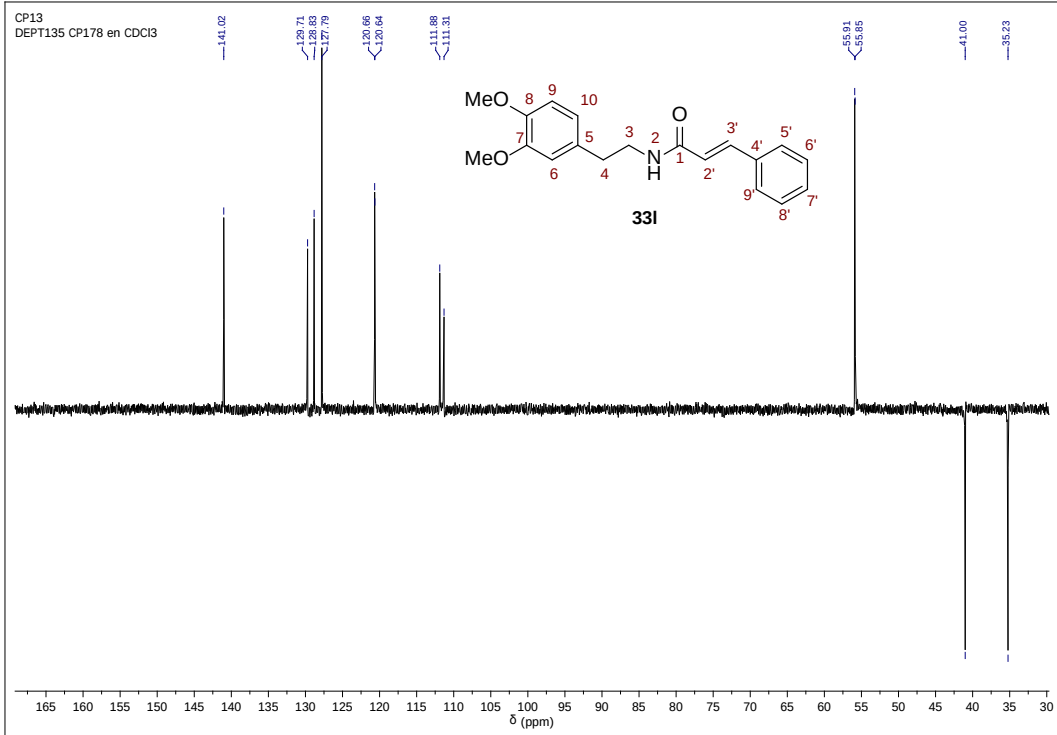
Anexo 12-C. Espectro de ^1H RMN de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)cinámamida **33I**.



Anexo 12-D. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)cinámamida **33I**.

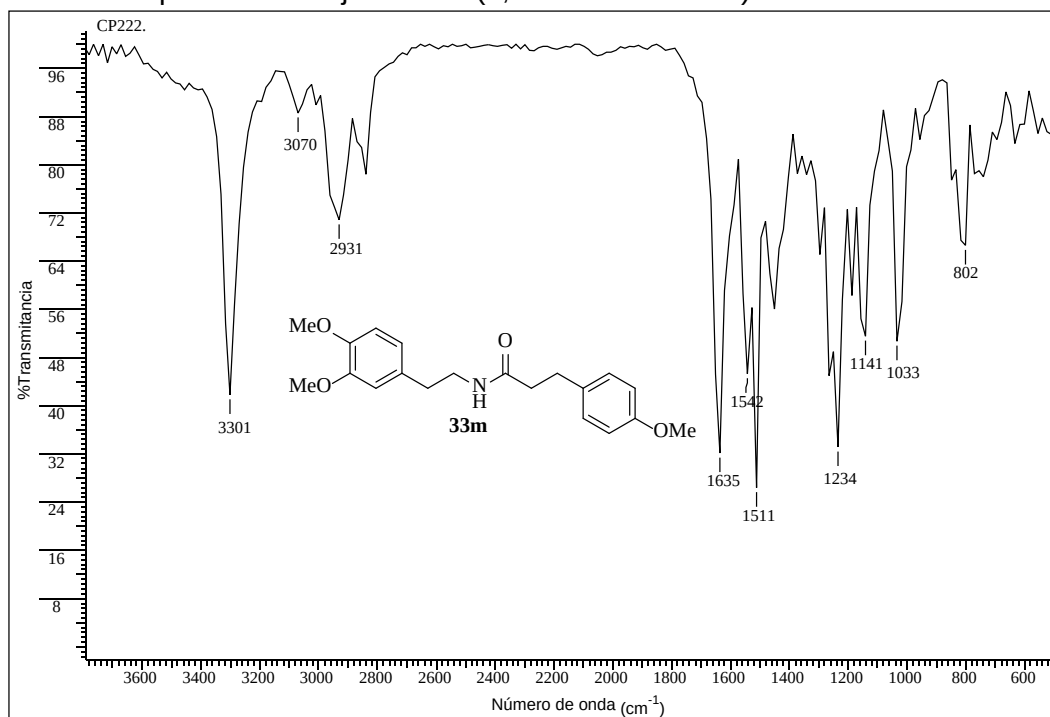


Anexo 12-E. Espectro de DEPT-135 de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)cinámamida **33l**.

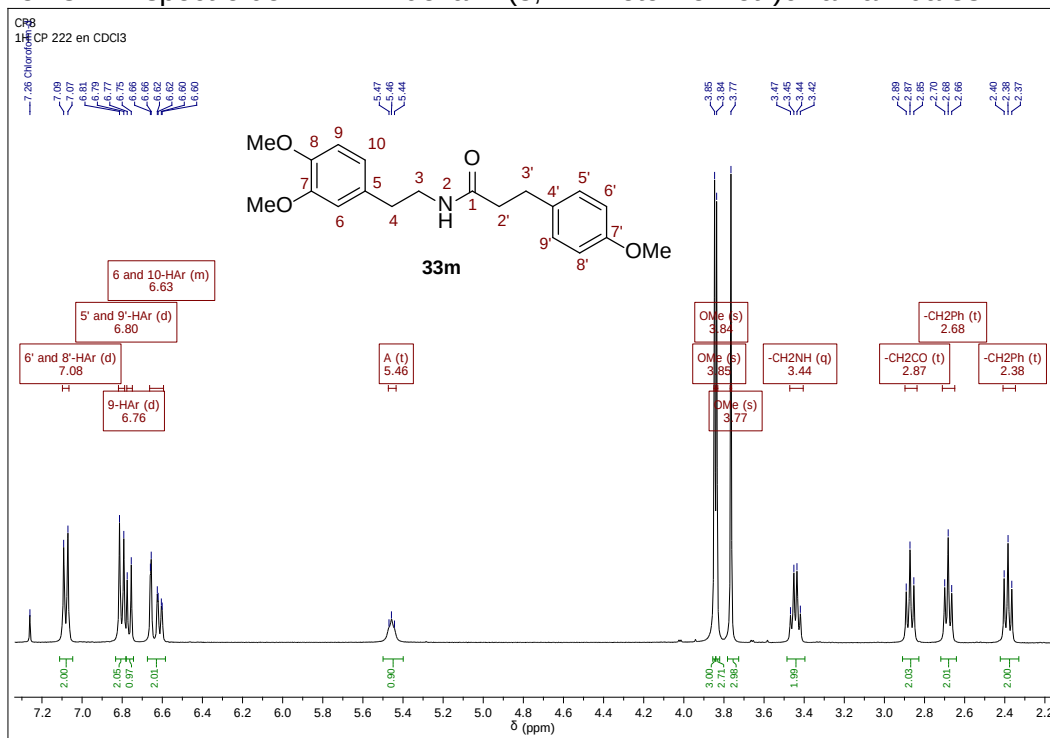


Anexo 13. Espectros relacionados con el compuesto **33m**.

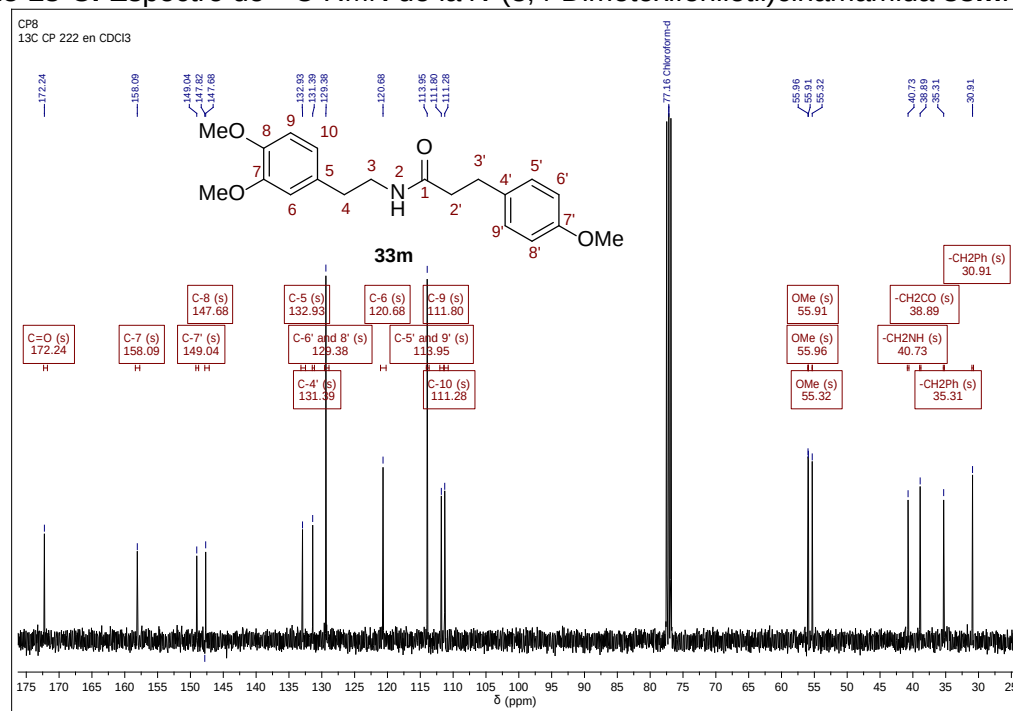
Anexo 13-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)cinámamida **33m**.



Anexo 13-B. Espectro de ¹H RMN de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)cinámamida **33m**.

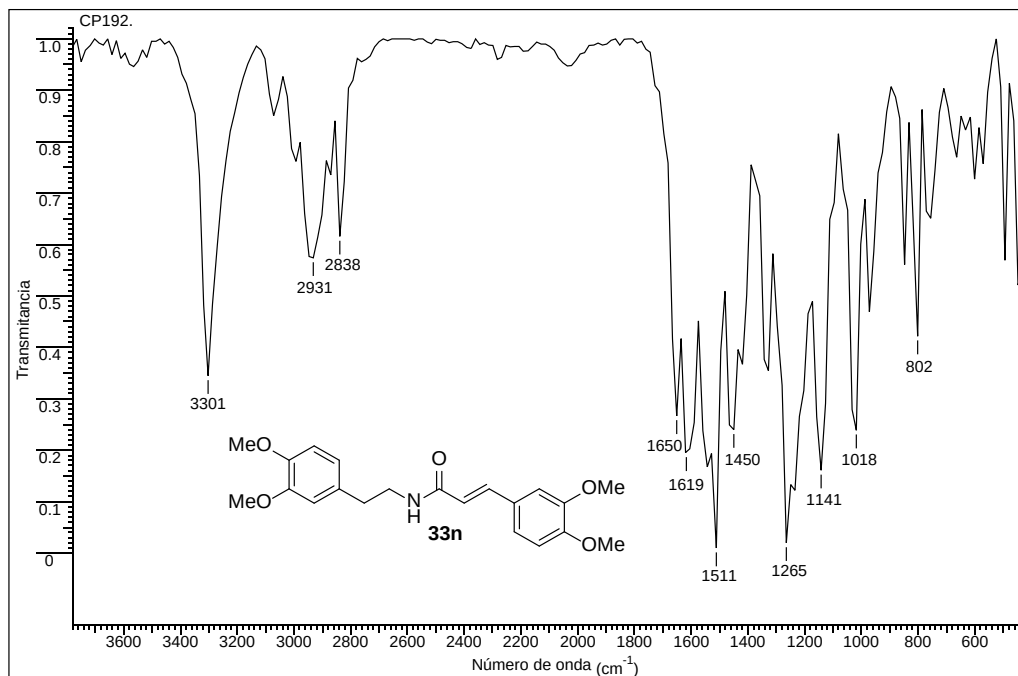


Anexo 13-C. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)cinámamida **33m**.

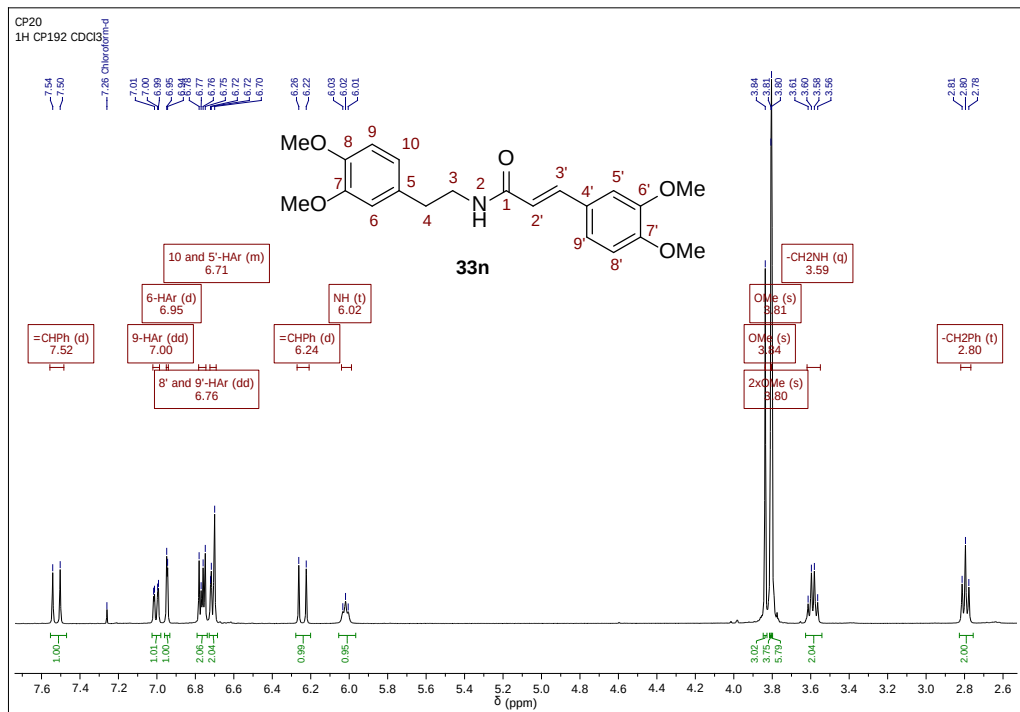


Anexo 14. Espectros relacionados con el compuesto **33n**.

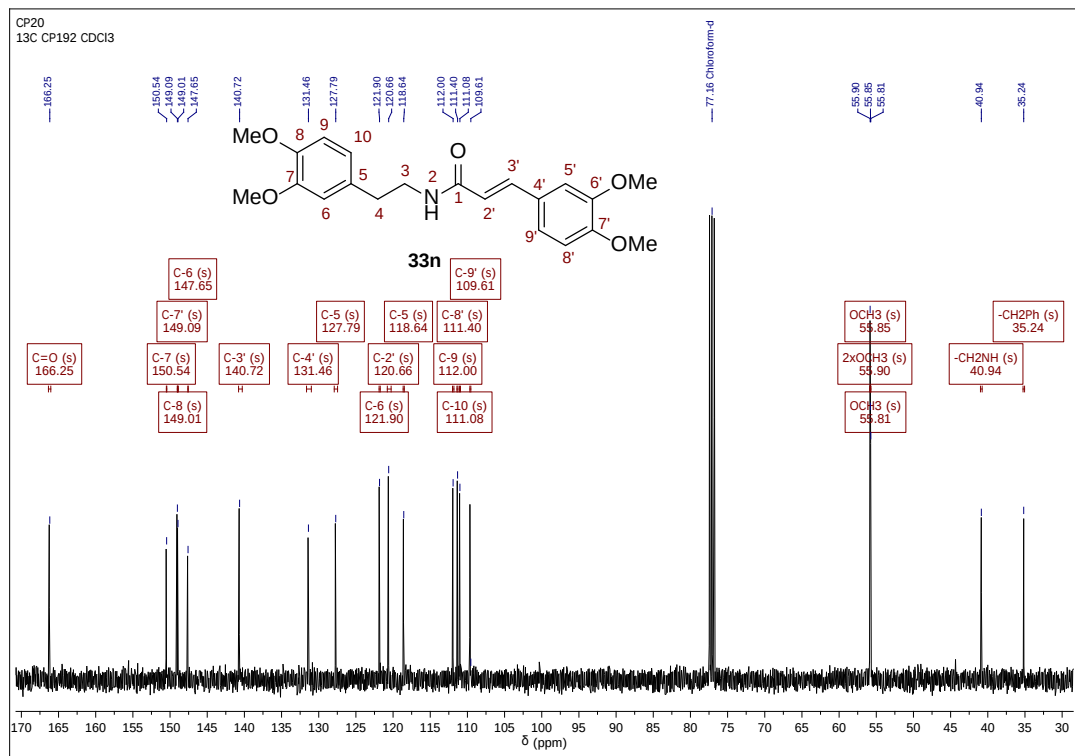
Anexo 14-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(3,4-Dimetoxifenilet)-3,4-dimetoxicinámamida **33n**.



Anexo 14-B. Espectro de ¹H RMN de la *N*-(3,4-Dimetoxifenilet)-3,4-dimetoxicinámamida **33n**.

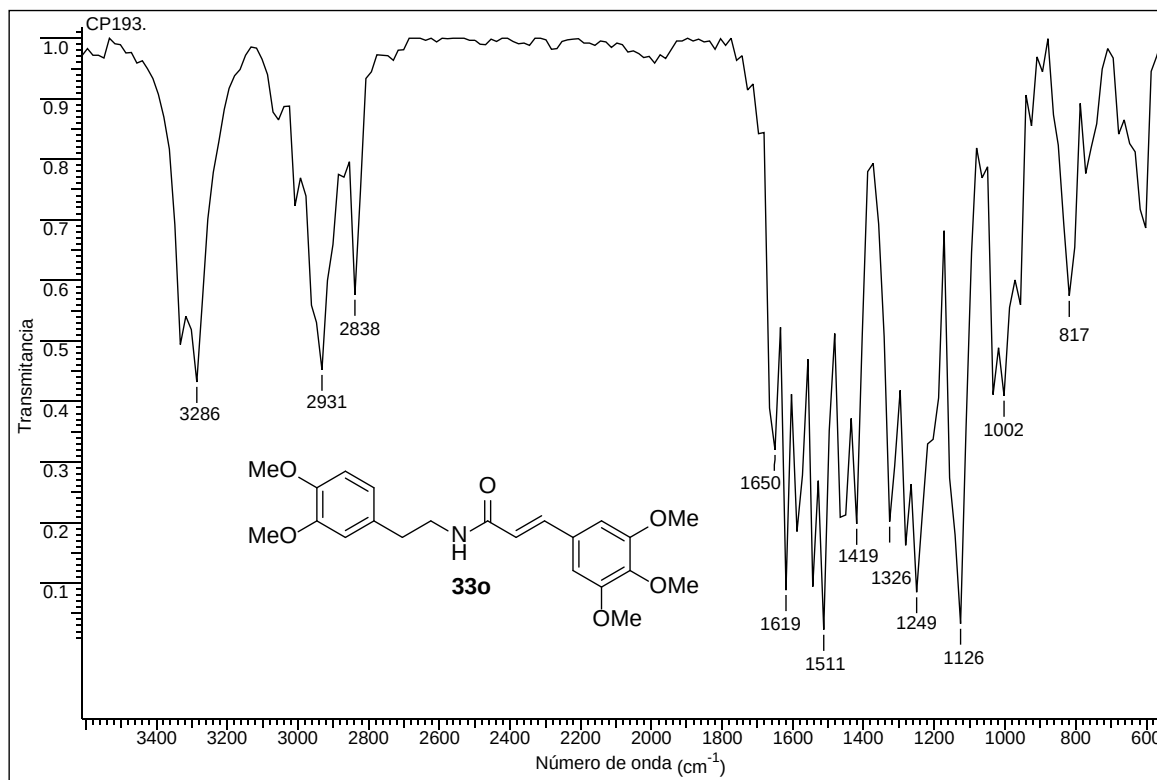


Anexo 14-C. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletíl)-3,4-dimetoxicinámamida **33n**.

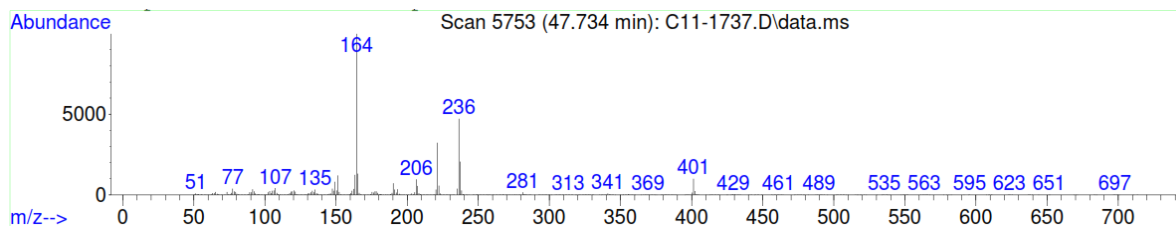


Anexo 15. Espectros relacionados con el compuesto **33o**.

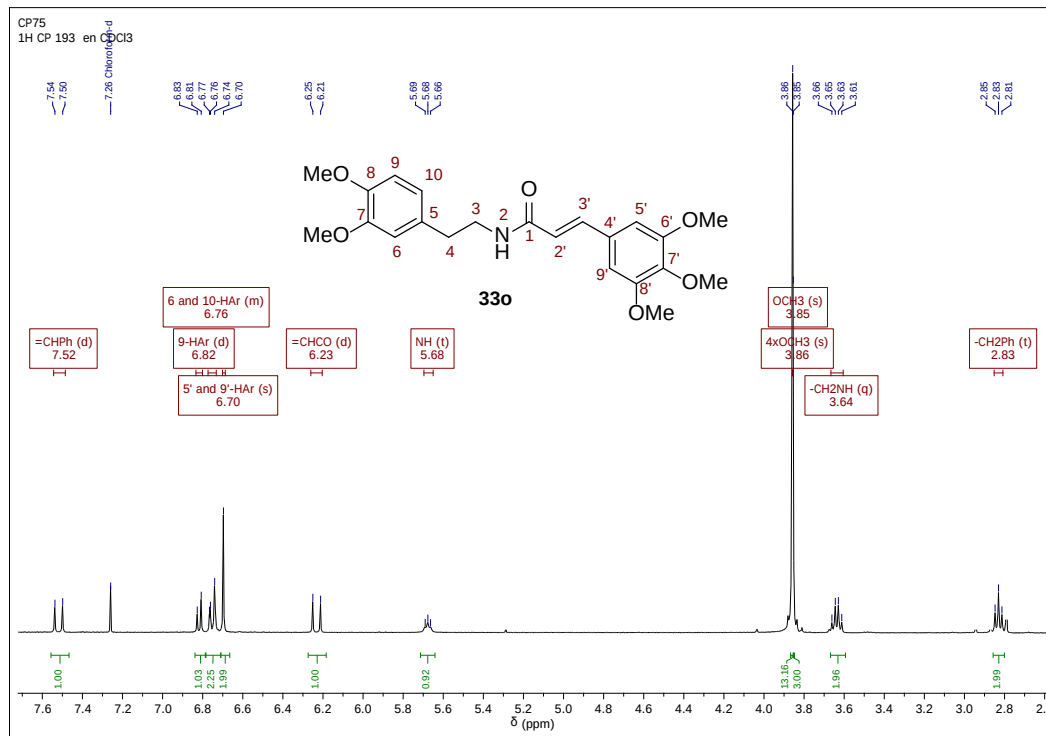
Anexo 15-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)-3,4-trimetoxicinámida **33o**.



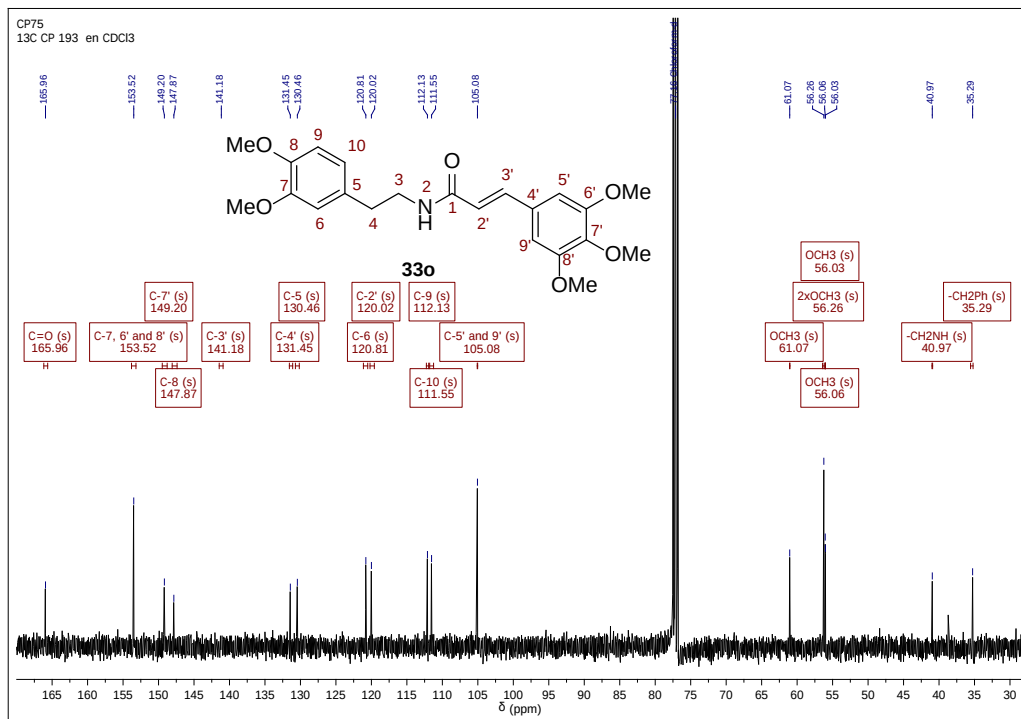
Anexo 15-B. Fragmentograma de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)-3,4-trimetoxicinámida **33o**.



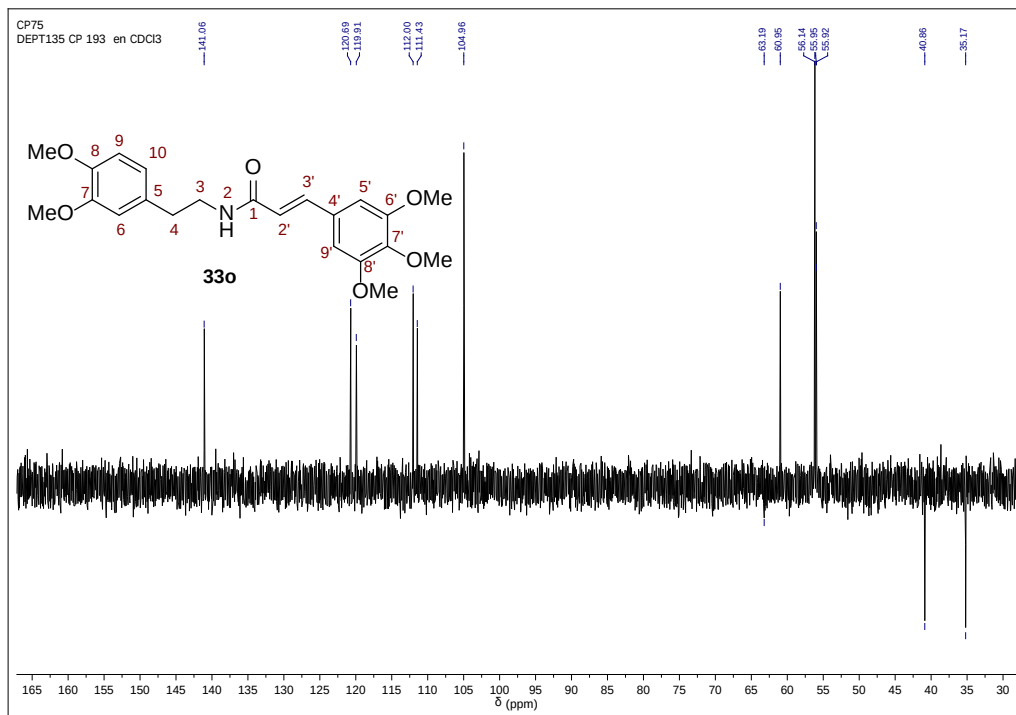
Anexo 15-C. Espectro de ^1H RMN de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)-3,4-trimetoxicinámida 33o.



Anexo 15-D. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)-3,4-trimetoxicinámida 33o.

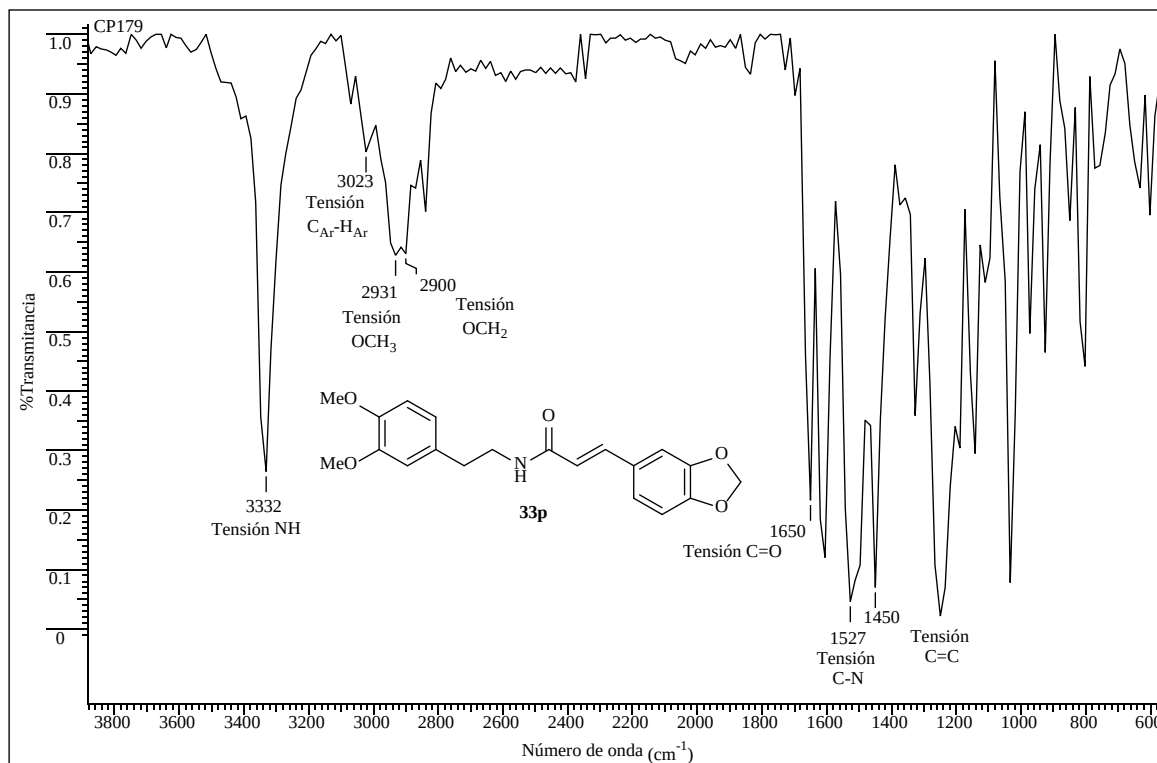


Anexo 15-E. Espectro DEPT-135 de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)-3,4-trimetoxicinámida **33o.**

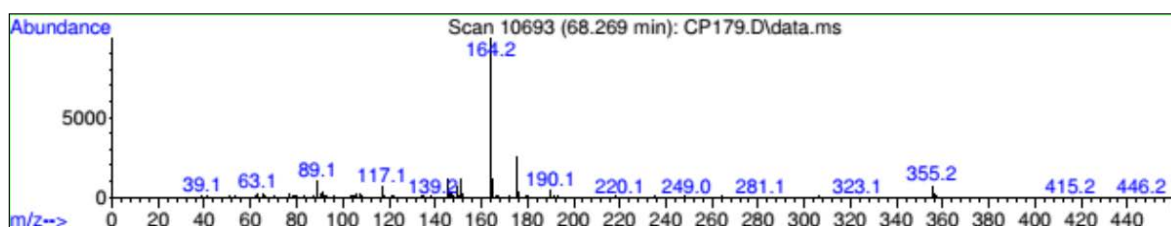


Anexo 16. Espectros relacionados con el compuesto **33p**.

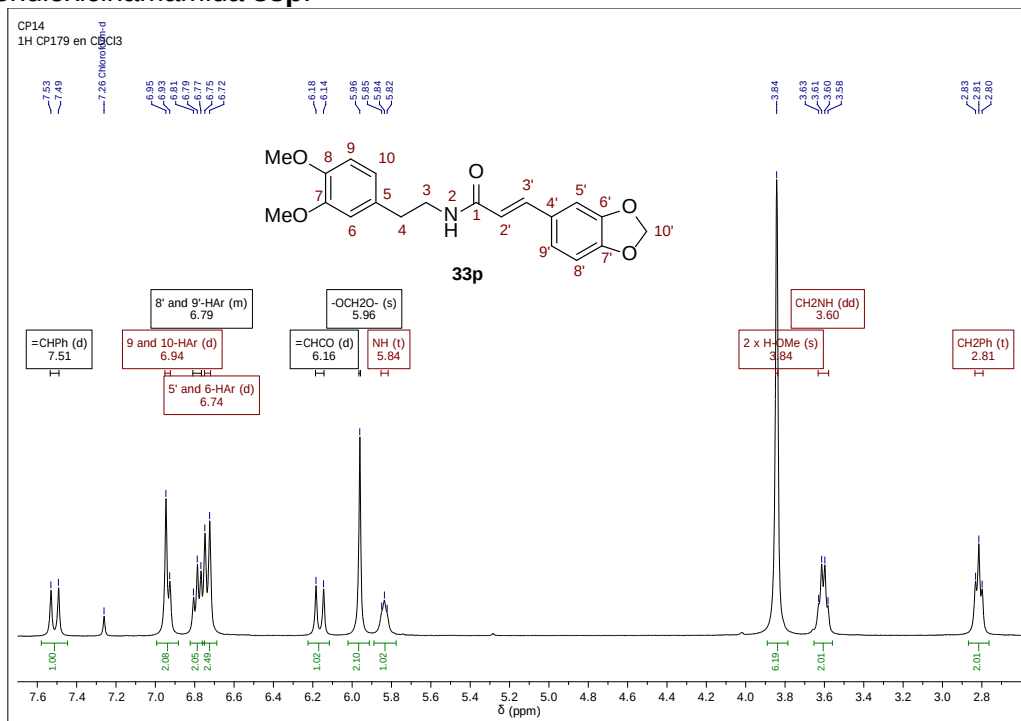
Anexo 16-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4-metilendioxicinámida **33p**.



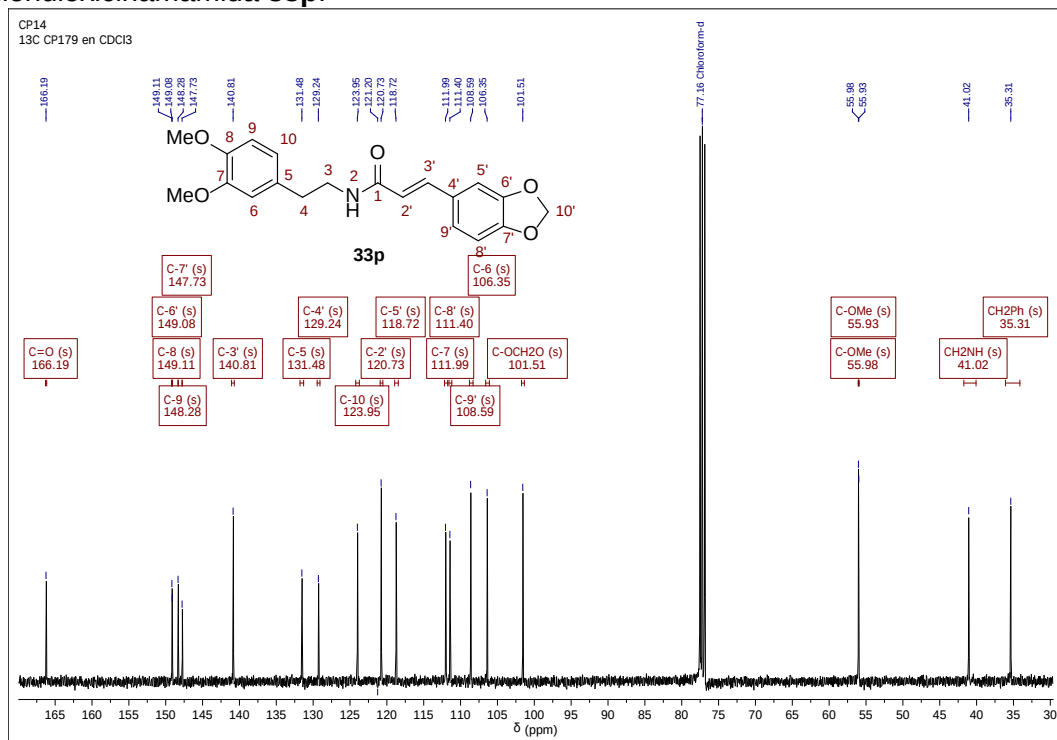
Anexo 16-B. Fragmentograma de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4-metilendioxicinámida **33p**.



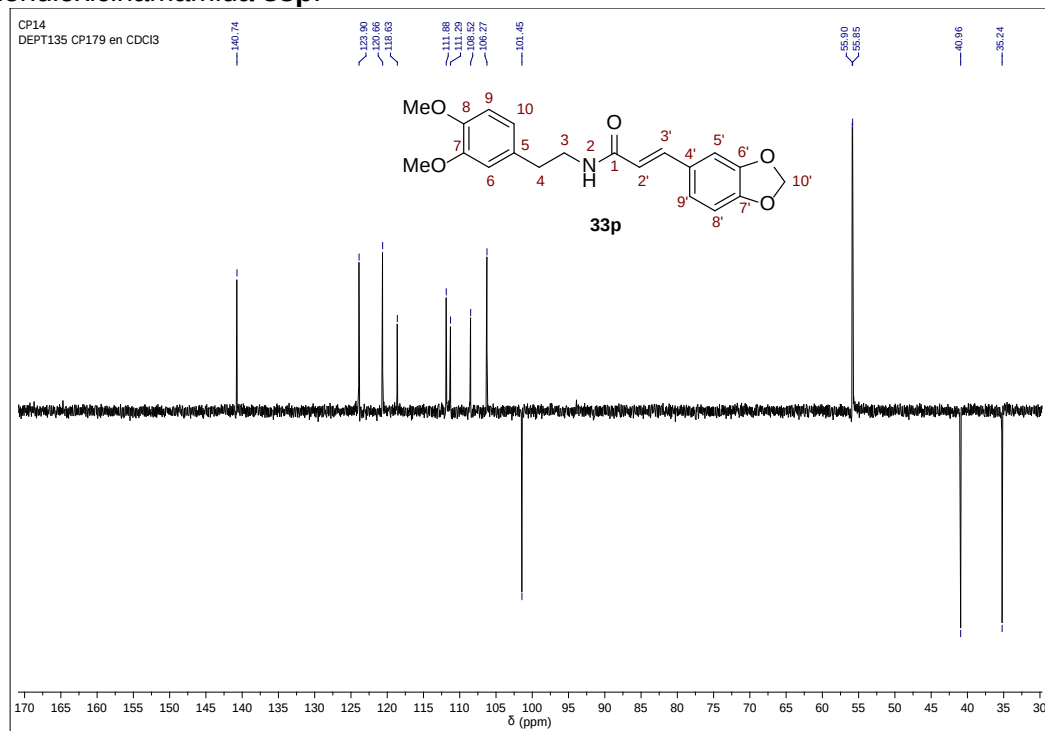
Anexo 16-C. Espectro de ^1H RMN de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4-metilendioxicinámida **33p**.



Anexo 16-D. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4-metilendioxicinámida **33p**.

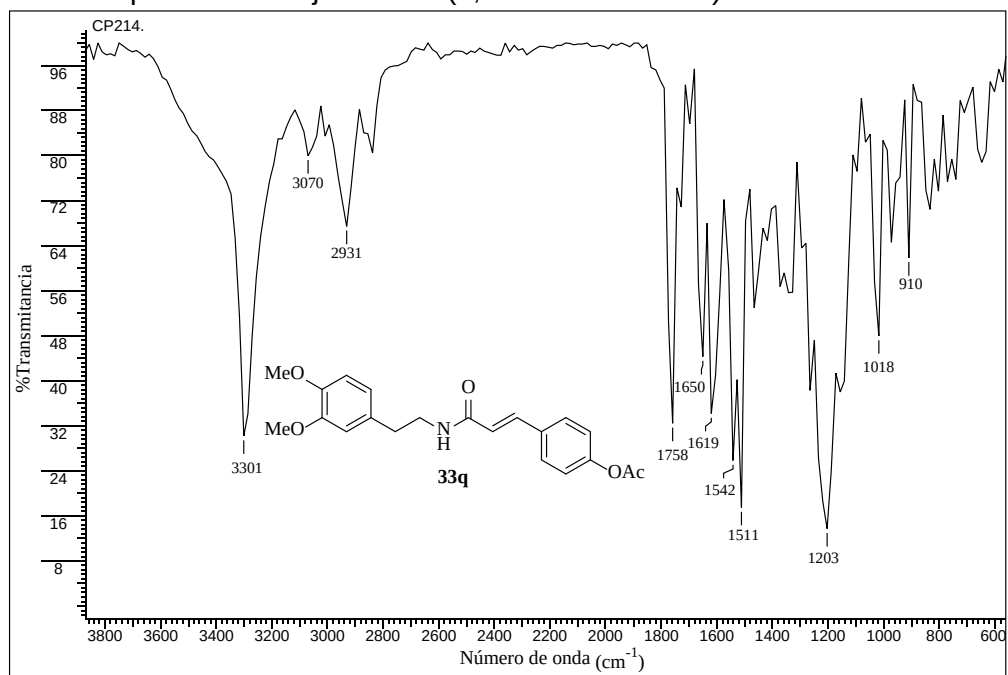


Anexo 16-E. Espectro DEPT-135 de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4-metilendioxicinámida **33p**.

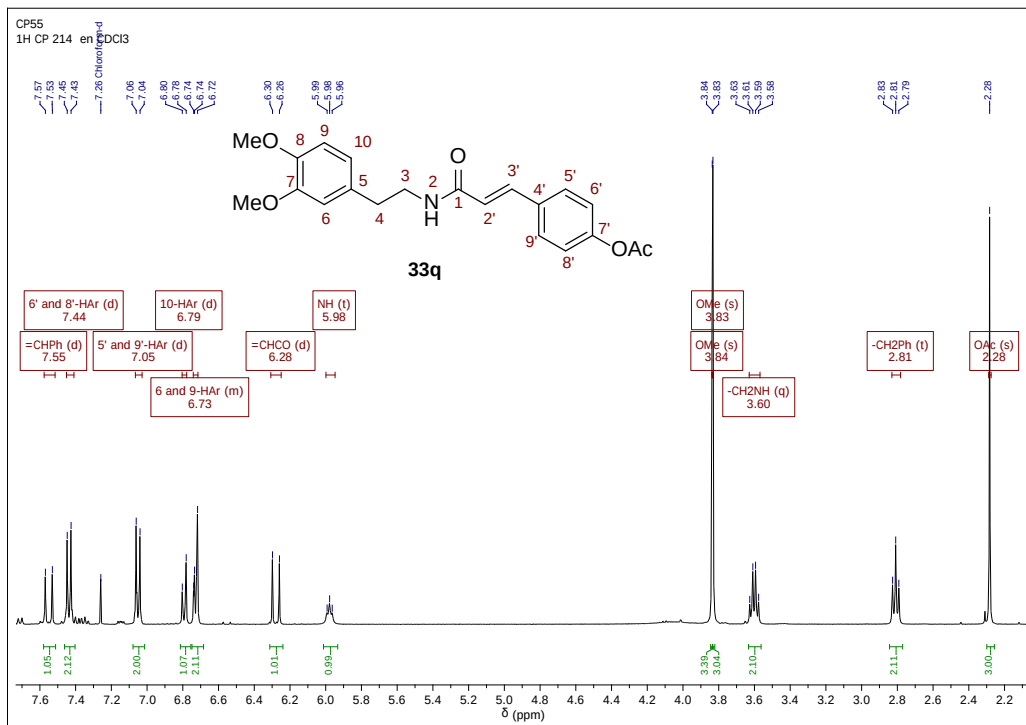


Anexo 17. Espectros relacionados con el compuesto **33q**.

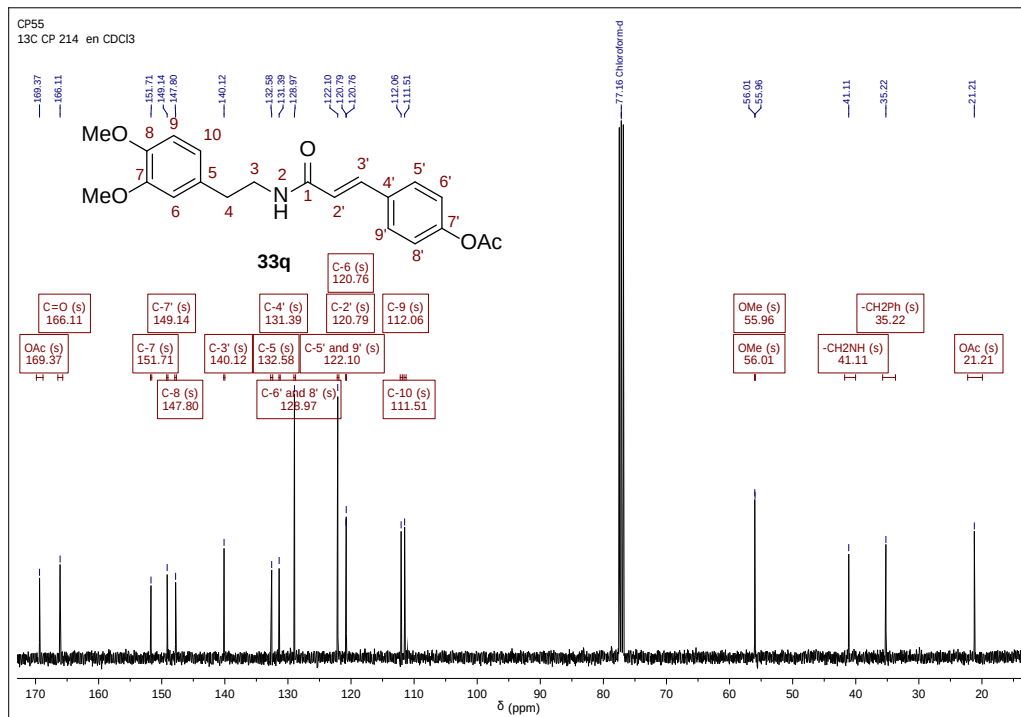
Anexo 17-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)-4-acetoxicinámamida **33q**.



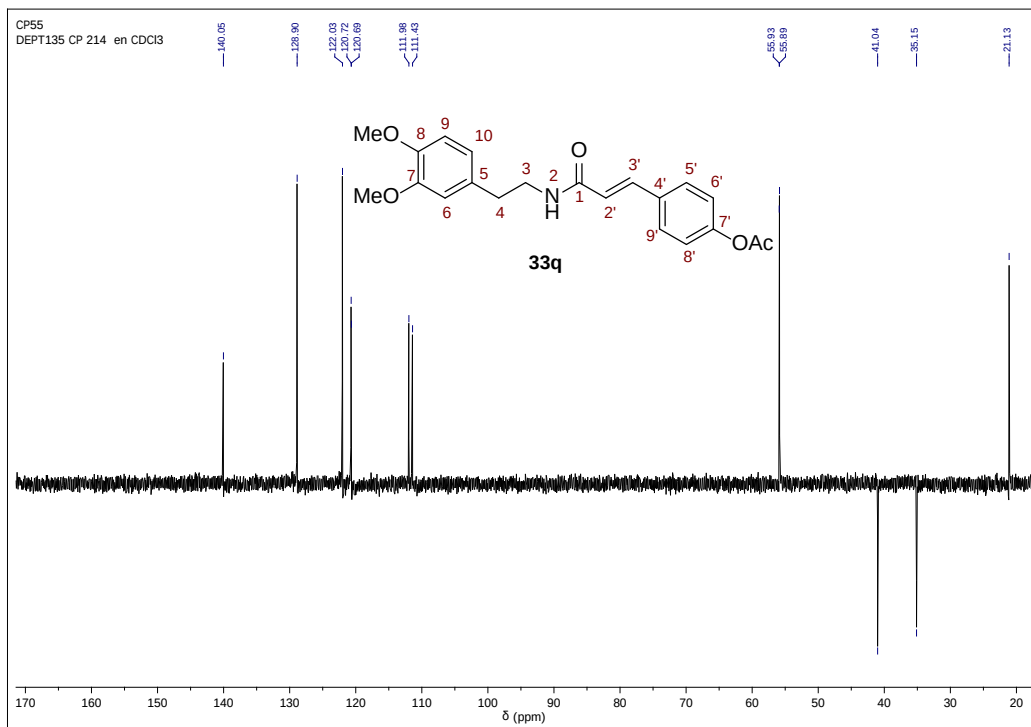
Anexo 17-B. Espectro de ^1H RMN de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)-4-acetoxicinámamida **33q**.



Anexo 17-C. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)-4-acetoxicinámamida **33q**.

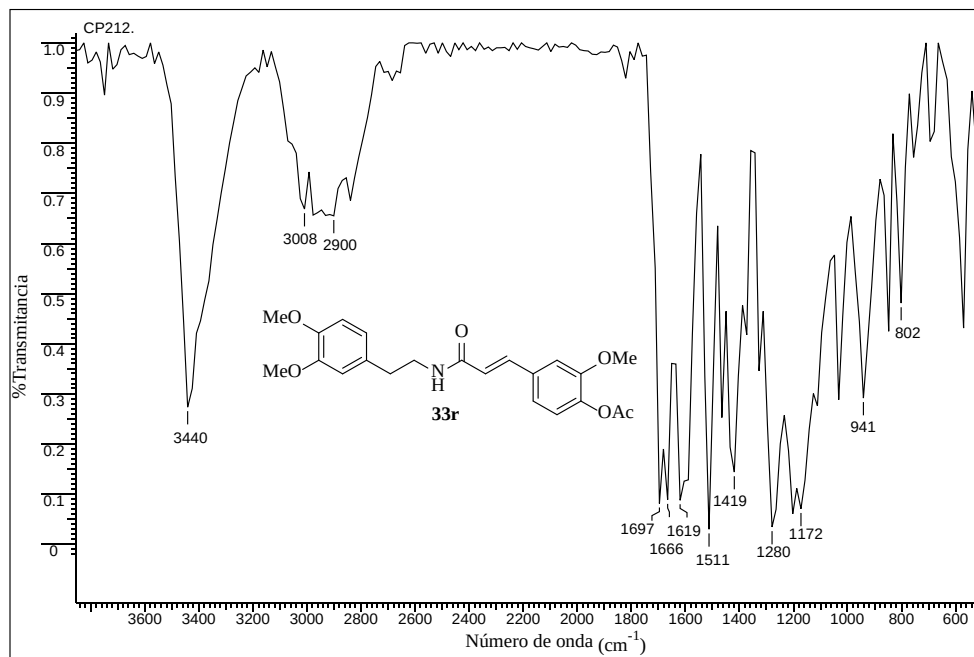


Anexo 17-D. Espectro DEPT-135 de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)-4-acetoxicinámamida **33q**.

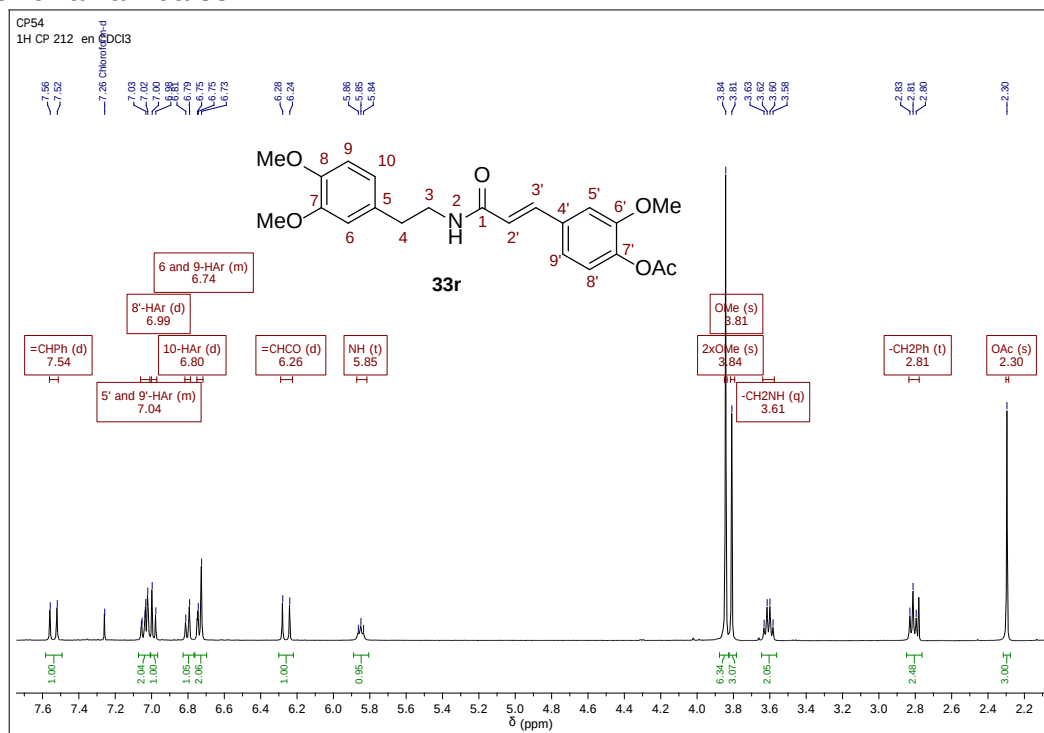


Anexo 18. Espectros relacionados con el compuesto **33r**.

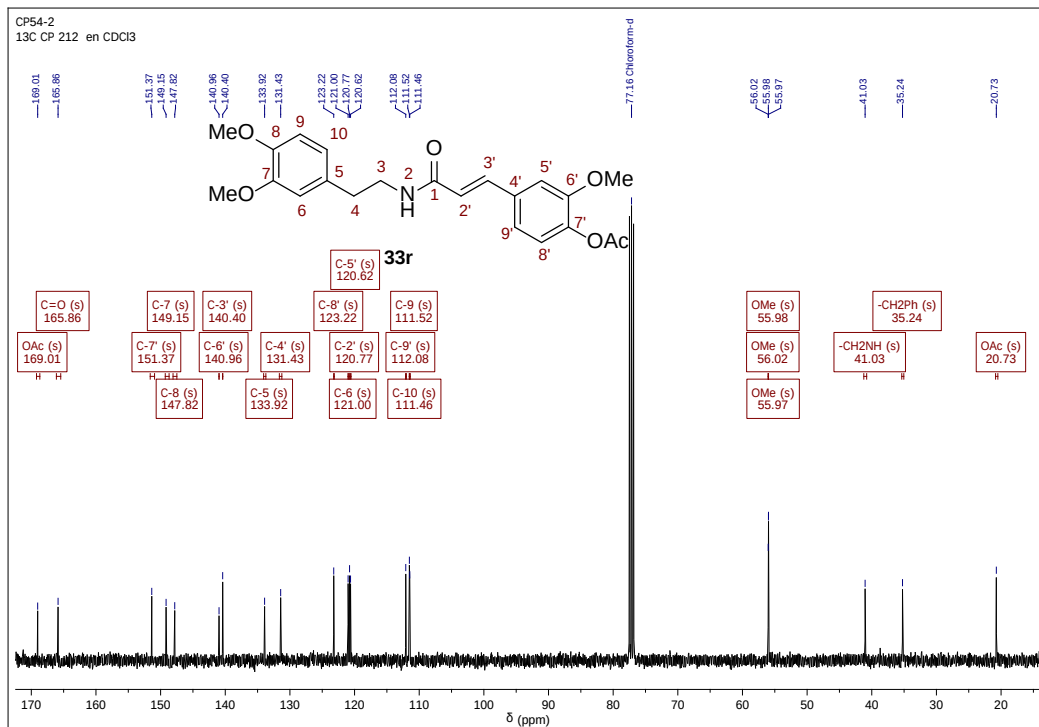
Anexo 18-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletíl)-4-acetoxi-3-metoxicinámamida **33r**.



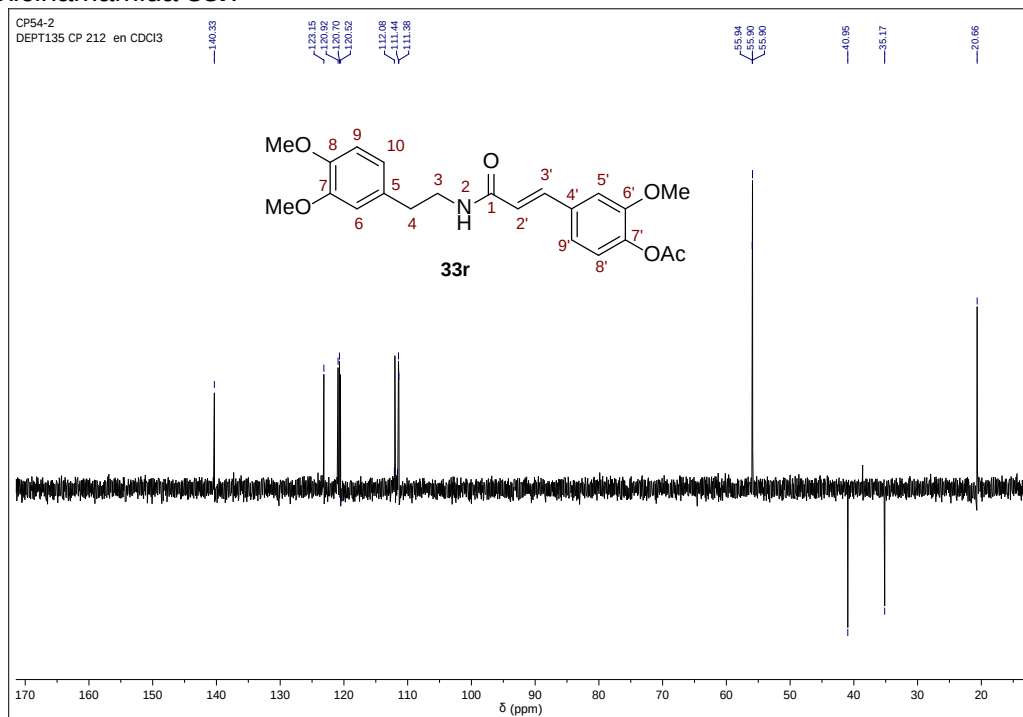
Anexo 18-B. Espectro de ¹H RMN de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletíl)-4-acetoxi-3-metoxicinámamida **33r**.



Anexo 18-C. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)-4-acetoxi-3-metoxicinámamida **33r**.

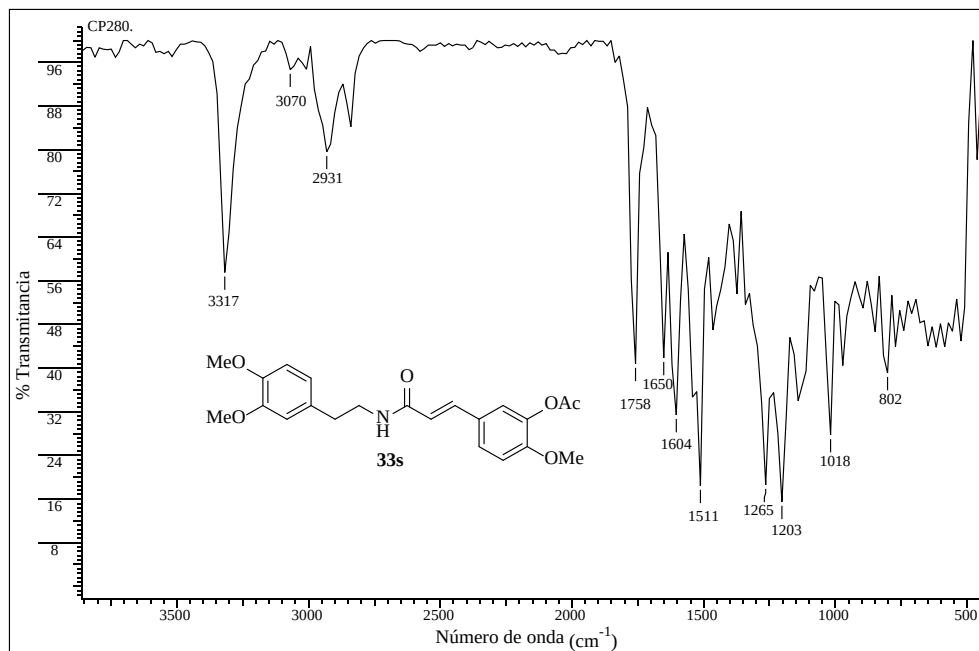


Anexo 18-D. Espectro DEPT-135 de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)-4-acetoxi-3-metoxicinámamida **33r**.

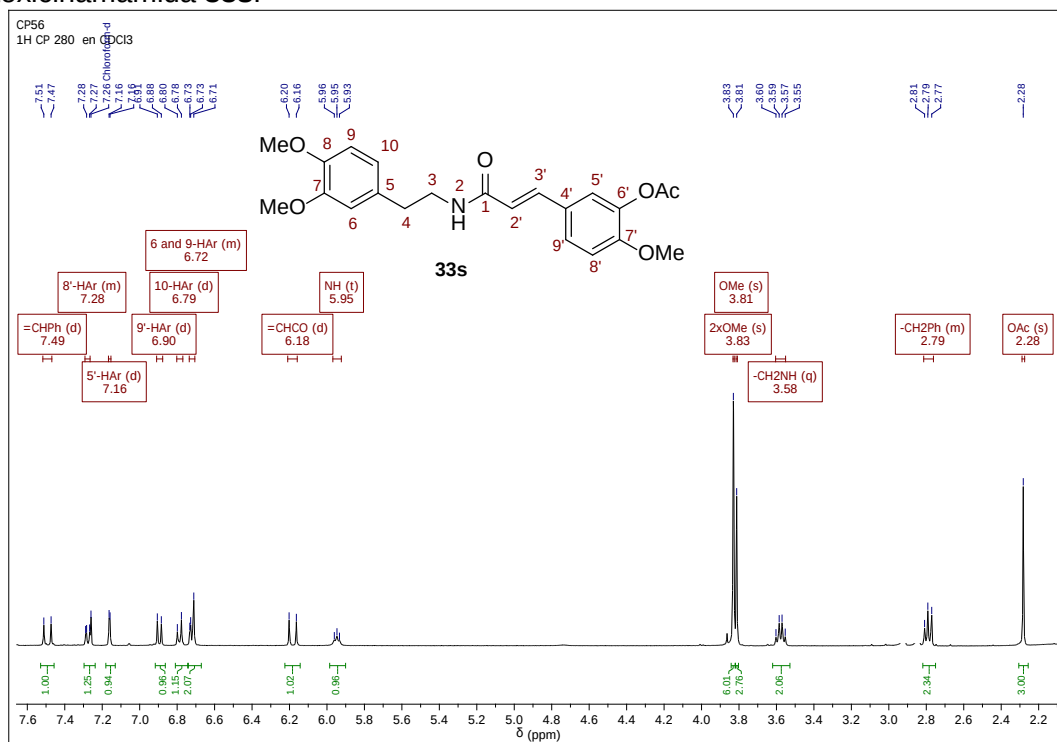


Anexo 19. Espectros relacionados con el compuesto **33s**.

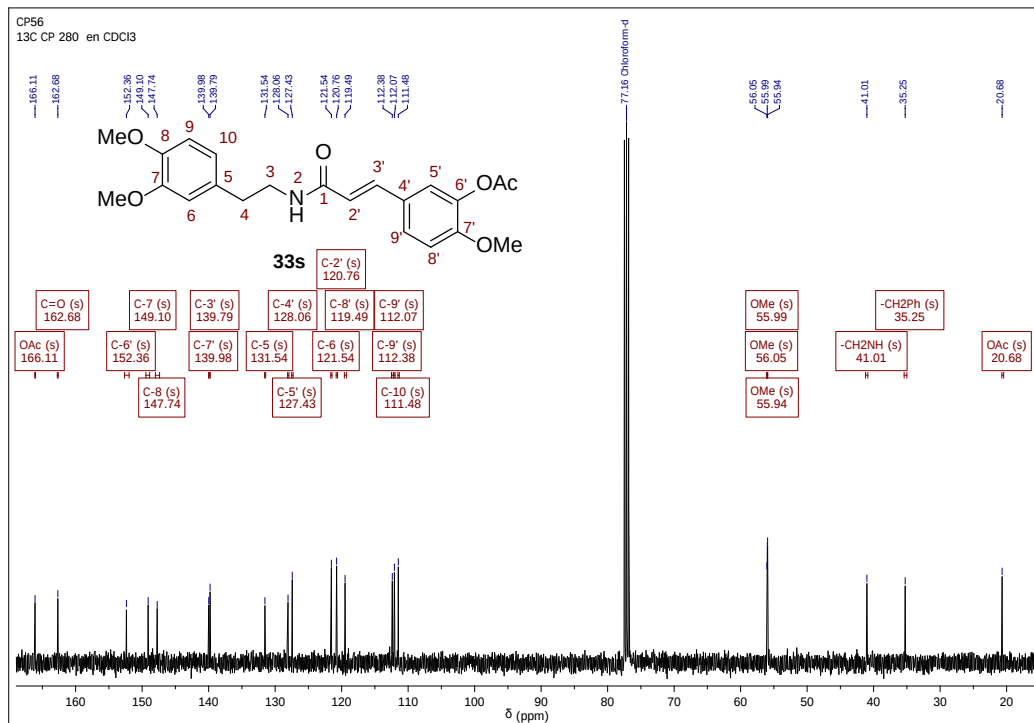
Anexo 19-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(3,4-Dimetoxifenilet)-3-acetoxi-4-metoxicinámamida **33s**.



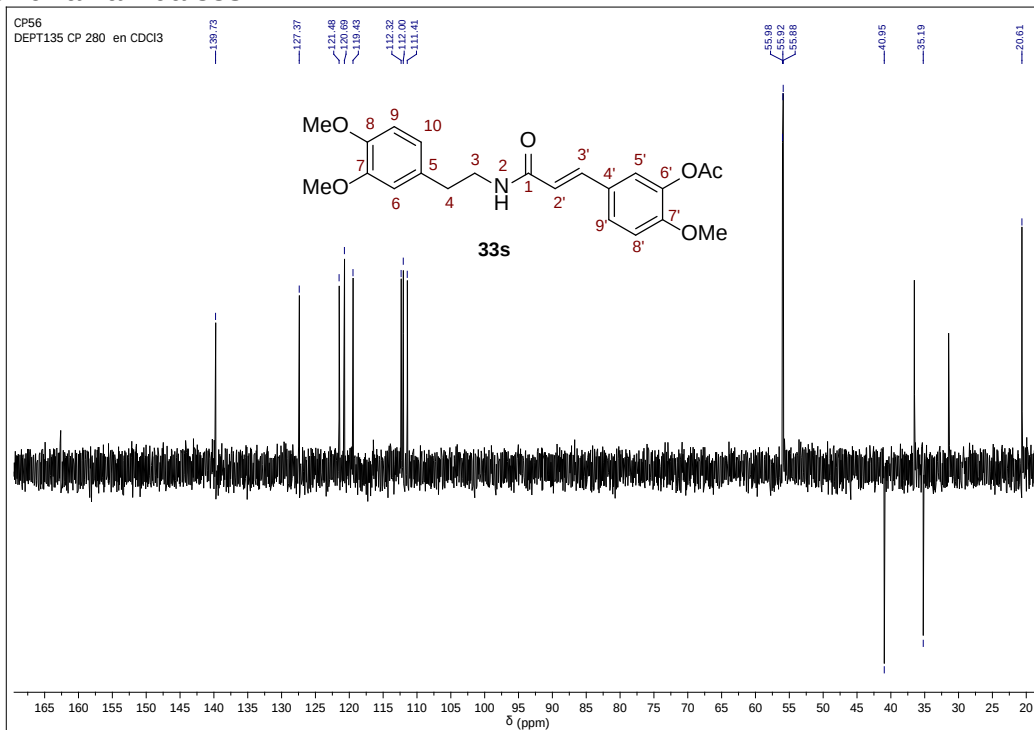
Anexo 19-B. Espectro de ^1H RMN de la *N*-(3,4-Dimetoxifenilet)-3-acetoxi-4-metoxicinámamida **33s**.



Anexo 19-C. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)-3-acetoxi-4-metoxicinámamida **33s**.

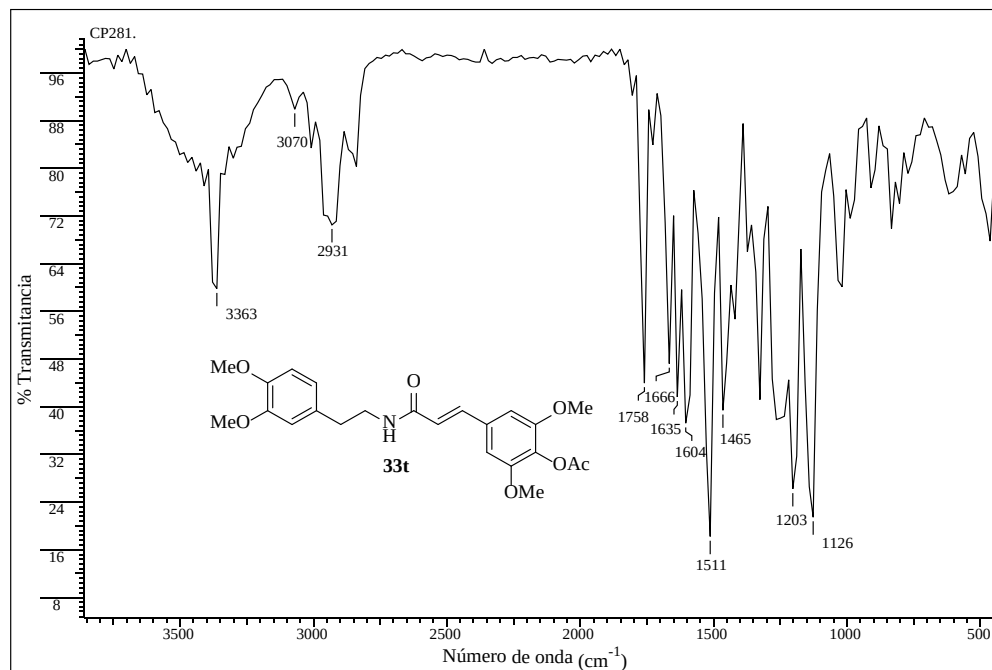


Anexo 19-D. Espectro DEPT-135 de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)-3-acetoxi-4-metoxicinámamida **33s**.

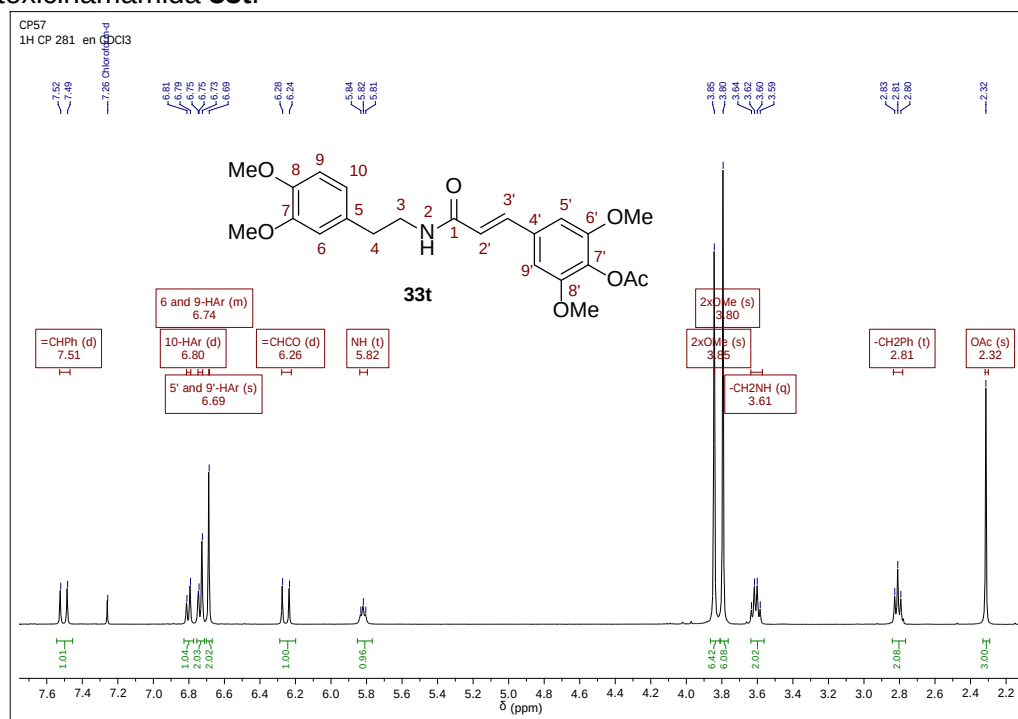


Anexo 20. Espectros relacionados con el compuesto **33t**.

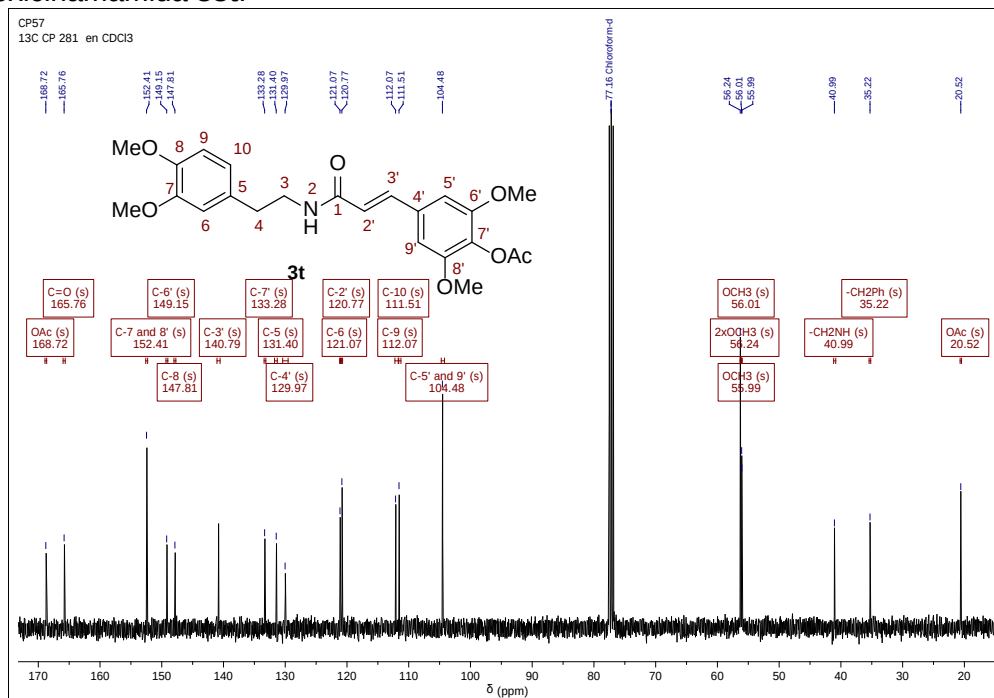
Anexo 20-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)-4-acetoxi-3,5-dimetoxicinámamida **33t**.



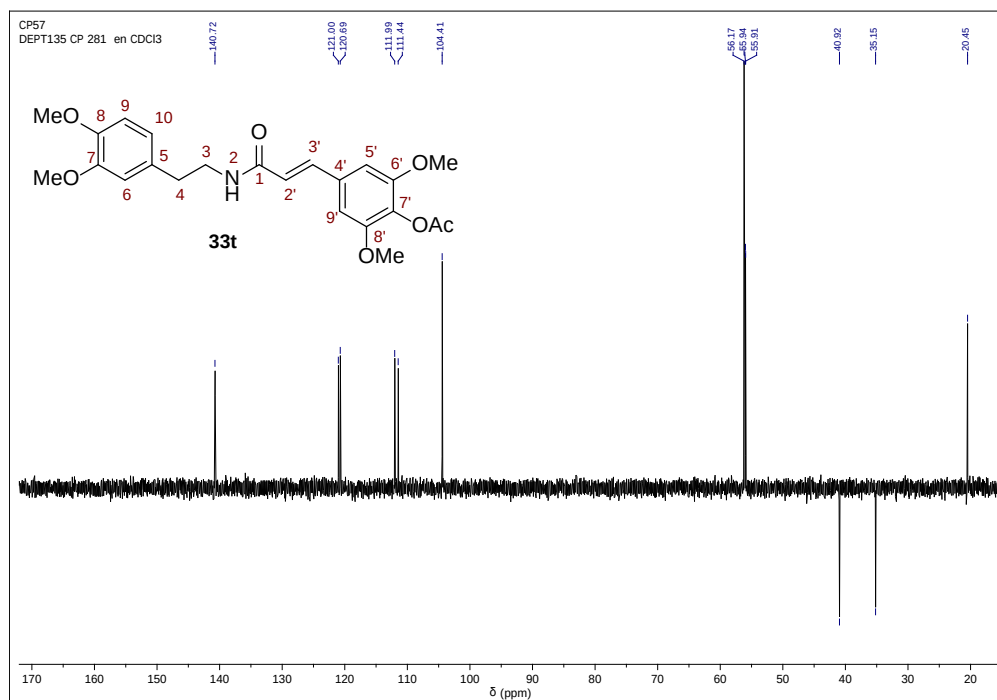
Anexo 20-B. Espectro de ^1H RMN de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)-4-acetoxi-3,5-dimetoxicinámamida **33t**.



Anexo 20-C. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)-4-acetoxi-3,5-dimetoxicinámamida **33t**.



Anexo 20-D. Espectro DEPT-135 de la *N*-(3,4-Dimetoxifeniletil)-4-acetoxi-3,5-dimetoxicinámamida **33t**.

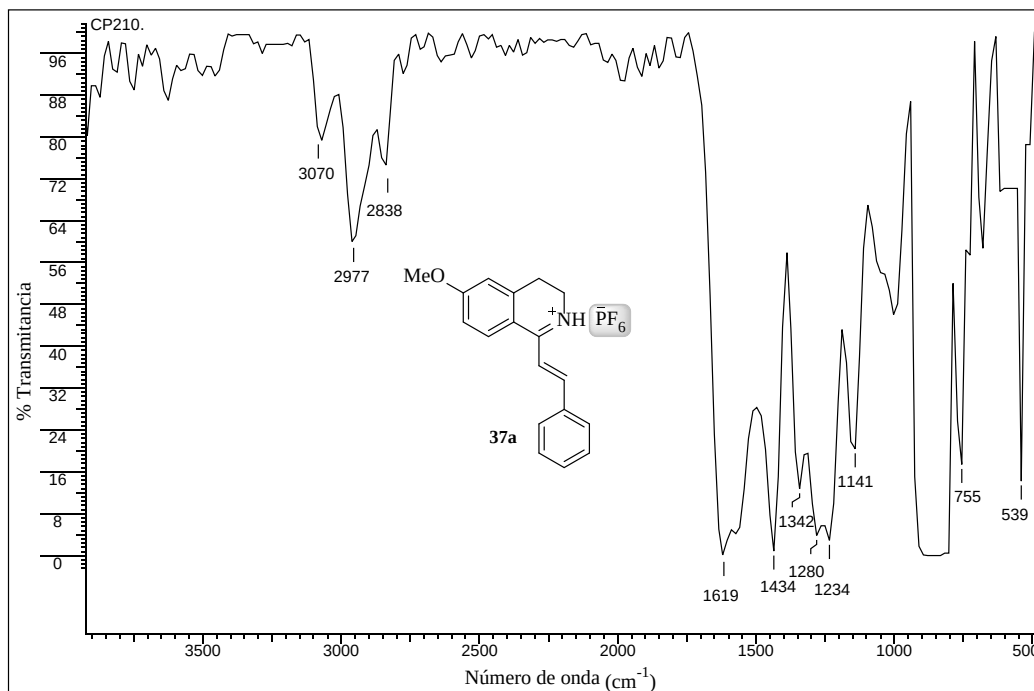


ANEXOS 21- 32

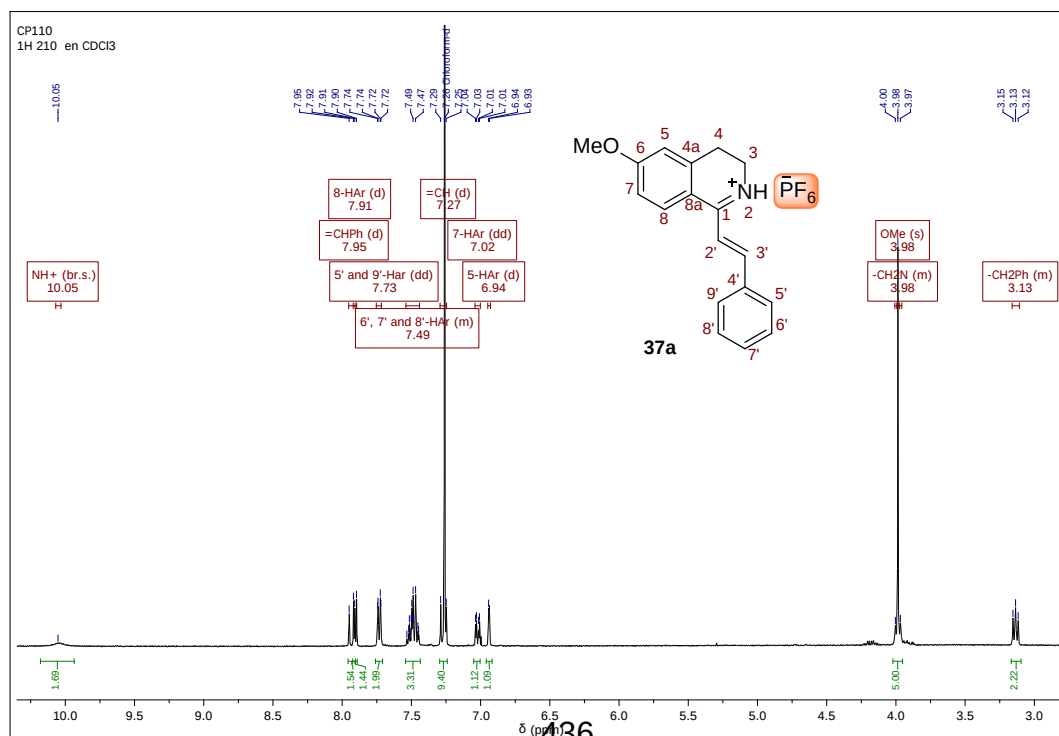
**Información espectral relacionada con las 1-estiril-3,4-dihidroisoquinolin-
hexafluorofosfatos 37a-l**

Anexo 21. Espectros relacionados con el compuesto 37a.

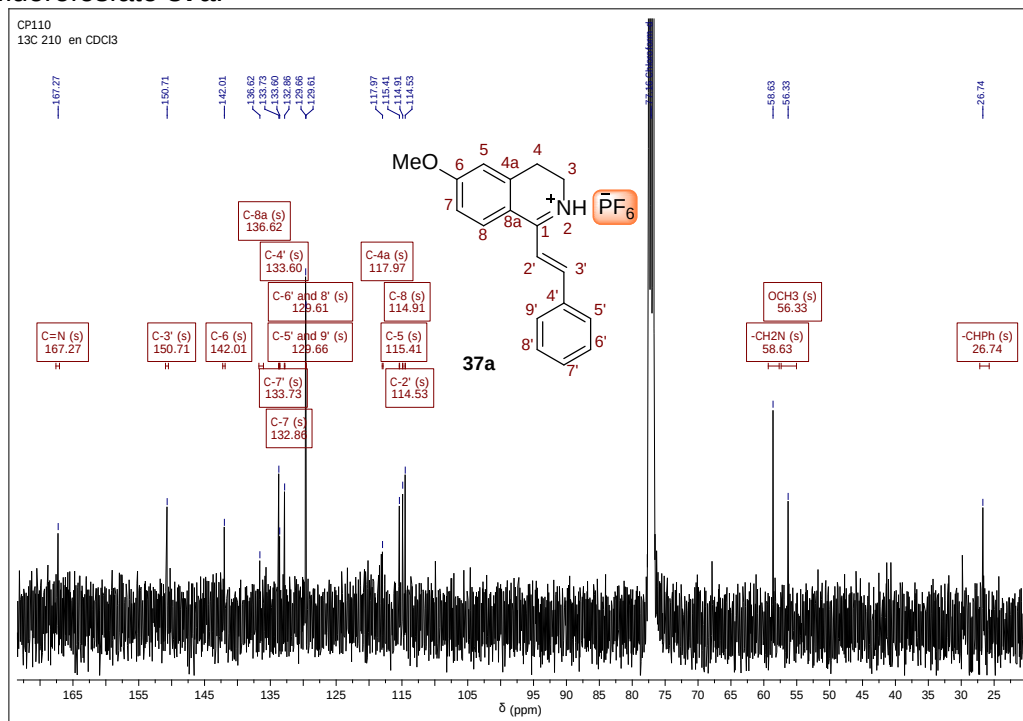
Anexo 21-A. Espectro infrarrojo de la 1-Estiril-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato 37a.



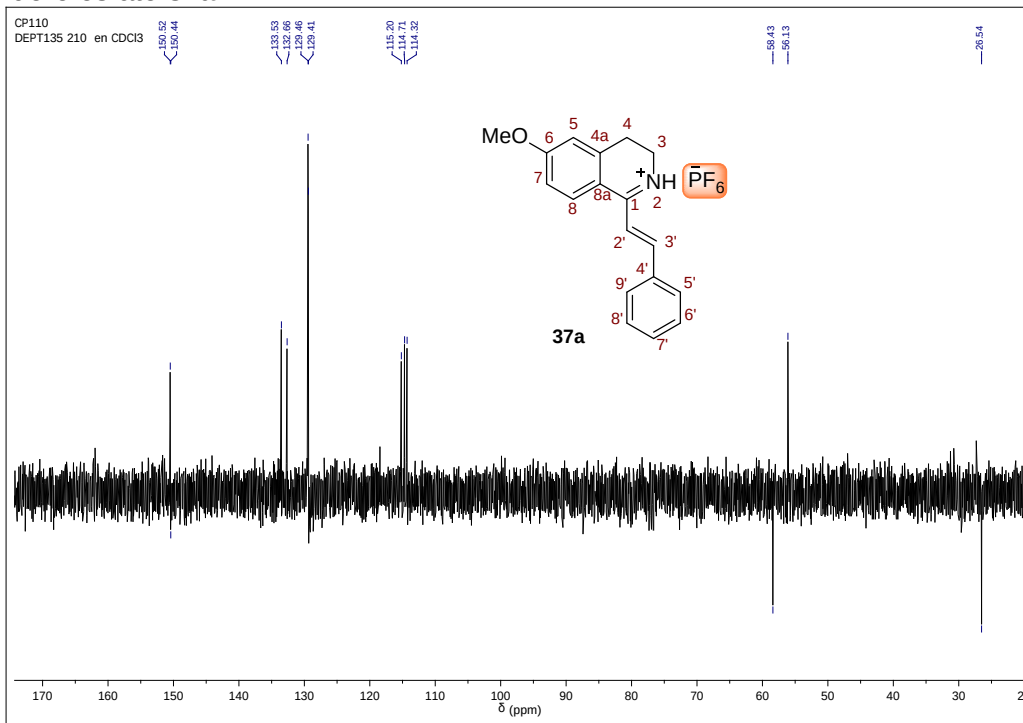
Anexo 21-B. Espectro de ^1H RMN de la 1-Estiril-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato 37a.



Anexo 21-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-Estiril-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37a**.

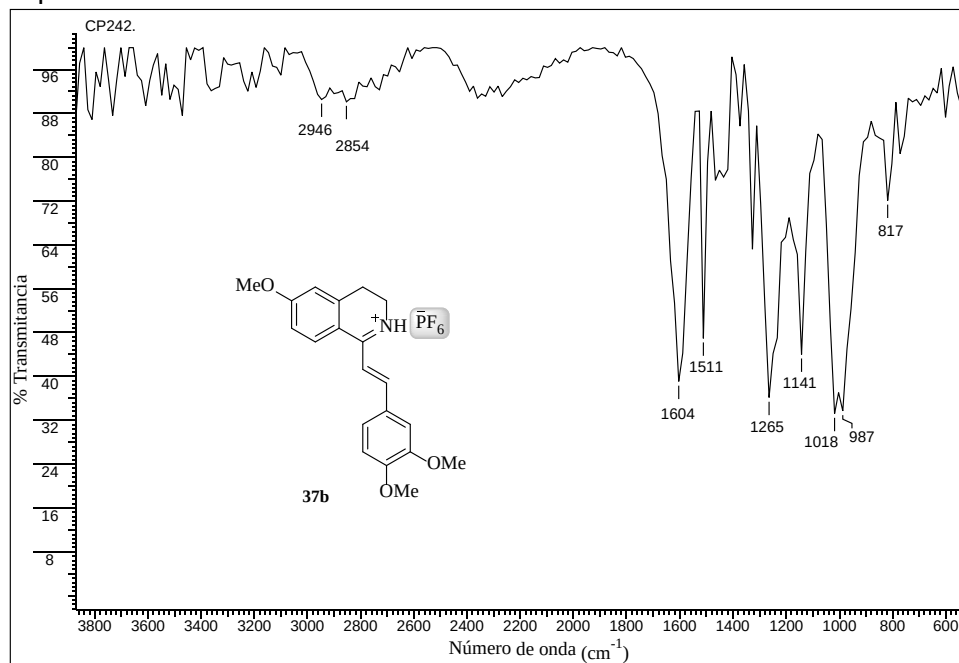


Anexo 21-D. Espectro DEPT-135 de la 1-Estiril-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37a**.

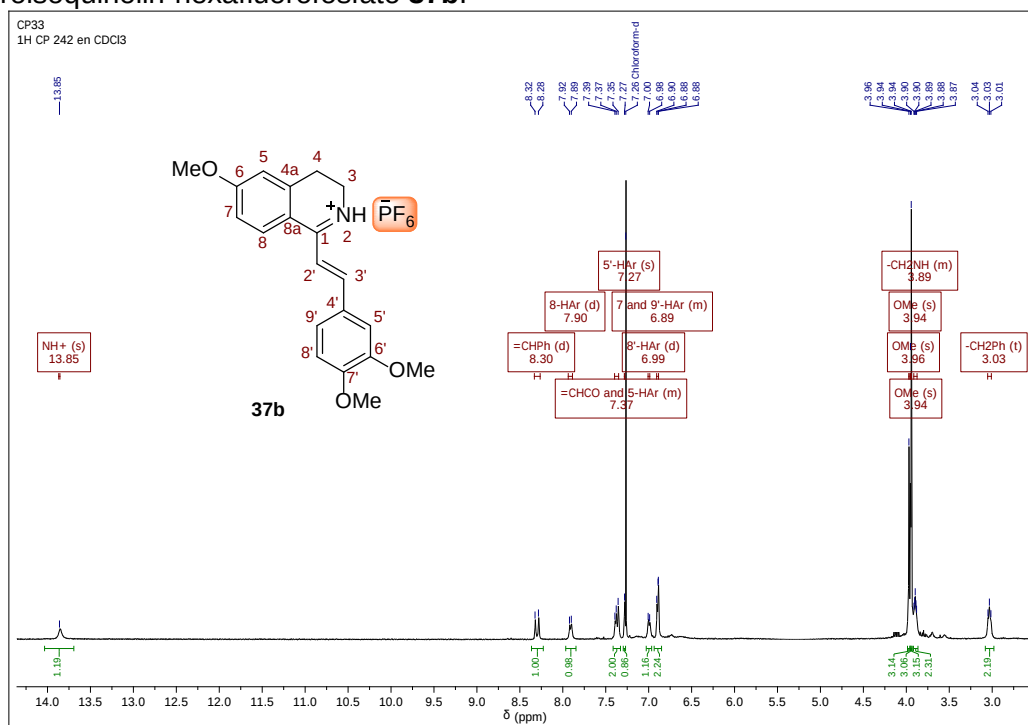


Anexo 22. Espectros relacionados con el compuesto **37b**.

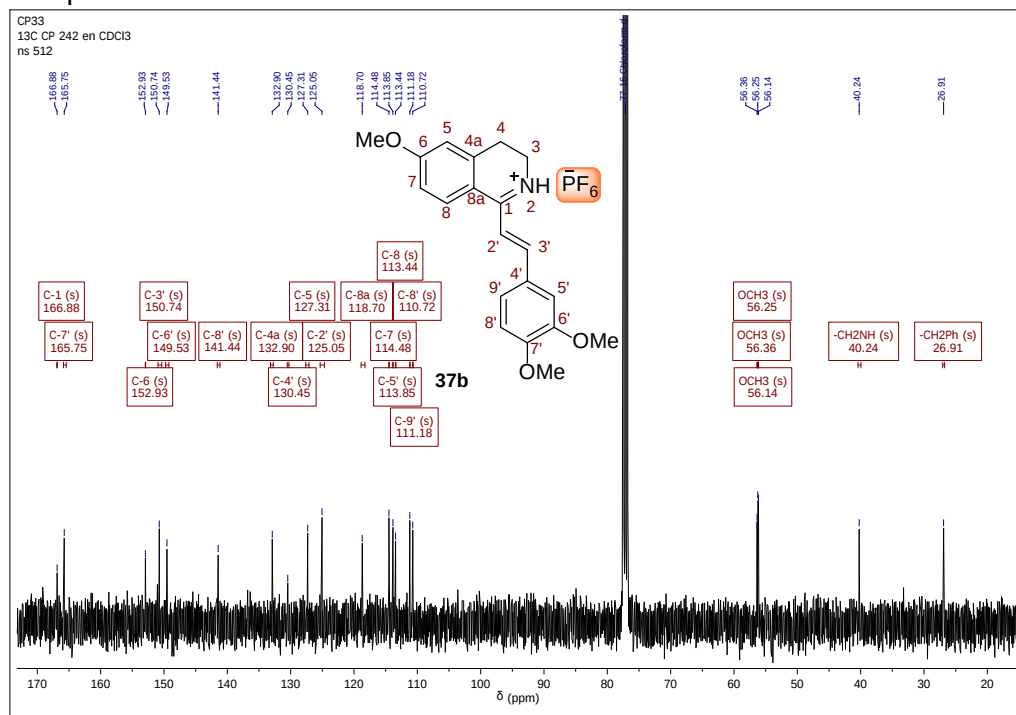
Anexo 22-A. Espectro infrarrojo de la 1-(3,4-Dimetoxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37b**.



Anexo 22-B. Espectro de ¹H RMN de la 1-(3,4-Dimetoxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37b**.

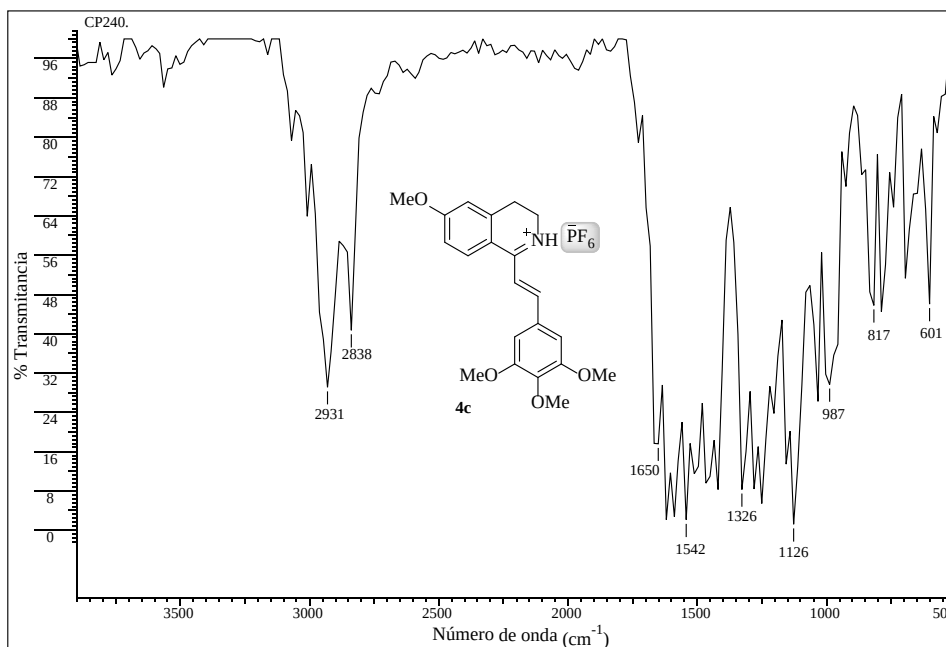


Anexo 22-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-(3,4-Dimetoxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37b**.

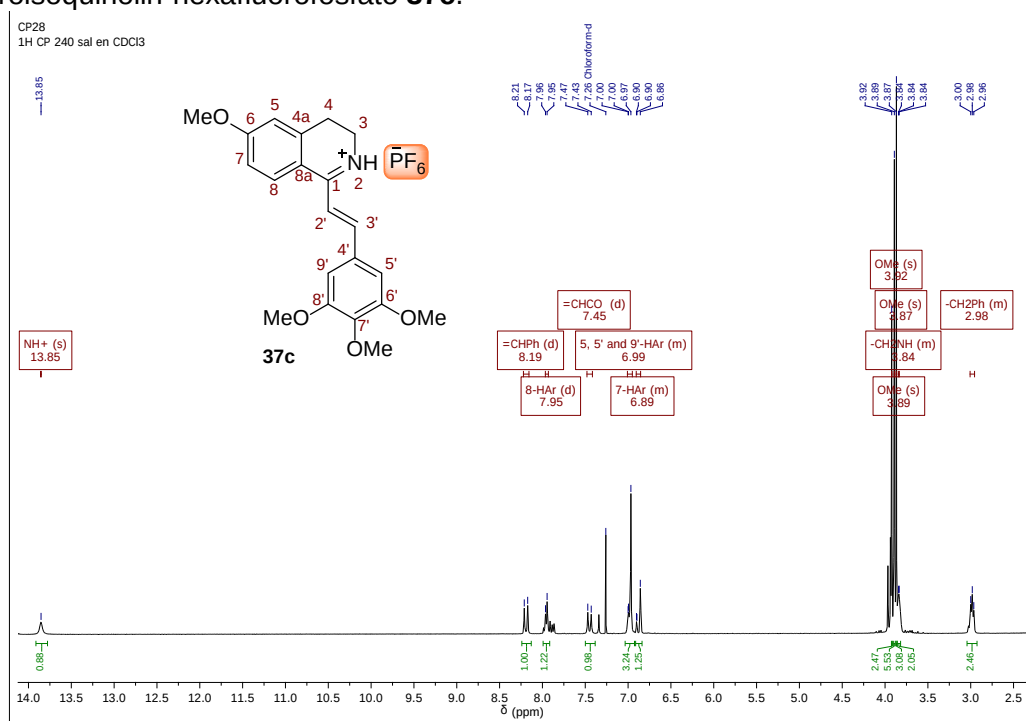


Anexo 23. Espectros relacionados con el compuesto **37c**.

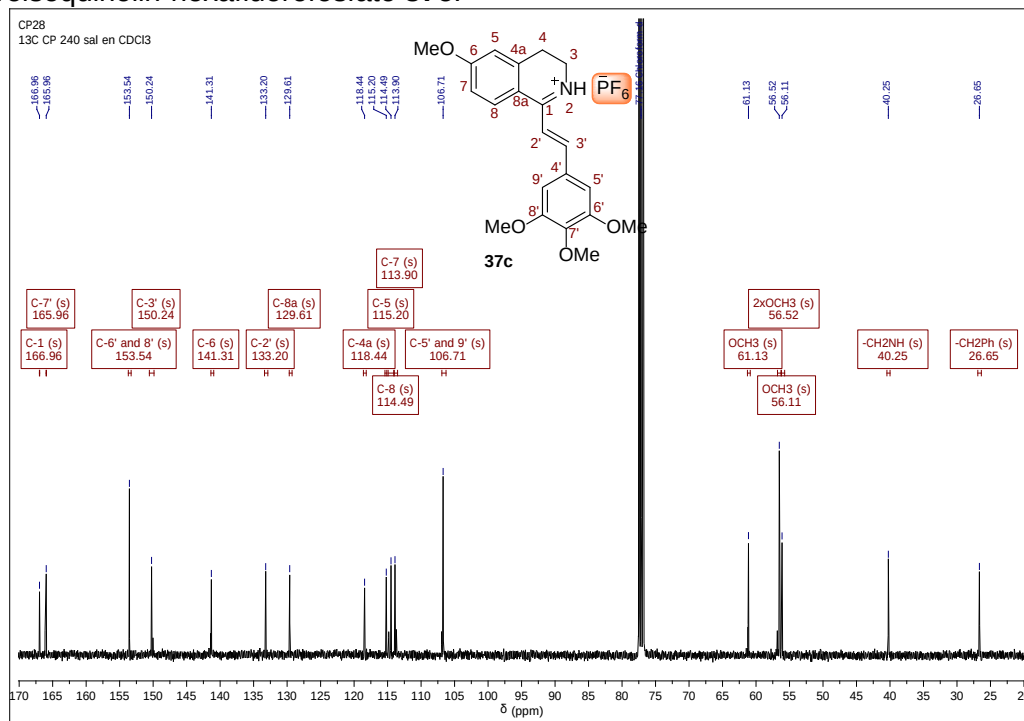
Anexo 23-A. Espectro infrarrojo de la 1-(3,4,5-Trimetoxiestiril)-6-metoxy-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37c**.



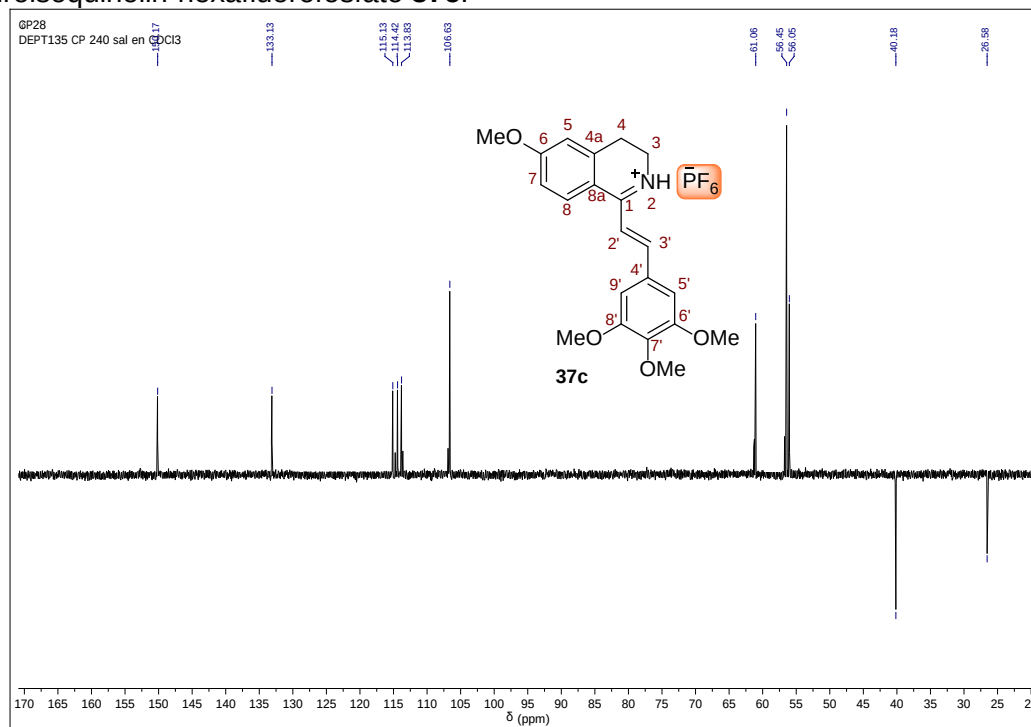
Anexo 23-B. Espectro de ^1H RMN de la 1-(3,4,5-Trimetoxiestiril)-6-metoxy-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37c**.



Anexo 23-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-(3,4,5-Trimetoxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37c**.

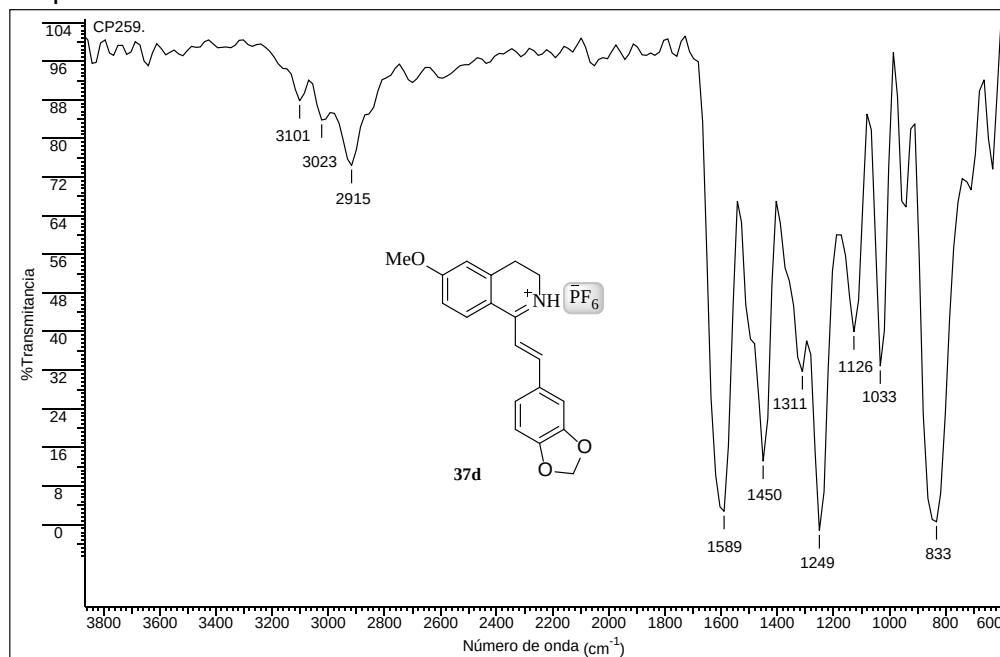


Anexo 23-D. Espectro DEPT-135 de la 1-(3,4,5-Trimetoxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37c**.

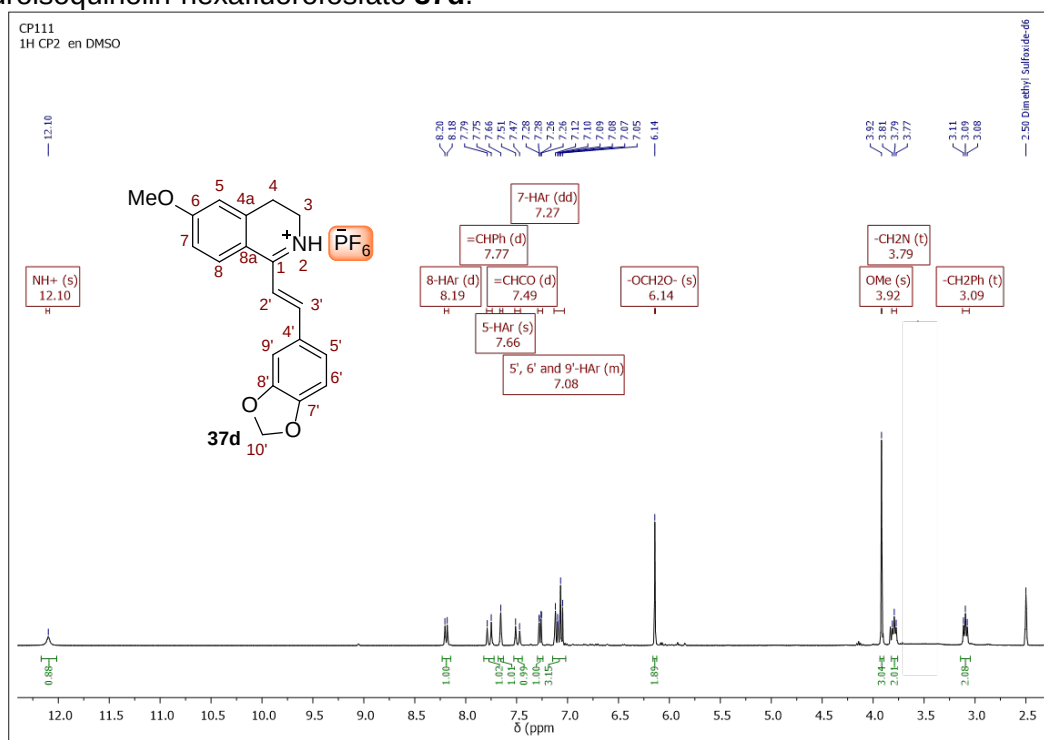


Anexo 24. Espectros relacionados con el compuesto 37d.

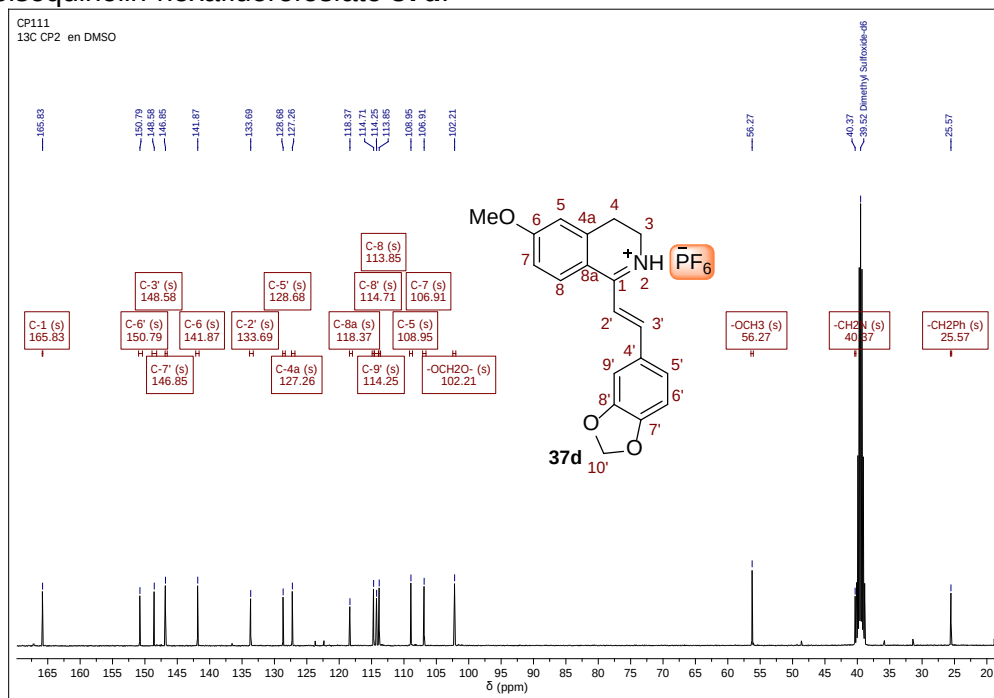
Anexo 24-A. Espectro infrarrojo de la 1-(3,4-Metilendioxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato 37d.



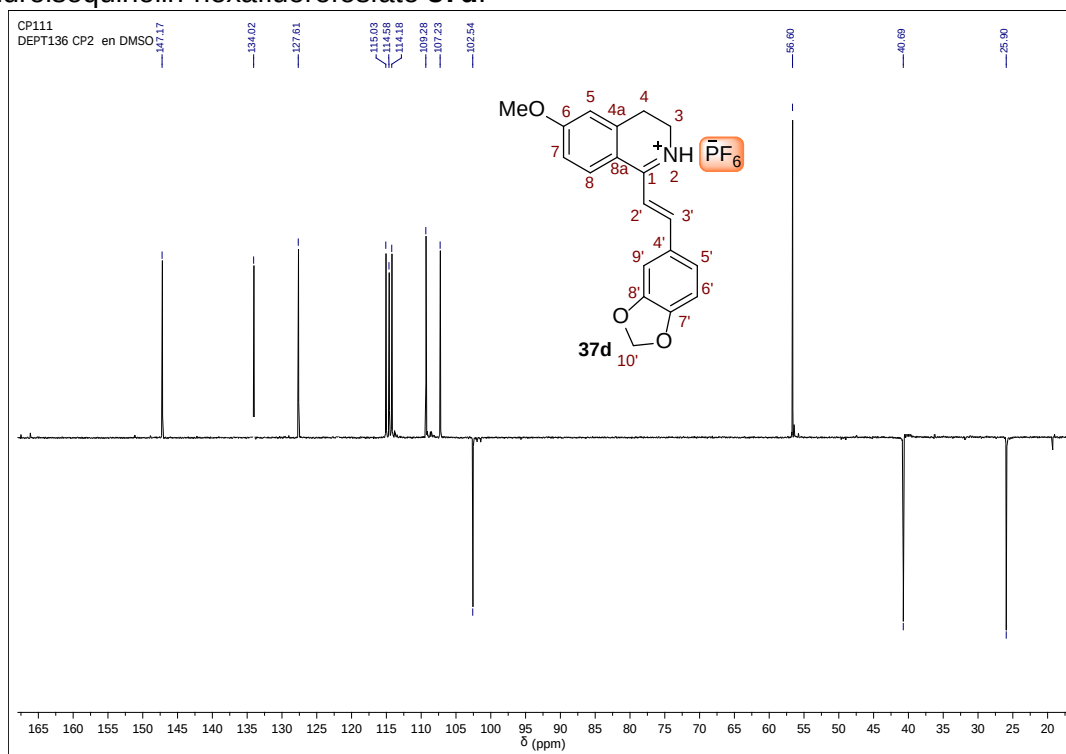
Anexo 24-B. Espectro de ¹H RMN de la 1-(3,4-Metilendioxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato 37d.



Anexo 24-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-(3,4-Metilendioxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37d**.

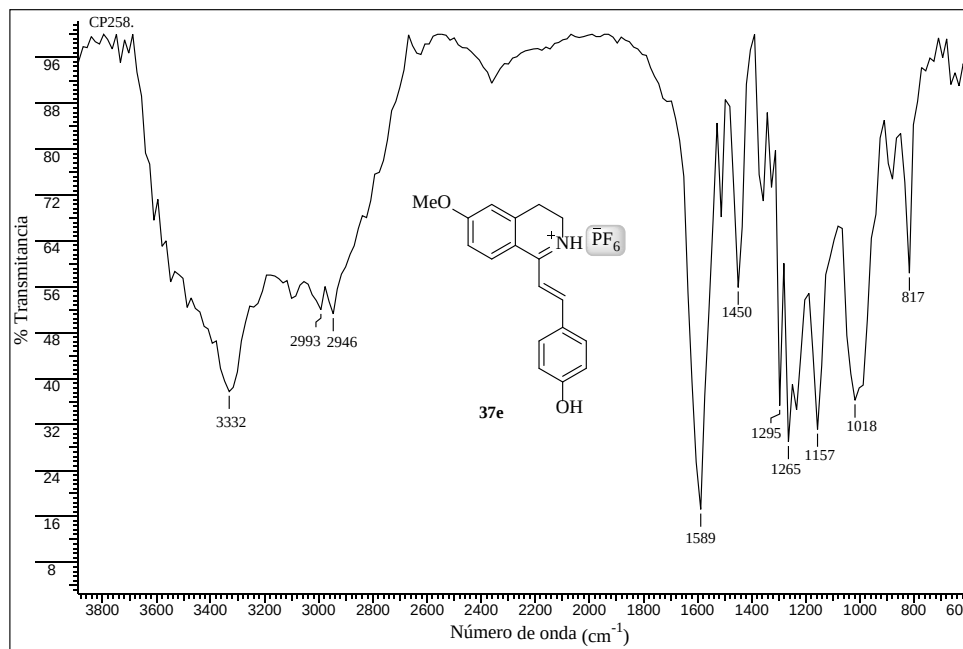


Anexo 24-D. Espectro DEPT-135 de la 1-(3,4-Metilendioxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37d**.

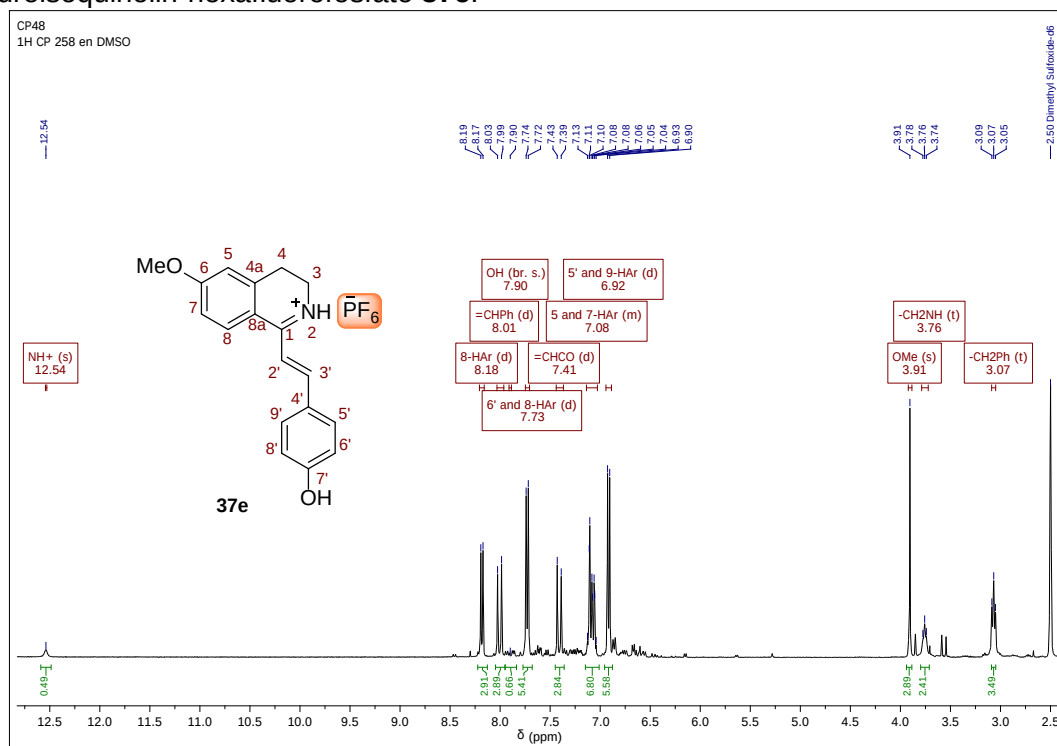


Anexo 25. Espectros relacionados con el compuesto 37e.

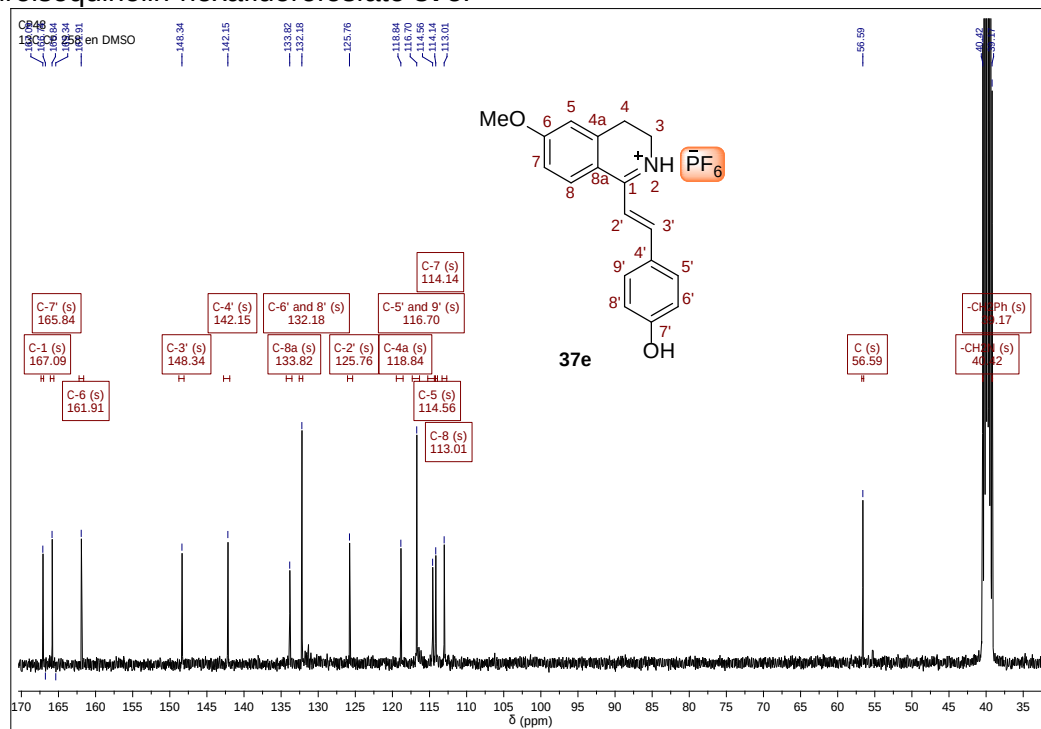
Anexo 25-A. Espectro infrarrojo de la 1-(4-hidroxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato 37e.



Anexo 25-B. Espectro de ¹H RMN de la 1-(4-hidroxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato 37e.

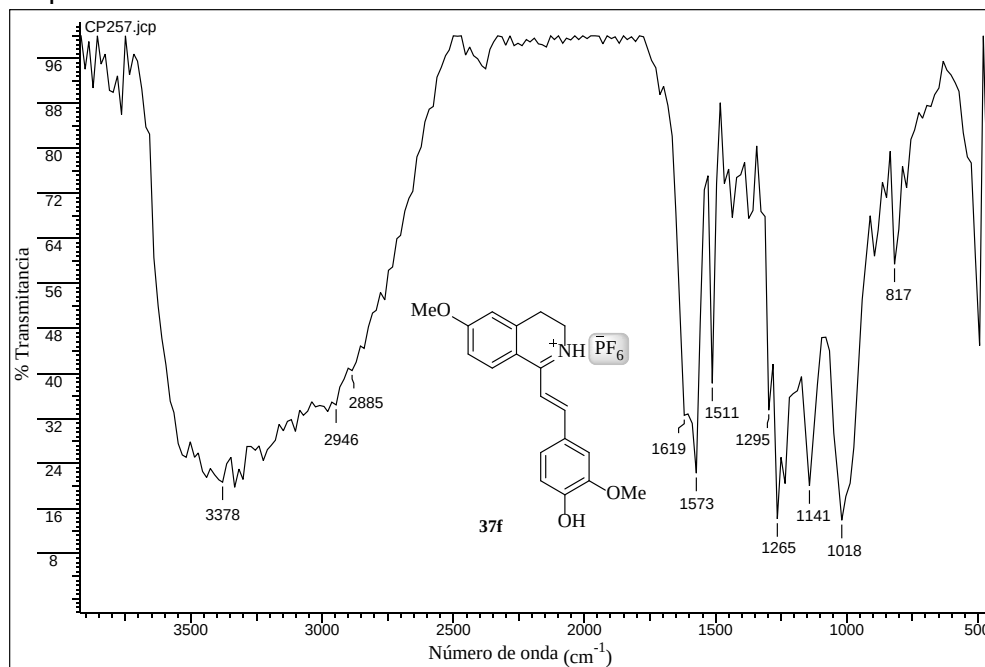


Anexo 25-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-(4-hidroxiestiril)-6-metoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37e**.

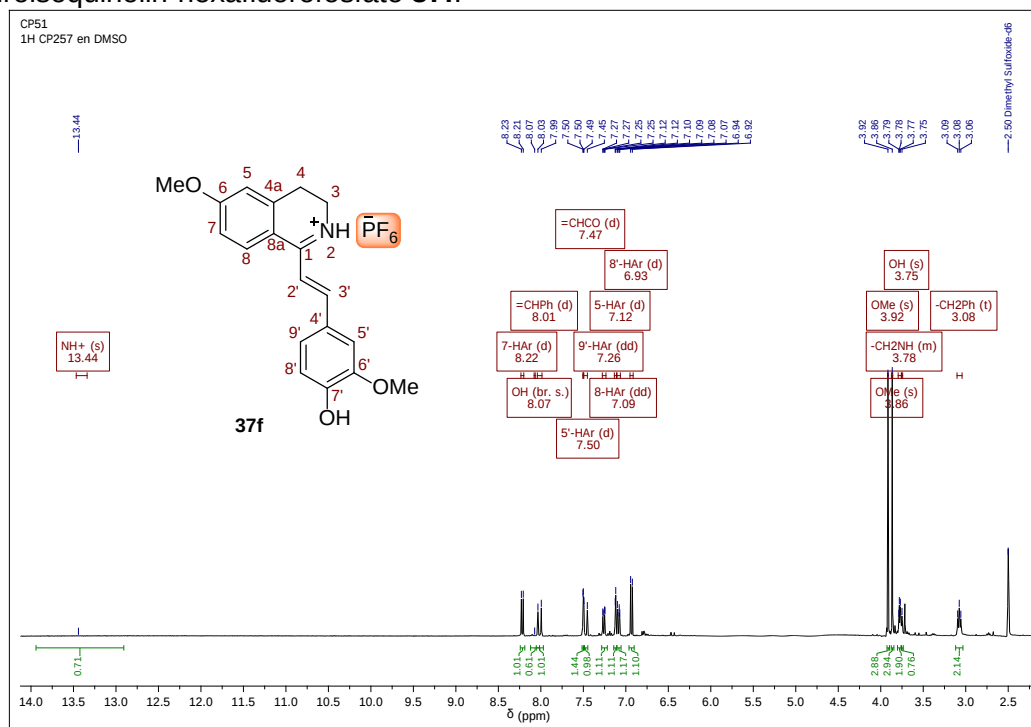


Anexo 26. Espectros relacionados con el compuesto **37f**.

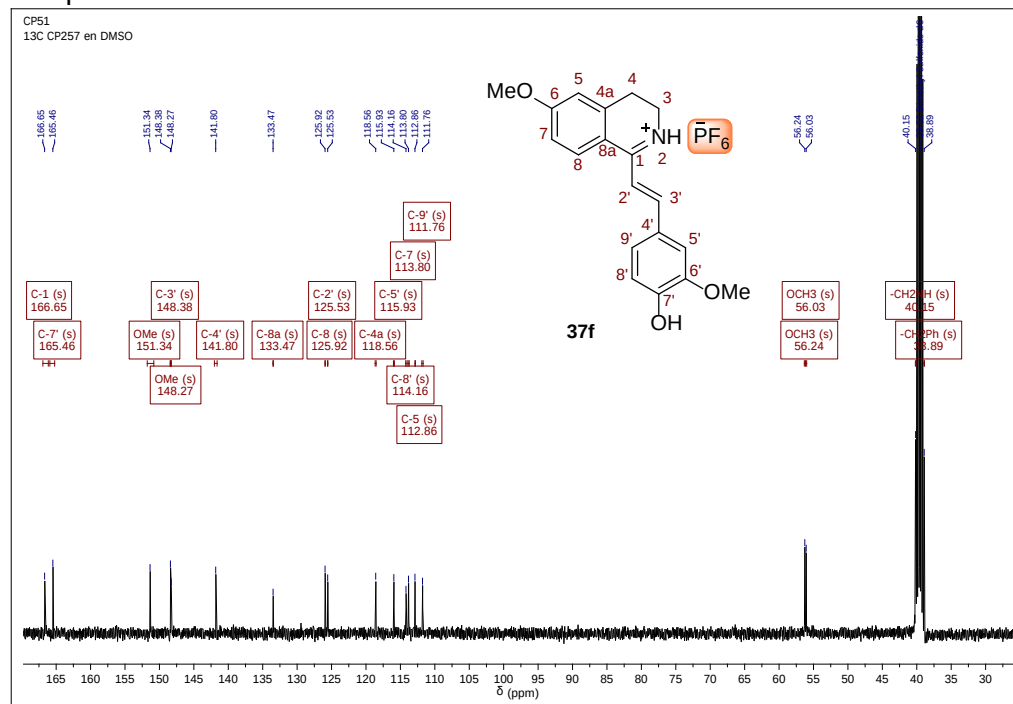
Anexo 26-A. Espectro infrarrojo de la 1-(4-hidrox-3-metoxiestiril)-6-metoxy-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37f**.



Anexo 26-B. Espectro de ¹H RMN de la 1-(4-hidrox-3-metoxiestiril)-6-metoxy-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37f**.

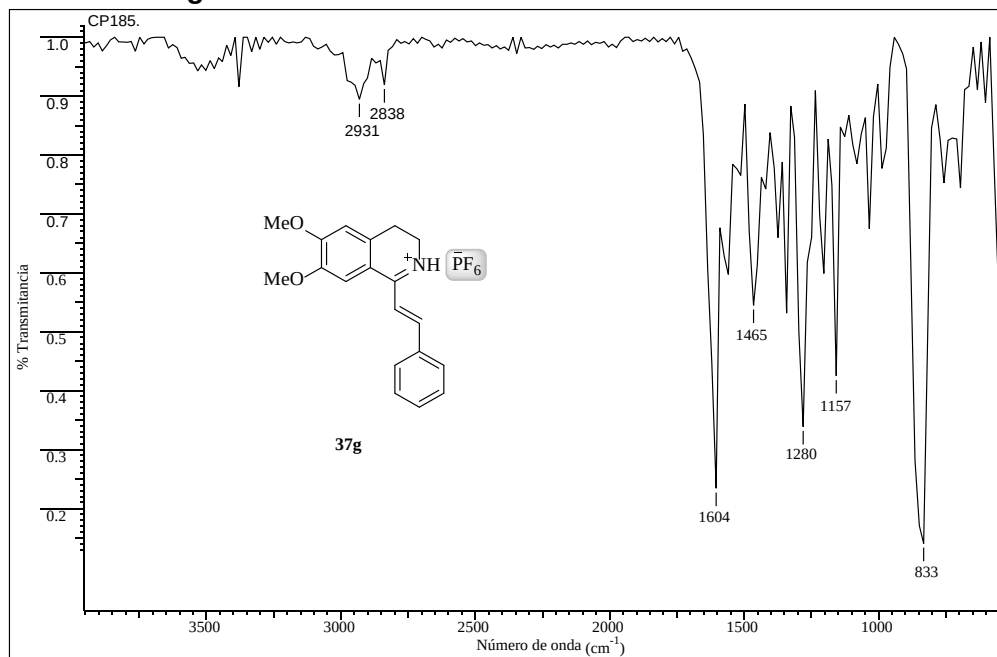


Anexo 26-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-(4-hidrox-3-metoxiestiril)-6-metox-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37f**.

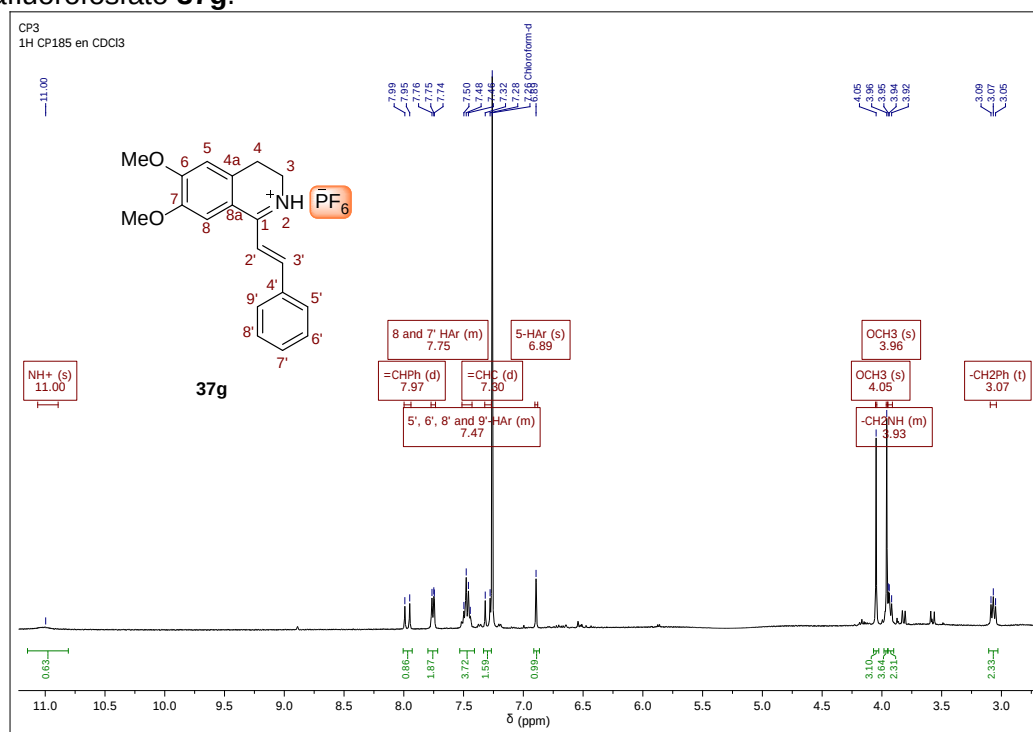


Anexo 27. Espectros relacionados con el compuesto **37g**.

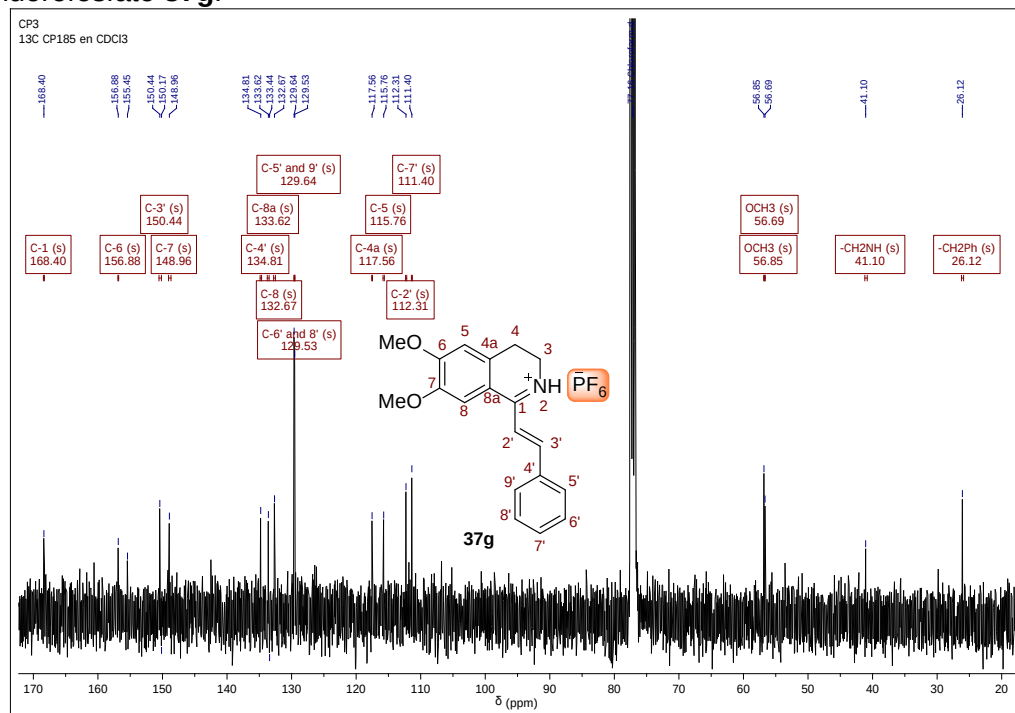
Anexo 27-A. Espectro infrarrojo de la 1-Estiril-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37g**.



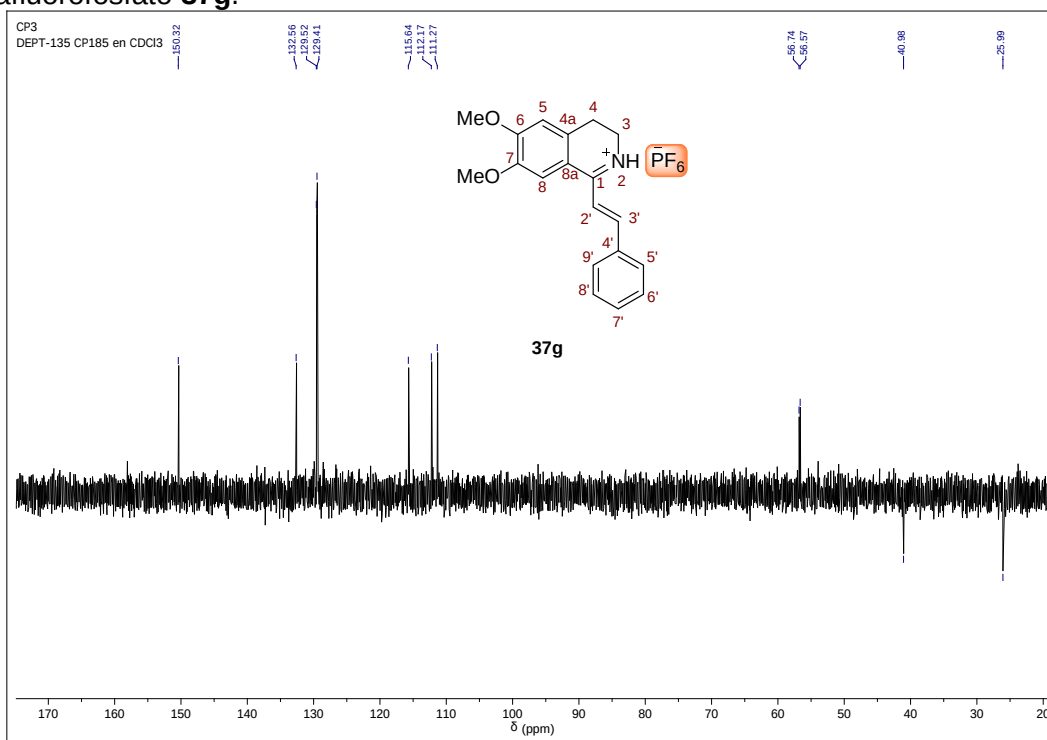
Anexo 27-B. Espectro de ¹H RMN de la 1-Estiril-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37g**.



Anexo 27-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-Estiril-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37g**.

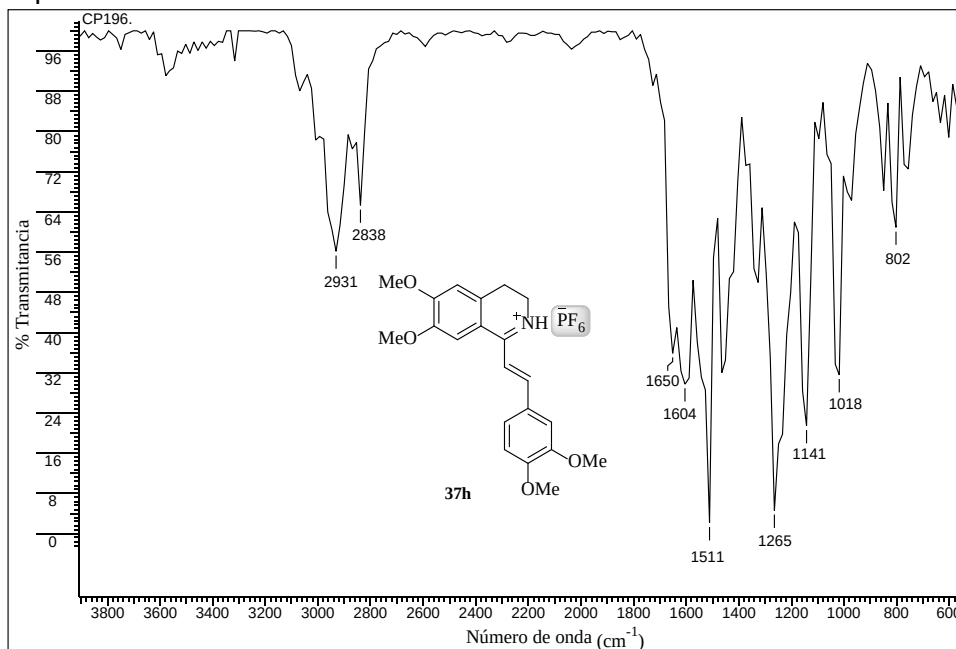


Anexo 27-D. Espectro DEPT-135 de la 1-Estiril-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37g**.

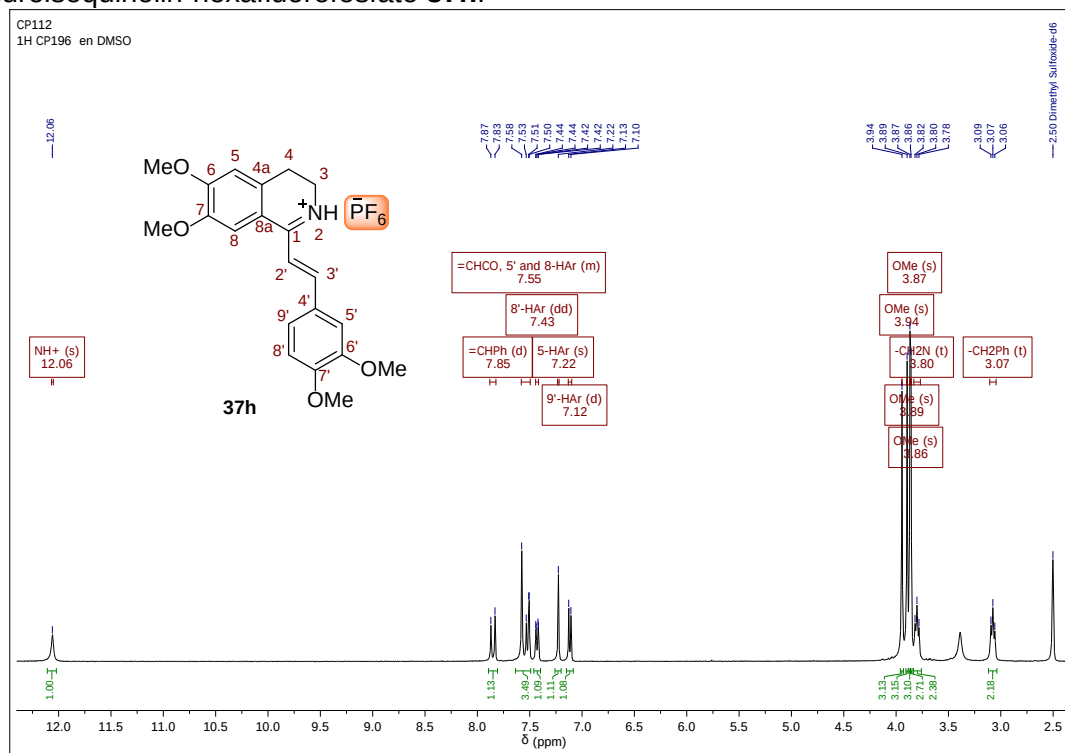


Anexo 28. Espectros relacionados con el compuesto 37h.

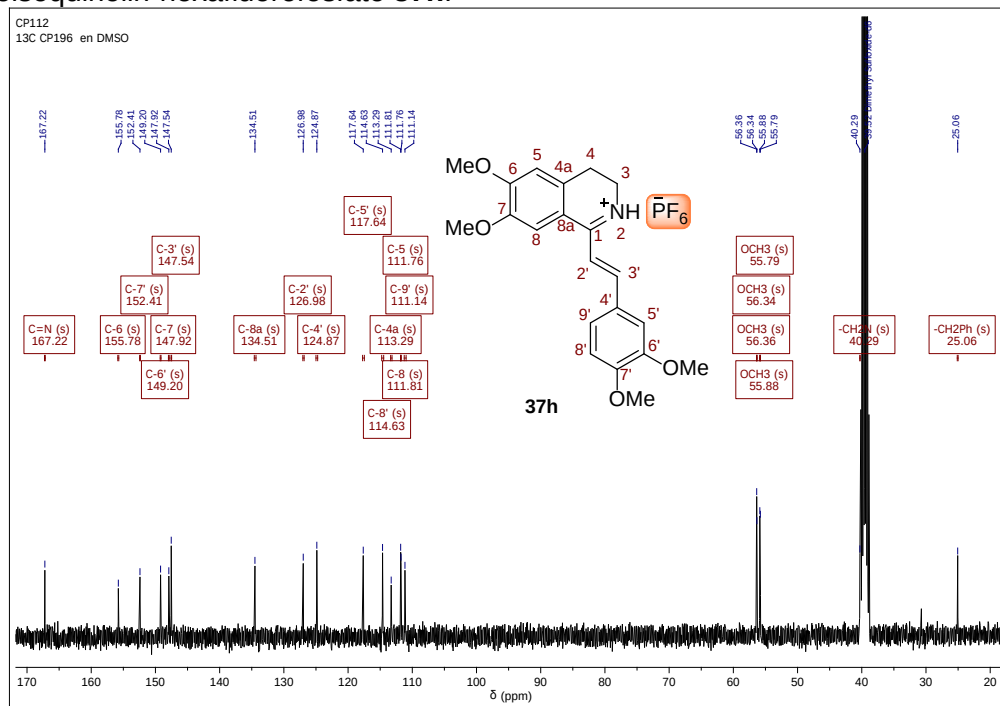
Anexo 28-A. Espectro infrarrojo de la 1-(3,4-Dimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato 37h.



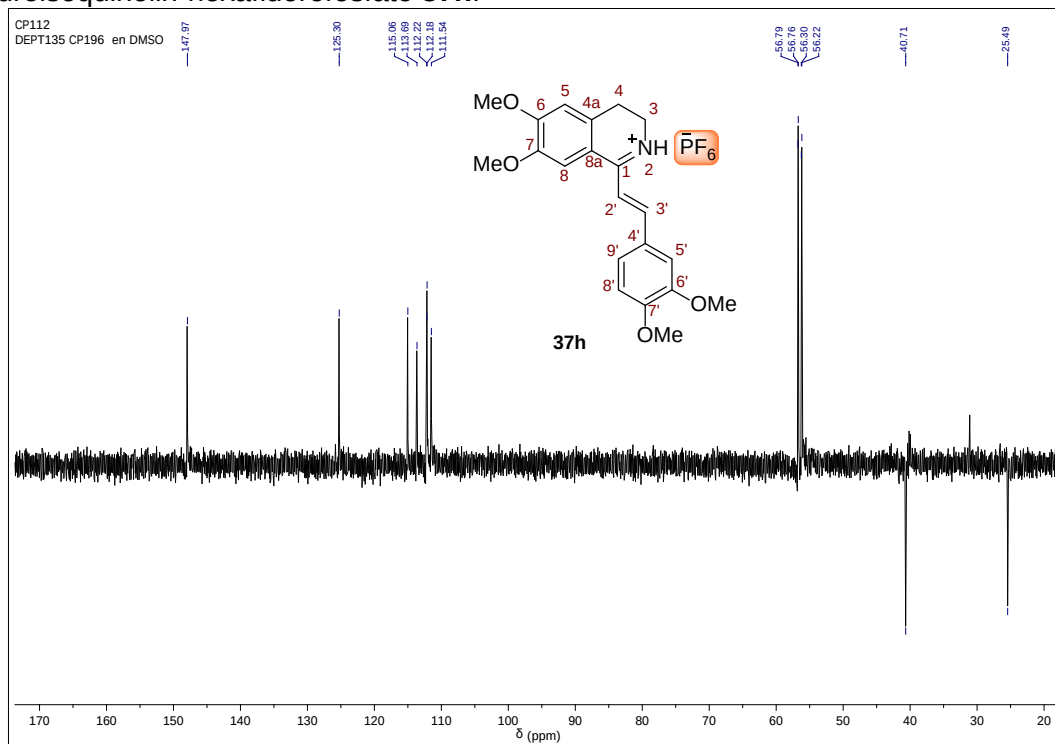
Anexo 28-B. Espectro de ¹H RMN de la 1-(3,4-Dimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato 37h.



Anexo 28-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-(3,4-Dimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37h**.

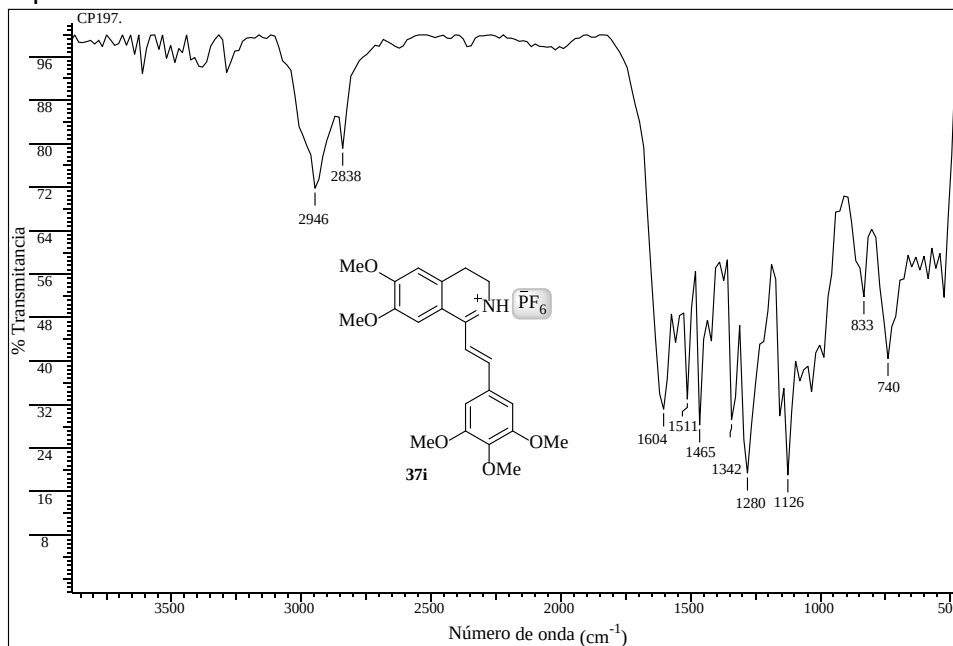


Anexo 28-D. Espectro DEPT-135 de la 1-(3,4-Dimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37h**.

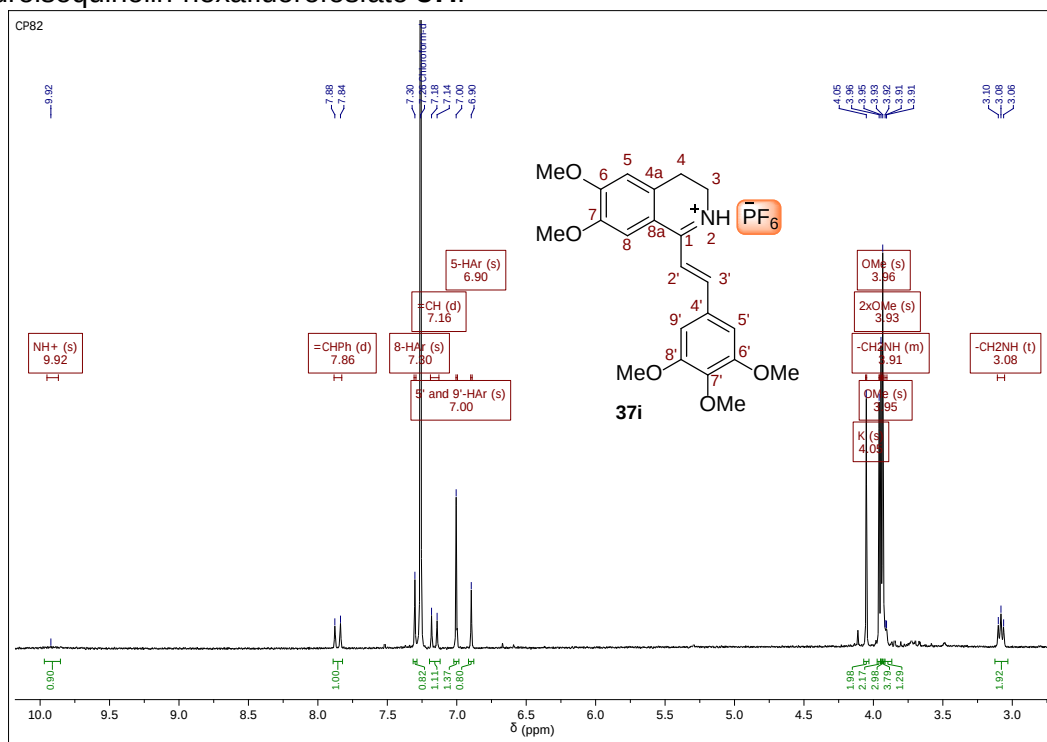


Anexo 29. Espectros relacionados con el compuesto 37i.

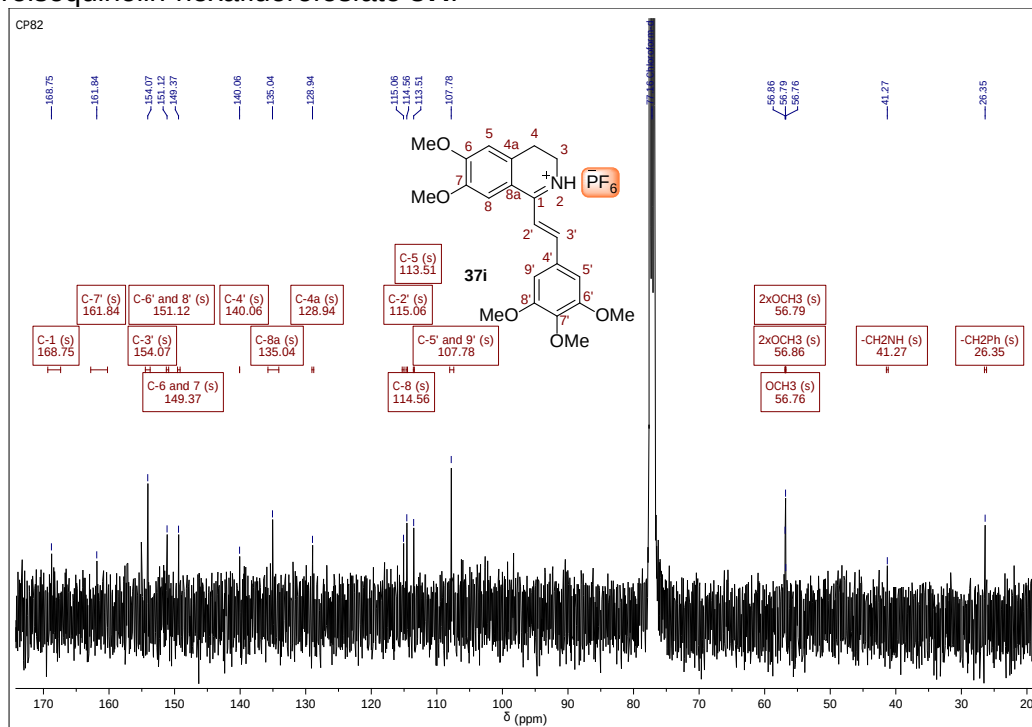
Anexo 29-A. Espectro infrarrojo de la 1-(3,4,5-Trimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37i**.



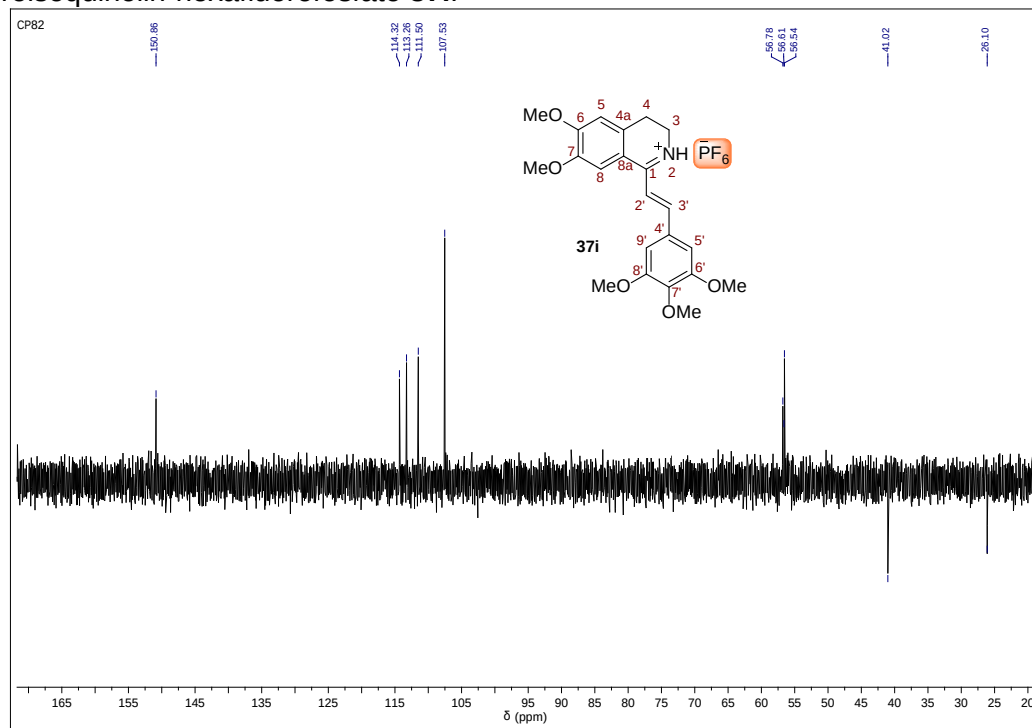
Anexo 29-B. Espectro de ^1H RMN de la 1-(3,4,5-Trimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37i**.



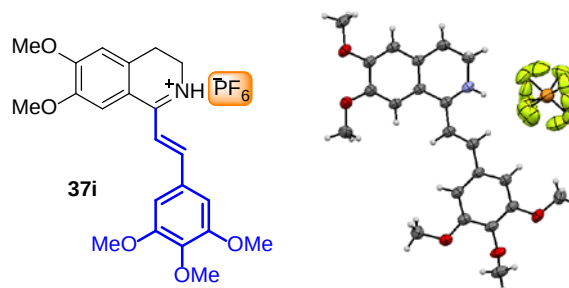
Anexo 29-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-(3,4,5-Trimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37i**.



Anexo 29-D. Espectro DEPT-135 de la 1-(3,4,5-Trimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37i**.



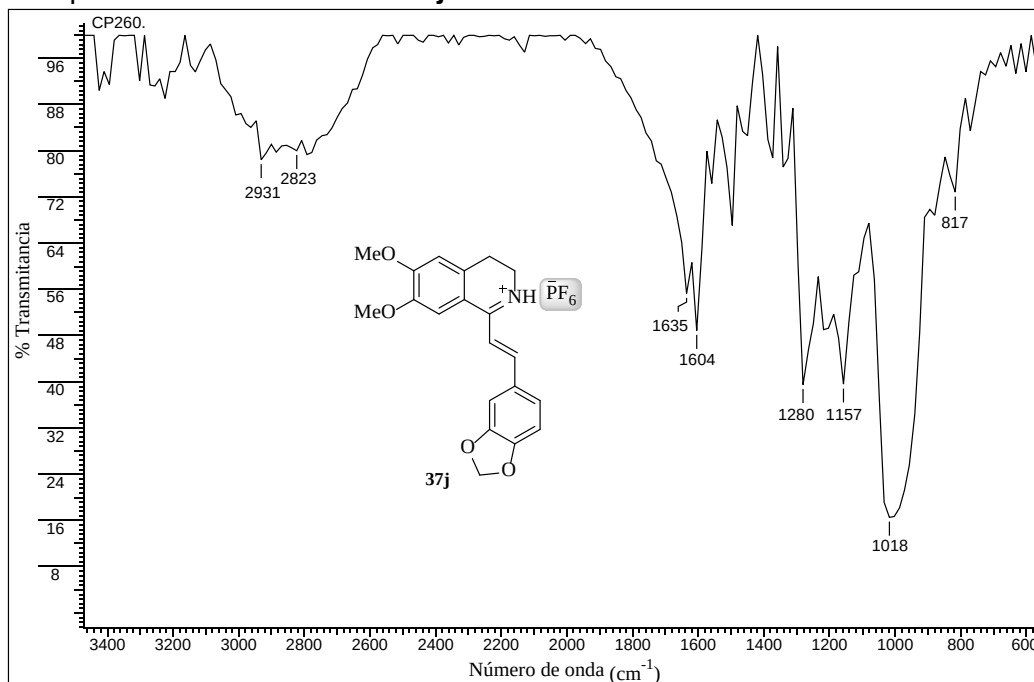
Anexo 29-E. Datos de difracción de rayos-X de monocristal para el 1-(3,4,5-Trimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37i**.



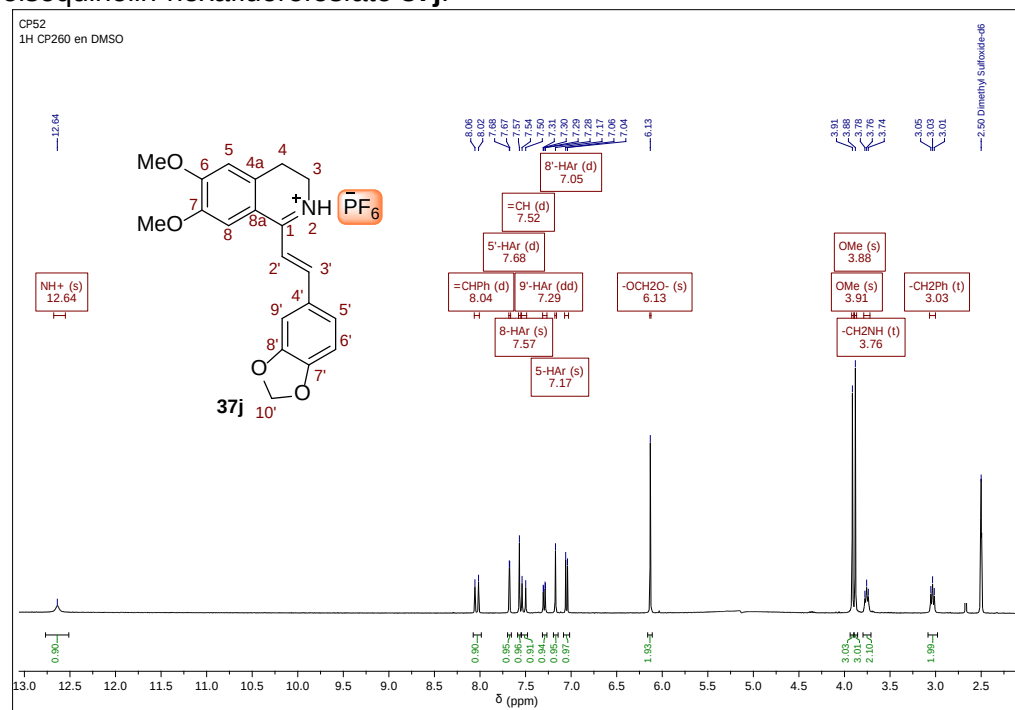
Datos cristalográficos	37i
Fórmula empírica	C ₂₂ H ₂₆ NO ₅ , PF ₆
<i>M_r</i>	529.41
Temperatura (°C)	298 K
Longitud de onda (Å)	0.71073 Å
Sistema cristalino	Triclínico
Grupo espacial	P $\bar{1}$
Dimensiones de la celda unidad	
<i>a</i> (Å)	8.3124 (9) Å
<i>b</i> (Å)	11.6899 (11) Å
<i>c</i> (Å)	12.2686 (8) Å
α , β , γ (°)	78.204 (7), 88.640 (7), 84.652 (8)
Volumen (Å ³)	1161.88 (19) Å ³
<i>Z</i>	2
Densidad (calculada) (g/cm ³)	1.513
Tamaño del cristal (mm)	0.37 × 0.35 × 0.29
Colección de datos	
Difractómetro	SuperNova, Dual, Cu at zero, Atlas diffractometer
<i>T_{min}</i> , <i>T_{max}</i>	0.709, 1.000
Numero de mediciones	<u>25972</u>
Reflexiones independientes y observadas [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)]	<u>5125</u> , <u>3963</u>
<i>R_{int}</i>	<u>0.048</u>
(sin θ/λ) _{max} (Å ⁻¹)	0.641
Refinamiento	
<i>R</i> [<i>F</i> ² > 2σ(<i>F</i> ²)], <i>wR</i> (<i>F</i> ²), <i>S</i>	<u>0.058</u> , <u>0.174</u> , <u>1.07</u>
Reflexiones colectadas	<u>5125</u>
Numero de parametros	<u>388</u>
Numero de restricciones	<u>322</u>
Δρ _{max} , Δρ _{min} (e Å ⁻³)	<u>0.44</u> , <u>-0.43</u>

Anexo 30. Espectros relacionados con el compuesto 37j.

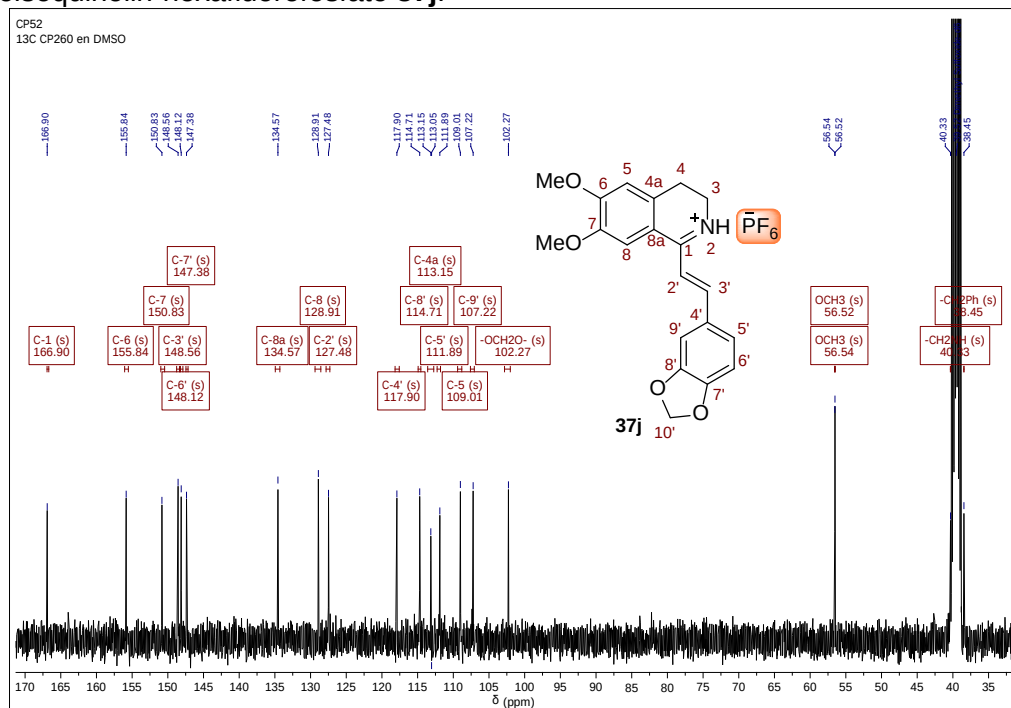
Anexo 30-A. Espectro infrarrojo de la 1-(3,4-Metilendioxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato 37j.



Anexo 30-B. Espectro de ¹H RMN de la 1-(3,4-Metilendioxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato 37j.

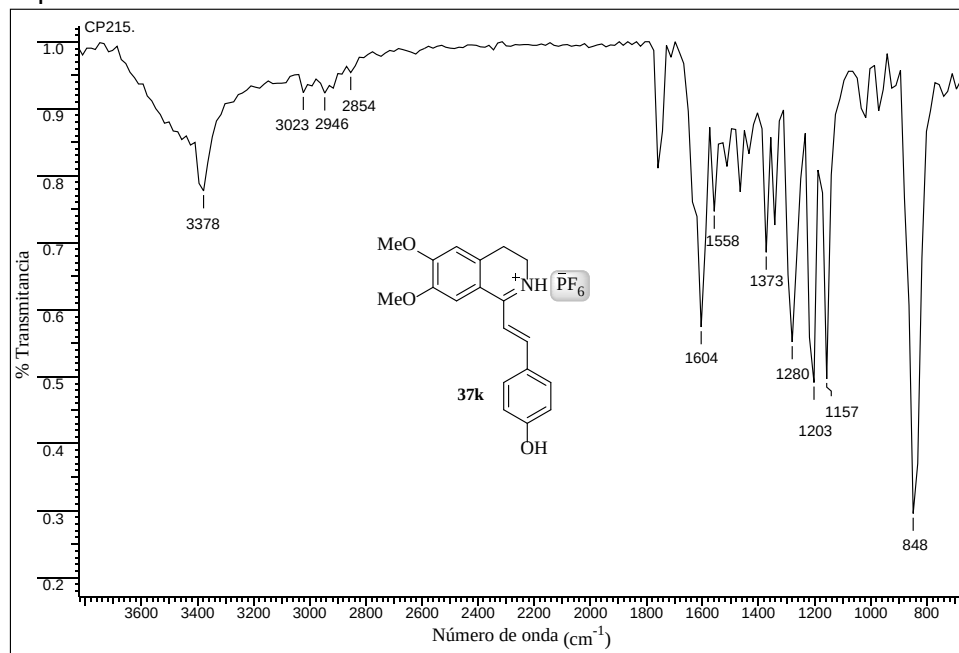


Anexo 30-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-(3,4-Metilendioxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37j**.

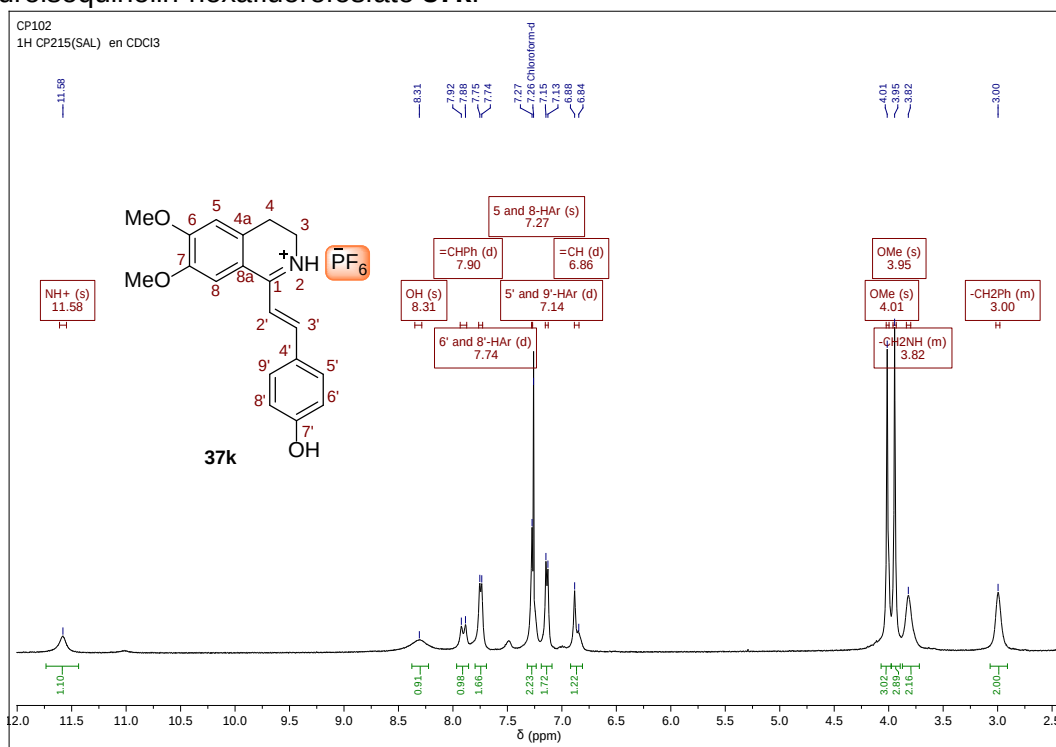


Anexo 31. Espectros relacionados con el compuesto 37k.

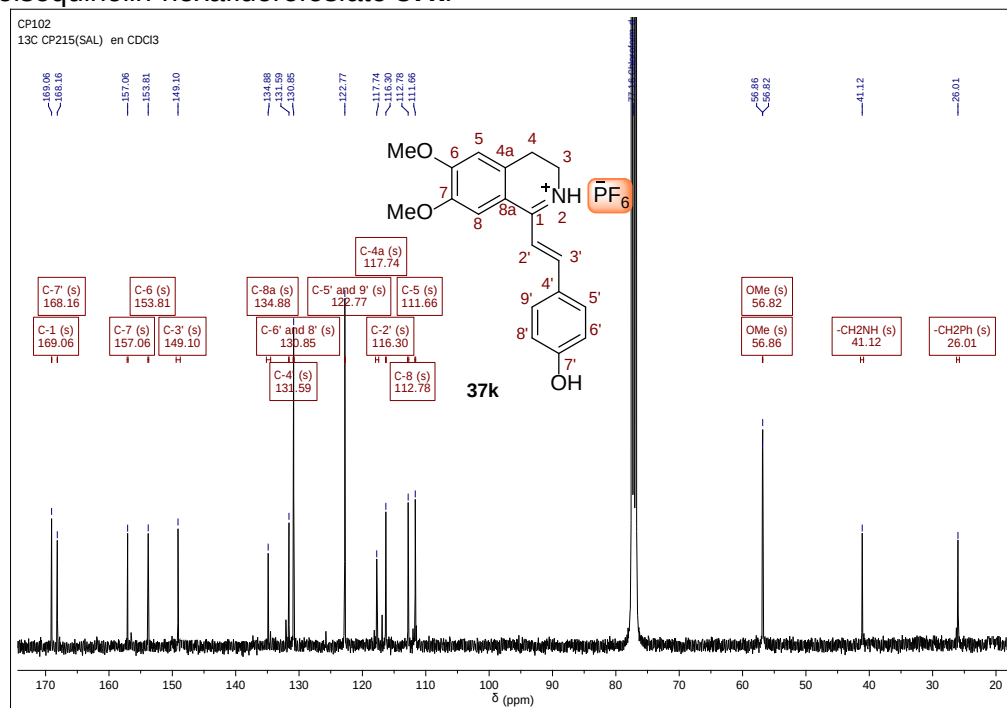
Anexo 31-A. Espectro infrarrojo de la 1-(4-Hidroxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato 37k.



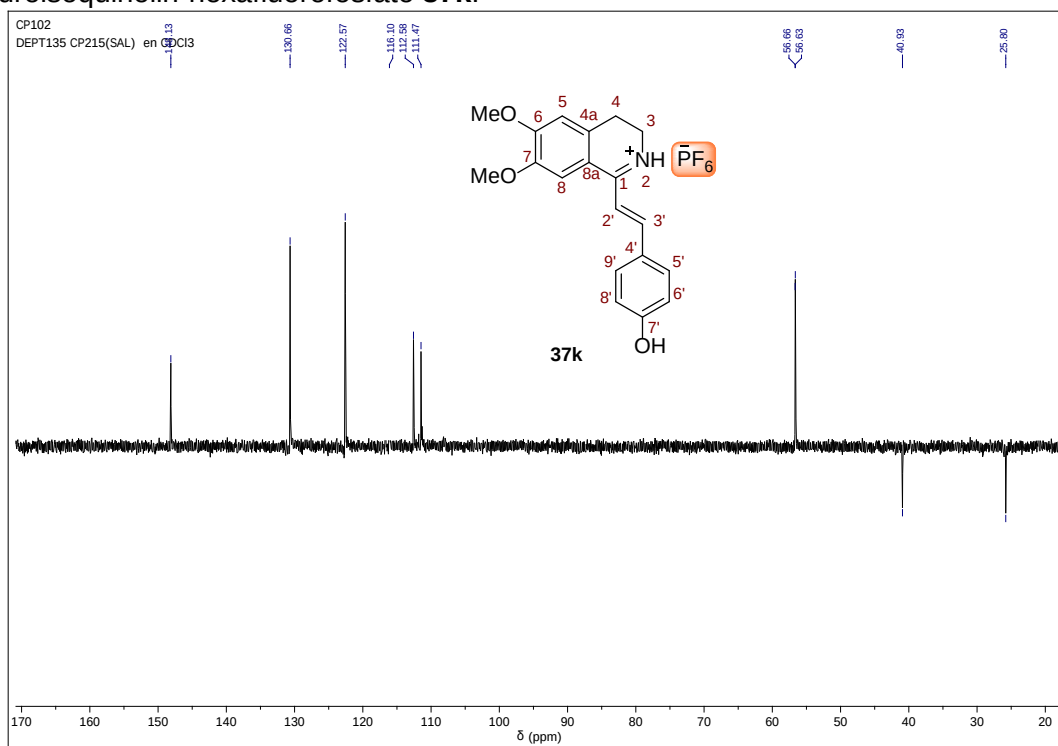
Anexo 31-B. Espectro de ¹H RMN de la 1-(4-Hidroxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato 37k.



Anexo 31-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-(4-Hidroxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37k**.

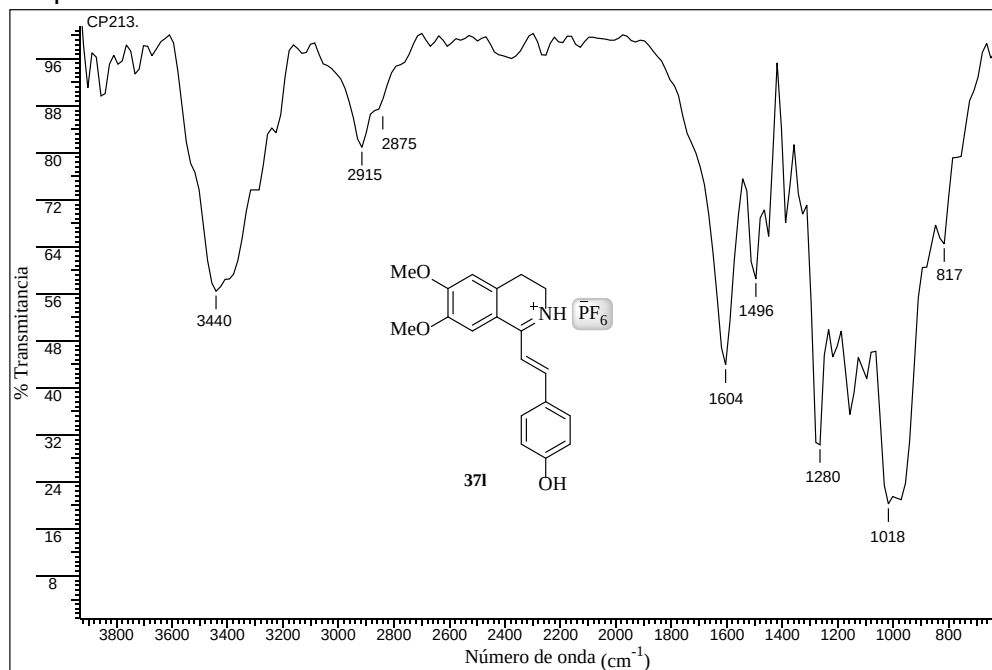


Anexo 31-D. Espectro DEPT-135 de la 1-(4-Hidroxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37k**.

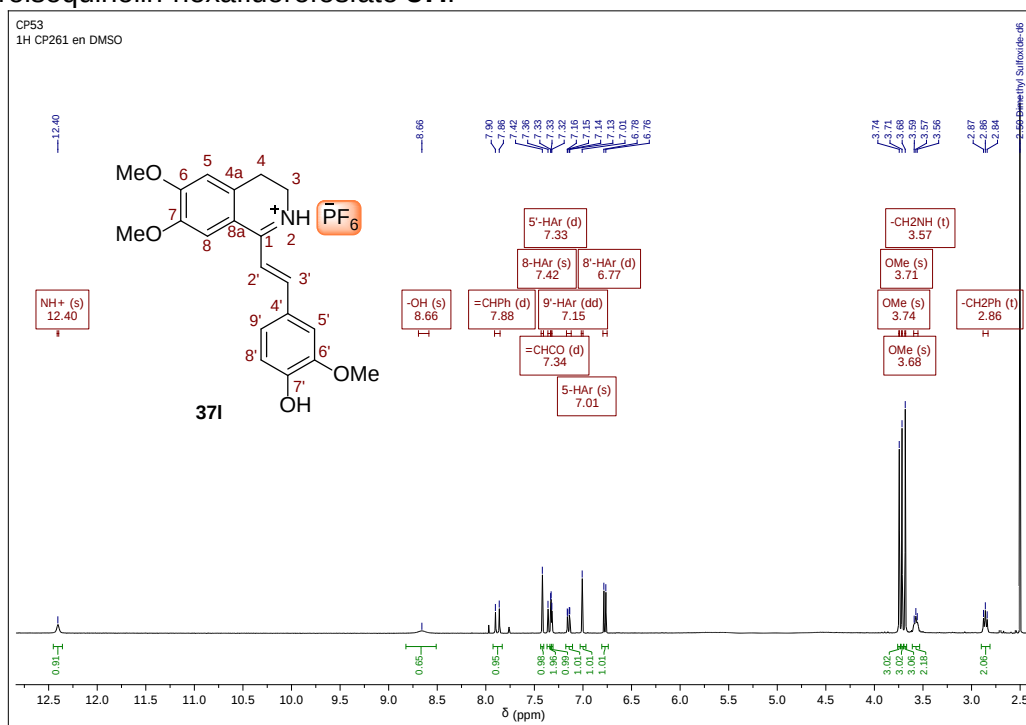


Anexo 32. Espectros relacionados con el compuesto 37I.

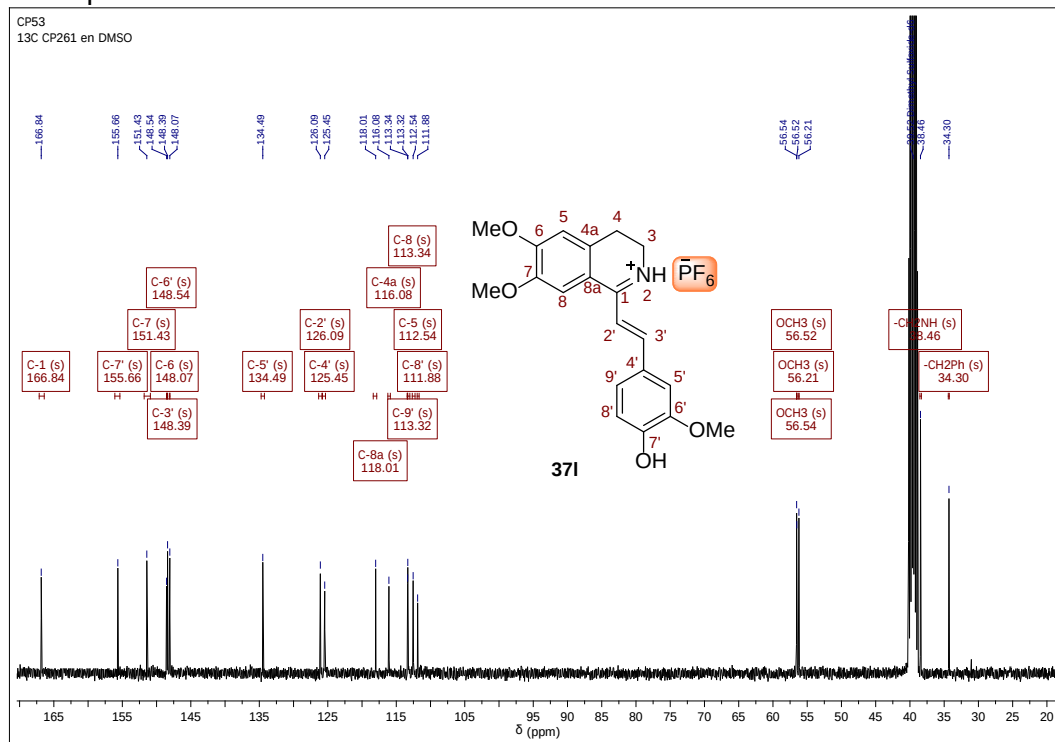
Anexo 32-A. Espectro infrarrojo de la 1-(4-Hidroxi-3-metoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato 37I.



Anexo 32-B. Espectro de ¹H RMN de la 1-(4-Hidroxi-3-metoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato 37I.



Anexo 32-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-(4-Hidroxi-3-metoxiestiril)-6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-hexafluorofosfato **37l**.

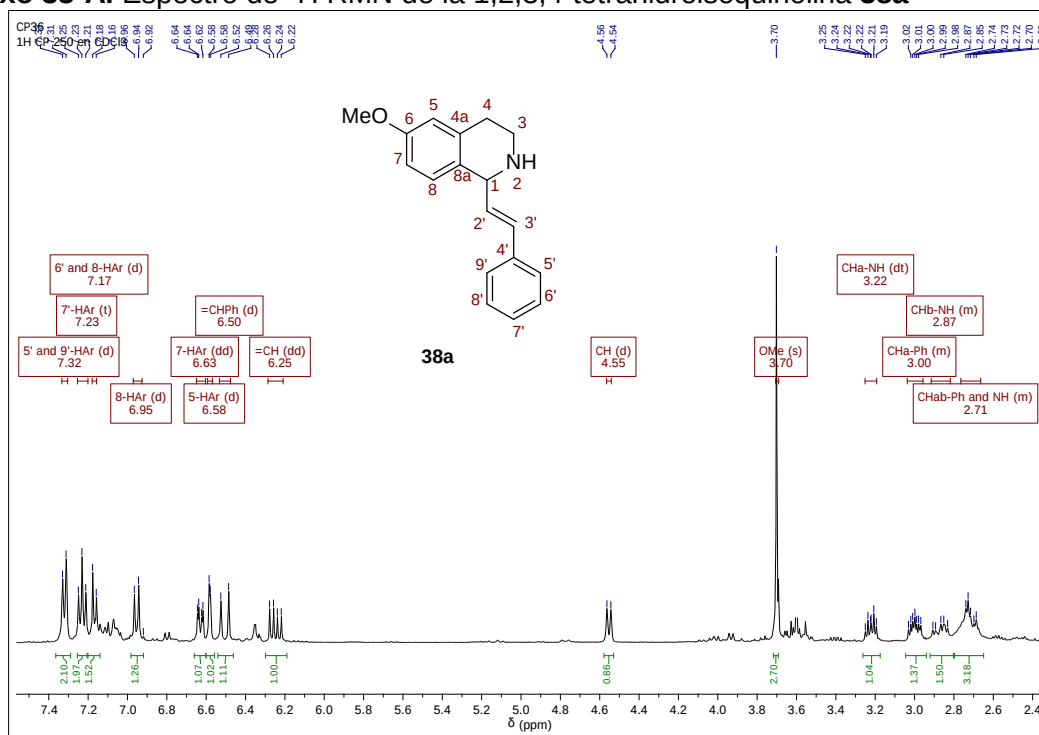


ANEXOS 33-44

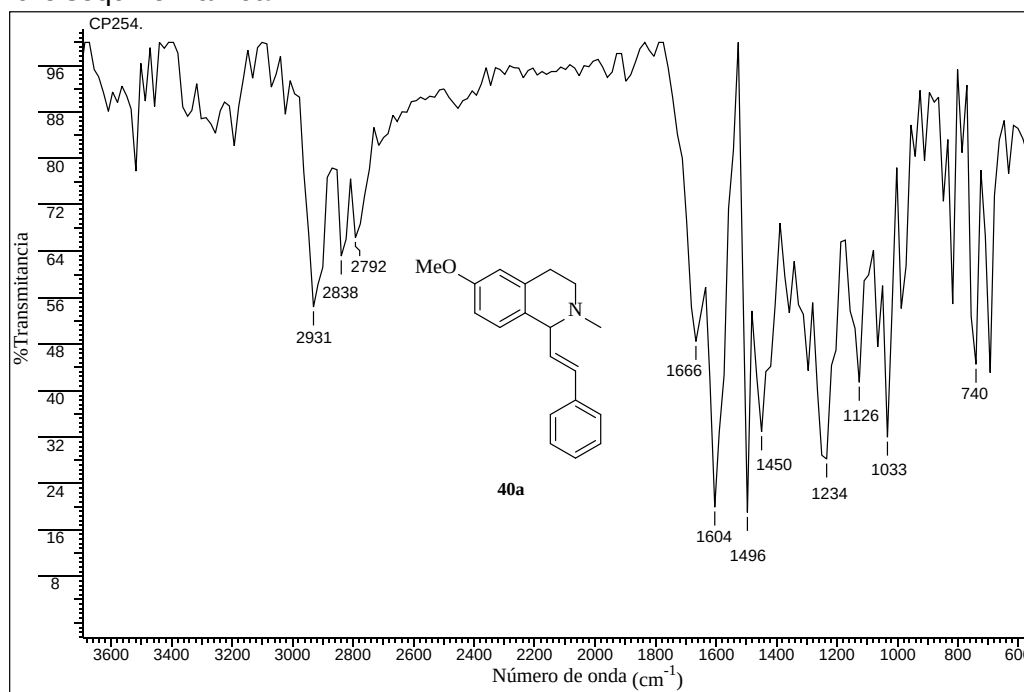
Información espectral relacionada con las 1-estiril-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas 40a-l

Anexo 33. Espectros relacionados con el compuesto 40a.

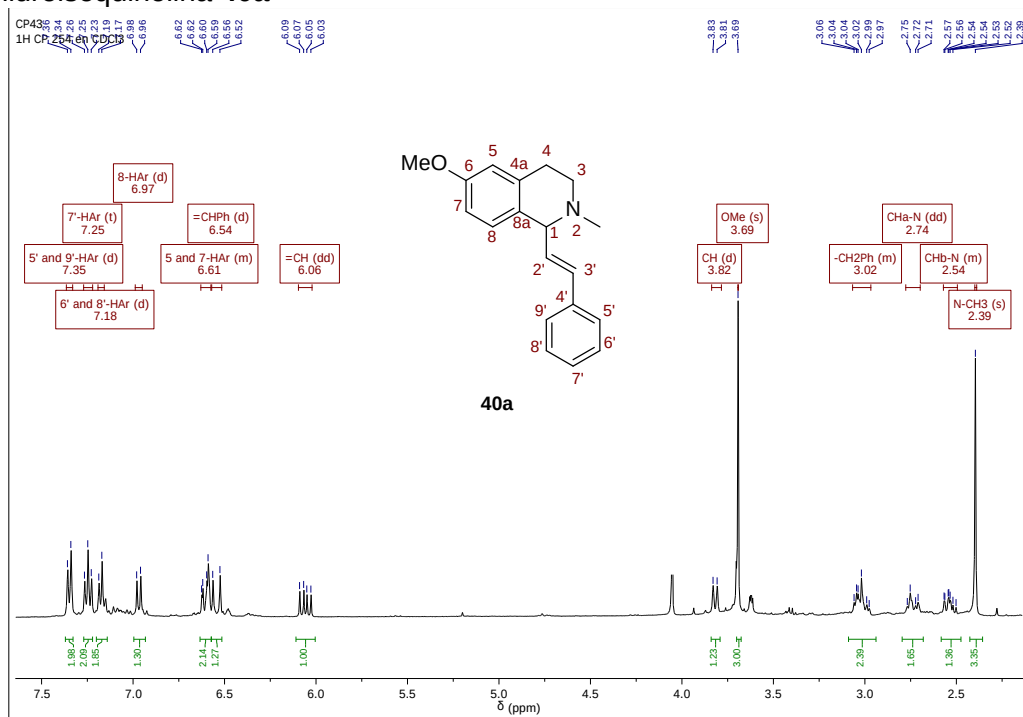
Anexo 33-A. Espectro de ^1H RMN de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina 38a



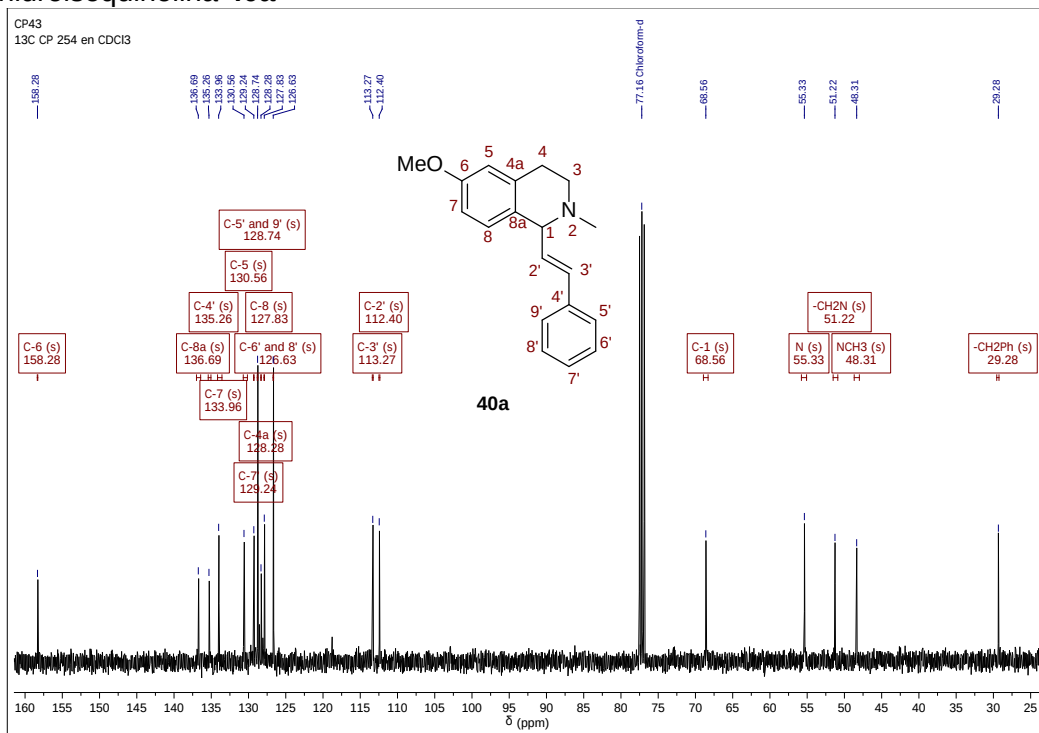
Anexo 33-B. Espectro infrarrojo de la 1-Estiril-6-metoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina 40a



Anexo 33-C. Espectro de ^1H RMN de la 1-Estiril-6-metoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisquinolina **40a**

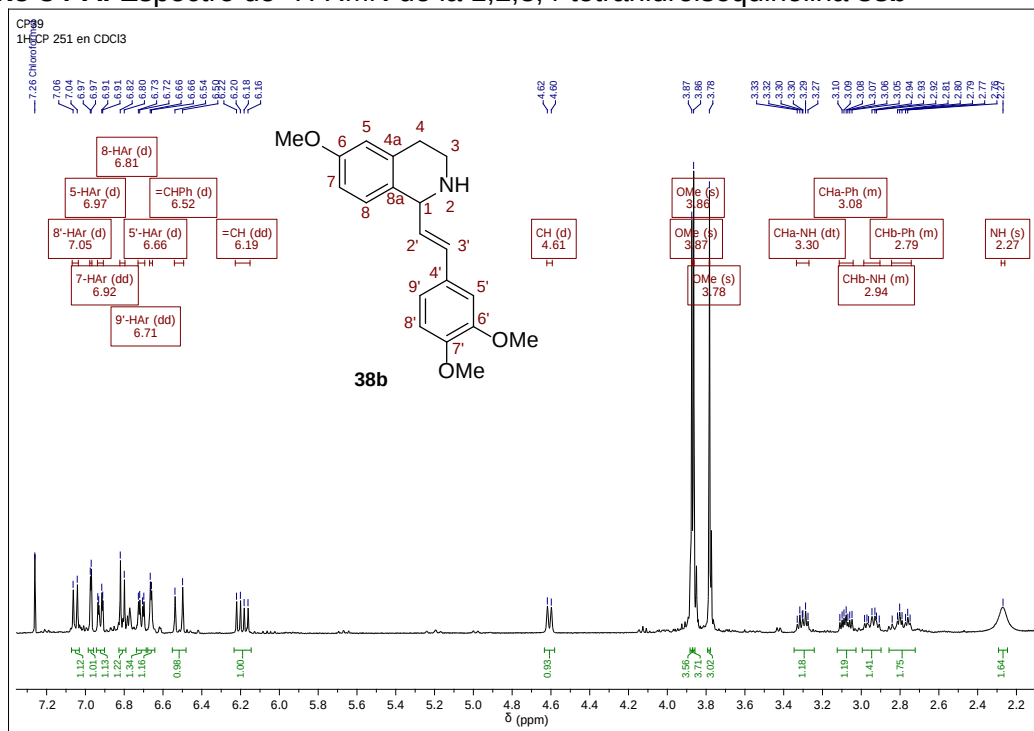


Anexo 33-D. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-Estiril-6-metoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisquinolina **40a**

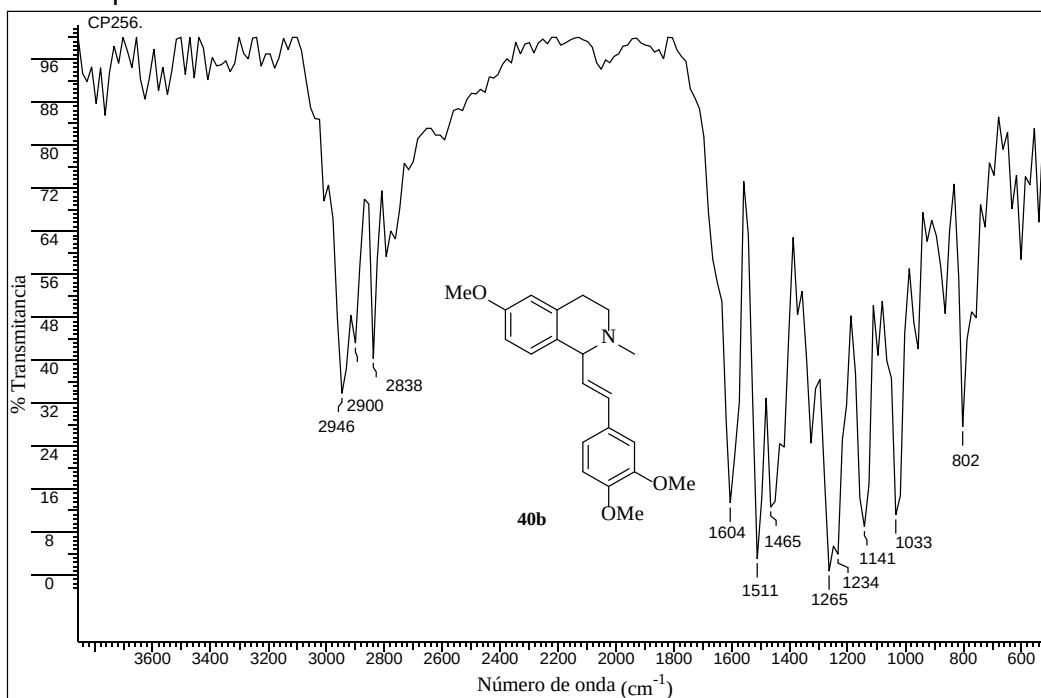


Anexo 34. Espectros relacionados con el compuesto 40b.

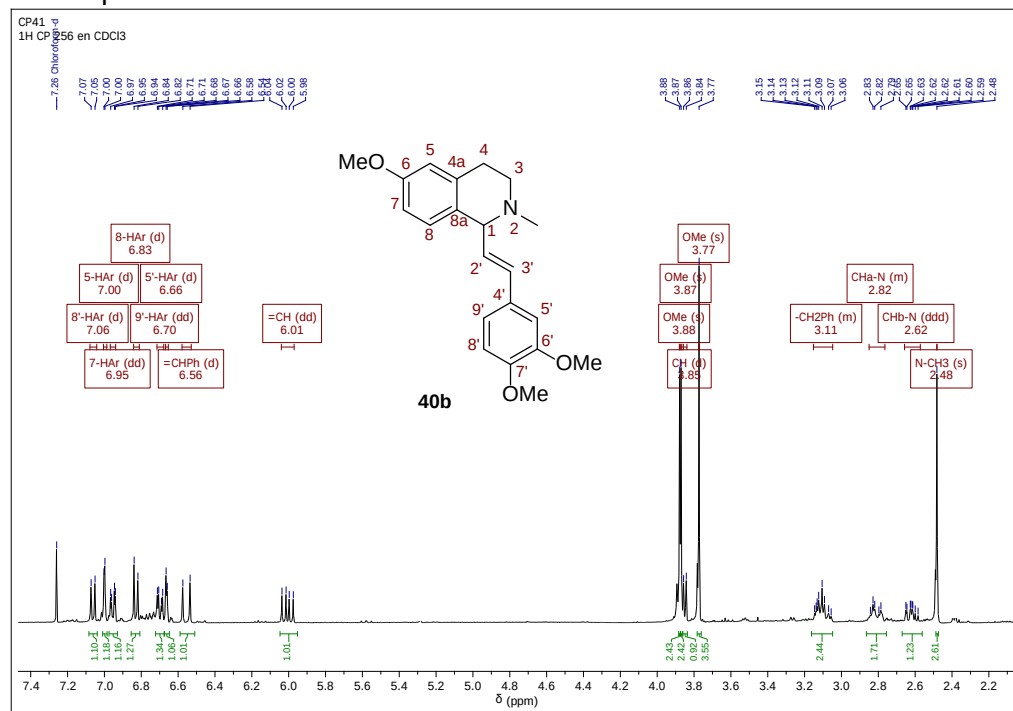
Anexo 34-A. Espectro de ^1H RMN de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina 38b



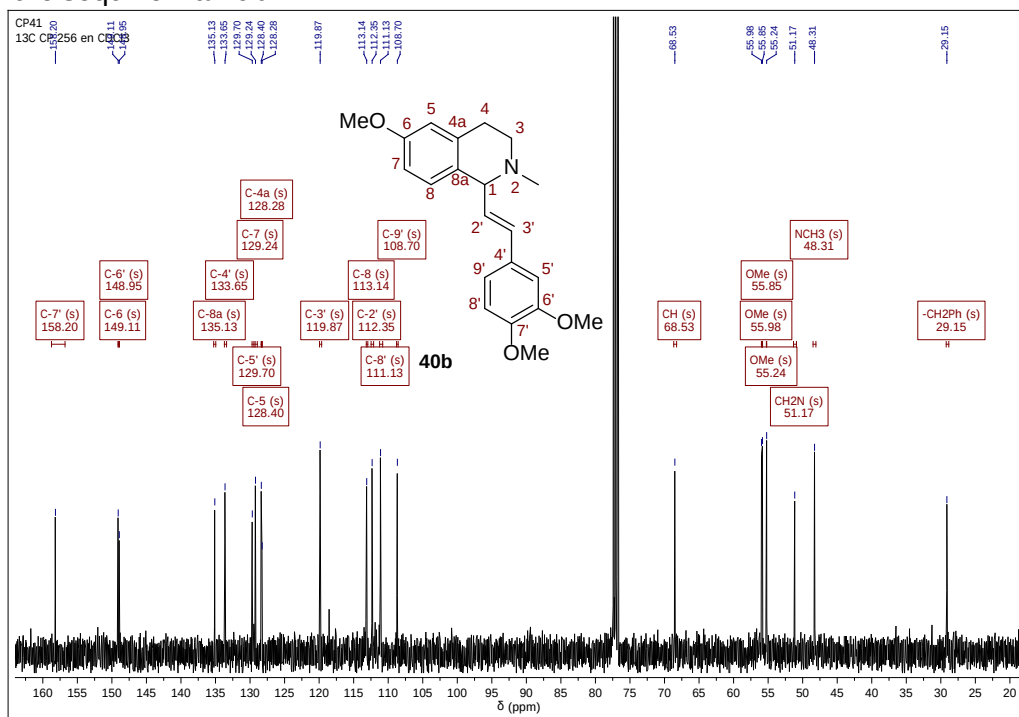
Anexo 34-B. Espectro infrarrojo de la 1-(3,4-Dimetoxiestiril)-6-metoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina 40b



Anexo 34-C. Espectro de ^1H RMN de la 1-(3,4-Dimetoxiestiril)-6-metoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40b**

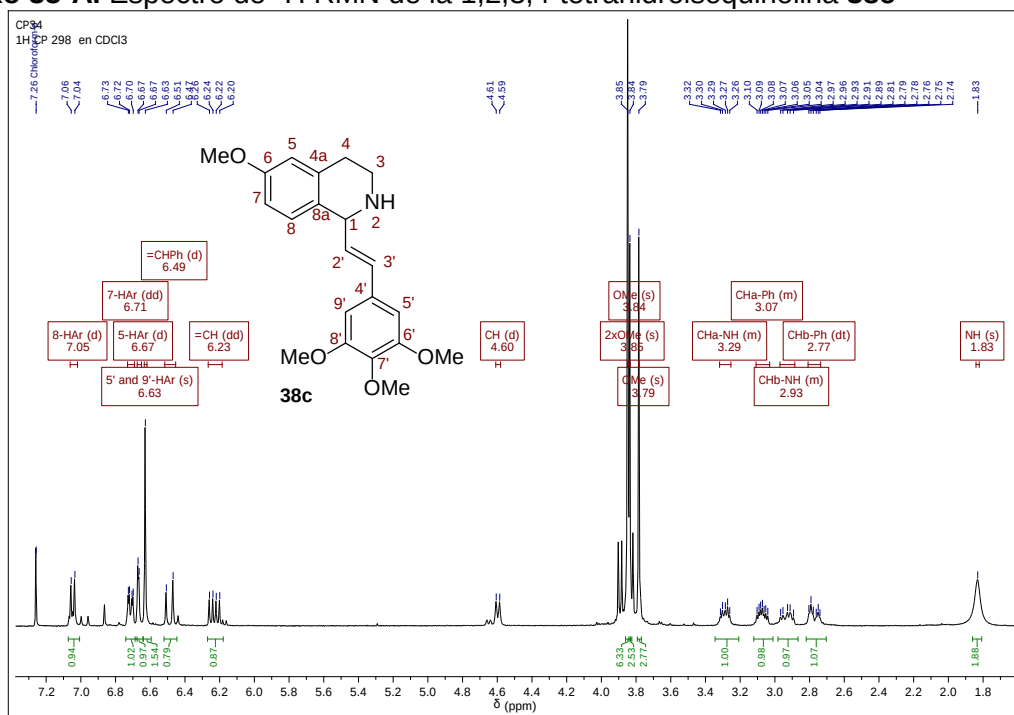


Anexo 34-D. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-(3,4-Dimetoxiestiril)-6-metoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40b**

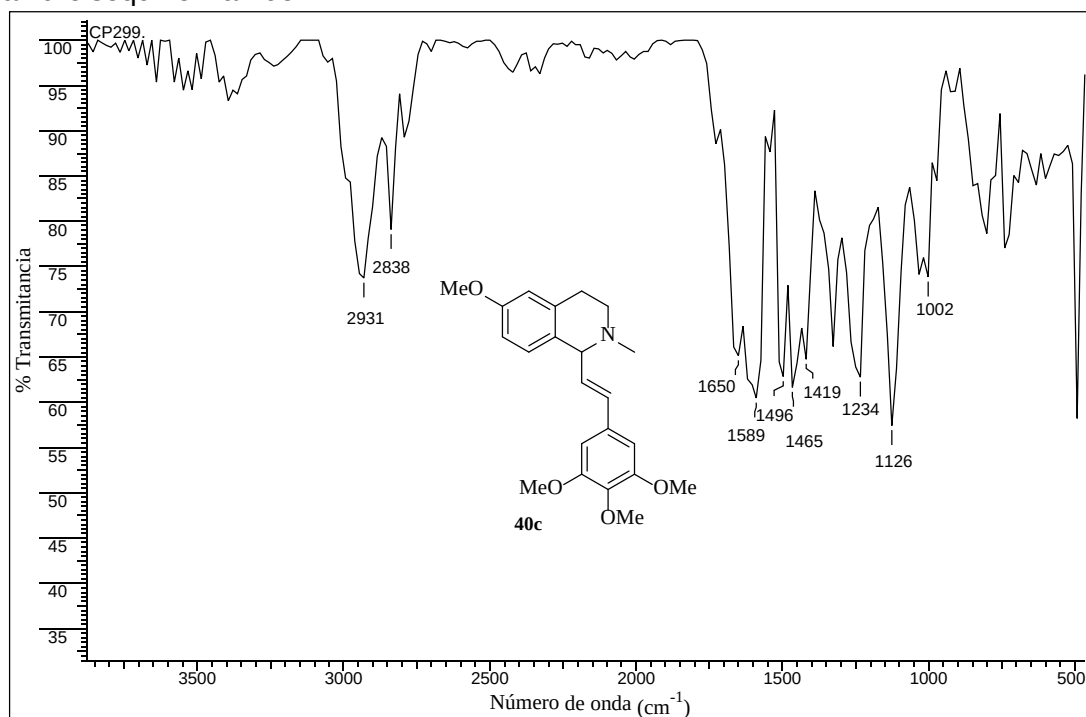


Anexo 35. Espectros relacionados con el compuesto 40c.

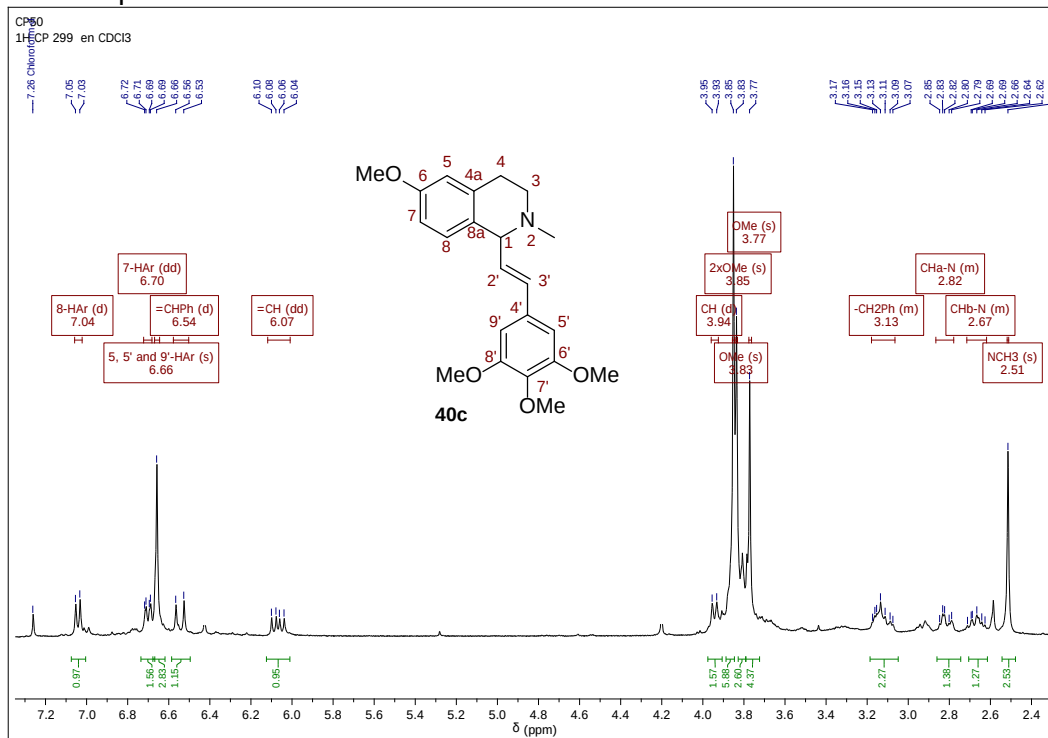
Anexo 35-A. Espectro de ^1H RMN de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina 38c



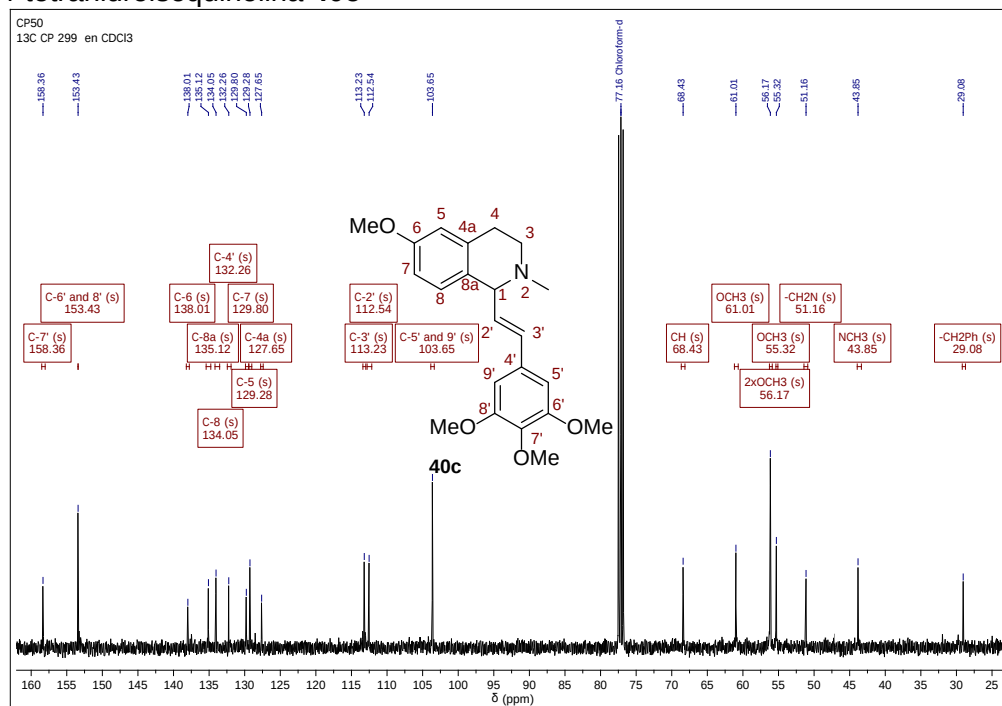
Anexo 35-B. Espectro infrarrojo de la 1-(3,4,5-Trimetoxiestiril)-6-metoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina 40c



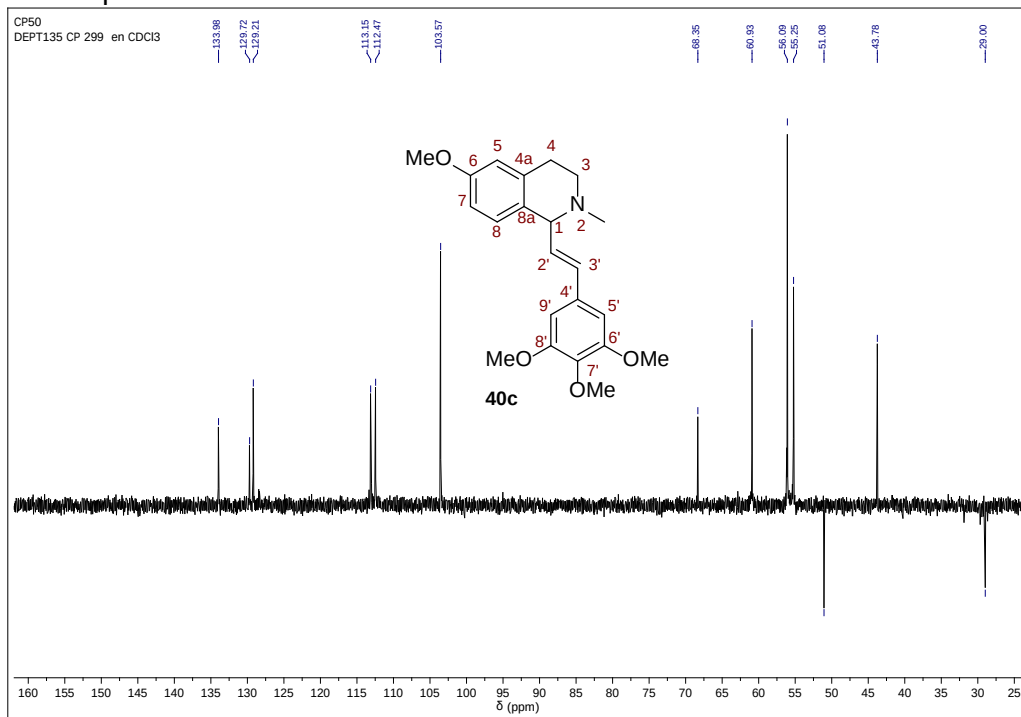
Anexo 35-C. Espectro de ^1H RMN de la 1-(3,4,5-Trimetoxiestiril)-6-metoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40c**



Anexo 35-D. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-(3,4,5-Trimetoxiestiril)-6-metoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40c**

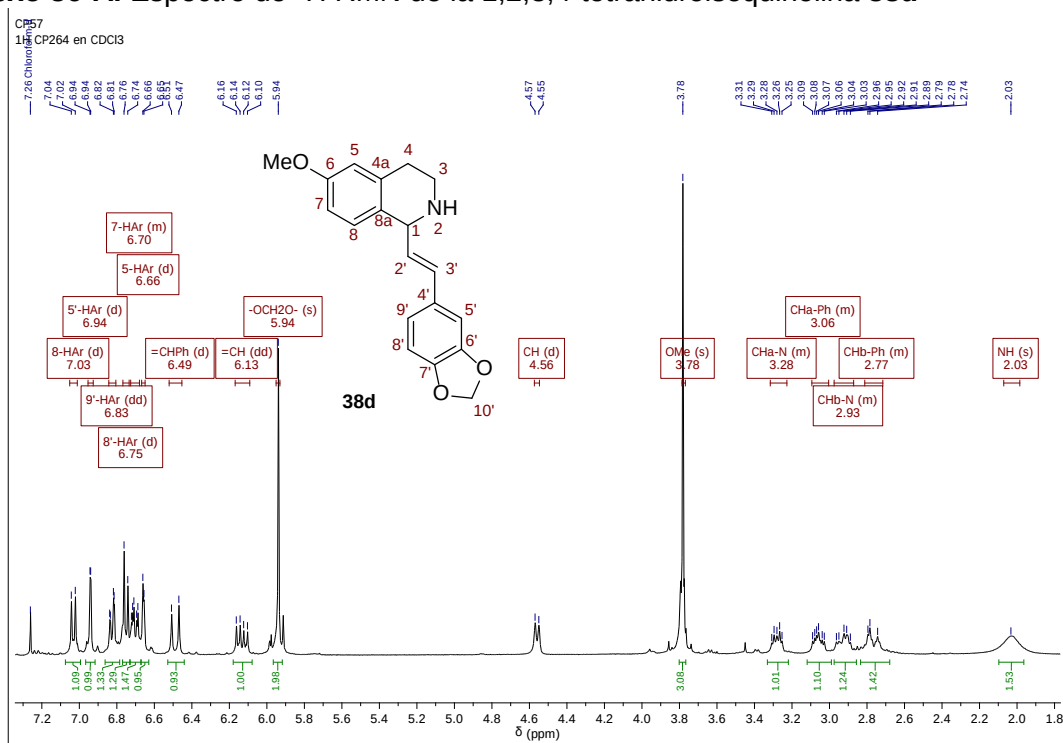


Anexo 35-E. Espectro DEPT-135 de la 1-(3,4,5-Trimetoxiestiril)-6-metoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40c**

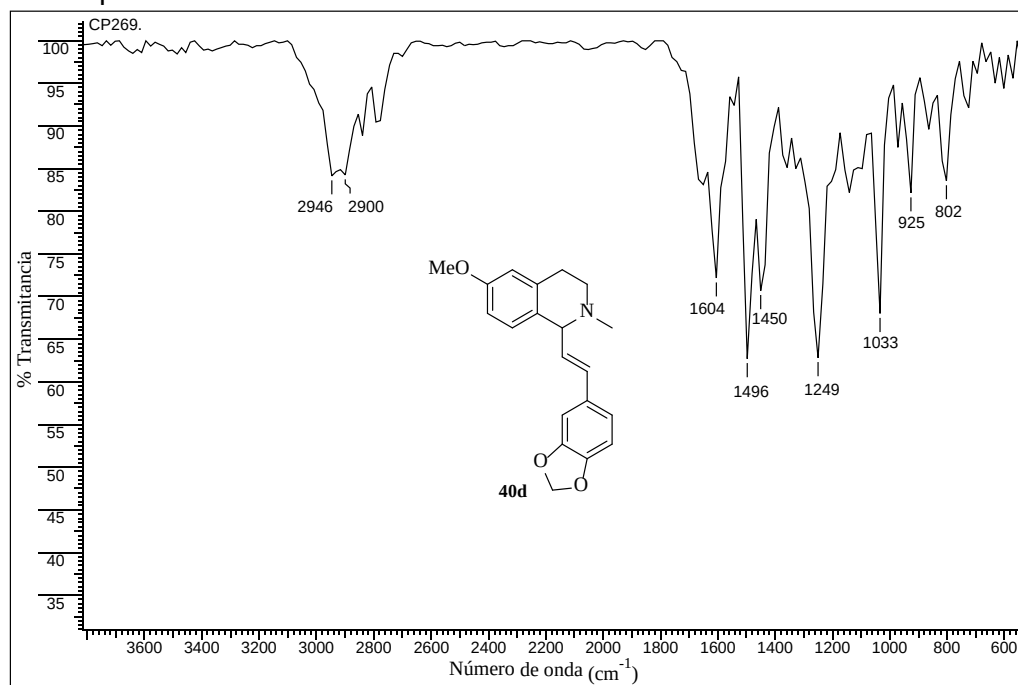


Anexo 36. Espectros relacionados con el compuesto 40d.

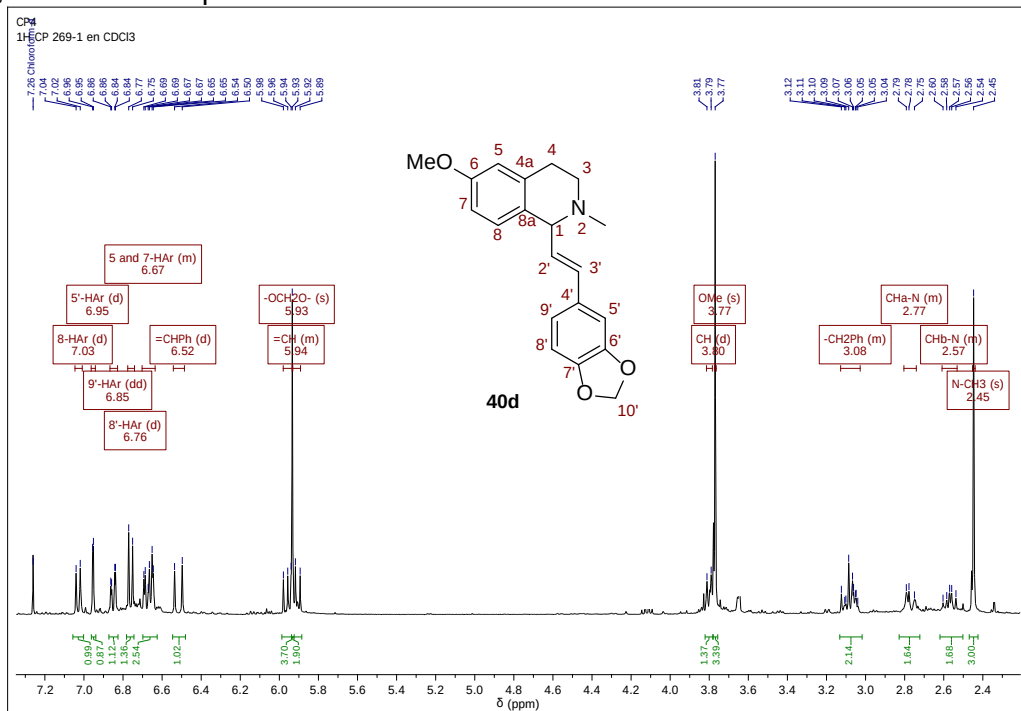
Anexo 36-A. Espectro de ^1H RMN de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina 38d



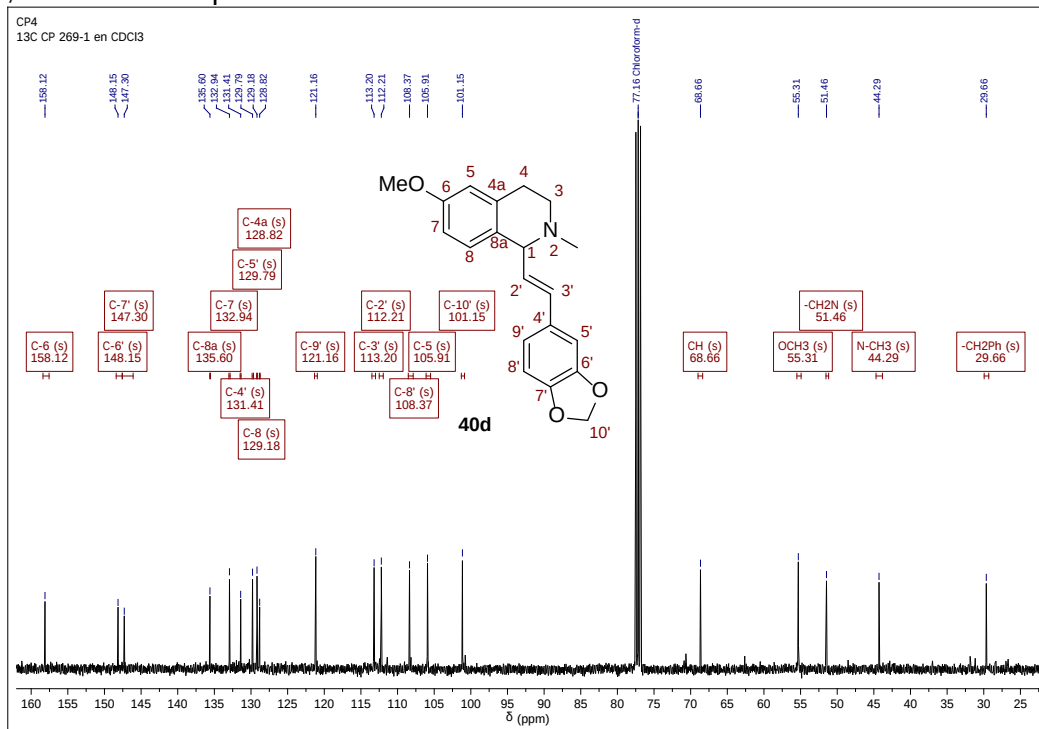
Anexo 36-B. Espectro infrarrojo de la 1-(3,4-Metilendioxiestiril)-6-metoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina 40d



Anexo 36-C. Espectro de ^1H RMN de la 1-(3,4-Metilendioxiestiril)-6-metoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40d**

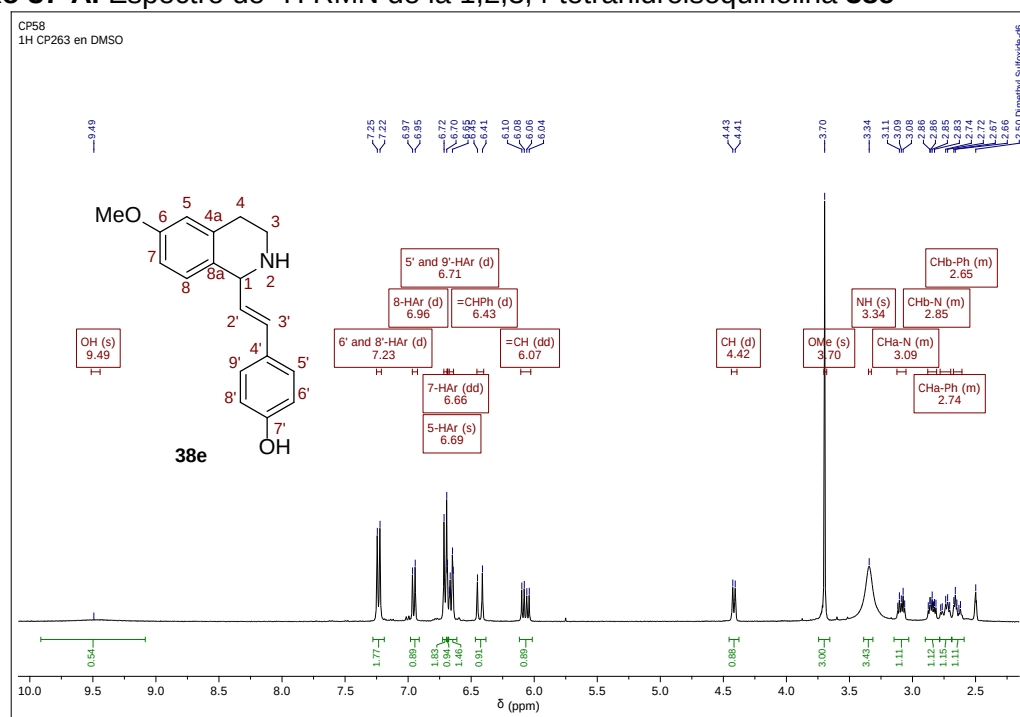


Anexo 36-D. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-(3,4-Metilendioxiestiril)-6-metoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40d**

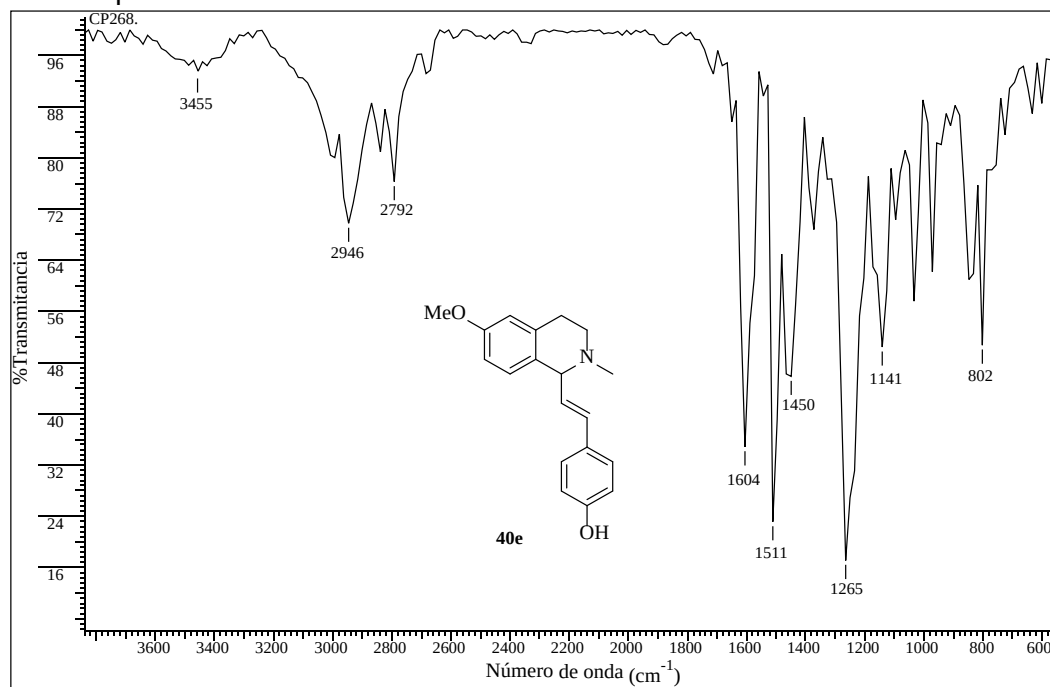


Anexo 37. Espectros relacionados con el compuesto 40e.

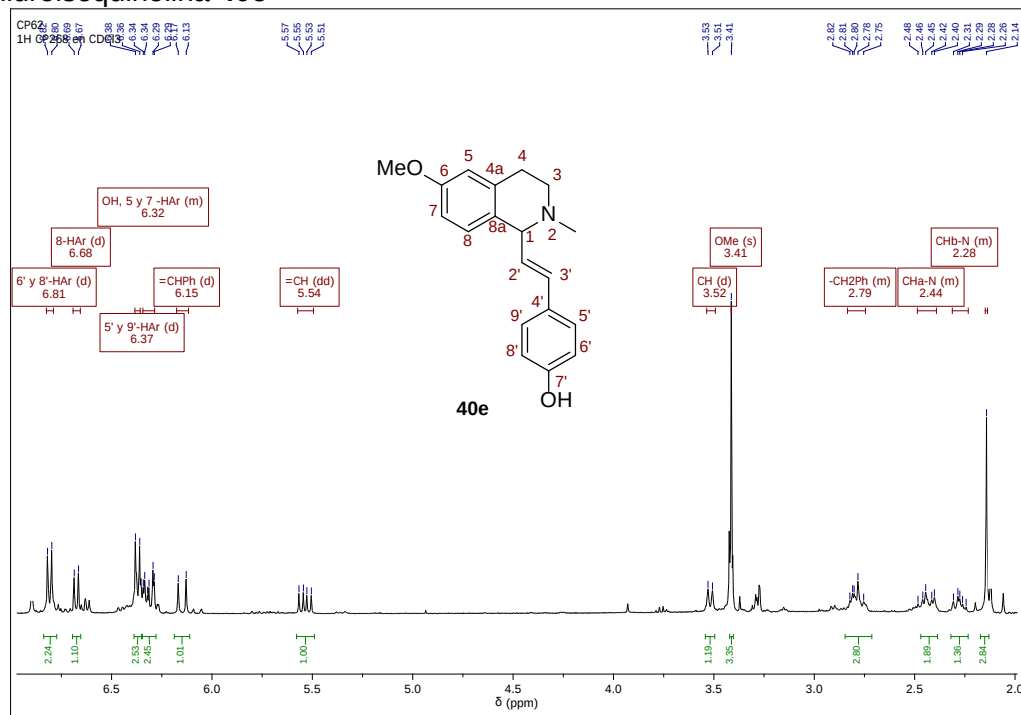
Anexo 37-A. Espectro de ^1H RMN de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina 38e



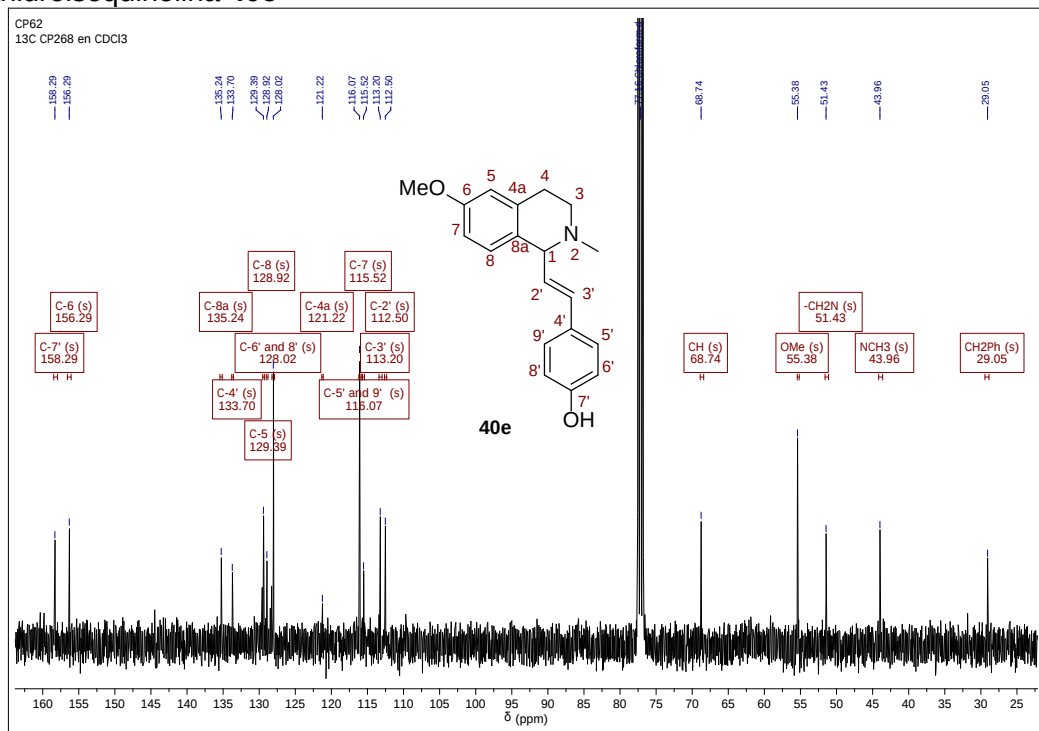
Anexo 37-B. Espectro infrarrojo de la 1-(4-Hidroxiestiril)-6-metoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina 40e



Anexo 37-C. Espectro de ^1H RMN de la 1-(4-Hidroxiestiril)-6-metoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40e**

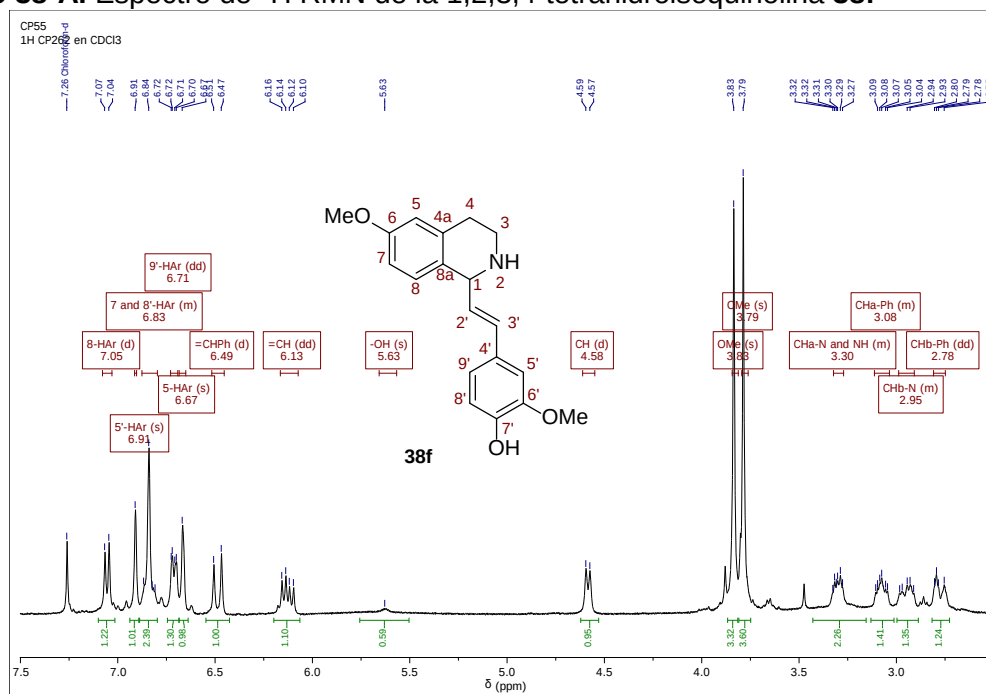


Anexo 37-D. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-(4-Hidroxiestiril)-6-metoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40e**

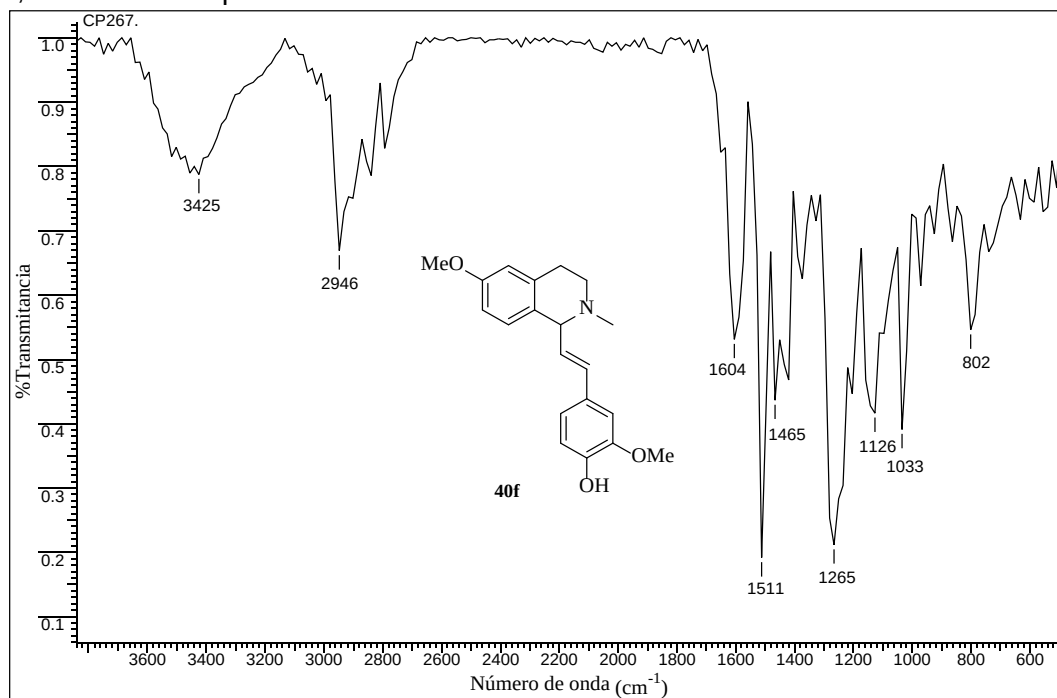


Anexo 38. Espectros relacionados con el compuesto 40f.

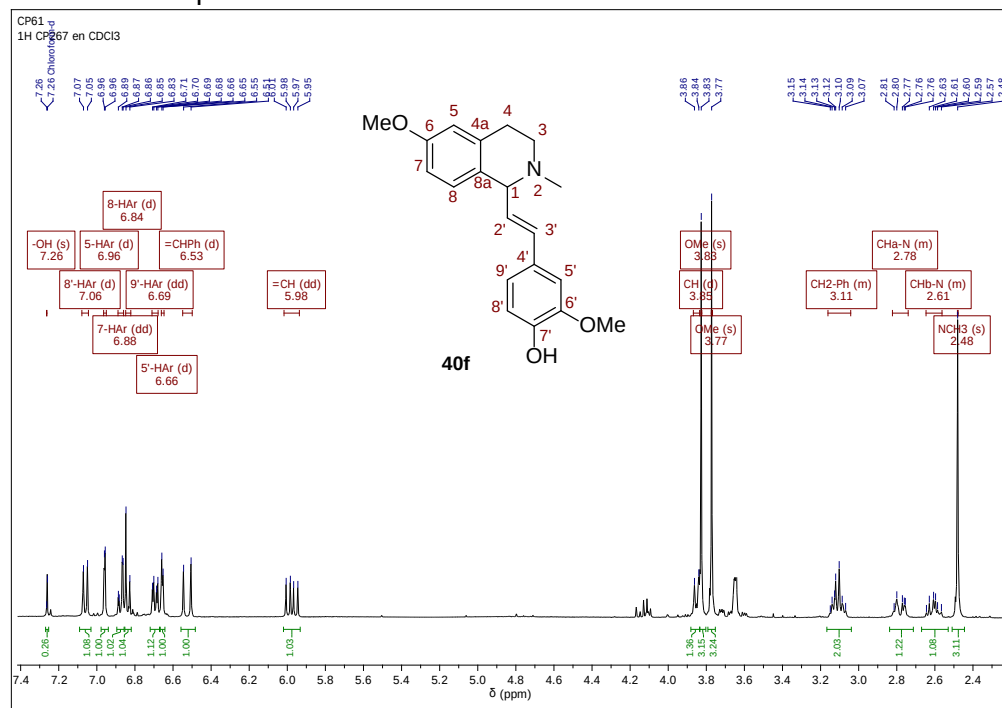
Anexo 38-A. Espectro de ^1H RMN de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina 38f



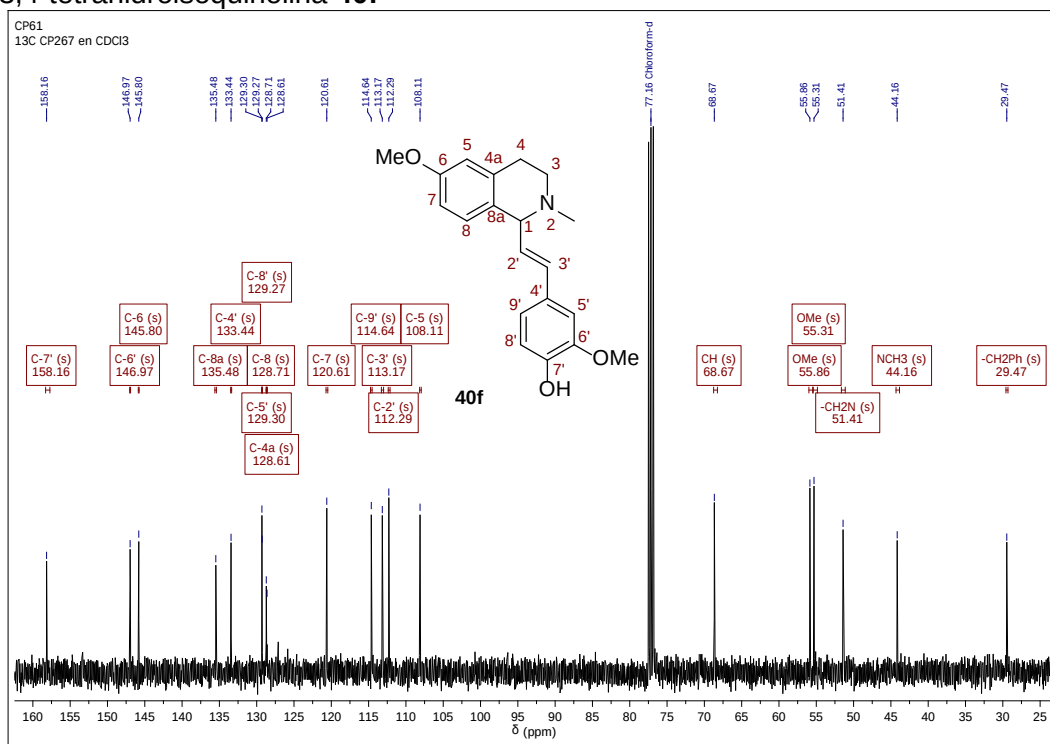
Anexo 38-B. Espectro infrarrojo de la 1-(4-Hidroxi-3-metoxiestiril)-6-metoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina 40f



Anexo 38-C. Espectro de ^1H RMN de la 1-(4-Hidroxi-3-metoxiestiril)-6-metoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40f**

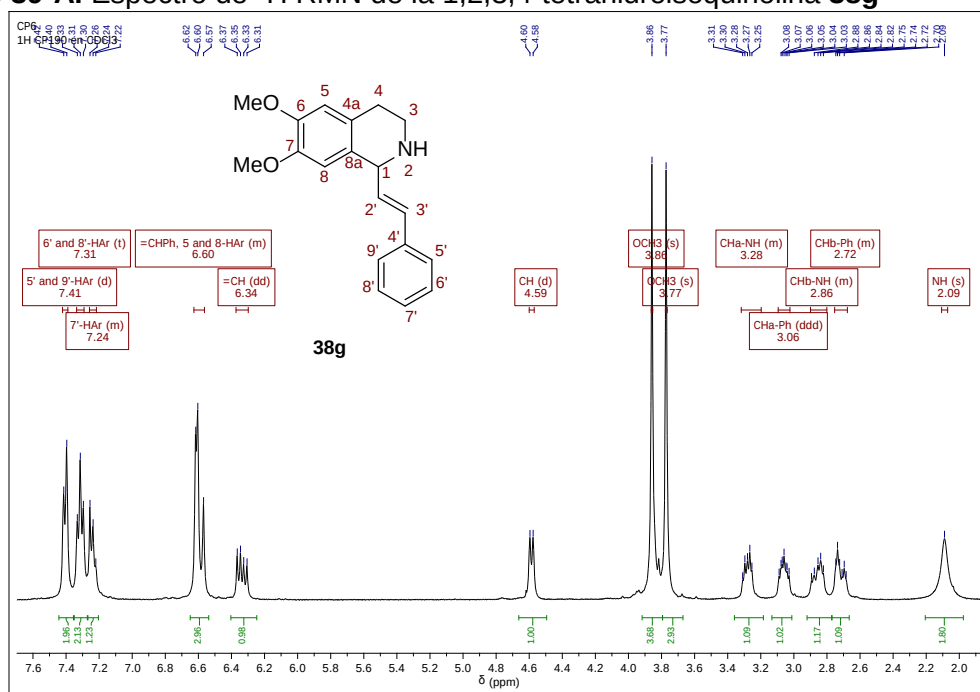


Anexo 38-D. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-(4-Hidroxi-3-metoxiestiril)-6-metoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40f**

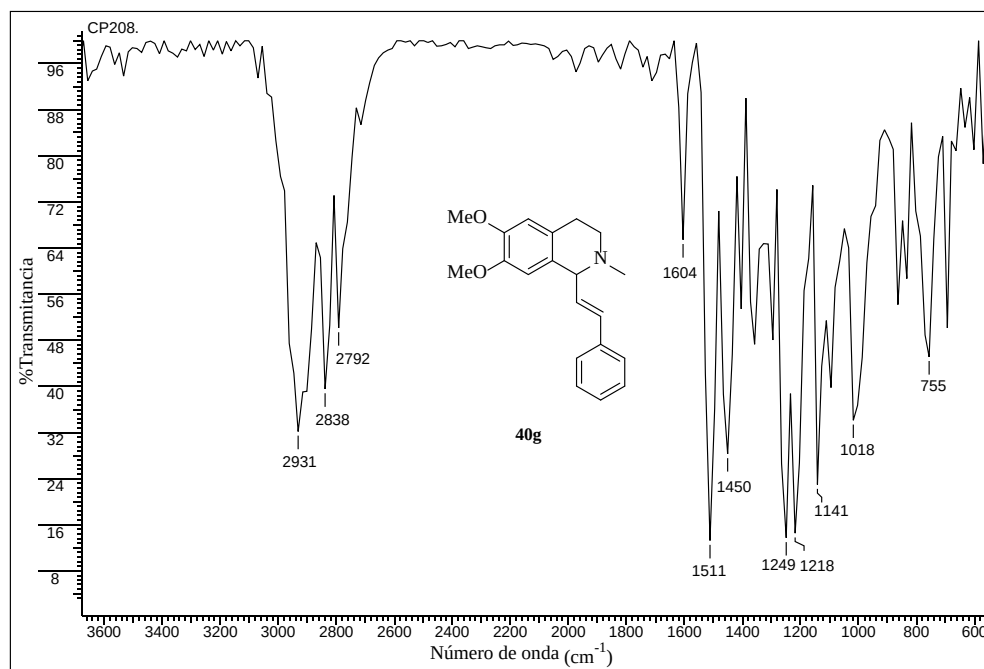


Anexo 39. Espectros relacionados con el compuesto 40g.

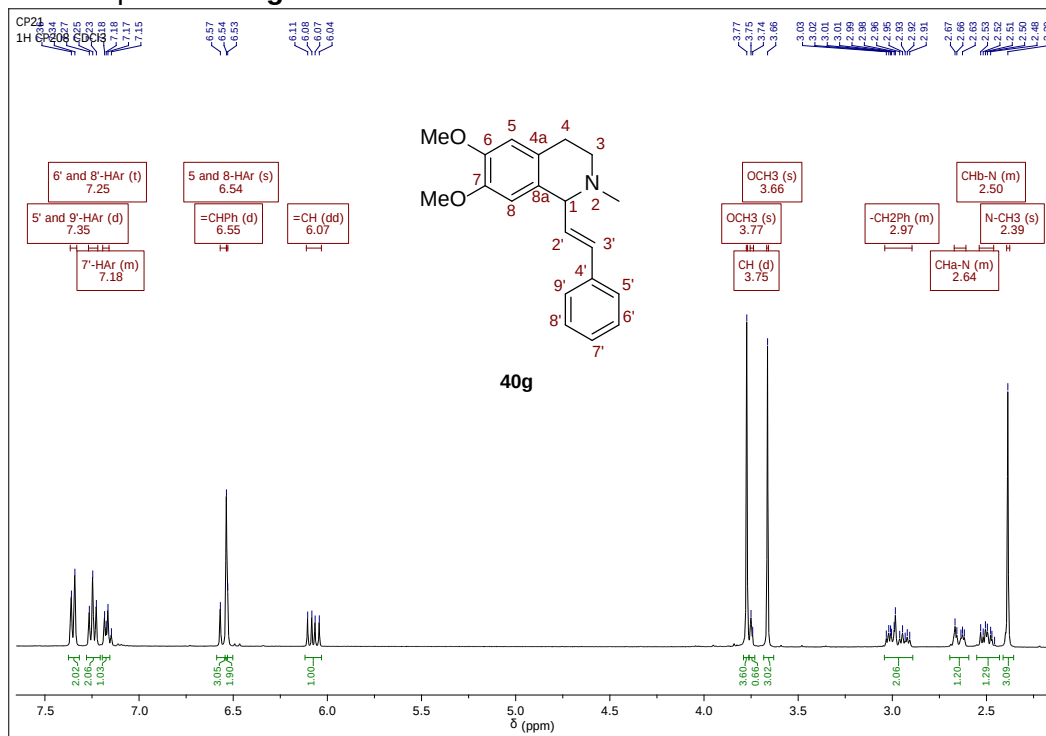
Anexo 39-A. Espectro de ^1H RMN de la 1,2,3,4-tetrahidroisiquinolina 38g



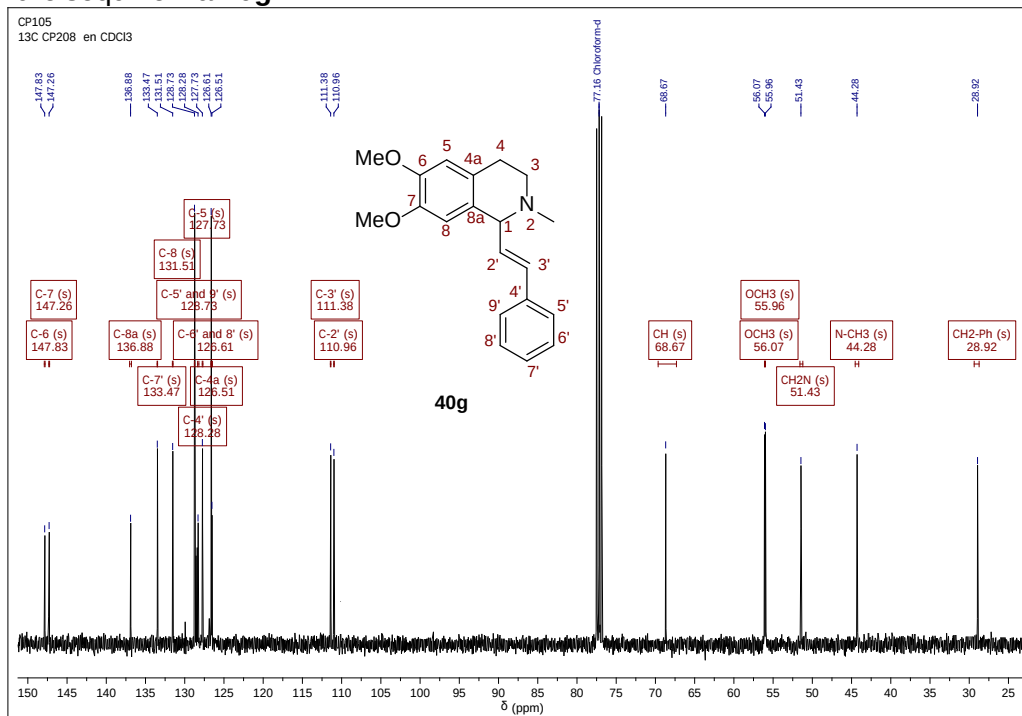
Anexo 39-B. Espectro infrarrojo de la 1-Estiril-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisiquinolina 40g



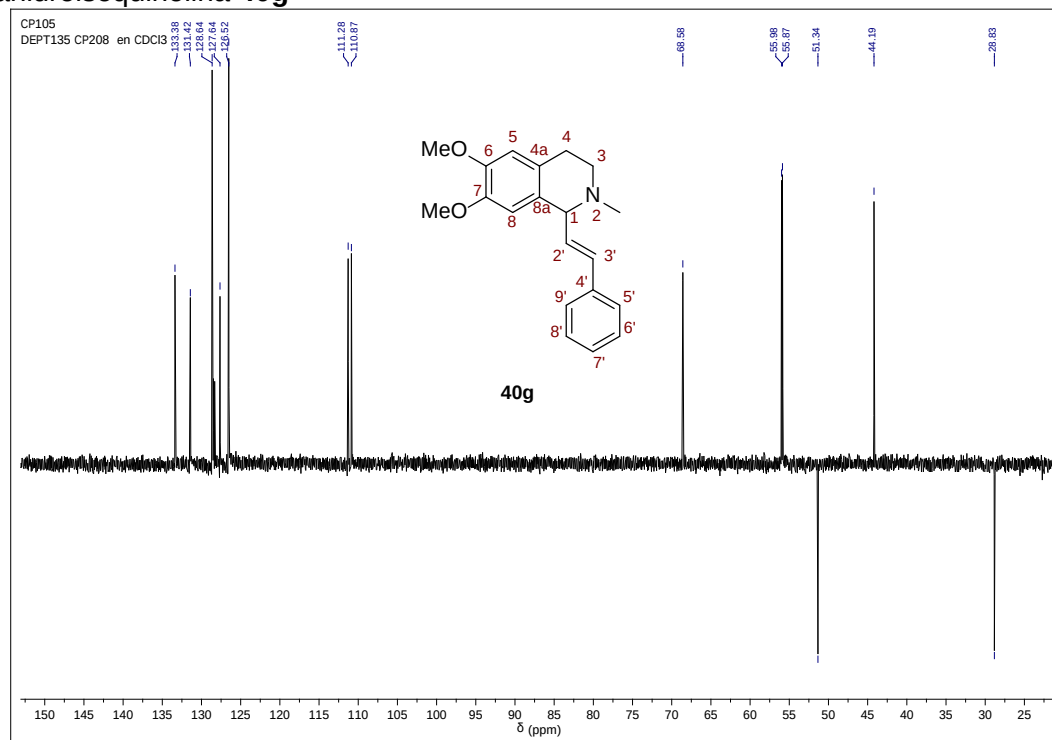
Anexo 39-C. Espectro de ^1H RMN de la 1-Estiril-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40g**



Anexo 39-D. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-Estiril-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40g**

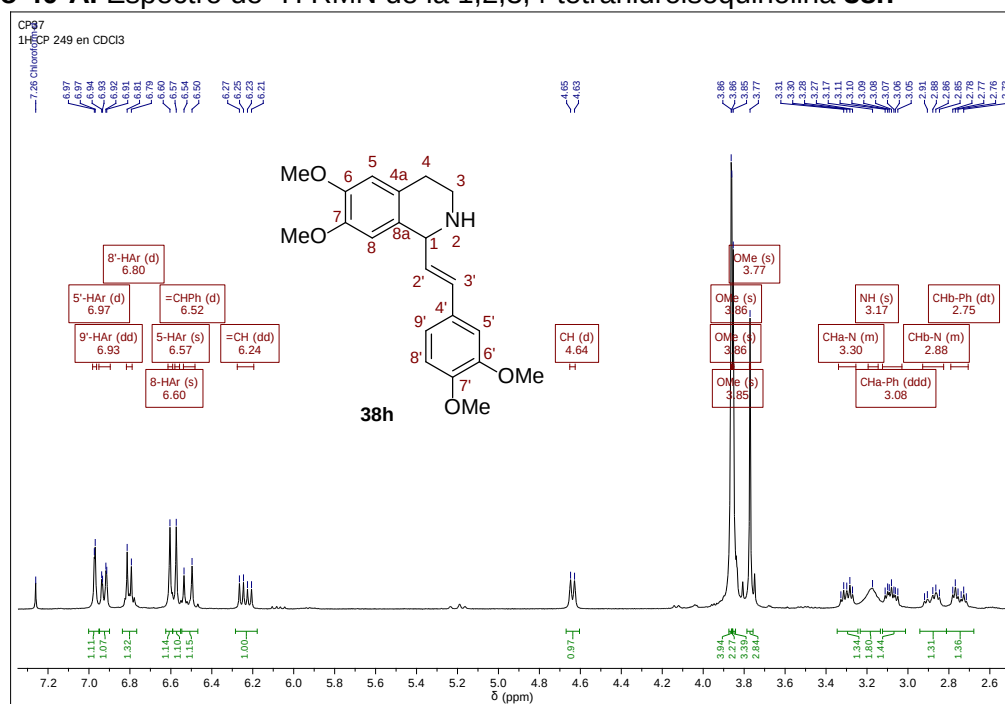


Anexo 39-E. Espectro DEPT-135 de la 1-Estiril-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40g**

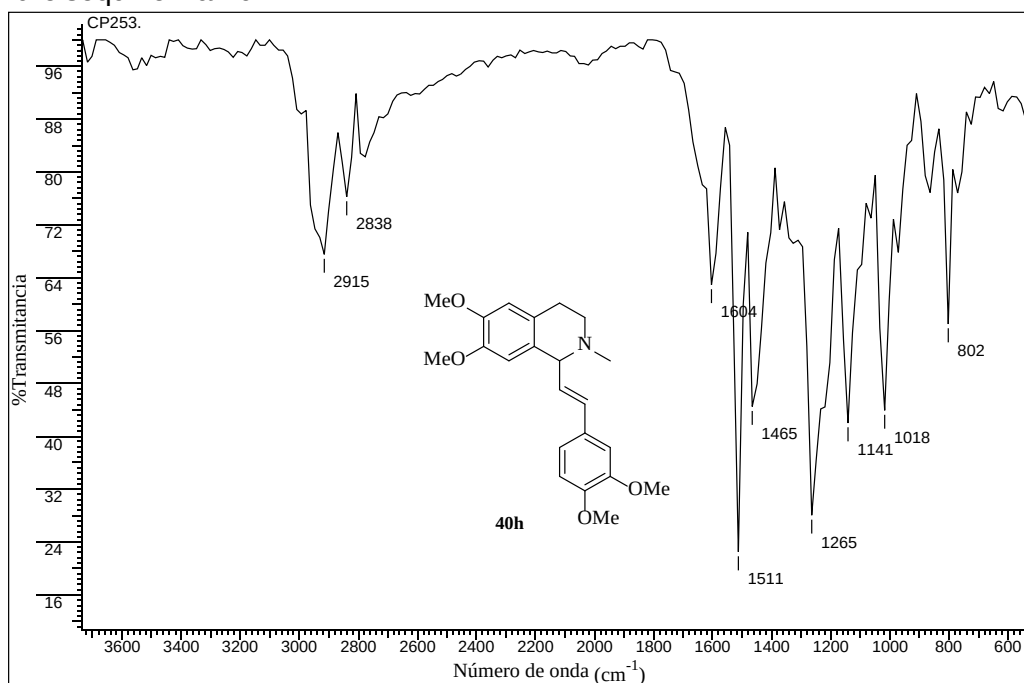


Anexo 40. Espectros relacionados con el compuesto 40h.

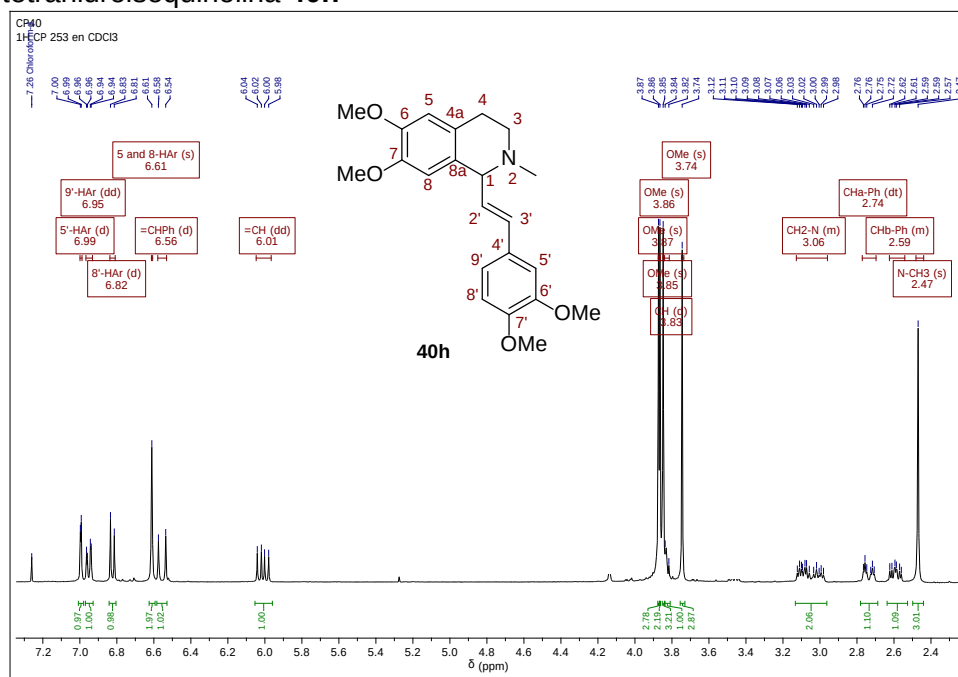
Anexo 40-A. Espectro de ^1H RMN de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina 38h



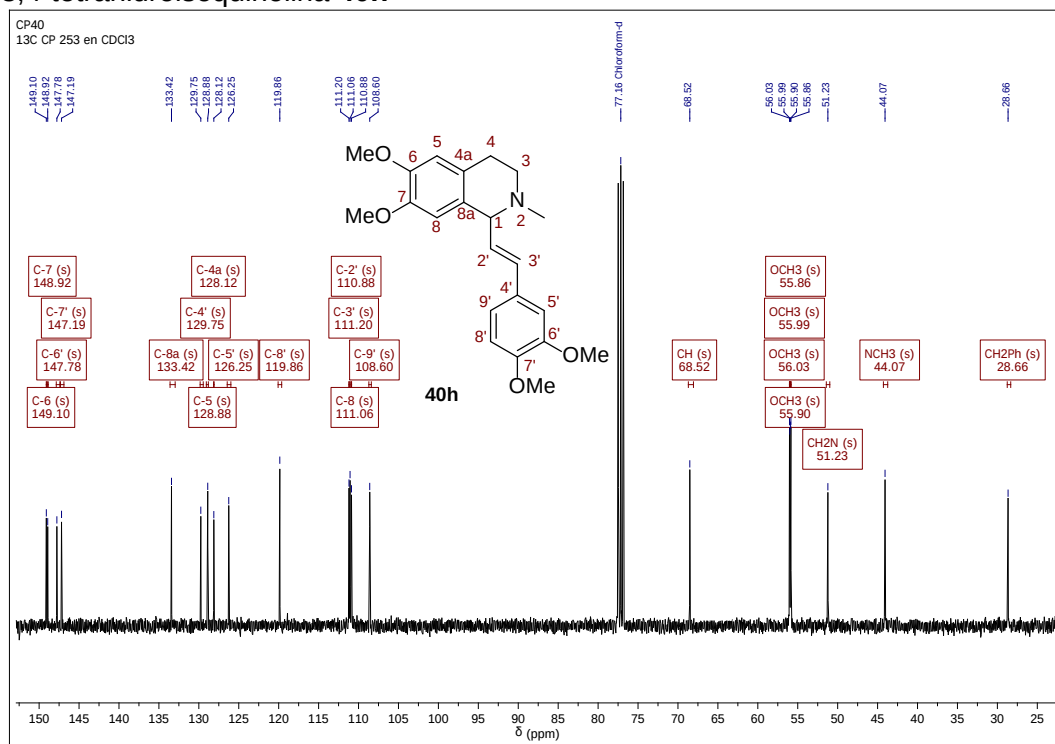
Anexo 40-B. Espectro infrarrojo de la 1-(3,4-Dimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina 40h



Anexo 40-C. Espectro de ^1H RMN de la 1-(3,4-Dimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisquinolina **40h**

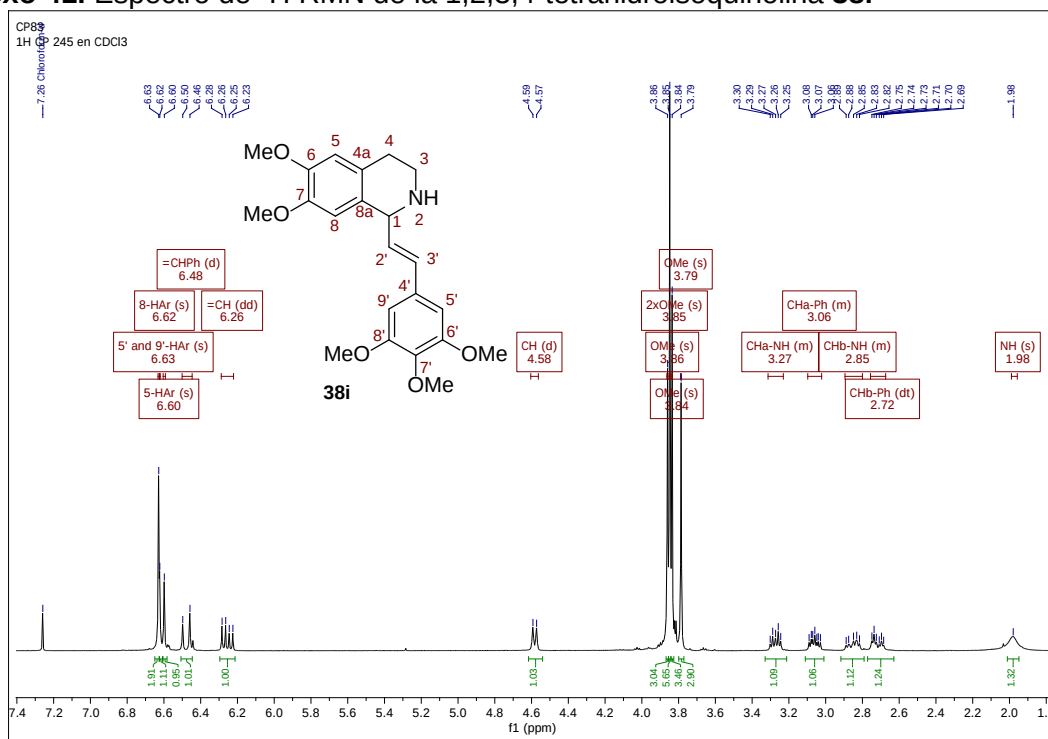


Anexo 40-D. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-(3,4-Dimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisquinolina **40h**

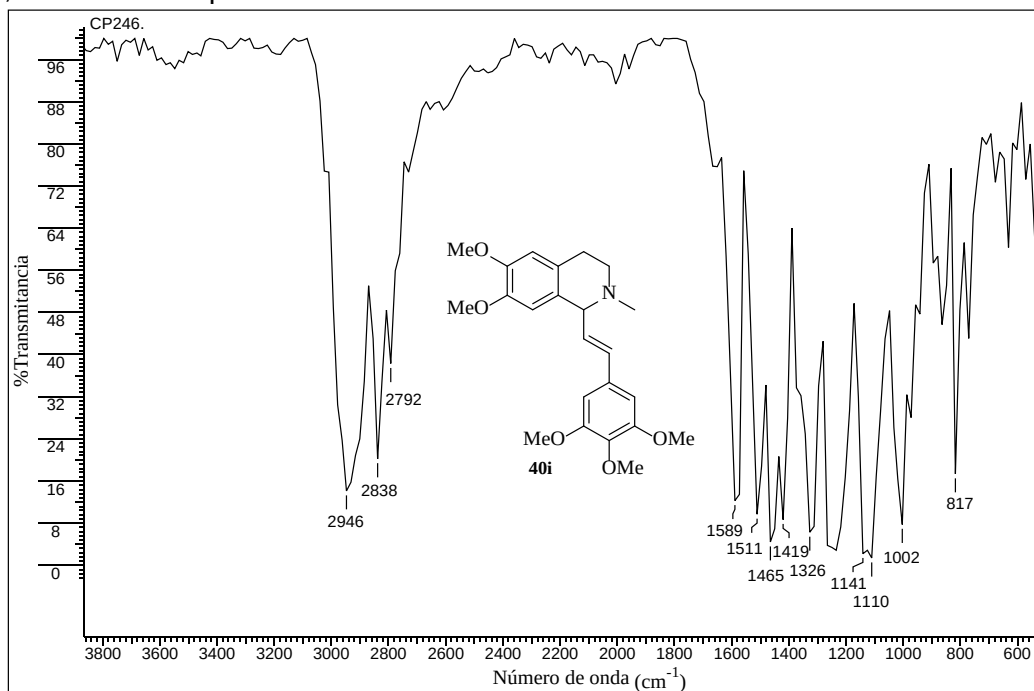


Anexo 41. Espectros relacionados con el compuesto 40i.

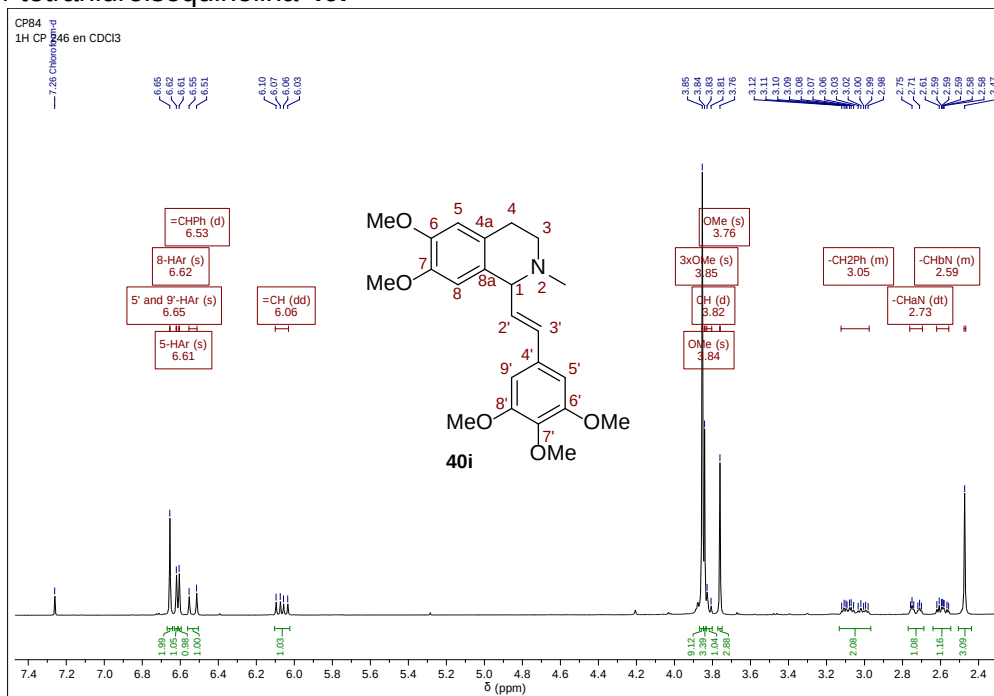
Anexo 41. Espectro de ^1H RMN de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina 38i



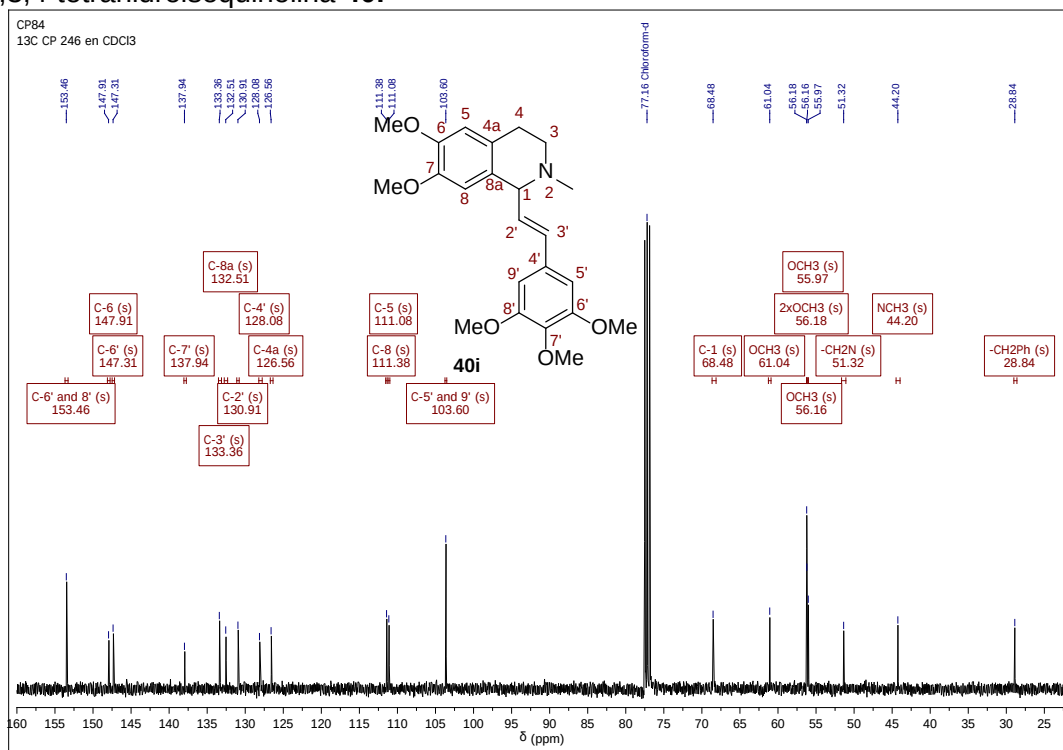
Anexo 41-B. Espectro infrarrojo de la 1-(3,4,5-Trimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina 40i



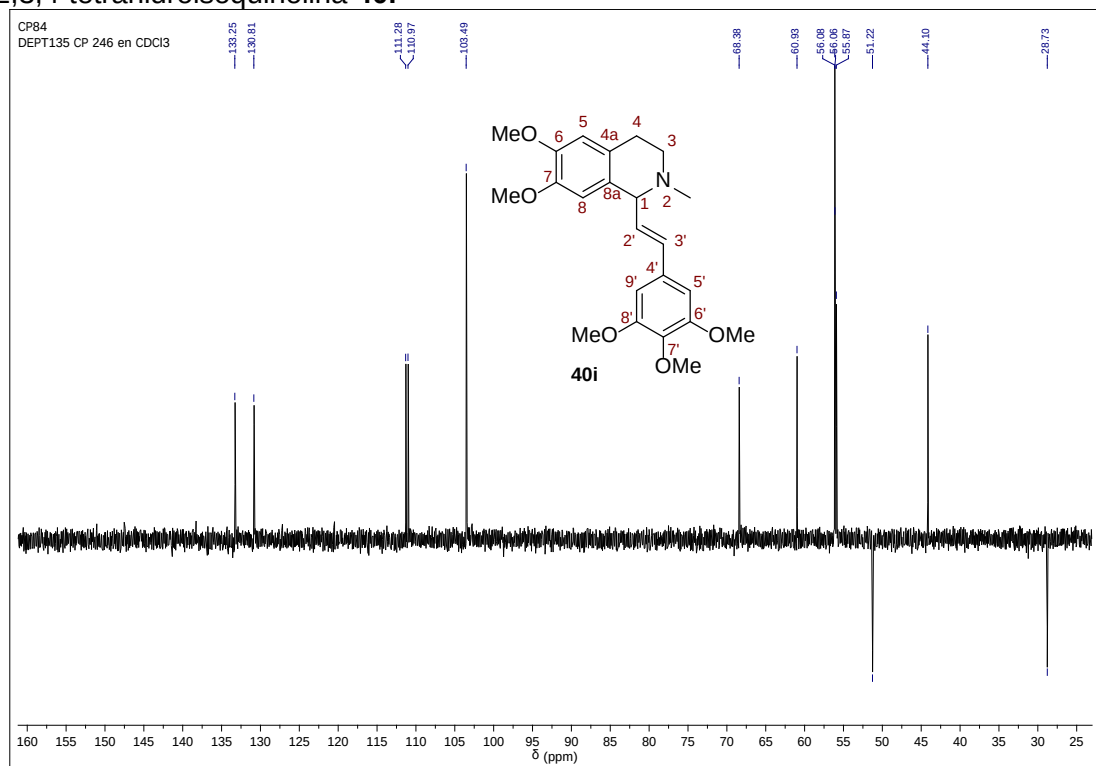
Anexo 41-C. Espectro de ^1H RMN de la 1-(3,4,5-Trimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisquinolina **40i**



Anexo 41-D. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-(3,4,5-Trimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisquinolina **40i**

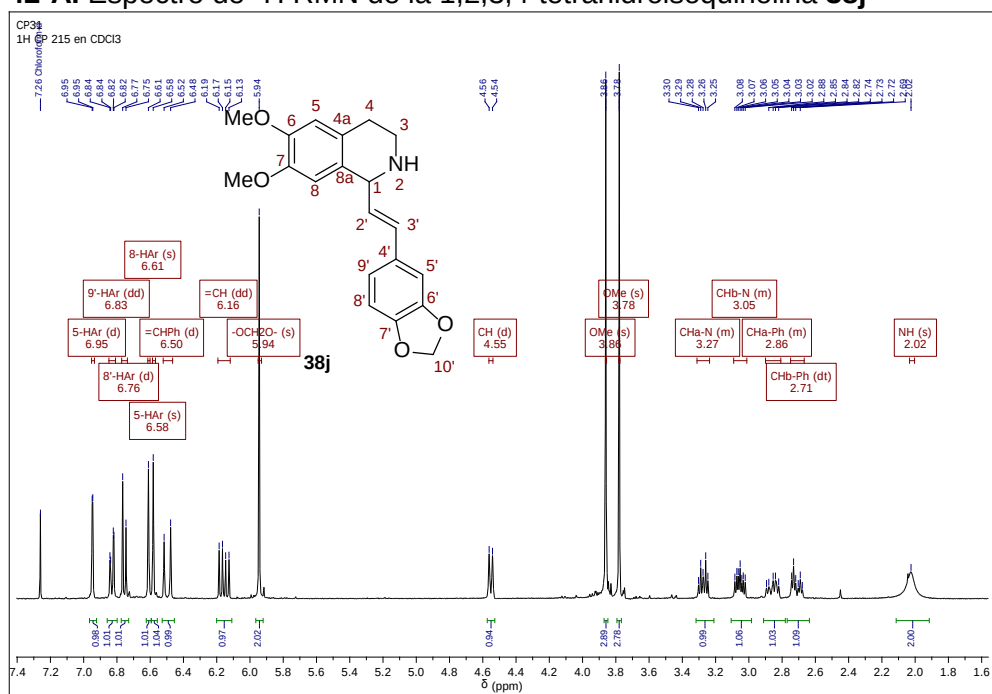


Anexo 41-E. Espectro DEPT-135 de la 1-(3,4,5-Trimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40i**

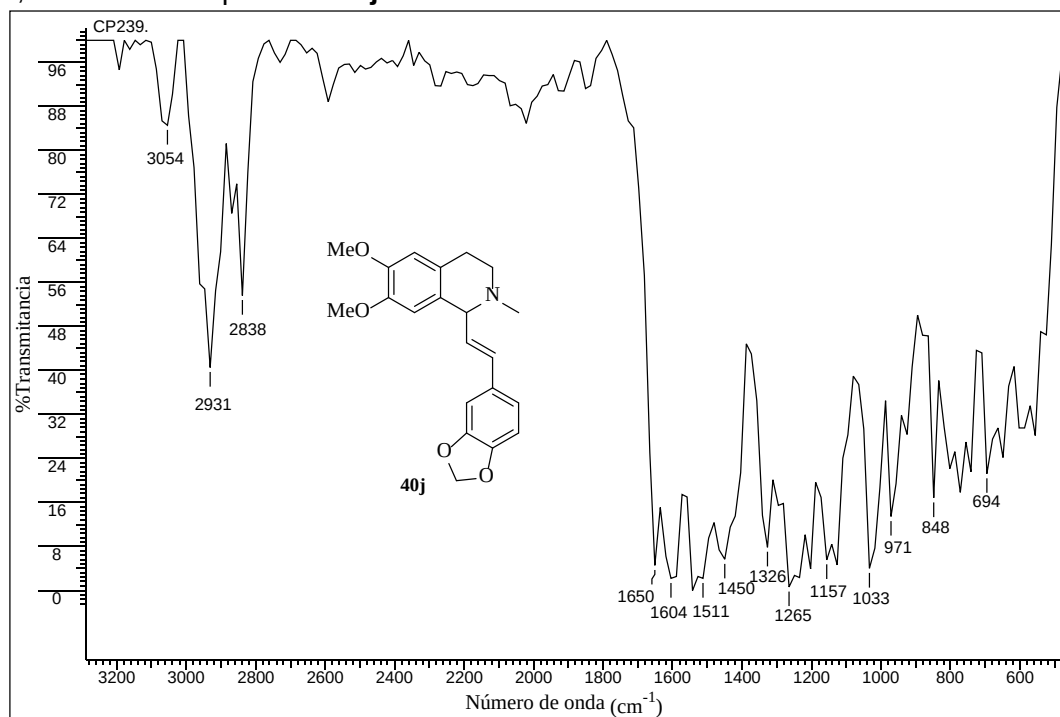


Anexo 42. Espectros relacionados con el compuesto 40j.

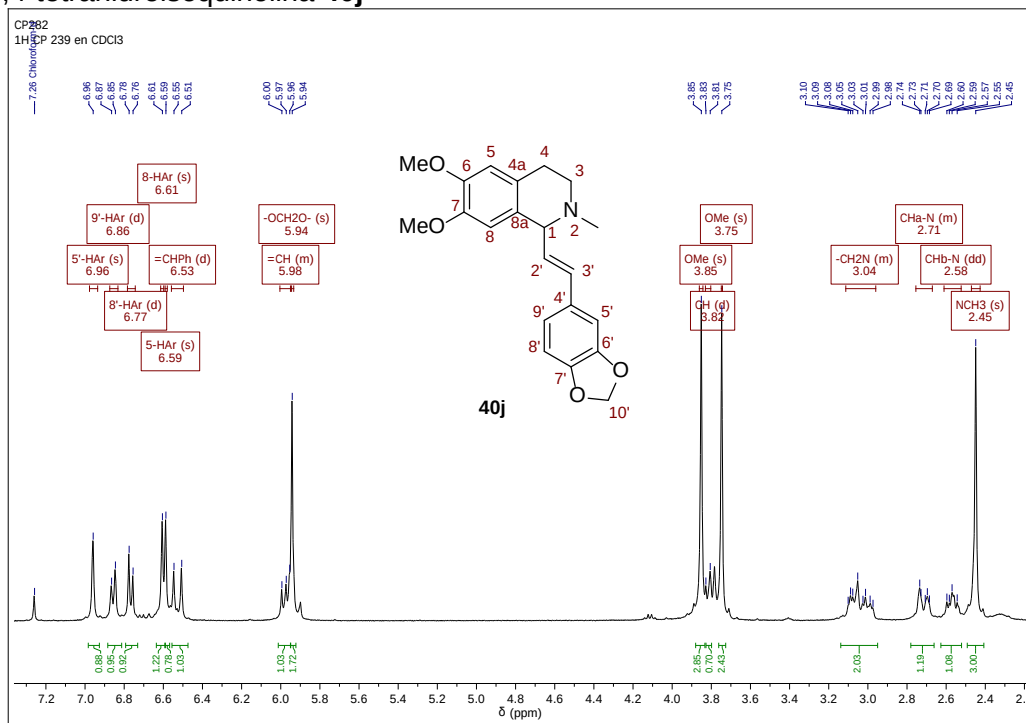
Anexo 42-A. Espectro de ^1H RMN de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina 38j



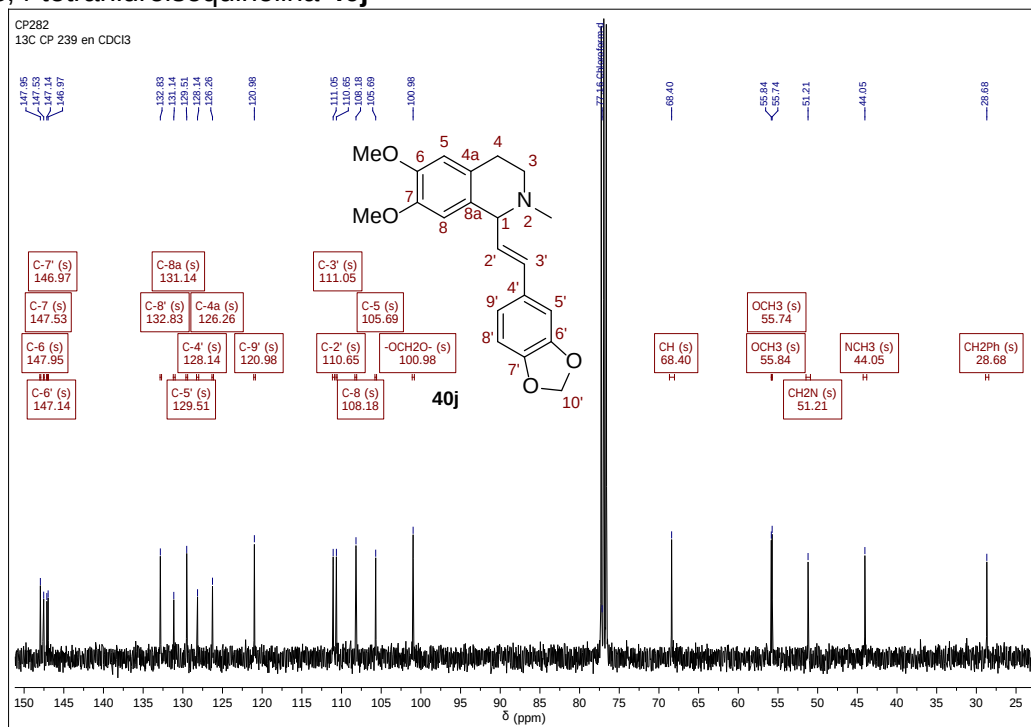
Anexo 42-B. Espectro infrarrojo de la 1-(3,4-Metilendioxiestiril)-6,7-dimetoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina 40j



Anexo 42-C. Espectro de ^1H RMN de la 1-(3,4-Metilendioxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40j**

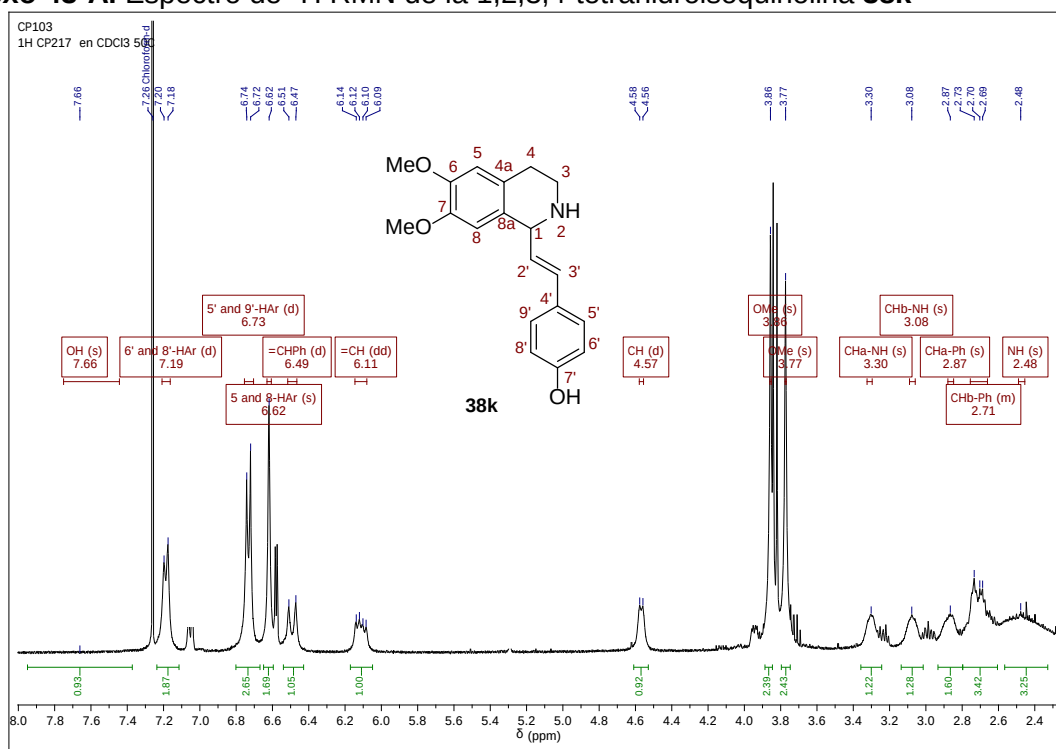


Anexo 42-D. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-(3,4-Metilendioxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40j**

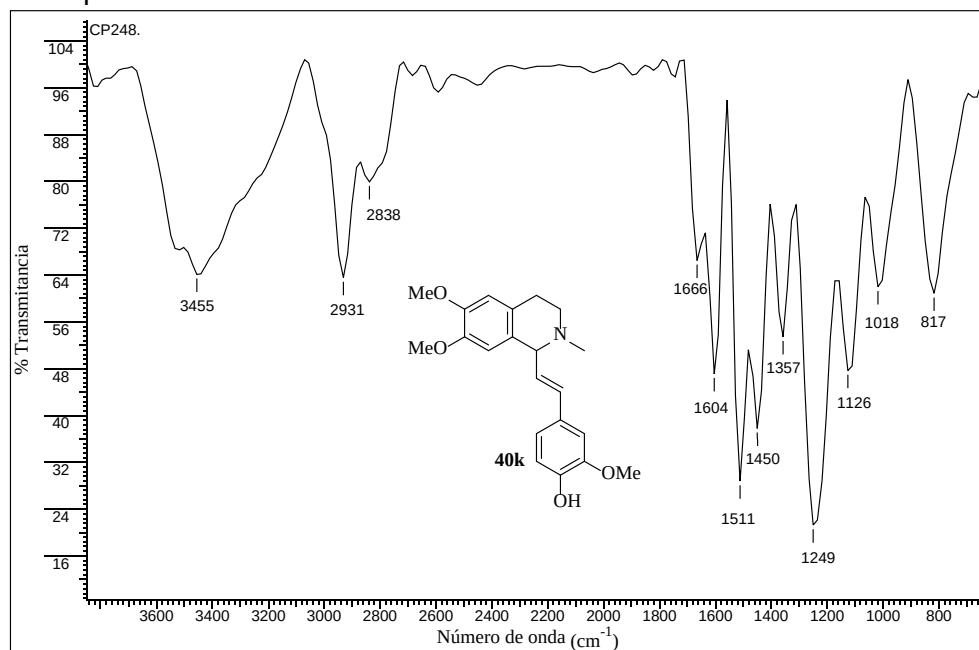


Anexo 43. Espectros relacionados con el compuesto 40k.

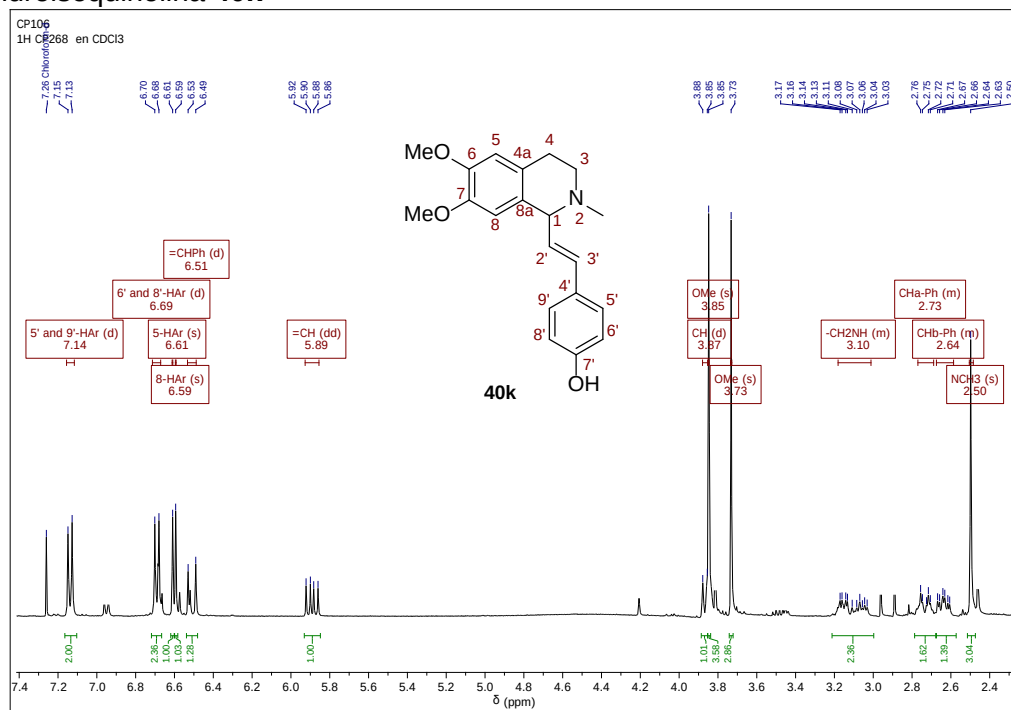
Anexo 43-A. Espectro de ^1H RMN de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina 38k



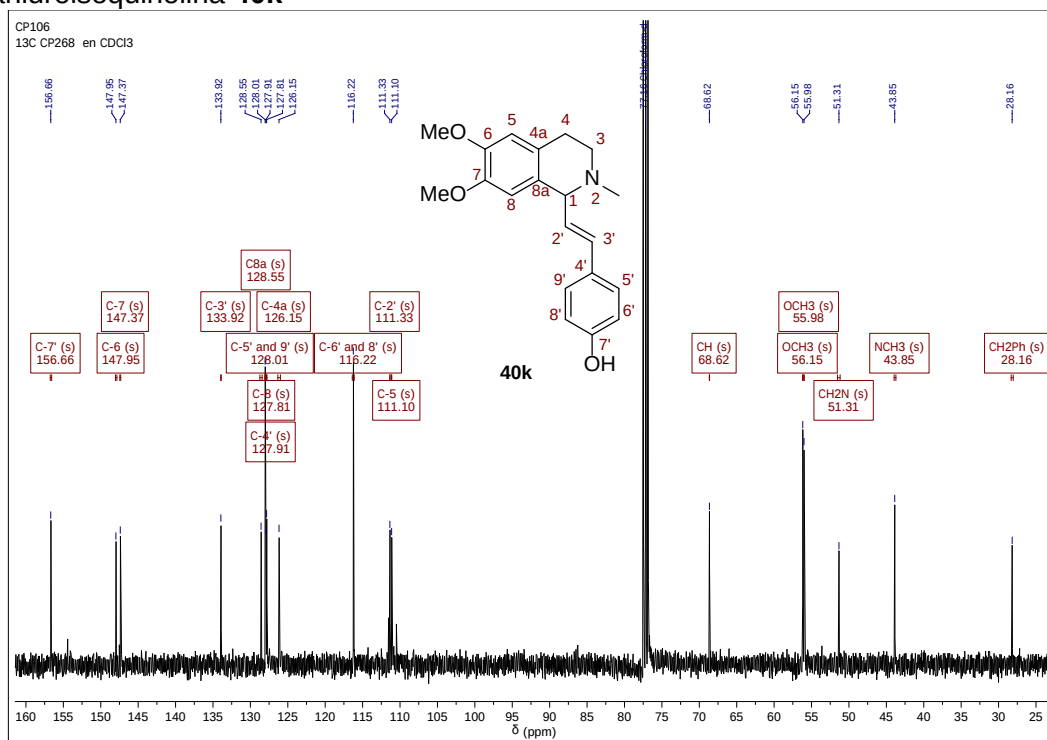
Anexo 43-B. Espectro infrarrojo de la 1-(4-Hidroxiestiril)-6,7-dimetoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina 40k



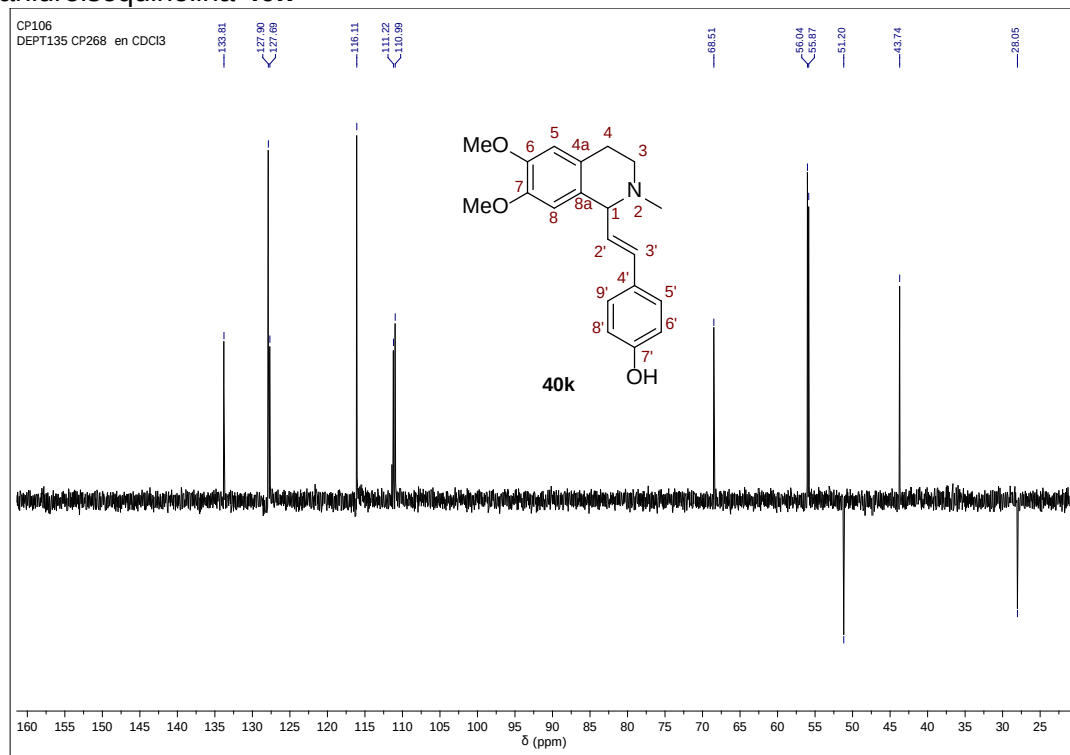
Anexo 43-C. Espectro de ^1H RMN de la 1-(4-Hidroxiestiril)-6,7-dimetoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40k**



Anexo 43-D. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-(4-Hidroxiestiril)-6,7-dimetoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40k**

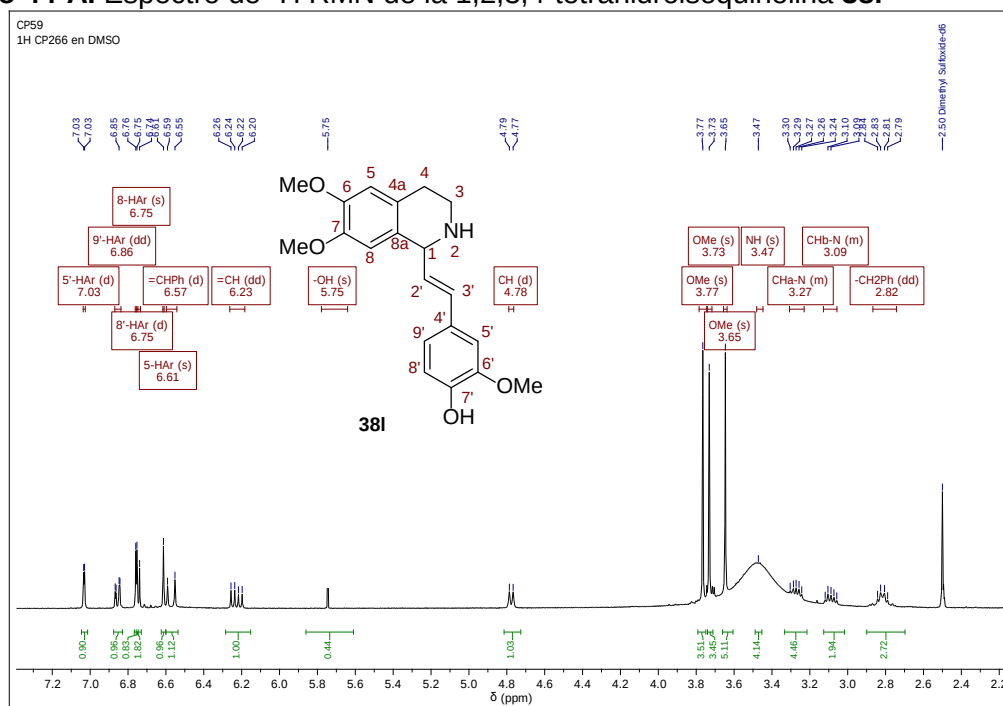


Anexo 43-E. Espectro DEPT-135 de la 1-(4-Hidroxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40k**

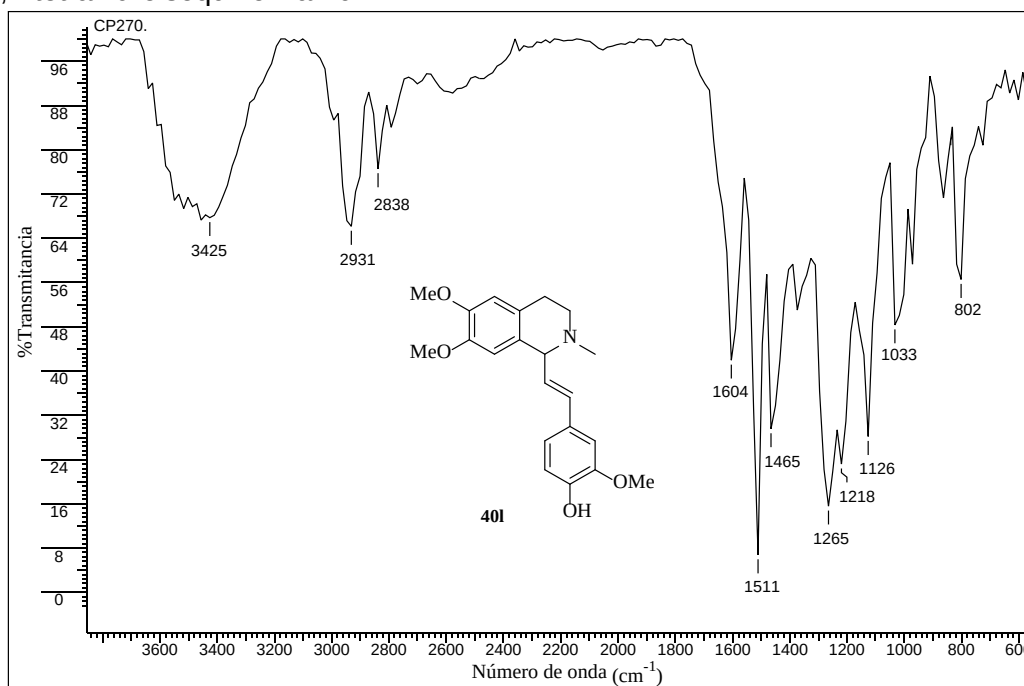


Anexo 44. Espectros relacionados con el compuesto 40I.

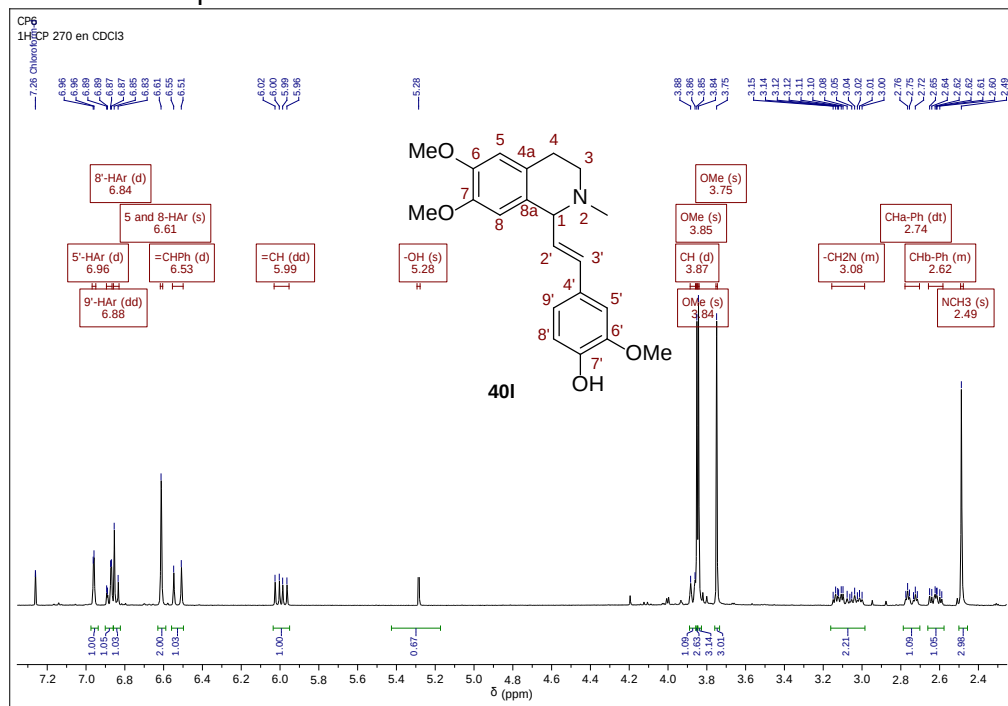
Anexo 44-A. Espectro de ^1H RMN de la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina 38I



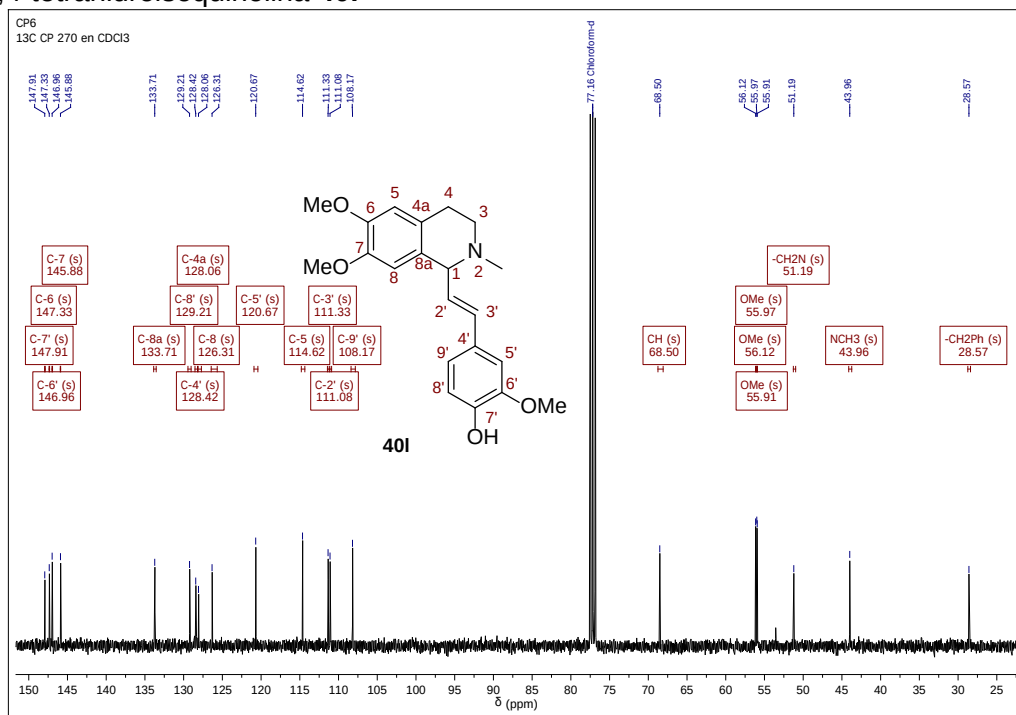
Anexo 44-B. Espectro infrarrojo de la 1-(4-Hidroxi-3-metoxiestiril)-6,7-dimetoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina 40I



Anexo 44-C. Espectro de ^1H RMN de la 1-(4-Hidroxi-3-metoxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40I**



Anexo 44-D. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-(4-Hidroxi-3-metoxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **40I**

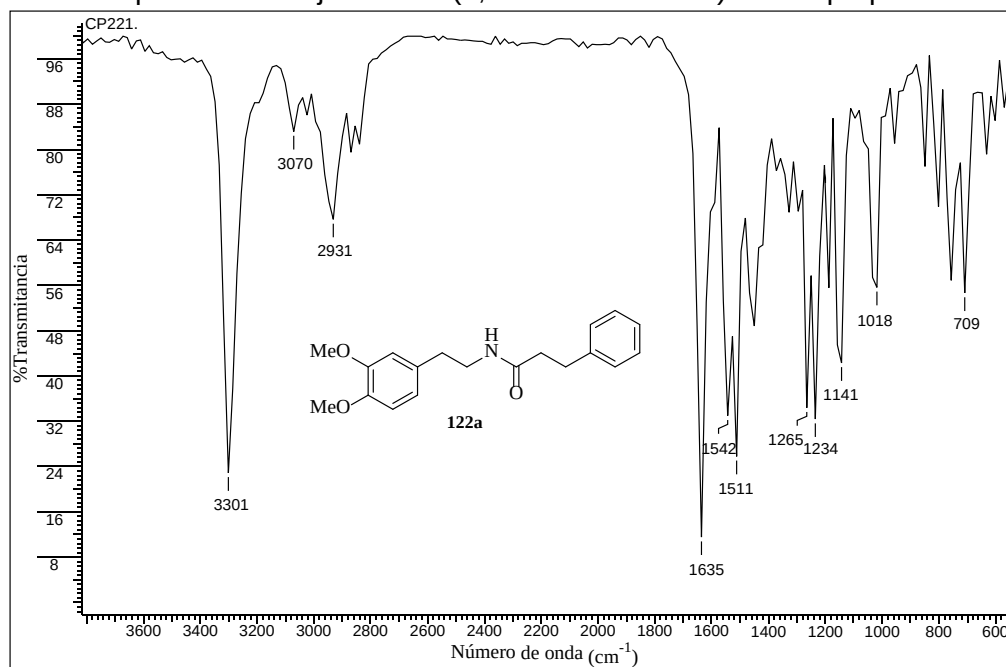


ANEXOS 45-52

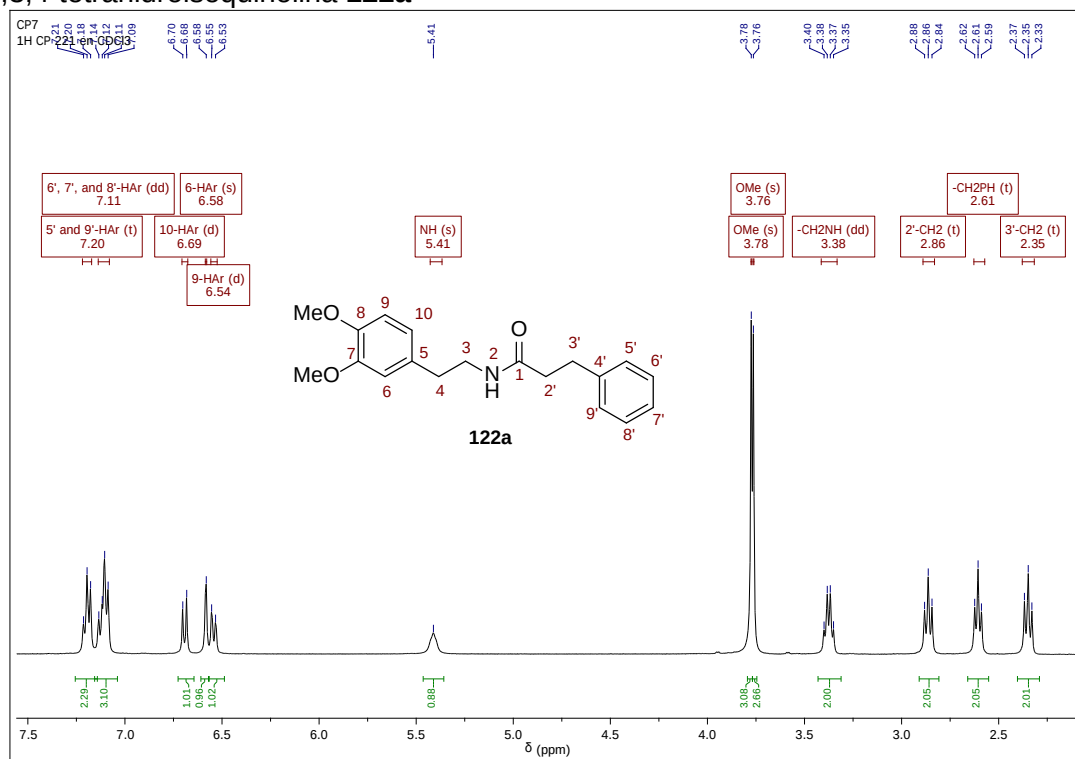
**Información espectral relacionada con las *N*-feniletil-3-fenil-propanamidas
122a-h**

Anexo 45. Espectros relacionados con el compuesto **122a**.

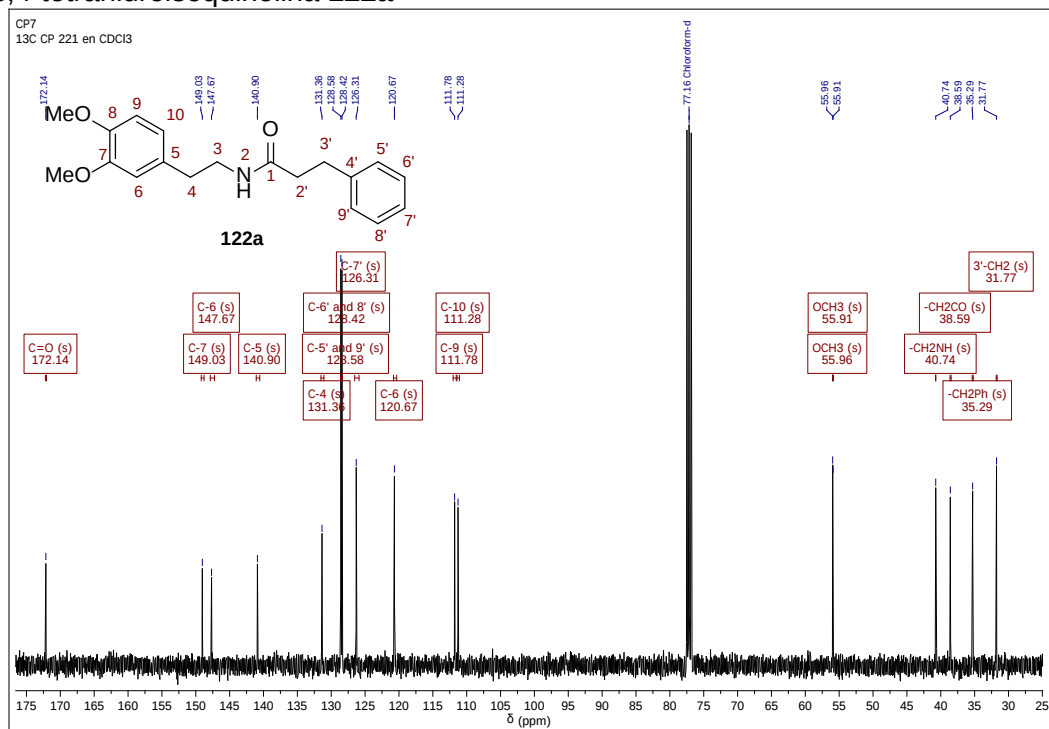
Anexo 45-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(3,4-Dimetoxifenil)-3-fenil-propanamida **122a**



Anexo 45-B. Espectro de ¹H RMN de la 1-(3,4,5-Trimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **122a**

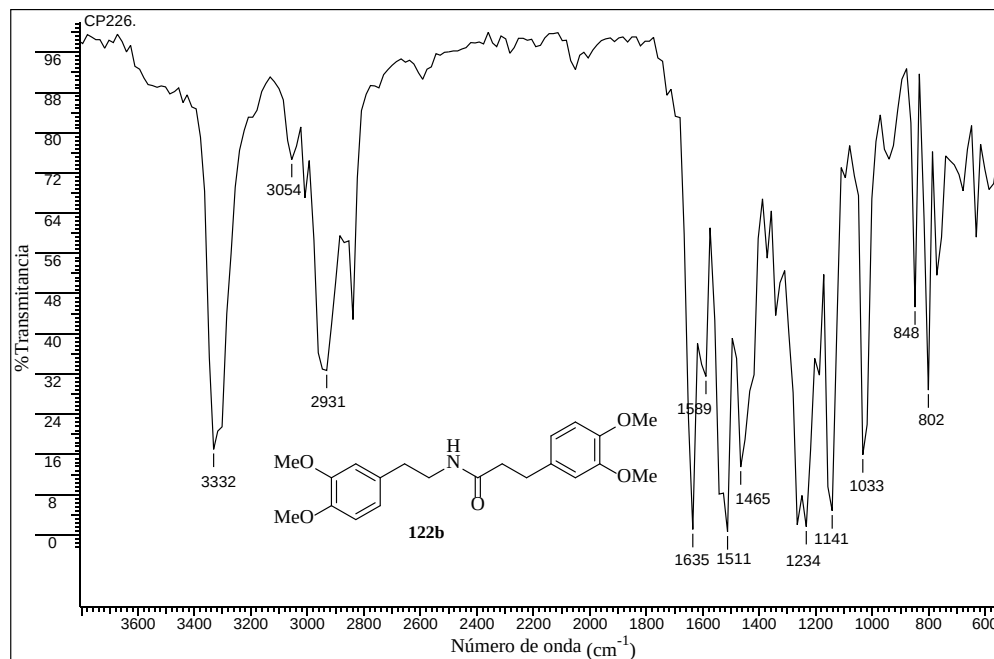


Anexo 45-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-(3,4,5-Trimetoxiestiril)-6,7-dimetoxi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **122a**

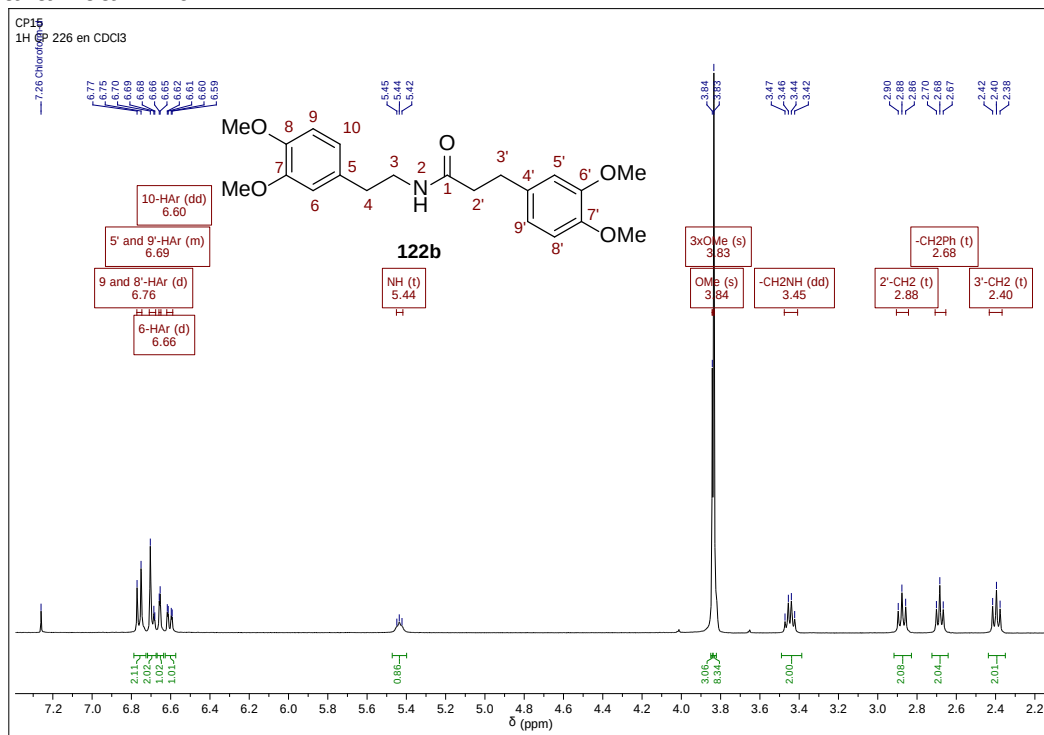


Anexo 46. Espectros relacionados con el compuesto **122b**.

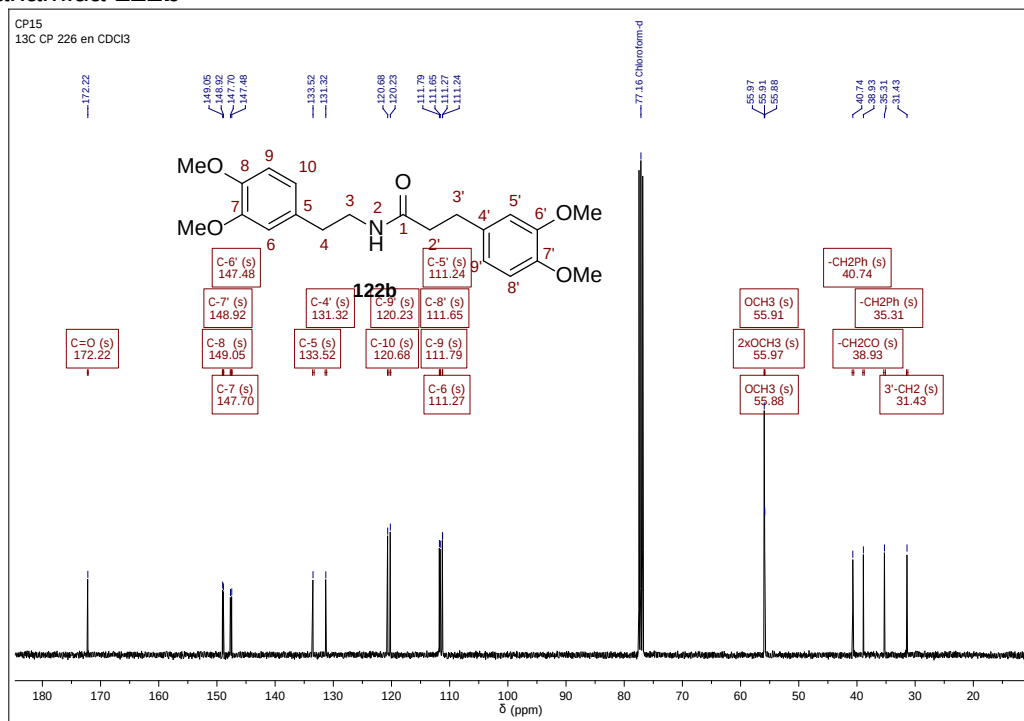
Anexo 46-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(3,4-dimetoxifenilet)-3-(3,4-dimetoxifenil)-propanamida **122b**



Anexo 46-B. Espectro de ¹H RMN de la *N*-(3,4-dimetoxifenilet)-3-(3,4-dimetoxifenil)-propanamida **122b**

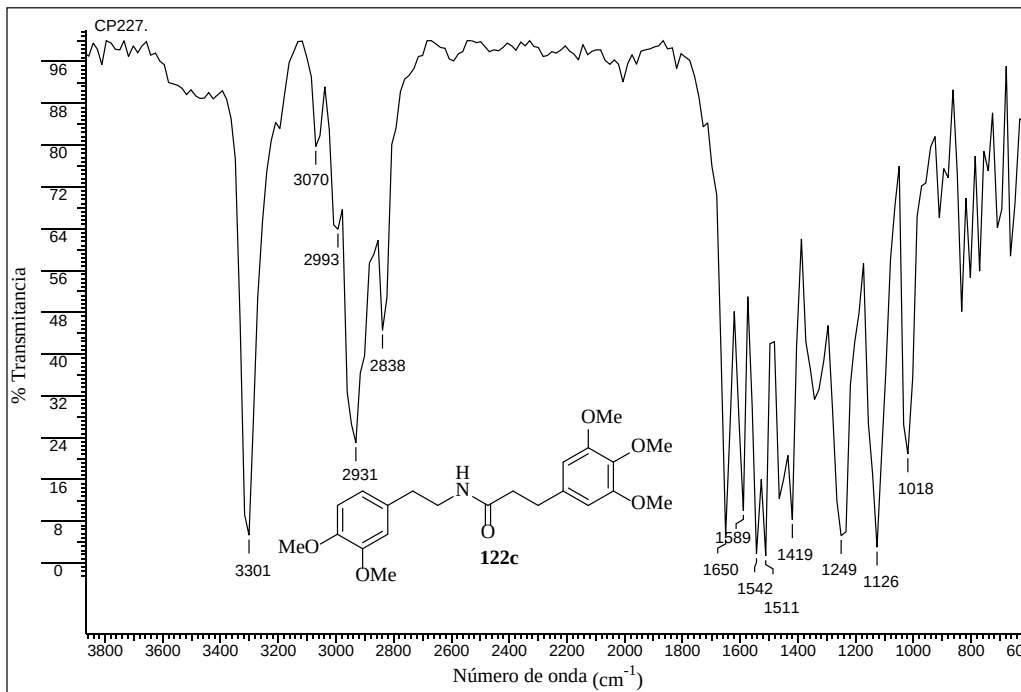


Anexo 46-C. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(3,4-dimetoxifenil)-3-(3,4-dimetoxifenil)-propanamida **122b**

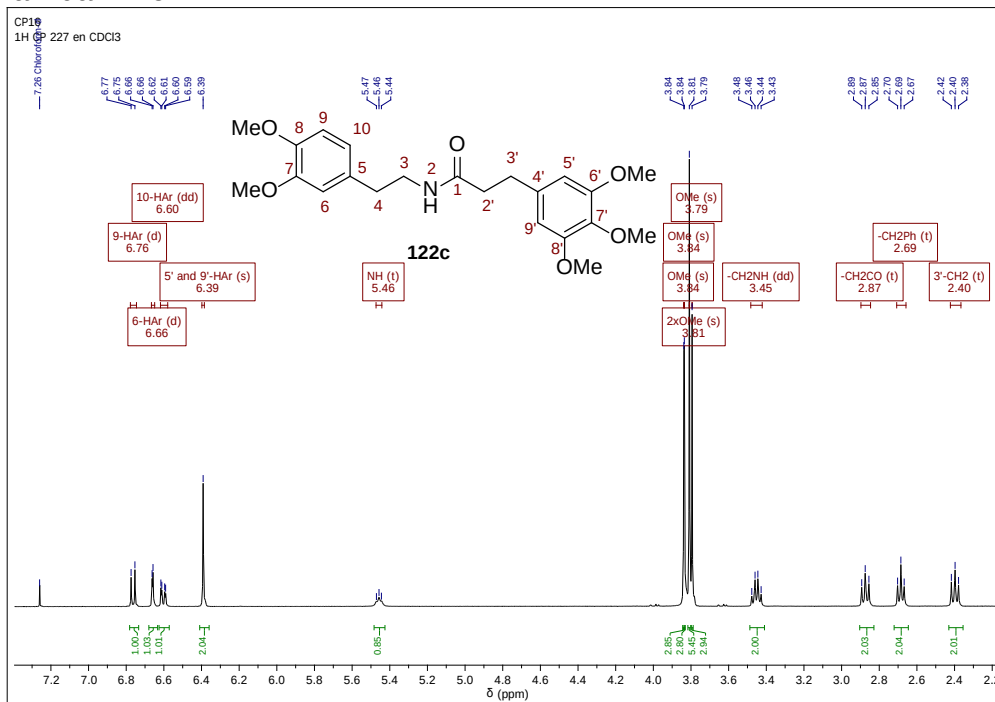


Anexo 47. Espectros relacionados con el compuesto **122c**.

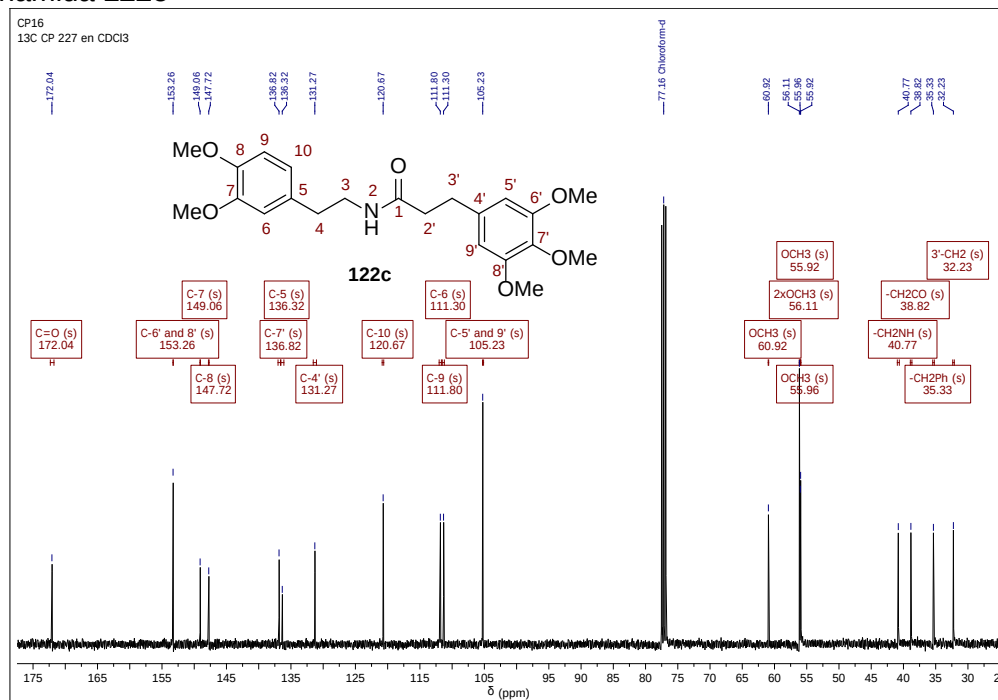
Anexo 47-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletíl)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-propanamida **122c**



Anexo 47-B. Espectro de ¹H RMN de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletíl)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-propanamida **122c**

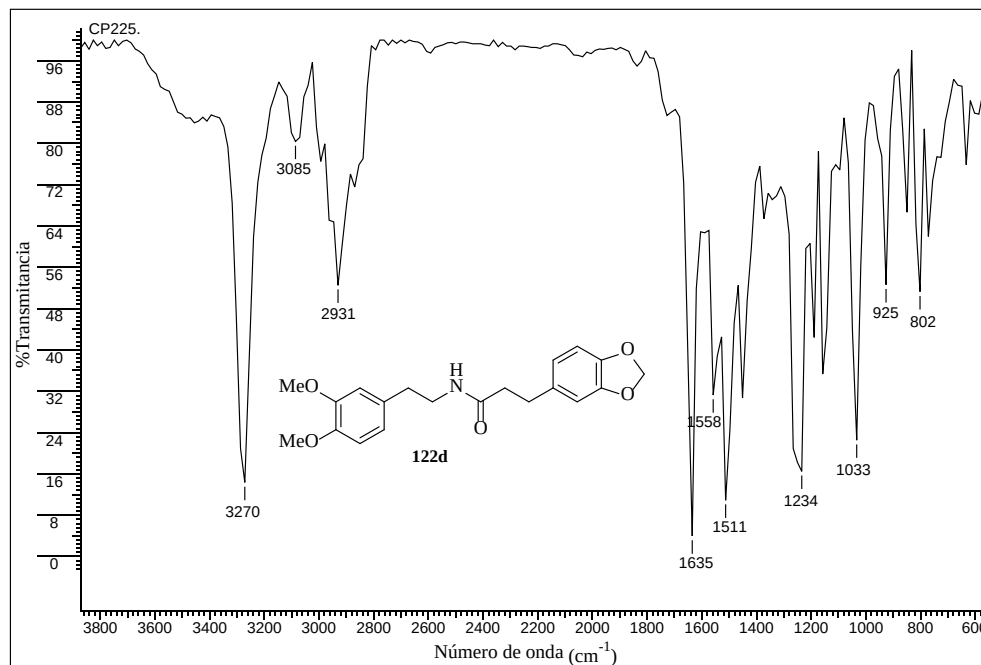


Anexo 47-C. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(3,4-dimetoxifenilet)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-propanamida **122c**

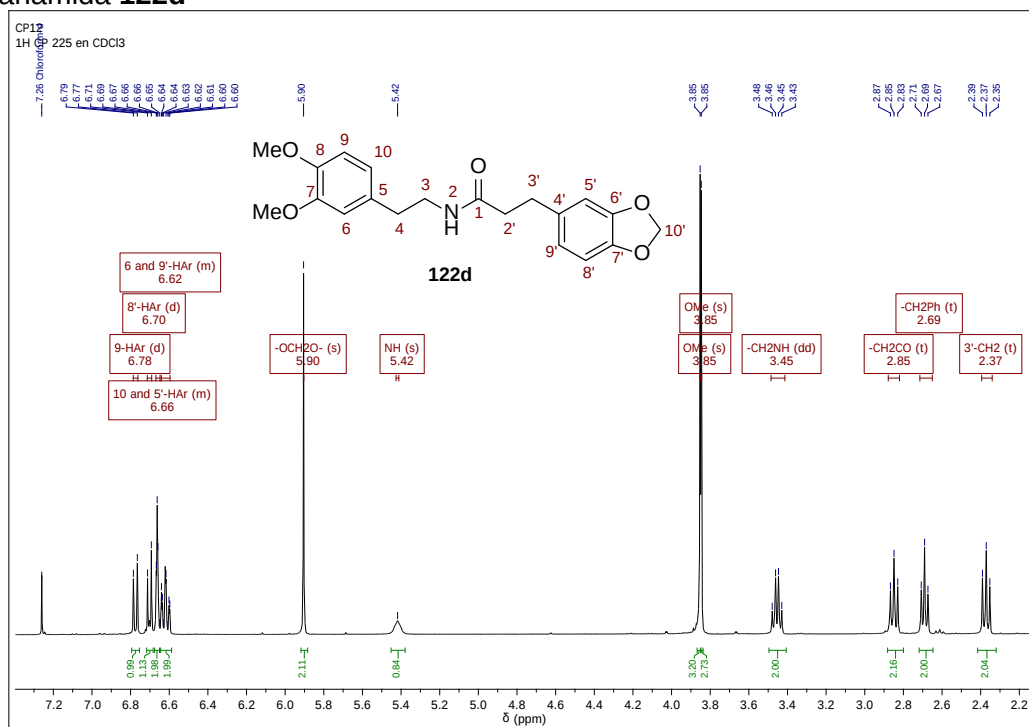


Anexo 48. Espectros relacionados con el compuesto **122d**.

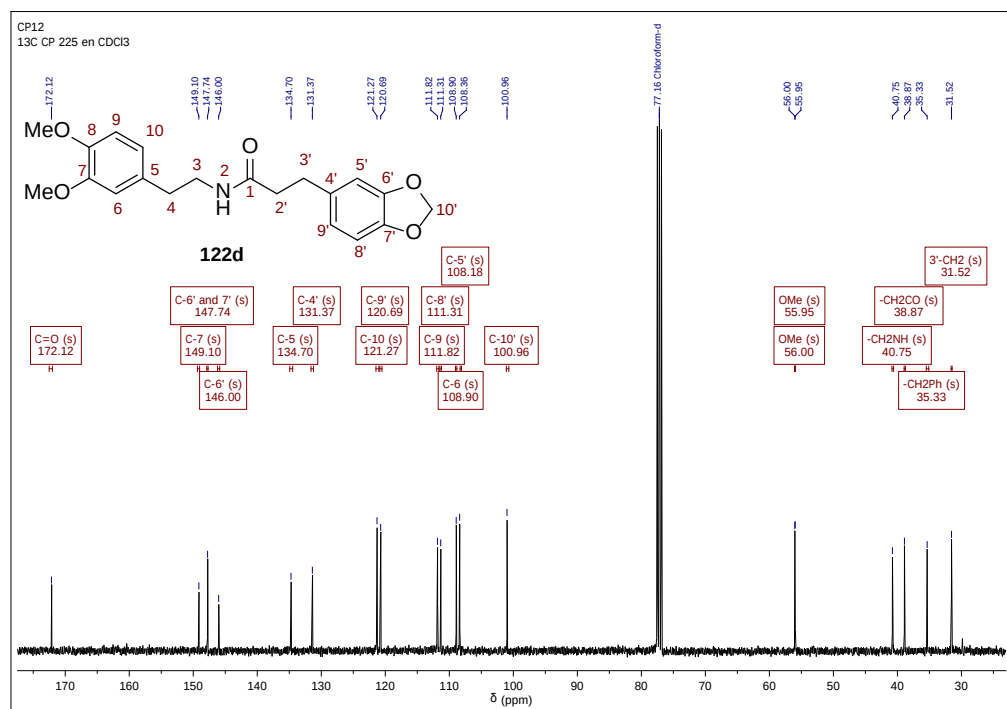
Anexo 48-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(3,4-dimetoxifenilet)-3-(3,4-metilendioxi)-propanamida **122d**



Anexo 48-B. Espectro de ^1H RMN de la *N*-(3,4-dimetoxifenilet)-3-(3,4-metilendioxi)-propanamida **122d**

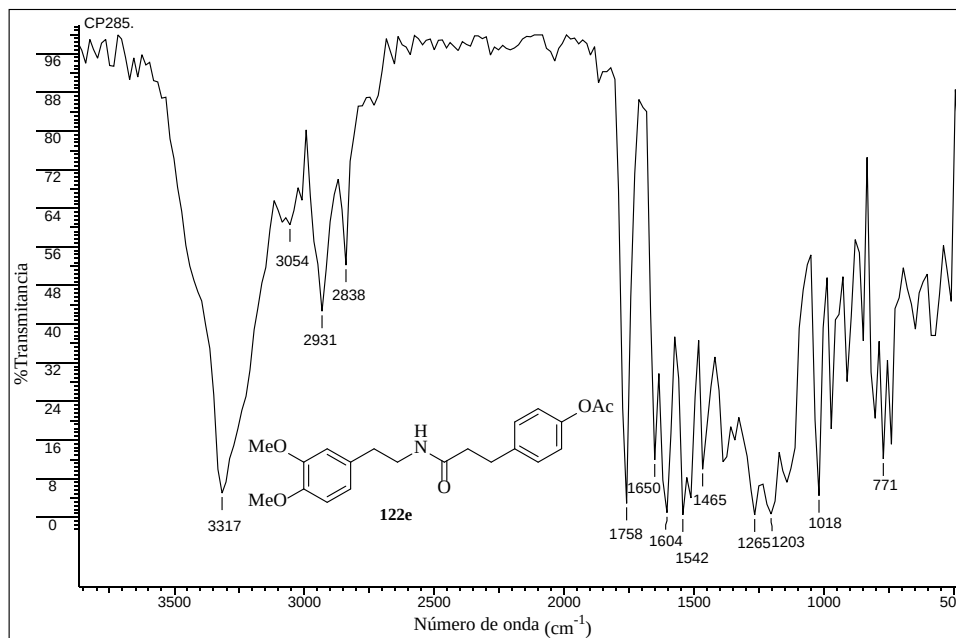


Anexo 48-C. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3-(3,4-metilendioxi)-propanamida **122d**

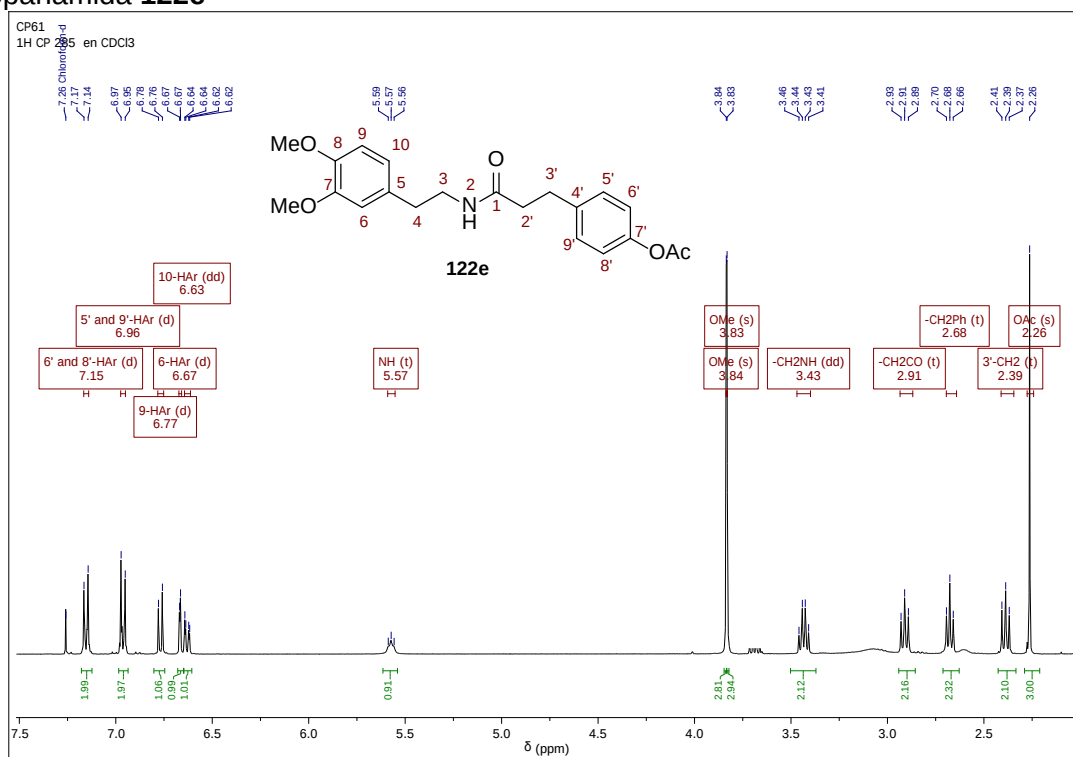


Anexo 49. Espectros relacionados con el compuesto **122e**.

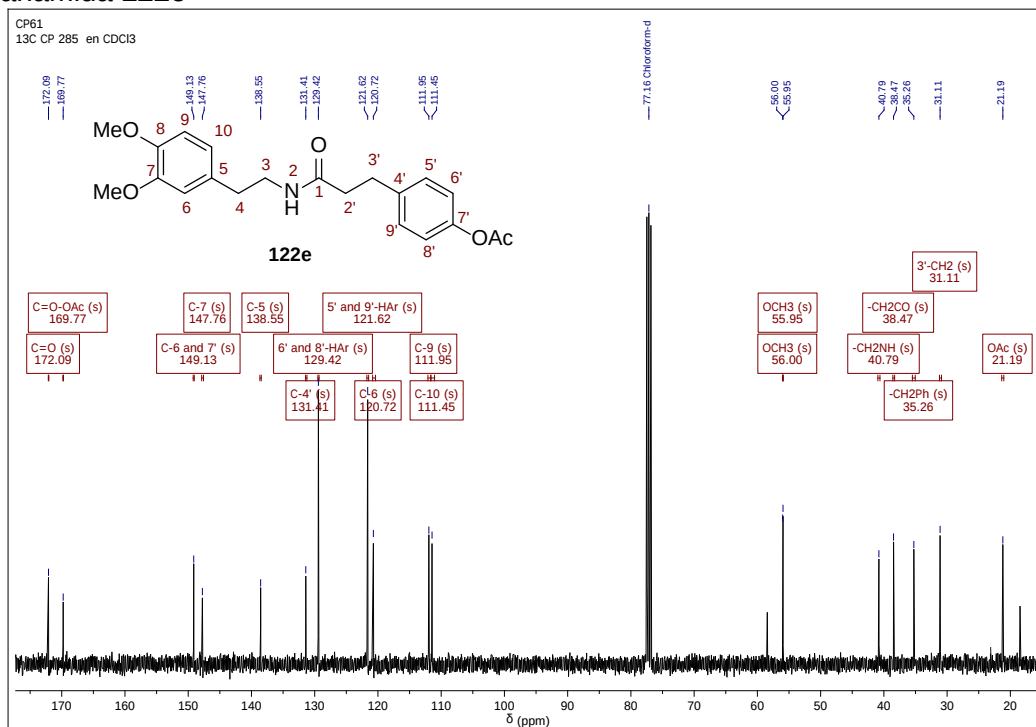
Anexo 49-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletíl)-3-(4-acetoxifenil)-propanamida **122e**



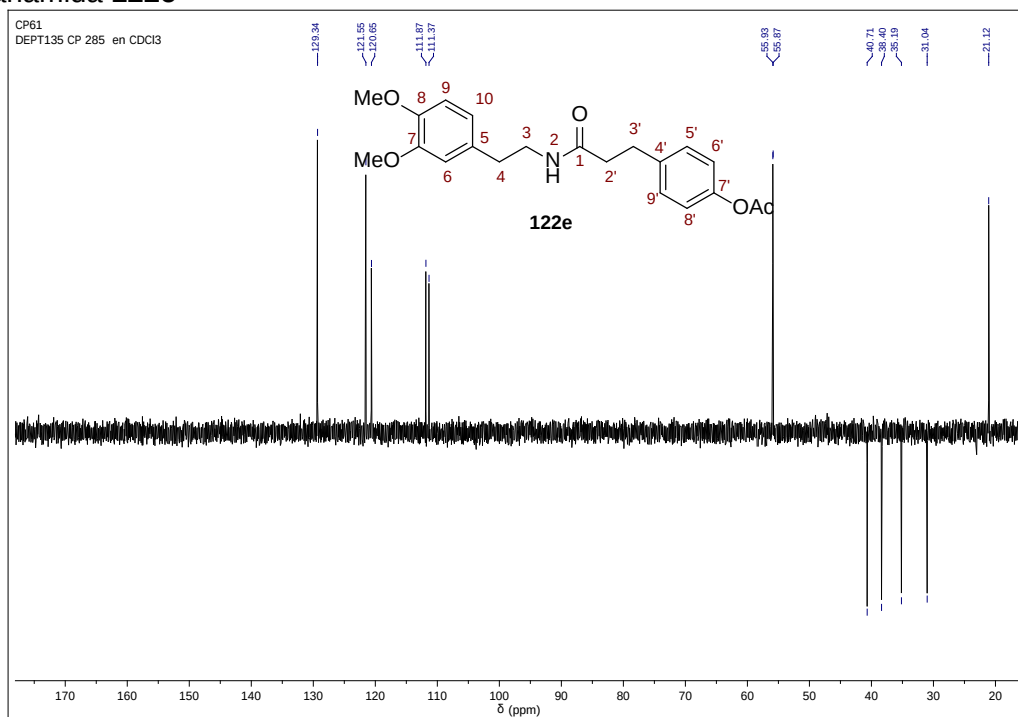
Anexo 49-B. Espectro de ^1H RMN de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletíl)-3-(4-acetoxifenil)-propanamida **122e**



Anexo 49-C. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(3,4-dimetoxifenilet)-3-(4-acetoxifenil)-propanamida **122e**

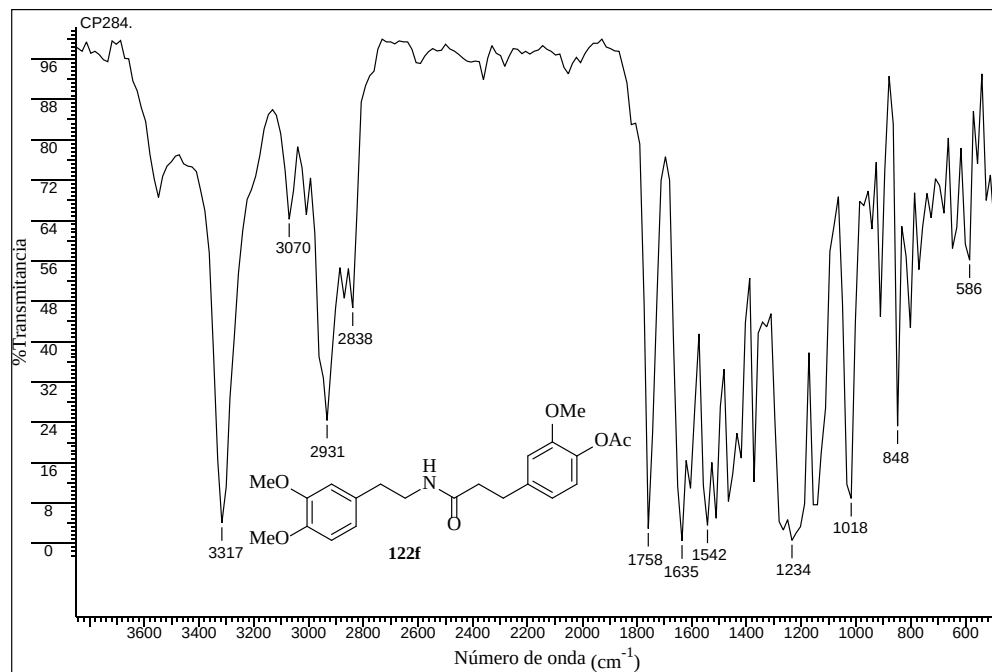


Anexo 49-D. Espectro DEPT-135 de la *N*-(3,4-dimetoxifenilet)-3-(4-acetoxifenil)-propanamida **122e**

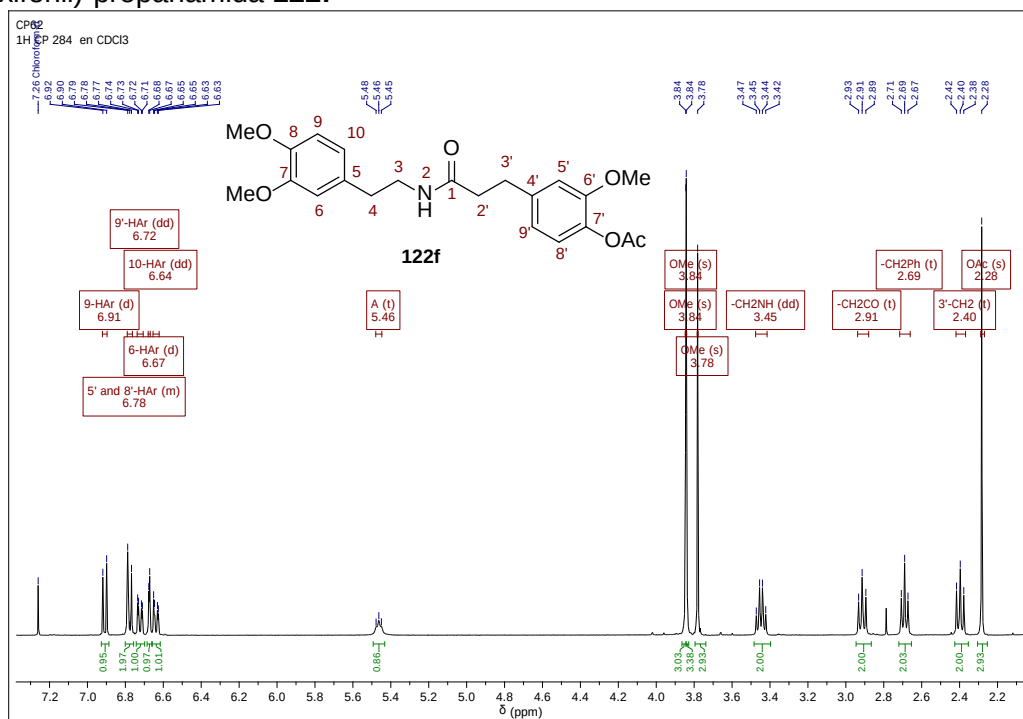


Anexo 50. Espectros relacionados con el compuesto **122f**.

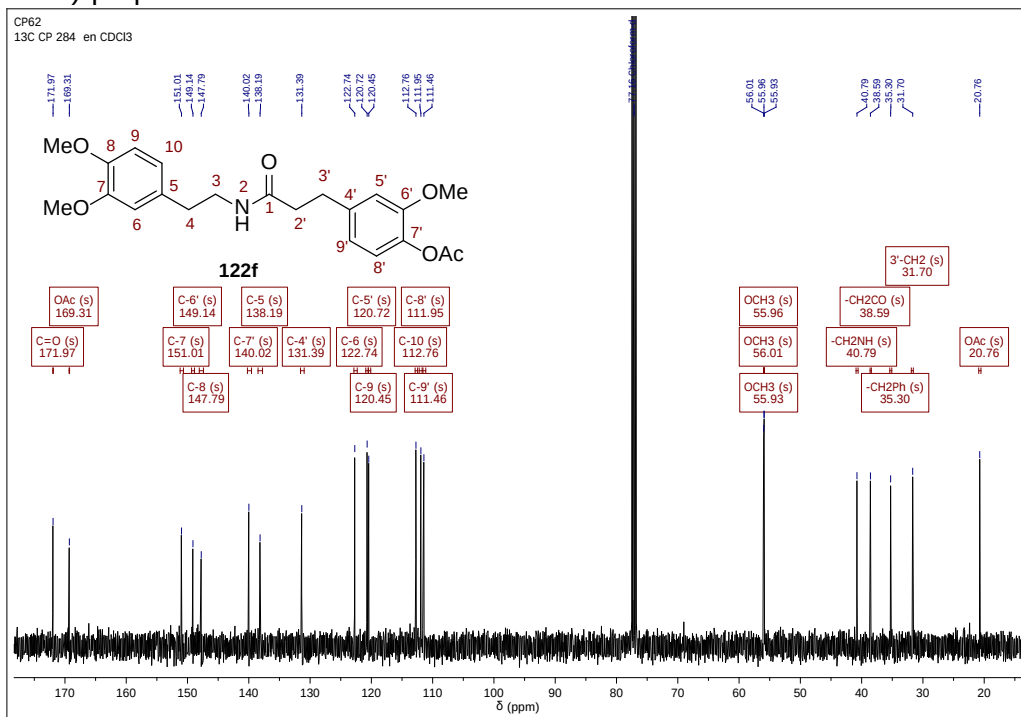
Anexo 50-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(3,4-dimetoxifenilet)-3-(4-acetoxi-3-metoxifenil)-propanamida **122f**



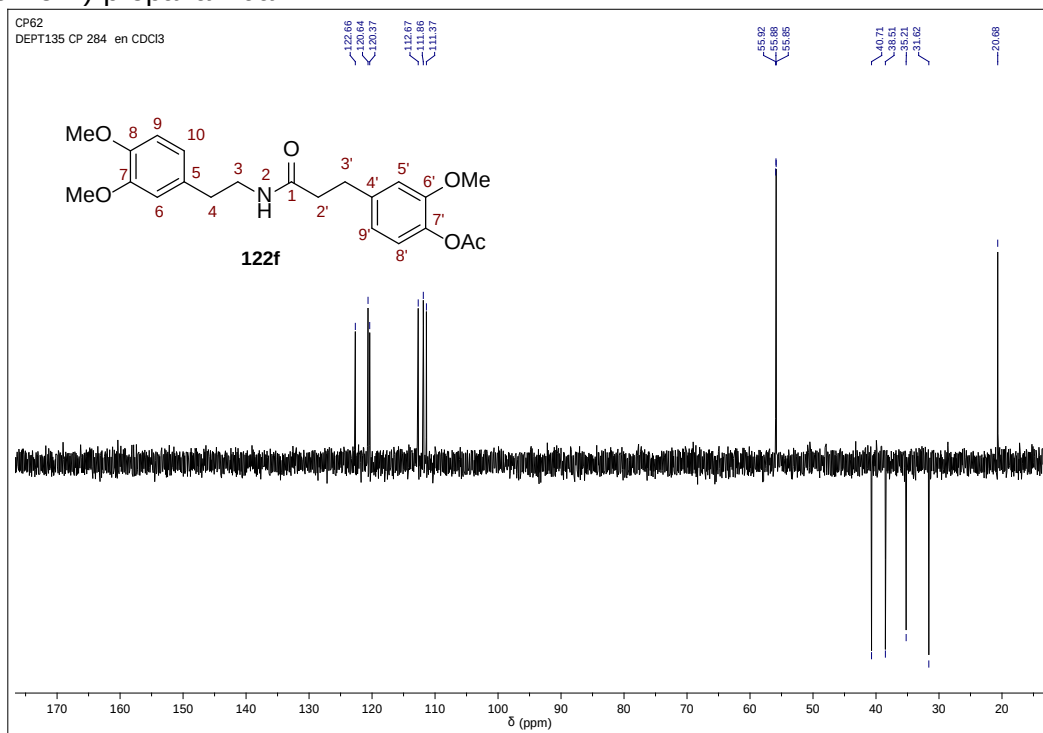
Anexo 50-B. Espectro de ^1H RMN de la *N*-(3,4-dimetoxifenilet)-3-(4-acetoxi-3-metoxifenil)-propanamida **122f**



Anexo 50-C. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(3,4-dimetoxifenilet)-3-(4-acetoxi-3-metoxifenil)-propanamida **122f**

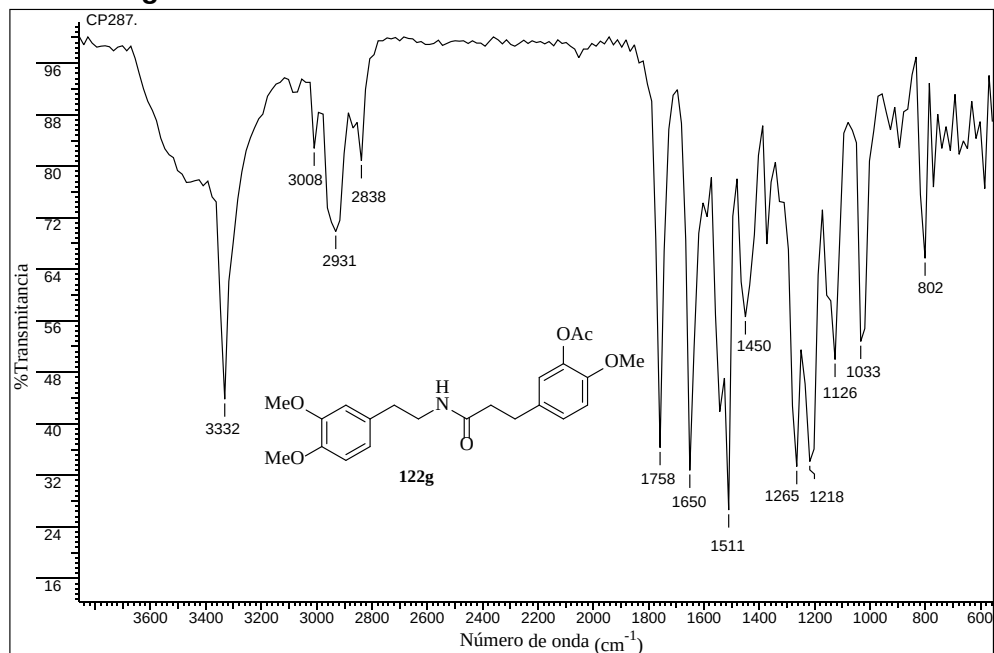


Anexo 50-D. Espectro DEPT-135 de la *N*-(3,4-dimetoxifenilet)-3-(4-acetoxi-3-metoxifenil)-propanamida **122f**

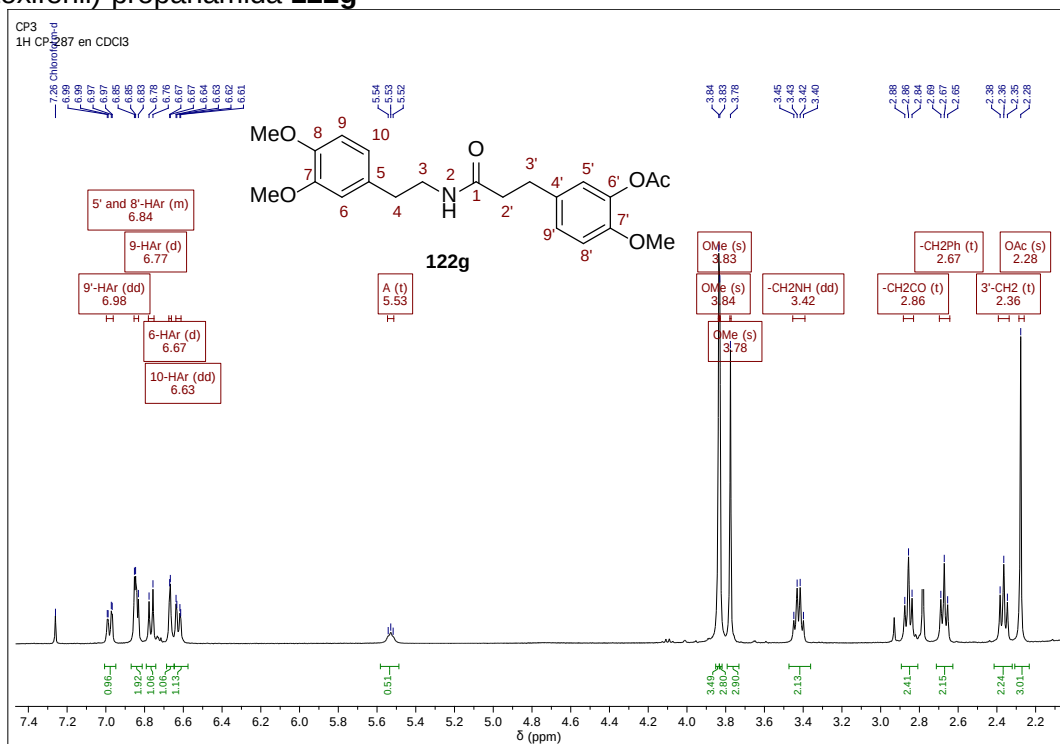


Anexo 51. Espectros relacionados con el compuesto **122g**.

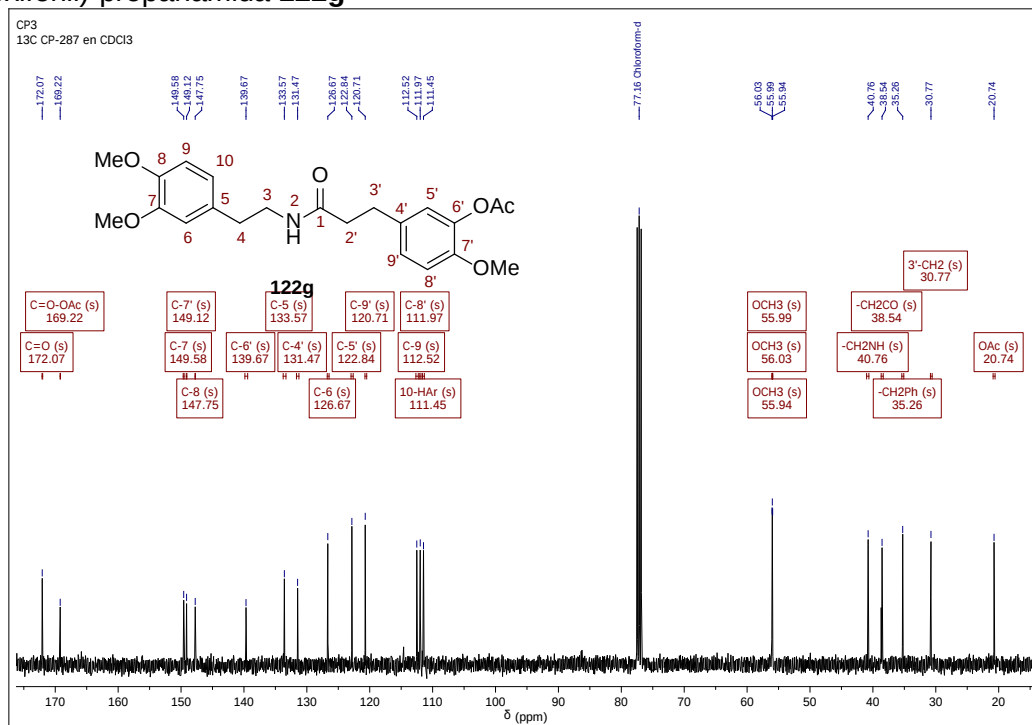
Anexo 51-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(3,4-dimetoxifenilet)-3-(3-acetoxi-4-metoxifenil)-propanamida **122g**



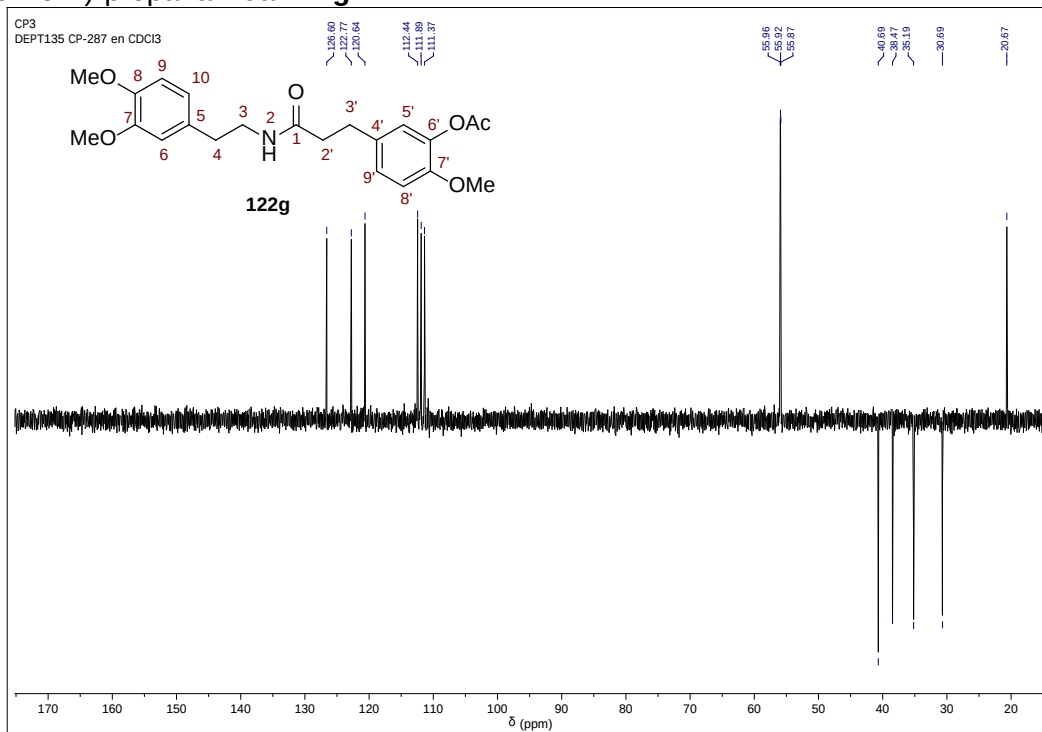
Anexo 51-B. Espectro de ¹H RMN de la *N*-(3,4-dimetoxifenilet)-3-(3-acetoxi-4-metoxifenil)-propanamida **122g**



Anexo 51-C. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3-(3-acetoxi-4-metoxifenil)-propanamida **122g**

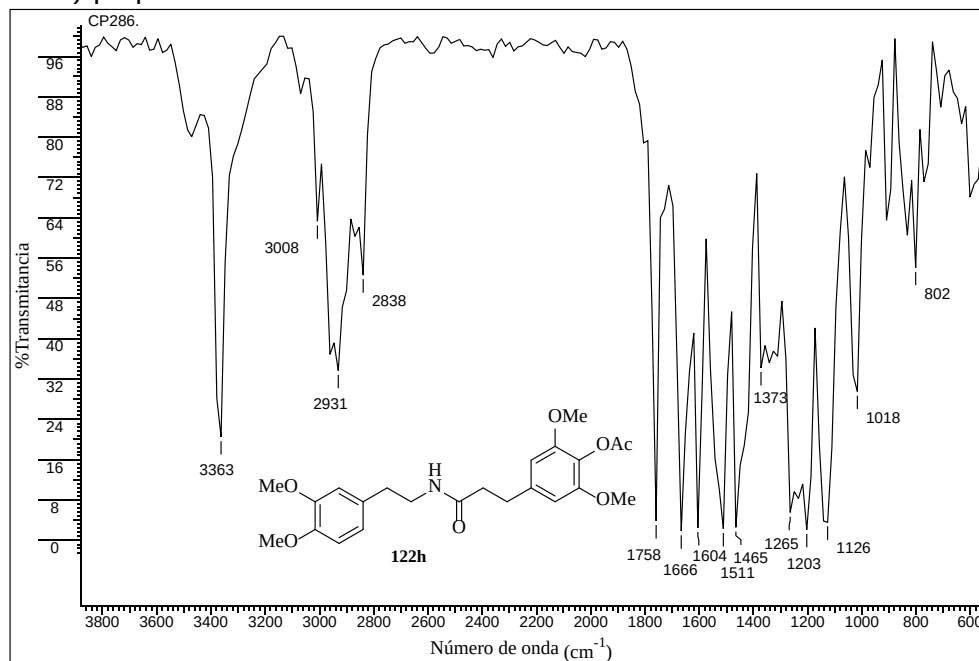


Anexo 51-D. Espectro DEPT-135 de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletil)-3-(3-acetoxi-4-metoxifenil)-propanamida **122g**

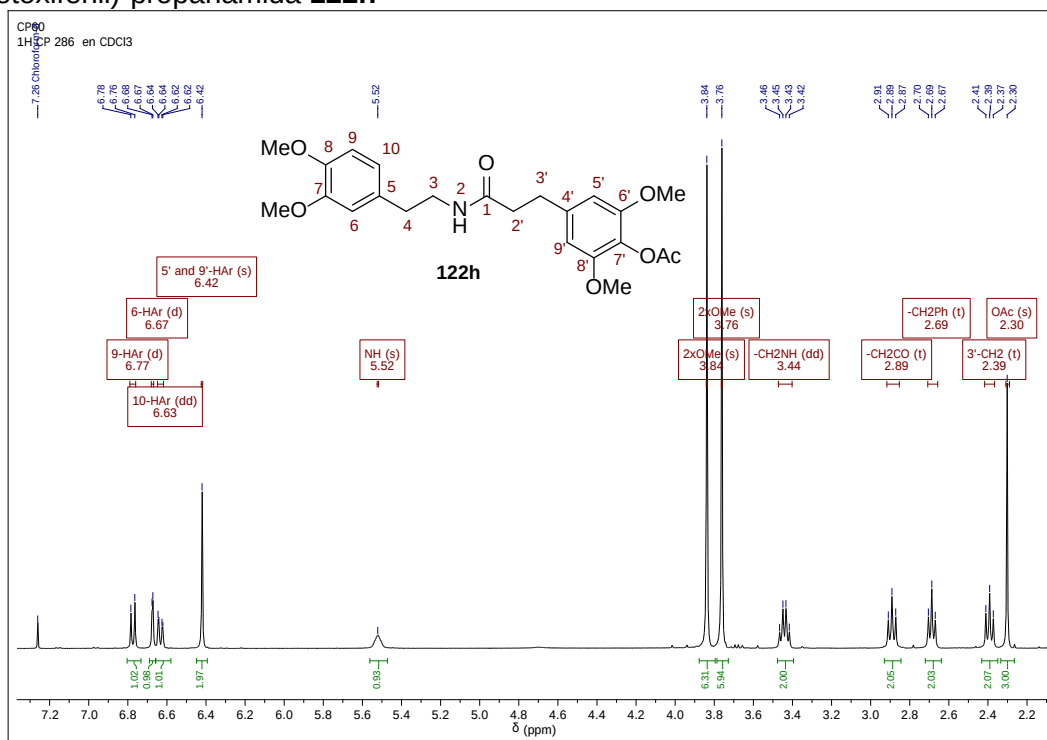


Anexo 52. Espectros relacionados con el compuesto **122h**.

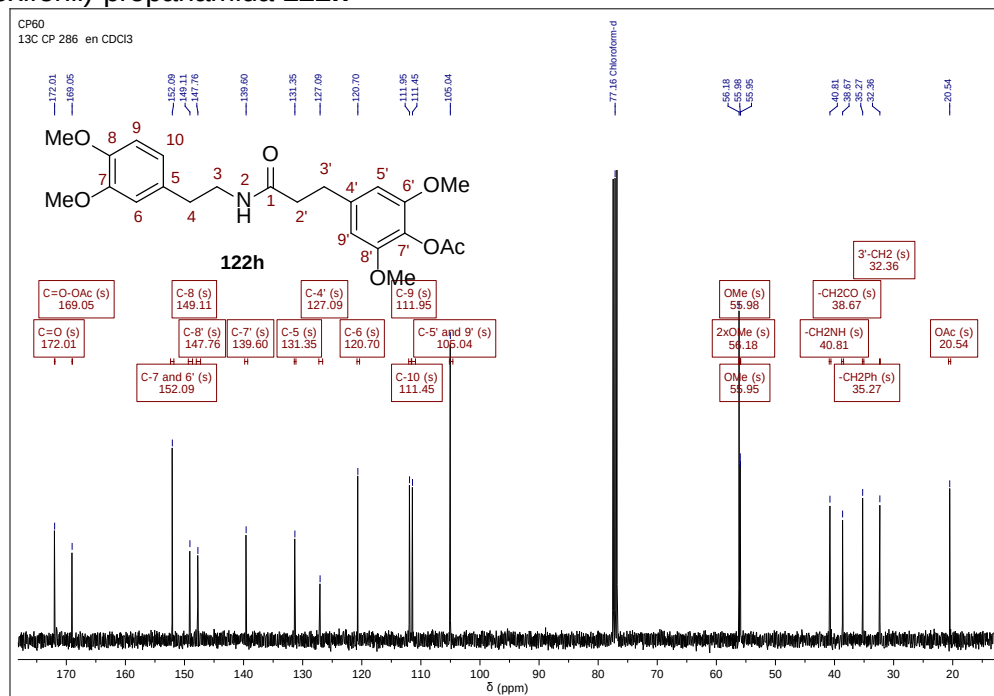
Anexo 52-A. Espectro infrarrojo de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletíl)-3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-propanamida **122h**



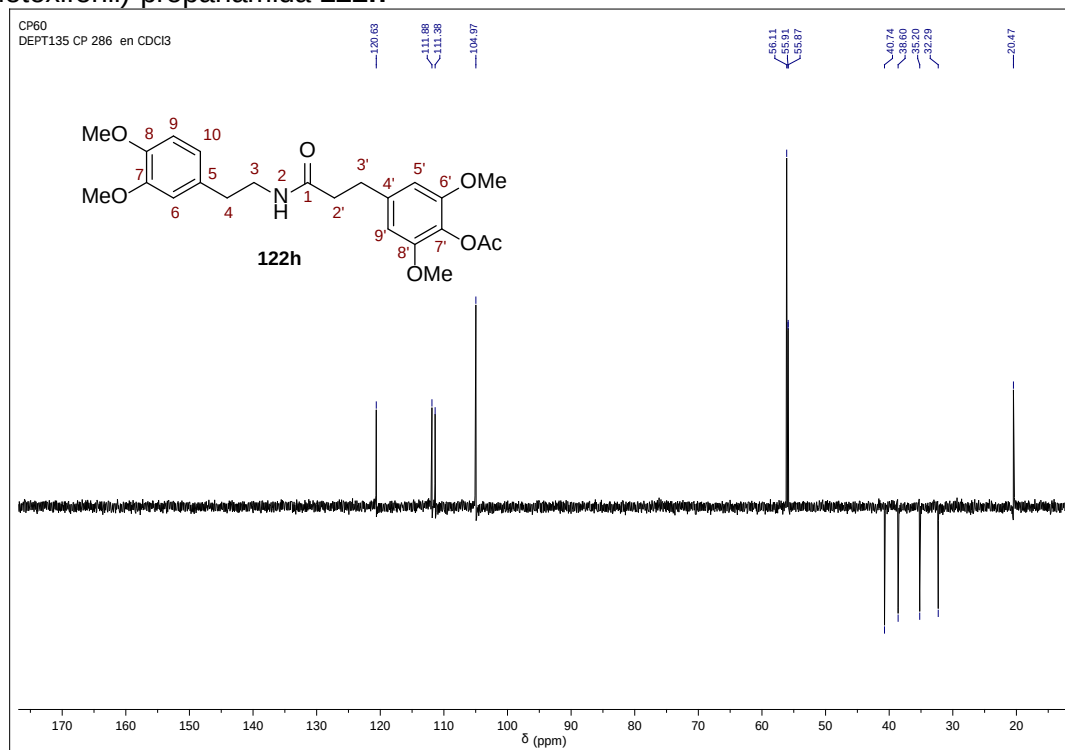
Anexo 52-B. Espectro de ^1H RMN de la *N*-(3,4-dimetoxifeniletíl)-3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-propanamida **122h**



Anexo 52-C. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-(3,4-dimetoxifenilet)-3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-propanamida **122h**



Anexo 52-D. Espectro DEPT-135 de la *N*-(3,4-dimetoxifenilet)-3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-propanamida **122h**

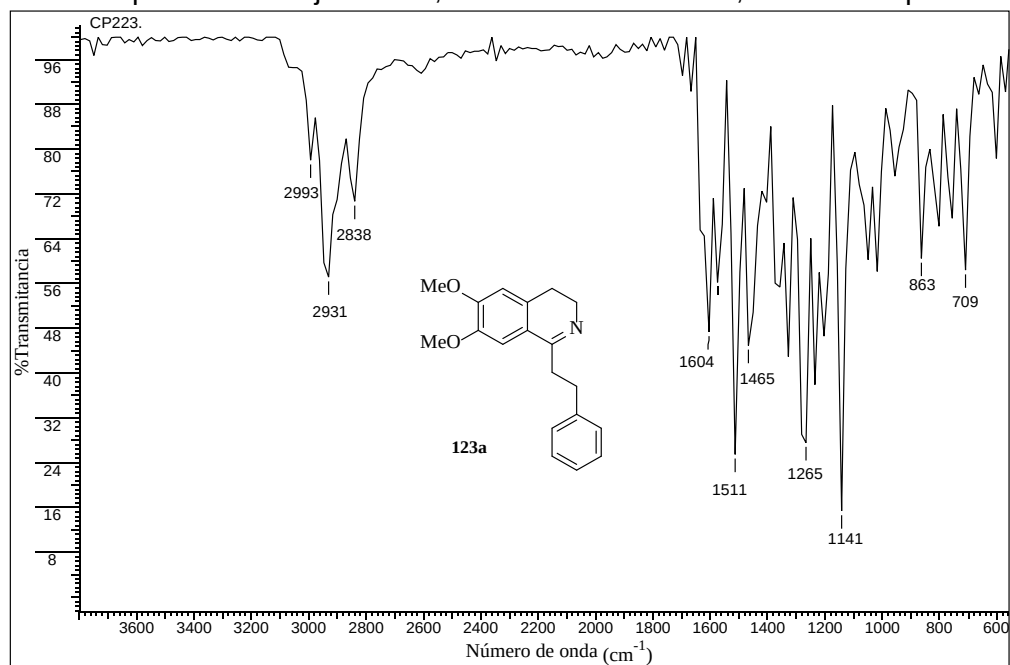


ANEXOS 53-61

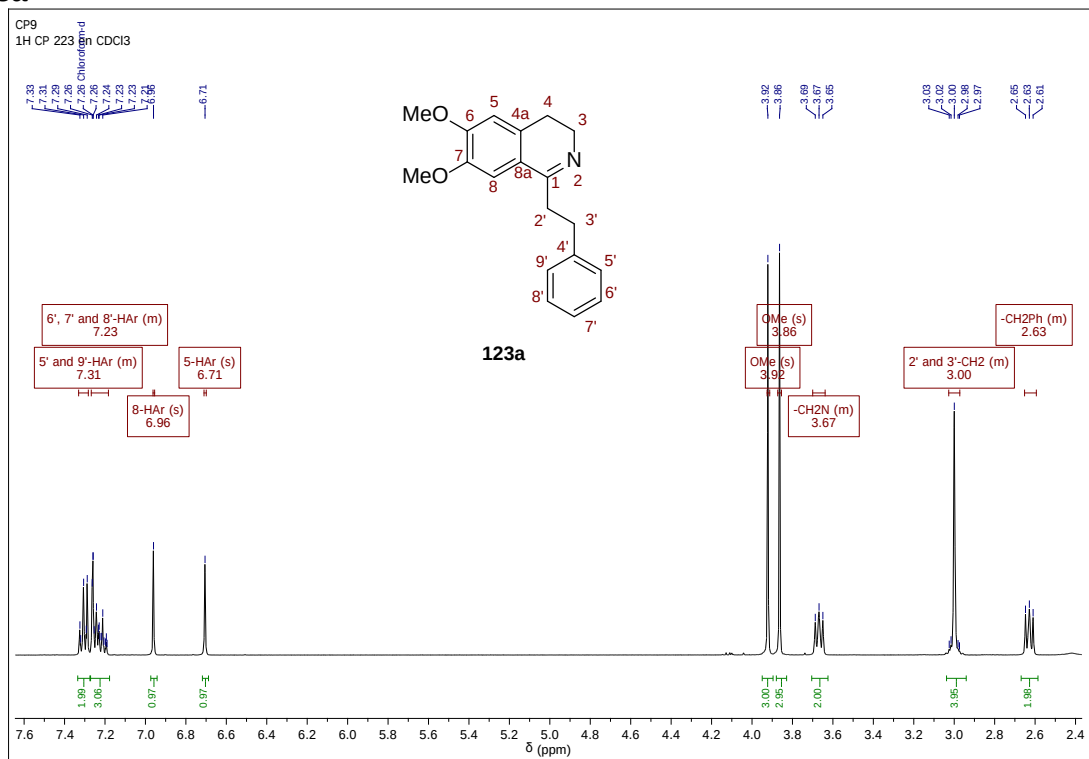
**Información espectral relacionada con las 1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolinas
123a-i**

Anexo 53. Espectros relacionados con el compuesto **123a**.

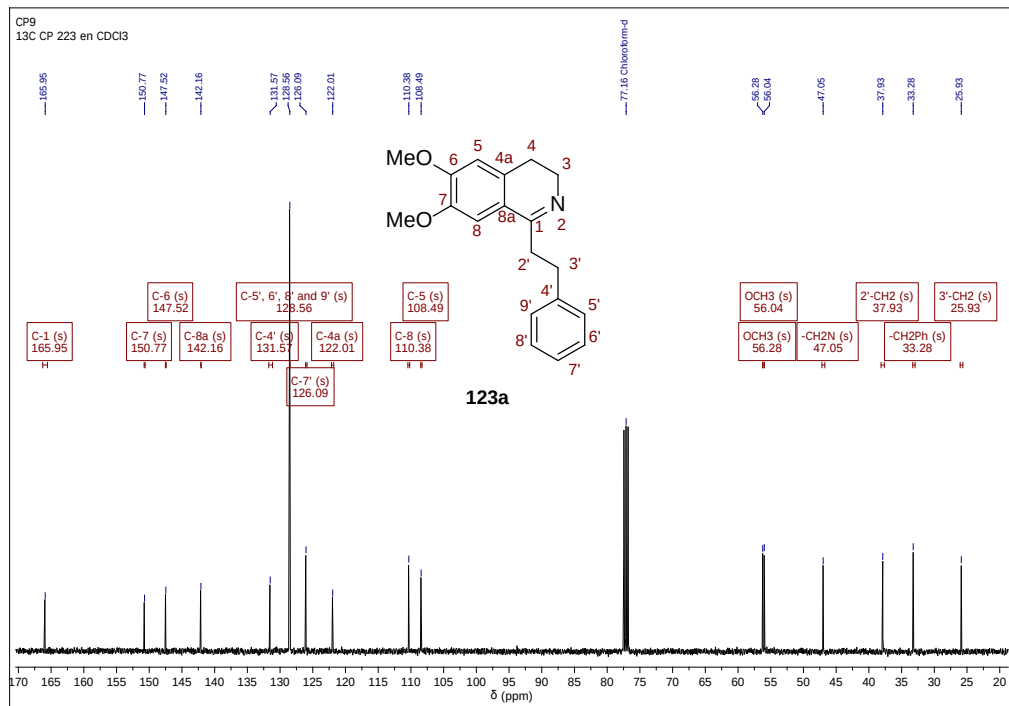
Anexo 53-A. Espectro infrarrojo de la 6,7-Dimetoxi-1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolina **123a**



Anexo 53-B. Espectro de ¹H RMN de la 6,7-Dimetoxi-1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolina **123a**

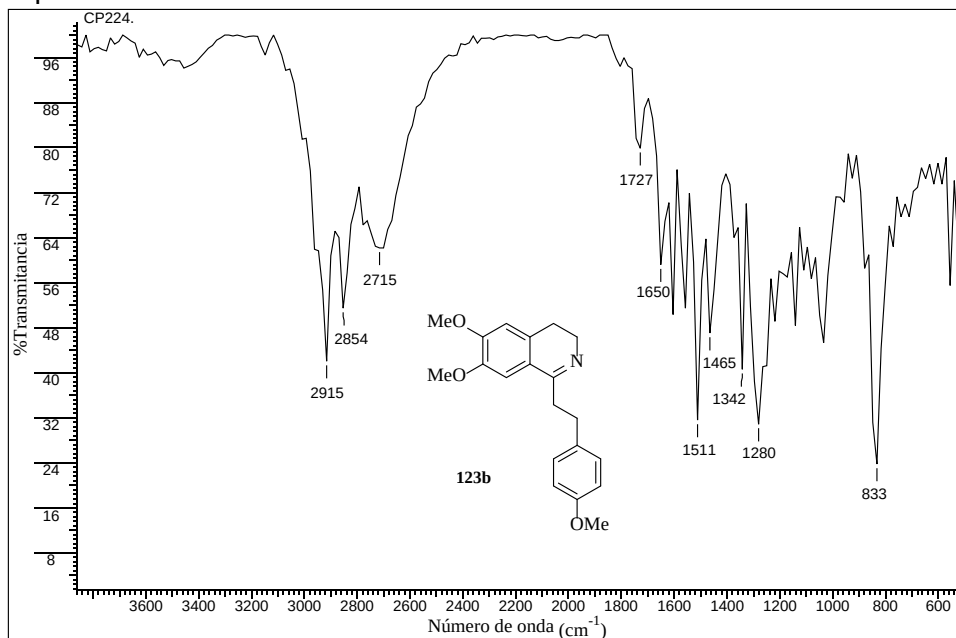


Anexo 53-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 6,7-Dimetoxi-1-feniletil-3,4-dihidroisoquinolina 123a

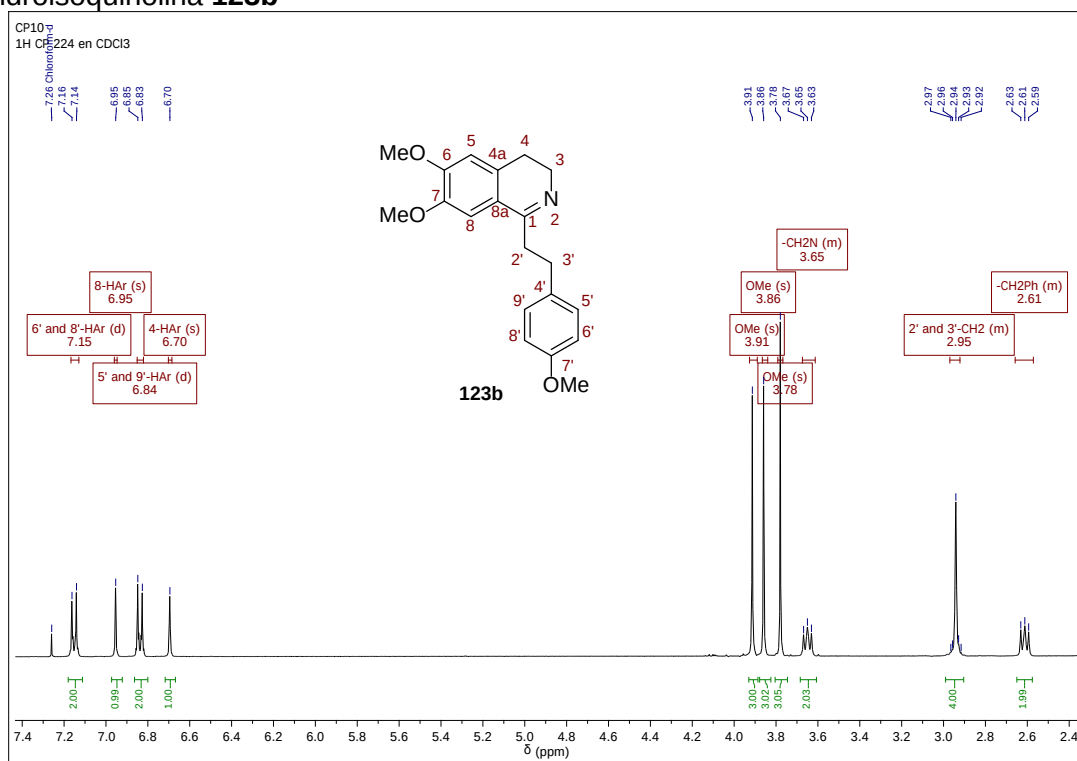


Anexo 54. Espectros relacionados con el compuesto **123b**.

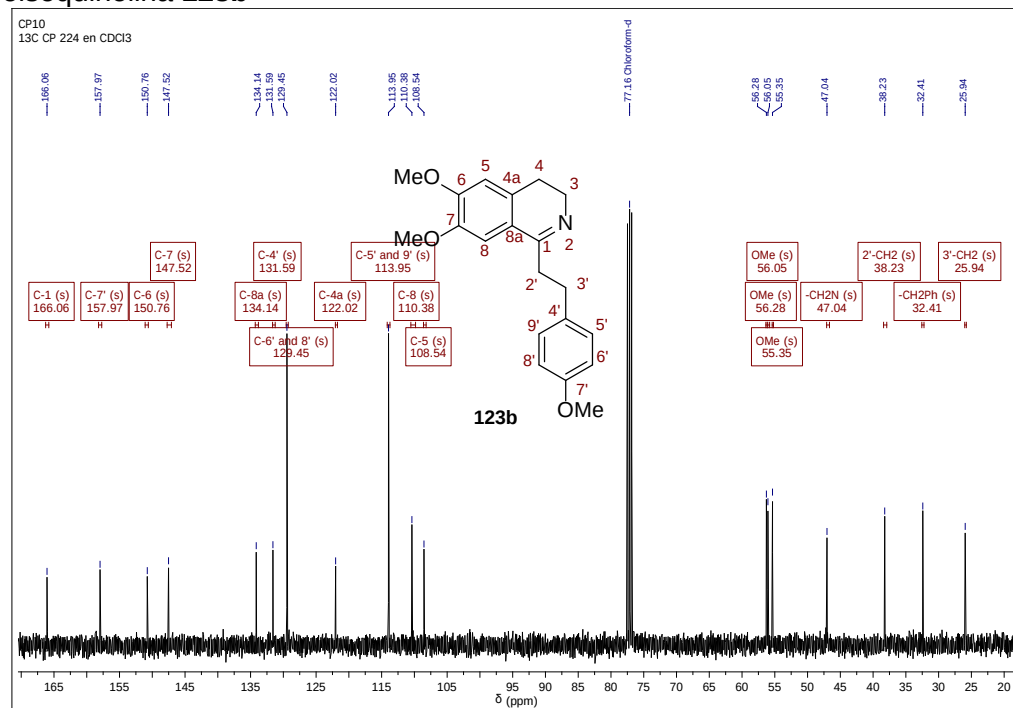
Anexo 54-A. Espectro infrarrojo de la 6,7-Dimetoxi-1-(4-metoxifeniletíl)-3,4-dihidroisoquinolina **123b**



Anexo 54-B. Espectro de ^1H RMN de la 6,7-Dimetoxi-1-(4-metoxifeniletíl)-3,4-dihidroisoquinolina **123b**

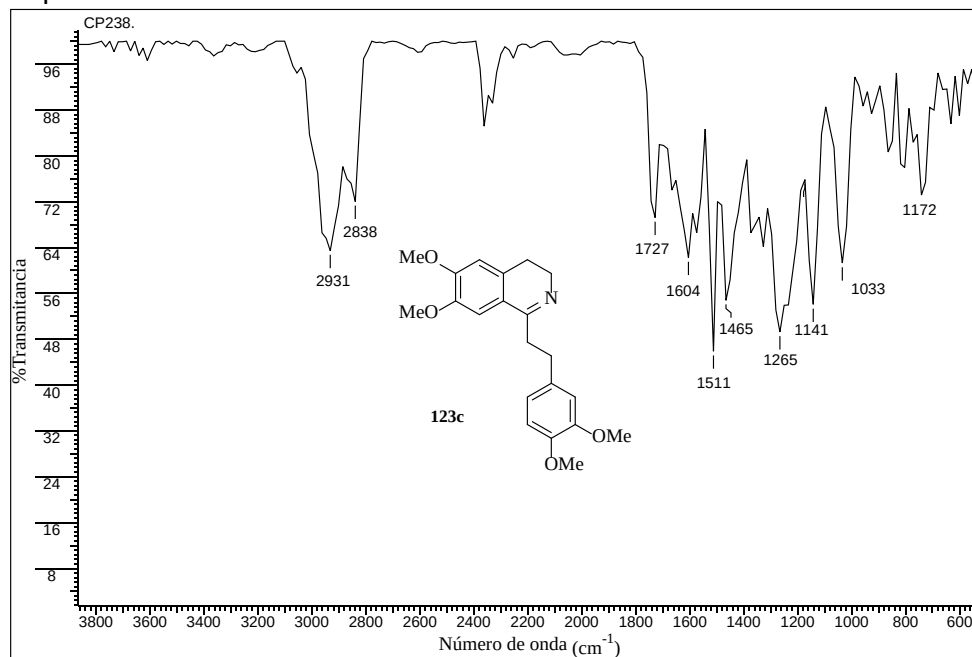


Anexo 54-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 6,7-Dimetoxi-1-(4-metoxifeniletil)-3,4-dihidroisquinolina **123b**

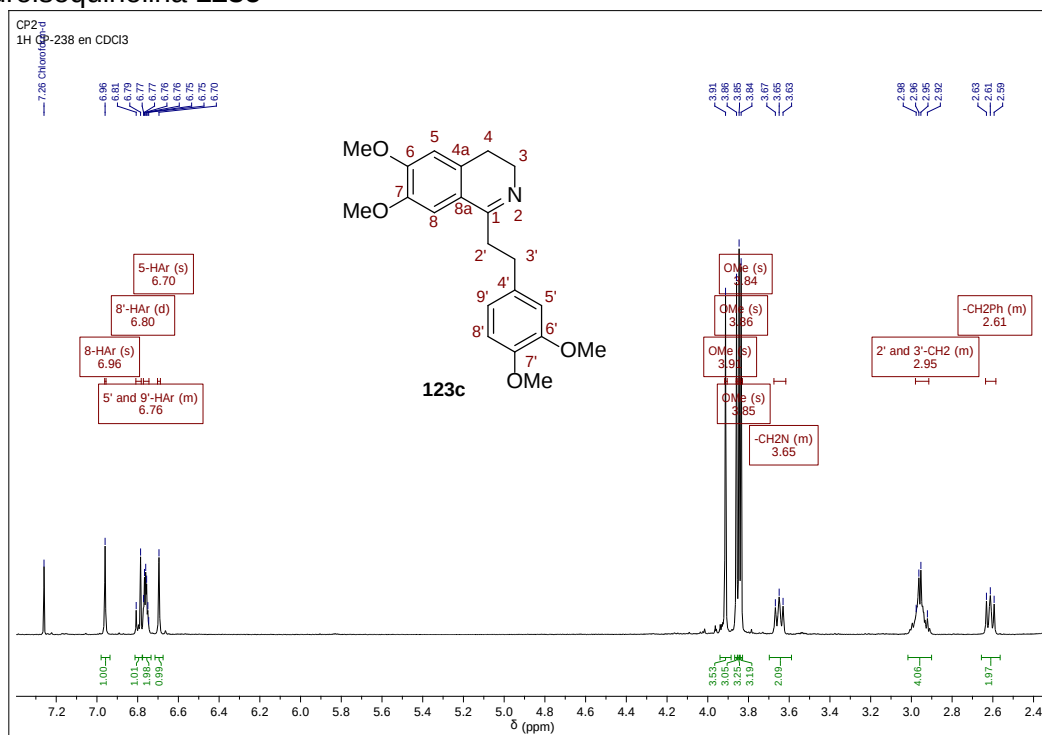


Anexo 55. Espectros relacionados con el compuesto **123c**.

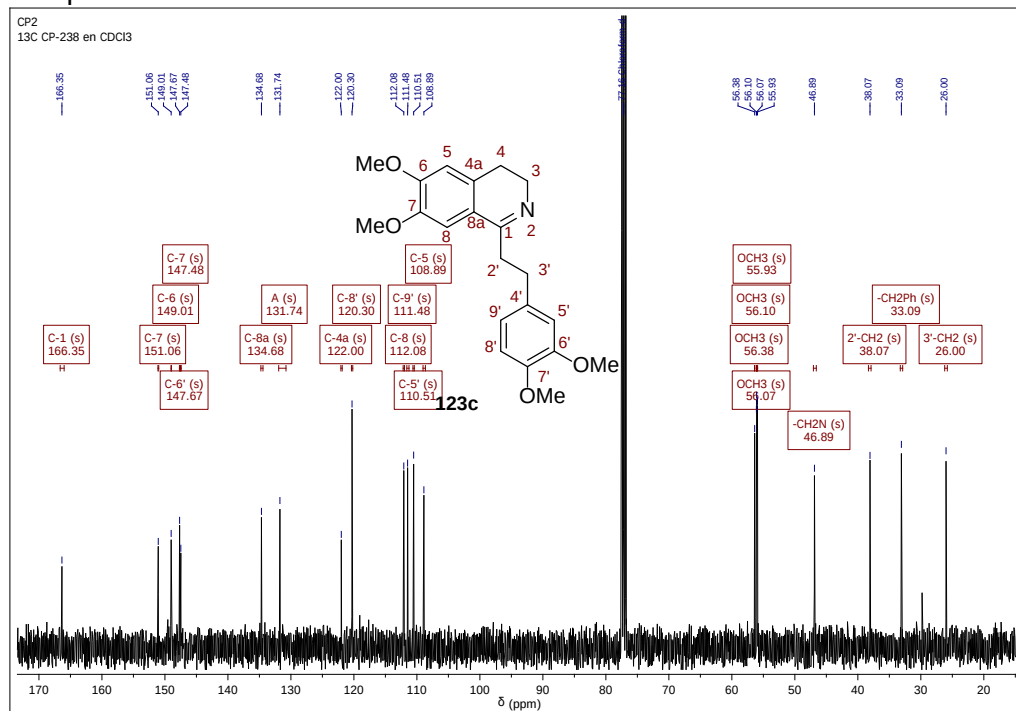
Anexo 55-A. Espectro infrarrojo de la 6,7-Dimetoxi-1-(3,4-dimetoxifeniletíl)-3,4-dihidroisoquinolina **123c**



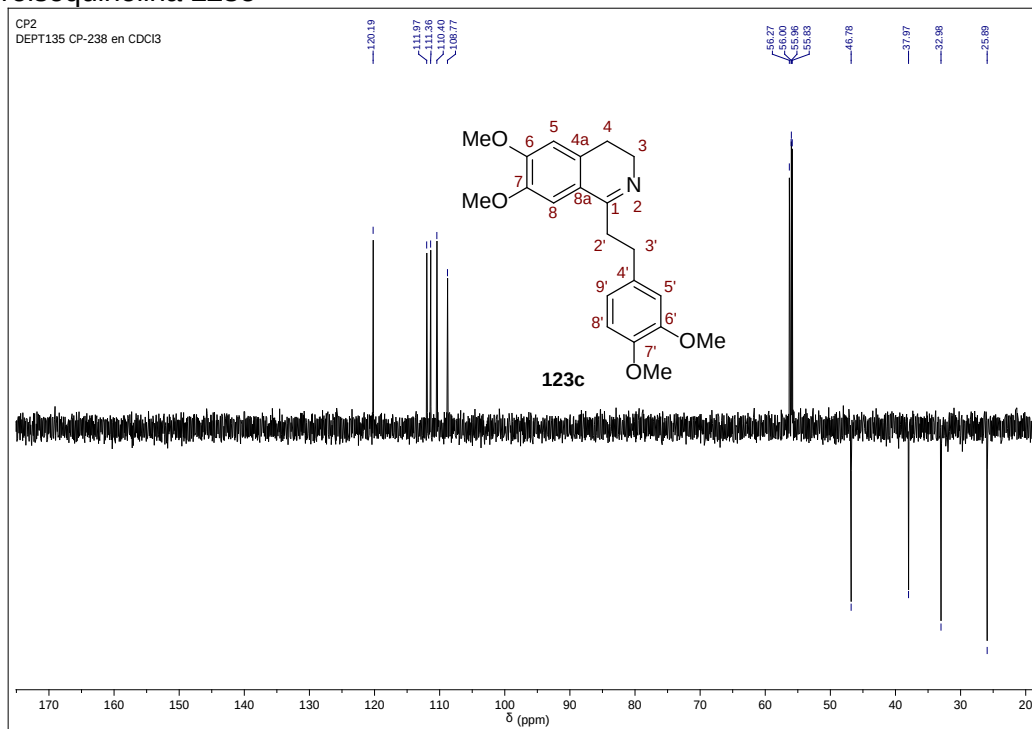
Anexo 55-B. Espectro de ¹H RMN de la 6,7-Dimetoxi-1-(3,4-dimetoxifeniletíl)-3,4-dihidroisoquinolina **123c**



Anexo 55-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 6,7-Dimetoxi-1-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4-dihidroisoquinolina **123c**

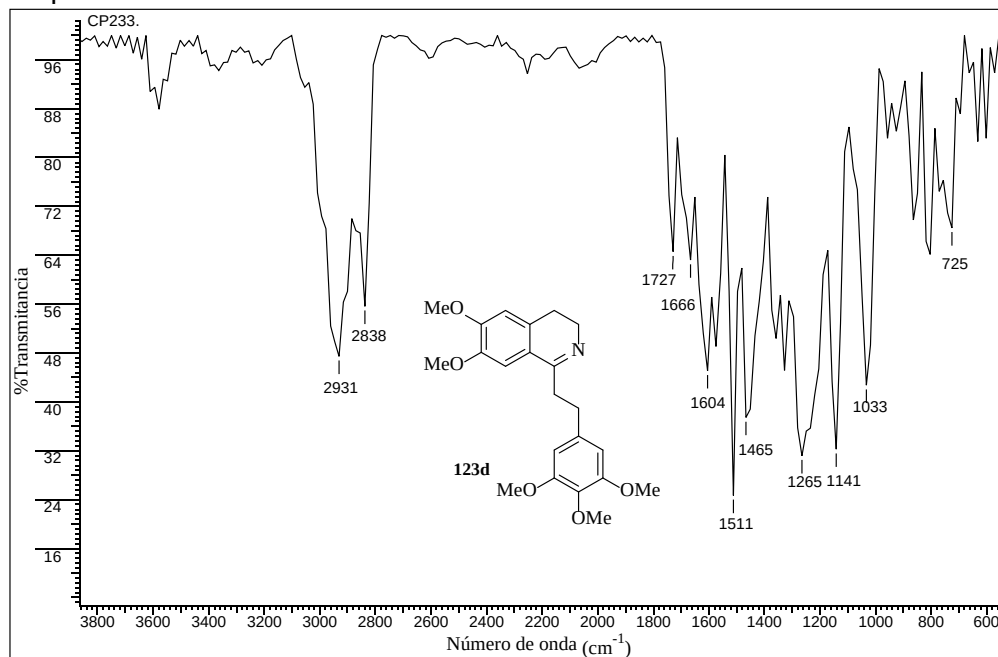


Anexo 55-D. Espectro DEPT-135 de la 6,7-Dimetoxi-1-(3,4-dimetoxifeniletil)-3,4-dihidroisoquinolina **123c**

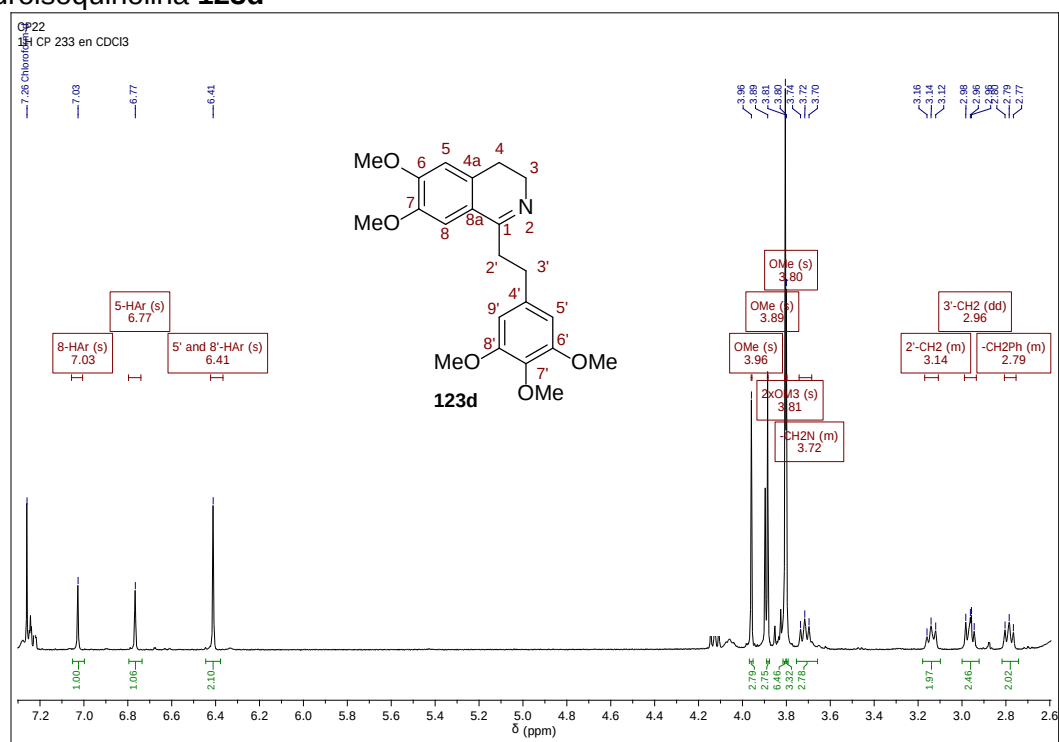


Anexo 56. Espectros relacionados con el compuesto **123d**.

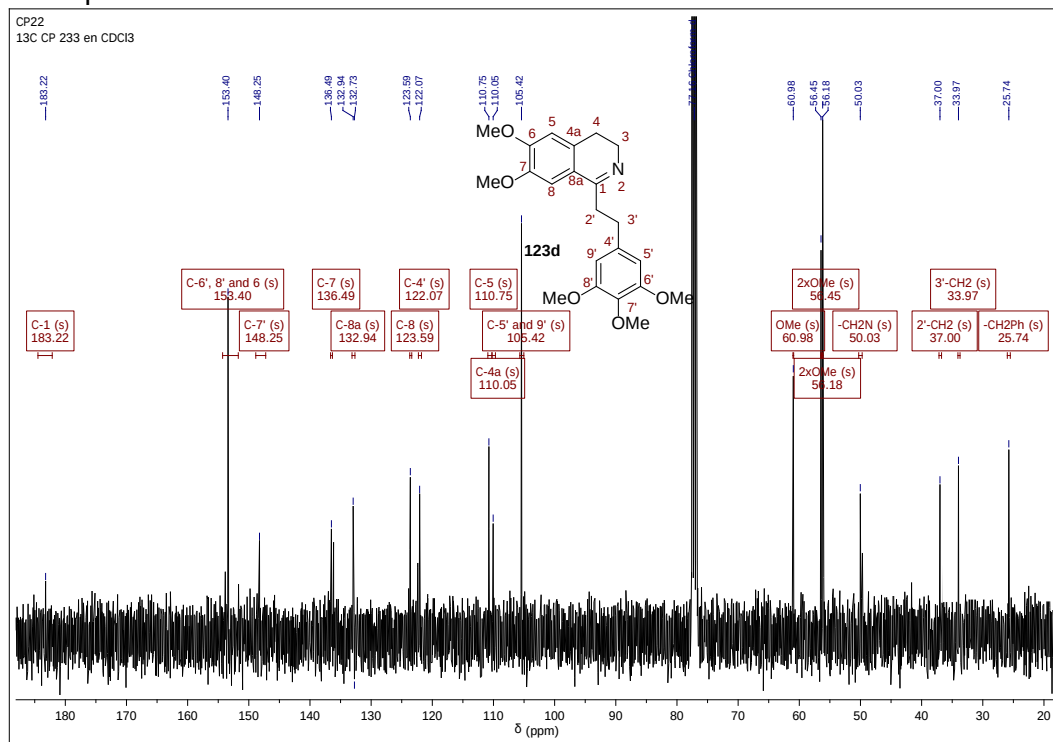
Anexo 56-A. Espectro infrarrojo de la 6,7-Dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-3,4-dihidroisquinolina **123d**



Anexo 56-B. Espectro de ^1H RMN de la 6,7-Dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-3,4-dihidroisquinolina **123d**

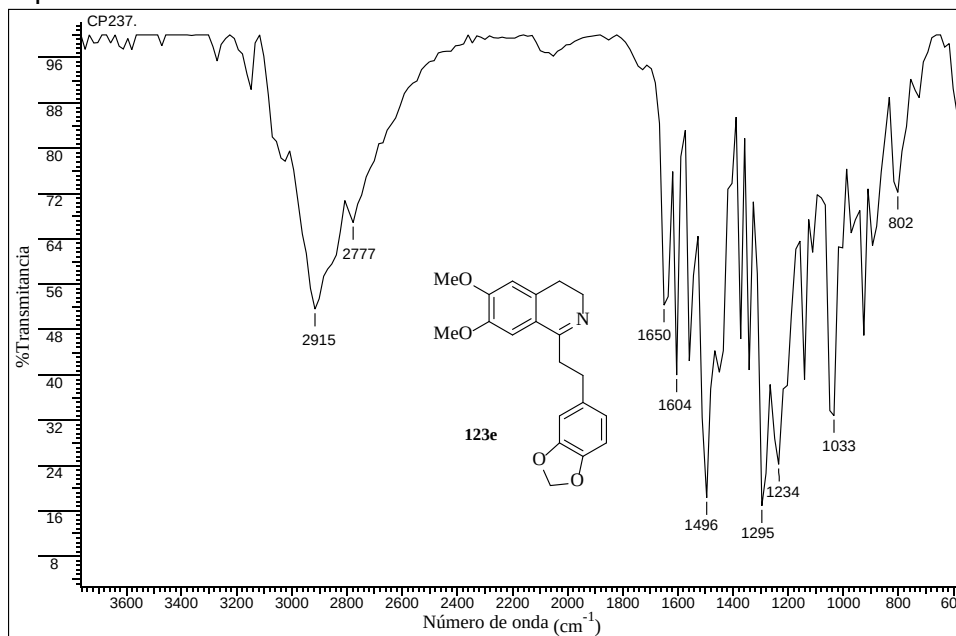


Anexo 56-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 6,7-Dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123d**

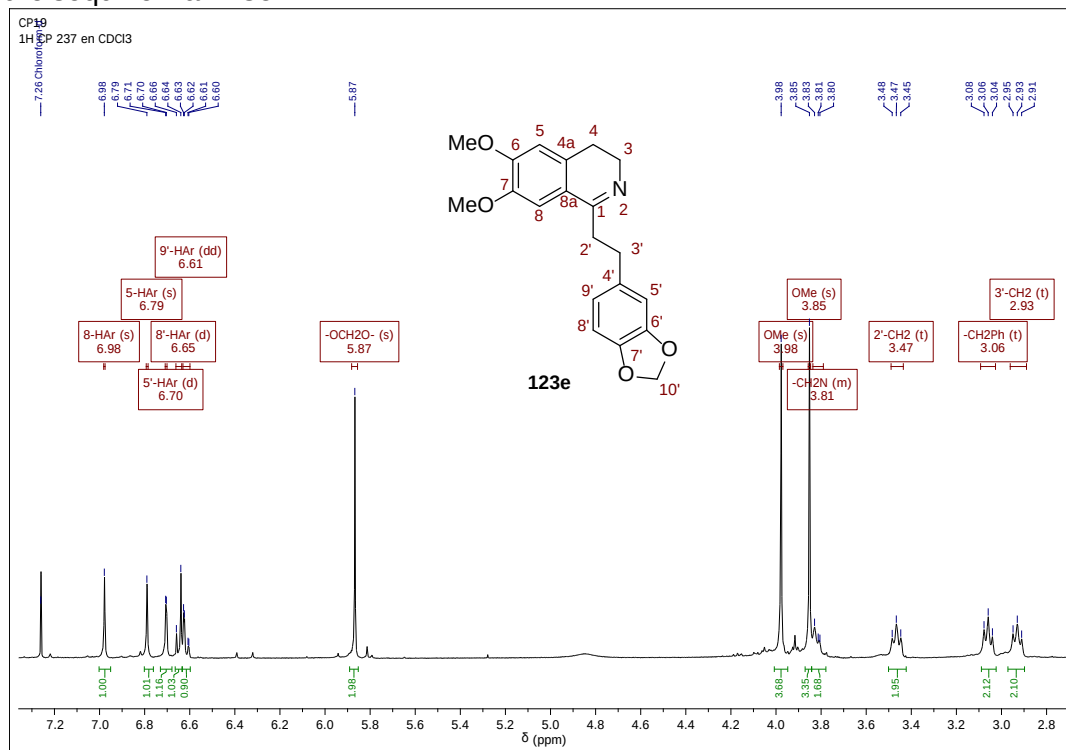


Anexo 57. Espectros relacionados con el compuesto **123e**.

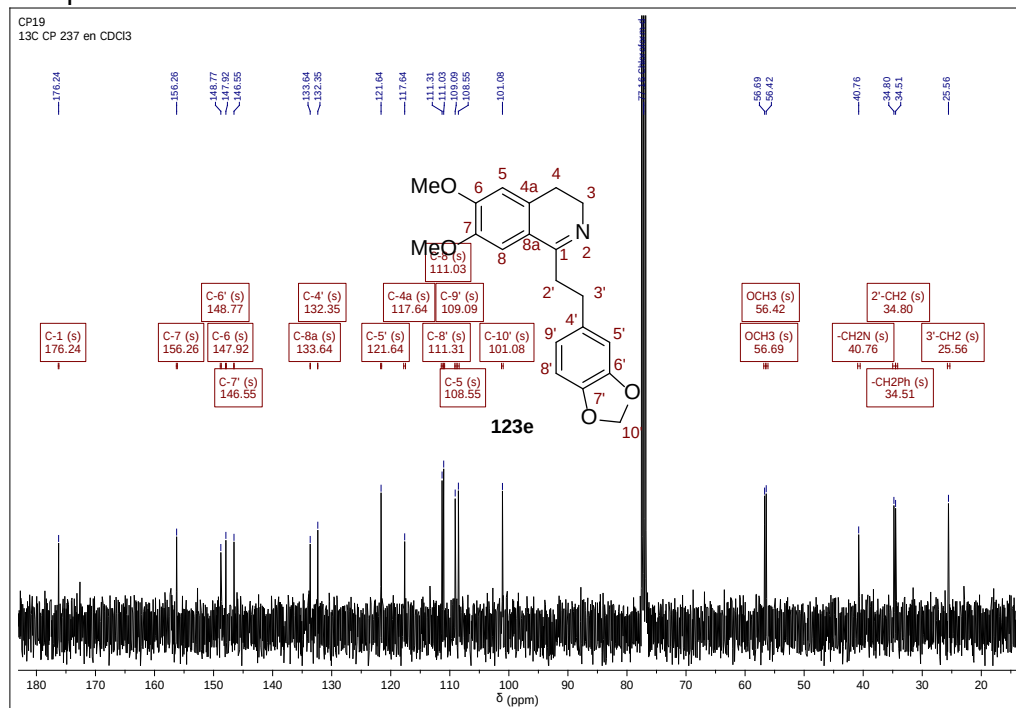
Anexo 57-A. Espectro infrarrojo de la 6,7-Dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123e**



Anexo 57-B. Espectro de ^1H RMN de la 6,7-Dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123e**

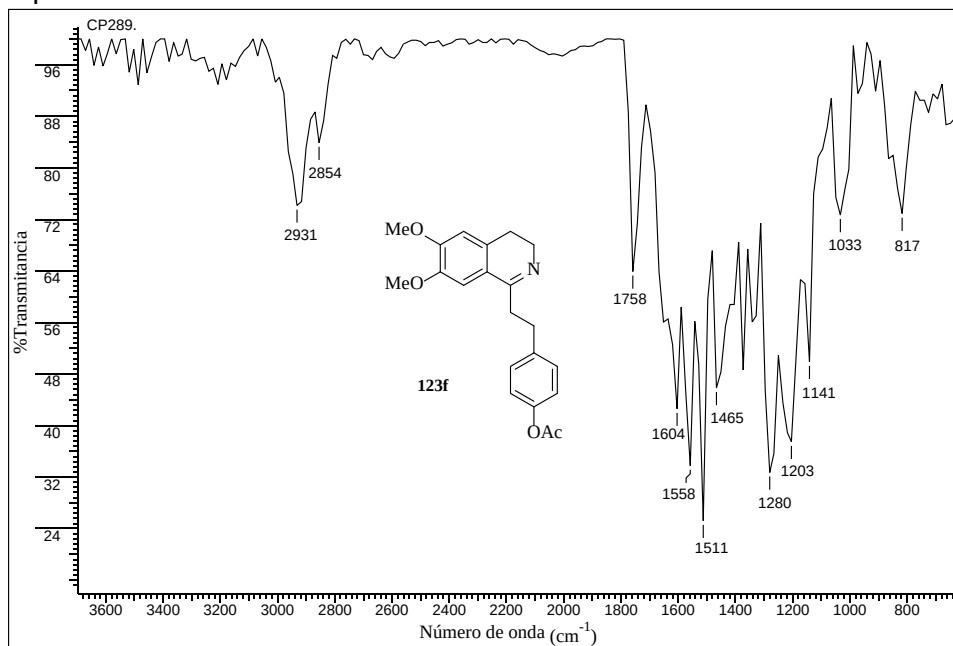


Anexo 57-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 6,7-Dimetoxi-1-(3,4-metilendioxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123e**

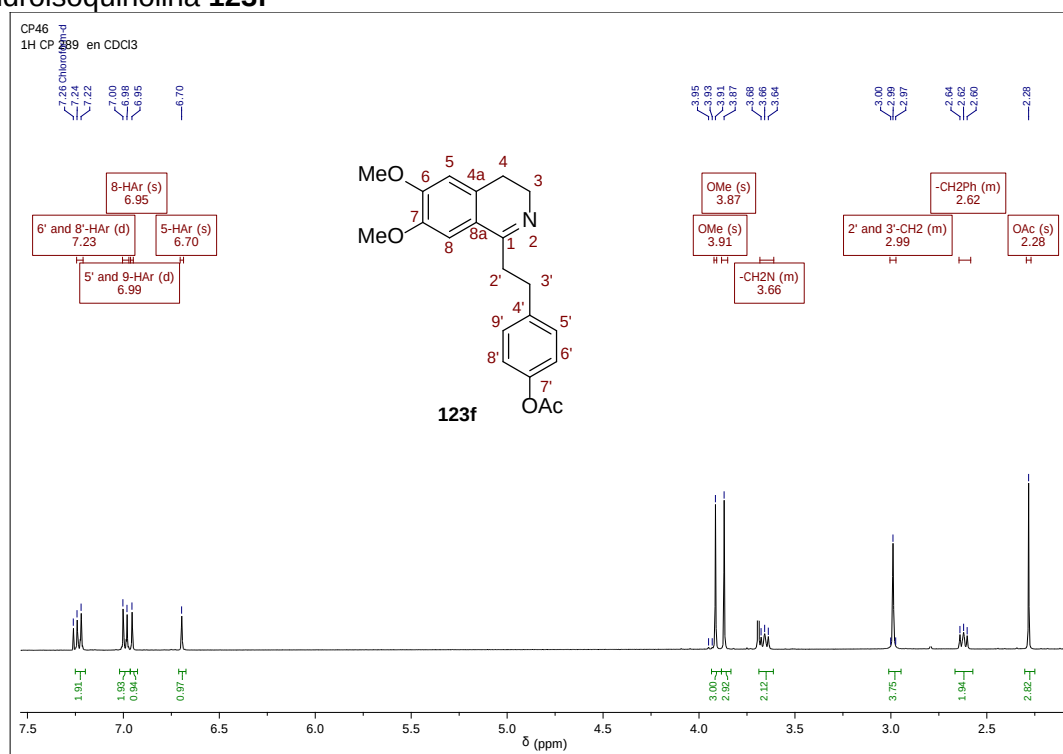


Anexo 58. Espectros relacionados con el compuesto **123f**.

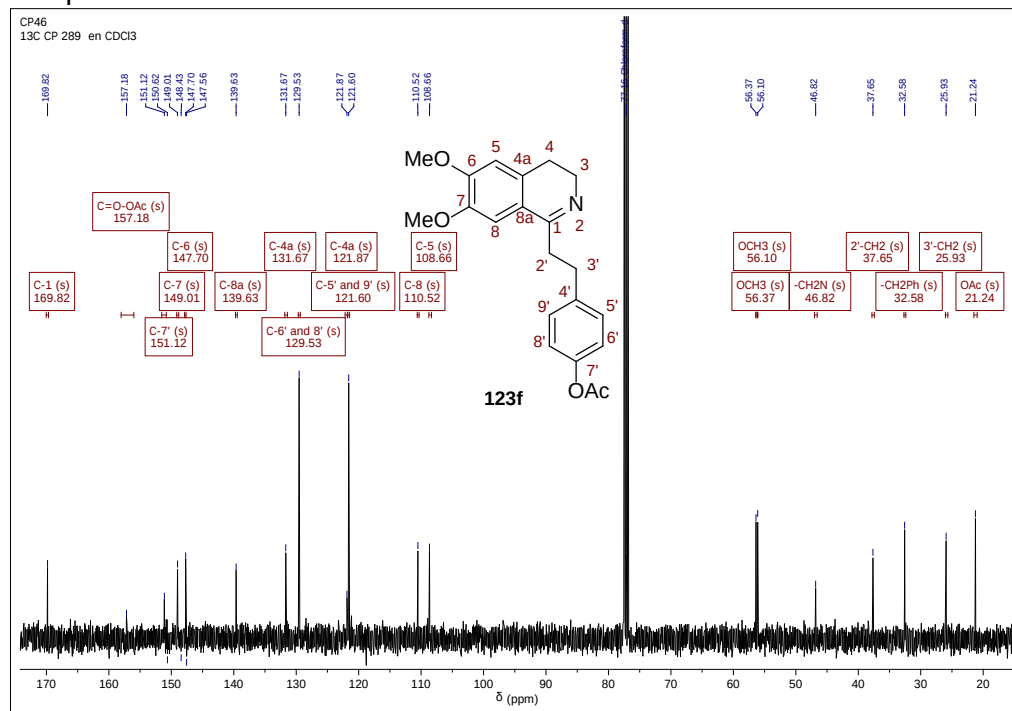
Anexo 58-A. Espectro infrarrojo de la 6,7-Dimetoxi-1-(4-acetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123f**



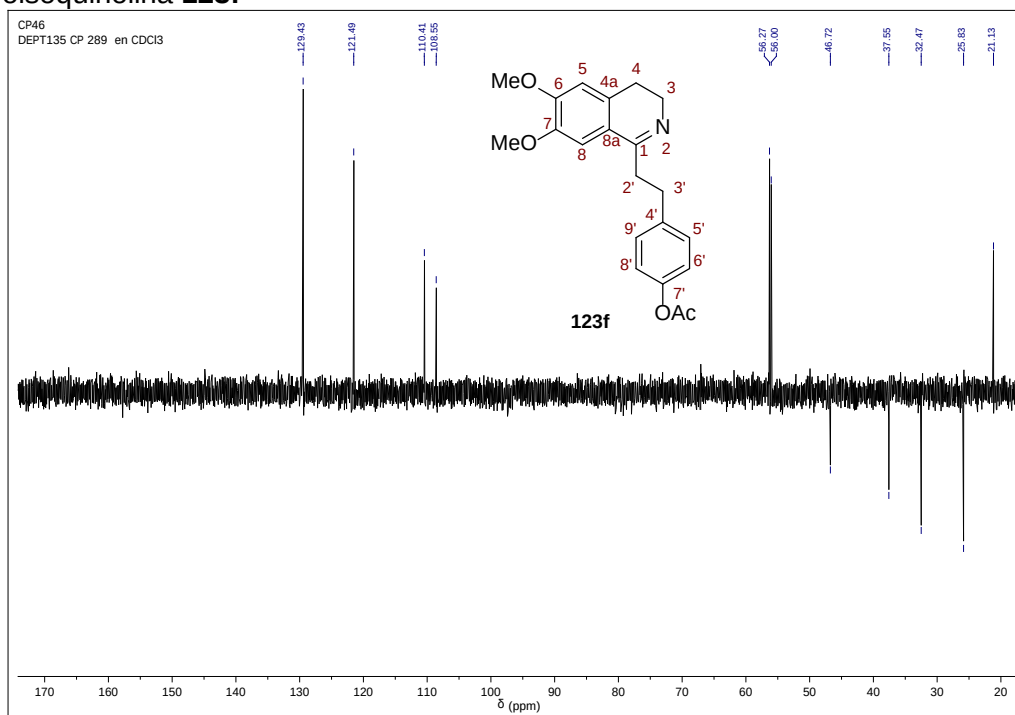
Anexo 58-B. Espectro de ^1H RMN de la 6,7-Dimetoxi-1-(4-acetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123f**



Anexo 58-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 6,7-Dimetoxi-1-(4-acetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123f**

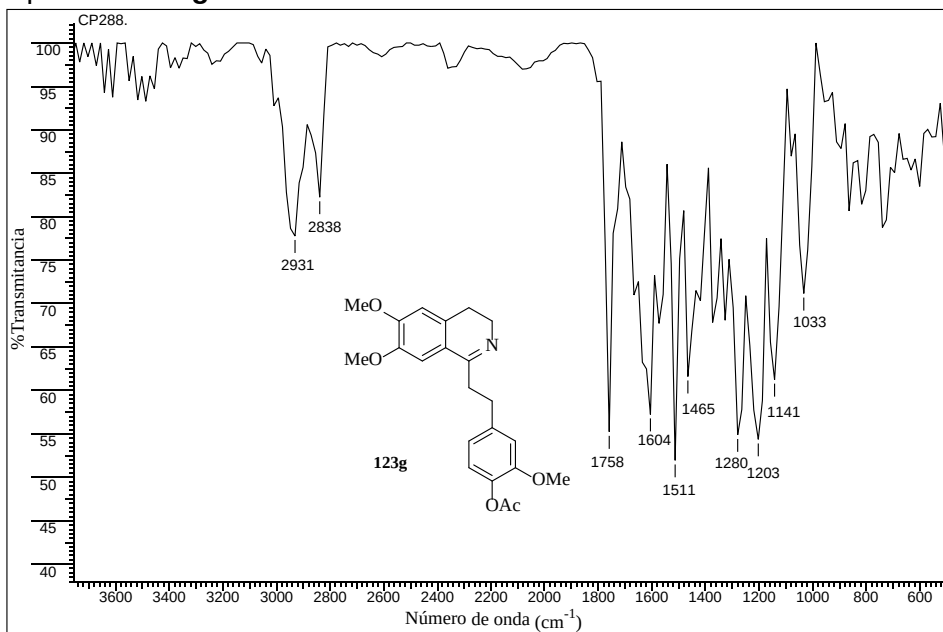


Anexo 58-D. Espectro DEPT-135 de la 6,7-Dimetoxi-1-(4-acetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123f**

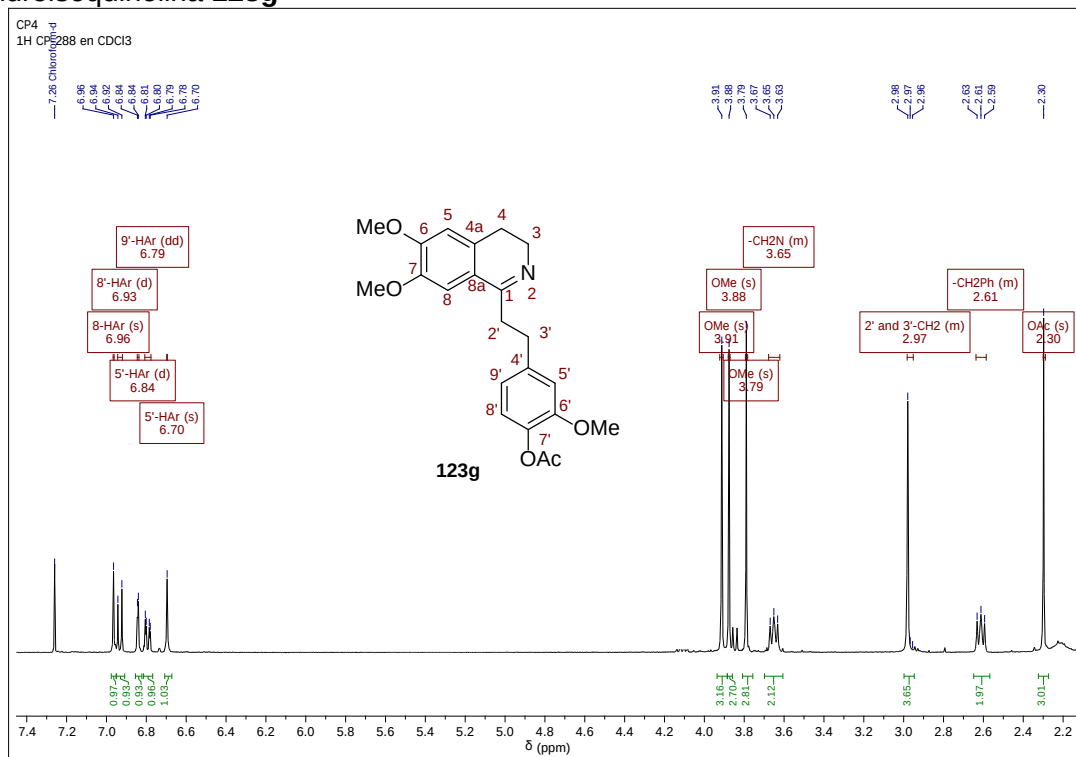


Anexo 59. Espectros relacionados con el compuesto **123g**.

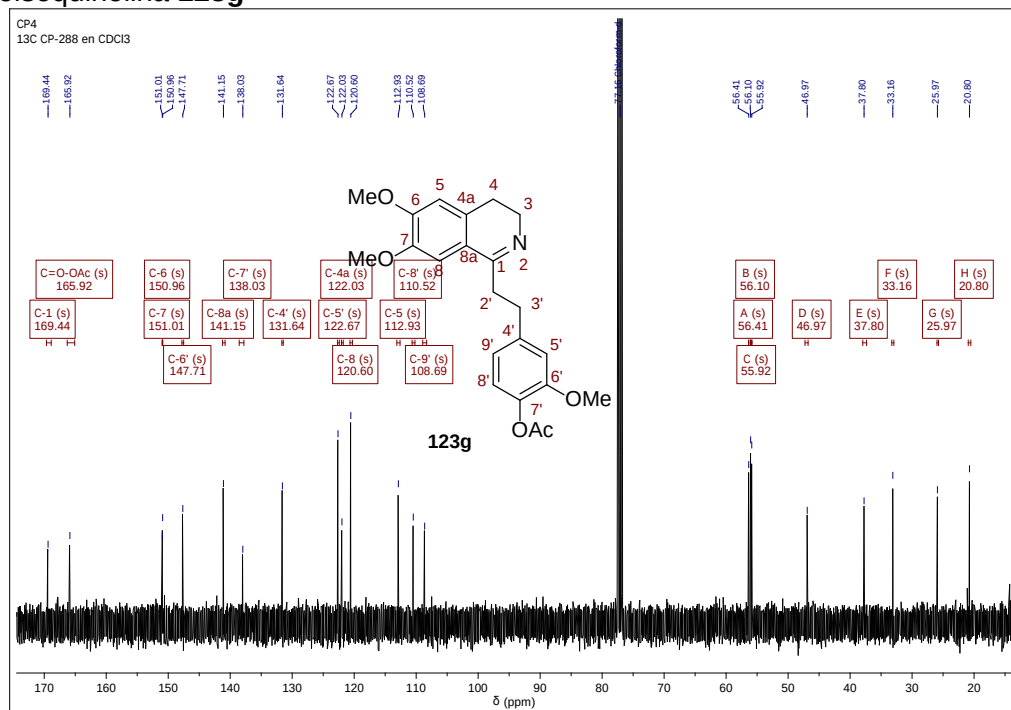
Anexo 59-A. Espectro infrarrojo de la 6,7-Dimetoxi-1-(4-acetoxi-3-metoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123g**



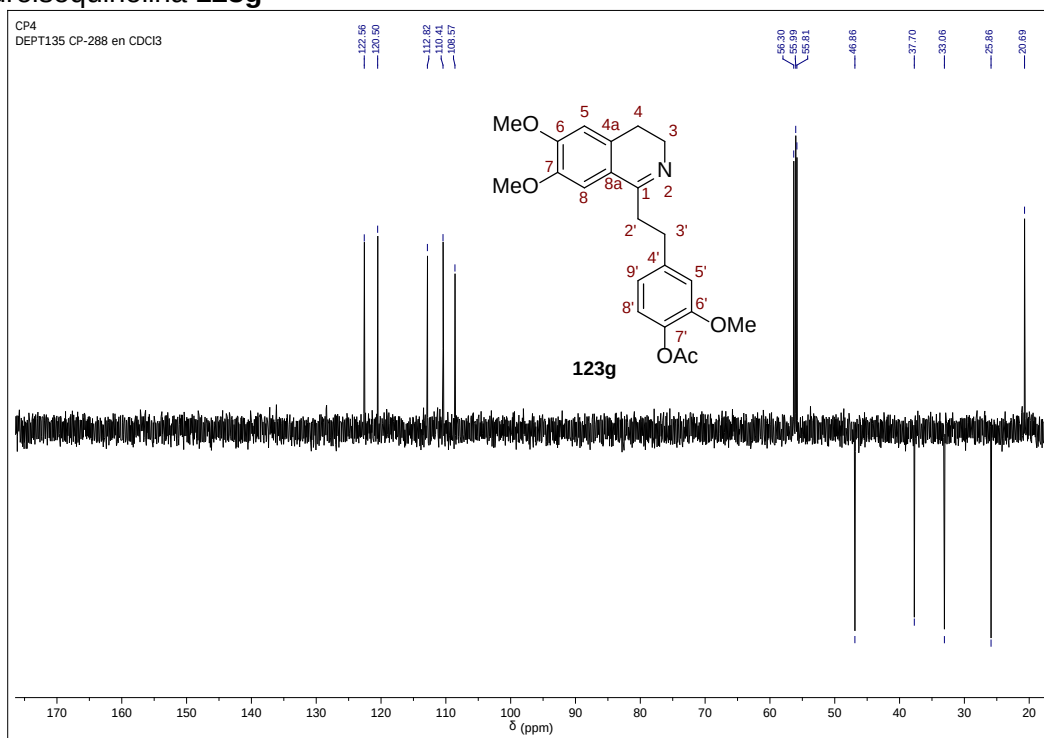
Anexo 59-B. Espectro de ^1H RMN de la 6,7-Dimetoxi-1-(4-acetoxi-3-metoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123g**



Anexo 59-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 6,7-Dimetoxi-1-(4-acetoxi-3-metoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123g**

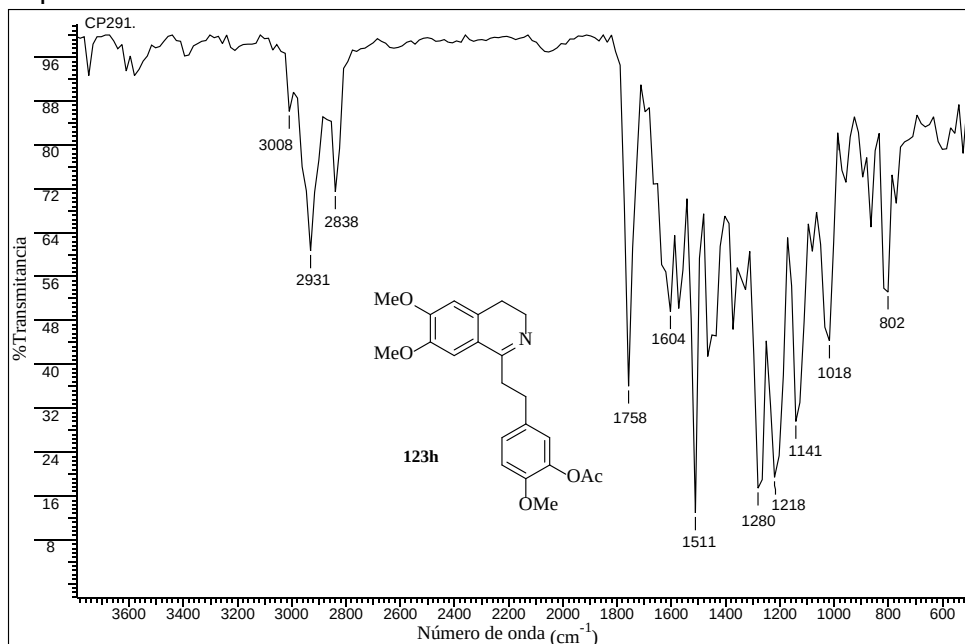


Anexo 59-D. Espectro DEPT-135 de la 6,7-Dimetoxi-1-(4-acetoxi-3-metoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123g**

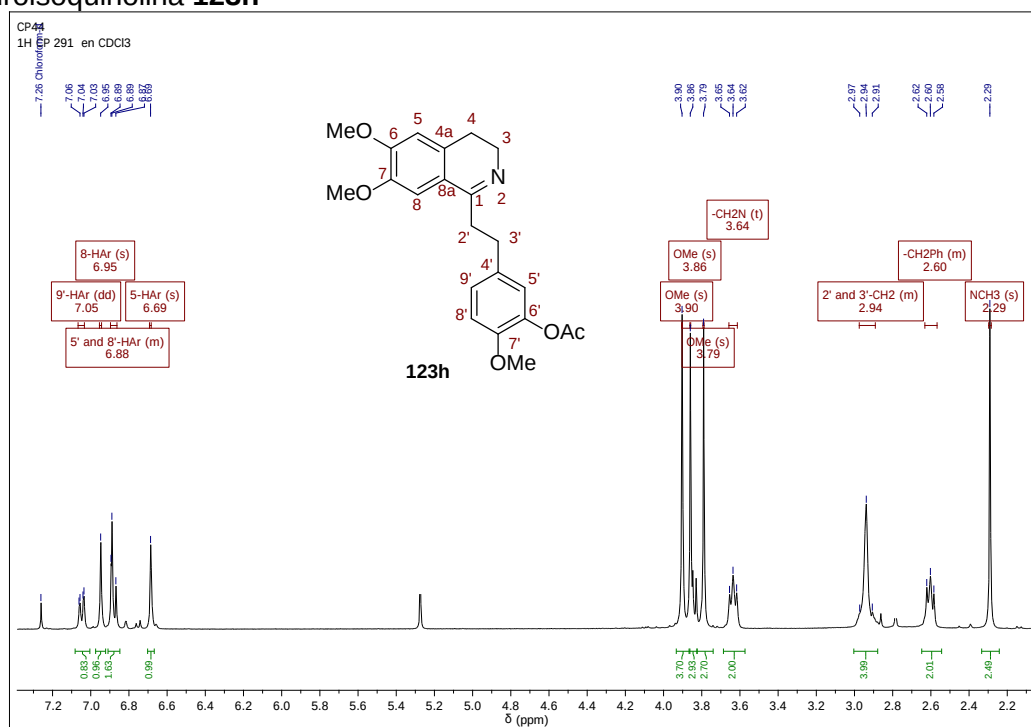


Anexo 60. Espectros relacionados con el compuesto **123h**.

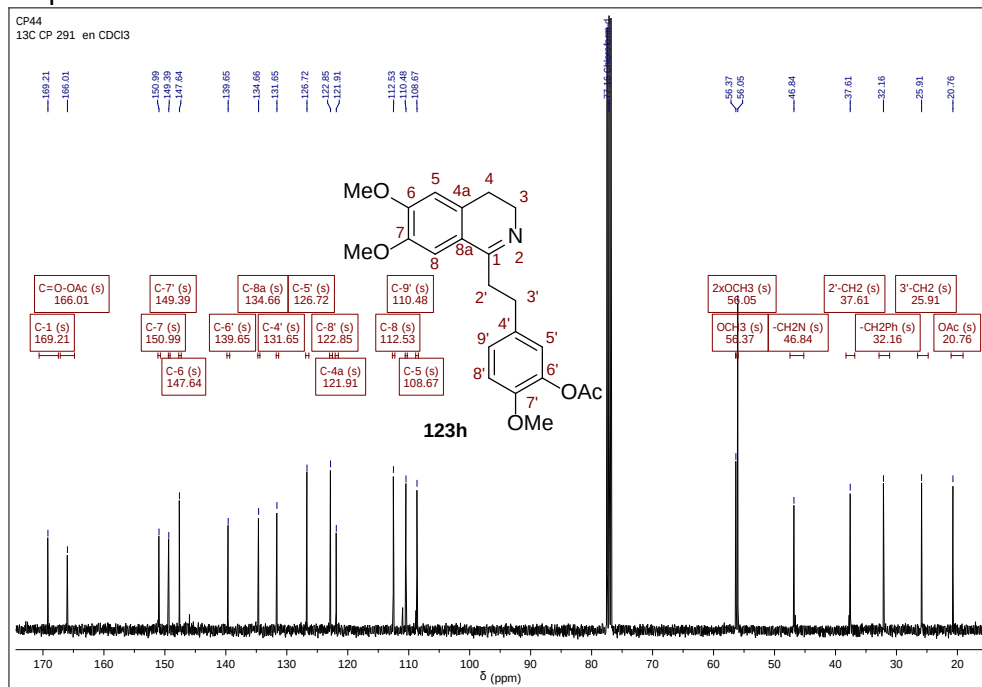
Anexo 60-A. Espectro infrarrojo de la 6,7-Dimetoxi-1-(3-acetoxi-4-metoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123h**



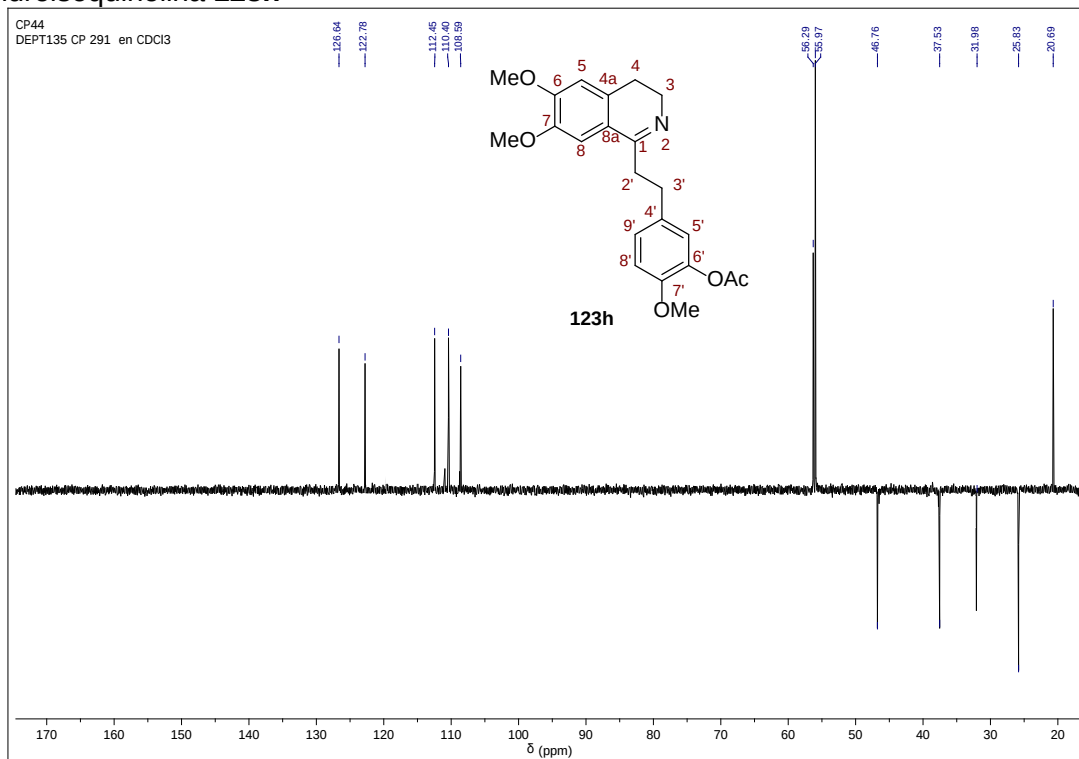
Anexo 60-B. Espectro de ^1H RMN de la 6,7-Dimetoxi-1-(3-acetoxi-4-metoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123h**



Anexo 60-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 6,7-Dimetoxi-1-(3-acetoxi-4-metoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123h**

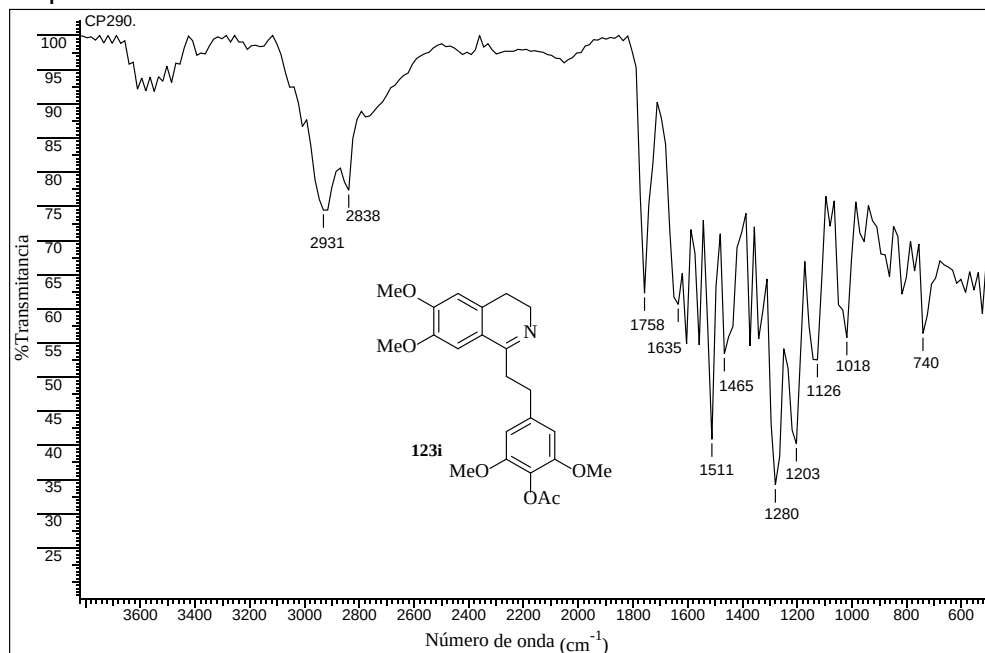


Anexo 60-D. Espectro DEPT-135 de la 6,7-Dimetoxi-1-(3-acetoxi-4-metoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123h**

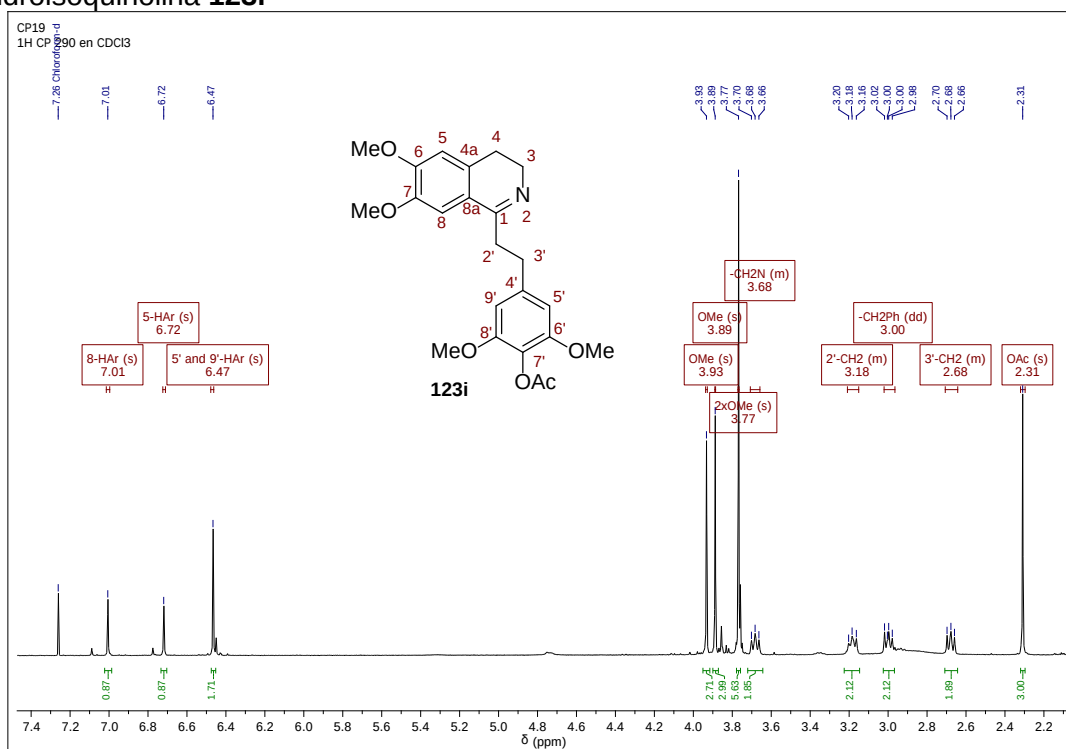


Anexo 61. Espectros relacionados con el compuesto **123i**.

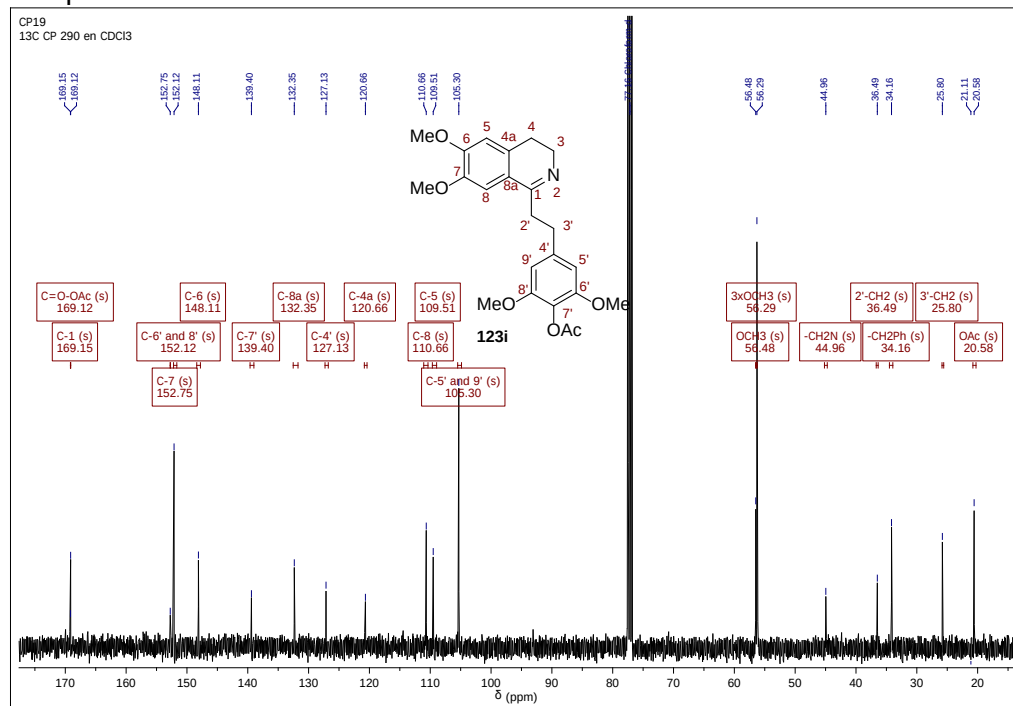
Anexo 61-A. Espectro infrarrojo de la 6,7-Dimetoxi-1-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123i**



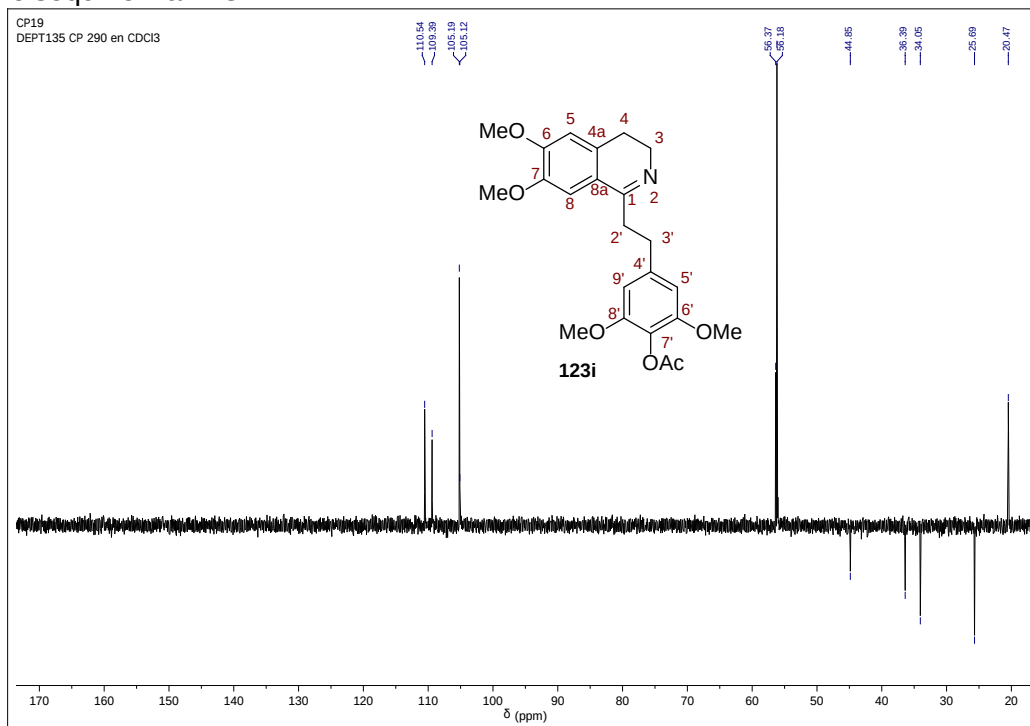
Anexo 61-B. Espectro de ¹H RMN de la 6,7-Dimetoxi-1-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123i**



Anexo 61-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 6,7-Dimetoxi-1-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123i**



Anexo 61-D. Espectro DEPT-135 de la 6,7-Dimetoxi-1-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-3,4-dihidroisoquinolina **123i**

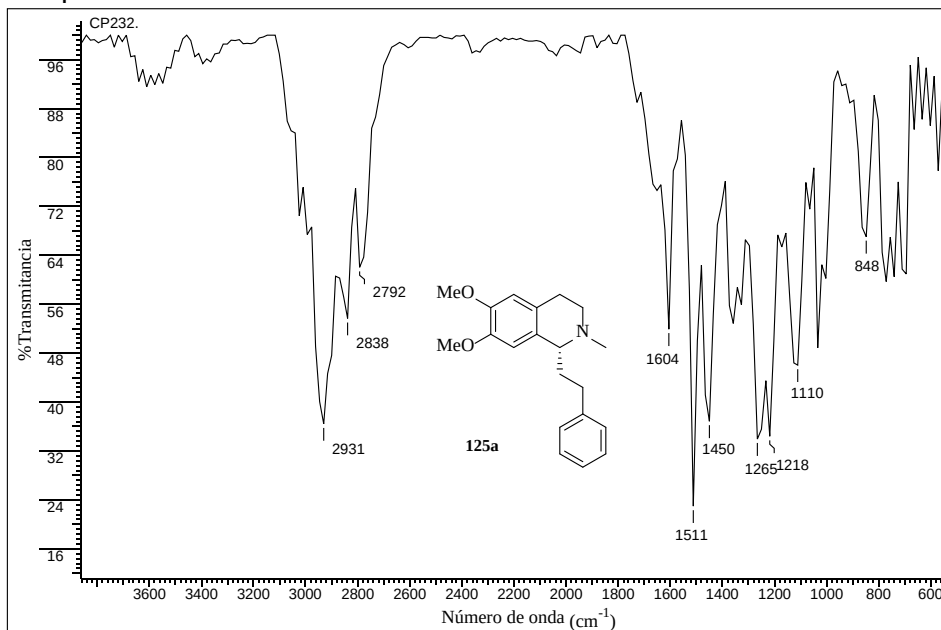


ANEXOS 62-79

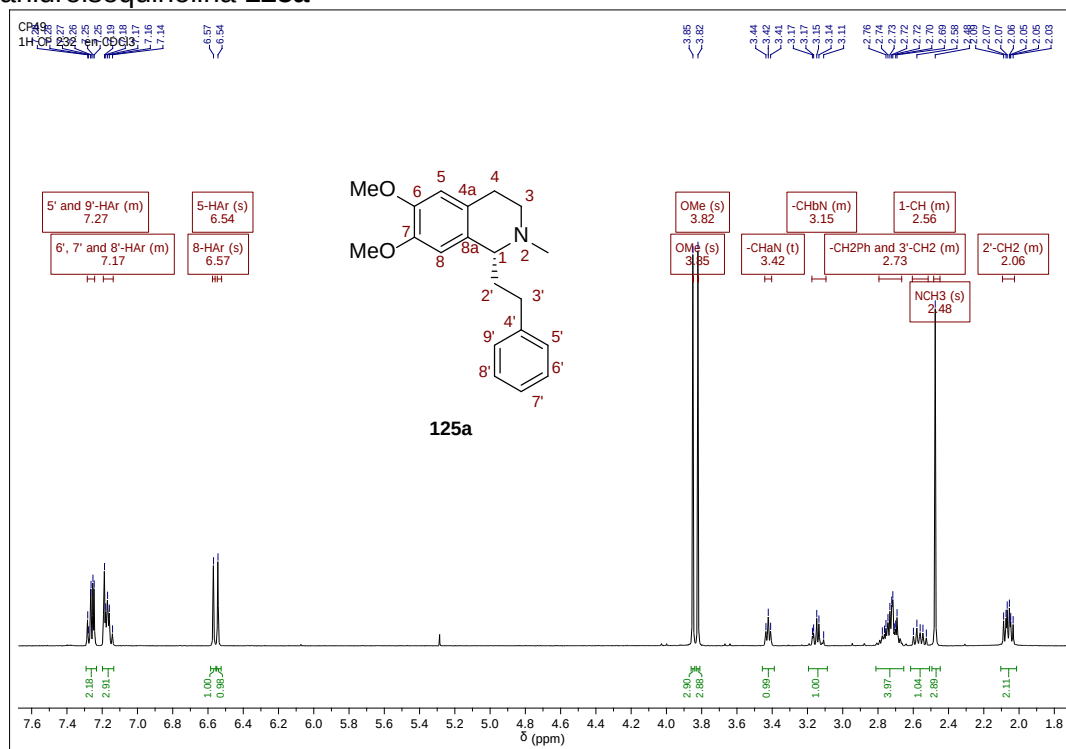
Información espectral relacionada con las 1-feniletil-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas 125a-r

Anexo 62. Espectros relacionados con el compuesto **125a**.

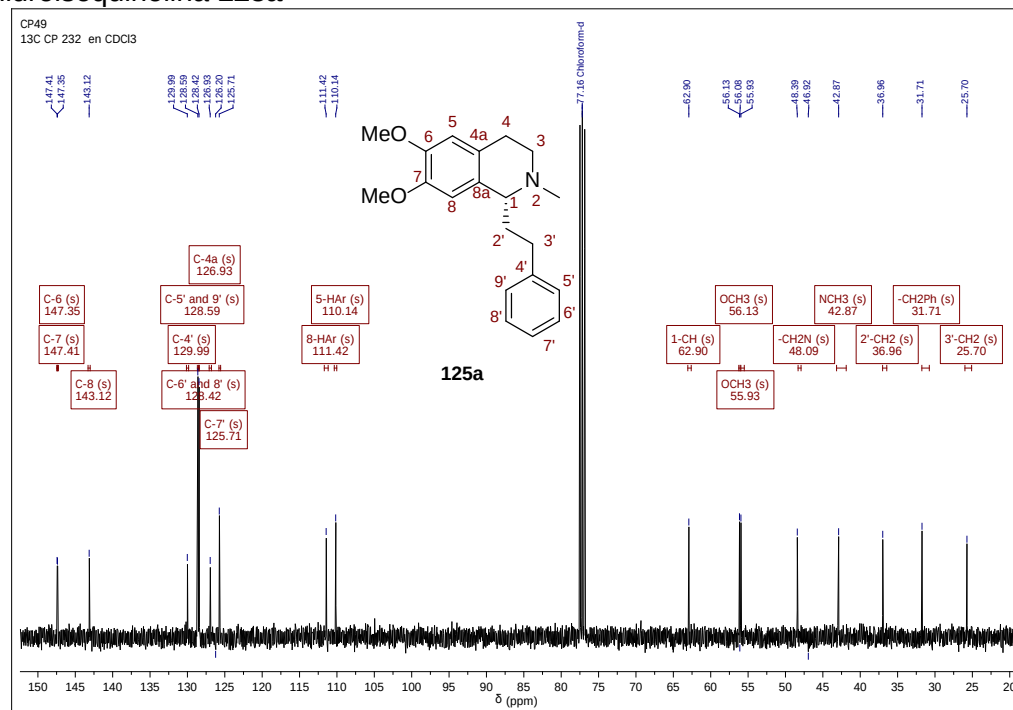
Anexo 62-A. Espectro infrarrojo de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-feniletil-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125a**



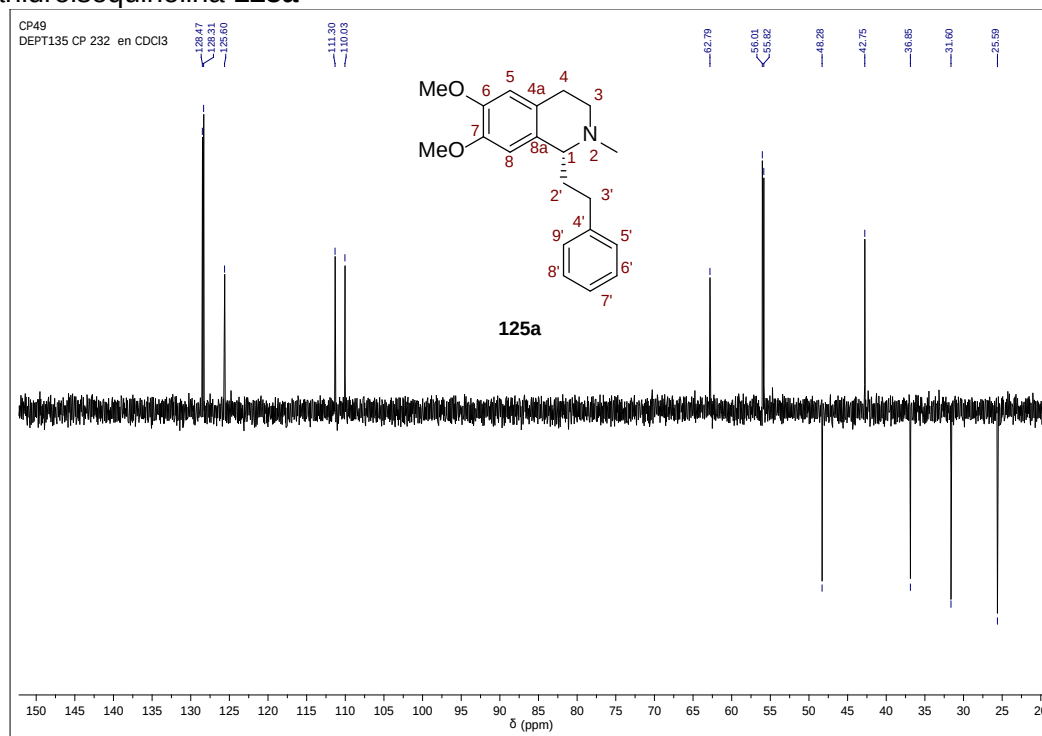
Anexo 62-B. Espectro de ^1H RMN de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-feniletil-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125a**



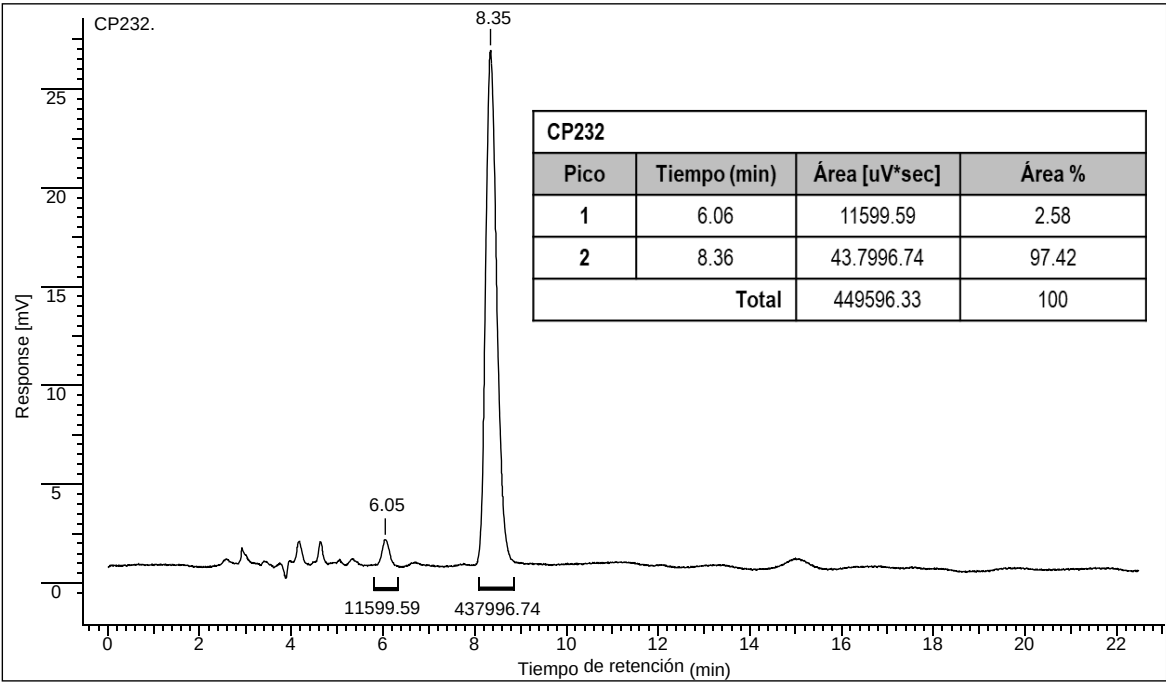
Anexo 62-C. Espectro de ^{13}C RMN de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-feniletíl-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125a**



Anexo 62-D. Espectro DEPT-135 de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-feniletíl-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125a**

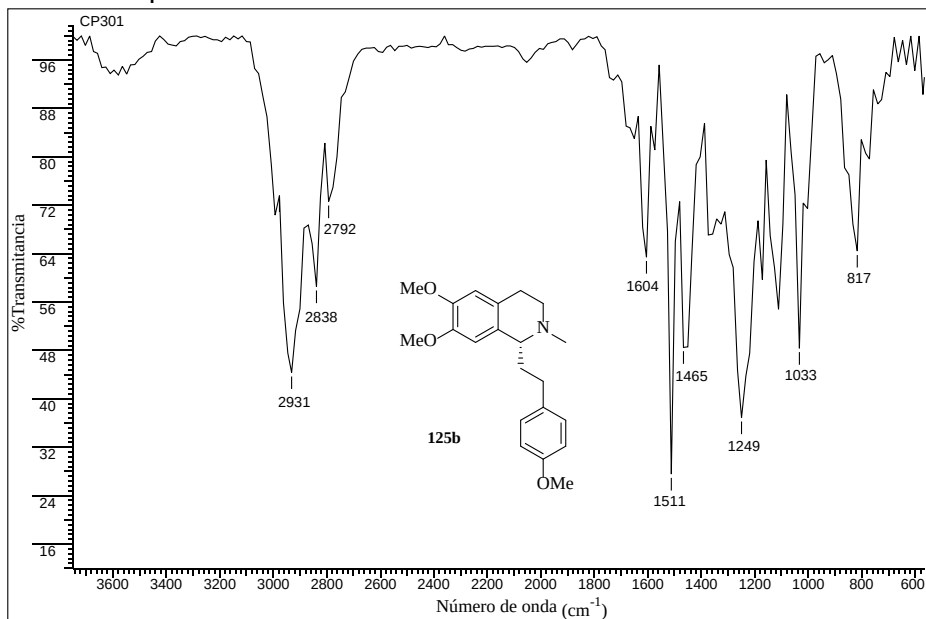


Anexo 62-E. Cromatograma HPLC en columna quiral de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-feniletíl-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125a**

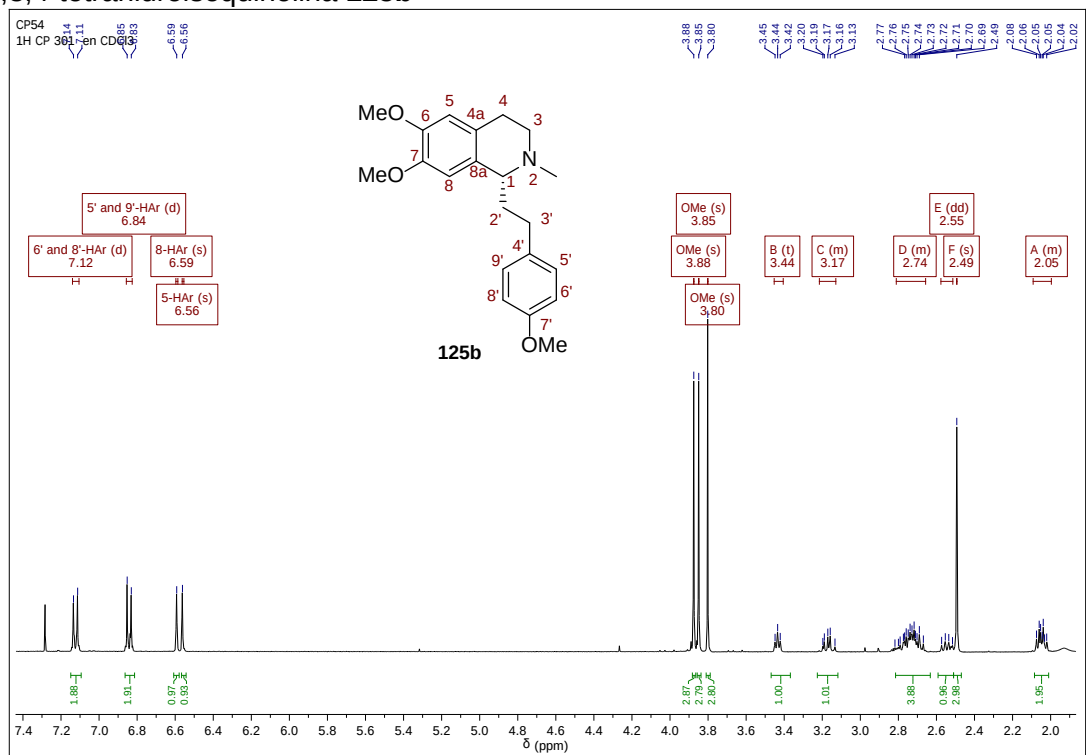


Anexo 63. Espectros relacionados con el compuesto **125b**.

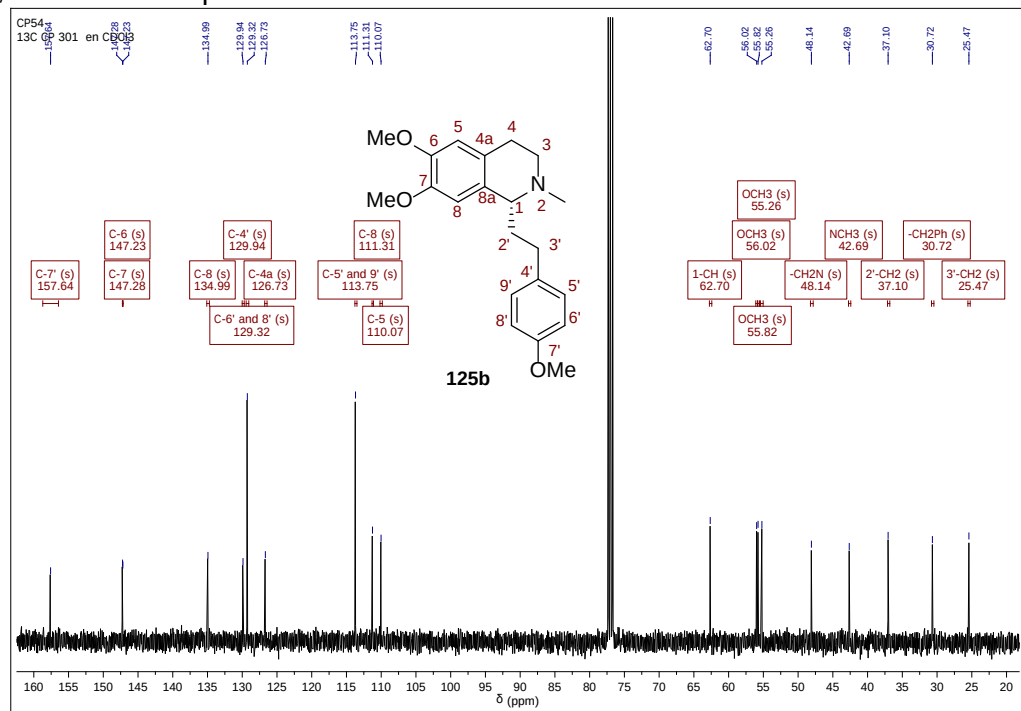
Anexo 63-A. Espectro infrarrojo de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(4-metoxifeniletíl)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125b**



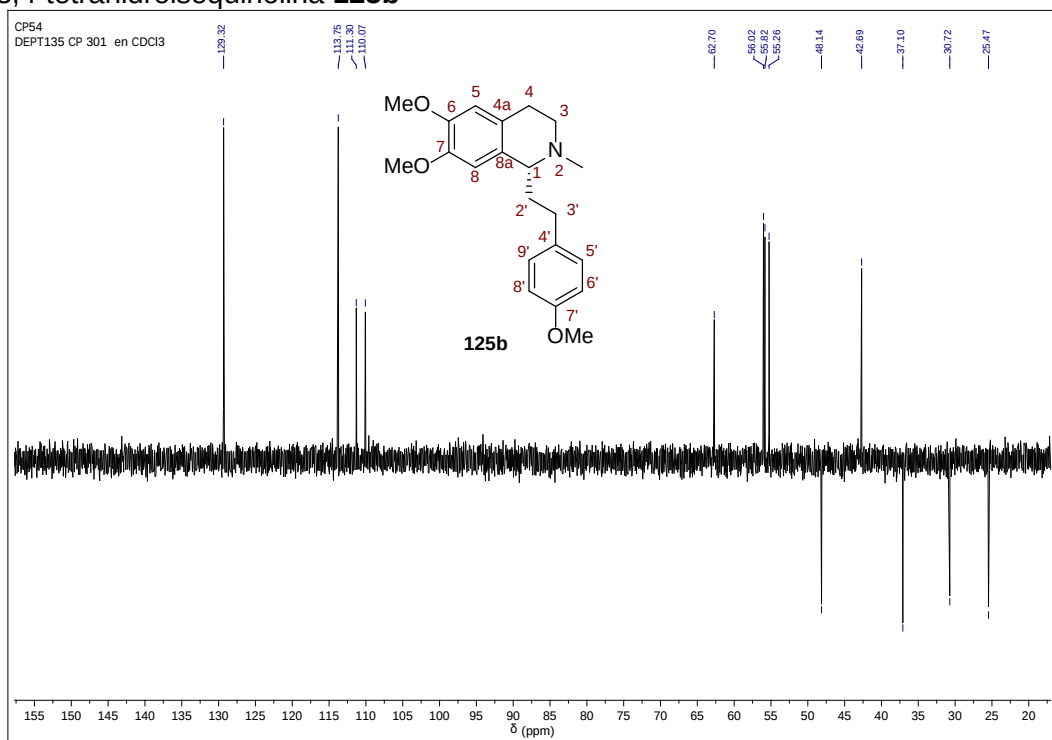
Anexo 63-B. Espectro de ¹H RMN de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(4-metoxifeniletíl)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125b**



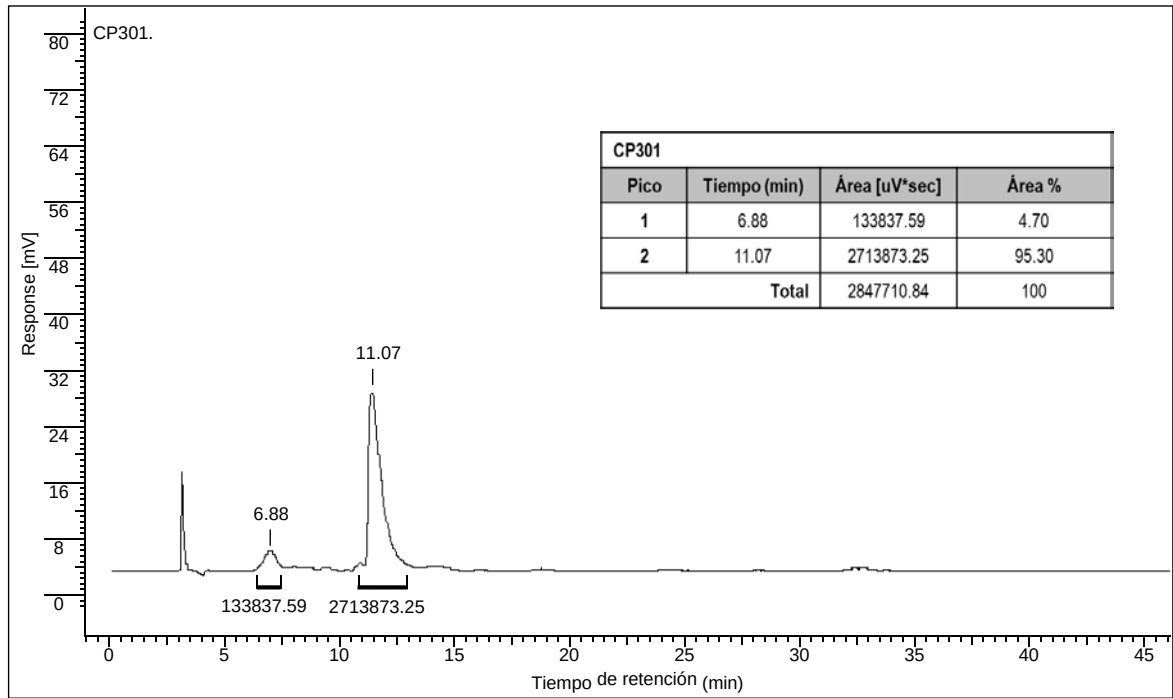
Anexo 63-C. Espectro de ^{13}C RMN de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(4-metoxifenilet)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125b**



Anexo 63-D. Espectro DEPT-135 de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(4-metoxifenilet)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125b**

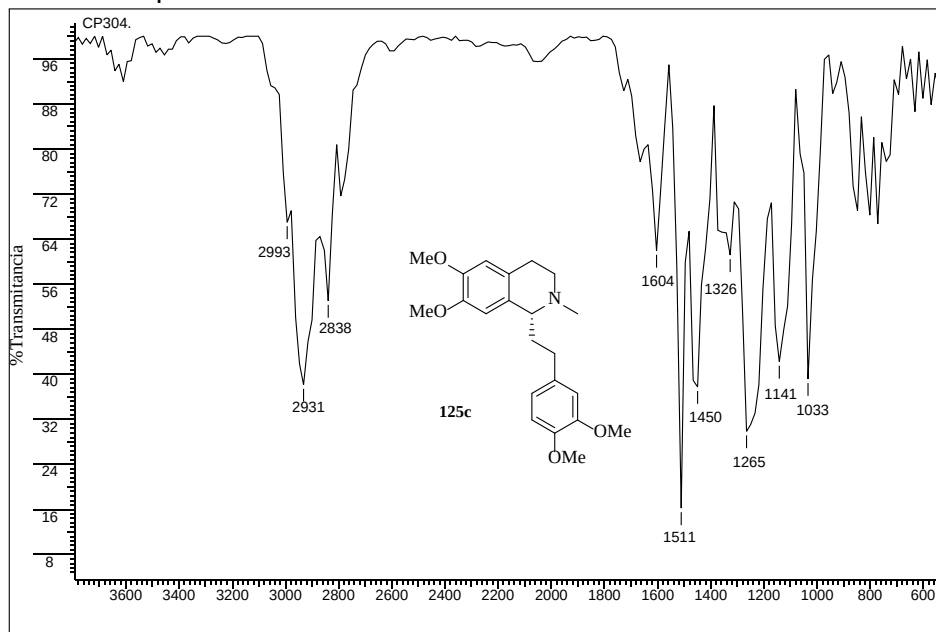


Anexo 63-E. Cromatograma HPLC en columna quiral de la (R)-6,7-Dimetoxi-1-(4-metoxifeniletíl)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125b**

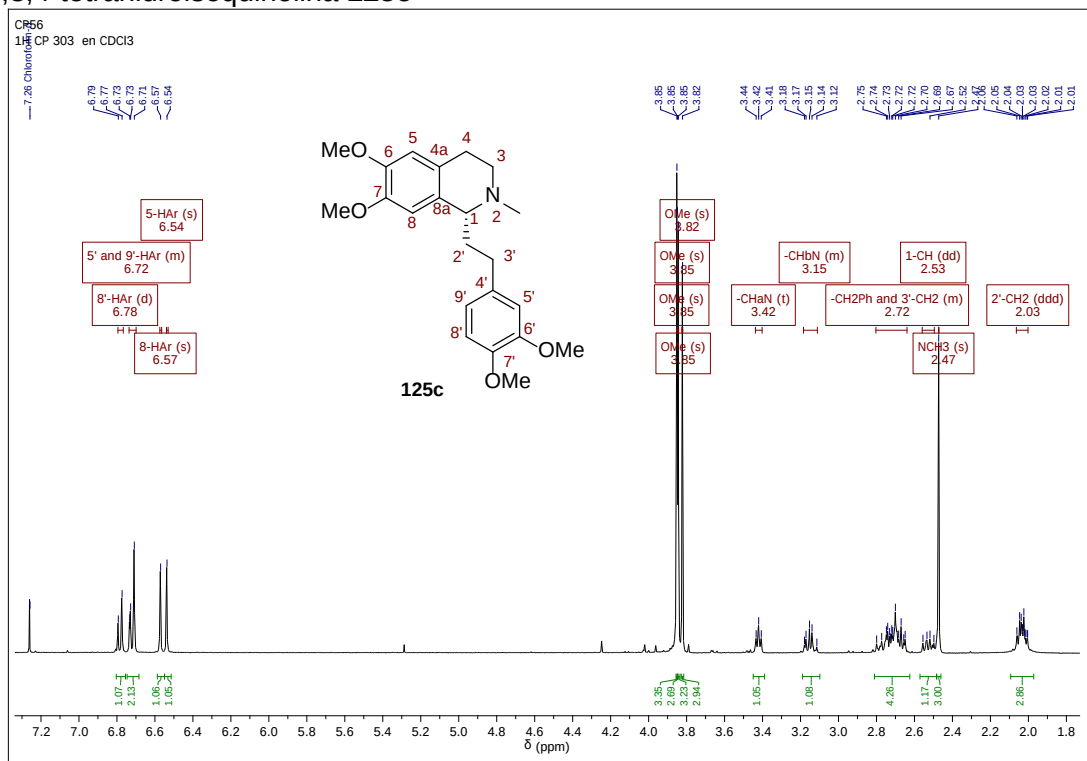


Anexo 64. Espectros relacionados con el compuesto **125c**.

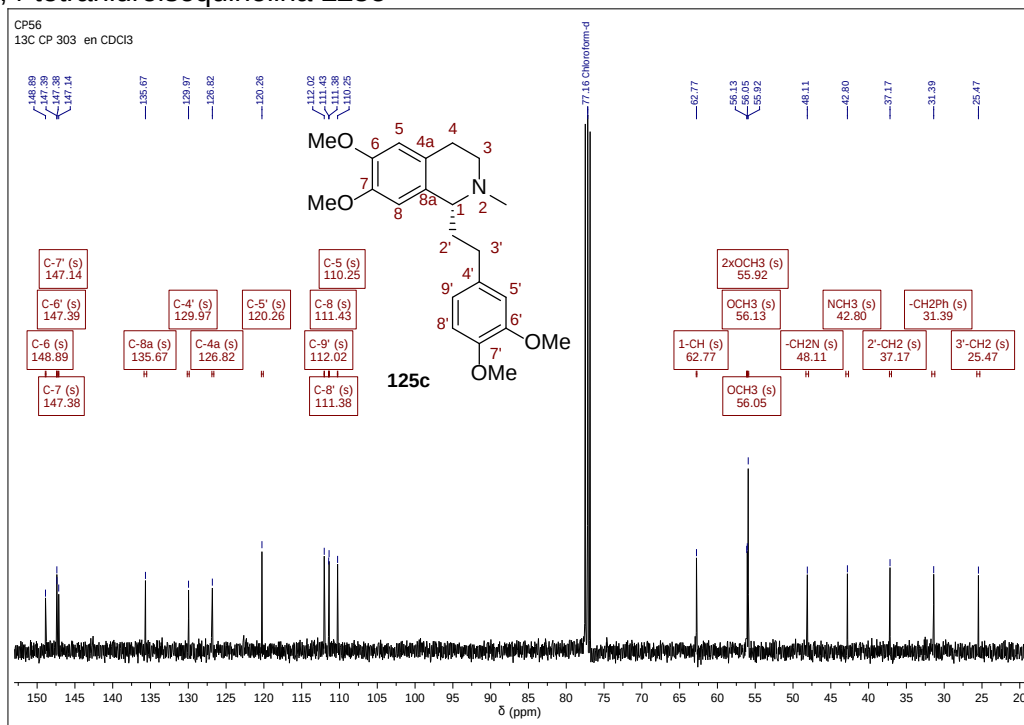
Anexo 64-A. Espectro infrarrojo de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4-dimetoxifenilet)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125c**



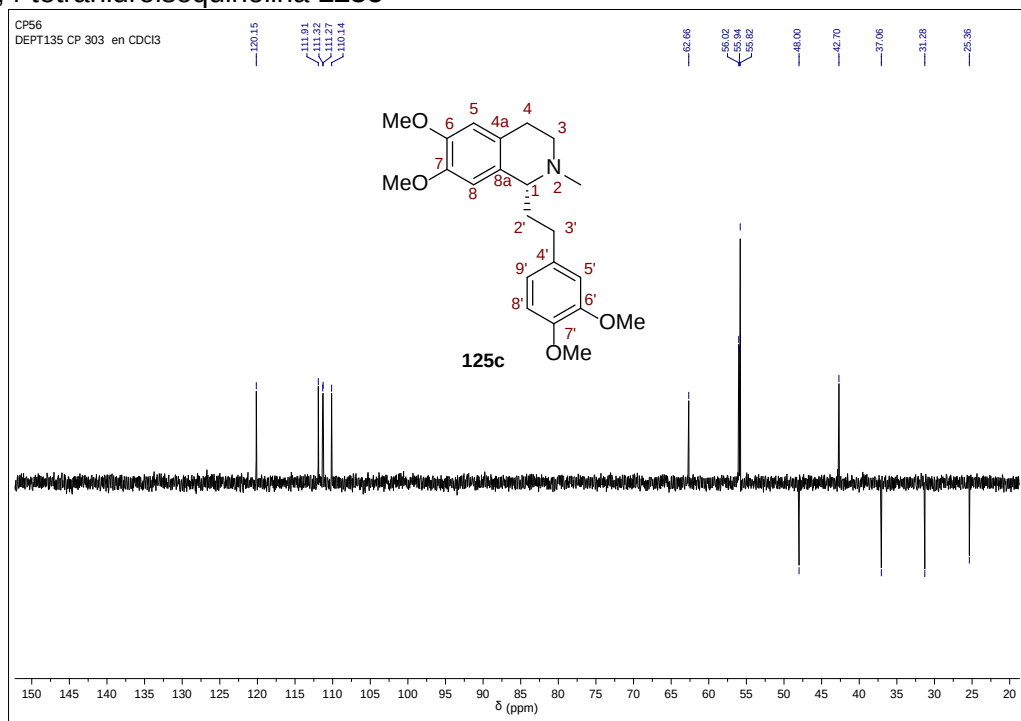
Anexo 64-B. Espectro de ^1H RMN de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4-dimetoxifenilet)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125c**



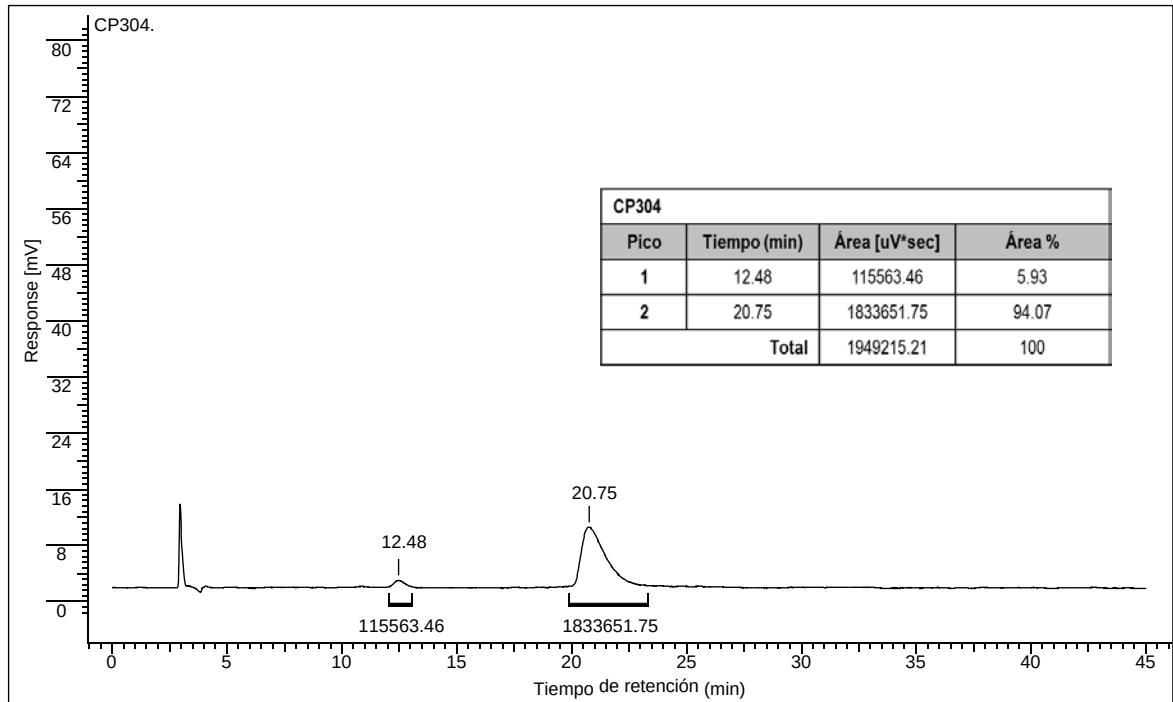
Anexo 64-C. Espectro de ^{13}C RMN de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4-dimetoxifeniletil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisquinolina **125c**



Anexo 64-D. Espectro DEPT-135 de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4-dimetoxifeniletil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisquinolina **125c**

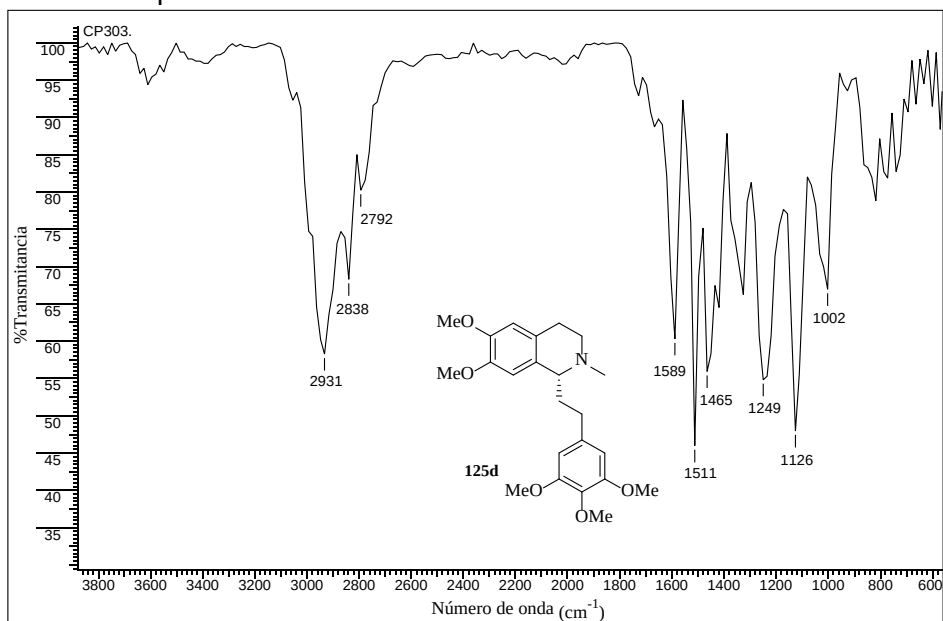


Anexo 64-E. Cromatograma HPLC en columna quiral de la (R)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4-dimetoxifeniletil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125c**

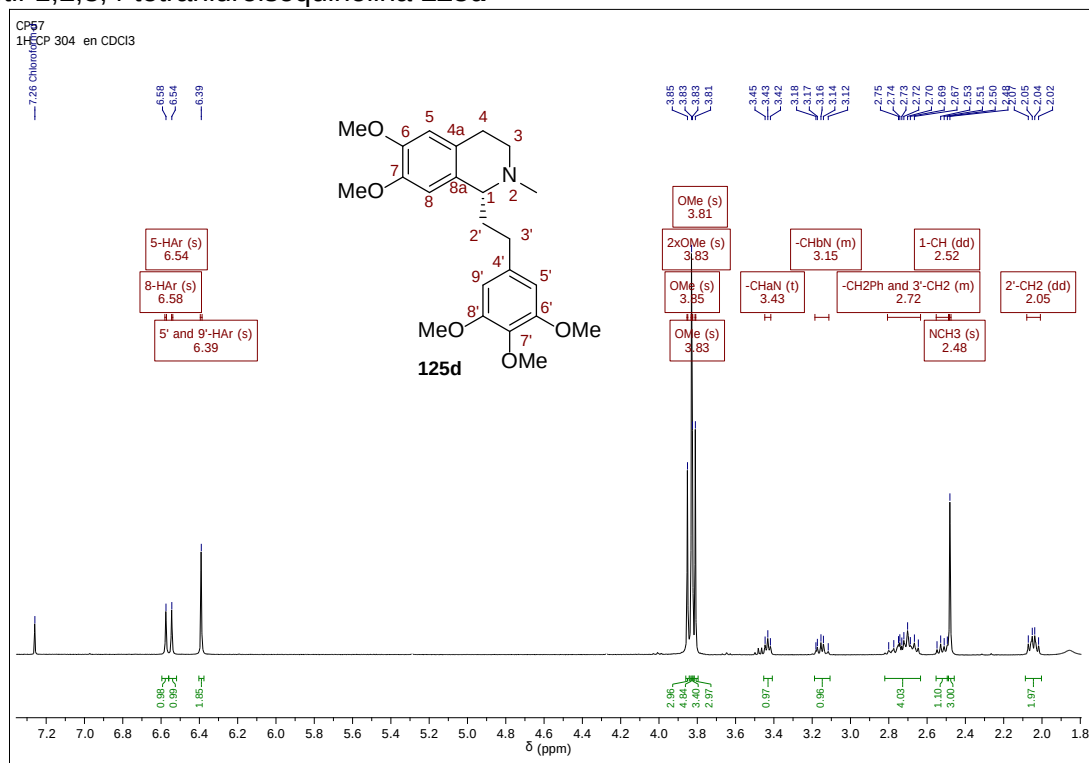


Anexo 65. Espectros relacionados con el compuesto **125d**.

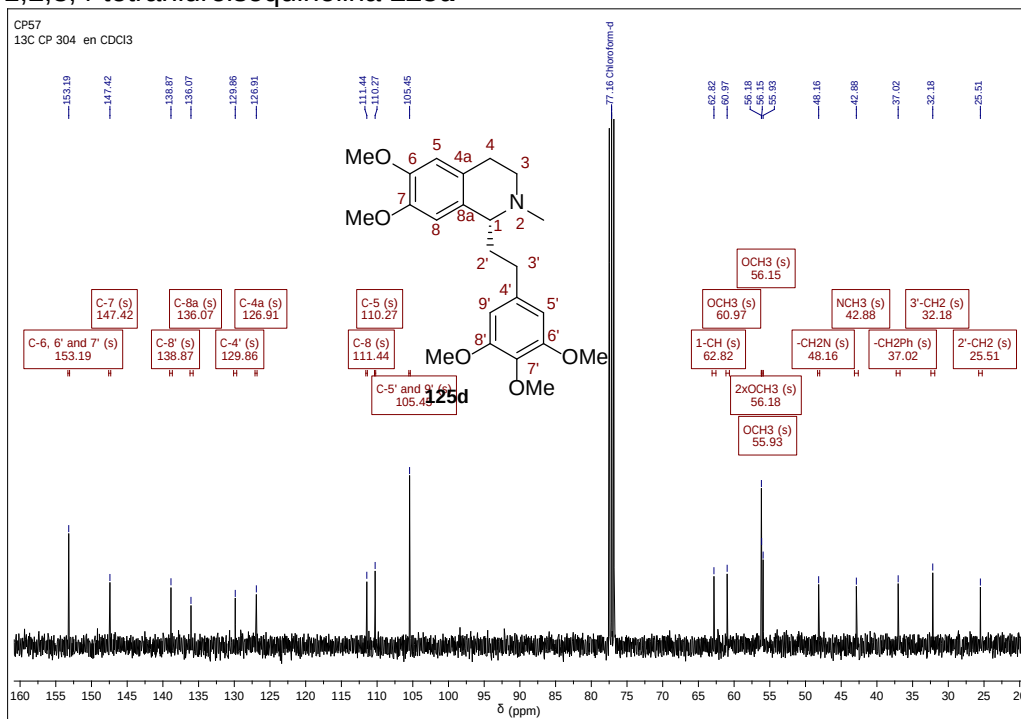
Anexo 65-A. Espectro infrarrojo de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenilet)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125d**



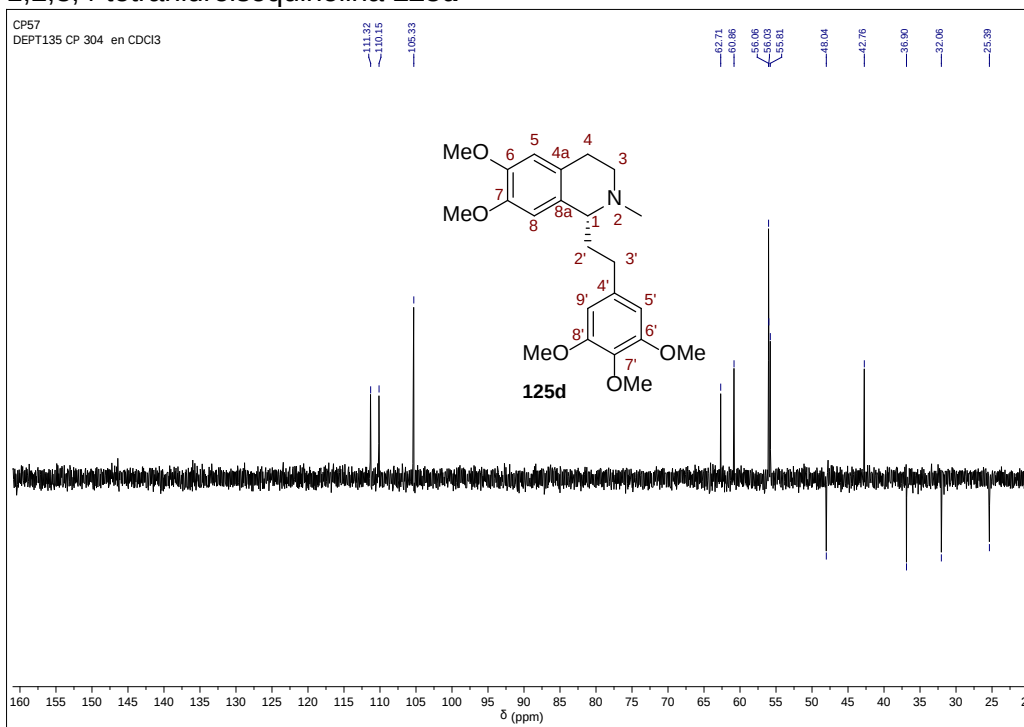
Anexo 65-B. Espectro de ¹H RMN de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenilet)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125d**



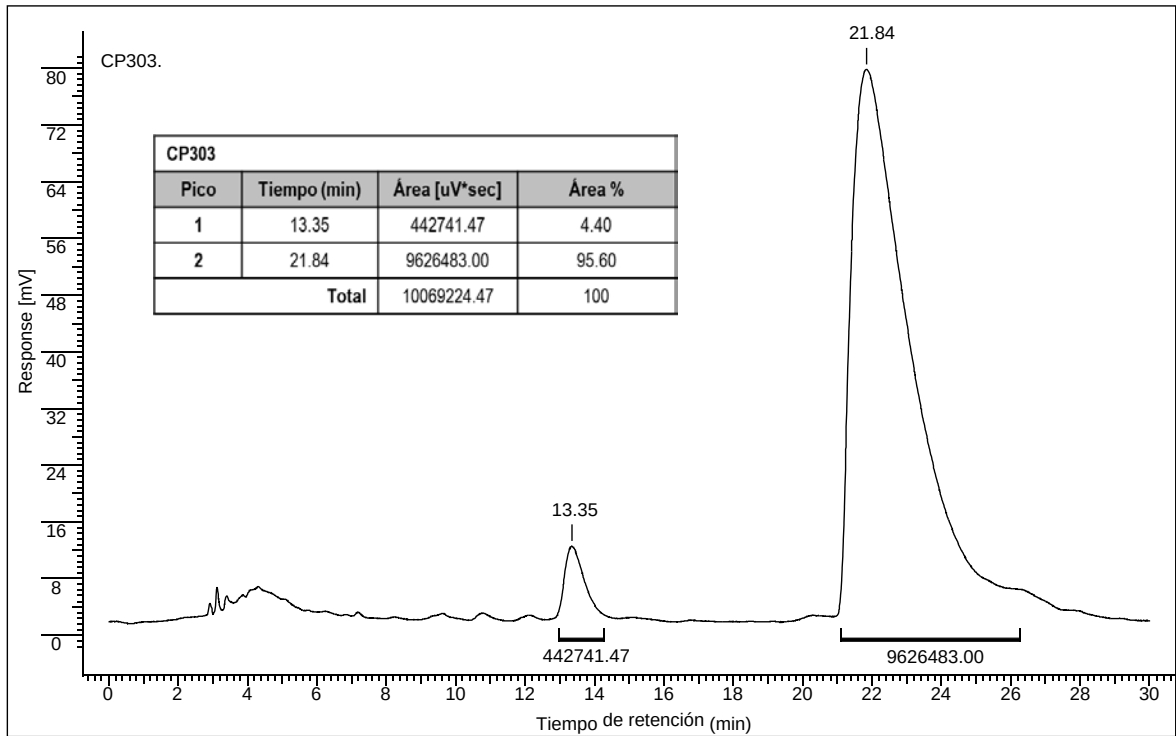
Anexo 65-C. Espectro de ^{13}C RMN de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenilet)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolina **125d**



Anexo 65-D. Espectro DEPT-135 de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenilet)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolina **125d**

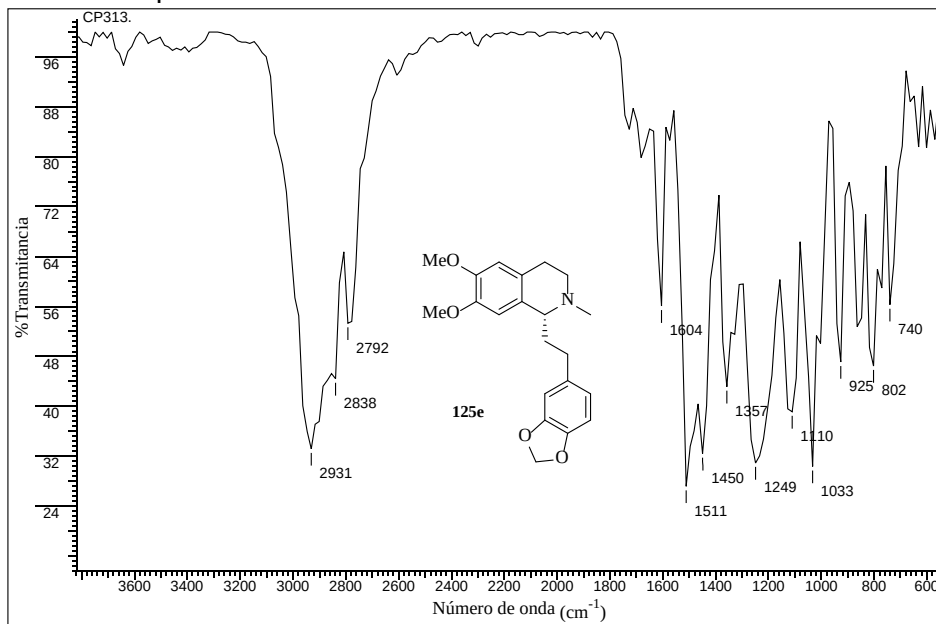


Anexo 65-E. Cromatograma HPLC en columna quiral de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifeniletil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125d**

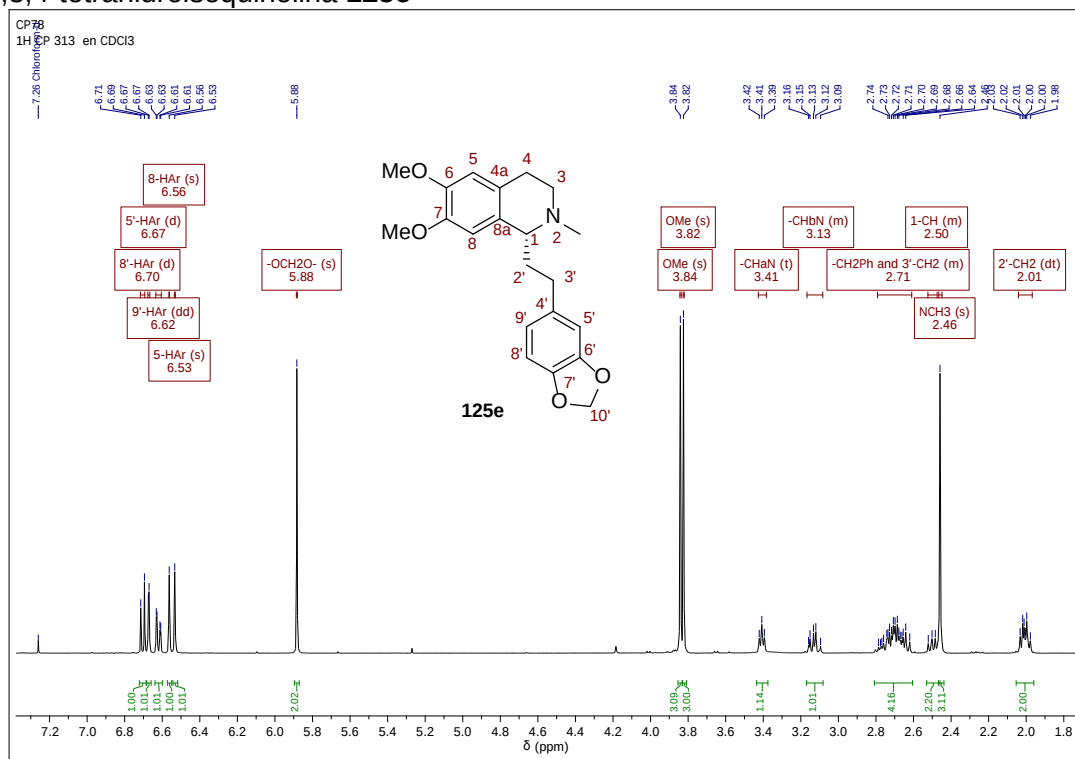


Anexo 66. Espectros relacionados con el compuesto **125e**.

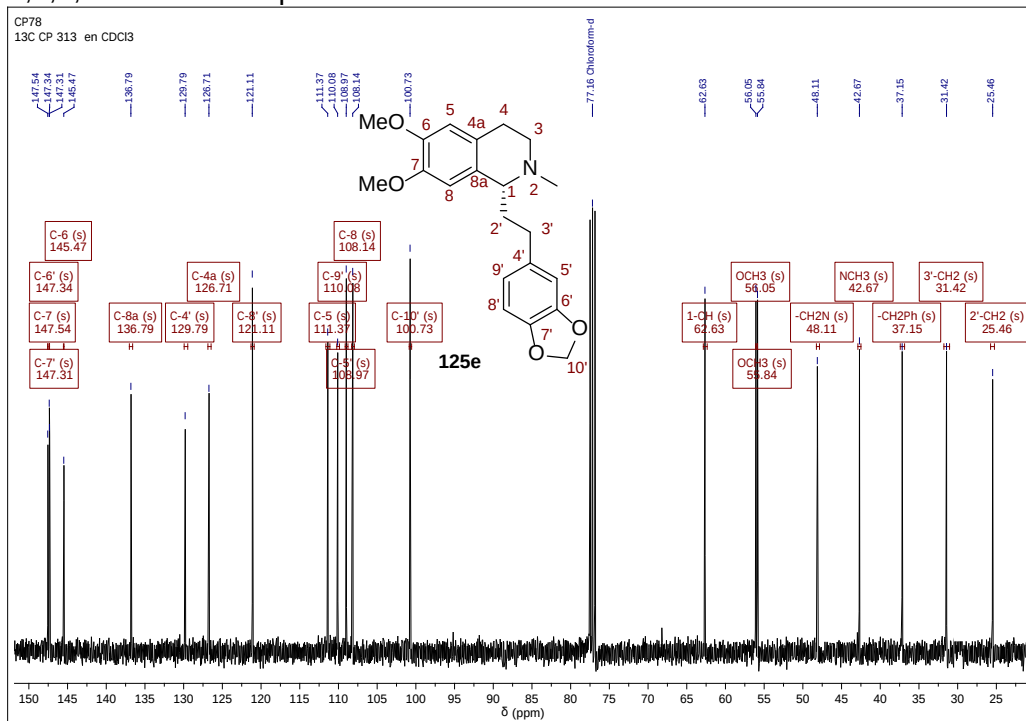
Anexo 66-A. Espectro infrarrojo de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125e**



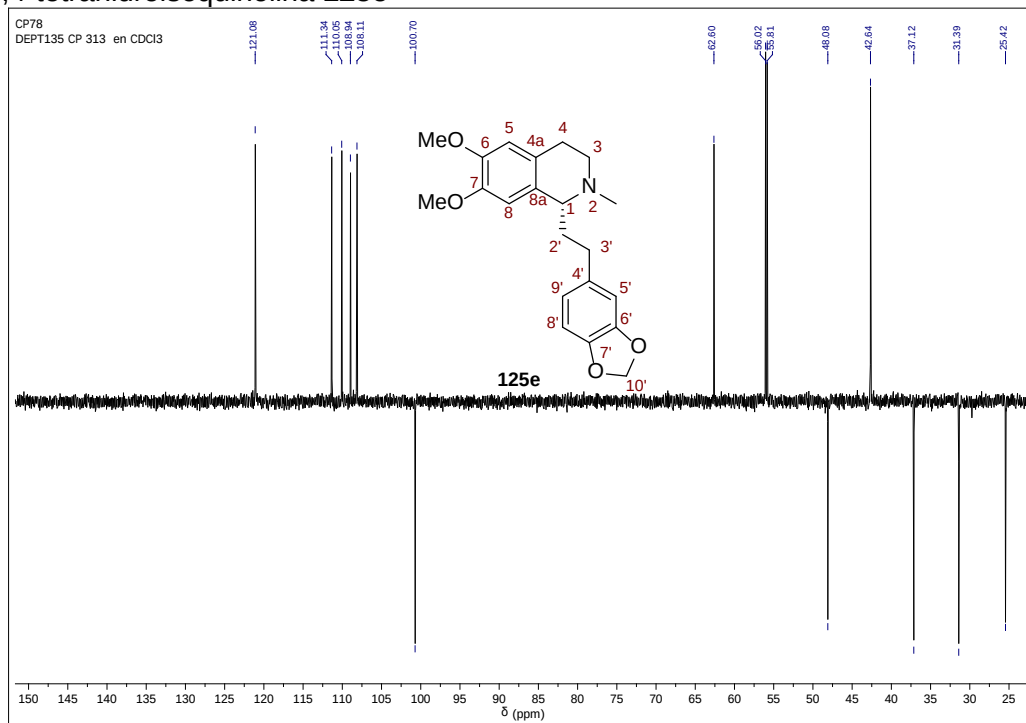
Anexo 66-B. Espectro de ¹H RMN de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125e**



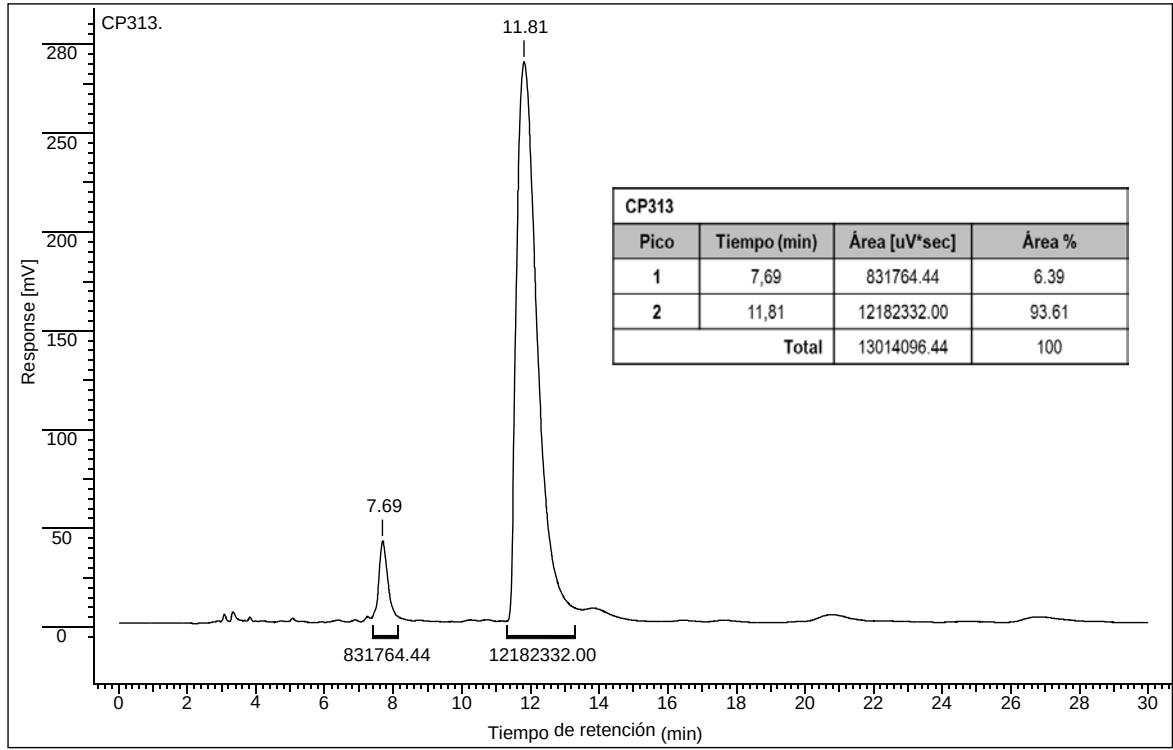
Anexo 66-C. Espectro de ^{13}C RMN de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125e**



Anexo 66-D. Espectro DEPT-135 de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125e**

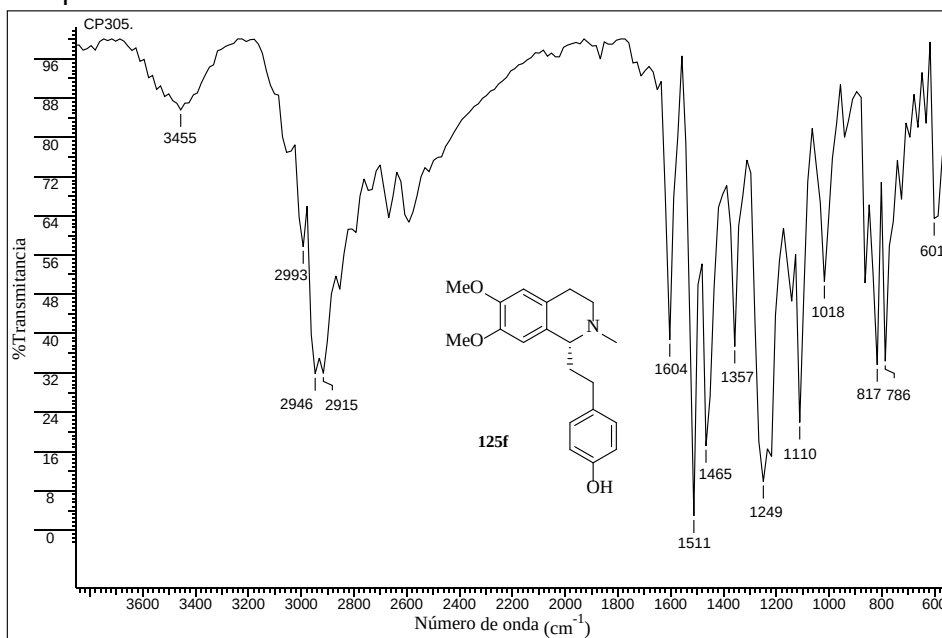


Anexo 66-E. Cromatograma HPLC en columna quiral de la (R)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125e**

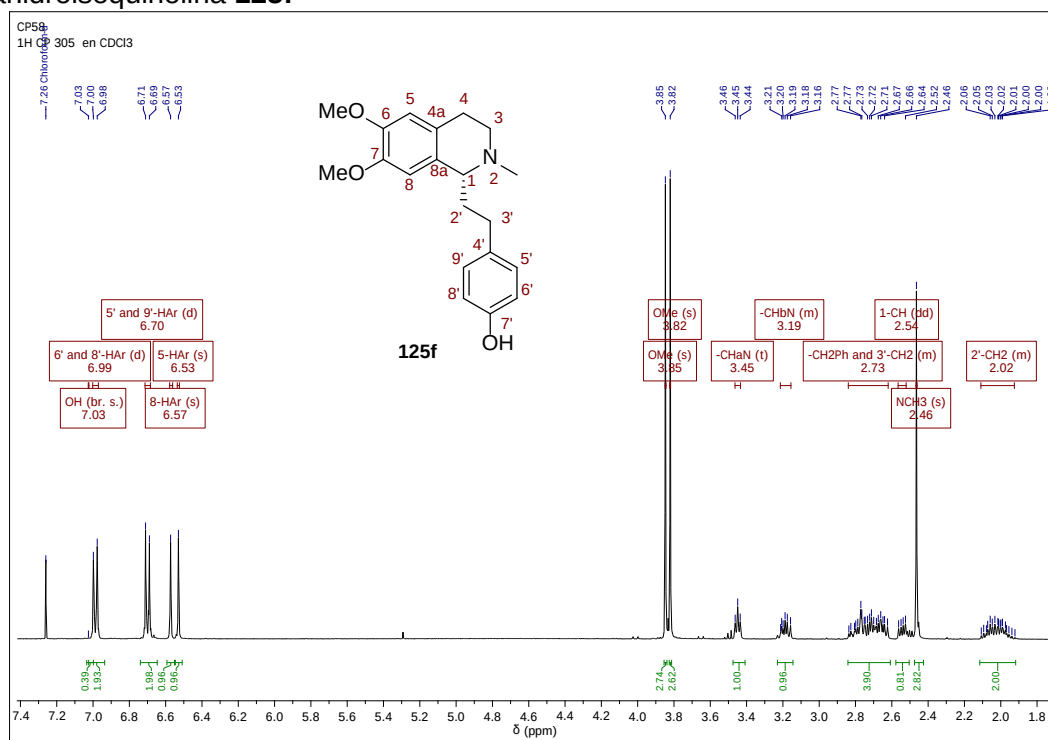


Anexo 67. Espectros relacionados con el compuesto **125f**.

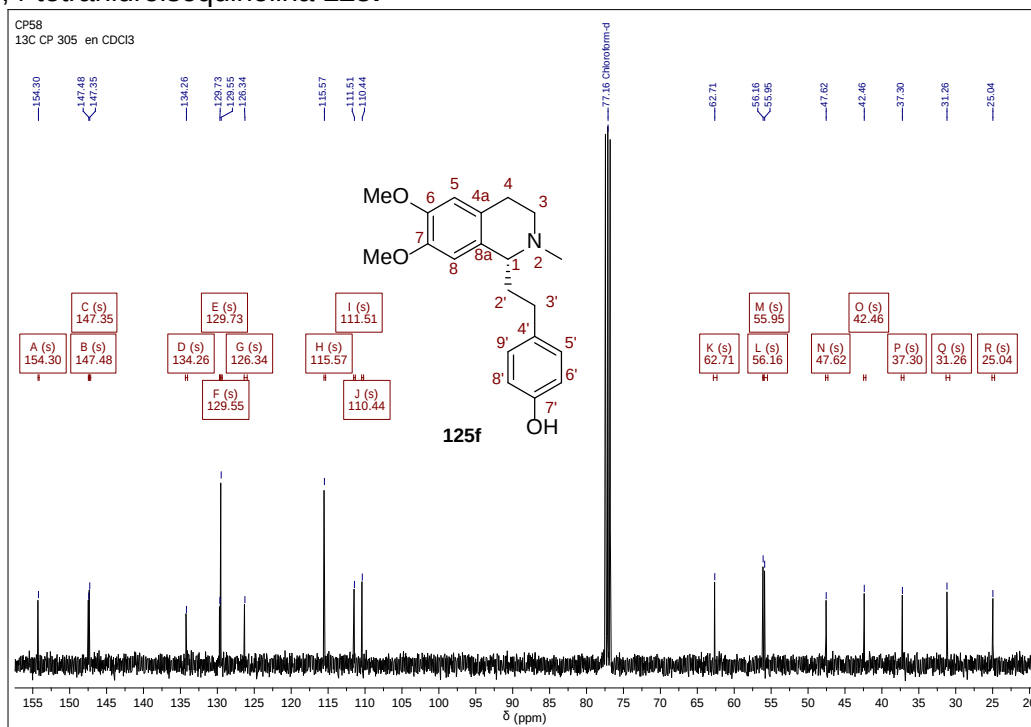
Anexo 67-A. Espectro infrarrojo de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125f**



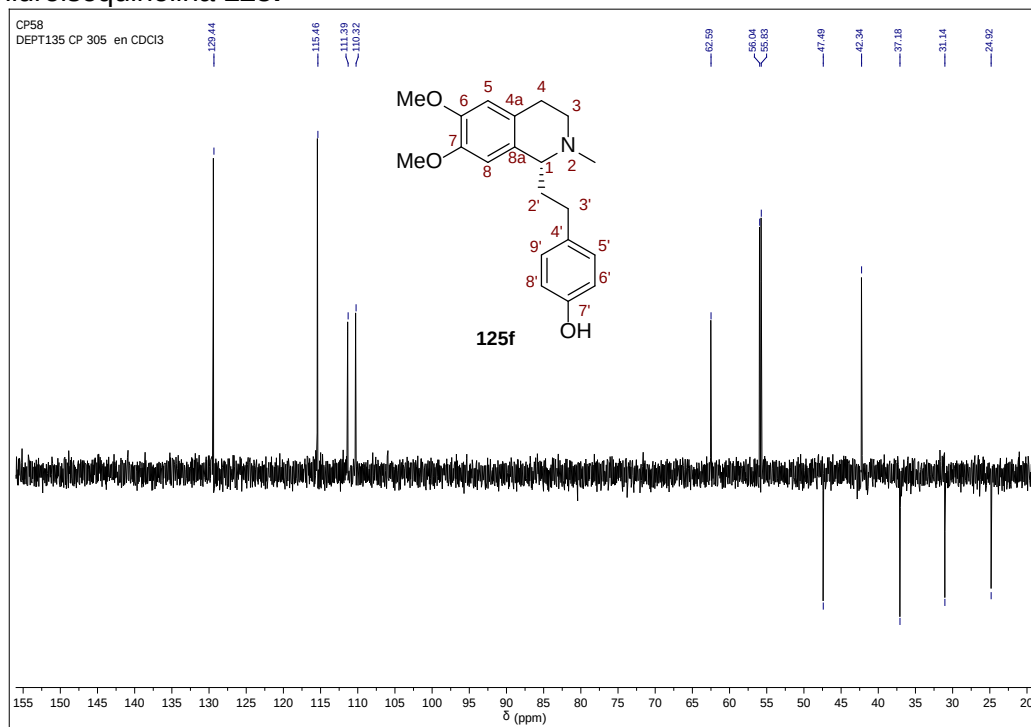
Anexo 67-B. Espectro de ¹H RMN de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125f**



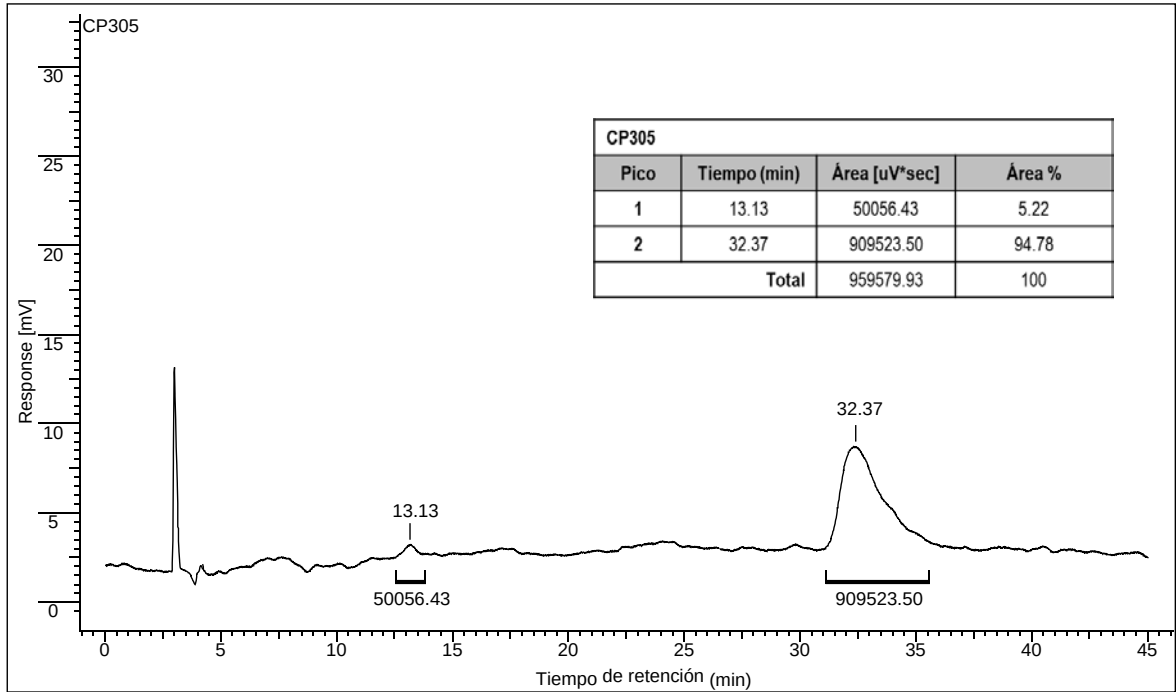
Anexo 67-C. Espectro de ^{13}C RMN de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125f**



Anexo 67-D. Espectro DEPT-135 de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125f**

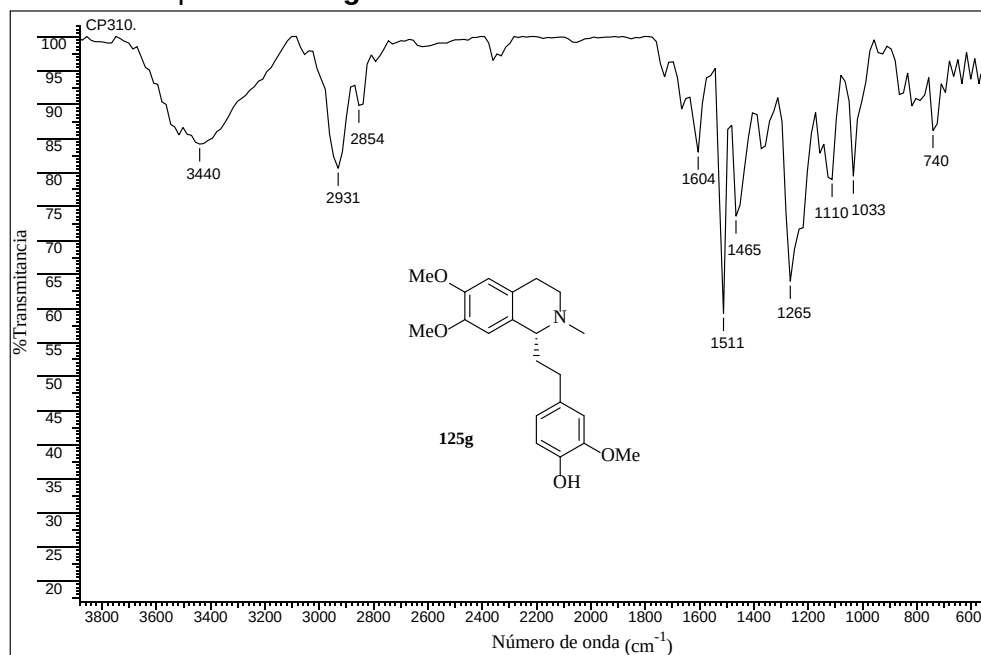


Anexo 67-E. Cromatograma HPLC en columna quiral de la (R)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125f**

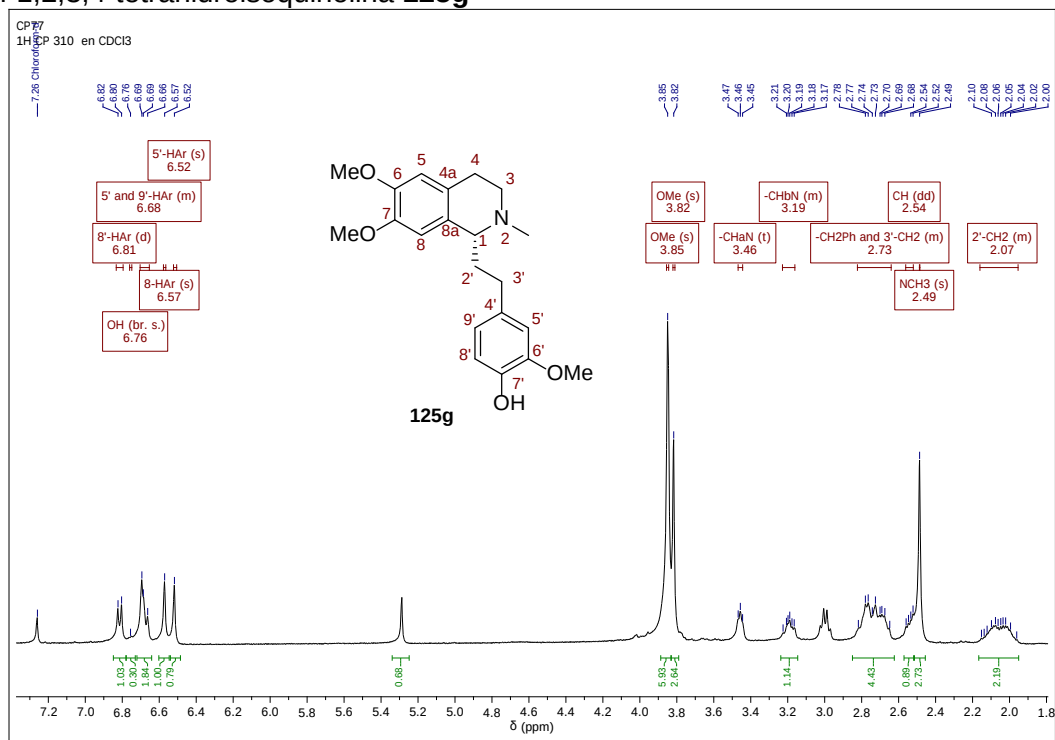


Anexo 68. Espectros relacionados con el compuesto **125g**.

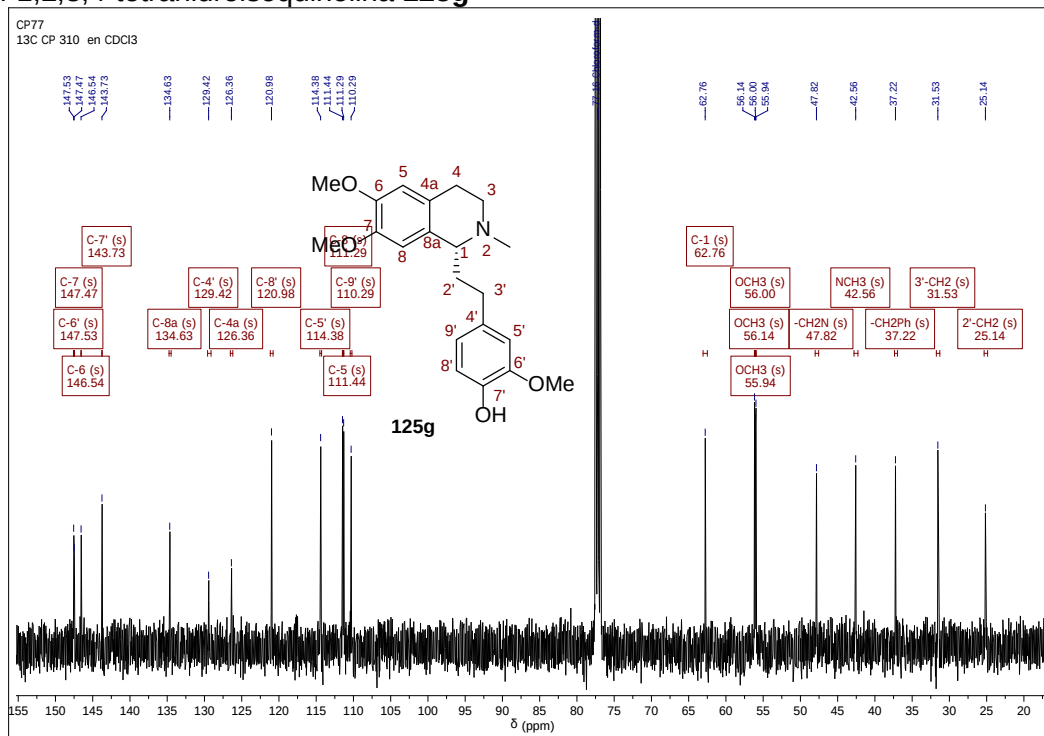
Anexo 68-A. Espectro infrarrojo de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125g**



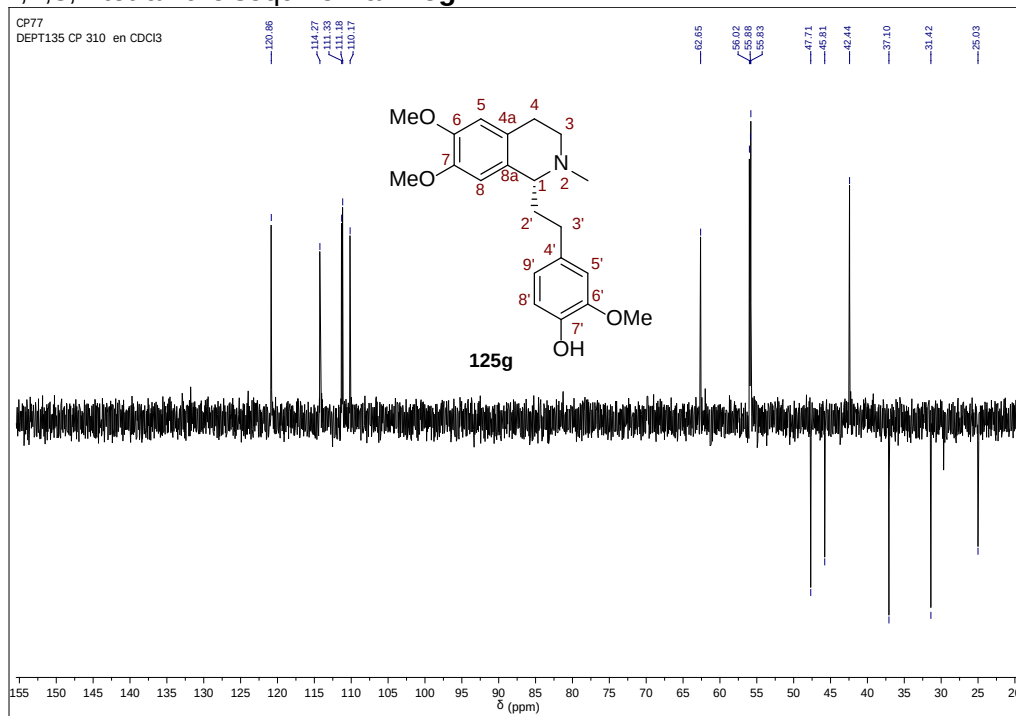
Anexo 68-B. Espectro de ¹H RMN de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125g**



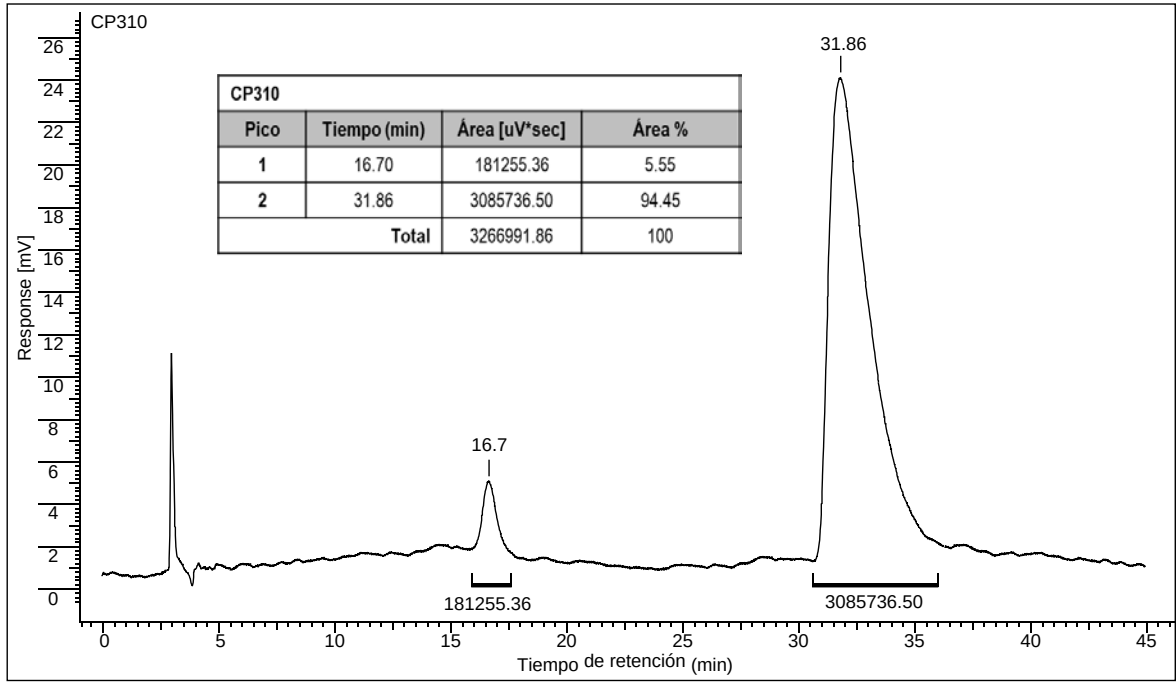
Anexo 68-C. Espectro de ^{13}C RMN de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125g**



Anexo 68-D. Espectro DEPT-135 de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125g**

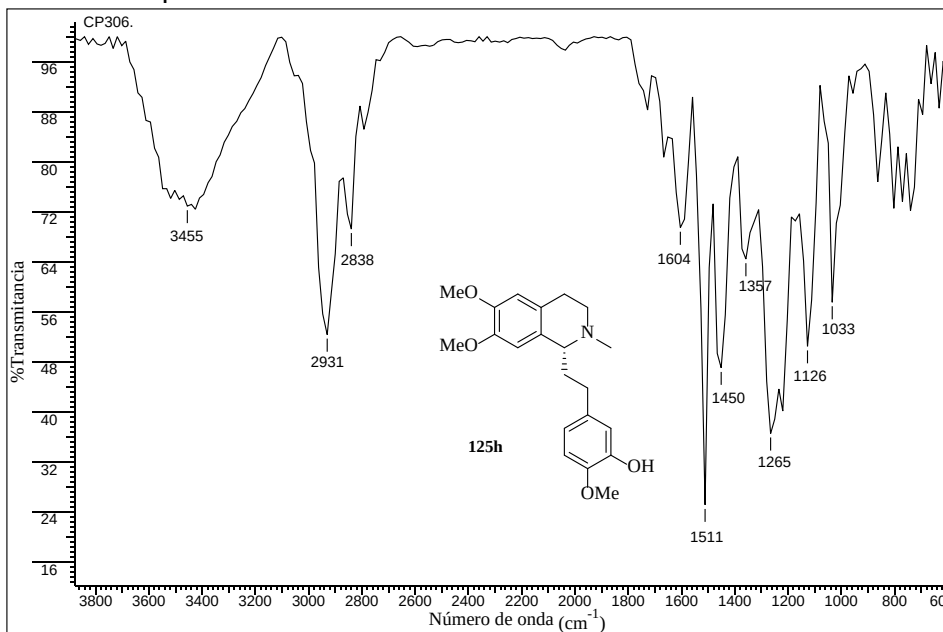


Anexo 68-E. Cromatograma HPLC en columna quiral de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125g**

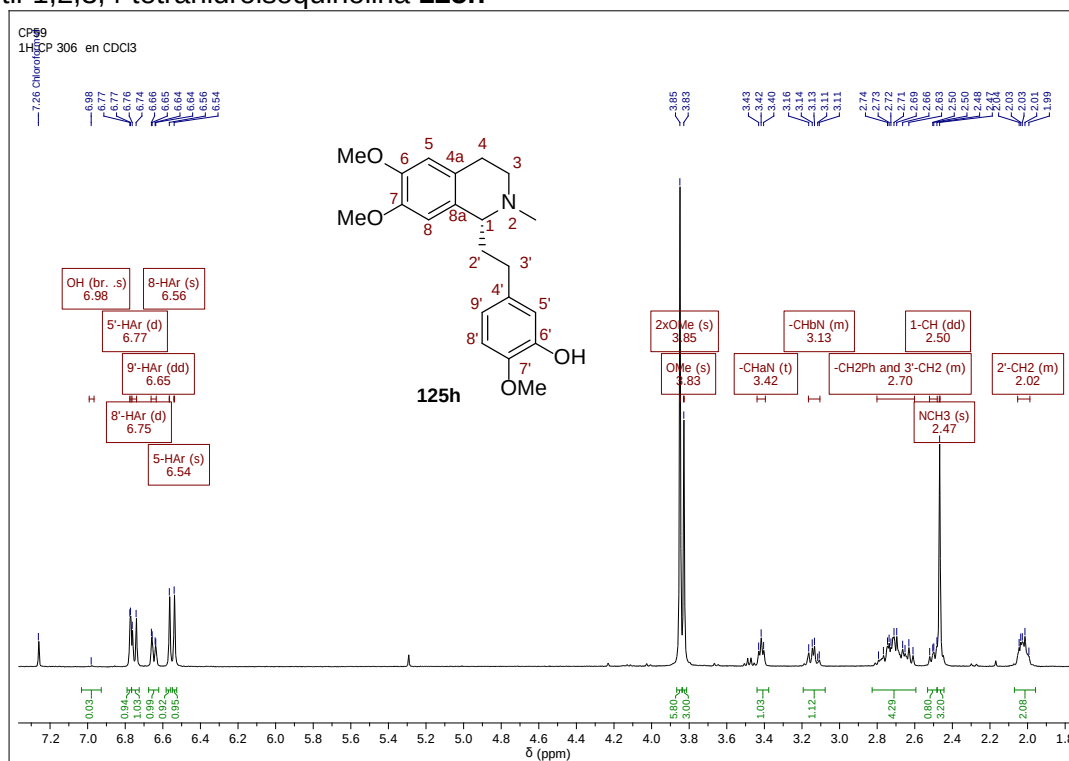


Anexo 69. Espectros relacionados con el compuesto **125h**.

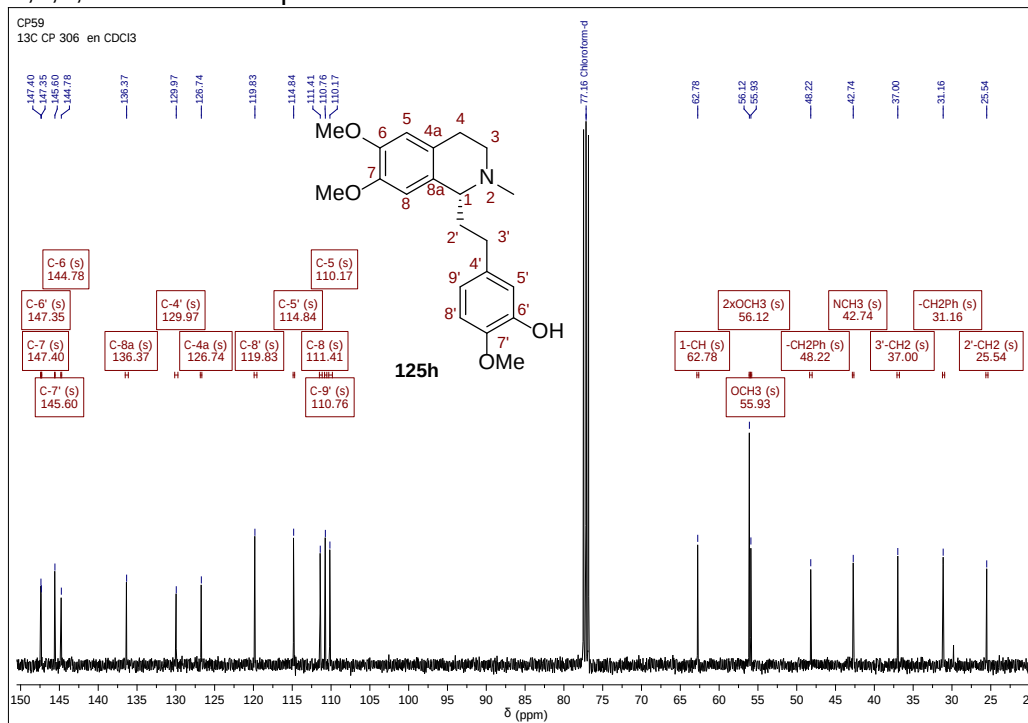
Anexo 69-A. Espectro infrarrojo de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125h**



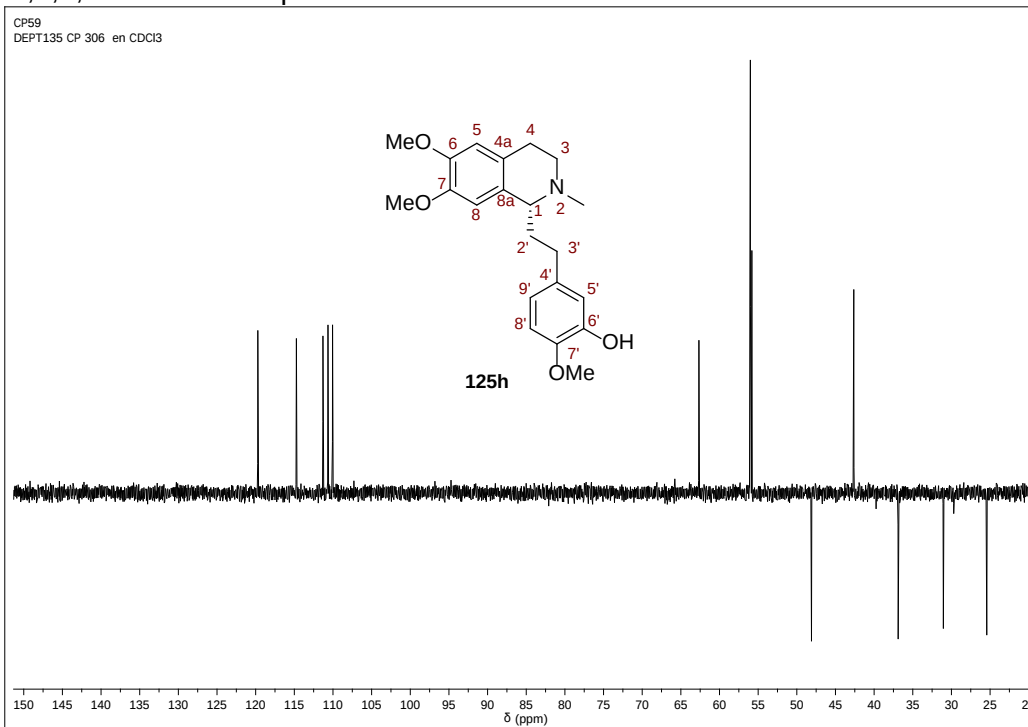
Anexo 69-B. Espectro de ¹H RMN de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125h**



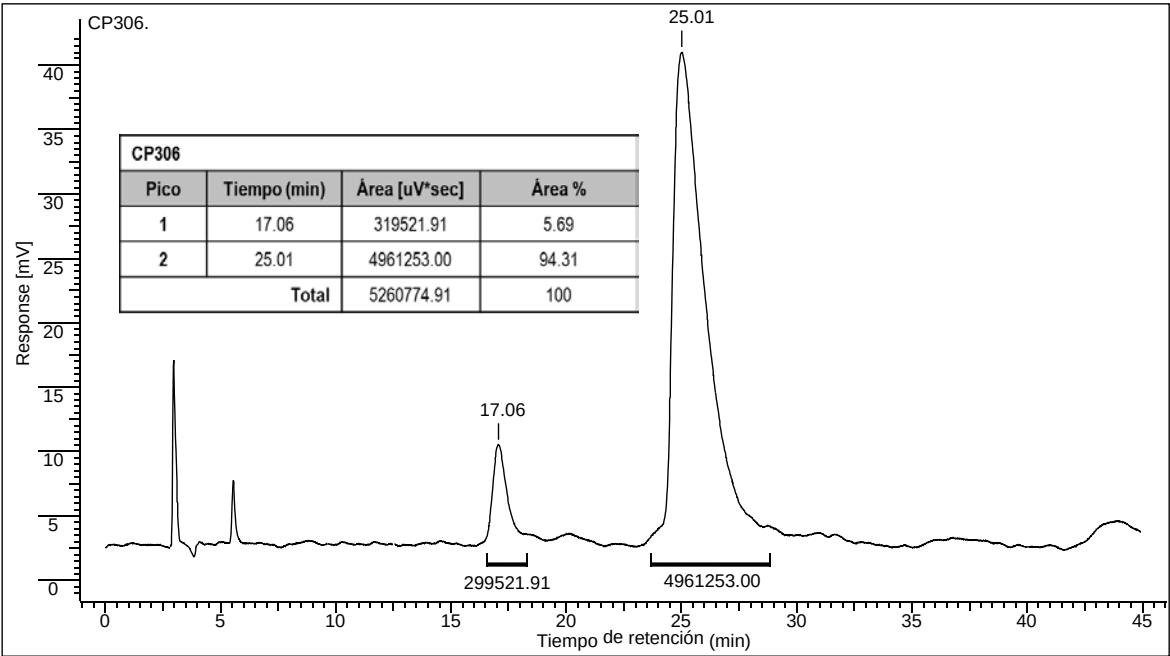
Anexo 69-C. Espectro de ^{13}C RMN de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125h**



Anexo 69-D. Espectro DEPT-135 de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125h**

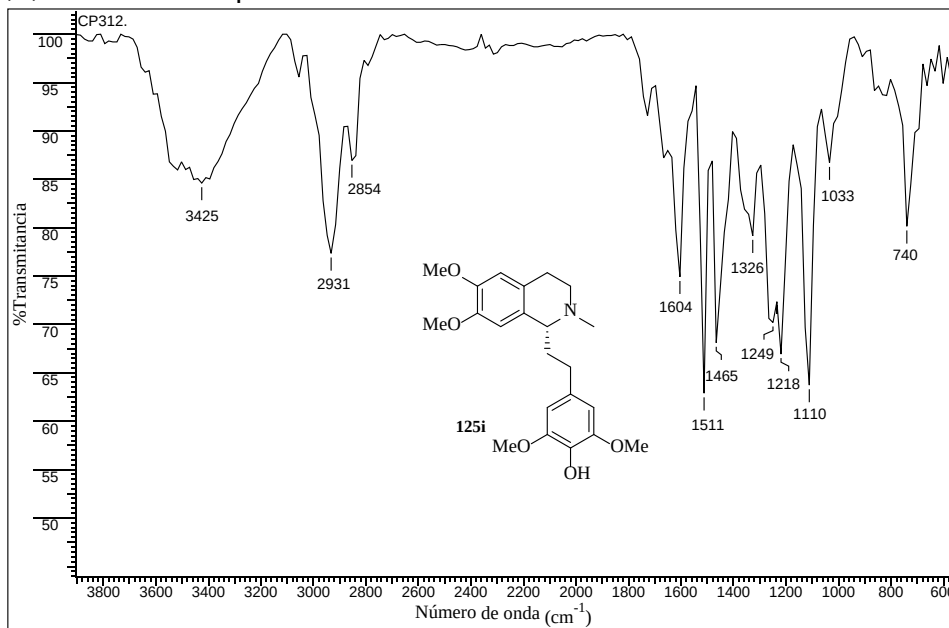


Anexo 69-E. Cromatograma HPLC en columna quiral de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125h**

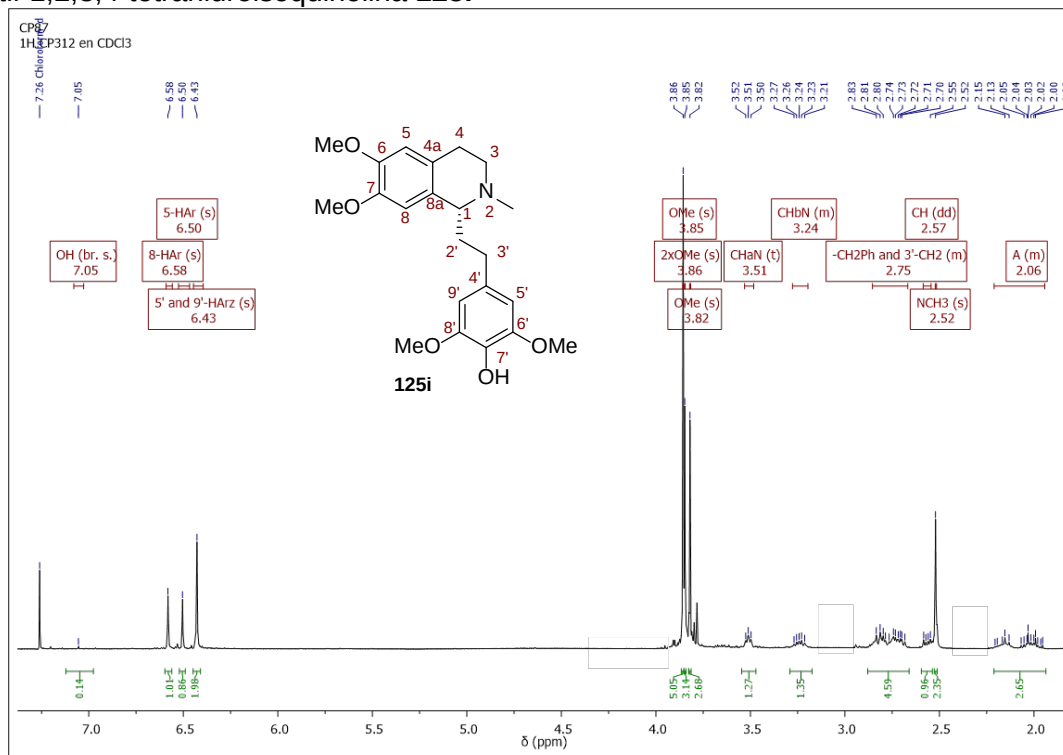


Anexo 70. Espectros relacionados con el compuesto **125i**.

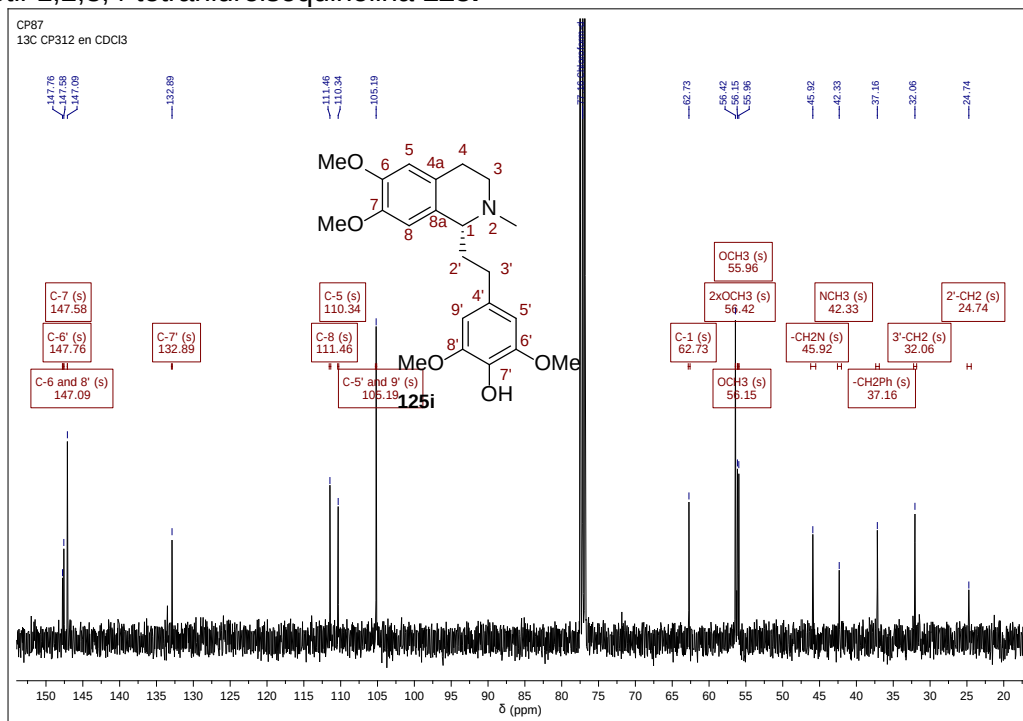
Anexo 70-A. Espectro infrarrojo de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125i**



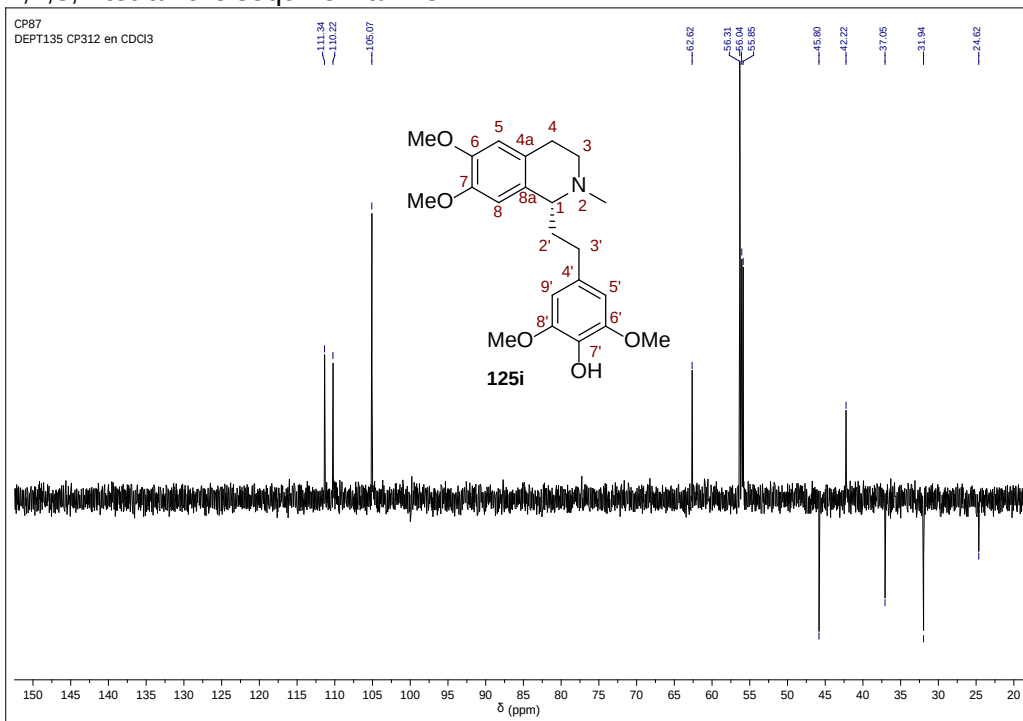
Anexo 70-B. Espectro de ¹H RMN de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125i**



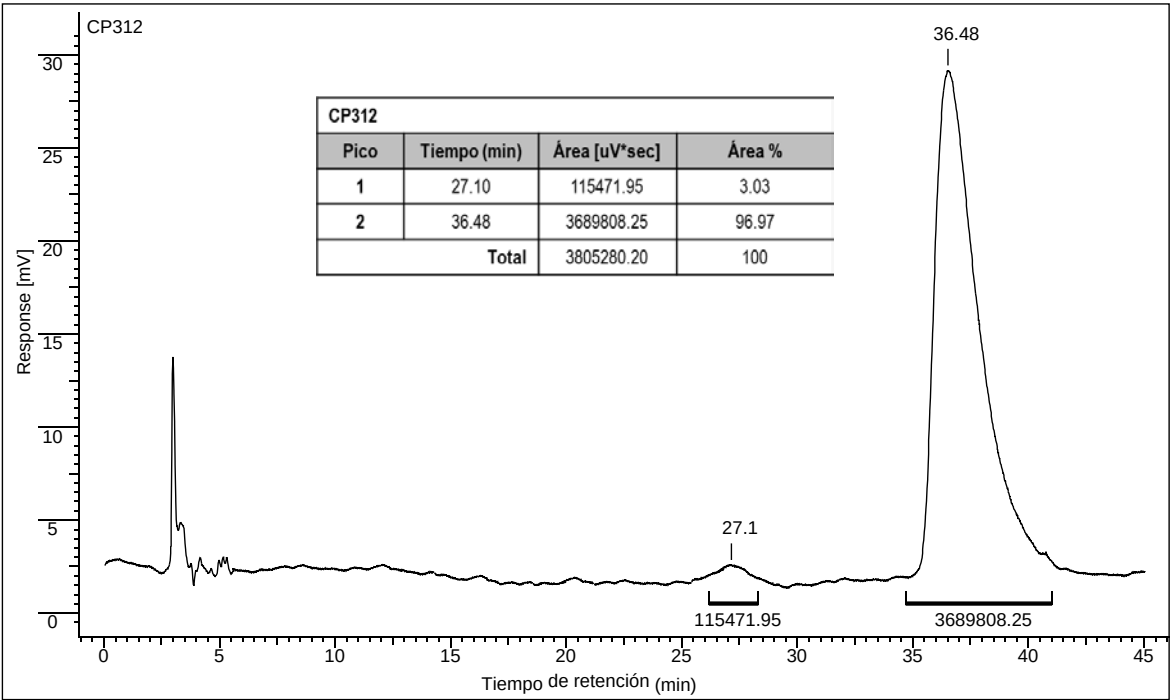
Anexo 70-C. Espectro de ^{13}C RMN de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125i**



Anexo 70-D. Espectro DEPT-135 de la (*R*)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125i**

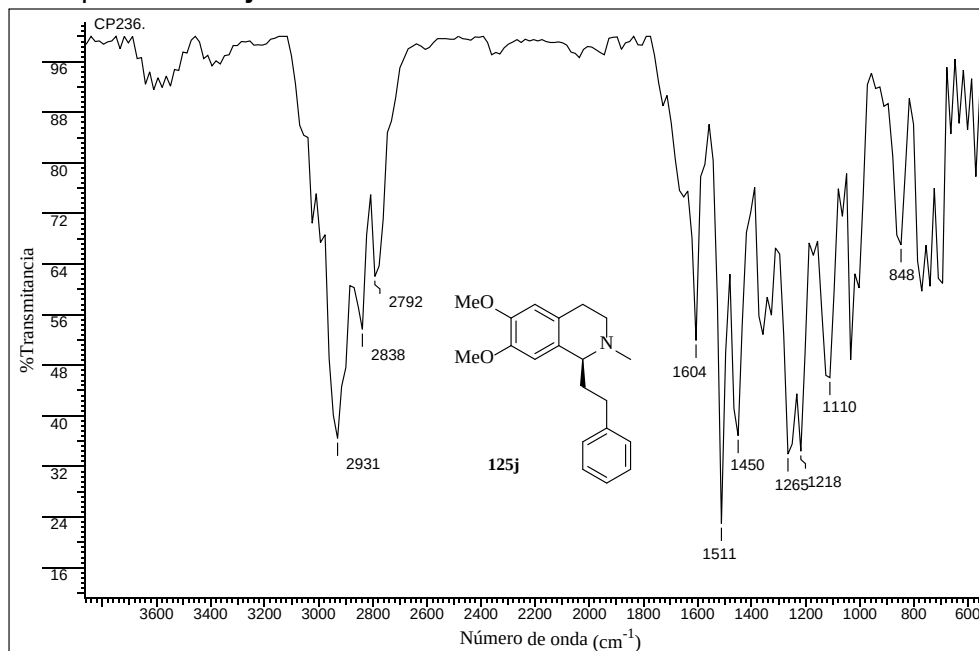


Anexo 70-E. Cromatograma HPLC en columna quiral de la (R)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolina **125i**

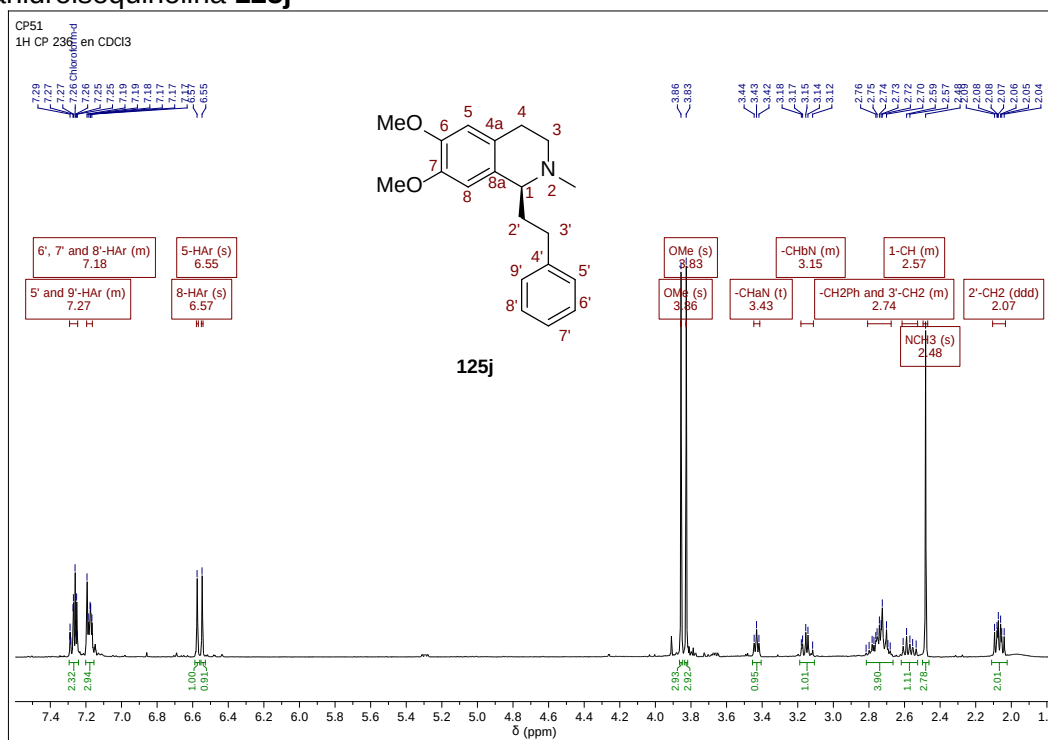


Anexo 71. Espectros relacionados con el compuesto **125j**.

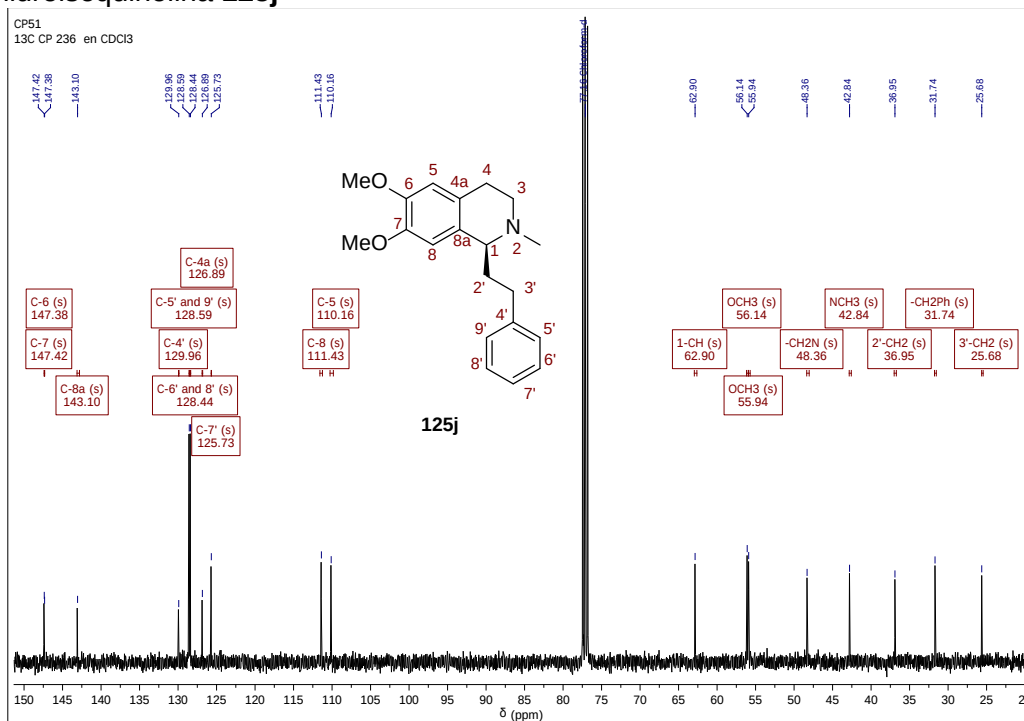
Anexo 71-A. Espectro infrarrojo de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-feniletil-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125j**



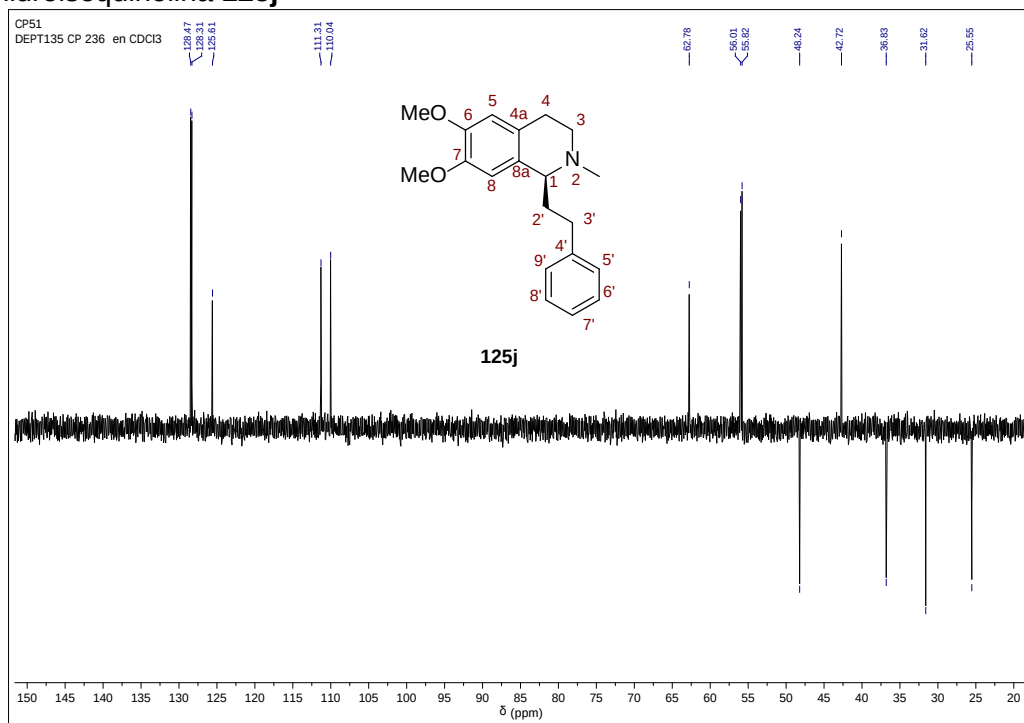
Anexo 71-B. Espectro de ^1H RMN de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-feniletil-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125j**



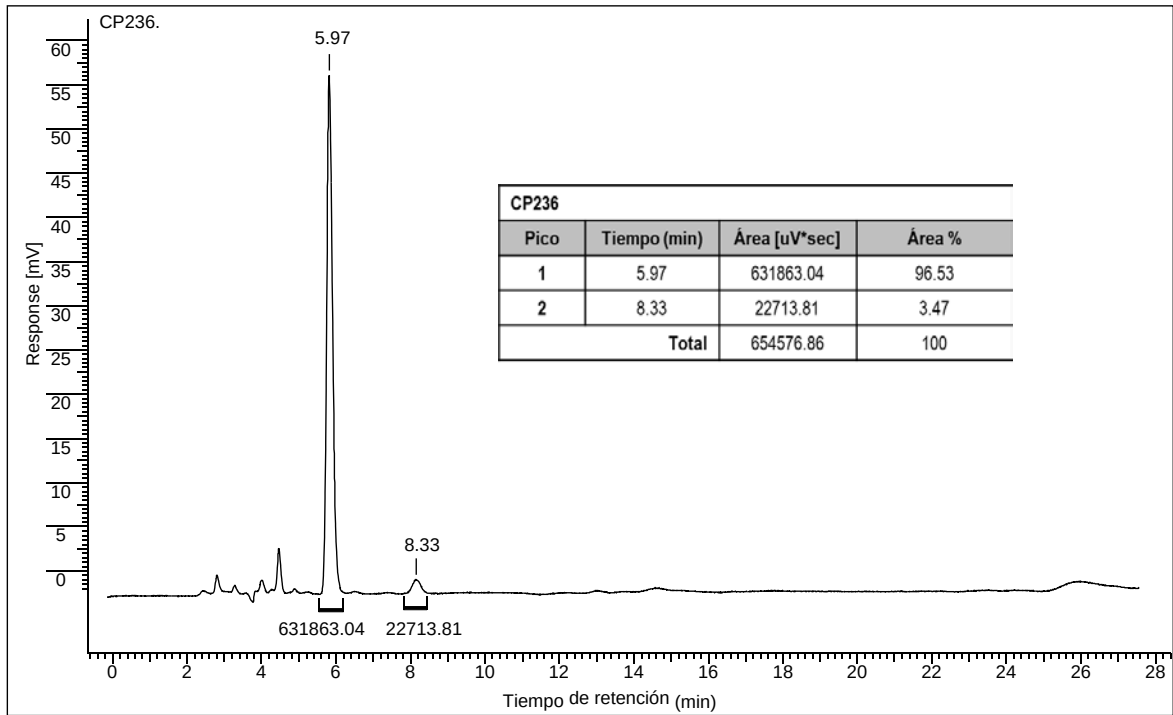
Anexo 71-C. Espectro de ^{13}C RMN de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-feniletil-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125j**



Anexo 71-D. Espectro DEPT-135 de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-feniletil-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125j**

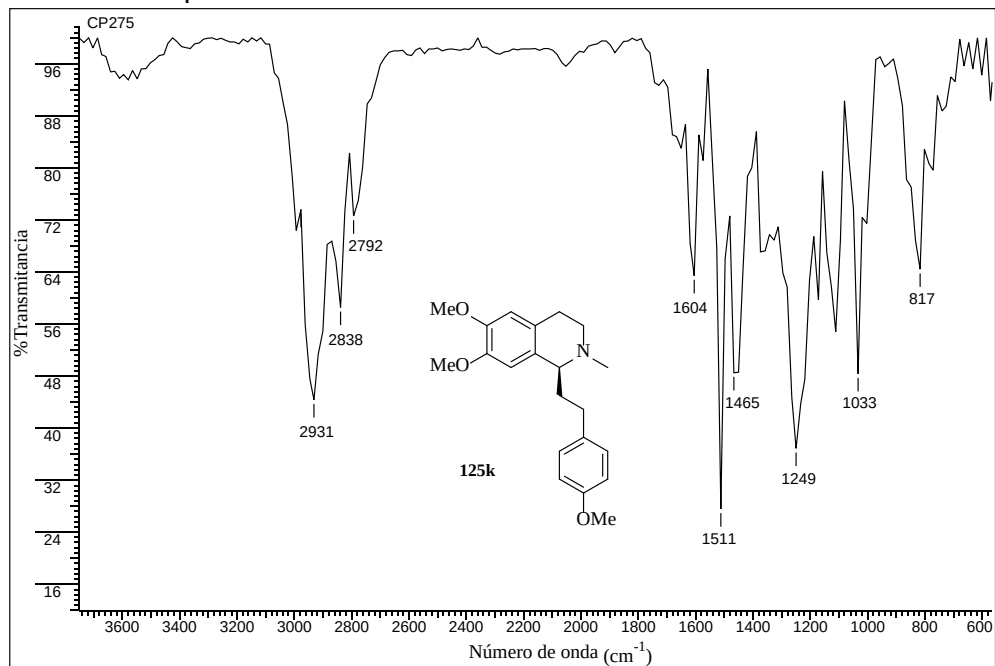


Anexo 71-E. Cromatograma HPLC en columna quiral de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-feniletíl-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125j**

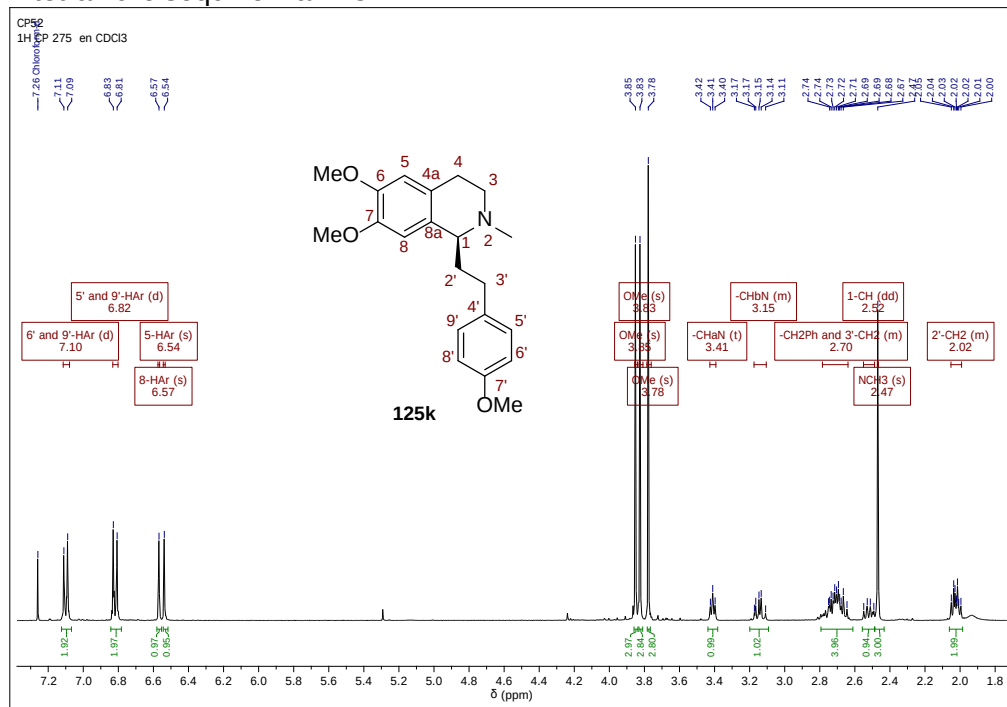


Anexo 72. Espectros relacionados con el compuesto **125k**.

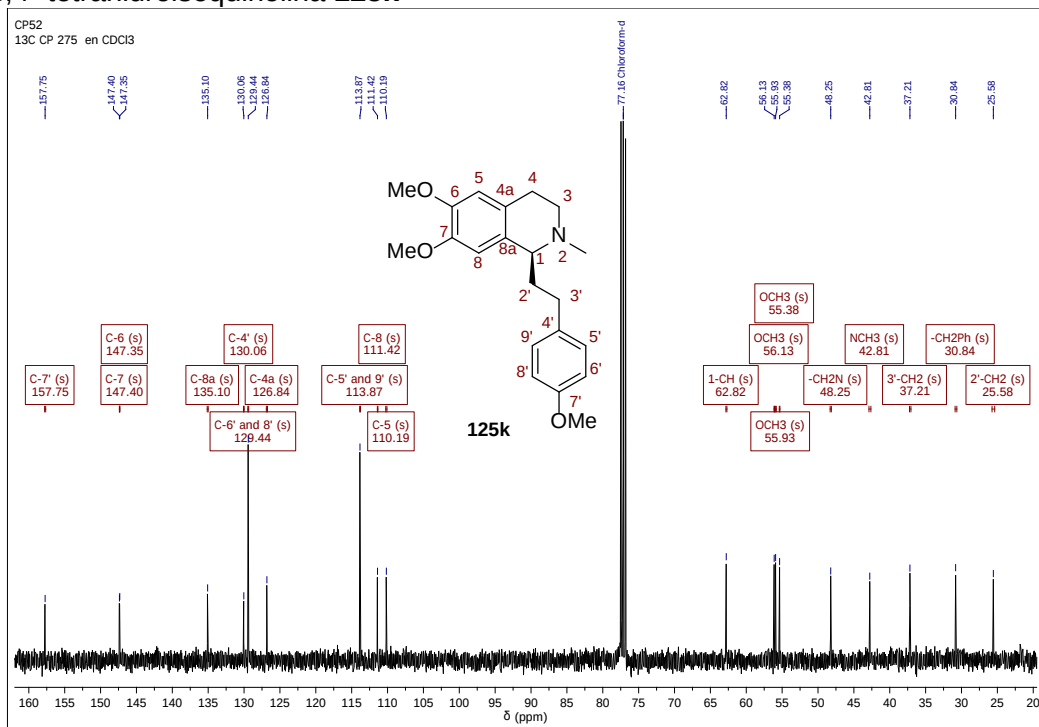
Anexo 72-A. Espectro infrarrojo de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(4-metoxifeniletíl)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125k**



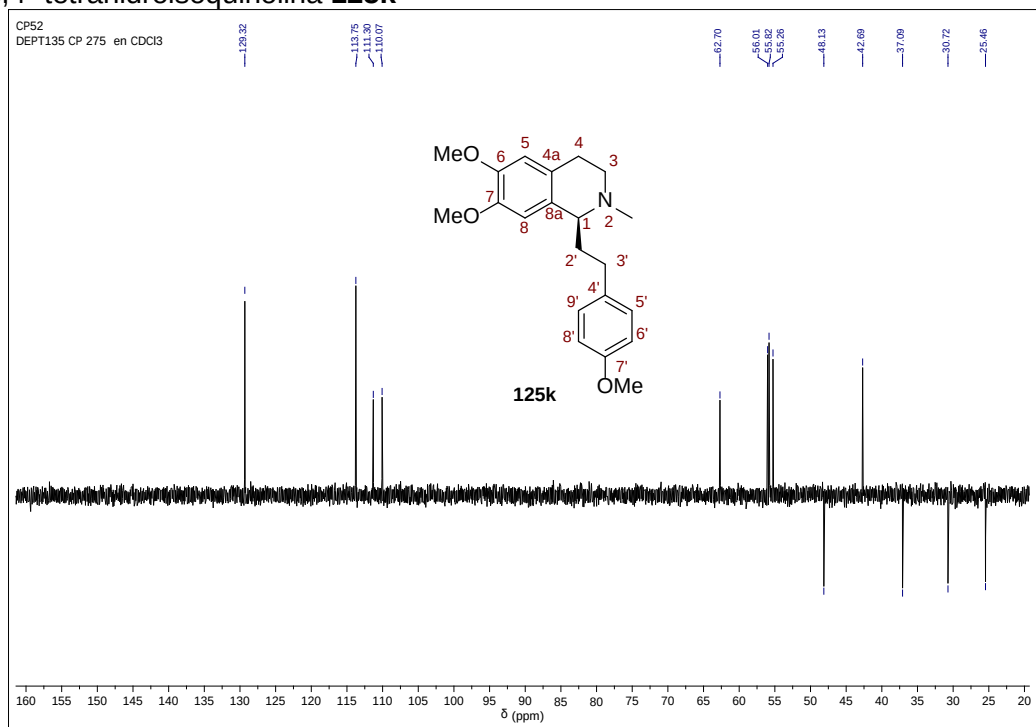
Anexo 72-B. Espectro de ¹H RMN de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(4-metoxifeniletíl)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125k**



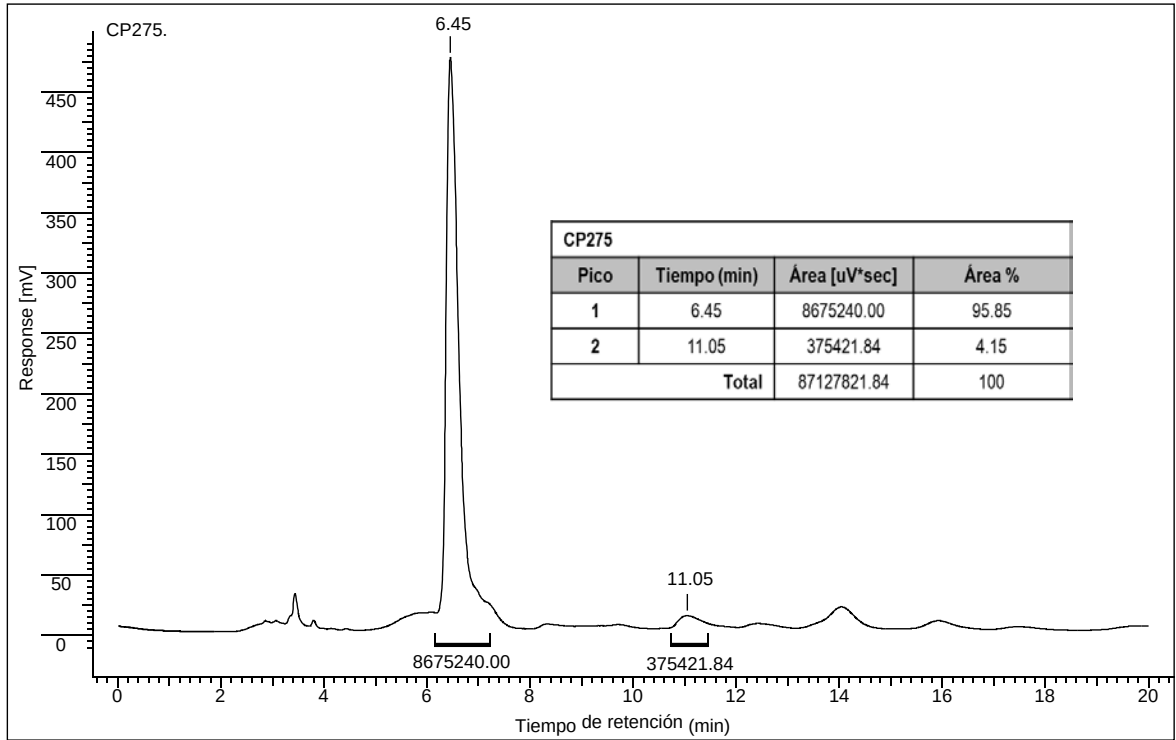
Anexo 72-C. Espectro de ^{13}C RMN de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(4-metoxifenilet)-N-metil-1,2,3,4- tetrahidroisoquinolina **125k**



Anexo 72-D. Espectro DEPT-135 de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(4-metoxifenilet)-N-metil-1,2,3,4- tetrahidroisoquinolina **125k**

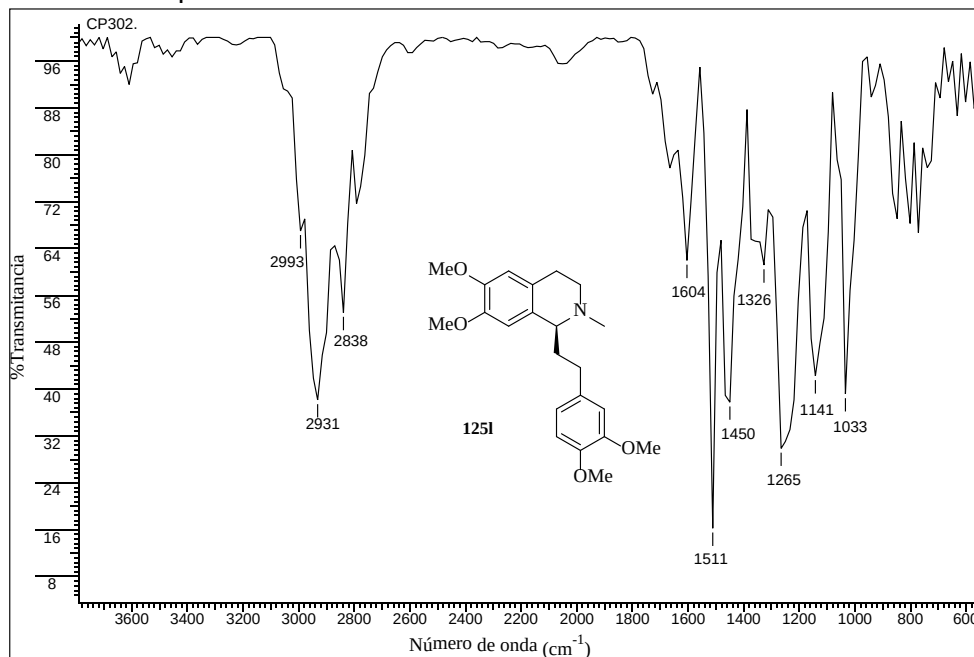


Anexo 72-E. Cromatograma HPLC en columna quiral de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(4-metoxifeniletil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125k**

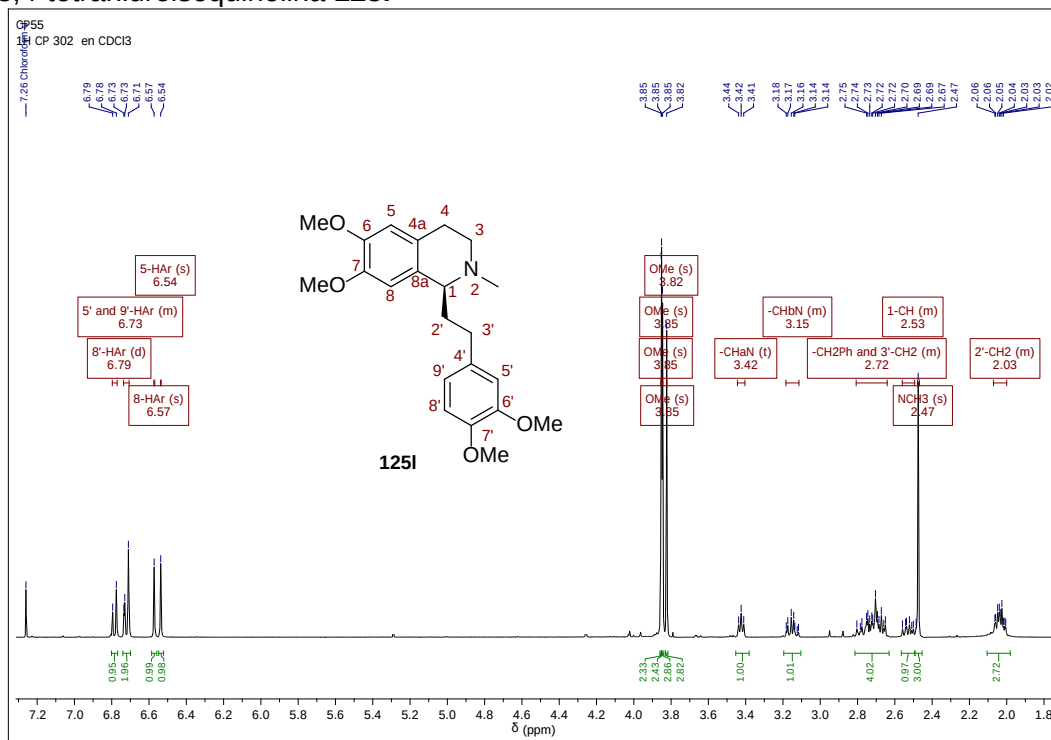


Anexo 73. Espectros relacionados con el compuesto **125I**.

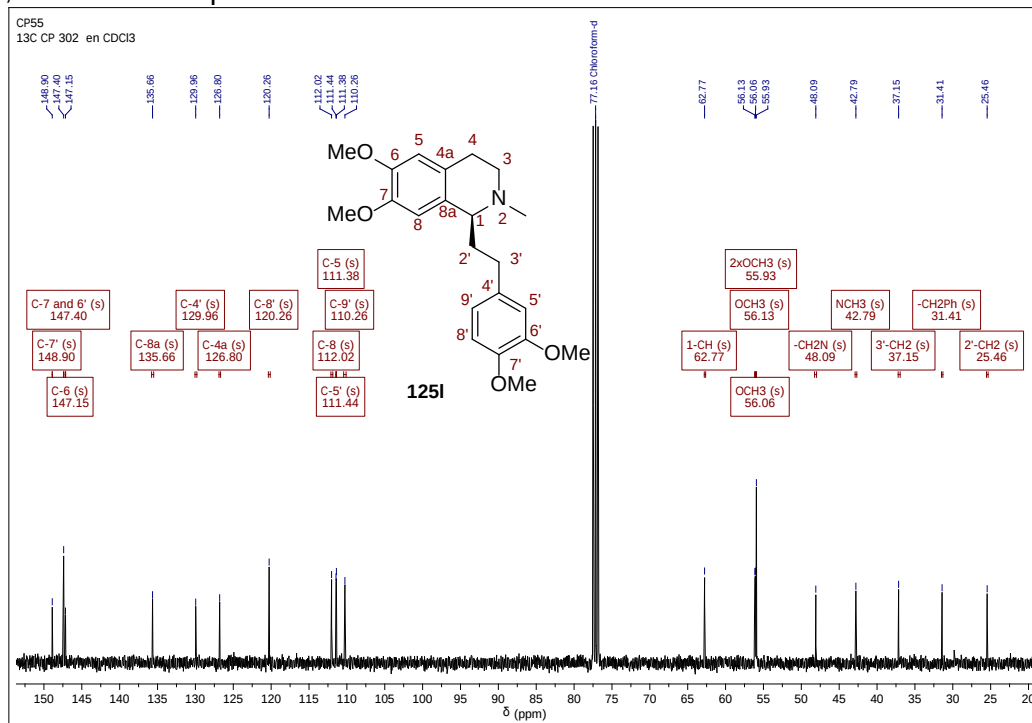
Anexo 73-A. Espectro infrarrojo de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4-dimetoxifeniletíl)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125I**



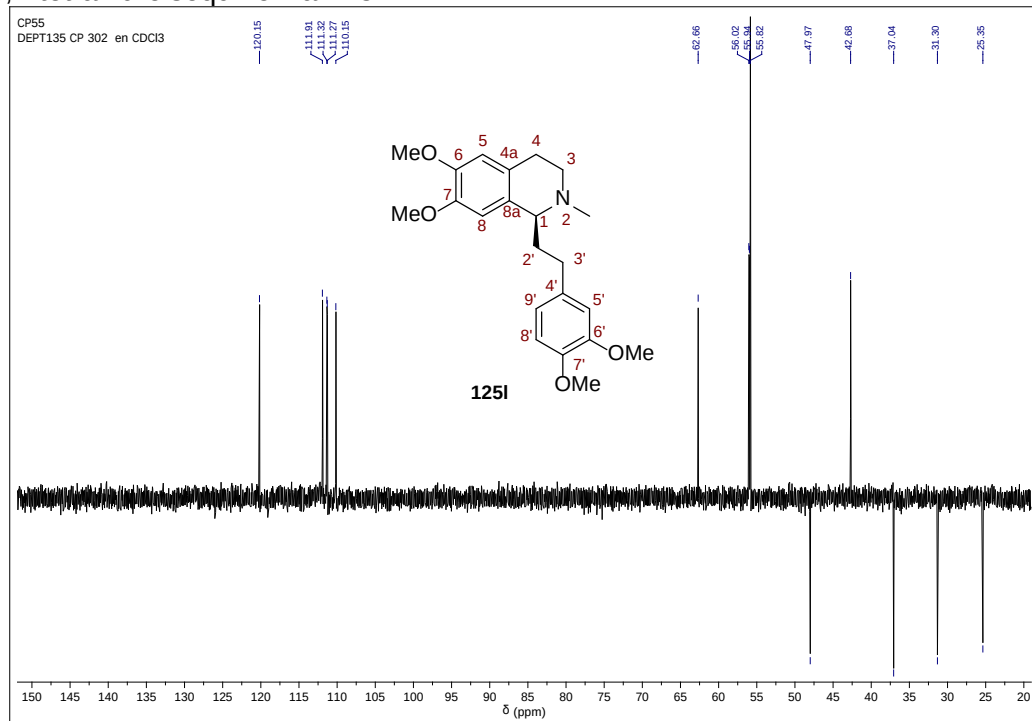
Anexo 73-B. Espectro de ¹H RMN de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4-dimetoxifeniletíl)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125I**



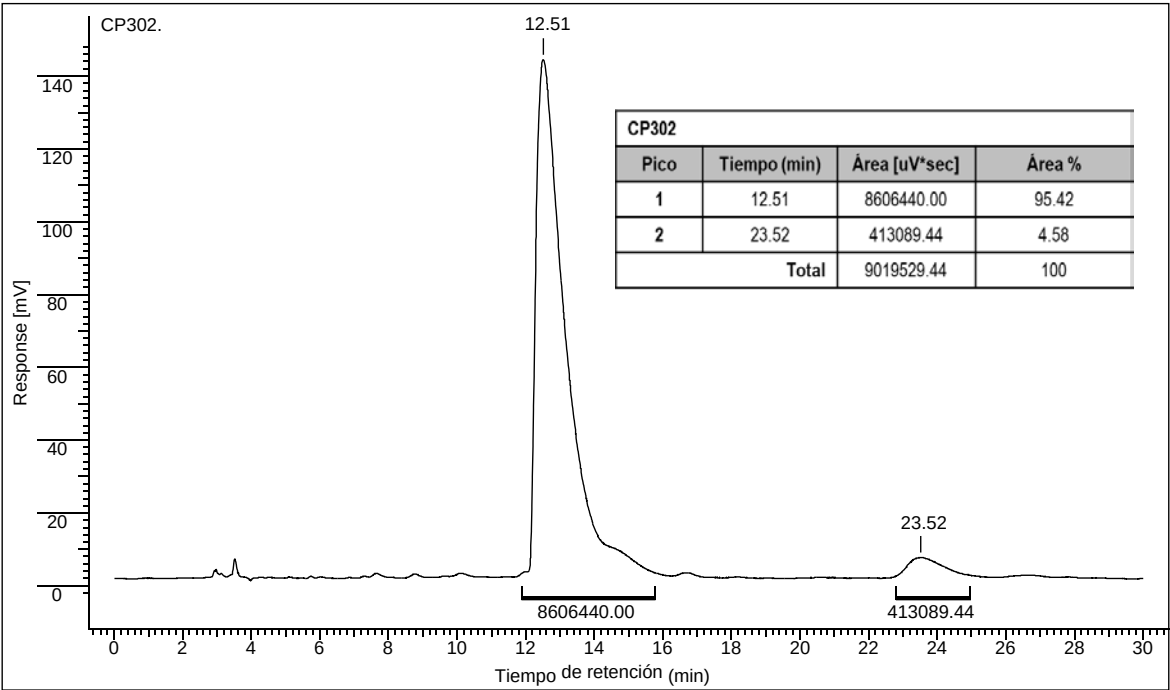
Anexo 73-C. Espectro de ^{13}C RMN de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4-dimetoxifenilet)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125I**



Anexo 73-D. Espectro DEPT-135 de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4-dimetoxifenilet)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125I**

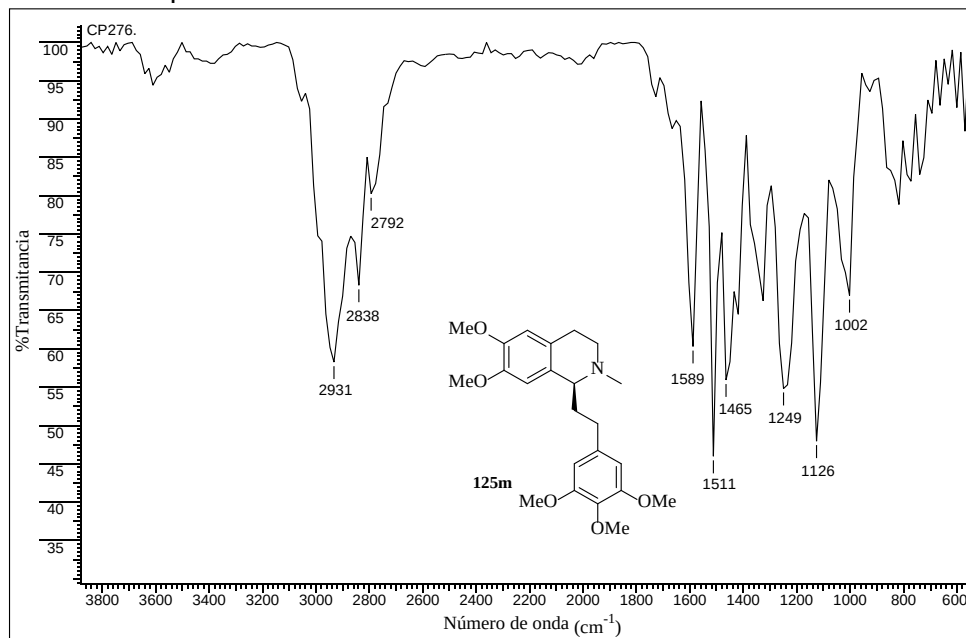


Anexo 73-E. Cromatograma HPLC en columna quiral de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4-dimetoxifeniletil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125I**

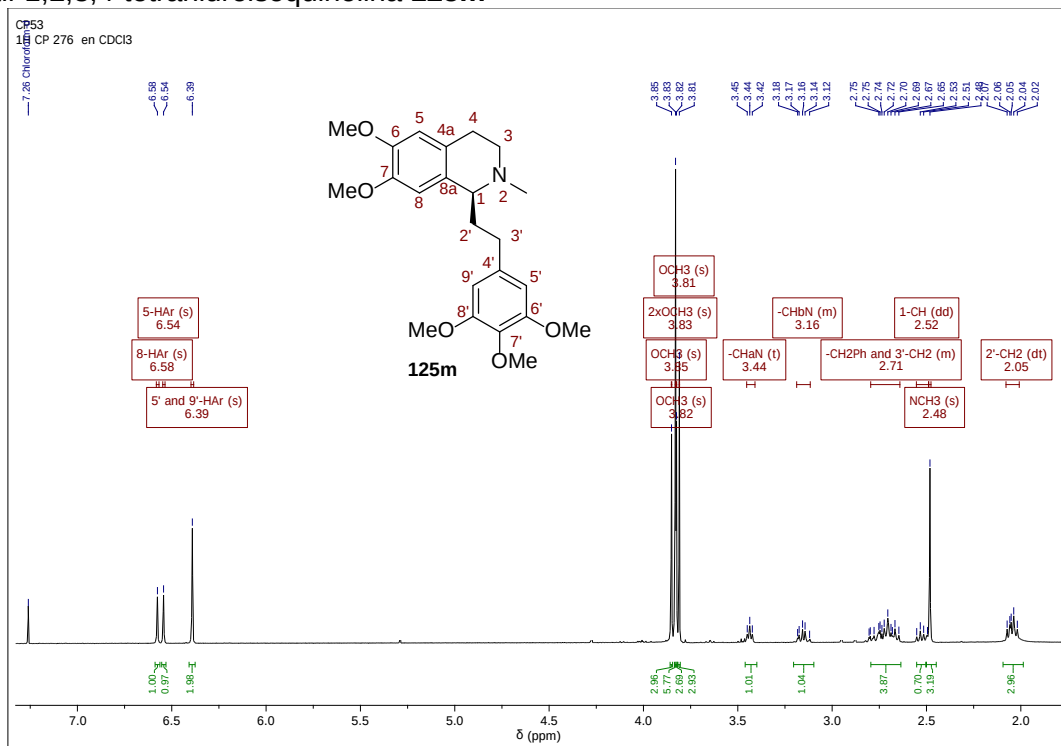


Anexo 74. Espectros relacionados con el compuesto **125m**.

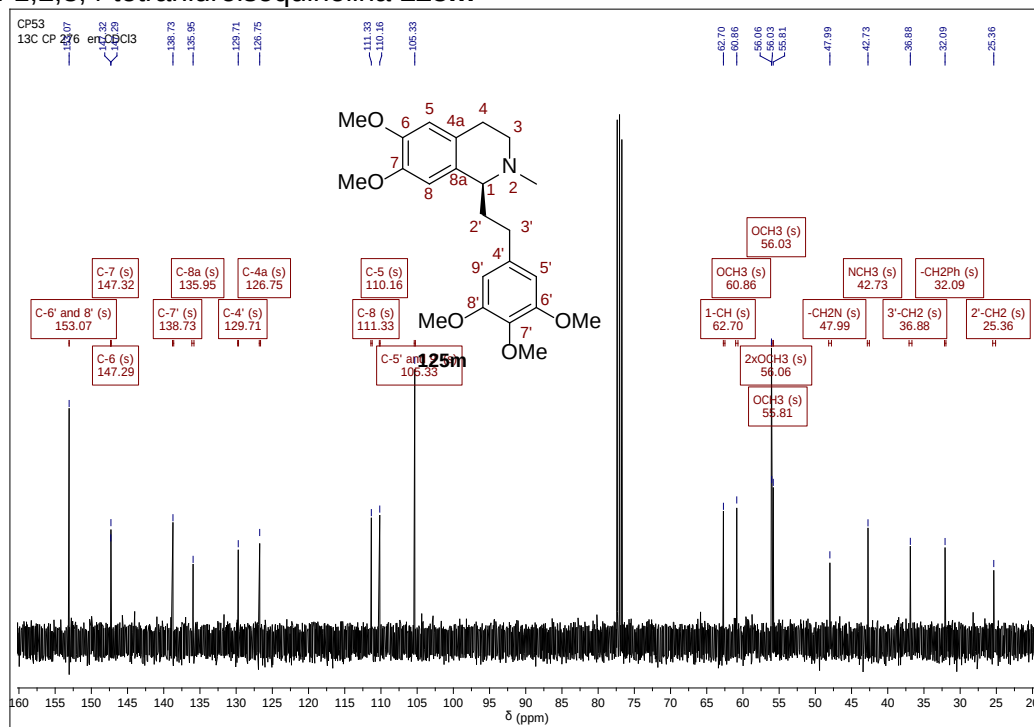
Anexo 74-A. Espectro infrarrojo de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenilet)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125m**



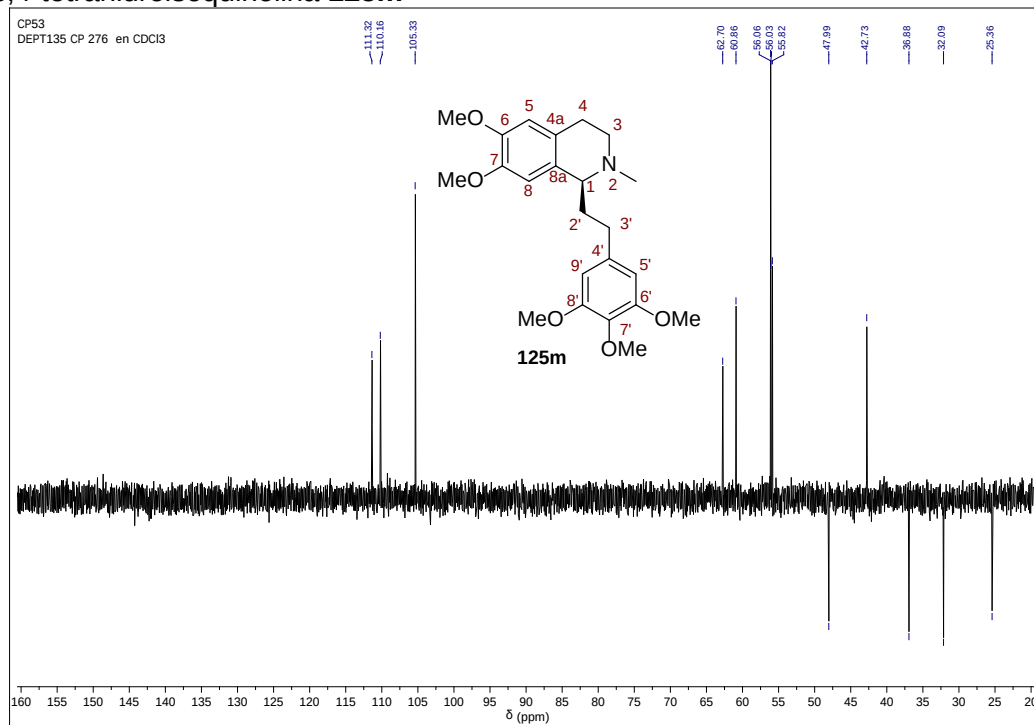
Anexo 74-B. Espectro de ^1H RMN de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenilet)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125m**



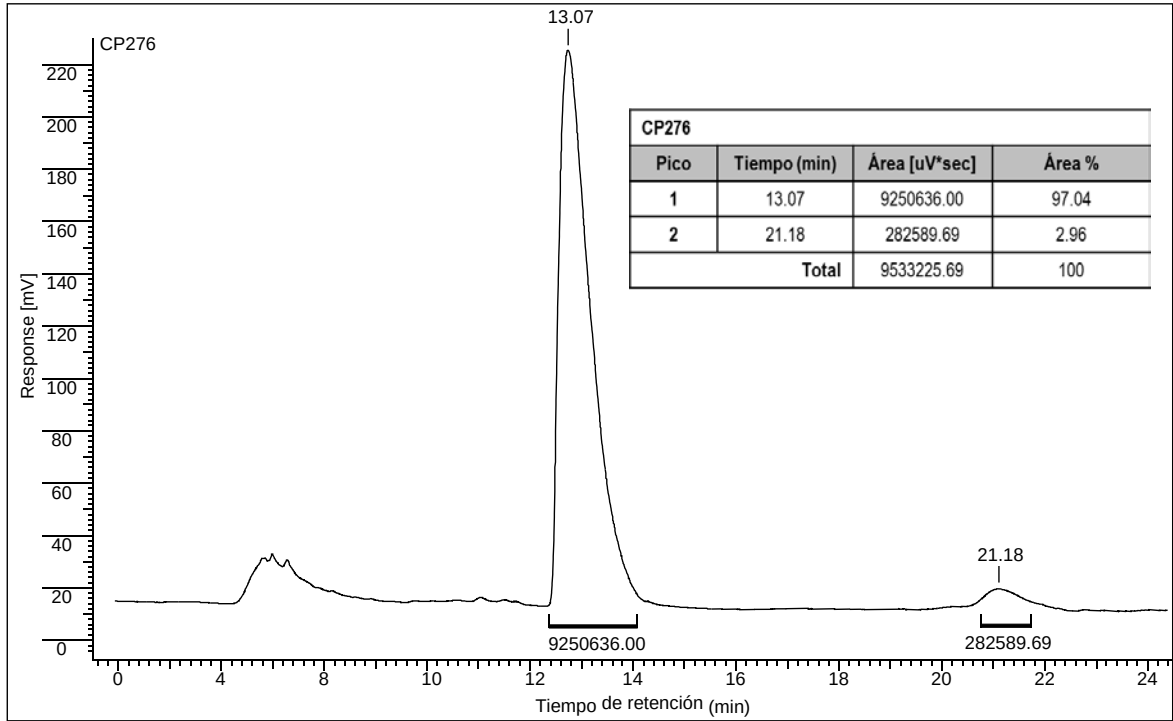
Anexo 74-C. Espectro de ^{13}C RMN de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenilet)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125m**



Anexo 74-D. Espectro DEPT-135 de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifenilet)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125m**

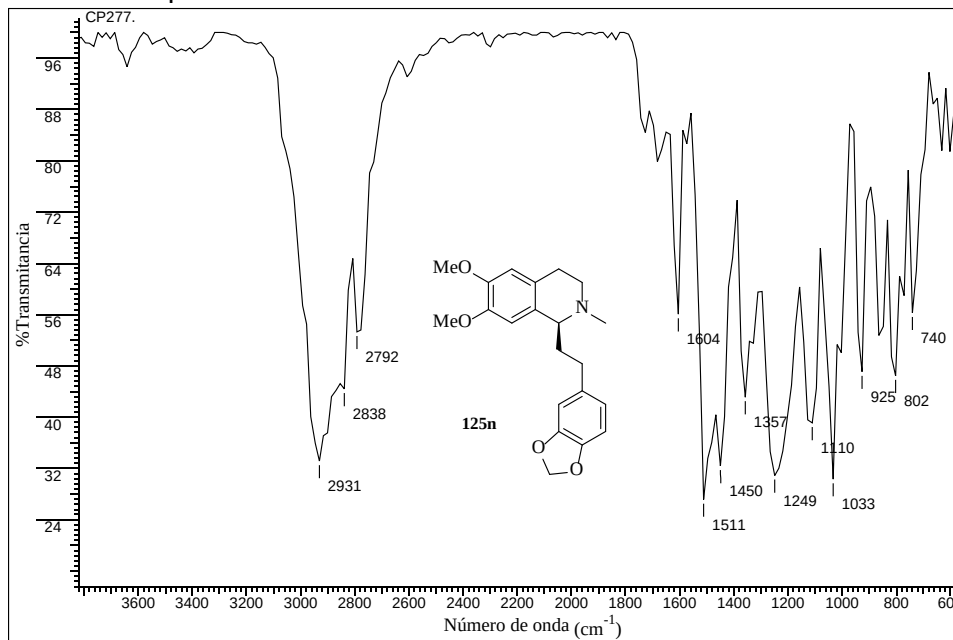


Anexo 74-E. Cromatograma HPLC en columna quiral de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4,5-trimetoxifeniletil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125m**

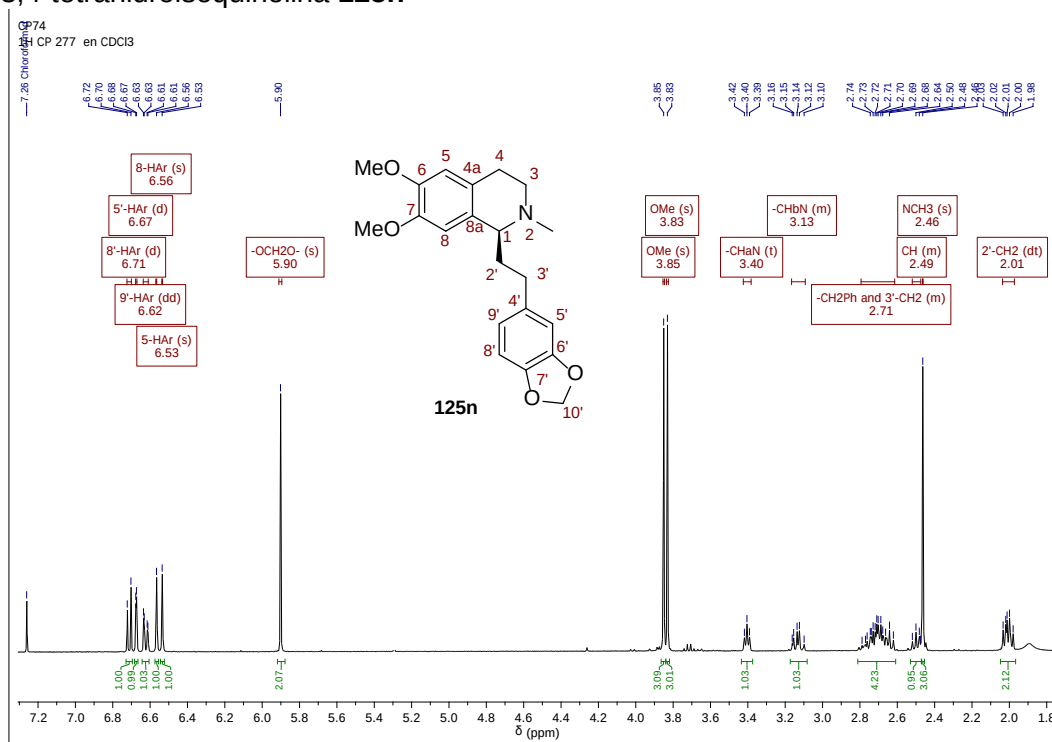


Anexo 75. Espectros relacionados con el compuesto **125n**.

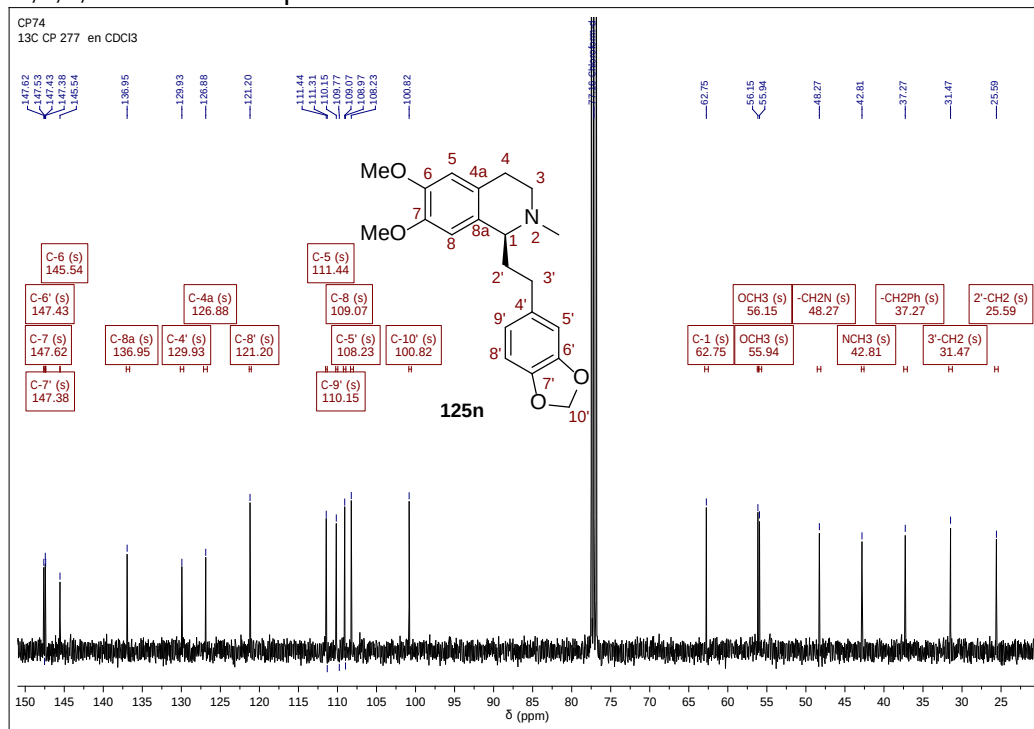
Anexo 75-A. Espectro infrarrojo de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125n**



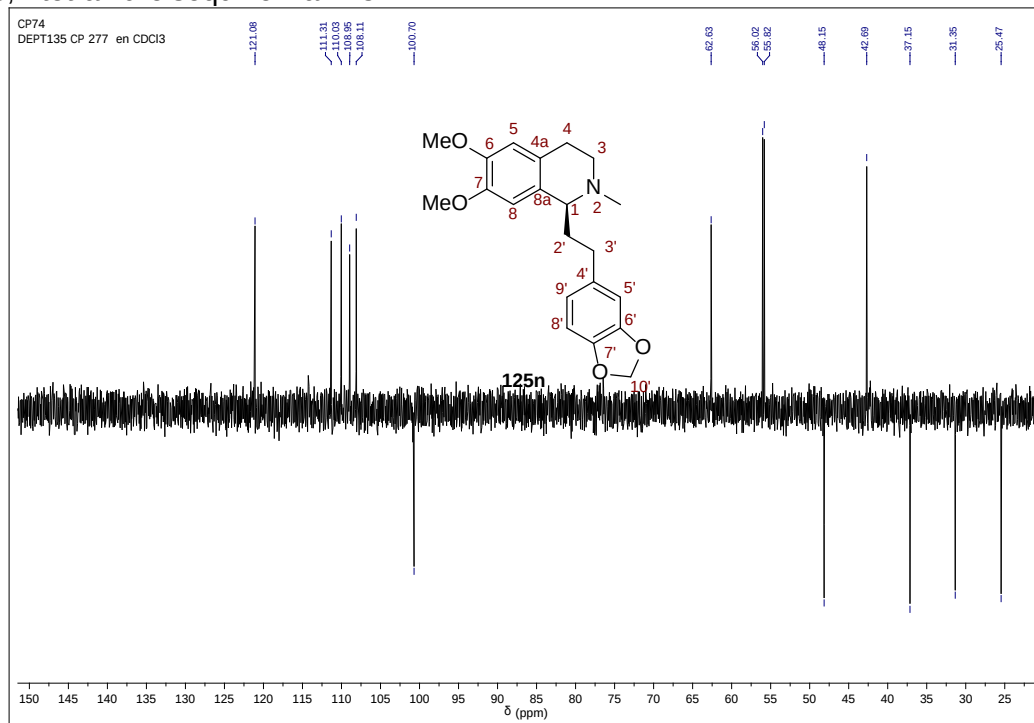
Anexo 75-B. Espectro de ¹H RMN de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125n**



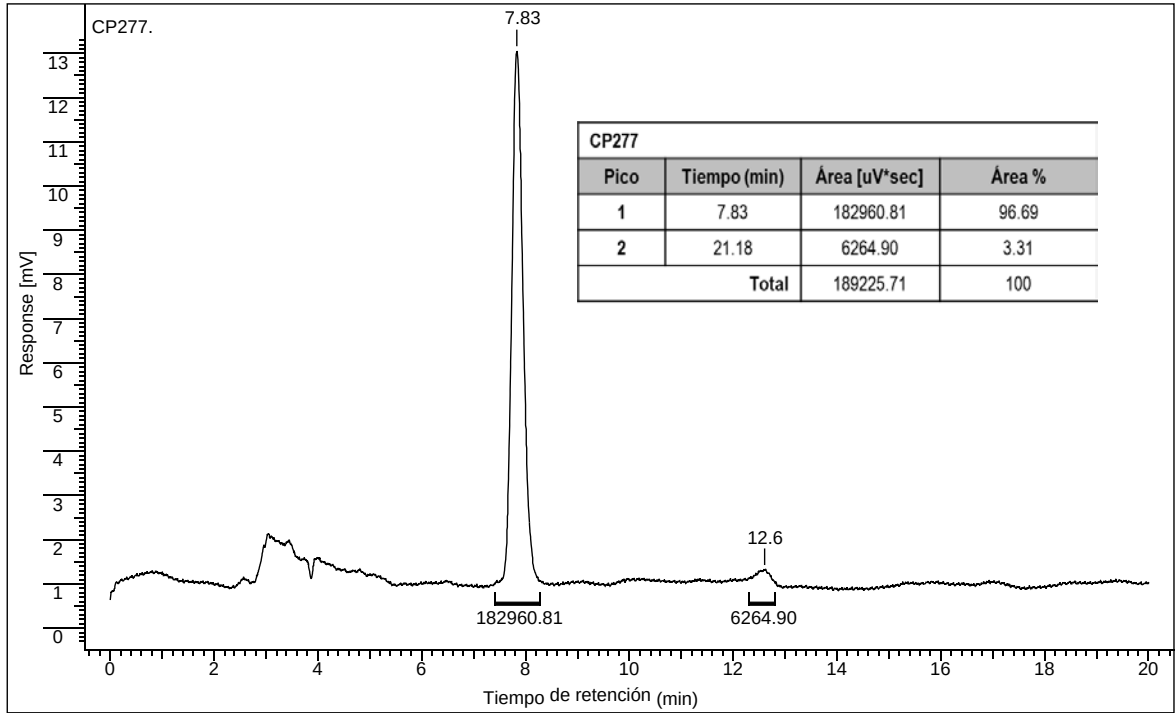
Anexo 75-C. Espectro de ^{13}C RMN de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125n**



Anexo 75-D. Espectro DEPT-135 de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125n**

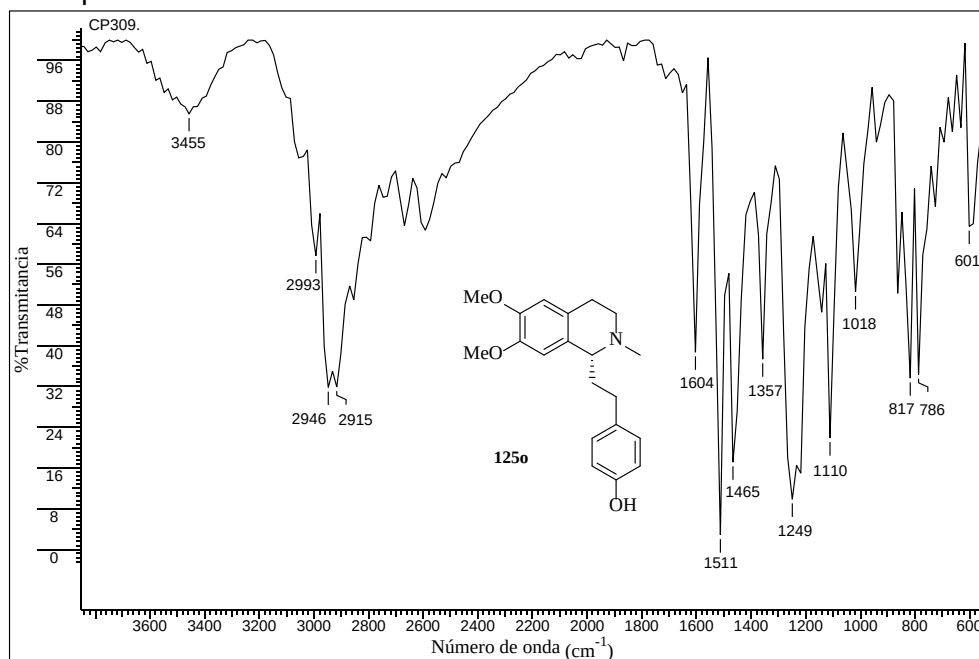


Anexo 75-E. Cromatograma HPLC en columna quiral de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(3,4-metilendioxfenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125n**

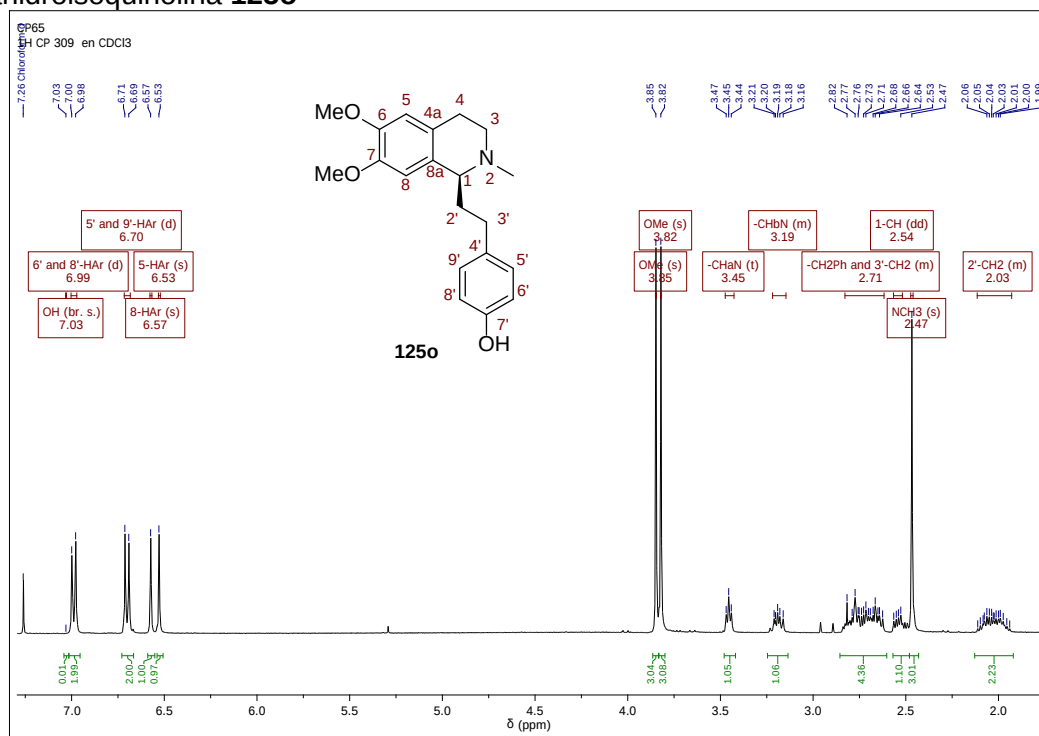


Anexo 76. Espectros relacionados con el compuesto **125o**.

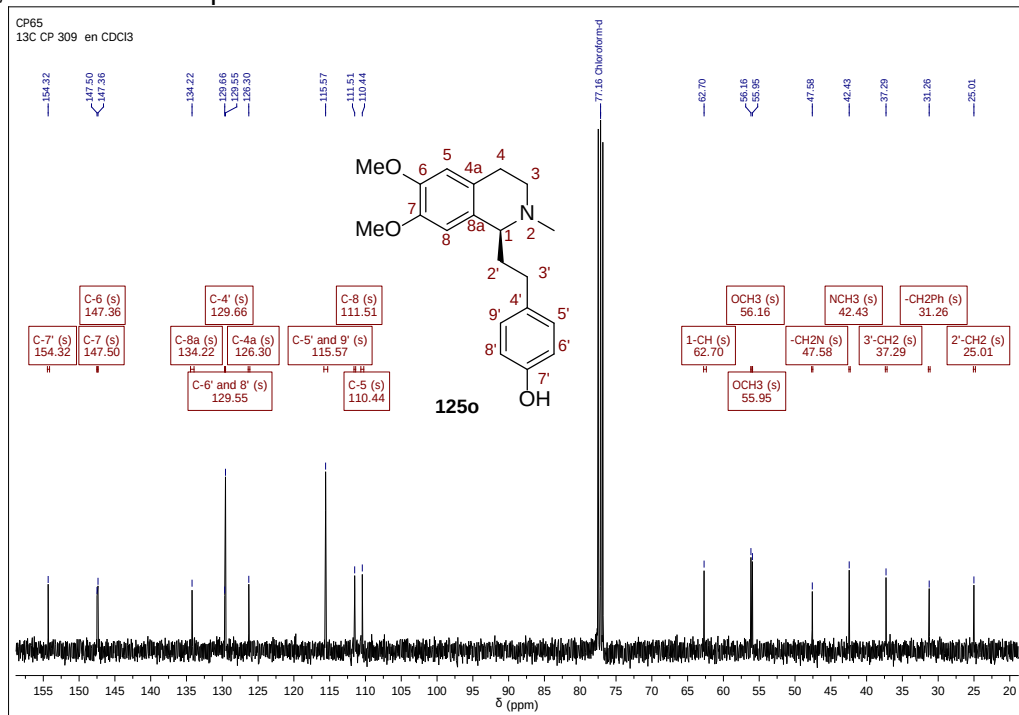
Anexo 76-A. Espectro infrarrojo de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125o**



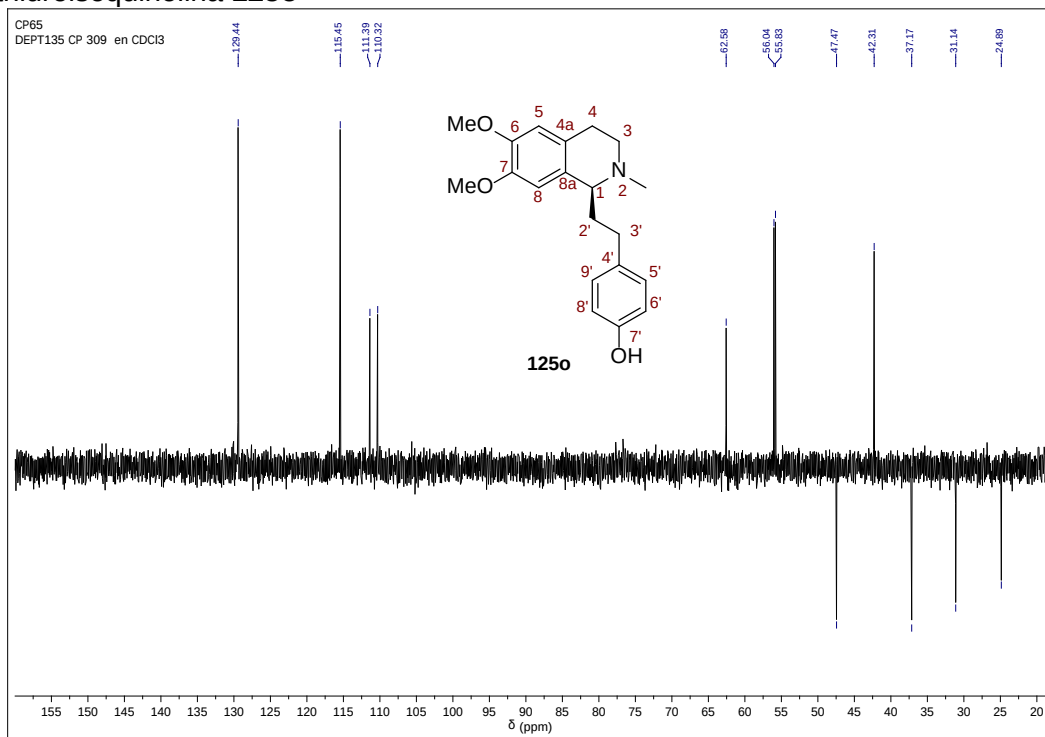
Anexo 76-B. Espectro de ¹H RMN de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125o**



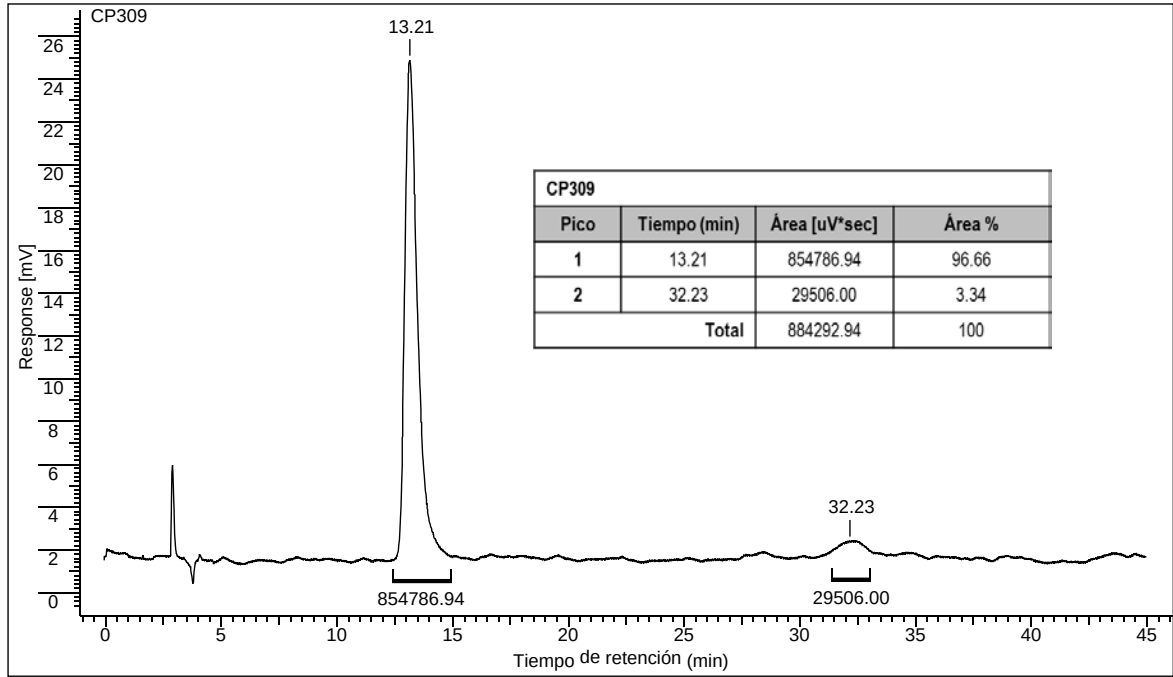
Anexo 76-C. Espectro de ^{13}C RMN de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxifenil)-N-metil-1,2,3,4- tetrahidroisoquinolina **125o**



Anexo 76-D. Espectro DEPT-135 de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxifenil)-N-metil-1,2,3,4- tetrahidroisoquinolina **125o**

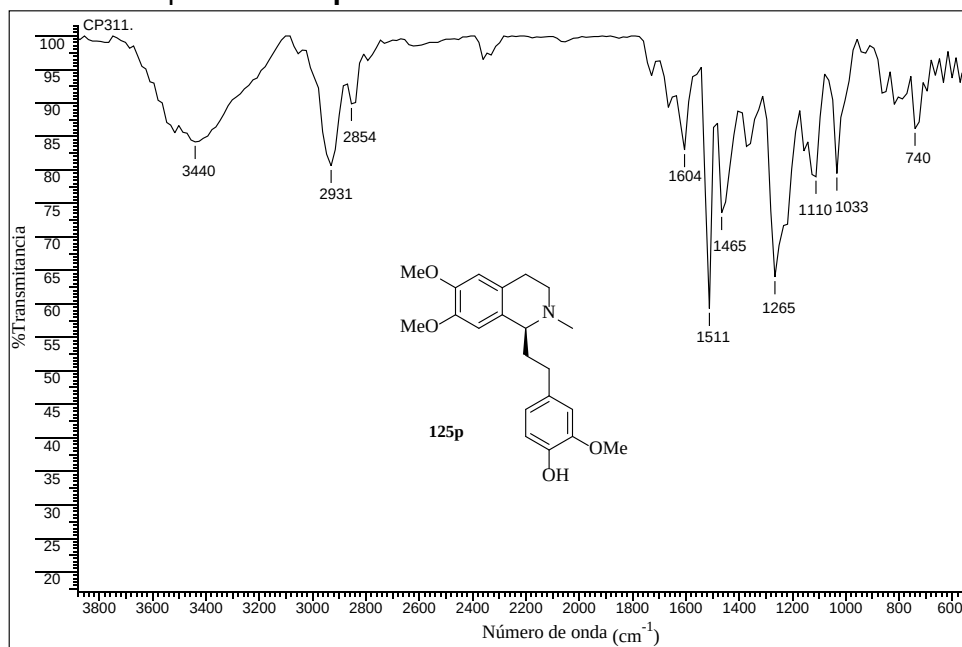


Anexo 76-E. Cromatograma HPLC en columna quiral de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125o**

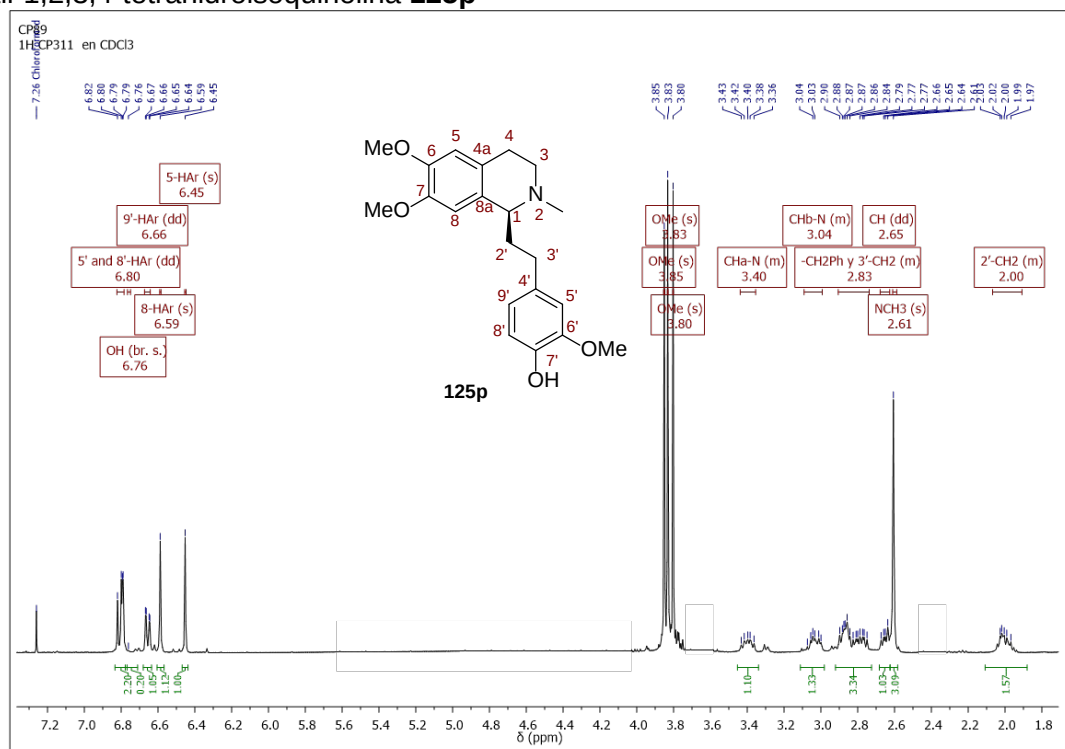


Anexo 77. Espectros relacionados con el compuesto 125p.

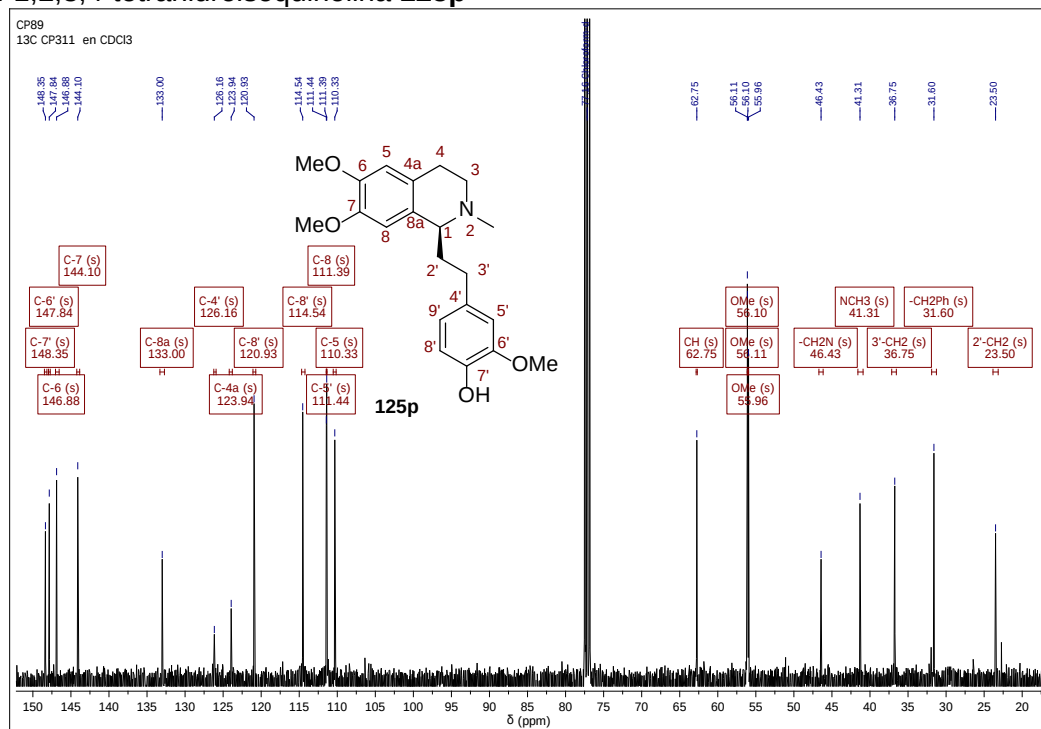
Anexo 77-A. Espectro infrarrojo de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125p**



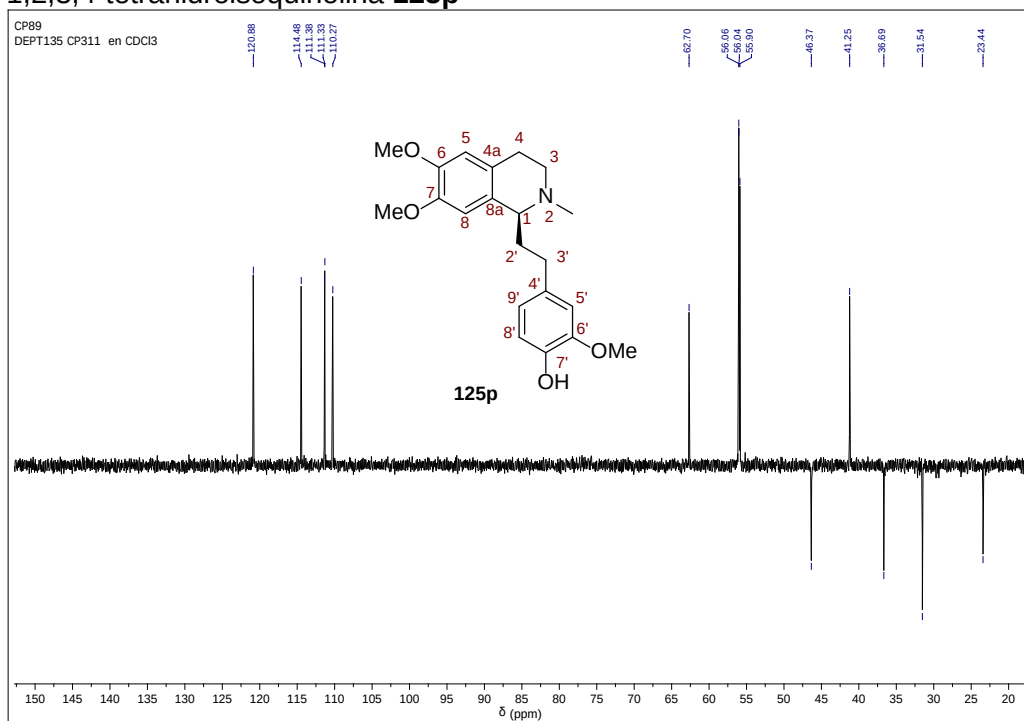
Anexo 77-B. Espectro de ^1H RMN de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125p**



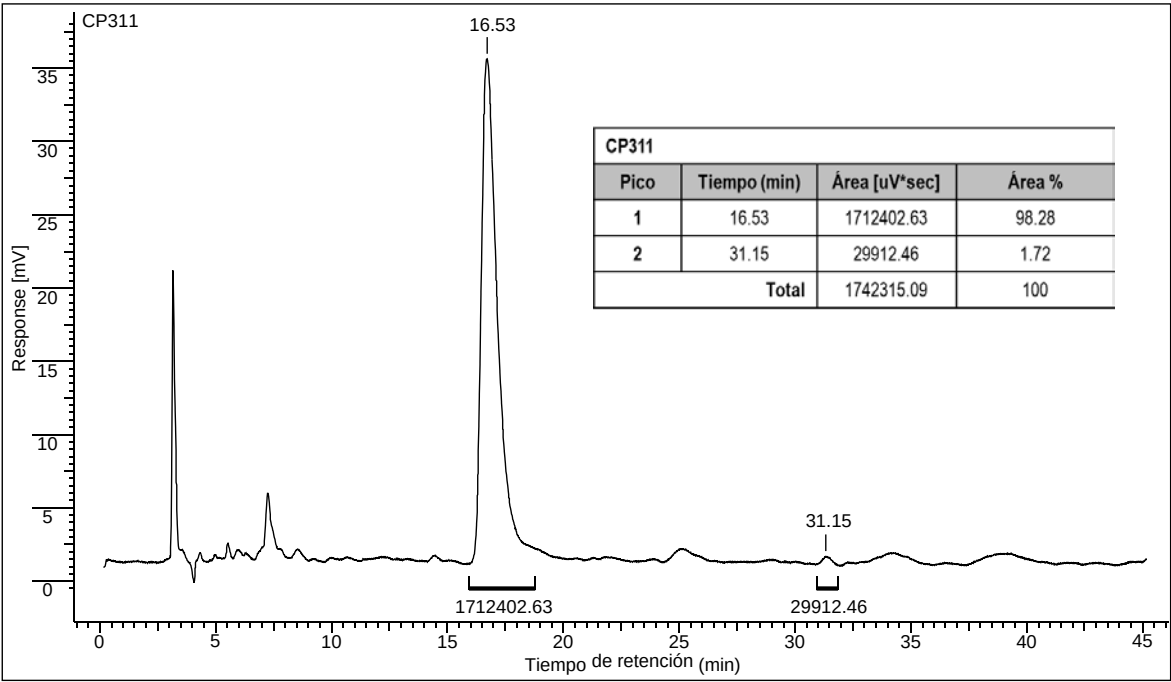
Anexo 77-C. Espectro de ^{13}C RMN de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125p**



Anexo 77-D. Espectro DEPT-135 de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125p**

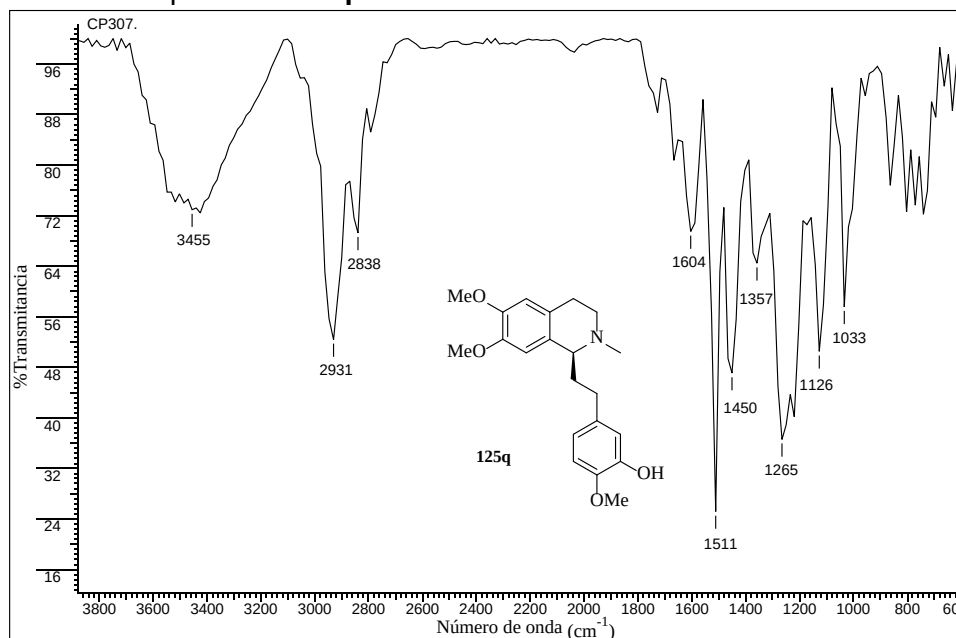


Anexo 77-E. Cromatograma HPLC en columna quiral de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125p**

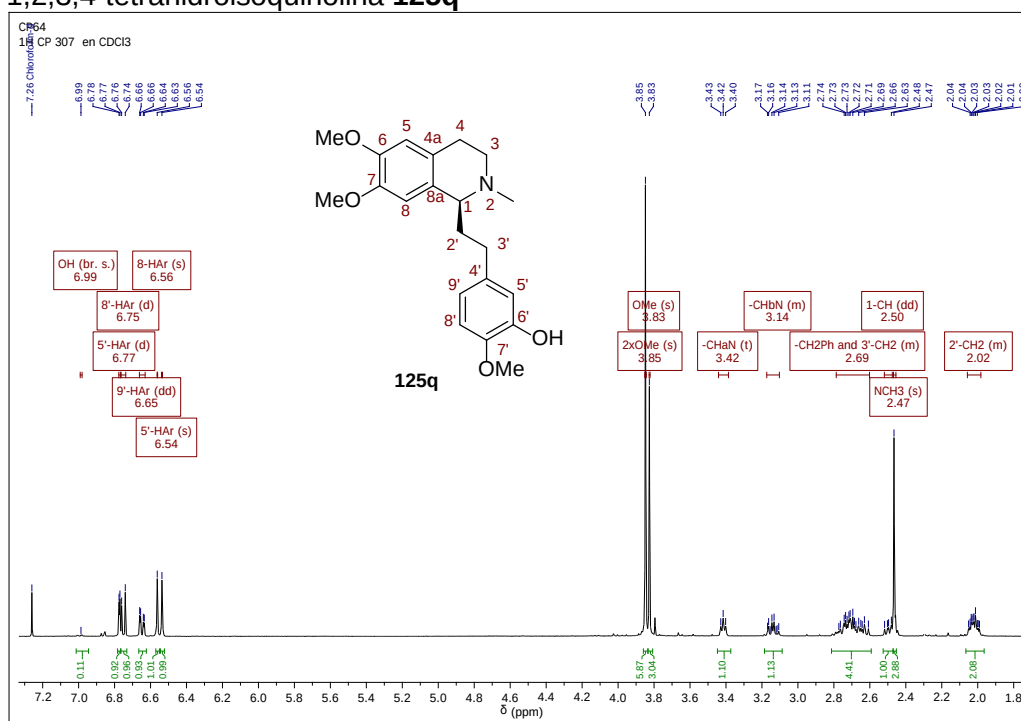


Anexo 78. Espectros relacionados con el compuesto **125q**.

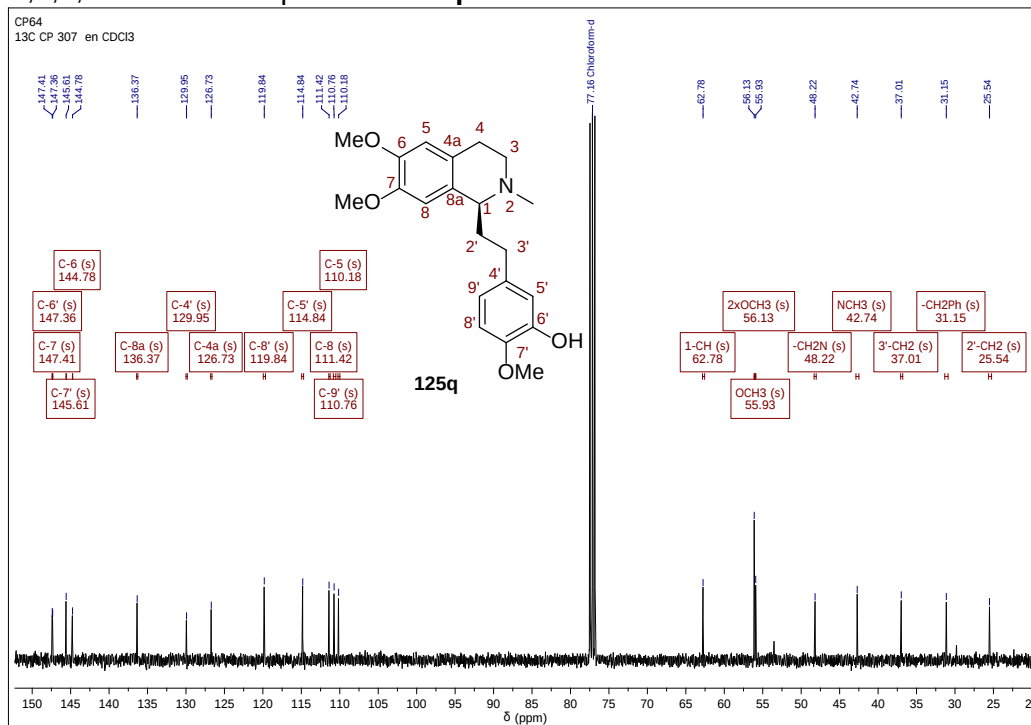
Anexo 78-A. Espectro infrarrojo de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125q**



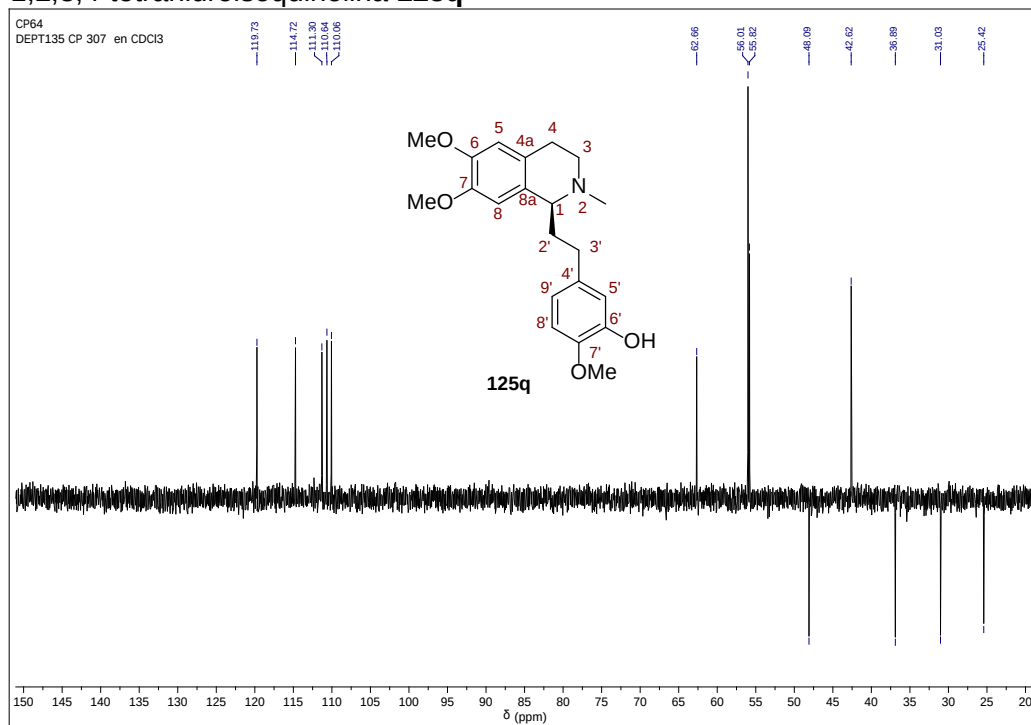
Anexo 78-B. Espectro de ^1H RMN de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125q**



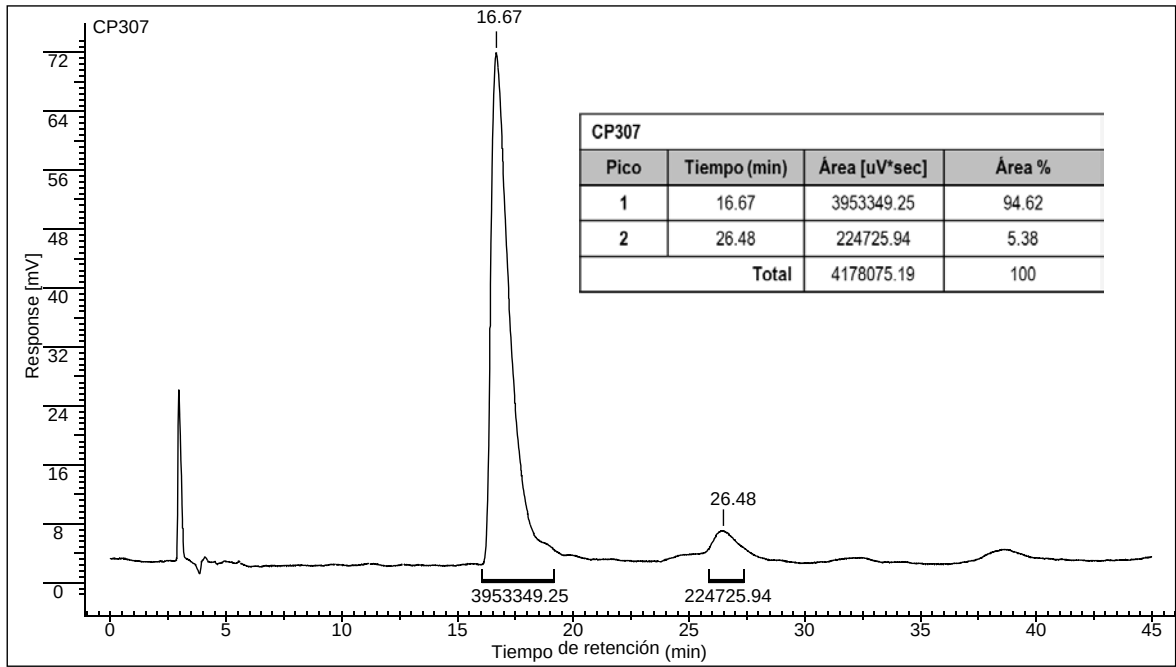
Anexo 78-C. Espectro de ^{13}C RMN de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125q**



Anexo 78-D. Espectro DEPT-135 de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125q**

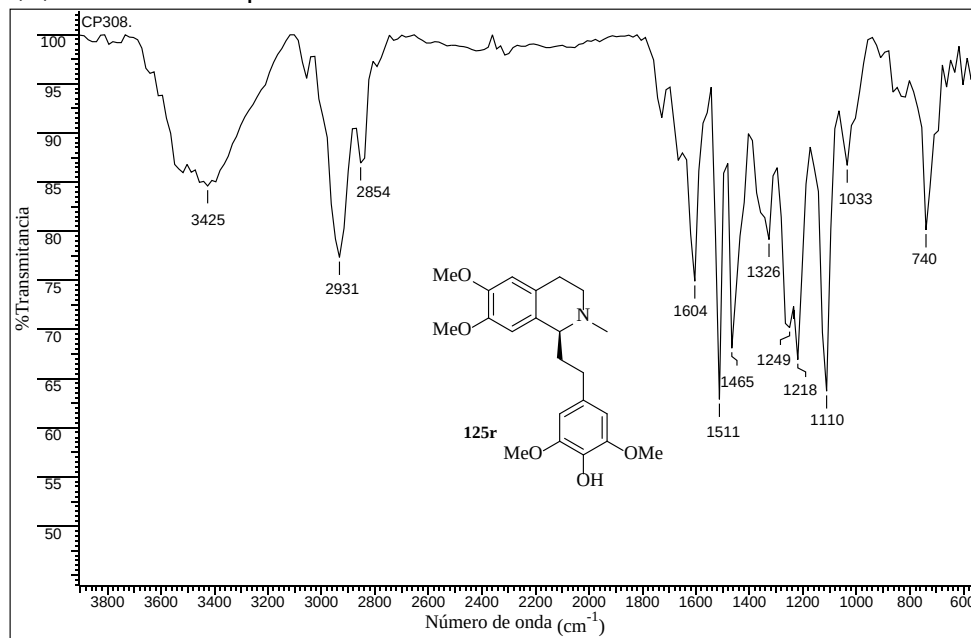


Anexo 78-E. Cromatograma HPLC en columna quiral de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125q**

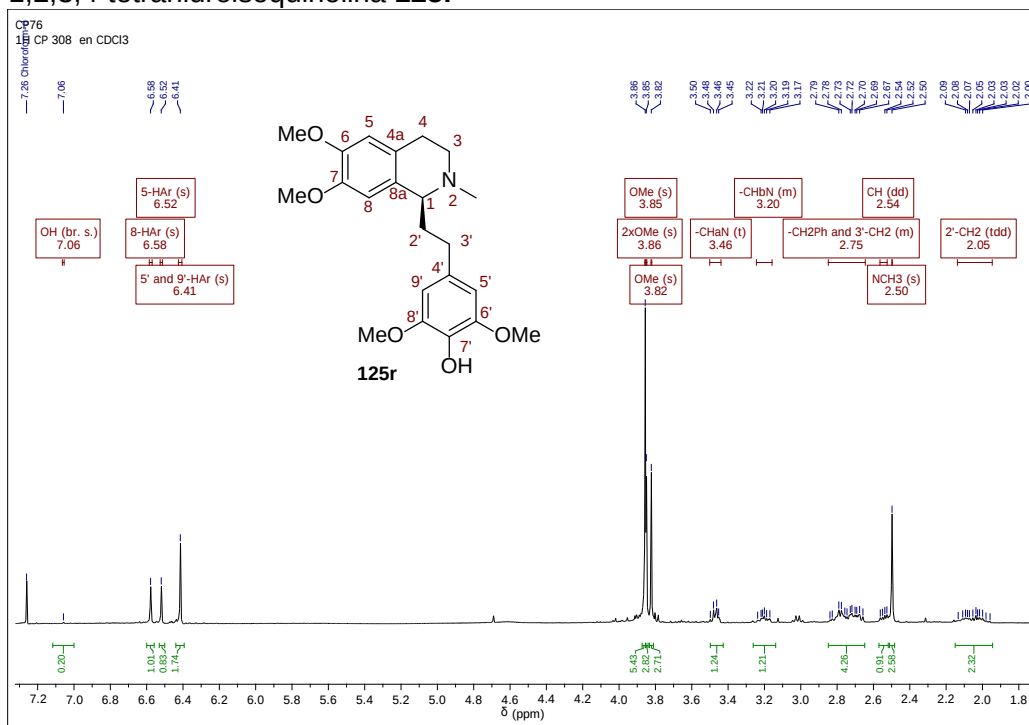


Anexo 79. Espectros relacionados con el compuesto **125r**.

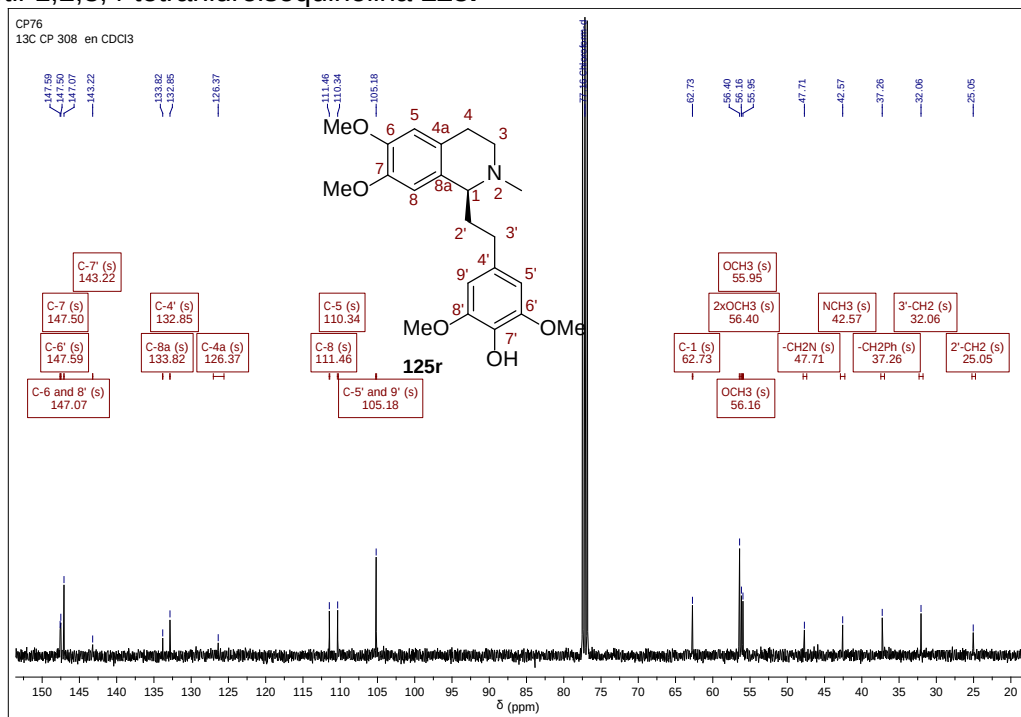
Anexo 79-A. Espectro infrarrojo de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125r**



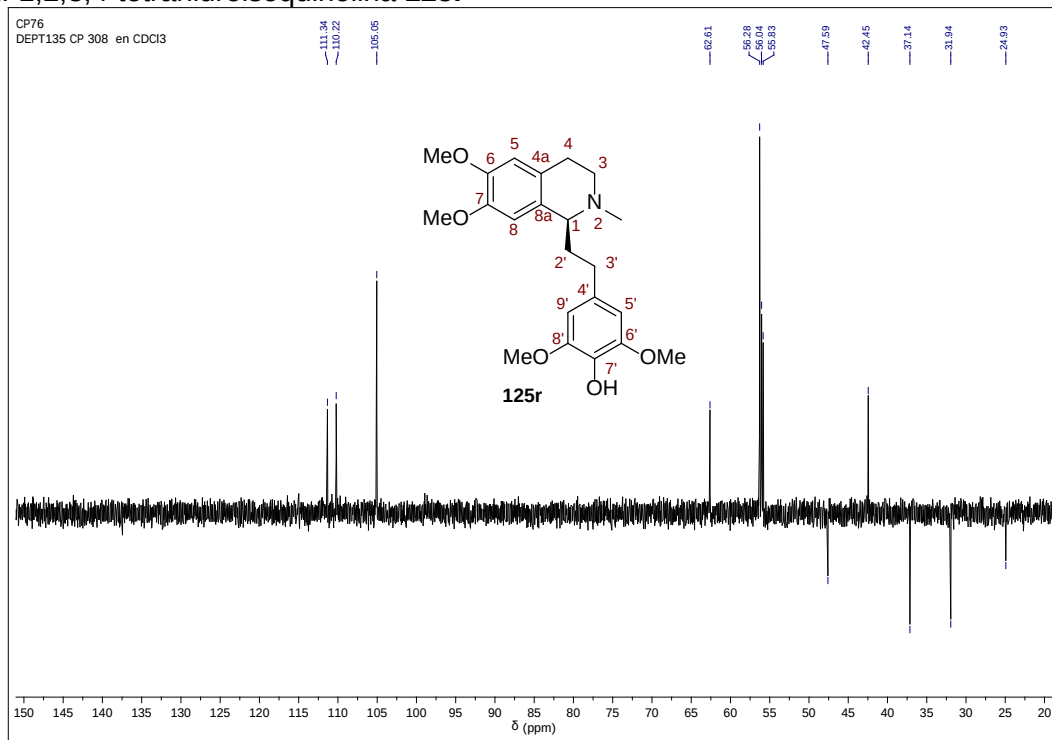
Anexo 79-B. Espectro de ¹H RMN de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125r**



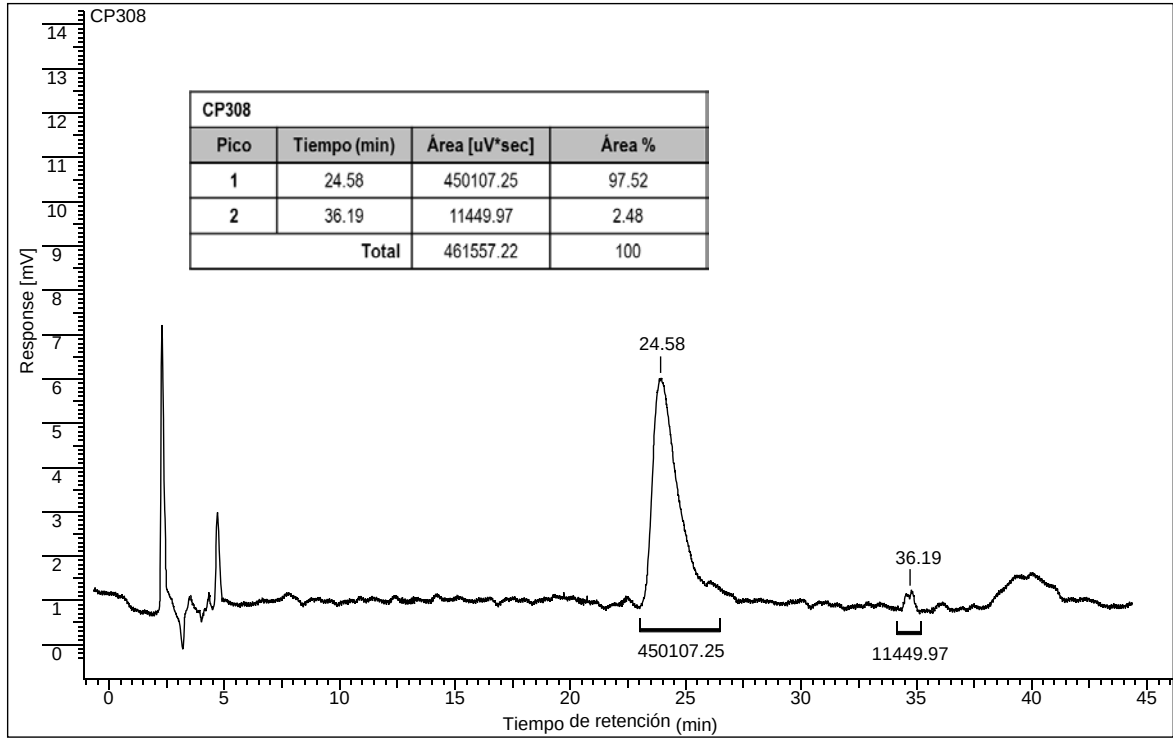
Anexo 79-C. Espectro de ^{13}C RMN de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125r**



Anexo 79-D. Espectro DEPT-135 de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125r**



Anexo 79-E. Cromatograma HPLC en columna quiral de la (S)-6,7-Dimetoxi-1-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **125r**

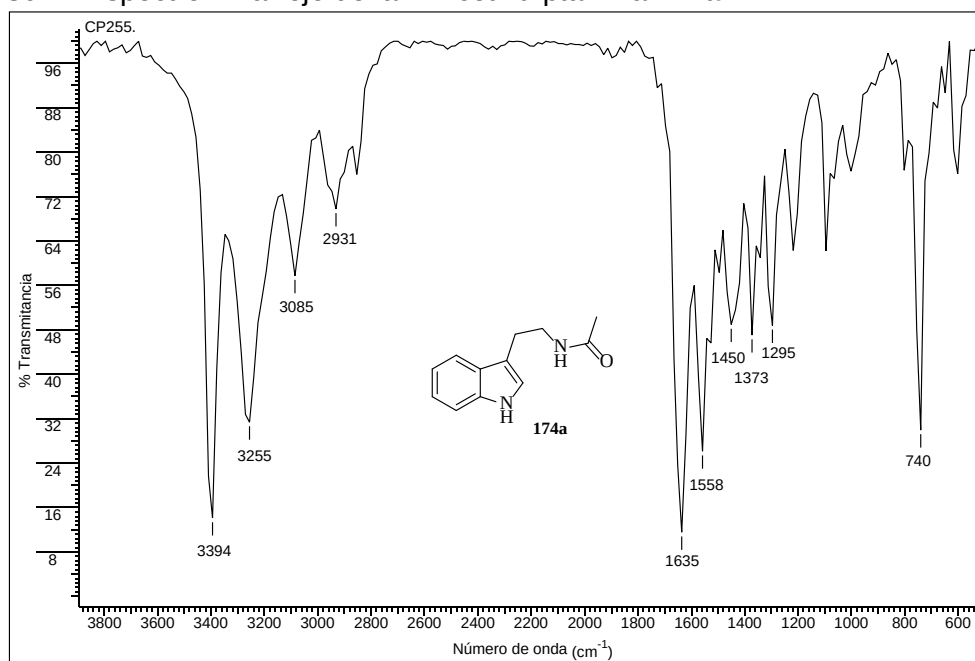


ANEXOS 80-81

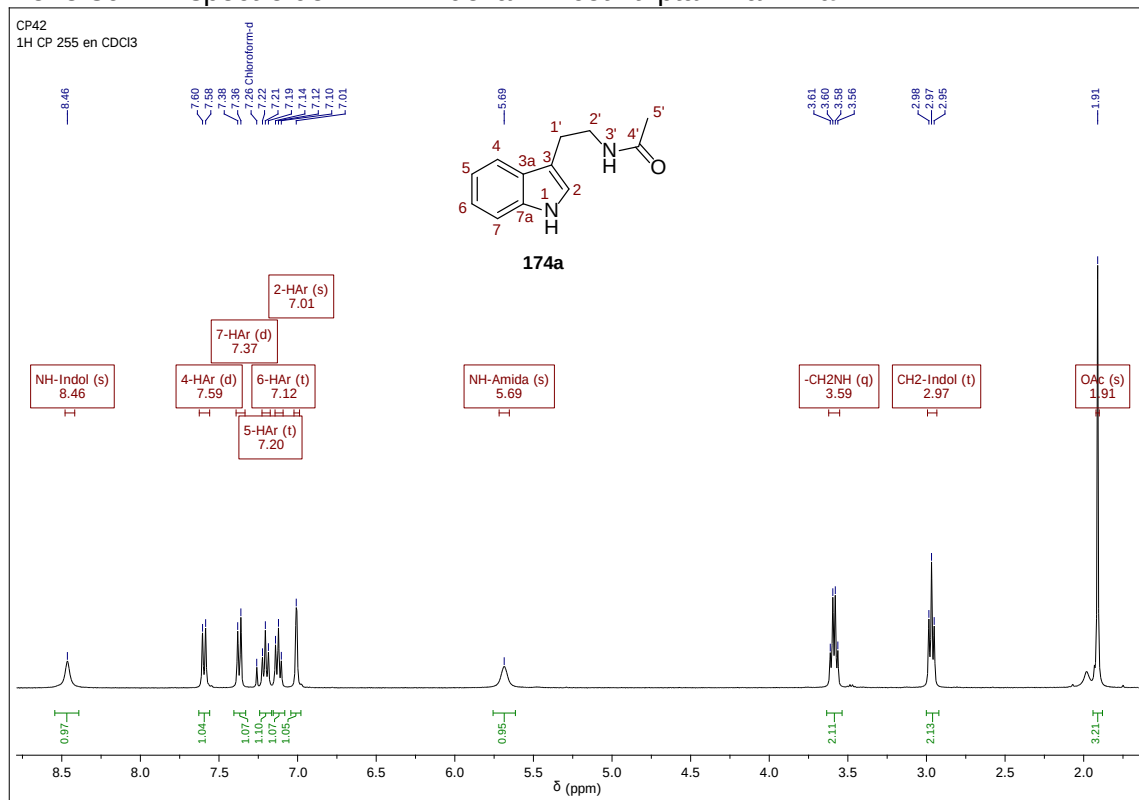
Información espectral relacionada con las *N*-acetil triptaminas 174a-b

Anexo 80. Espectros relacionados con el compuesto 174a.

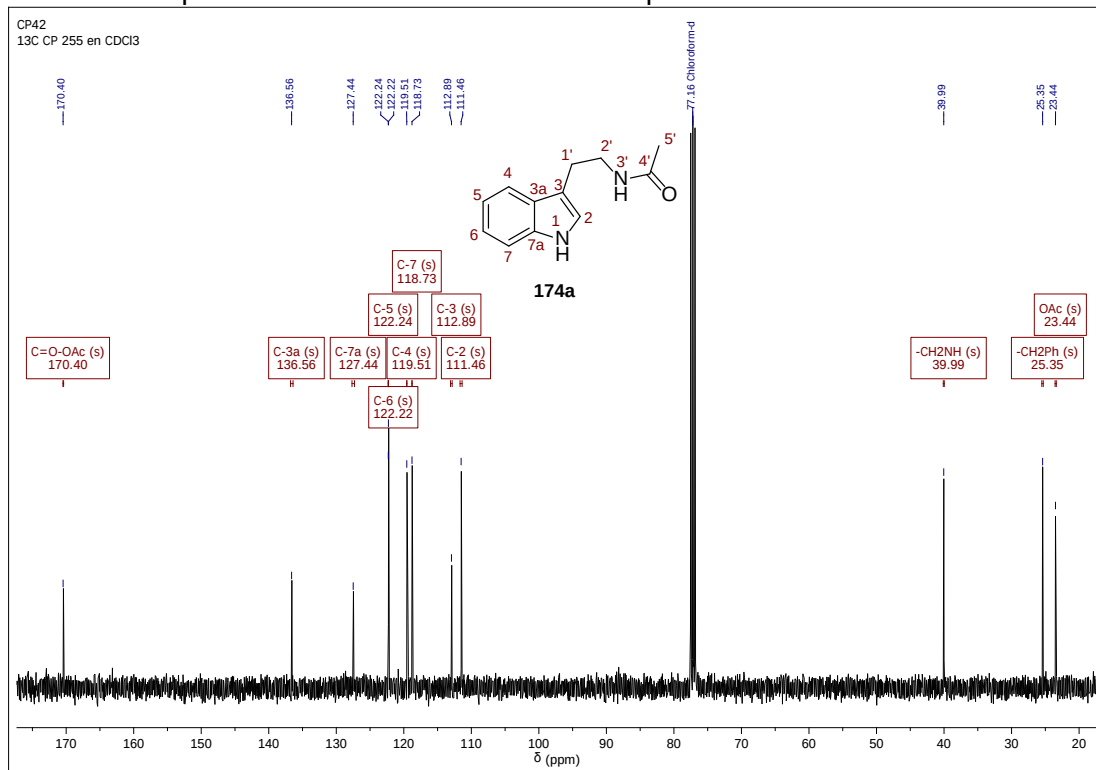
Anexo 80-A. Espectro infrarrojo de la *N*-Acetil-triptamina 174a



Anexo 80-B. Espectro de ¹H RMN de la *N*-Acetil-triptamina 174a

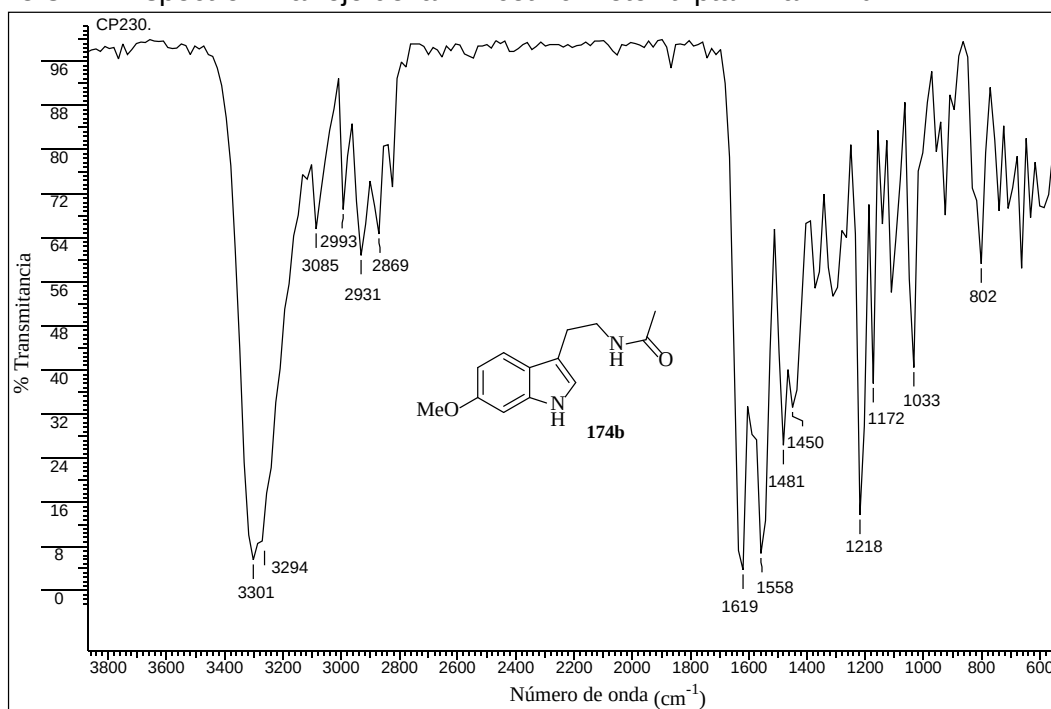


Anexo 80-C. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-Acetil-triptamina **174a**

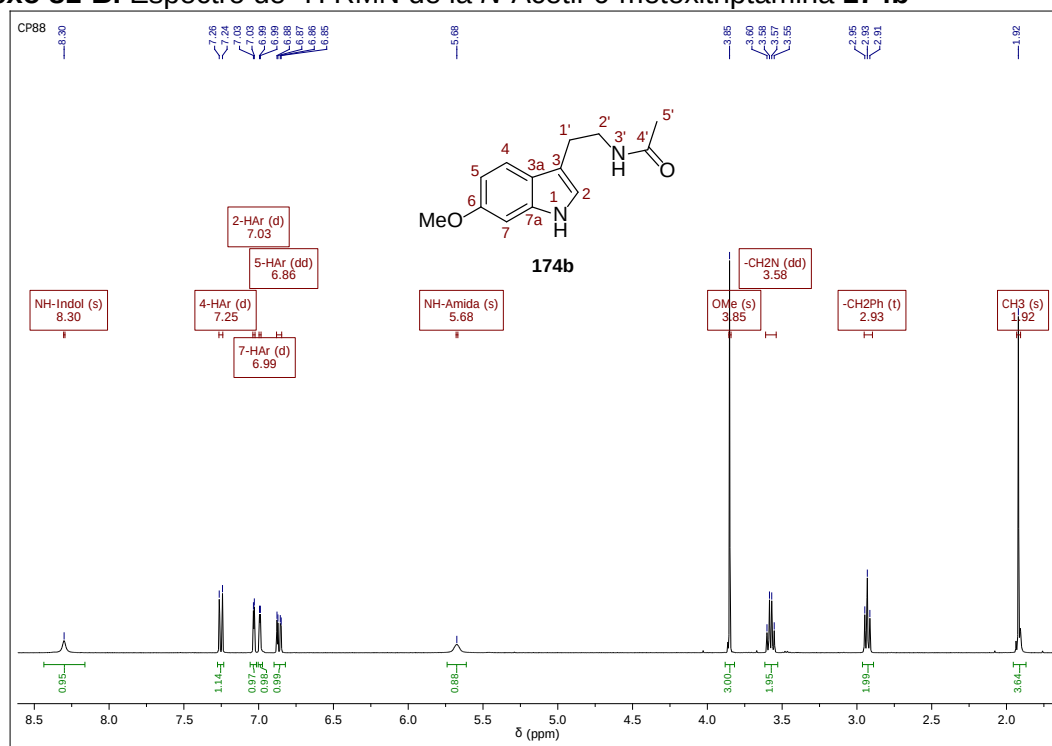


Anexo 81. Espectros relacionados con el compuesto 174b.

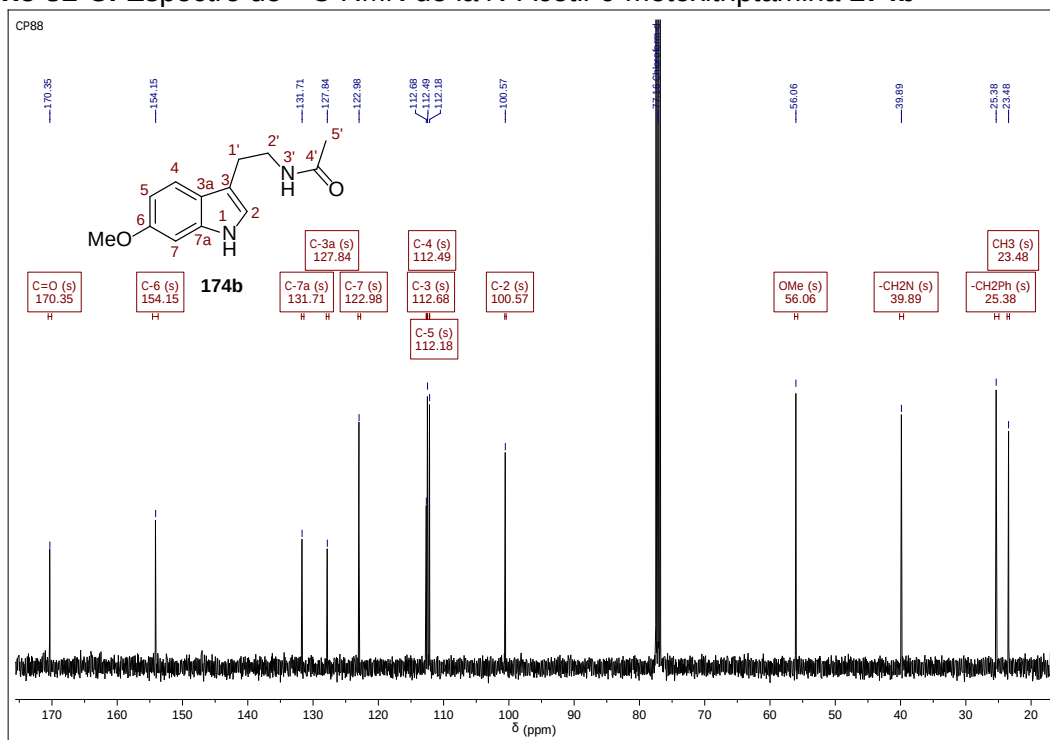
Anexo 81-A. Espectro infrarrojo de la N-Acetil-6-metoxitriptamina 174b



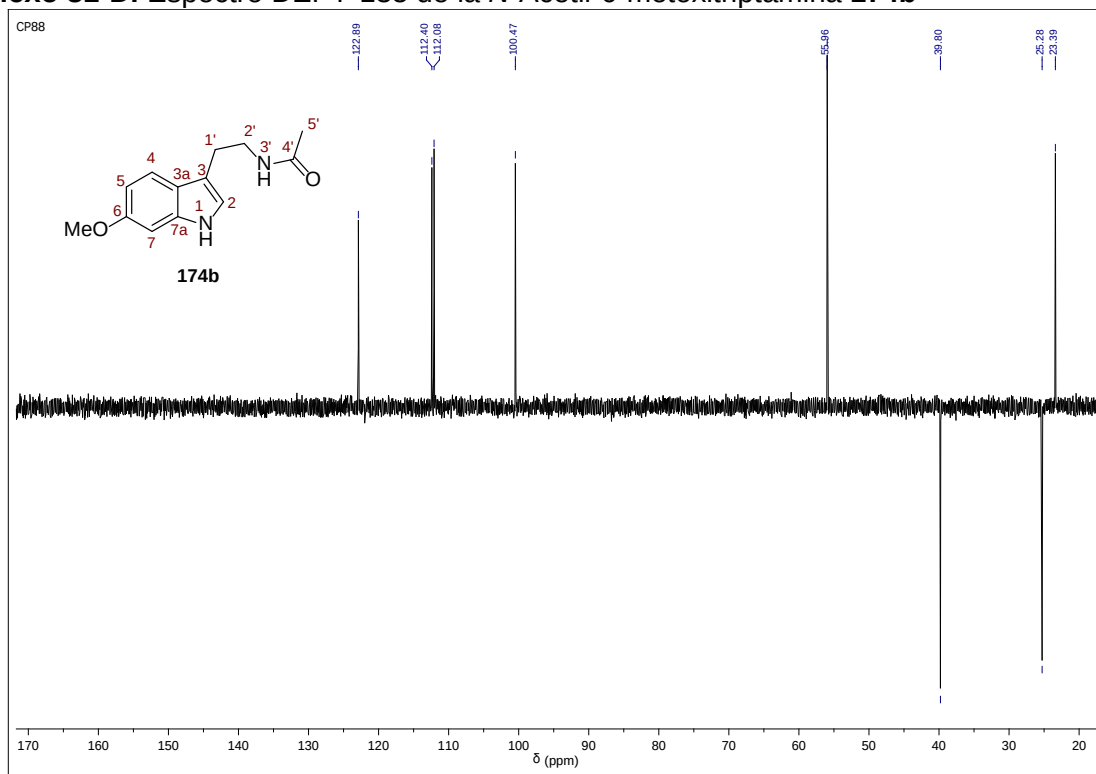
Anexo 81-B. Espectro de ¹H RMN de la N-Acetil-6-metoxitriptamina 174b



Anexo 81-C. Espectro de ^{13}C RMN de la *N*-Acetil-6-metoxitriptamina **174b**



Anexo 81-D. Espectro DEPT-135 de la *N*-Acetil-6-metoxitriptamina **174b**

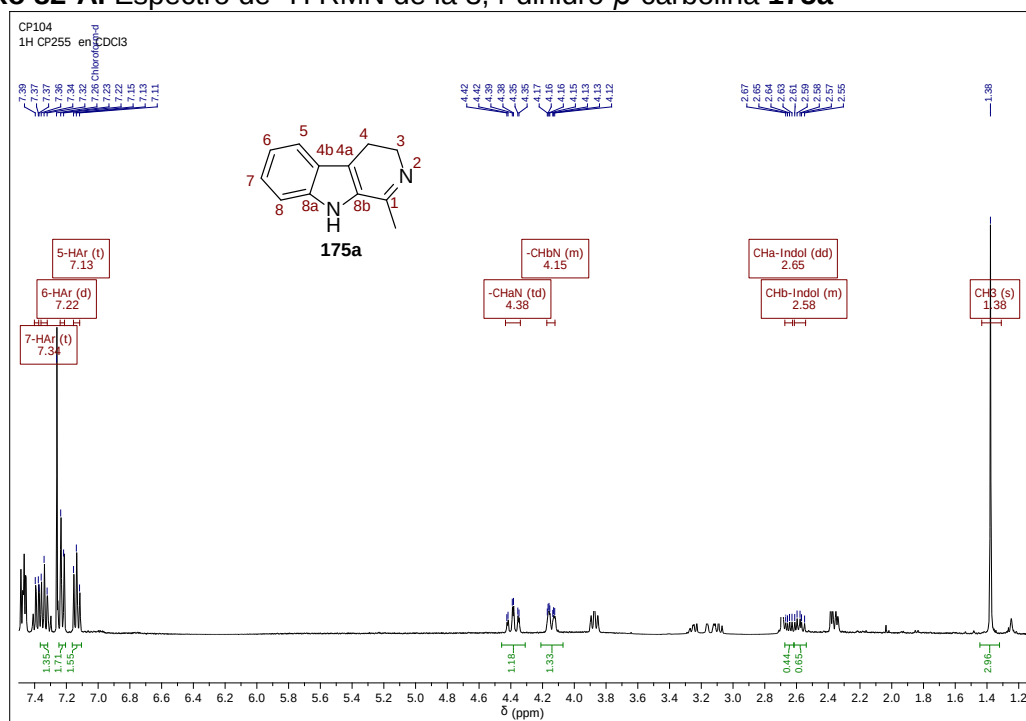


ANEXOS 82-87

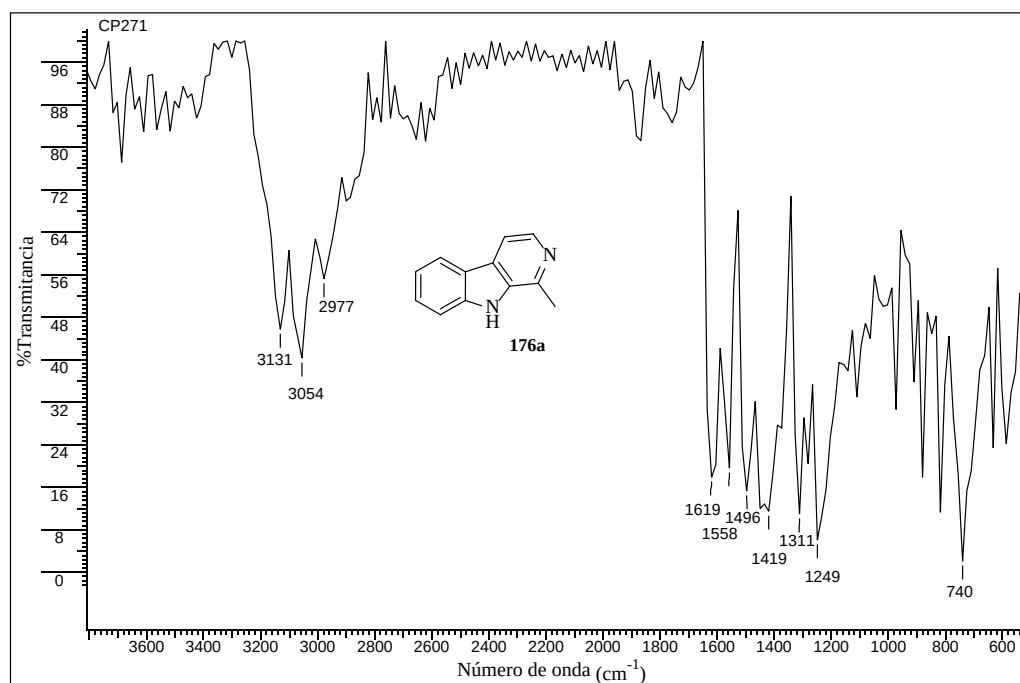
Información espectral relacionada con las 1-metil- β -carbolinas 176a-b

Anexo 82. Espectros relacionados con el compuesto 176a.

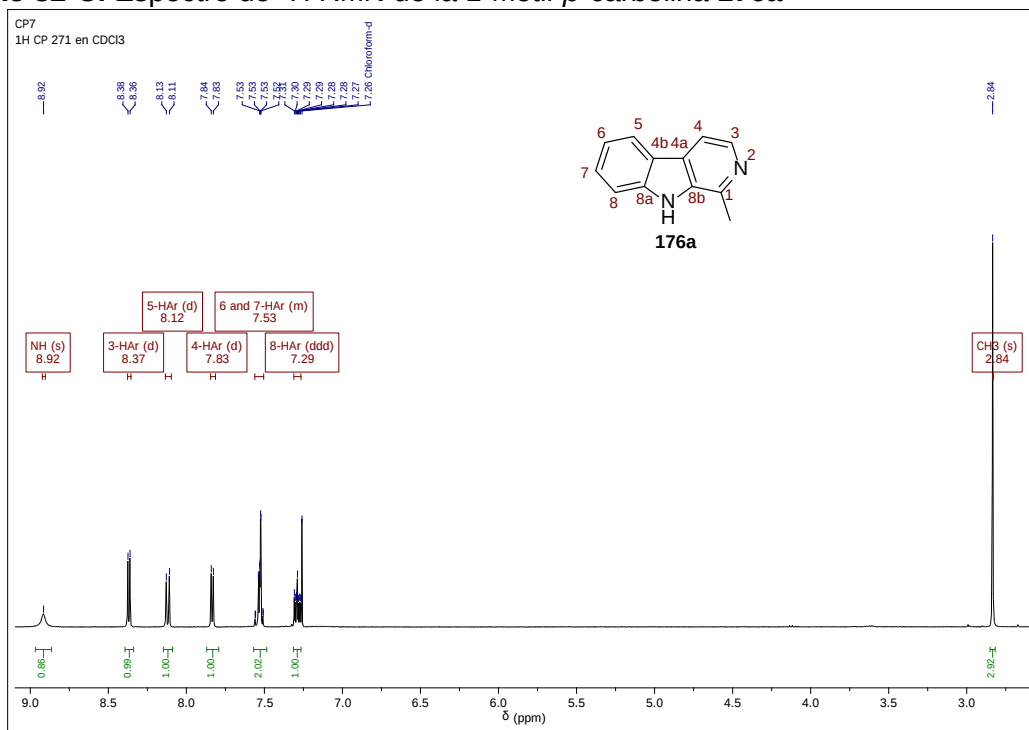
Anexo 82-A. Espectro de ^1H RMN de la 3,4-dihidro- β -carbolina 175a



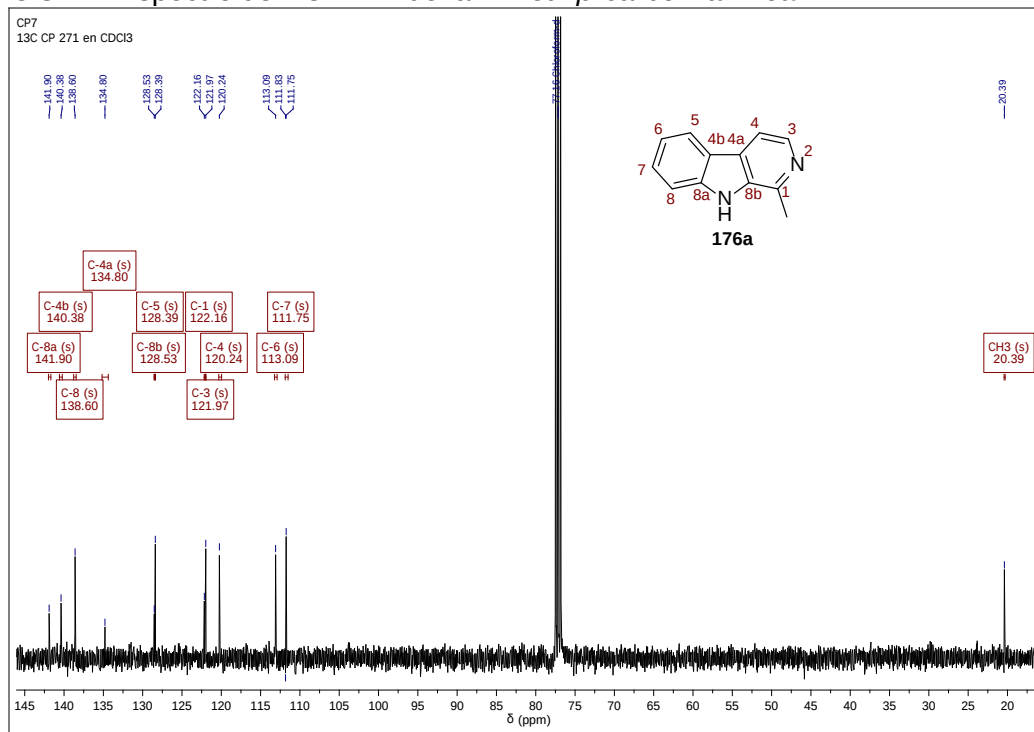
Anexo 82-B. Espectro infrarrojo de la 1-Metil- β -carbolina 176a



Anexo 82-C. Espectro de ^1H RMN de la 1-Metil- β -carbolina **176a**

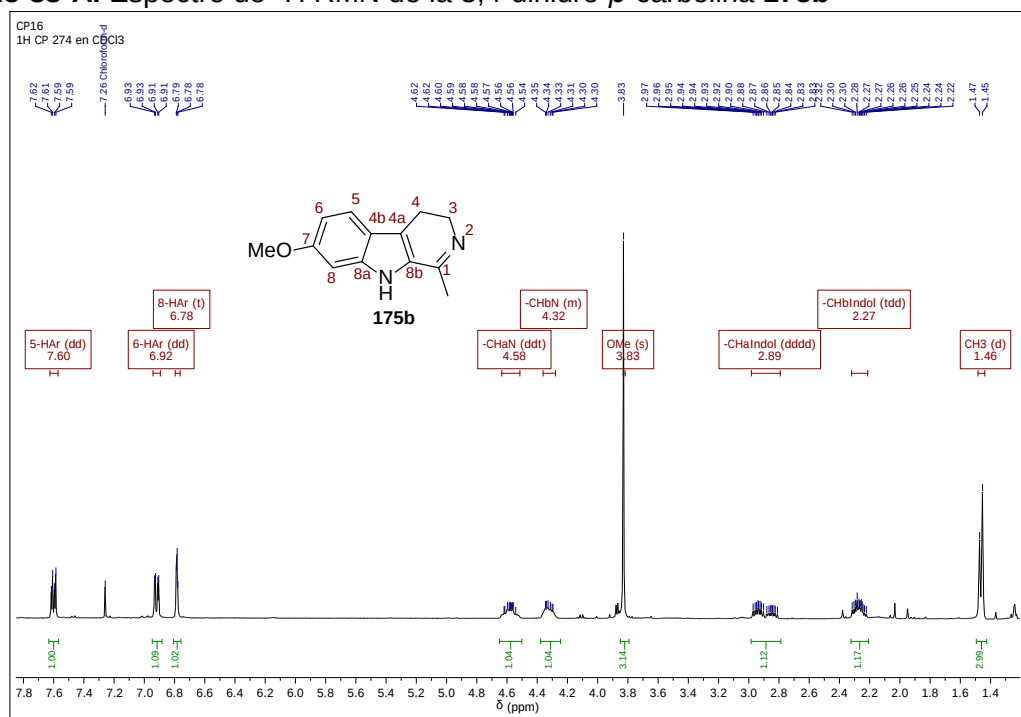


Anexo 82-E. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-Metil- β -carbolina **176a**

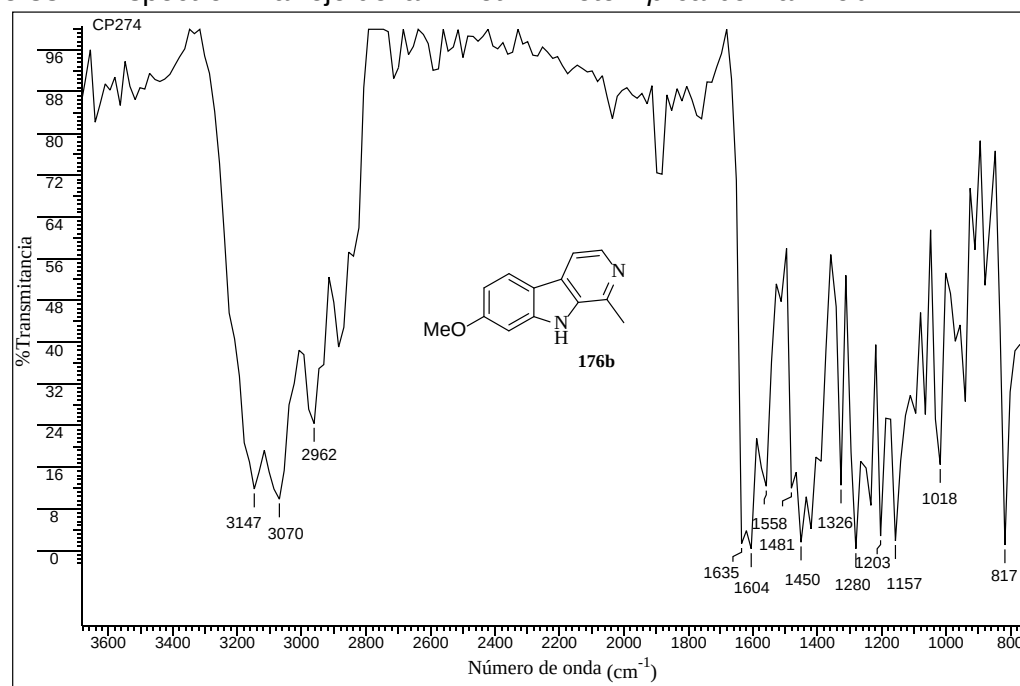


Anexo 83. Espectros relacionados con el compuesto 176b.

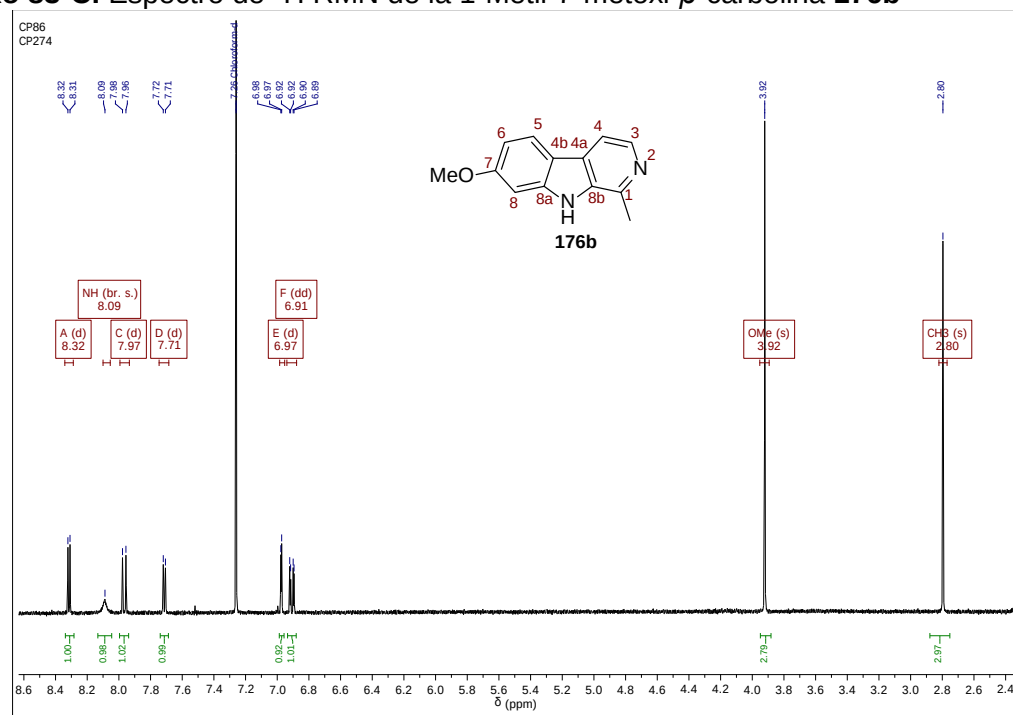
Anexo 83-A. Espectro de ^1H RMN de la 3,4-dihidro- β -carbolina 175b



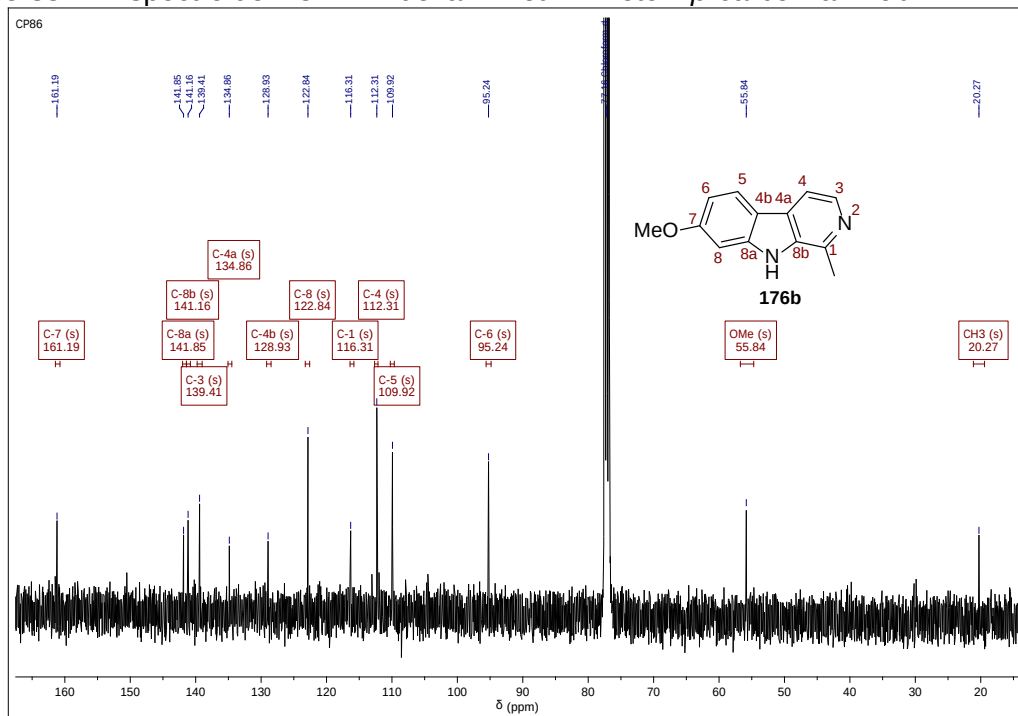
Anexo 83-B. Espectro infrarrojo de la 1-Metil-7-metoxi- β -carbolina 176b



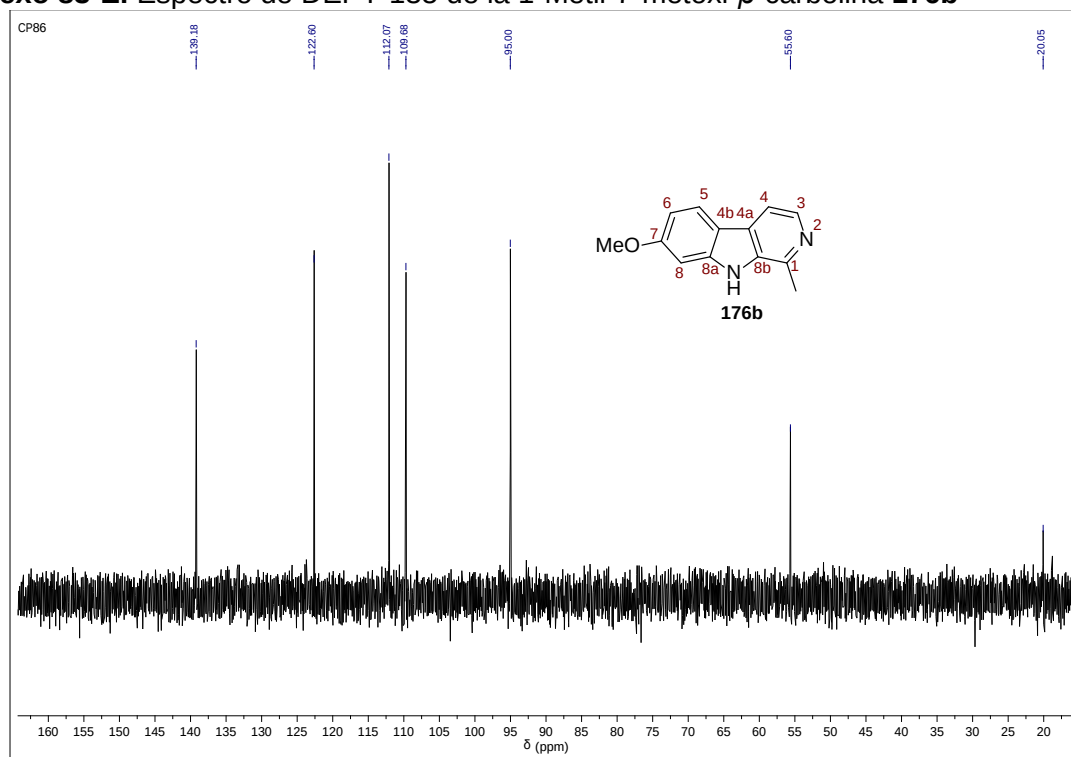
Anexo 83-C. Espectro de ^1H RMN de la 1-Metil-7-metoxi- β -carbolina **176b**



Anexo 83-D. Espectro de ^{13}C RMN de la 1-Metil-7-metoxi- β -carbolina **176b**

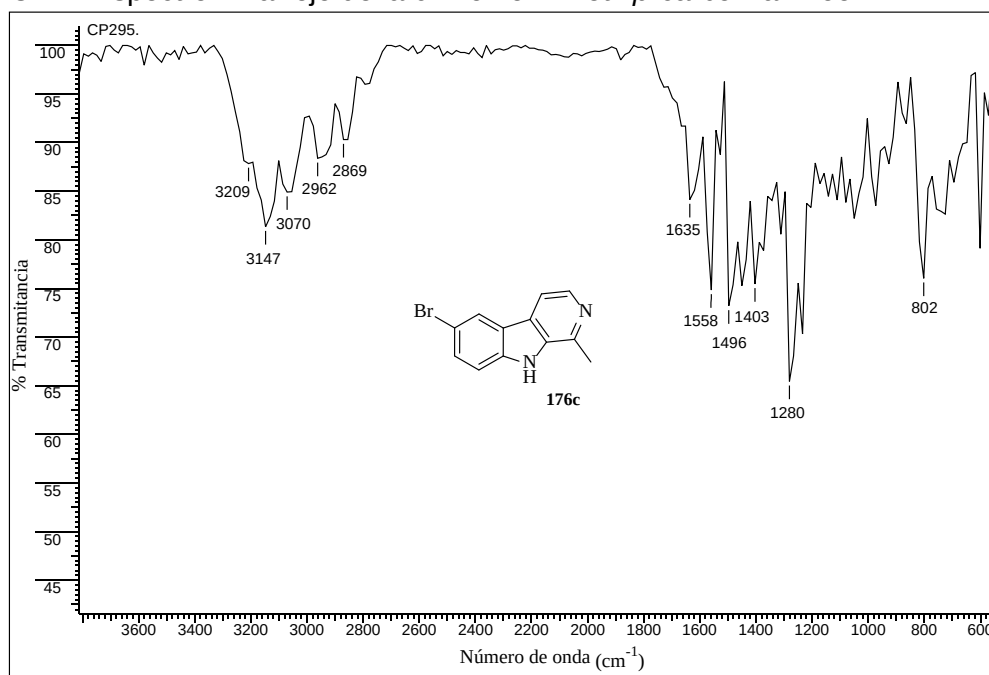


Anexo 83-E. Espectro de DEPT-135 de la 1-Metil-7-metoxi- β -carbolina **176b**

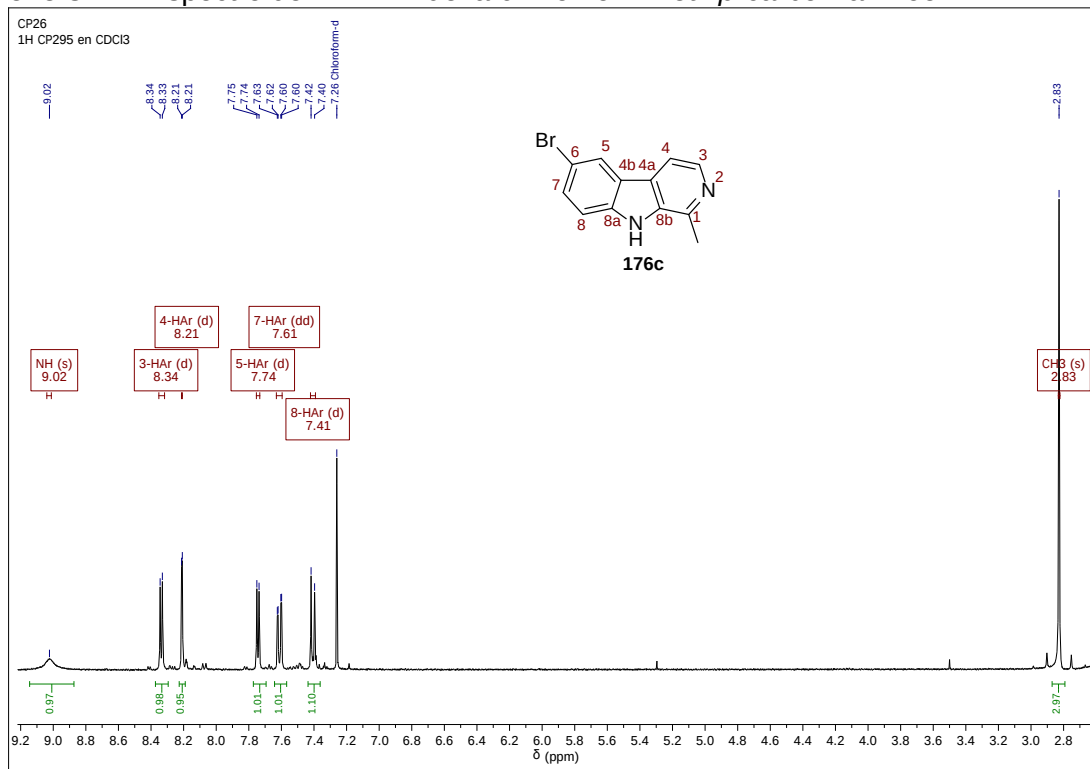


Anexo 84. Espectros relacionados con el compuesto **176c**.

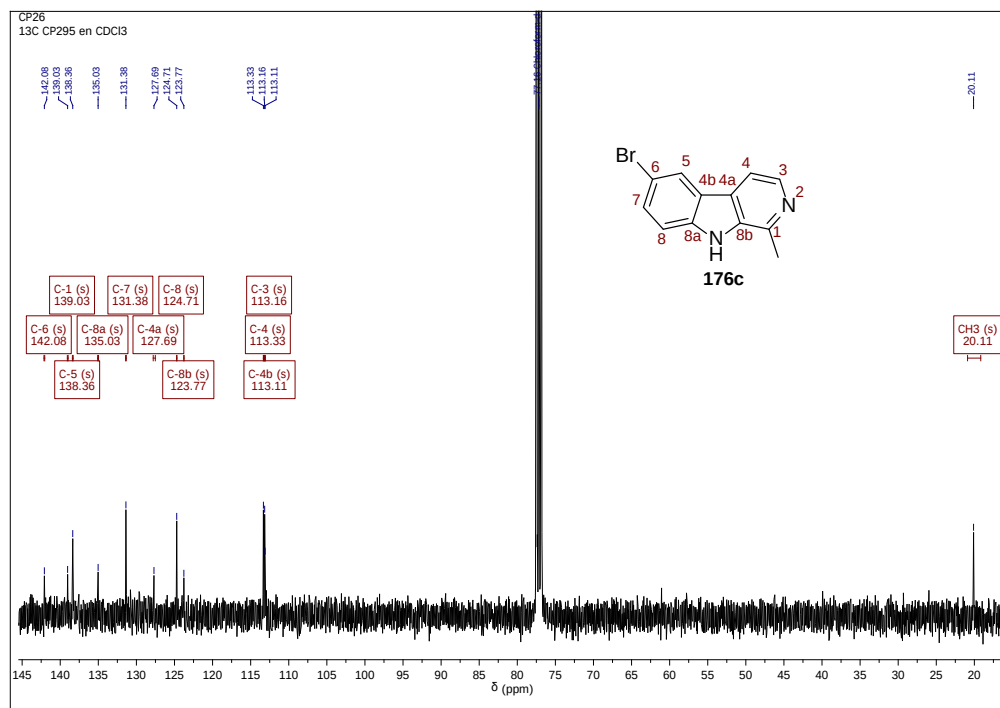
Anexo 84-A. Espectro infrarrojo de la 6-Bromo-1-metil- β -carbolina **176c**



Anexo 84-B. Espectro de ^1H RMN de la 6-Bromo-1-metil- β -carbolina **176c**

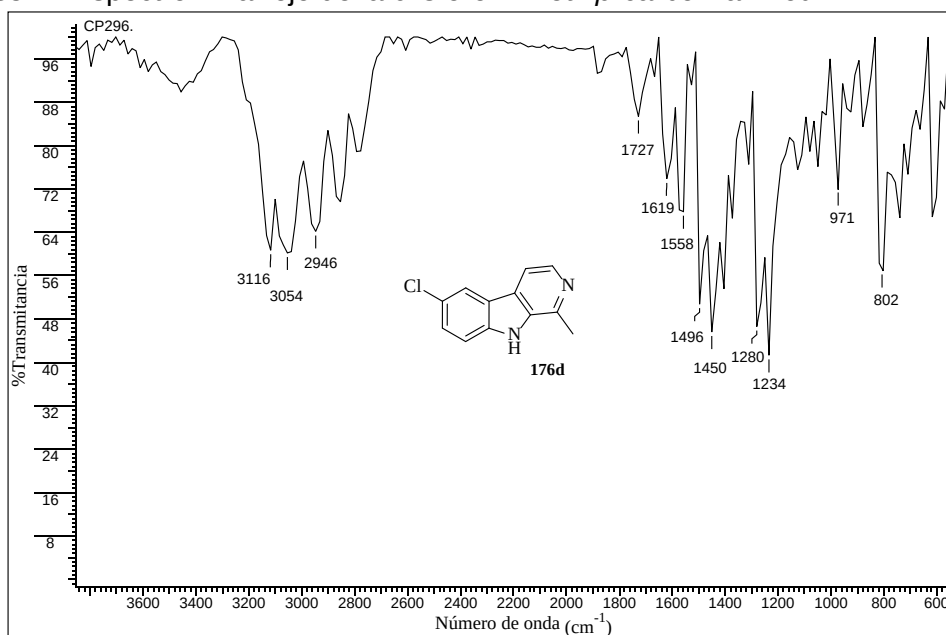


Anexo 84-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 6-Bromo-1-metil- β -carbolina **176c**

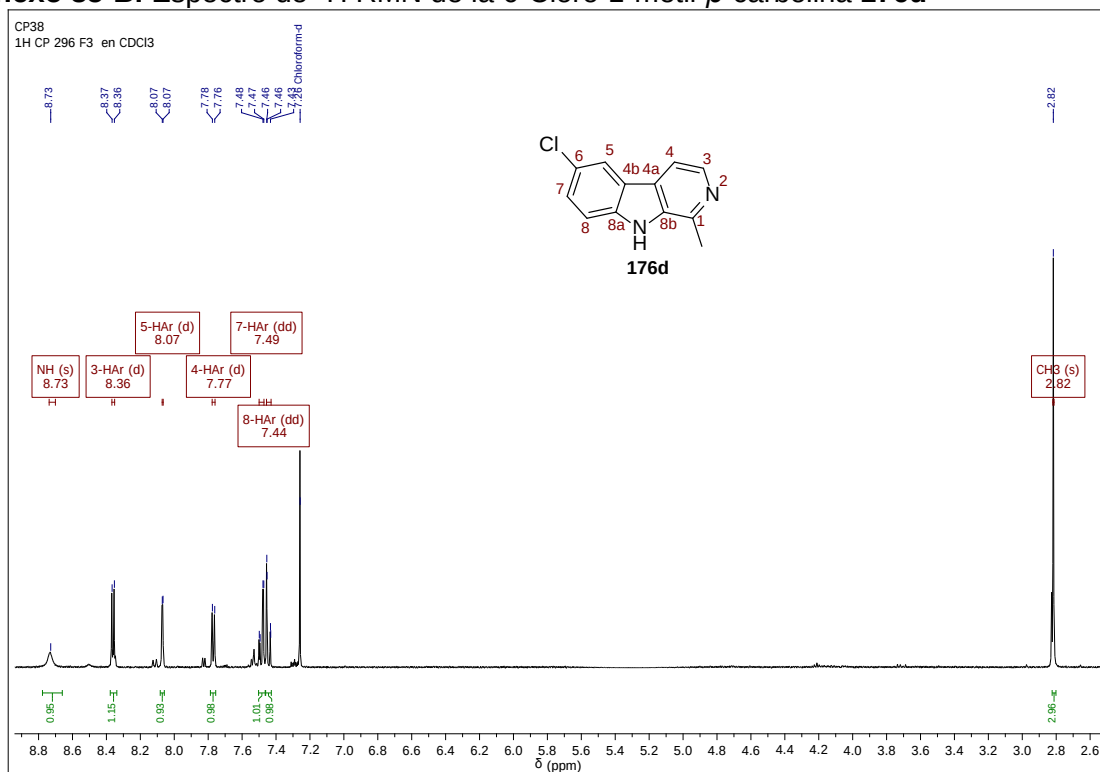


Anexo 85. Espectros relacionados con el compuesto **176d**.

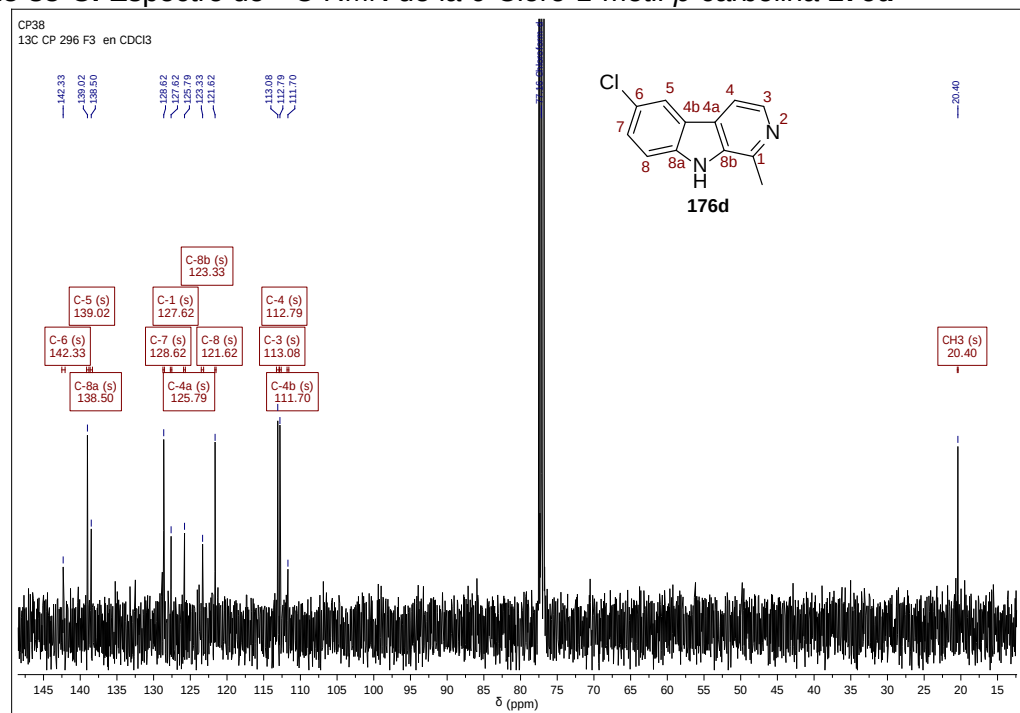
Anexo 85-A. Espectro infrarrojo de la 6-Cloro-1-metil- β -carbolina **176d**



Anexo 85-B. Espectro de ¹H RMN de la 6-Cloro-1-metil- β -carbolina **176d**

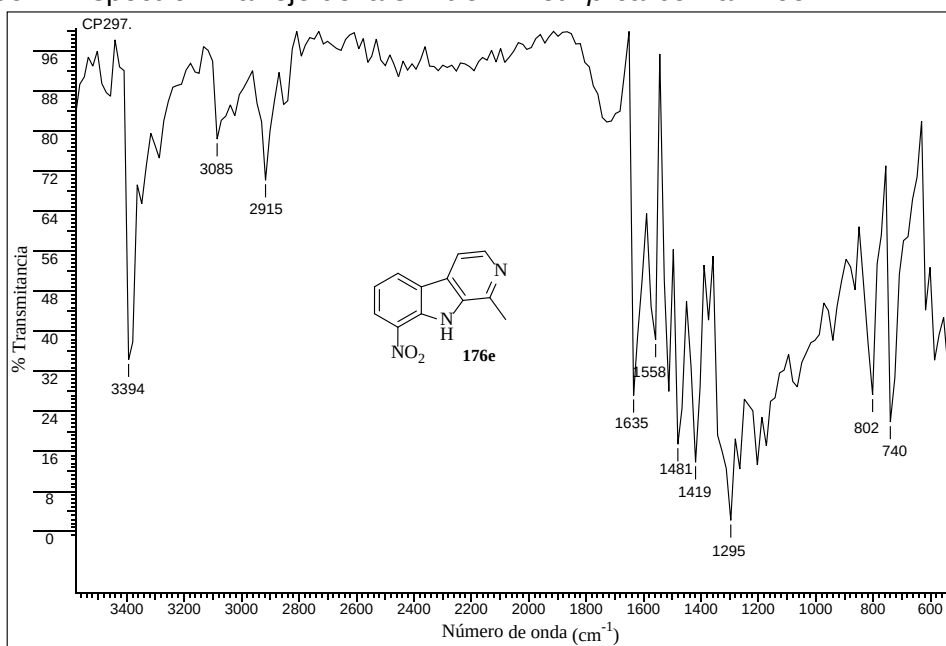


Anexo 85-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 6-Cloro-1-metil- β -carbolina **176d**

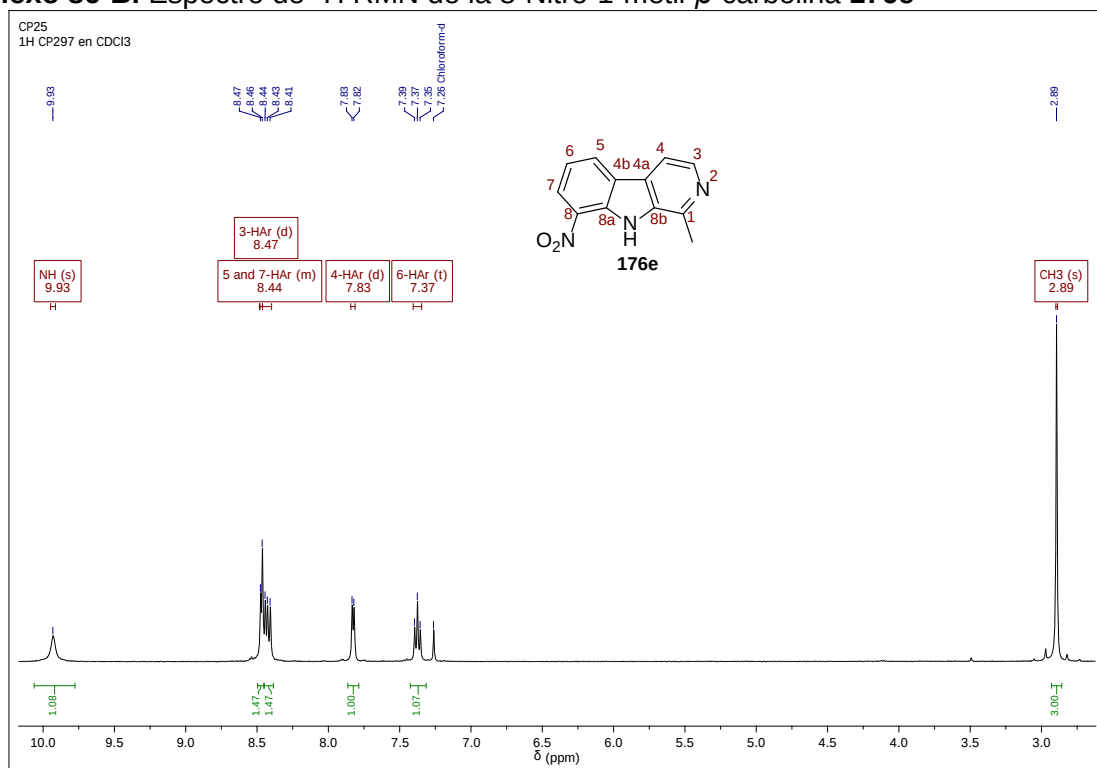


Anexo 86. Espectros relacionados con el compuesto **176e**.

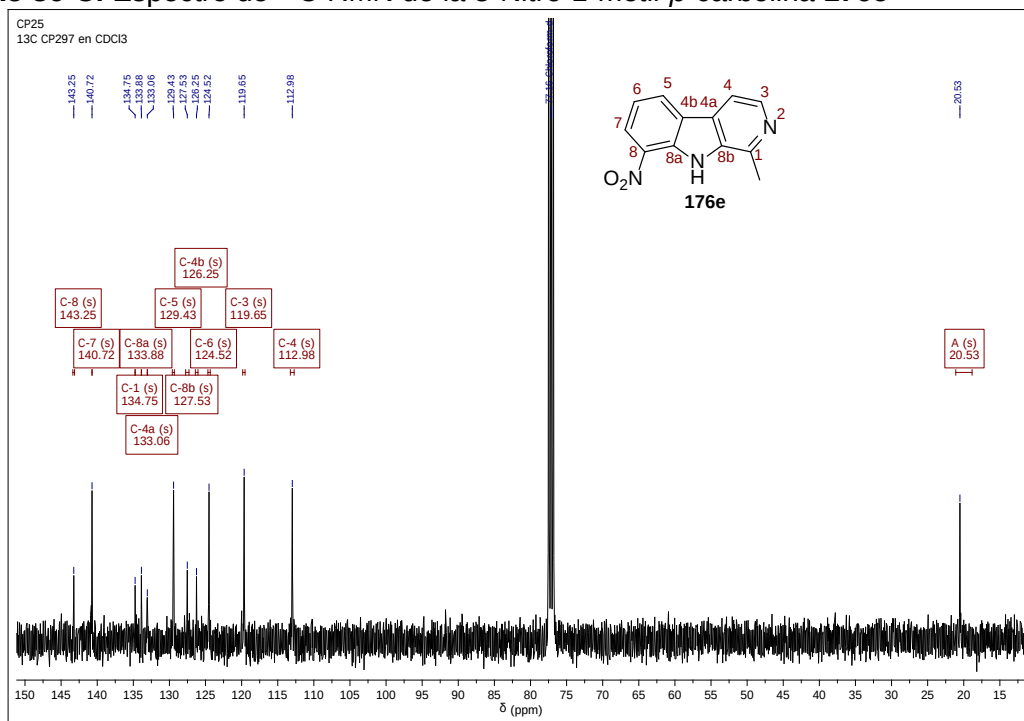
Anexo 86-A. Espectro infrarrojo de la 8-Nitro-1-metil- β -carbolina **176e**



Anexo 86-B. Espectro de ^1H RMN de la 8-Nitro-1-metil- β -carbolina **176e**

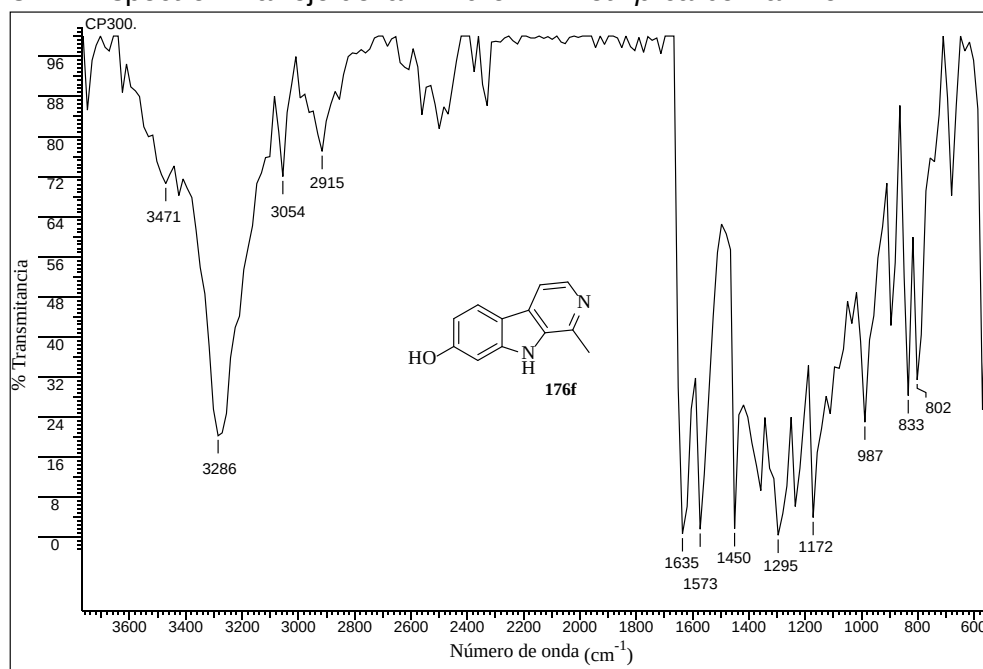


Anexo 86-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 8-Nitro-1-metil- β -carbolina **176e**

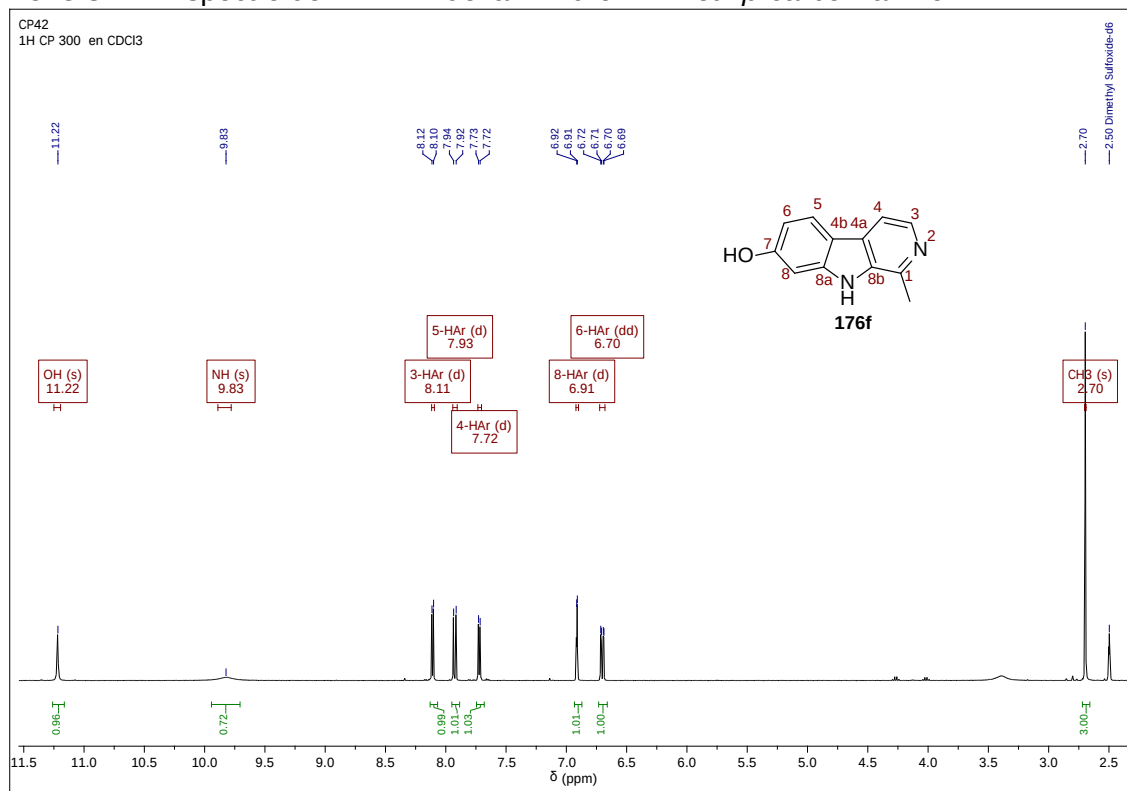


Anexo 87. Espectros relacionados con el compuesto **176f**.

Anexo 87-A. Espectro infrarrojo de la 7-Hidroxi-1-metil- β -carbolina **176f**



Anexo 87-B. Espectro de ^1H RMN de la 7-Hidroxi-1-metil- β -carbolina **176f**



Anexo 87-C. Espectro de ^{13}C RMN de la 7-Hidroxi-1-metil- β -carbolina **176f**

