

**PREPARACIÓN DE  $\alpha$ -AMINONITRILOS CON FRAGMENTOS N-HETEROCÍCLICOS VÍA REACCIÓN DE STRECKER SSA-CATALIZADA. SU PROSPECCIÓN BIOLÓGICA COMO INHIBIDORES DE LA AChE**

---

**AURORA LISETTE CARREÑO OTERO, *Qca***



**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE QUÍMICA  
MAESTRÍA EN QUÍMICA  
BUCARAMANGA  
2012**

**PREPARACIÓN DE  $\alpha$ -AMINONITRILOS CON FRAGMENTOS N-HETEROCÍCLICOS VÍA REACCIÓN DE STRECKER SSA-CATALIZADA. SU PROSPECCIÓN BIOLÓGICA COMO INHIBIDORES DE LA AChE**

---

**AURORA LISETTE CARREÑO OTERO, Qca**

**Trabajo de investigación para optar el título de:  
Magister en Química**

**Director de la Investigación:  
Profesor VLADIMIR V. KOUZNETSOV, PhD, DSc**



**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE QUÍMICA  
MAESTRÍA EN QUÍMICA  
BUCARAMANGA  
2012**

*A Dios, que traza mi camino y me acompaña siempre, rodeándome de personas  
que me demuestran que nunca estoy sola.*

*Nuevamente a mi Aurora  
y mi Felicidad.*

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer y hacer un público reconocimiento a todas aquellas personas que contribuyeron para que fuera posible la realización de este trabajo de investigación:

En primer lugar, a mi director de tesis, Vladimir V. Kouznetsov, Químico *PhD, DSc*, por la confianza que deposito en mi desde el inicio, por creer en mi, por su paciencia, comprensión y apoyo durante todo el proceso y sobre todo gracias por haberme dado la oportunidad de trabajar bajo su sabia orientación en el mejor laboratorio de investigación de la Universidad, donde aprendí que todo es posible si se trabaja con humildad y con disciplina.

A mi familia, en especial a mi tío Martín y a mi tía Angela por su apoyo y comprensión, por tratarme siempre como una hija, por velar por mi bien y por nunca dejarme desfallecer. A mi abuela Doña Feli por su amor maternal y por su comunicación directa con Diosito, porque siempre abogó por mí aunque no lo mereciera, y sobre todo porque aunque ya no nos acompaña yo se que sigue velando por todos nosotros. Pero sobre todo a mi MADRE, por su amor abnegado, por su fuerza para afrontar tantas cosas... Mamita gracias por todo lo que soy y todo lo que no.

A mi Oscar Leonardo, por su amor, paciencia y comprensión durante este trabajo, por su apoyo y todo lo que hizo para que siempre me salieran las cosas de la mejor manera. Te amo con todo mi corazón.

A mis mosqueteras, Andrea Peña, Deisy Rodriguez y Laura Chaparro, compañeras de tantas batallas, por su sincera amistad, compañía y comprensión durante todos estos años de amistad. Por su lealtad, colaboración desinteresada

y por su respaldo frente a la vida... Las adoro con todo mi corazón. A mi amiga Rosita que me acompañó durante la maestría, es un orgullo graduarnos juntas.

A los Profesores Urbina y Sierra por su importante labor como evaluadores de mi tesis. A la Doctora Elena Stashenko y su laboratorio de Cromatografía por la toma de los espectros de masas, a la Doctora Leonor Vargas y al Magister Amner Muñoz, del LQOBio-UIS, por su colaboración en la realización de los ensayos de inhibición de la enzima AChE. Al DrJonny Duque por su dirección y colaboración en la realización de los ensayos *in vivo*.

A Diego Fernando Amado Torres, Químico *MSc*, Dr. Carlos Mario Melendez Químico, Karime Luna Magister y próximamente doctora y al Dr. Gregorio Hernandez, por su contribución desinteresada, sabios consejos y comprensión. Por darme ese “empujón” que me llevo a seguir mi sueño y realizar mi tesis de grado en Síntesis Orgánica, y nunca dejarme rendir.

A aquellos que comparten esta misma pasión por la química orgánica, y que me enseñaron no solo acerca de reacciones y purificaciones, sino que dejaron en mi muchas enseñanzas que estoy segura me llevaron a ser mejor persona, a mis compañeros del LQObio, mis compañeros de trabajo, y algunos además por ser el hombro incondicional donde siempre encontré y sé que seguiré encontrando apoyo.

## Contenido

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>26</b>
<b>2. ESTADO DEL ARTE</b>	<b>30</b>
<b>2.1 HISTORIA E IMPORTANCIA DE LOS COMPUESTOS NATURALES DEL TIPO METABOLITOS SECUNDARIOS</b>	<b>30</b>
Roles ecológicos de los alcaloides	31
<b>2.2 CIANOGENÉISIS</b>	<b>33</b>
<b>2.3 COMPUESTOS CIANOGENÍICOS</b>	<b>36</b>
2.3.1 Glicósidos cianogénicos	37
2.3.2 Alcaloides	41
2.3.3 Alcaloides cianogénicos	43
<b>2.4 ENSAYOS BIOLÓGICOS</b>	<b>44</b>
2.4.1 Neurotransmisores	44
2.4.2 Acetilcolina y acetilcolinesterasa	45
2.4.3 Inhibidores de la AChE	46
2.4.4 Enfermedad de Alzheimer. Tratamientos	49
Estrategias farmacoterapéuticas	49
2.4.5 Actividad insecticida	51
2.4.5.1 <i>Aedes aegypti</i> : vector trasmisor del dengue	52
2.4.5.2 Pudrición de cogollo en palma africana y plagas oportunistas	53
<b>2.5 CONSTRUCCIÓN DE <math>\alpha</math>-AMINONITRILOS</b>	<b>56</b>
2.5.1 Reacción de Strecker. Antecedentes	56
2.5.2 Fuentes de cianuro	57
2.5.3. Catalizadores	59
Catalizadores soportados	61
<b>2.6 MÉTODOS SINTÉTICOS PARA LA GENERACIÓN DE A-AMINONITRILOS</b>	<b>62</b>

2.6.1 Empleo de ácidos de Lewis	62
2.6.2 Empleo de la acetona cianhídrica en la reacción de Strecker	63
2.6.3 Empleo del catalizador ácido clorosulfónico soportado sobre gel de sílice	65
<b>2.7 LA GIRGENSOHNINA Y SUS ANÁLOGOS: SÍNTESIS yEVALUACIÓN BIOLÓGICA</b>	<b>67</b>
<b>2.8 DISEÑO RACIONAL DE SISTEMAS CON POSIBLE ACTIVIDAD BIOLÓGICA</b>	<b>68</b>
2.8.1 Estrategia de hibridación molecular	69
2.8.2 Métodos computacionales	70
<b>3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>72</b>
<b>4. HIPÓTESIS DEL TRABAJO</b>	<b>73</b>
<b>5. OBJETIVOS</b>	<b>74</b>
5.1 Objetivo general	74
5.2 Objetivos específicos	74
<b>6. DISEÑO RACIONAL DE NUEVOS SISTEMAS <math>\alpha</math>-AMIONONITRÍLICOS CON POSIBLE ACTIVIDAD BIOLÓGICA</b>	<b>76</b>
6.1 INTRODUCCIÓN DEL PRINCIPIO DE HIBRIDACIÓN MOLECULAR	76
6.2 CRIBADO VIRTUAL	80
<b>7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS DEL ESTUDIO DE CRIBADO VIRTUAL</b>	<b>86</b>
<b>8. PARTE EXPERIMENTAL</b>	<b>92</b>
<b>8.1 CONSIDERACIONES GENERALES</b>	<b>92</b>
<b>8.2 SÍNTESIS DE PRECURSORES</b>	<b>94</b>
8.2.1 Obtención del precursor acetona cianhídrica.	94
8.2.2 Preparación del catalizador ácido soportado en gel de sílice	94
<b>8.3 SÍNTESIS DE LOS <math>\alpha</math>-AMINONITRILOS ANÁLOGOS DEL ALCALOIDE GIRGENSOHNINA</b>	<b>95</b>

<b>9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS EXPERIMENTALES</b>	<b>106</b>
<b>9.1 ESTUDIOS PREVIOS</b>	<b>106</b>
<b>9.2 PREPARACIÓN DE LOS NUEVOS <math>\alpha</math>-AMINONITRILOS 1, 2 y 3.</b>	<b>107</b>
<b>9.3 PREPARACIÓN DE LOS HÍBRIDOS <math>\alpha</math>-AMINONITRILOS 4 y 5.</b>	<b>119</b>
<b>10. ENSAYOS DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA</b>	<b>125</b>
<b>10.1 ENSAYO DE INHIBICIÓN <i>IN VITRO</i> DE LA ENZIMA AChE BOVINA</b>	<b>125</b>
<b>10.2 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD LARVICIDA DE LOS ANÁLOGOS 1a-c     Y 2a-c.</b>	<b>128</b>
10.2.1 Establecimiento y mantenimiento de una colonia de mosquitos del género <i>Aedes aegypti</i>	129
10.2.2 Ensayo de actividad insecticida sobre larvas del mosquito <i>A. aegypti</i>	131
<b>11. CONCLUSIONES</b>	<b>135</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>137</b>
<i>ANEXOS</i>	<b>152</b>

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1.</b> El almatruz: sus alcaloides y enemigos potenciales	32
<b>Figura 2.</b> Pacientes con la enfermedad de BukaBuka	36
<b>Figura 3.</b> La amigdalina. Frutos comestibles que le contienen	38
<b>Figura 4.</b> Semejanzas estructurales de la girgensohnina y el dhurrin	43
<b>Figura 5.</b> Mecanismo simplificado de la degradación de la acetilcolina en el sitio activo de la AChE	47
<b>Figura 6.</b> Usos y ejemplos de los IACHes	48
<b>Figura 7.</b> Los IACHes como fármacos	50
<b>Figura 8.</b> Insecticidas y productos naturales	52
<b>Figura 9.</b> Escala de grados de severidad de la Pudricion de cogolloPC (Cenipalma)	54
<b>Figura 10.</b> Escarabajo <i>Rhynchophoruspalmarum</i> L	55
<b>Figura 11.</b> Actividad inhibitoria frente AChE de la girgensohnina y sus análogos sintéticos	67
<b>Figura 12.</b> Precursores amínicos. Entidades con acción biológica	77

<b>Figura 13.</b> Precursores benzaldehídicos. Entidades con acción biológica	78
<b>Figura 14.</b> Girgensohnina y compuestos similares	79
<b>Figura 15.</b> Estructuras producto del análisis de hibridación molecular	80
<b>Figura 16.</b> Pasos implementados para el cribado virtual	80
<b>Figura 17.</b> Presentación de los resultados obtenidos del software Molinspiration.	81
<b>Figura 18.</b> Análisis utilizando el programa interactivo ALOGPS 2.1	82
<b>Figura 19.</b> Cálculos de diferentes parámetros empleando el programa I-Lab 2.0	83
<b>Figura 20.</b> Determinación de los descriptores para la ecuación de Abraham	84
<b>Figura 21.</b> Resultados de toxicidad para la talidomida encontrados con el programa Osiris de ACTELION	85
<b>Figura 22.</b> Estructuras de los análogos a evaluar	87
<b>Figura 23.</b> Estructuras de los análogos $\alpha$ -aminonitrílicos obtenidos	95
<b>Figura 24.</b> Resultado de IR para el producto <b>2b</b>	111
<b>Figura 25.</b> Fragmentograma del producto <b>1a</b>	111

<b>Figura 26.</b> Espectro de $^1\text{H}$ RMN del producto <b><u>1a</u></b>	114
<b>Figura 27.</b> Espectro de los protones arílicos del producto <b><u>1d</u></b>	115
<b>Figura 28.</b> Espectro de $^{13}\text{C}$ RMN del producto <b><u>1a</u></b>	117
<b>Figura 29.</b> Espectro de $^1\text{H}$ RMN del producto <b><u>4a</u></b>	121
<b>Figura 30.</b> Espectro de los protones arílicos del producto <b><u>4a</u></b>	121
<b>Figura 31.</b> Espectro de $^{13}\text{C}$ RMN del producto <b><u>4a</u></b>	123
<b>Figura 32.</b> Resultados de los inhibidores de la AChE ( $\text{IC}_{50}$ ) de referencia	126
<b>Figura 33.</b> Resultados de inhibición de la enzima AChE ( $\text{IC}_{50}$ ) de los productos <b><u>1</u></b> - <b><u>5</u></b>	127
<b>Figura 34.</b> Establecimiento y mantenimiento de una colonia de mosquitos <i>Aedes aegypti</i>	128

## LISTA DE ESQUEMAS

	<b>Pág.</b>
<b>Esquema 1.</b> Cianogénesis general del compuesto glicosídico	34
<b>Esquema 2.</b> Cianogénesis natural de la amigdalina	39
<b>Esquema 3.</b> Degradación de la acetilcolina	46
<b>Esquema 4.</b> Reacción clásica de Strecker: Generación de $\alpha$ -aminoácidos	56
<b>Esquema 5.</b> Ruta sintética de la reacción de Strecker empleando TMSCN	59
<b>Esquema 6.</b> Generación del catalizador ácido clorosulfónico sólido	61
<b>Esquema 7.</b> Ciclo catalítico propuesto para la hidrogenación de iminas empleando $\text{Et}_3\text{N}$ como catalizador	65
<b>Esquema 8.</b> Síntesis del precursor acetona cianhídrica	94
<b>Esquema 9.</b> Síntesis del alcaloide girgensohnina	106
<b>Esquema 10.</b> Reacción de Strecker para la obtención de los $\alpha$ -aminonitrilos <b>1</b> , <b>2</b> y <b>3</b>	108
<b>Esquema 11.</b> Mecanismo propuesto para la reacción de Strecker	109
<b>Esquema 12.</b> Posible ruta de fragmentación del producto <b>1a</b>	112

**Esquema 13.** Reacción de Strecker para la obtención de los  $\alpha$ -aminonitrilos 4 y 5 119

**Esquema 14.** Inhibición de la enzima acetilcolinesterasa 125

## LISTA DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla 1.</b> Primeros alcaloides estudiados	31
<b>Tabla 2.</b> Estructuras y fuentes naturales de los glicósidos cianogénicos	40
<b>Tabla 3.</b> Catalizadores empleados en la obtención de diversos $\alpha$ -aminonitrilos	60
<b>Tabla 4.</b> Rendimientos al emplear ácidos de Lewis en la reacción de Strecker	63
<b>Tabla 5.</b> Comparación de los rendimientos de reacción empleando $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ y $\text{Et}_3\text{N}$ como catalizadores	64
<b>Tabla 6.</b> Resultados del empleo del $\text{SiO}_2\text{-OSO}_3\text{H}$ como catalizador	66
<b>Tabla 7.</b> Resultados de los parámetros de Lipinski, <i>NER</i> y <i>PSA</i>	88
<b>Tabla 8.</b> Valores de pKa para las moléculas diseñadas	89
<b>Tabla 9.</b> Valores de los parámetros de Abraham y porcentaje de absorción encontradas	90
<b>Tabla 10.</b> Evaluación del riesgo de toxicidad empleando el programa Osiris	91
<b>Tabla 11.</b> Propiedades y rendimientos de los productos <u>1</u> , <u>2</u> y <u>3</u>	110

<b>Tabla 12.</b> Iones característicos de análogos <b><u>1-3</u></b>	113
<b>Tabla 13.</b> Desplazamientos químicos (ppm), multiplicidades y constantes de acoplamiento ( <i>J</i> , Hz) de los protones en los espectros de <sup>1</sup> H-RMN de los compuestos <b><u>1</u></b> - <b><u>3</u></b>	116
<b>Tabla 14.</b> Desplazamientos químicos (ppm) de los carbonos en los espectros de <sup>13</sup> C-RMN de los compuestos <b><u>1</u></b> - <b><u>3</u></b>	118
<b>Tabla 15.</b> Propiedades y rendimientos de los productos <b><u>4a-d</u></b> y <b><u>5a-d</u></b>	120
<b>Tabla 16.</b> Desplazamientos químicos (ppm) de los carbonos en los espectros de <sup>13</sup> C-RMN de los compuestos <b><u>4</u></b> y <b><u>5</u></b>	122
<b>Tabla 17.</b> Desplazamientos químicos (ppm) de los carbonos en los espectros de <sup>13</sup> C-RMN de los compuestos <b><u>4</u></b> y <b><u>5</u></b>	124
<b>Tabla 18.</b> Ensayo preliminar de los análogos	132
<b>Tabla 19.</b> Condiciones de evaluación del compuesto <b><u>1a</u></b>	132
<b>Tabla 20.</b> Resultados del análisis bajo modelo Probit del análogo <b><u>1a</u></b>	133

## LISTA DE ANEXOS

	Pág.
<b>Anexos A. Espectros de Infrarrojo IR de los compuestos sintetizados</b>	<b>153</b>
<i>Anexo A-A. Acetona cianhídrica</i>	
<b>Anexo A-1A. 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetonitrilo</b> <u>1a</u>	
<b>Anexo A-1B. 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetonitrilo</b> <u>1b</u>	
<b>Anexo A-1C. 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(morfolin-4-il) acetonitrilo</b> <u>1c</u>	
<b>Anexo A-1D. 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetonitrilo</b> <u>1d</u>	
<b>Anexo A-2A. 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(piperidin-1-il) acetonitrilo</b> <u>2a</u>	
<b>Anexo A-2B. 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetonitrilo</b> <u>2b</u>	
<b>Anexo A-2C. 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(morfolin-1-il) acetonitrilo</b> <u>2c</u>	
<b>Anexo A-2D. 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetonitrilo</b> <u>2d</u>	
<b>Anexo A-3A. 2-(Piperidin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetonitrilo</b> <u>3a</u>	
<b>Anexo A-3B. 2-(Pirrolidin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetonitrilo</b> <u>3b</u>	
<b>Anexo A-3C. 2-Morfolino-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetonitrilo</b> <u>3c</u>	
<b>Anexo A-3D. 2-(4-Metilpiperazin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetonitrilo</b> <u>3d</u>	
<b>Anexo A-4A. 2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetonitrilo</b> <u>4a</u>	
<b>Anexo A-4B. 2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetonitrilo</b> <u>4b</u>	
<b>Anexo A-4C. 2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(morfolin-1-il) acetonitrilo</b> <u>4c</u>	
<b>Anexo A-4D. 2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetonitrilo</b> <u>4d</u>	
<b>Anexo A-5A. 2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetonitrilo</b> <u>5a</u>	
<b>Anexo A-5B. 2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetonitrilo</b> <u>5b</u>	
<b>Anexo A-5C. 2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(morfolin-1-il) acetonitrilo</b> <u>5c</u>	
<b>Anexo A-5D. 2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetonitrilo</b> <u>5d</u>	
<b>ANEXOS B. Fragmentogramas de los compuestos sintetizados</b>	<b>166</b>
<b>Anexo B-Girgensohnina. 2-(4-Hidroxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetonitrilo.</b>	
<b>Anexo B-1A. 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetonitrilo</b> <u>1a</u>	
<b>Anexo B-1B. 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetonitrilo</b> <u>1b</u>	
<b>Anexo B-1C. 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(morfolin-4-il) acetonitrilo</b> <u>1c</u>	

**Anexo B-1D.** 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetónitrilo **1d**  
**Anexo B-2A.** 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(piperidin-1-il) acetónitrilo **2a**  
**Anexo B-2B.** 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetónitrilo **2b**  
**Anexo B-2C.** 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(morfolin-1-il) acetónitrilo **2c**  
**Anexo B-2D.** 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetónitrilo **2d**  
**Anexo B-3A.** 2-(Piperidin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetónitrilo **3a**  
**Anexo B-3B.** 2-(Pirrolidin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetónitrilo **3b**  
**Anexo B-3C.** 2-Morfolino-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetónitrilo **3c**  
**Anexo B-3D.** 2-(4-Metilpiperazin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetónitrilo **3d**

## **ANEXOS C. Espectros de RMN de los compuestos sintetizados**

**172**

**Anexo C-1A.** <sup>1</sup>H-RMN. 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetónitrilo **1a**  
**Anexo C-1A.** <sup>13</sup>C-RMN. 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetónitrilo **1a**  
**Anexo C-1C.** <sup>1</sup>H-RMN. 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(morfolin-4-il) acetónitrilo **1c**  
**Anexo C-1C.** <sup>13</sup>C-RMN. 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(morfolin-4-il) acetónitrilo **1c**  
**Anexo C-1D.** <sup>1</sup>H-RMN. 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetónitrilo **1d**  
**Anexo C-1D.** <sup>13</sup>C-RMN. 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetónitrilo **1d**  
**Anexo C-1D.** DEPT 135. 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetónitrilo **1d**  
**Anexo C-2A.** <sup>1</sup>H-RMN. 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(piperidin-1-il) acetónitrilo **2a**  
**Anexo C-2A.** <sup>13</sup>C-RMN. 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(piperidin-1-il) acetónitrilo **2a**  
**Anexo C-2B.** <sup>1</sup>H-RMN. 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetónitrilo **2b**  
**Anexo C-2B.** <sup>13</sup>C-RMN. 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetónitrilo **2b**  
**Anexo C-2C.** <sup>1</sup>H-RMN. 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(morfolin-1-il) acetónitrilo **2c**  
**Anexo C-2C.** <sup>13</sup>C-RMN. 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(morfolin-1-il) acetónitrilo **2c**  
**Anexo C-2D.** <sup>1</sup>H-RMN. 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetónitrilo **2d**  
**Anexo C-2D.** <sup>13</sup>C-RMN. 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetónitrilo **2d**  
**Anexo C-2D.** DEPT 135. 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetónitrilo **2d**  
**Anexo C-2D.** <sup>13</sup>C-RMN. 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetónitrilo **2d**

**Anexo C-2D. DEPT 135.2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetoneitrilo2d**

**Anexo C-3A.<sup>1</sup>H-RMN.2-(Piperidin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetoneitrilo 3a**

**Anexo C-3A.<sup>13</sup>C-RMN.2-(Piperidin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetoneitrilo 3a**

**Anexo C-3A. DEPT 135.2-(Piperidin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetoneitrilo 3a**

**Anexo C-3B.<sup>1</sup>H-RMN.2-(Pirrolidin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetoneitrilo 3b**

**Anexo C-3B.<sup>13</sup>C-RMN.2-(Pirrolidin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetoneitrilo 3b**

**Anexo C-3B. DEPT 135.2-(Pirrolidin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetoneitrilo 3b**

**Anexo C-3C.<sup>1</sup>H-RMN.2-Morfolino-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetoneitrilo3c**

**Anexo C-3C.<sup>13</sup>C-RMN.2-Morfolino-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetoneitrilo3c**

**Anexo C-3C. DEPT 135.2-Morfolino-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetoneitrilo3c**

**Anexo C-3D.<sup>1</sup>H-RMN.2-(4-Metilpiperazin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetoneitrilo3d**

**Anexo C-3D.<sup>13</sup>C-RMN.2-(4-Metilpiperazin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetoneitrilo3d**

**Anexo C-3D.<sup>13</sup>C-RMN.2-(4-Metilpiperazin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetoneitrilo3d**

**Anexo C-4A.<sup>1</sup>H-RMN.2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetoneitrilo 4a**

**Anexo C-4A.<sup>13</sup>C-RMN.2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetoneitrilo 4a**

**Anexo C-4A. DEPT 135.2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetoneitrilo 4a**

**Anexo C-4B.<sup>1</sup>H-RMN.2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetoneitrilo4b**

**Anexo C-4B.<sup>13</sup>C-RMN.2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetoneitrilo4b**

**Anexo C-4B. DEPT 135.2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetoneitrilo4b**

**Anexo C-4C.<sup>1</sup>H-RMN.2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(morfolin-1-il) acetoneitrilo4c**

**Anexo C-4C.<sup>13</sup>C-RMN.2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(morfolin-1-il) acetoneitrilo4c**

**Anexo C-4C. DEPT 135.2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(morfolin-1-il) acetoneitrilo4c**

**Anexo C-4D.<sup>1</sup>H-RMN.2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)acetoneitrilo4d**

**Anexo C-4D.<sup>13</sup>C-RMN.2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)acetoneitrilo4d**

**Anexo C-4D. DEPT 135.2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)acetoneitrilo4d**

**Anexo C-5A.<sup>1</sup>H-RMN.2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetoneitrilo5a**

**Anexo C-5A.<sup>13</sup>C-RMN.2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetoneitrilo5a**

**Anexo C-5A. DEPT 135.2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetoneitrilo5a**

**Anexo C-5B.<sup>1</sup>H-RMN.2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetoneitrilo5b**

**Anexo C-5B. <sup>13</sup>C-RMN.2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetoneitrilo5b**  
**Anexo C-5B. DEPT 135.2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetoneitrilo5b**  
**Anexo C-5C. <sup>1</sup>H-RMN.2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(morfolin-1-il) acetoneitrilo5c**  
**Anexo C-5C. <sup>13</sup>C-RMN.2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(morfolin-1-il) acetoneitrilo5c**  
**Anexo C-5C. DEPT 135.2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(morfolin-1-il) acetoneitrilo5c**  
**Anexo C-5D. <sup>1</sup>H-RMN.2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetoneitrilo5d**  
**Anexo C-5D. <sup>13</sup>C-RMN.2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetoneitrilo5d**  
**Anexo C-5D. DEPT 135.2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetoneitrilo5d**

## ABREVIATURAS

AChE	Acetilcolinesterasa
AcOH	Ácido acético
AcONa	Acetato de sodio
°C	Grados Centígrados
CG-EM	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas
cm <sup>-1</sup>	Centímetros recíprocos
<sup>13</sup> C-RMN	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
d	Doblete
dd	Doblete de doblete
ddd	Doble doblete de doblete
DMSO-d <sub>6</sub>	Dimetilsulfóxidodeuterado
DNTB	Ácido 5,5'-ditiobis-[2-nitrobenzoico]
EA	Enfermedad de Alzheimer
g	Gramos
g/mol	Gramos por mol
Hz	Hertz
<sup>1</sup> H-RMN	Resonancia magnética nuclear de protones
IC <sub>50</sub>	Concentración inhibitoria del 50%
InAChE	Inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
M	Mega
m	Multiplete
M <sup>•+</sup>	Ion molecular
Me	Metilo
MeCN	Acetonitrilo
MeOH	Metanol

$\mu\text{g/mL}$	Microgramo por mililitro
$\text{mg/L}$	Miligramo por litro
Min	Minutos
mL	Mililitros
mmol	Milimoles
$m/z$	Relación masa sobre carga
OMe	Metoxilo
p.f.	Punto de fusión
Ph	Fenilo
PM	Peso molecular
%p/p	Porcentaje peso a peso
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia magnética nuclear
s	Singulete
SNC	Sistema nervioso central
t	Triplete
t.a.	Temperatura ambiente
TMSCN	Cianuro de trimetilsililo
$t_R$	Tiempo de retención

## RESUMEN

**TÍTULO: PREPARACIÓN DE  $\alpha$ -AMINONITRILOS CON FRAGMENTOS N-HETEROCÍCLICOS VÍA REACCIÓN DE STRECKER SSA-CATALIZADA. SU PROSPECCIÓN BIOLÓGICA COMO INHIBIDORES DE LA AChE\***

**Autor:** Aurora Lisette Carreño Otero\*\*

**Palabras Clave:** Girgensohnina, enzima acetilcolinesterasa, insecticidas, dengue, *Aedes aegypti*.

La baja cantidad de los alcaloides en la naturaleza y los inconvenientes que todavía existen con los métodos tradicionales de extracción, alientan a los investigadores sintéticos para desarrollar nuevas técnicas, modificaciones o metodologías que permitan acceder a estos sistemas biológicos. Entre los más buscados se encuentran aquellos que presentan alguna actividad biológica que pueda ser evaluada y utilizada para el tratamiento o cura de enfermedades, no sólo de aquellas observadas en los seres humanos, sino también aquellas que les afectan indirectamente como plagas, hongos y bacterias capaces de transmitir enfermedades o de acabar con cultivos de primera necesidad.

El alcaloide girgensohnina fue aislado con un rendimiento del 0.04% de los pétalos verdes de la *Girgensohnia oppositiflora*, arbusto que crece en los desiertos de Rusia e Irán. En el año 2009 se encontró que este alcaloide era un inhibidor modesto de la AChE.

Recurriendo a una modificación de la reacción de Strecker, se usó: piperidina, pirrolidina, morfolina y N,N-metilpiperazina como sustratos de la reacción, 3, 4-metoxibenzaldehído, piperonal, 3, 4,5-metoxibenzaldehído, vainillina e isovainillina como el componente aldehídico, una fuente de cianuro, y cantidades catalíticas de ácido sulfúrico soportado en gel de sílice (5 % mol y 20 % respectivamente), en acetonitrilo como disolvente, se logró la preparación de la girgensohnina y la generación de una nueva serie de compuestos guiada por un producto natural.

La girgensohnina y sus análogos fueron capaces de inhibir, *in vitro*, la enzima acetilcolinesterasa de *Electrophorus electricus* (una de las más similares a la predominante en las uniones neuromusculares de los mamíferos e invertebrados) en el orden de micromoles. En el estudio *in vivo* se emplearon larvas de mosquito del género *Aedes aegypti* encontrando que seis de los análogos evaluados mostraron actividad larvicida a concentraciones menores a los 140 ppm.

---

\*Trabajo de grado para optar al título de Magíster en Química

\*\*Director: Vladimir V. Kouznetsov, *PhD*, *DSc*. Laboratorio de Química Orgánica y Biomolecular.  
Escuela de Química. Facultad de Ciencias

## ABSTRACT

TITLE: PREPARATION OF  $\alpha$ -AMINONITRILES N-HETEROCYCLIC FRAGMENTS THROUGH SSA- CATALYZED STRECKER REACTION. ITS BIOPROSPECTING AS AChE INHIBITORS \*.\*

Author: Aurora Lisette Carreño Otero \*\*

**Keywords:** Girgensohnina, Acetylcholinesterase, insecticides, dengue, *Aedes aegypti*.

The lower amount of alkaloids in nature and the difficulties that still exist with traditional methods of extraction, encourage synthetic researchers to develop new techniques, modifications or methodologies to access these biological systems. Among the most sought after are those with biological activity that can be evaluated and used for the treatment or cure of diseases, not just those observed in humans, but also those that indirectly affect them as pests, fungi and bacteria capable to spread disease or to destroy staple crops. Girgensohnine, an alkaloid, was isolated with a 0.04% yield from the petals of the green *Girgensohnia oppositiflora* shrub that grows in the deserts of Russia and Iran, this is one of the few cases in which cyanogenic compounds have been isolated without glycosidic union, and presented in their structure a piperidine ring.

The alkaloid girgensohnina was isolated with a yield of 0.04% from the *Girgensohnia oppositiflora* petals, green shrub that grows in the deserts of Russia and Iran. In 2009 it was found that this alkaloid was a modest inhibitor of AChE.

Resorting to a modification of the Strecker reaction is used: piperidine, pyrrolidine, morpholine and N, N-methylpiperazine and as the aldehyde component in reaction, 3, 4-methoxybenzaldehyde, piperonal, 3, 4,5-methoxybenzaldehyde, vanillin and isovanillin, a source of cyanide and catalytic amounts of sulfuric acid supported on silica gel (5% and 20% respectively mol) in acetonitrile as solvent, was obtained girgensohnina preparation and generation of a new series of compounds guided by a natural product.

The girgensohnina and its analogs were able to inhibit in vitro the enzyme acetylcholinesterase *Electrophorus electricus* (one of the most similar to the prevailing at neuromuscular junctions of mammals and invertebrates) in the order of micromolar. In the in vivo study were used mosquito larvae *Aedes aegypti* found that six of the analogues tested showed larvicidal activity at concentrations less than 140 ppm

---

\*\* Director: Vladimir V. Kouznetsov, *PhD, DSc*. Laboratory of Organic and Biomolecular Chemistry. Chemistry Department. Faculty of Sciences

## 1. INTRODUCCIÓN

Entre las ciencias encaminadas al estudio de la materia, los cambios en ella y su interacción en la naturaleza, está la química orgánica, una de las ciencias más activas y en constante evolución. La búsqueda de las propiedades y características de una sustancia y la relación de éstas con su estructura molecular han permitido y continúan contribuyendo diariamente a su desarrollo y consolidación en numerosos campos.

En la actualidad las ciencias biomédicas se nutren de los productos y descubrimientos surgidos de la interacción de la química orgánica y la química medicinal. La primera genera los conocimientos en torno a los métodos de construcción de entidades químicas con propiedades particulares, mientras que la segunda ofrece información en torno al funcionamiento de los sistemas biológicos y su respuesta frente a las especies generadas por la primera.

Retos impuestos por los padecimientos, enfermedades y discapacidades presentes desde hace siglos, y por las que se descubren y se manifiestan a diario continúan estimulando avances que buscan su cura o tratamiento. Aunque el nivel de complejidad y la cantidad de enfermedades que afectan al hombre, animales y cultivos continúa en aumento, aun recurrimos, como lo hemos hecho desde la antigüedad, al amplio arsenal de sustancias que se encuentran y se generan en la naturaleza denominadas metabolitos secundarios.

La química orgánica sintética se ha centrado desde siempre no sólo en el descubrimiento de los beneficios de estos productos naturales, sino también en el desarrollo de productos sintéticos que cumplan funciones específicas. La generación de nuevas técnicas y métodos que permiten sintetizar productos bioactivos a partir de fuentes naturales, se evidencia en el aumento de las librerías moleculares, las cuales, además de brindarnos información química y biológica,

también permiten determinar derivados o familias de los productos que pueden ser explotados y que a su vez podrían, en un plazo de tiempo más largo, ser utilizadas como moléculas cabezas de serie para la generación de futuros fármacos.<sup>1,2</sup>

Presentes en la corteza, hojas, frutos y semillas están los alcaloides, metabolitos secundarios de carácter básico con sistemas heterocíclicos nitrogenados y, en el mayor de los casos, con amplias y variadas actividades biológicas. Entre éstas, y de gran importancia, están aquellas que producen efectos fisiológicos sobre el SCN en el hombre y el sistema neuromuscular en los artrópodos. La búsqueda de métodos efectivos, seguros y más rápidos para su generación, mantienen a la química orgánica sintética como el pilar más importante para el descubrimiento de nuevas moléculas heterocíclicas polifuncionalizadas, obtenidas con altos rendimientos y que presenten actividad fisiológica marcada.<sup>3</sup>

Es por esto que desde hace ya algunos años el Laboratorio de Química Orgánica y Biomolecular está comprometido con la búsqueda de soluciones viables a enfermedades de gran impacto, incursionando en este campo de la química medicinal con el desarrollo y consolidación de metodologías que permiten la obtención de moléculas con actividades antifúngicas, antiparasitarias y anticancerígenas.

Buscando ampliar aun más nuestro campo de acción y pretendiendo aportar al control de plagas que afectan desde cultivos de gran importancia para nuestro país, como la palma de aceite, hasta aquellas que transmiten enfermedades parasitarias infecciosas como el mosquito *Aedes aegypti*, nuestro laboratorio se ha

---

<sup>1</sup>GOTOR, V. "Biocatalysis Applied to the Preparation of Pharmaceuticals". En: *Org. Proc. Res. & Develop.* Vol. 6 (2002); p. 420-426.

<sup>2</sup>MATIER, W.; OWENS, D. and COMER, W. T. "Antihypertensive Agents. Synthesis and Biological Properties of 2-Amino-4-aryl-2-imidazoles". En: *J. Med. Chem.* Vol. 16 (1973); p. 901-908.

<sup>3</sup>ORHAN, I. and SENER, B. "Acetylcholinesterase Inhibitors from Natural Resources". En: *FABAD J. Pharm. Sci.* Vol. 28 (2003); p. 51-58.

encaminado en el desarrollo de metodologías que permitan desde la síntesis, purificación y elucidación de moléculas activas, hasta la evaluación tanto *in vitro* como *in vivo* de los productos obtenidos.

En trabajos realizados previamente se propuso y se desarrolló una ruta sintética para la obtención de  $\alpha$ -aminonitrilos análogos al alcaloide girgensohnina, apoyados en modificaciones realizadas sobre la reacción de Strecker. Esta metodología que es eficaz, económica y ambientalmente amigable, permitió la obtención de seis nuevos productos  $\alpha$ -aminonitrílicos, cuyos bioensayos enzimáticos frente a la enzima acetilcolinesterasa (AChE) mostraron valores de  $IC_{50}$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) menores a los encontrados para la girgensohnina, aproximándose a los valores de los inhibidores de AChE de uso práctico.

La acción de estos inhibidores de AChE sobre los artrópodos conlleva a la acumulación del neurotransmisor acetilcolina en su región neuromuscular, lo que provoca entre otras manifestaciones parálisis generalizada y su posterior muerte. Los artrópodos se presentan como vectores de variadas enfermedades. El dengue es una enfermedad tropical presente tanto en diferentes departamentos de nuestro país como países de América y Asia. Las precipitaciones que se presentan año tras año favorecen la proliferación del mosquito *Aedes aegypti*, principal vector de esta enfermedad. Al no contar con un método para el tratamiento o cura del dengue, la eliminación de este vector surge como única forma para su control, potenciando la importancia del estudio y la generación de nuevos sistemas inhibidores que contribuyan con la disminución de las colonias del mosquito.

De acuerdo con lo anteriormente expuesto y teniendo en cuenta los resultados alcanzados bajo la metodología diseñada previamente, se trazó como objetivo principal de esta investigación la exploración del alcance y robustez de las modificaciones realizadas sobre la reacción de Strecker, buscando la obtención de una nueva librería de  $\alpha$ -aminonitrilos, análogos del alcaloide girgensohnina.

Alentados por los resultados positivos encontrados en los ensayos enzimáticos (AChE) *in vitro*, se diseñaron y desarrollaron, primero, los protocolos de síntesis de nuevas entidades químicas y segundo, la metodología para evaluar la actividad insecticida de algunos  $\alpha$ -aminonitrilos obtenidos sobre las larvas del mosquito *Aedes aegypti*. La modificación de la reacción de Strecker consistió en el uso de una fuente de cianuro más segura, la acetona cianhídrica, y el uso de un catalizador efectivo, no tóxico y recuperable, el ácido clorosulfónico soportado sobre gel de sílice (SSA) lo que garantiza el proceso “verde” para la generación de estas moléculas. Las pruebas enzimáticas frente a la AChE y la metodología de los bioensayos insecticidas se realizaron según los protocolos desarrollados por nuestro laboratorio.

La realización de este trabajo de investigación fue posible gracias al apoyo financiero de Colciencias a través del CENIVAM (contrato 432-2004) y a la colaboración oportuna del Dr. Jonny E. Duque (Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales –CINTROP- y Grupo de Investigación en Enfermedades Infecciosas y Metabólicas –GINEM-, Facultad de Salud, UIS).

## 2. ESTADO DEL ARTE

### 2.1 HISTORIA E IMPORTANCIA DE LOS COMPUESTOS NATURALES DEL TIPO METABOLITOS SECUNDARIOS

La calidad de vida y el desarrollo de las comunidades continúan apoyándose en el estudio y la evaluación de sustancias o compuestos de origen natural. La química orgánica sintética, que surgió a partir del estudio de los productos naturales, se ha centrado no sólo en el descubrimiento de los beneficios de estos productos, sino también en las modificaciones sobre ellos (semi-síntesis) y el desarrollo de productos sintéticos que buscan potenciar las actividades biológicas o los beneficios presentados por ellos. La búsqueda de los principios activos responsables, por ejemplo, de su efecto terapéutico, ha llevado a encontrar numerosas sustancias de gran importancia, entre las cuales se tienen a los metabolitos secundarios.<sup>4</sup> Su gran diversidad tanto en las propiedades biológicas como en la arquitectura molecular ha llevado a su clasificación de variadas formas, una de las más generales la hace en flavonoides, terpenoides y alcaloides.

Entre los más de 50000 productos naturales que se conocen hoy algo más de 12000 moléculas son clasificadas como alcaloides,<sup>5</sup> compuestos marcados con prominente bioactividad y acompañados numerosas veces de toxicidad.<sup>6</sup> Utilizada por primera vez en 1819 por W. Meisser, la palabra alcaloide se empleó para designar compuestos básicos que mostraban actividad biológica y que se encontraban en las plantas. En 1805 Sertüner extrajo la morfina en forma impura de la planta *Papaversomniferum*, después se extrajeron la quinina y la cafeína (1820), la coniina (1826), la atropina (1831), la codeína (1832) (Tabla 1), para

---

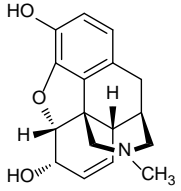
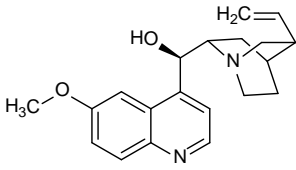
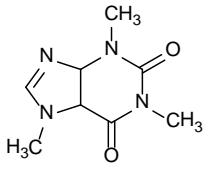
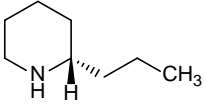
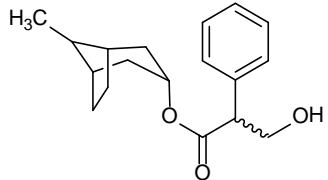
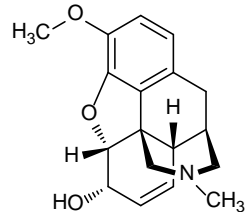
<sup>4</sup> MALI, S. and BORGES R. "Phenolics, fibre, alkaloids, saponins, and cyanogenic glycosides in a seasonal cloud forest in India". En: *Biochemical Syst. and Ecol.* Vol. 31 (2003); p. 1221–1246.

<sup>5</sup> ROBERTS, M. and WINK, M. "Alkaloids; Biochemistry, ecological and medicinal applications". New York: Plenum Press. 1998; p. 1-17, 159-191.

<sup>6</sup> PICHERSKY, E. and GANG, D. R. "Genetics and Biochemistry of Secondary Metabolites in Plants: An Evolutionary Perspective" En: *Trends Plant Sci.* Vol. 5 (2000); p. 439-445.

finalmente en el año 1886 lograr obtener la coniína, primer alcaloide sintetizado en el laboratorio.<sup>7</sup>

**Tabla 1.** Primeros alcaloides estudiados.

Morfina (1805)	Quinina (1820)	Cafeína (1820)
		
Coniína (1826)	Atropina (1831)	Codeína (1832)
 Primer alcaloide sintetizado (1886)		

La afirmación que sostiene “200 años de investigación no han sido suficientes para explicar la compleja conexión entre los alcaloides y la vida”, se ve apoyada por el creciente número de investigaciones acerca de estos alcaloides, los cuales llegan a más de 70000 artículos publicados,<sup>8</sup> aumentando cada año con cientos de trabajos adicionales.<sup>9</sup>

### Roles ecológicos de los alcaloides

Aunque las plantas cuentan con estrategias físicas de defensa como la formación de paredes de celulosa o lignina no digeribles, de conductos pegajosos de resina

<sup>7</sup> CARRETERO, M. E. “Alcaloides: Aspectos Generales”. *En: Panor. Act. Med.* Vol. 25 (2001); p. 222-227.

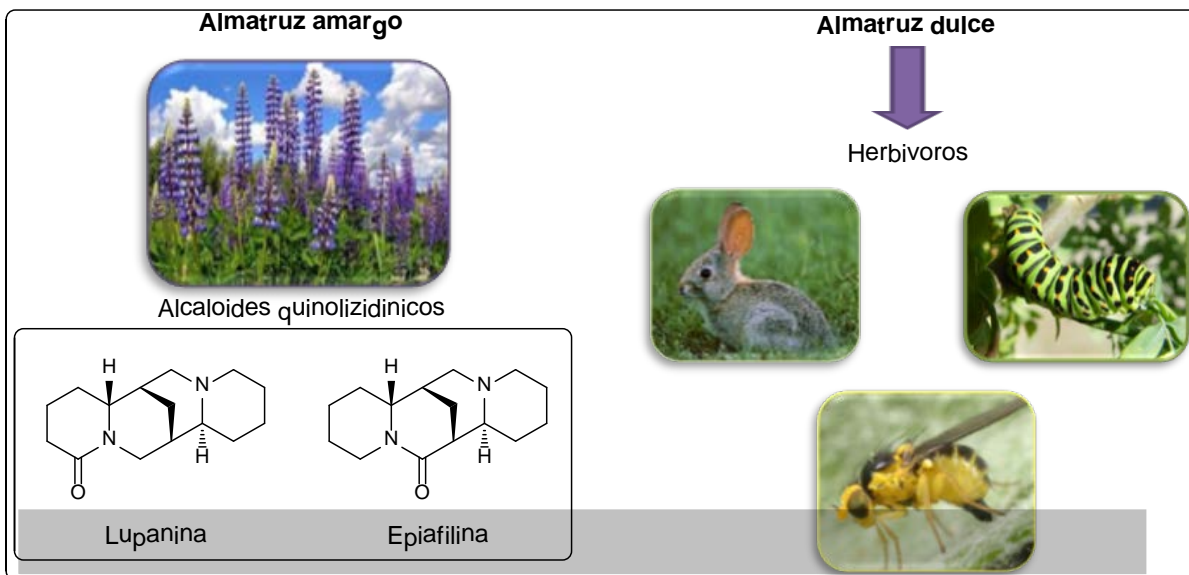
<sup>8</sup> Alkaloids (Feb. 2012). *En: http://www.sciencedirect.com*

<sup>9</sup> Secondary Metabolites (Sep. 2011). *En: http://www.sciencedirect.com*

o sencillamente de espinas, es su habilidad para producir productos de defensa química, como los alcaloides, lo que resulta más fascinante.<sup>10</sup>

Si bien el costo para la producción de los alcaloides es considerablemente alto, son igualmente importantes para la supervivencia de las especies que los producen, por esto generalmente contienen más de un grupo funcional activo, permitiendo así su interacción con variadas dianas(targets) moleculares y usualmente más de un grupo de enemigos. Su función de defensa contra herbívoros y predadores se demostró en muchas ocasiones; por ejemplo, en el almatruz amargo, especie leguminosa de la familia *Fabaceae*, que produce alcaloides quinolizidínicos,<sup>11,12</sup> fuertemente neurotóxicos (Figura 1).

**Figura 1.** El almatruz: sus alcaloides y enemigos potenciales.



<sup>10</sup> FATTORUSSO, E. and TAGLIALATELA-SCAFATI, O. "Modern Alkaloids: Structure, Isolation, Synthesis and Biology". Weinheim, 2008. WILEY-VCH; p. 3-23.

<sup>11</sup> WINK, M. "The Role Of Quinolizidine Alkaloids In Plant–Insects Interaction". Chapter 5, Heidelberg, WATERMAN P. Ed. IV.(1992); p. 197–239.

<sup>12</sup> WINK, M. "Quinolizidine Alkaloids: Biochemistry, Metabolism, and Function in Plant Cell Suspension Cultures: Induction and Degradation". En: PlantaMed.(1987); p. 509-514.

Ya que sus semillas presentan una alta carga proteica, se buscó emplear estas especies como alimento para el ganado. La modificación, conocida como almatruz dulce con un contenido de este tipo de alcaloides inferior a 0.02% permitió, al cultivarse junto al amargo, evaluar la importancia de los mismos. La experiencia mostró que los conejos e insectos, como los mosquitos minadores, discriminaban fuertemente entre el amargo y el dulce, demostrando que estos últimos no sobrevivirían ni prosperarían en condiciones salvajes o no controladas.

La gran variedad, en muchas ocasiones complejidad y propiedades biológicas de las estructuras de los alcaloides han intrigado durante mucho tiempo a los científicos de diferentes ramas de investigación entre las que se tienen desde a la química tanto analítica, de productos naturales, orgánica y sintética hasta a toxicólogos, farmacólogos y compañías farmacéuticas, quienes han utilizado y seguirán utilizando alcaloides como herramientas biológicas y componentes líderes en el desarrollo de nuevos medicamentos.

De los más de 21000 metabolitos secundarios que contienen nitrógeno y que son producidos por las plantas, existen cerca de 60 compuestos que exhiben como característica estructural particular el fragmento nitrílico (el grupo  $-CN$ ),<sup>10</sup> llevando a su clasificación como compuestos cianogénicos. Su presencia desde hace varias décadas en las plantas ha generado numerosas publicaciones que buscan determinar, aclarar y consolidar las diversas hipótesis que se tienen acerca de sus rutas biosintéticas, funciones y roles en el desarrollo y sostén de las plantas que los poseen.

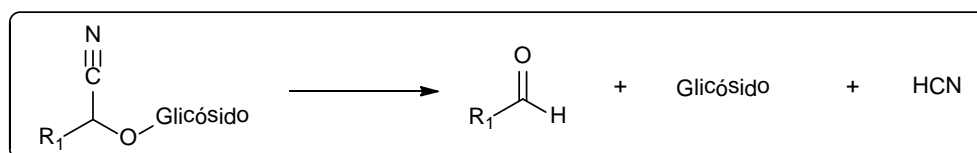
## **2.2 CIANOGENÉISIS**

Aunque la habilidad de producir cianuro por el proceso de cianogénesis en las plantas se ha reconocido desde hace largo tiempo, al presentarse en alrededor de 3000 especies de más de 550 géneros y 130 familias, la gran mayoría de información disponible centra sus estudios en compuestos cianogénicos con uno o

más fragmentos glicosídicos, dejando rezagados aquellos que no presentan glicósidos alguno, lo cual es mucho más extraño, intrigante y difícil de explicar.<sup>13</sup>

Aunque bajos niveles de ácido prúsico (conocido como ácido cianhídrico o HCN) en plantas superiores cianogénicas y no cianogénicas surgen como un subproducto en la biosíntesis del etileno, -lo cual explica la presencia de niveles significativos de la enzima  $\beta$ -cianoalaninasintasa encargada de la desintoxicación de cianuro en plantas - es el fenómeno de cianogénesis el que ha despertado gran interés.<sup>14,15</sup> La cianogénesis, reconocida y estudiada desde su primera descripción en 1803, es la habilidad de las plantas y otros organismos para liberar el HCN por hidrólisis de sus compuestos cianogénicos (Esquema 1), los cuales en su mayoría son derivados de aminoácidos proteicos, otros no proteicos, por ejemplo, la 2-(2-ciclopentenil)glicina y, en pocos casos, el ácido nicotínico.<sup>16</sup>

**Esquema 1.** Cianogénesis general del compuesto glicosídico.



Aunque son muchas ya las décadas dedicadas a su estudio, solo en menos de 500 especies (equivalente a algo menos del 18% del total de especies que

<sup>13</sup> POULTON, J. "Cyanogenesis in Plants". En: *Plant Physiol.* Vol. 94 (1990); p. 401-405.

<sup>14</sup>WAGNER, U.G.; HASSLACHER, M.; GRIENGL, H.; SCHWAB, H. and KRATKY, C. "Mechanism of Cyanogenesis: The Crystal Structure of HydroxynitrileLyase from *Hevea Brasiliensis*". En: *Structure*, Vol. 4 (1996); p. 811-822.

<sup>15</sup>MILLER, J. M. and CONN, E. E. "Metabolism of Hydrogen Cyanide by Higher Plants" En: *Plant Physiol.*, Vol. 65 (1980); p. 1199-1202.

<sup>16</sup>KAKES, P. "Properties and Functions of the Cyanogenic System in Higher Plants". En: *Euphytica*. Vol. 48 (1990); p. 25-43.

presentan compuestos cianogénicos) se ha logrado identificar la fuente del HCN producido, la cual frecuentemente es un glicósido cianogénico.<sup>17,18,19,20</sup>

Los compuestos cianogénicos se han encontrado en numerosas especies de plantas comestibles de primera necesidad y de mayor producción en el Mundo como son el maíz, la cebada, el arroz y el trigo, entre otras.<sup>21,22</sup> Algunas de estas especies necesitan tratamientos que permitan la liberación del HCN antes de su ingestión.

Un ejemplo desafortunado se observa aun en países africanos como la República del Congo, Mozambique, Tanzania y Guinea Ecuatorial, donde se cultiva en zonas áridas y en suelos de baja fertilidad la yuca amarga (*Manihotesculenta*). Este tubérculo genera el glicósido cianogénico linamarina en concentraciones mayores a 490 mg/kg. Su deficiente tratamiento, almacenamiento y cocción someten al consumidor a dosis diarias no letales de cianuro que le incapacitan al presentar dificultad progresiva para caminar, enfermedad conocida como BukaBuka (Figura 2), retención urinaria, estreñimiento, dolor lumbar y atrofia óptica.<sup>23</sup>

---

<sup>17</sup>ZAGROBELNY, M.; BAK, S. and MØLLER, B. L. "Cyanogenesis in Plants and Arthropods" En: Phytochemistry. Vol. 69 (2008); p. 1457–1468.

<sup>18</sup>ANDERSEN, L.; ADSESEN, A. and JAROSZEWSKI, J. W. "Cyanogenesis of *Passiflora foetida*" En: Phytochemistry, Vol. 47 (1998); p. 1049-1050.

<sup>19</sup>SEIGLES, D. S. "Phytochemistry of *Acacia-sensulata*". En: Biochem. Syst. Ecol., Vol. 31 (2003); p. 845–873.

<sup>20</sup>WEBBER, B.; MILLER, R. and WOODROW, I. "Constitutive Polymorphic Cyanogenesis In The Australian Rainforest Tree, *Ryparosa kurrangii* (Achariaceae)". En: Phytochemistry, Vol. 68 (2007); p. 2068–2074.

<sup>21</sup>WITTSTOCK, U. and GERSHENZON, J. "Constitutive Plant Toxins And Their Role In Defense Against Herbivores And Pathogens". En: Current Opinion in Plant Biology, Vol. 5 (2002); p. 1-8.

<sup>22</sup>ZAGROBELNY, M.; BAK, S.; RASMUSSEN, A.; JØRGENSEN, B.; NAUMANN, C. and MØLLER, B. "Cyanogenic glucosides and plant–insect interactions. Review". En: Phytochemistry, Vol. 65 (2004); p. 293–306.

<sup>23</sup>NAMBISAN, B. "Strategies For Elimination Of Cyanogens From Cassava For Reducing Toxicity And Improving Food Safety". En: Food and Chemical Toxicology, Vol. 49 (2011); p. 690–693.

La exposición a dosis letales de cianuro conduce a la hipoxia citotóxica, ya que el cianuro tiene gran afinidad por el hierro en estado férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ) con el que reacciona rápidamente al ser absorbido. Esta interacción con el  $\text{Fe}^{3+}$  del citocromo P450 mitocondrial inhibe la respiración celular y la producción de ATP, disminuye la respiración celular y produce acidosis láctica.

**Figura 2.** Pacientes con la enfermedad de BukaBuka.<sup>24</sup>



Aunque el mecanismo exacto no está definido, el más aceptado sostiene que se debería a la inhibición de enzimas antioxidantes como las catalasas, glutatión deshidrogenasa y reductasa o la superóxidodismutasa. La interacción del cianuro con el citocromo es reversible a través de vías de desintoxicación que incluyen sulfotransferasas, las cuales son los cimientos de la investigación de antídotos efectivos.<sup>25,26</sup>

### 2.3 COMPUESTOS CIANOGENICOS

En la naturaleza se pueden distinguir dos grupos principales de compuestos cianogénicos:

---

<sup>24</sup> Fotografías cortesía Konzo.info. Facultad de Medicina de la Universidad de Bergen, Alemania.

<sup>25</sup> OKAFOR, P.; OKOROWKWO, C. and MADUAGWU, E. "Occupational And Dietary Exposures Of Humans To Cyanide Poisoning From Large-Scale Cassava Processing And Ingestion Of Cassava Foods". *En: Food Chem Toxicol*, Vol. 40 (2002); p. 1001–1005.

<sup>26</sup> VIJAYARAGHAVAN, R. and BHATTACHARYA, R. "Effect of sub-acute oral cyanide administration in rats: Protective efficacy of alpha-ketoglutarate and sodium thiosulfate" *Chem Biol Interact.*, Vol. 156 (2005); p. 1–12.

- los glicósidos cianogénicos, muy estudiados e investigados
- los compuestos cianogénicos sin glicósidos, mucho más escasos en número y con estudios reducidos.<sup>27</sup>

### 2.3.1 Glicósidos cianogénicos

La producción de HCN resulta del catabolismo de glicósidos cianogénicos presentes en las plantas.<sup>28,29</sup> En las especies cianogénicas es común encontrar  $\beta$ -glucosidasas, enzimas capaces de degradar los glicósidos cianogénicos hasta azúcares y cianohídrinas. Estas últimas se encuentran controladas evitando la liberación suicida de cianuro a menos que el tejido vegetal sufra algún daño, por ejemplo al ser atacado por artrópodos como insectos o algunos mamíferos pequeños como los conejos.<sup>30</sup>

Debido su conocida y bien documentada toxicidad, al ácido cianhídrico se le asignó solo un rol de protección contra herbívoros, patógenos y algunos competidores naturales,<sup>31,32,33</sup> lo cual fue fuertemente cuestionado al encontrar indicios que sugirieron que los glicósidos cianogénicos podrían servir como compuestos de almacenamiento de nitrógeno.

---

<sup>27</sup>AIKMAN, K.; BERGMAN, D.; EBINGER, J. and SEIGLER, D. "Variation of Cyanogenesis in Some Plant Species of the Midwestern United States". En: Biochem. Syst. Ecol., Vol. 24 (1996); p. 637-645.

<sup>28</sup>MALI, S. and BORGES, R. M. "Phenolics, Fibre, Alkaloids, Saponins, and Cyanogenic Glycoside in a Seasonal Cloud Forest in India". En: Biochem. Syst. Ecol. Vol. 31 (2003); p.1221–1246.

<sup>29</sup>GREGORY, R. "Cyanohydrins in Nature and the Laboratory: Biology, Preparations, and Synthetic Applications". En: Chem. Rev., Vol. 99 (1999); p. 3649-3682.

<sup>30</sup>MORANT, A.; JØRGENSEN, K.; JØRGENSEN, C.; PAQUETTE, S.; SÁNCHEZ-PÉREZ, R.; LINDBERG, B. and BAK, S. " $\beta$ -Glucosidasas as Detonators of Plant Chemical Defense" En: Phytochemistry, Vol.69 (2008); p. 1795–1813.

<sup>31</sup>ZAGROBELNY, M.; BAK, S.; RASMUSSEN, V.; NAUMANN, C. M.; JØRGENSEN, B. and MØLLER, B. L. "Cyanogenic Glucosides and Plant–Insect Interactions". En: Phytochemistry, Vol. 65 (2004); p. 293–306.

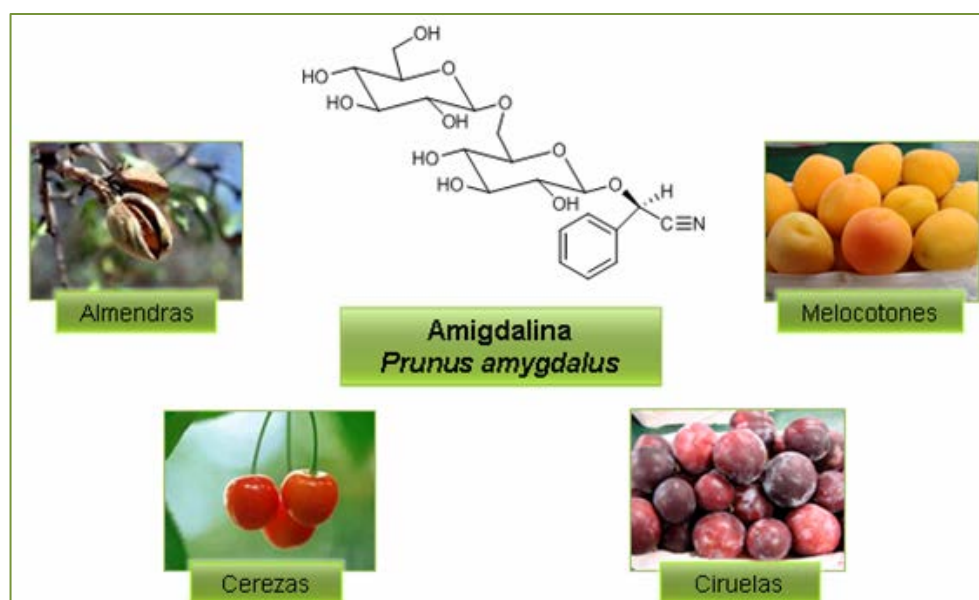
<sup>32</sup>RASMANN, S. and AGRAWAL, A. "Plant Defense Against Herbivory: Progress In Identifying Synergism, Redundancy, and Antagonism Between Resistance Traits". En: Curr. Opin. Plant Biol., Vol. 12 (2009); p. 1–6.

<sup>33</sup>LIEBEREI, R.; BIEHL, B.; GIESEMANN, A. and JUNQUEIRA, N. "Cyanogenesis Inhibits Active Defense Reactions in Plants". En: Plant Physiol., Vol. 90 (1989); p. 33-36.

Cuando se estudió la materia seca del árbol de caucho(*Hevea brasiliensis*) se encontró que del 90% de linamarina (su glicósido cianogénico natural) que se almacena en las semillas, un 85% de su potencial cianogénico decaía durante la germinación y el desarrollo, sin presentarse la liberación de cantidades significativas de HCN.

La amigdalina, constituyente que se encuentra en las almendras, semillas de melocotón, cerezas y ciruelas,<sup>34,35</sup> es empleado usualmente para ejemplificar a toda la familia de glicósidos cianogénicos presentes en frutos de alto consumo(Figura 3). Los glicósidos que presentan a la glucosa como el azúcar en su estructura se denominan glucósidos cianogénicos; la amigdalina es un miembro de este grupo de compuestos.

**Figura 3.** La amigdalina. Frutos comestibles que le contienen.

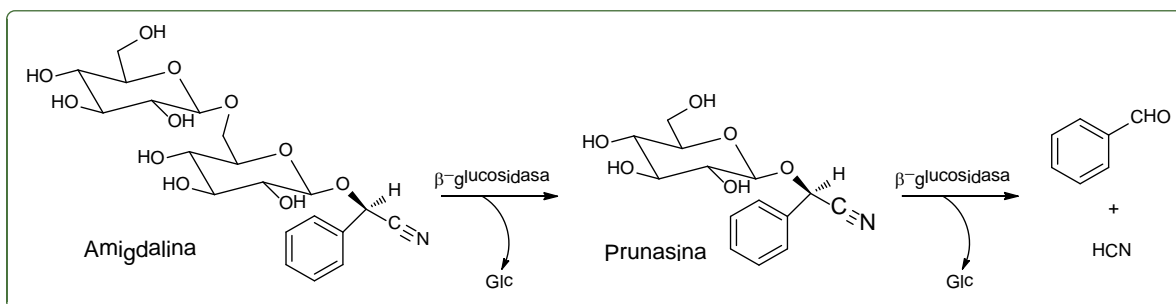


<sup>34</sup>DEWICK, P. "Medicinal Nat. Products", New York, Wiley; Second edition, (2001); chap. 6.

<sup>35</sup>SWAIN, E.; PING-LI, C. and POULTON, J. E. "Development of the Potential for Cyanogenesis in Maturing Black Cherry (*Prunus serotina* Ehrh.) Fruits". En: Plant Physiol., Vol. 98 (1992); p. 1423-1428.

Su proceso de cianogénesis se da mediante dos procesos consecutivos de hidrólisis catalizados enzimáticamente por la oxinitrilasa (una  $\beta$ -glucosidasa) brindando glucosa, benzaldehído y HCN (Esquema 2).

**Esquema 2.** Cianogénesis natural de la amigdalina.



Otros glicósidos cianogénicos importantes que se encuentran en plantas de alto consumo son las siguientes: la prunasina,<sup>36</sup> presente en las ciruelas negras y las manzanas y que se obtiene como producto de la primera etapa de hidrólisis de la amigdalina, la linamarina<sup>37</sup> y la lotaustralina,<sup>38</sup> presentes en algunas especies de trigo y yuca, y el dhurrin<sup>39</sup> que se encuentra en el sorgo, centeno y trigo, entre otros (Tabla 2).<sup>40,41</sup>

<sup>36</sup> MILLER, R.; MCCONVILLE, M. and WOODROW, I. "Cyanogenic Glycosides From The Rare Australian Endemic Rainforest Tree *Clerodendrum Grayi* (Lamiaceae)". En: *Phytochemistry*, Vol. 67 (2006), p. 43–51.

<sup>37</sup> GIRALD, W.; COLLIN, A. and IZQUIERDO, M. "Toxicity And Delivery Methods For The Linamarase/Linamarin/Glucoseoxidase System, When Used Against Human Glioma Tumors Implanted In The Brain Of Nude Rats". En: *Cancer Lett.*, Vol. 313 (2011); p. 99–107.

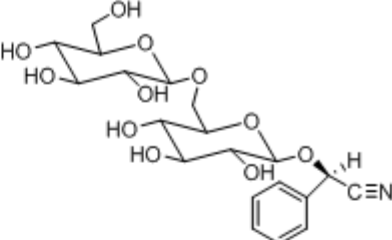
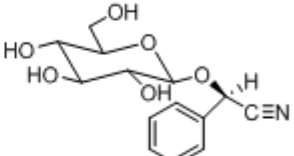
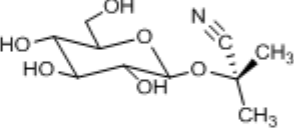
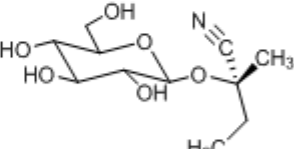
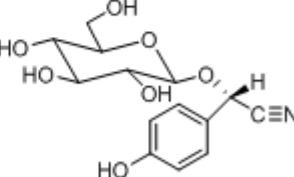
<sup>38</sup> AKGUL, Y.; FERREIRA, D.; ABOURASHED, E. and KHAN, I. "Phytochemical Communication: Lotaustralin from *Rhodiola Rosea* Roots". En: *Fitoterapia*, Vol. 75 (2004); p. 612–614.

<sup>39</sup> JOHANSEN, H.; RASMUSSEN, L.; OLSEN, C.; CHRISTIAN, H. and HANSEN, B. "Rate Of Hydrolysis And Degradation Of The Cyanogenic Glycoside – Dhurrin – In Soil". En: *Chemosphere*, Vol. 67 (2007); p. 259–266.

<sup>40</sup> BURNS, A.; BRADBURY, J.; CAVAGNARO, T. and GLEADOW, R. "Total Cyanide Content Of Cassava Food Products In Australia". En: *J. Food Compos. Anal.*, Vol. 25 (2012); p. 79–82.

<sup>41</sup> WAJANT, H.; FÖRSTERB, S.; BIITTINGER, H.; EFFENBERGERB, F. and PFIZENMAIER, K. "Acetone Cyanohydrin Lyase from *Manihot Esculenta* (Cassava) is Serologically Distinct from other Hydroxynitrile Lyases" En: *Plant Sci.*, Vol. 108 (1995); p. 1–11.

**Tabla 2.** Estructuras y fuentes naturales de los glicósidos cianogénicos.

GLICOSIDOS CIANOGENICOS	ESTRUCTURA
<p><b>Amigdalina</b>                      Almendras (<i>Prunus Dulcis</i>)                      Manzana (<i>Malus Pumila</i>)                      Rodas (<i>Eriobotrya Japonica</i>)                      Melocotón (<i>P. Persica</i>)                      Guindas (<i>P. Cerasus</i>)</p>	
<p><b>Prunasina</b>                      Manzana (<i>Malus Pumila Hybrids</i>)                      Durazno (<i>P. Persica</i>)                      Cereza (<i>P. Avium</i>)                      Bayas de Saúco (<i>Sambucus Nigra</i>)                      Papaya (<i>Carica Papaya</i>)</p>	
<p><b>Linamarina</b>                      Trigo (<i>T. Monococcum</i>)                      Avena (<i>Avena Sativa</i>)                      Yuca (<i>Manihot Esculenta</i>)                      Lima (<i>Phaseolus Lunatus</i>)</p>	
<p><b>Lotaustralina</b>                      Trigo (<i>T. Monococcum</i>)                      Yuca (<i>Manihot Esculenta</i>)                      Frijol (<i>P. Vulgaris</i>)</p>	
<p><b>Dhurrin</b>                      Trigo (<i>T. Spelta</i>)                      Centeno (<i>Secale Cereale</i>)                      Sorgo (<i>Sorghum Bicolor</i>)                      Macadamia (<i>Macadamia Ternifolia</i>)</p>	
<p>Caña azúcar (<i>Saccharum Spontaneum</i>)                      Maiz (<i>Zea Mays</i>)                      Arroz (<i>Oryza Sp., Oriza perennis</i>)                      Maní (<i>Arachis Hypogaea</i>)                      Arveja (<i>Pisum Sativum</i>)                      Mango (<i>Mangifera Indica</i>)                      Canola (<i>Brassica Napus</i>)</p>	<p>Con compuestos cianogénicos no identificados</p>

Al observar la información de la Tabla 2, se puede llegar a pensar equivocadamente que el consumo de estas plantas generaría un gran riesgo para nuestra salud, por lo cual se deben considerar dos factores:

- Primero, la toxicidad de los compuestos cianogénicos depende de la co-ingesta de las enzimas catalíticas encargadas de su degradación. Por ejemplo, los granos de la almendra amarga contienen amigdalina y enzimas hidrolíticas lo que las hacen potencialmente tóxicas, mientras las almendras de la variedad *dulcis* no lo son ya que no contienen los glicósidos cianogénicos. Cuando se recogen almendras amargas, se maceran (daño mecánico) y se dejan al aire, se da la liberación del HCN gaseoso lo que elimina su toxicidad; además, la glucosa remanente del proceso de cianogénesis ocurrido le brinda al fruto un sabor dulce.

- Segundo, en muchas de estas plantas los compuestos cianogénicos se encuentran en partes no comestibles de las mismas, por ejemplo, las hojas de la papaya, mango, la mayoría de cereales y las semillas de la manzana y del melocotón son cianogénicas, más no la pulpa comestible.<sup>42</sup>

### 2.3.2 Alcaloides

Los alcaloides han sido de gran importancia para la humanidad por décadas, incluso mucho antes de reconocerles como una clase química. Ahora se les reconoce como un grupo importante, interesante y complejo de compuestos químicos con una alta presencia en la naturaleza al encontrarse en al menos un 25% de las plantas superiores. Es decir que en una de cada cuatro plantas se puede encontrar por lo menos uno de los 12000 productos conocidos que lo conforman.<sup>43</sup>

---

<sup>42</sup>JONES, D. "Why Are so Many Food Plants Cyanogenic?". En: *Phytochemistry*, Vol. 47 (1998); p. 155-162.

<sup>43</sup>LOYOLA, V.; SÁNCHEZ, P.; CANTO, B.; GUTIÉRREZ, L.; GALAZ, R.Y. and MORENO, O. "Biosíntesis de los Alcaloides Indólicos. Una Revisión Crítica". En: *Rev. Soc. Quím. Méx.*, Vol. 48 (2004); p. 67-94.

Los alcaloides son producidos, al igual que los glicósidos cianogénicos, por el metabolismo secundario de las plantas, pero a diferencia de estos últimos, los alcaloides son casi siempre compuestos heterocíclicos que contienen nitrógeno exhibiendo alguna actividad biológica, y por ende, pueden ser potenciales agentes farmacológicos.<sup>44,45</sup>

Los componentes heterocíclicos, especialmente heterociclos de nitrógeno como es el caso que se presenta en la mayoría de los alcaloides, es la clase más importante de los compuestos en la industria farmacéutica y agroquímica, componiendo alrededor del 60% de los fármacos. La química medicinal centra su atención en el hecho de que los alcaloides, en algunos casos tóxicos aun en dosis muy bajas, generan una intensa acción fisiológica al ser activos a diferentes niveles celulares en los organismos expuestos a su acción.<sup>46</sup> El potencial que se ha encontrado en el estudio de los fármacos desarrollados a partir de alcaloides y su uso como modelos naturales han brindado esperanzas en el tratamiento de enfermedades, algunas tan complejas e importantes como el SIDA y el cáncer.<sup>47,48</sup>

Derivados de  $\alpha$ -aminoácidos o de procesos de transaminación, los alcaloides son clasificados según su origen biogénico, de acuerdo al tipo de constituyente del cual proviene su átomo de nitrógeno y la parte principal de su estructura; así se

---

<sup>44</sup>HANLEY, E.; LAMONT, B.; FAIRBANKS, M. and RAFFERTY, C. "Plant Structural Traits and their Role in Anti-Herbivore Defence". En: *Persp. in Plant Ecol., Evol. Syst.* Vol. 8 (2007); p. 157–178.

<sup>45</sup>ZAGROBELNY, M. and MØLLER, B. "Cyanogenic Glucosides In The Biological Warfare Between Plants And Insects: The Burnet Moth-Birdsfoot Trefoil Model System". En: *Phytochemistry*, Vol. 72 (2011); p. 1585–1592.

<sup>46</sup>GARCÍA, R.; PÉREZ, R.; RODRIGUEZ, C. and SOTO, M. "Toxicity of Alkaloids of *Erythrina Americana* on Larvae of Mosquito *Culex quinquefasciatus*". En: *Rev. Fitotec. Mex.*, Vol. 27 (2004); p. 297-303.

<sup>47</sup>THOMPSON, H. J. "Bioactive Foods in Promoting Health: Fruits and Vegetables. Chapter 2: Vegetable and Fruit Intake and the Development of Cancer: A Brief Review and Analysis". Boston. Elsevier, 2010; p. 19-36.

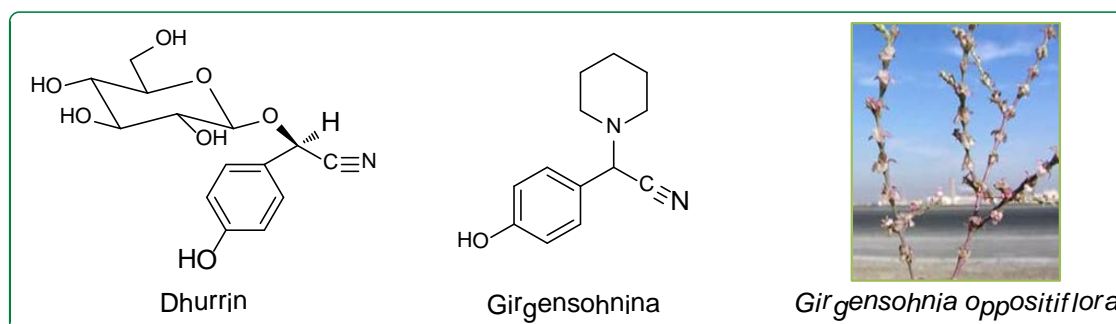
<sup>48</sup>OKAMOTO, M.; ONO, M. and BABA, M. "Suppression of cytokine production and neural cell death by the anti-inflammatory alkaloid cepharanthine: a potential agent against HIV-1 encephalopathy". En: *Biochem. Pharm.*, Vol. 62 (2001); p. 747–753.

tienen:**a.** Alcaloides conocidos como verdaderos: derivados de aminoácidos tales como ornitina/arginina, lisina, histidina, fenilalanina/tirosina, triptófano y del ácido antranílico y nicotínico;**b.**Alcaloides purínicos;**c.**Terpenoides aminados;**d.**Alcaloides policétidos.

### 2.3.3 Alcaloides cianogénicos

En la literatura se encuentran trabajos recientes sobre los derivados de compuestos piperidínicos en los que se busca incorporar fragmentos como el grupo nitrilo, debido a su reactividad, permiten, por ejemplo, la obtención de productos intermediarios y análogos de alto valor sintético. En la naturaleza se encuentra el alcaloide girgensohnina el cual exhibe similitudes estructurales con el glicósido cianogénico dhurrin (Figura 4) al presentar en lugar del fragmento glucosídico un anillo de piperidina.<sup>49</sup>

**Figura 4.** Semejanzas estructurales de la girgensohnina y el dhurrin.



Este alcaloide se extrajo de los pétalos verdes de la *Girgensohnia oppositiflora*, arbusto que crece en los desiertos de Rusia e Irán. Aunque su elucidación estructural se logró en 1946, no se contaba con reportes acerca de sus actividades biológicas.

<sup>49</sup>NAHRSTEDT, A.; LECHTENBERG, M.; BRINKER, A.; SEIGLER, D. and HEGNAUER, R. "4-Hydroxymandelonitrile Glucosides, Dhurrin in *Suckleya Suckleyana* and Taxiphillin in *Girgensohnia oppositiflora* (Chenopodiaceae)". En: *Phytochemistry*, Vol. 33 (1993); p. 847-850.

Trabajos de aislamiento indican que se puede obtener con un rendimiento no mayor al 0.04% en el mejor de los casos, aunque se cuenta con trabajos donde no se logra detectar y se concluye su ausencia en el material estudiado.

En el año 2008 nuestro laboratorio se desarrolló una ruta sintética para acceder al alcaloide girgensohnina utilizando piperidina, p-hidroxibenzaldehído, KCN y cantidades catalíticas de  $\text{InCl}_3$ .<sup>50</sup> El alcaloide se obtuvo con un rendimiento del 76%. En este mismo año, se reportaron los resultados de los estudios de inhibición de la girgensohnina sobre la enzima acetilcolinesterasa, mostrando que, aunque su inhibición no es mayor que la de patrones empleados, podría convertirse en un compuesto líder, que mediante transformaciones químicas ofrecería análogos los cuales brinden una inhibición mayor.

## **2.4 ENSAYOS BIOLÓGICOS**

### **2.4.1 Neurotransmisores**

Desde los años 50s se tiene la idea clara de que es a nivel de las sinapsis en donde se desarrollan la mayor parte de las patologías neurológicas y psiquiátricas. En la zona de sinapsis se encuentran las dianas biológicas que se pueden modificar por fármacos con utilidad clínica para el tratamiento de las enfermedades mentales como ansiedad, depresión, esquizofrénica, manía y las crisis de pánicos, y neurológicas como las enfermedades de Alzheimer, Parkinson, Huntington, epilepsias y migrañas.

Las uniones por las cuales las neuronas envían señales a otras neuronas, a los músculos o a las glándulas se denominan sinapsis, que según la distancia a las que se encuentren separadas las células puede ser sinapsis eléctrica o química. En la sinapsis eléctrica las células están separadas por un espacio sináptico de

---

<sup>50</sup>VARGAS MÉNDEZ, L.Y. "Diseño racional de rutas para la construcción de nuevas piperidinas C-4 sustituidas con el anillo de la tetrahydro(dihidro)quinolina y sus transformaciones químicas". Tesis doctoral, Universidad Industrial de Santander, 2009.

sólo 20 Å permitiendo una transmisión rápida de la señal. En la sinapsis química, debido a que su espacio es de más de 200 Å, el potencial de acción necesita la liberación, desde la neurona presináptica, de sustancias específicas conocidas como neurotransmisores, que se difunden y se unen a sus receptores correspondientes en la membrana postsináptica.<sup>51</sup> De las sinapsis colinérgicas, es decir, aquellas que usan acetilcolina como neurotransmisor, se conocen dos tipos:

- Las que contienen receptores nicotínicos (receptores que responden a la nicotina, alcaloide principal del tabaco, *Nicotiana tabacum*) involucrados en el control del movimiento, memoria, el sueño y la vigilia.
- Las que contienen receptores muscarínicos (receptores que responden al alcaloide muscarina, producido por el hongo *Amanita muscaria*) involucrados en la memoria y el aprendizaje.

Las sinapsis colinérgicas que contienen receptores nicotínicos se encuentran mejor caracterizadas ya que se presenta en todas las uniones neuromusculares excitatorias de los vertebrados y en numerosos sitios del sistema nervioso.

#### **2.4.2 Acetilcolina y acetilcolinesterasa**

La acetilcolina (ACh), primera monoamina, clasificada como neurotransmisor gracias a Otto Loewi en 1921, se encuentra ampliamente distribuida en el sistema nervioso tanto central como periférico y su función, al igual que la de otros neurotransmisores, es mediar en la actividad sináptica del sistema. Su participación en diversas funciones fisiológicas y su carácter de neurotransmisor en la unión neuromuscular y cerebral de vertebrados e invertebrados ha propiciado su investigación buscando nuevas formas de bloquear o incrementar su actividad colinérgica. El estudio de sistemas y receptores colinérgicos del SNC ha generado gran interés debido a que diversas alteraciones en la transmisión de

---

<sup>51</sup> VOET, D. and VOET, J. "Bioquímica". Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana (2006); p. 777-789.

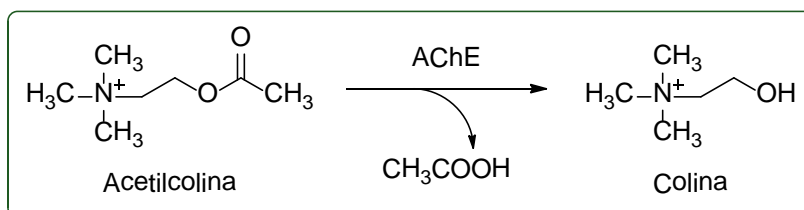
impulsos nerviosos han sido relacionadas con trastornos severos como la enfermedad de Alzheimer y la de Parkinson, además de ser uno de los principios para el desarrollo de nuevos y mejores insecticidas.<sup>52</sup>

La acetilcolina, éster acético de la colina, es sintetizada por la acción de la enzima colino-acetil-transferasa. Una vez ejercida su acción sobre las diferentes receptores colinérgicos, la ACh va a ser rápidamente eliminada de la hendidura sináptica mediante la acción de la enzima acetilcolinesterasa (AChE).<sup>51</sup>

### 2.4.3 Inhibidores de la AChE

Un punto para el control de la cantidad de neurotransmisor en el espacio sináptico se encuentra en la inhibición de la enzima encargada de su degradación por hidrólisis a colina y ácido acético, la AChE<sup>53,54,55</sup> (Esquema 3).

**Esquema 3.** Degradación de la acetilcolina.



La enzima AChE es una proteína tetramérica, cuyo sitio activo incluye un grupo hidroxilo que realiza un ataque nucleofílico sobre el carbonilo de la acetilcolina,

<sup>52</sup>MASSOUD, F. and LÉGER, G. "Pharmacological Treatment of Alzheimer Disease". *En; The Canadian Journal of Psychiatry*, Vol. 56 (2011); p. 579-588.

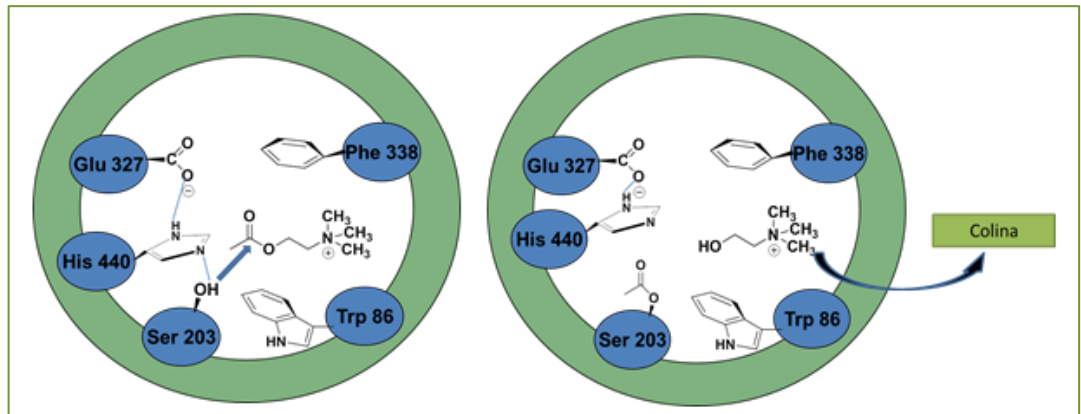
<sup>53</sup>JUNG, M. and PARK, M. "Acetylcholinesterase Inhibition by Flavonoids from *Agrimoniapilosa*". *Molecules*, Vol. 12 (2007); p. 2130-2139.

<sup>54</sup>SANCHO, E. and ANDREU, E. "In Vivo Inhibition Of Ache Activity In The European Eel *Anguilla Anguilla* Exposed To Technical Grade Fenitrothion". *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, Vol. 120 (1998); p. 389-395.

<sup>55</sup>LAZAREVIC-PAŠTI, T.; COLOVIC, M, SAVIC, J.; MOMIC, T. and VASIC, V. "Oxidation of diazinon and malathion by myeloperoxidase". *Pesticide Biochemistry and Physiology*, Vol. 100 (2011); p. 140-144.

desarrollando una transición tetraédrica produciendo la acetilación de la serina y la liberación de la colina (Figura 5).

**Figura 5.** Mecanismo simplificado de la degradación de la acetilcolina en el sitio activo de la AChE.



Los inhibidores de la AChE (IACHes) han encontrado un amplio campo de acción al surgir, por ejemplo, como estrategia terapéutica para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer (EA) contrarrestando el deterioro de la actividad colinérgica al estabilizar la concentración de la acetilcolina en la sinapsis de la corteza cerebral impidiendo la hidrólisis de este neurotransmisor.<sup>56</sup>

Su uso como plaguicidas (principalmente, carbamatos y compuestos organofosforados) se debe a la acumulación de ACh en el tejido neuromuscular de insectos y vertebrados observándose su continua estimulación y posterior parálisis, siendo ésta uno de los mecanismos de acción empleados para el tratamiento de plagas<sup>57</sup> (Figura6).

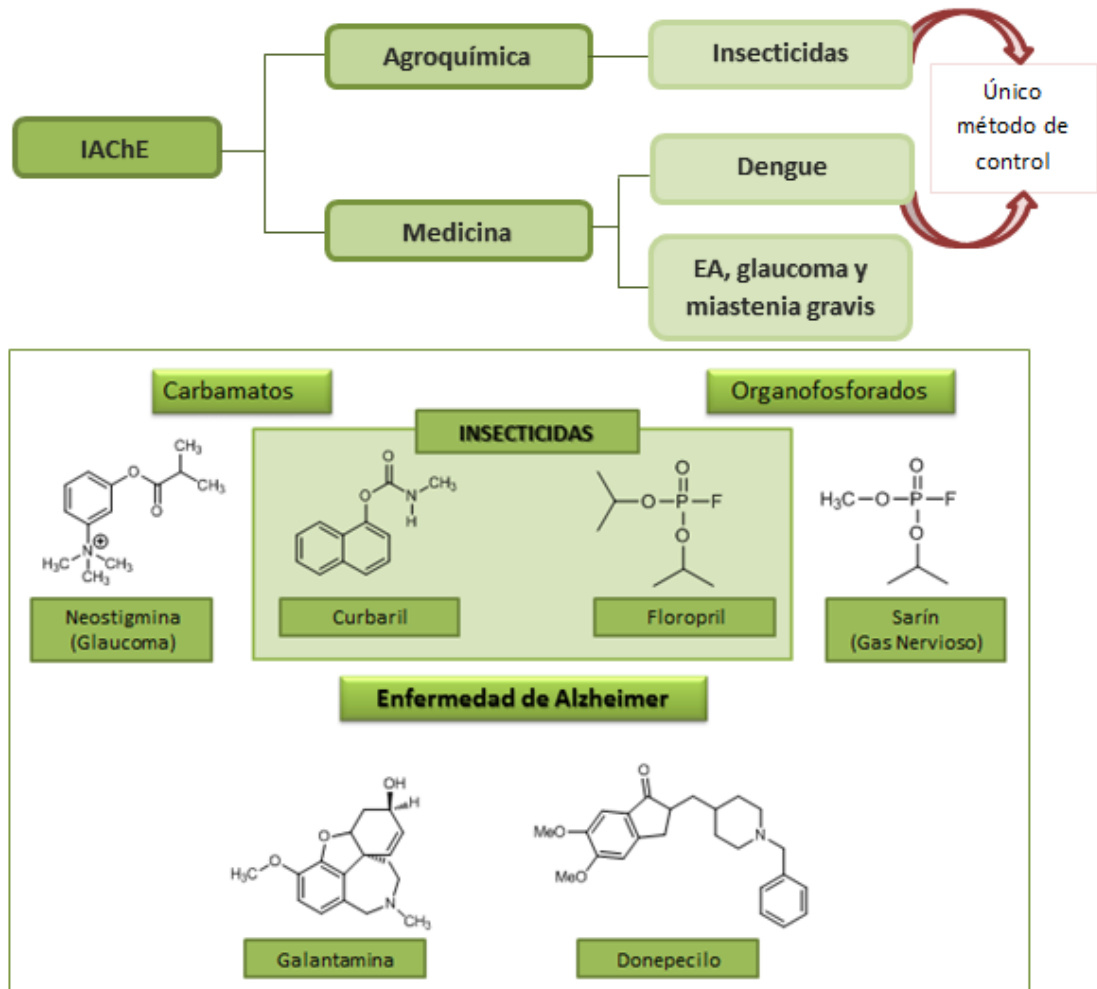
La búsqueda de mejores y más efectivos IACHes se ve estimulada por las desventajas presentes y/o producidas por los inhibidores actualmente usados ya

<sup>56</sup>LEE, J.; LEE, K.; YANG, J.; BAEK, N. and KIM, D. "Acetylcholinesterase Inhibitors from the Twigs of *Vaccinium Oldhami* Miquel". En: *Arch. Pharm. Res.*, Vol. 27 (2004); p. 53-56.

<sup>57</sup>NORDMEYER, D. and DICKSON, D. "Biological Activity and Acetylcholinesterase Inhibition by Nonfumigant Nematicides and their Degradation Products on *Meloidogyne Incognita*". En: *Revue. Nématol.*, Vol. 13 (1990); p. 229-232.

que, por ejemplo, a pesar de la eficacia de muchos insecticidas, sus residuos suponen contaminación de agua y suelo, así como su acumulación en productos alimenticios.

**Figura6.** Usos y ejemplos de los IChEs.



Referente al tratamiento de enfermedades, como la EA, además de contarse con pocos fármacos con acción selectiva para los sistemas colinérgicos cerebrales, éstos presentan limitaciones como su corto tiempo de vida media, baja biodisponibilidad y posibles efectos secundarios.

A continuación se discuten brevemente dos de los principales campos de acción de los IChEs: su empleo para el tratamiento de la EA y su potencial toxicológico sobre diferentes tipos de artrópodos.

#### **2.4.4 Enfermedad de Alzheimer. Tratamientos**

En los últimos tiempos la esperanza de vida ha aumentado considerablemente y con ello se está produciendo un significativo incremento en la incidencia y prevalencia de ciertas patologías de la población anciana. La EA es la causa más común de demencia senil en los adultos mayores, presentándose una disminución de la capacidad cognitiva además de graves alteraciones de comportamiento entre las que se cuentan irritabilidad, ansiedad, depresión y desorientación. Una marcada atrofia de la corteza cerebral, con pérdida de neuronas corticales y subcorticales, y la formación de las denominadas “placas seniles” se presentan como alteraciones histopatológicas a nivel cerebral.

En la actualidad se cuentan con pocas alternativas para enfrentar el mal de Alzheimer. Los fármacos actuales solo han mostrado producir una mejoría muy modesta y transitoria a la enfermedad, además de no presentarse estos mismos beneficios para todos los pacientes bajo tratamiento lo cual, acompañado por los efectos secundarios a corto plazo, llevan al abandono del tratamiento a más de un 20% de los pacientes.<sup>58</sup>

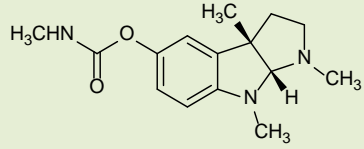
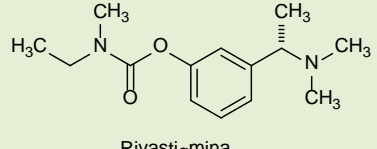
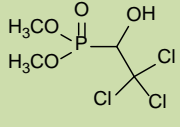
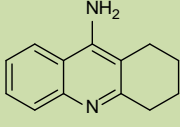
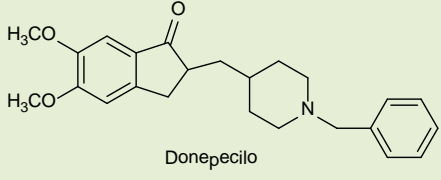
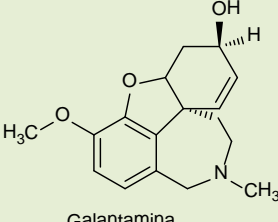
#### **Estrategias farmacoterapéuticas**

Entre los fármacos utilizados y en orden de aprobación por la FDA (Food and Drug Administration) se tienen la tacrina (bloqueador inespecífico de las colinesterasas), el donepecilo (altamente selectivo y más específico sobre las colinesterasas que la tacrina), la rivastigmina (selectivo y pseudo-irreversible de la enzima) y finalmente, la galantamina (Figura 7).

---

<sup>58</sup>GARCÍA, A. y GANDÍA, L. “Fronteras en la enfermedad de Alzheimer”. Madrid. Universidad Autónoma de Madrid. Cap.7 (2002); p. 120-139

**Figura 7.** Los IACHes como fármacos.

Carbamato de primera generación	Carbamato de segunda generación	
<b>Inhibidores seudo-irreversibles</b>		
 <p>Fisostigmina</p>	 <p>Rivastigmina</p>	
<b>Organofosforado</b>		
<b>Inhibidor irreversible</b>		
 <p>Metritonato</p>	<b>Análogo de las aminoacridinas</b>	
<b>Inhibidor reversible</b>		
 <p>Tacrina</p>		
<b>Análogo de las N-bencilpiperidinas</b>		
<b>Inhibidores reversibles</b>		
 <p>Donepecilo</p>	<b>Alcaloide</b>	
 <p>Galantamina</p>		

Entre otros inhibidores de la enzima AChE, la fisostigmina, al igual que la tacrina presentan limitaciones como su corto tiempo de vida media y efectos secundarios como severa hepatotoxicidad, otros como la rivastigmina, un carbamato, presenta problema de biodisponibilidad.<sup>59,60</sup>

<sup>59</sup>CHAM-KIM, S. and LEE N. "Detoxification of Sarin, an Acetylcholinesterase Inhibitor, by Recombinant, Organophosphorus Acid Anhydrolase" *En: BMB Reports*, Vol. 34 (2001); p. 441-451.

<sup>60</sup>RACCHI, M.; MAZZUCHELLI, M.; PORRELLO, E.; LANNI, C; and GOVONI, S. "Acetylcholinesterase inhibitors: novel activities of old molecules". *Pharmacol. Res.*Vol. 50 (2004); p. 441-451.

La galantamina, alcaloide con propiedades inhibitorias de la acetilcolina cerebral, es el fármaco de mayor uso en la actualidad al brindar, entre los demás disponibles, los mejores resultados cuando se sigue su tratamiento en forma continua. Además de la inhibición que brinda frente a la AChE, este alcaloide también actúa como un modelador alostérico, un coagonista que se une al receptor nicotínico, lo hipersensibiliza y le permite transmitir la señal que le indica el neurotransmisor captado con más rapidez.

#### 2.4.5 Actividad insecticida

La protección de cultivos de gran impacto socio-económico y el control de artrópodos transmisores de enfermedades es una tarea importante para la sociedad moderna donde la química orgánica sintética y la agroquímica juegan un rol decisivo desarrollando nuevos pesticidas, más seguros y efectivos, capaces de combatir diversas plagas.

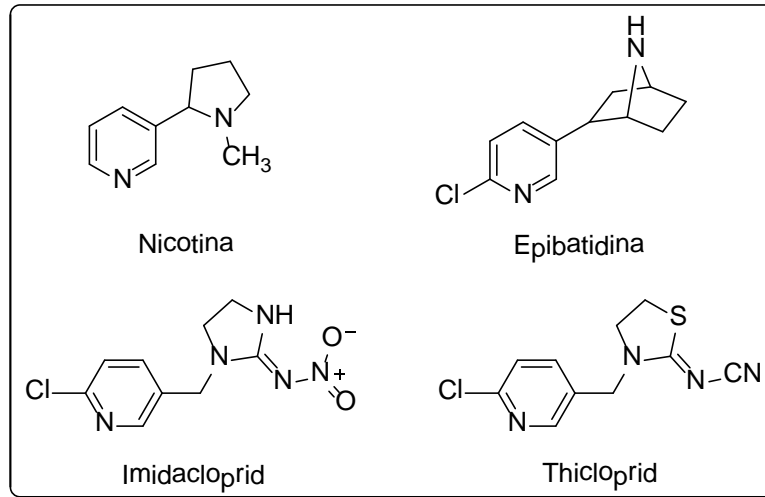
Hoy en día, para luchar contra plagas e insectos oportunistas se cuenta con una amplia gama de insecticidas que van desde los agentes agroquímicos clásicos, organofosforados (p.ej. floroplil), carbamatos (p.ej. carbaril), etc. hasta los insecticidas de tipo nicotinoideos y neonicotinoideos (p.ej. imidocloprid, thiamethoxam, etc.)<sup>61,62</sup>(Figura 8). Todos estos agentes insecticidas, ya sean clásicos o modernos, afectan el funcionamiento del sistema colinérgico de los insectos causando daños severos en los receptores nicotínicos y/o en la actividad de la enzima AChE.

---

<sup>61</sup> ZHAO, Y.; LI, Y.; WANG S.; and LI, Z. "Design, Synthesis, And Insecticidal Activity Of Novel Neonicotinoid Derivatives Containing N-Oxalyl Groups". *En: Arkivoc*, (2009) (xi) 152-164.

<sup>62</sup>NAUEN, R.; EBBINGHAUS-KINTSCHER, U.; SALGADO, V. and KAUSSMANN, M. "Thiamethoxam Is A Neonicotinoid Precursor Converted To Clothianidin In Insects And Plants". *En: Pesticide Biochemistry and Physiology*, Vol. 76 (2003); p. 55–69.

**Figura 8.** Insecticidas y productos naturales.



#### 2.4.5.1 *Aedes aegypti*: vector trasmisor del dengue

El dengue es considerada una de las enfermedades parasitarias (provocadas por arbovirus, - virus transmitidos por artrópodos -) más importantes que afectan a las sociedades en términos de morbilidad y mortalidad, convirtiéndole en un problema de salud publica a nivel mundial.

El primer estudio sobre la carga económica del dengue para las Américas, realizado entre 2000 y el 2007 por la Organización Panamericana de la Salud, indicó que esta enfermedad tuvo un costo promedio anual de US\$2.100 millones.<sup>63</sup>En el año 2010 Colombia registró 93 muertes por dengue y casi 78.000 casos entre los meses de enero a junio, de este número el 8% se presentó como dengue hemorrágico y el costo para nuestro país, solo en atención hospitalaria para este mismo año llegó a los 150 mil millones de pesos. La incidencia de esta enfermedad en países tropicales se debe a principalmente dos factores.

<sup>63</sup>Costo del dengue en las Américas supera al del rotavirus. (Feb. 2011) [www.scidev.net](http://www.scidev.net)

Primero, a condiciones ambientales como el fenómeno de la Niña y la ola invernal que anualmente se presenta en nuestro país, las cuales permiten el desarrollo y la proliferación del vector encargado de la transmisión del virus. Los vectores de esta enfermedad son los mosquitos hembra del género *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae), las cuales mediante picaduras ingieren la sangre necesaria para su proceso de ovoposición e infectan a los seres humanos.<sup>64</sup>

Como segundo factor se tiene la falta de una vacuna para prevenir o de fármacos tratar la enfermedad y, por consiguiente, la lucha contra la proliferación de este mosquito es, desde hace varias décadas, el único método disponible para combatirla.

#### **2.4.5.2 Pudrición de cogollo en palma africana y plagas oportunistas**

Debido a su mejor rendimiento por hectárea, sus bajos costos de producción y sus múltiples usos, la palma de aceite es para nuestro país el cultivo que actualmente presenta mayor proyección a nivel nacional con aprox. 350.000 hectáreas sembradas manteniendo un incremento anual del 11% desde el 2002 y un potencial por encima de las 3.000.000 de hectáreas. Colombia se divide en varias zonas aptas para su cultivo: en la zona norte se tienen los departamentos de Magdalena, Norte del Cesar, Atlántico y Guajira, en la zona central a Santander, Norte de Santander, sur del Cesar y Bolívar, mientras que la zona oriental comprende los departamentos de Meta, Cundinamarca, Casanare y Caquetá y la zona Occidental la conforman los departamentos de Nariño y Choco.<sup>65</sup>

---

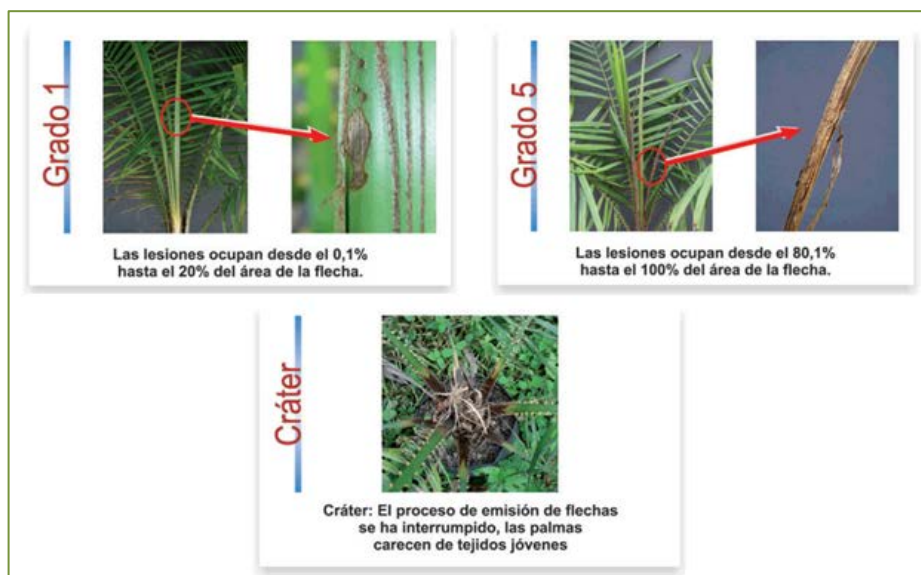
<sup>64</sup>ROEKRING, S. and DUNCAN R. "Induction of apoptosis in dengue virus infected *Aedes aegypti* mosquitoes". En. *Journal of Invertebrate Pathology*, Vol. 104 (2010); p. 239–241.

<sup>65</sup> BASTIDAS, E. y ENRIQUEZ, G. "Caracterización morfológica de palmas de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) enfermas con pudrición de cogollo en la zona palmera occidental". En: Tesis de grado, Universidad de Nariño (2008).

Como con todos los cultivos de este tipo, una falta de manejo integrado de la flora, suelo y nutrientes pueden llegar a proveer hábitats y fuentes de alimentación para plagas potenciales de los mismos. Actualmente, uno de los problemas de mayor potencial destructivo de la palma aceitera, no sólo para Colombia, sino para toda Latinoamérica es la pudrición del cogollo (PC).<sup>66</sup>

Esta enfermedad que se manifiesta con la pudrición de la hoja sin abrir denominada flechala cuál lleva a la muerte de la palma si alcanza los tejidos meristemáticos afectando directamente la producción y la rentabilidad de los cultivos lo que la convierte en una de las principales limitaciones para zonas palmeras del país (Figura 9). Al causar disminuciones severas de hasta un 30% de toneladas de fruto fresco, disminuye los rendimientos de producción y ocasiona la desaparición de miles de hectáreas que al presentar la PC deben ser entonces sacrificadas.

**Figura 9.** Escala de grados de severidad de la PC (Cenipalma).



<sup>66</sup>SANTOS, A. "Análisis de las últimas investigaciones sobre pudrición del cogollo en palma de aceite (*Elaeisguineensis*Jacq)". En:Tesis especialización en Cultivos Perennes Industriales, Universidad Nacional de Colombia (2010).

Aunque ninguna acción investigativa ha elucidado con certeza la causa de la enfermedad (factores bióticos o abióticos) se ha logrado determinar que tratamientos que incluyen un control a la acción de los insectos (plagas) que atacan a las plantas que presentan la PC brindaban a la misma la oportunidad de recuperarse y después de un tiempo volver a ser lucrativa para el sector agrícola, evitando así su pérdida total.

La mayoría de las plagas de importancia que afectan este cultivo en la América tropical son especies nativas del continente que se adaptaron al nuevo cultivo, entre las que se tienen cerca de 80 artrópodos plaga potencialmente importantes no sólo para Colombia, sino también para toda América en su zona tropical, algunas mostrando mayor poder destructivo que otras.<sup>67</sup> Como ejemplo se cita al coleóptero *Rhynchophorus palmarum* (Figura 10) atraído por las heridas y pudriciones en el tallo y en el cogollo de las palmas enfermas, donde ocurre su ovoposición y desarrollo alcanzando el estado larval que supone un deterioro considerable de los tejidos.<sup>68</sup>

**Figura 10.** Escarabajo *Rhynchophorus palmarum* L.



---

<sup>67</sup> CAMPANELLA, V., IPPOLITO, A. and NIGRO, F. "Activity of calcium salts in controlling *Phytophthora* root rot of citrus". En: Crop Protection. Vol. 21 (2002); p. 751-756.

<sup>68</sup> CHINCHILLA, C. "Manejo integrado de problemas fitosanitarios en palma aceitera *Elaeis guineensis* en América Central". En: Manejo integrado de plagas y agroecología. Vol. 67 (2003); p. 69-82.

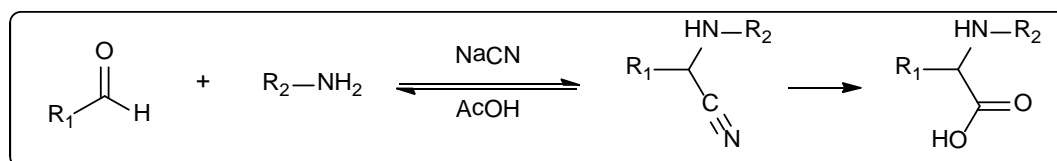
Buscando dar solución a esta problemática, los insecticidas químicos continúan siendo un importante componente en su manejo, aun con la implementación de cultivos transgénicos resistentes a ellos. Sin embargo, el uso permanente de estos compuestos sintéticos causa el desarrollo de la resistencia por parte de los insectos. Los problemas de resistencia frente a algunos insecticidas usados excesivamente en la lucha contra plagas y el de su alta toxicidad, obliga a los científicos a desarrollar nuevas entidades químicas más selectivas y menos tóxicas para diversificar y completar el arsenal de agentes agroquímicos.<sup>69,70</sup>

## 2.5 CONSTRUCCIÓN DE $\alpha$ -AMINONITRILOS

### 2.5.1 Reacción de Strecker. Antecedentes

Conocida como la primera reacción multi-componente, desarrollada en 1850 por Adolph Strecker, es la más antigua ruta sintética para la producción de  $\alpha$ -aminoácidos los cuales se obtienen como resultado de la condensación entre un aldehído, una amina y NaCN en fase ácida, seguida de una hidrólisis básica<sup>71,72</sup> (Esquema 4).

**Esquema 4.** Reacción clásica de Strecker: Generación de  $\alpha$ -aminoácidos.



<sup>69</sup> IHARA, M.; BROWN, I.; ISHIDA, C.; OKUDA, H.; SATTELLE, D. and MATSUDA, M. "Actions of imidacloprid, clothianidin and related neonicotinoids on nicotinic acetylcholine receptors of American cockroach neurons and their relationships with insecticidal potency". En: J. Pestic. Sci., Vol. 31 (2006); p. 35-40.

<sup>70</sup> LAMBERTH, C. "Alkyne chemistry in crop protection". En: Bioorg. Med. Chem., Vol. 17 (2009); p. 4047-4063.

<sup>71</sup> NORTH, M. "Synthesis and Applications of Non-Racemic Cyanohydrins and  $\alpha$ -Amino nitriles". En: Tetrahedron, Vol. 60 (2004); p. 10383-10384.

<sup>72</sup> STOUT, D. M.; BLACK, L. A. and MATIER, W. L. "Asymmetric Strecker Synthesis: Isolation of Pure Enantiomers and Mechanistic Implications". En: J. Org. Chem., Vol. 48 (1983); p. 5369-5373.

Modificaciones realizadas a la metodología clásica de Strecker como las variaciones en la fuente de cianuro, condiciones de reacción, compuestos carbonílicos y aminas utilizadas, la convirtieron en una ruta atractiva a nivel de síntesis orgánica al brindar productos de gran importancia tanto a escala de laboratorio como a escala industrial.<sup>73</sup> Es así que su fiabilidad, disponibilidad de los materiales de partida y su versatilidad la convirtieron en un muy importante proceso para la obtención de productos de gran interés químico (como herbicidas y agentes quelantes), biológico (como aminoácidos) y farmacológico (como analgésicos y antimicóticos).<sup>74,75</sup>

## 2.5.2 Fuentes de cianuro

Al ser la cianación de iminas una de las más importantes herramientas para la construcción de moléculas en las que se encuentran átomos de nitrógeno funcionalizados, la exploración de fuentes de cianuro más seguras y eficientes sigue presentándose como un objetivo para el desarrollo de nuevas metodologías.<sup>76,77,78</sup>

---

<sup>73</sup>CATIVIELA, C. and ORDÓÑEZ, M. "Recent Progress on the Stereoselective Synthesis of Cyclic Quaternary  $\alpha$ -Amino Acids" En: *Tetrahedron: Asymmetry*, Vol. 20 (2009); p. 1-63.

<sup>74</sup>GRÖGER, H. "Catalytic Enantioselective Strecker Reactions and Analogous Synthesis". En: *Chem. Rev.*, Vol. 103 (2003); p. 2795-2827.

<sup>75</sup>KATRITZKY, A.; YANG, H. and SINGH, S. "Preparation of Tertiary Alkyl Carbinamines, Propargylamines, and  $\alpha$ -Heteroarylamines by Ketone-Based Aminoalkylation". En: *J. Org. Chem.*, Vol. 70 (2004); p. 286-290.

<sup>76</sup>LAKSHMI, K., MAHENDAR, K., BOJJA, S. and CHOUDARY, B.M. "Synthesis of  $\alpha$ -Amino Nitriles through Strecker Reaction of Aldimines and Cetoimines by Using Nanocrystalline Magnesium Oxide". En: *Tetrahedron*, Vol. 64 (2008); p. 3351-3360.

<sup>77</sup>SIPOS, S. and JABLONKAI, I. "One-Pot Reaction of  $\alpha$ -Aminonitriles From Alkyl and Aryl Cyanides: A Strecker Reaction Via Aldimine Alanes". En: *Tetrahedron Lett.*, Vol. 50 (2009); p. 1844-1846.

<sup>78</sup>JENNER, G.; SALEM, R.B.; KIM, J.C. and MATSUMOTO, K. "Effect of Pressure on the Strecker Synthesis of Hindered  $\alpha$ -Aminonitriles from Ketones and Aromatic Amines". En: *Tetrahedron Lett.*, Vol. 44 (2003); p. 447-449.

Entre los inconvenientes que surgen al emplear fuentes de cianuro como ácido HCN,  $(\text{EtO})_2\text{P}(\text{O})\text{CN}$ ,  $\text{Et}_2\text{AlCN}$  y  $\text{Bu}_3\text{SnCN}$ ,<sup>79</sup> se cuentan principalmente las fuertes condiciones de reacción, al igual que la complejidad en su manejo ya que, por ejemplo, la manipulación del HCN gaseoso y de los líquidos inestables y tóxicos  $(\text{EtO})_2\text{P}(\text{O})\text{CN}$ ,  $\text{Et}_2\text{AlCN}$ ,  $\text{Bu}_3\text{SnCN}$  y TMSCN (cianuro de trimetilsililo) es muy engorrosa y se hacen necesarios equipos especiales y condiciones de seguridad más exigentes para su uso a pequeña y gran escala.<sup>80,81,82</sup>

Sin embargo, cabe resaltar las ventajas que ofrece el empleo del TMSCN ya que en muchas reacciones no se requiere el uso de catalizadores ácidos promover la reacción. Como condición se utilizan aldehídos y aminas aromáticas y se emplean disolventes orgánicos polares ( $\text{MeCN}$ , tolueno o  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) que mejoran considerablemente la solubilidad de los precursores empleados.<sup>83,84</sup> En estos casos los rendimientos son excelentes (75-99%), lo que facilita el aislamiento y purificación de los productos finales. Los derivados cianohidríntrimetilsilílicos no se detectan, permitiendo afirmar así que el TMSCN no es lo suficientemente nucleofílico para reaccionar con el precursor carbonílico (Esquema 5). Sin embargo, el TMSCN tiene precio muy alto y es difícil de manipular.

---

<sup>79</sup>RESNICK, L. and GALANTE, R.J. "A Practical Synthesis of 3-Ethyl-1-Norvaline". En: *Tetrahedron: Asymmetry*, Vol. 17 (2006); p 846-849.

<sup>80</sup>HEYDARI, A.; KHAKSAR, S. and TAJBAKHSI, M. "Trifluoroethanol as a Metal-Free, Homogeneous and Recyclable Medium for the Efficient One-Pot Synthesis of  $\alpha$ -Amino Nitriles and  $\alpha$ -Amino Phosphonates". En: *Tetrahedron Lett.*, Vol. 50 (2009); p. 77-80.

<sup>81</sup>HARUSAWA, S.; HAMADA, Y. and SHIOIRI, T. "Diethylphosphorocyanidated (DEPC). "A Novel Reagent for the Classical Strecker's  $\alpha$ -Aminonitrile Synthesis". En: *Tetrahedron Lett.*, Vol. 20 (1979); p. 4664-4670.

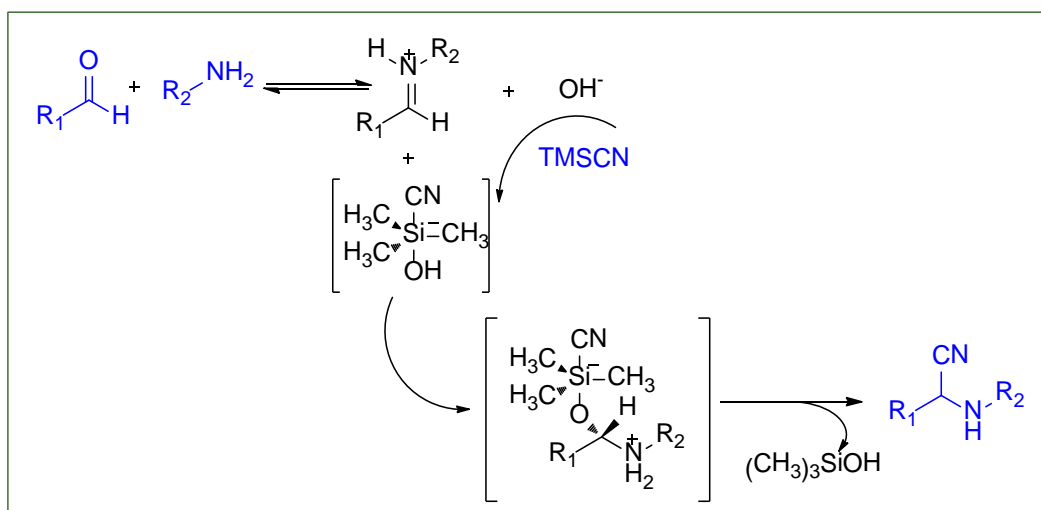
<sup>82</sup>NAKAMURA, S.; SATO, N.; SUGIMOTO, M.; TORU, T. and TETRAH T. "A New approach to Enantioselective Cyanation of Imines with  $\text{Et}_2\text{AlCN}$ ". En: *Tetrahedron: Asymmetry*, Vol. 15 (2004); p. 1513-1517.

<sup>83</sup>MARTÍNEZ, R.; RAMÓN, D. and YUS, M. "Catalyst-Free Multicomponent Strecker Reaction in Acetonitrile". En: *Tetrahedron Lett.*, Vol. 46 (2005); p. 8471-8474.

<sup>84</sup>VACHAL, P. and JACOBSEN, E. "Structure-Based Analysis and Optimization of Highly Enantioselective Catalyst for the Strecker Reaction". En: *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 124 (2002); p. 10012-10016.

La búsqueda de mejores y más seguras fuentes de cianuro condujo a la generación y empleo de la acetona cianhidrina (CN(OH)CMe<sub>2</sub>). Este compuesto, utilizado en las industrias químicas y metalúrgicas como agente acomplejante en el refinado y separación de metales, al igual que en la de plásticos y caucho, es producido a partir de la reacción de acetona con NaCN en presencia de ácido sulfúrico, siendo poco empleada debido a que aunque es económica y estable, se ve opacada por la alta eficiencia que ofrecen las reacciones llevadas a cabo con TMSCN ya sea en disolventes orgánicos o en procesos libres de disolventes.<sup>85</sup>

**Esquema 5.** Ruta sintética de la reacción de Strecker empleando TMSCN.



### 2.5.3. Catalizadores

Al igual que con las fuentes de cianuro y hasta cierto punto debido a ellas, se han empleado y desarrollado diversos tipos de catalizadores que han logrado, en muchos casos, mejoras significativas en los rendimientos y tiempos de reacción.<sup>86</sup>

<sup>85</sup>SHAABANI, A.; ABBAS, R.; FARHANGI, E. and BADRI, Z. "Silica Sulfuric Acid Promoted the One-Pot Synthesis of Trisubstituted Imidazoles Under Conventional Heating Conditions or Using Microwave Irradiation". En: *Cat. Comm.*, Vol. 8 (2007); p. 1149-1152.

<sup>86</sup>HEYDARI, A.; AREFI, A.; KHAKSAR, S. and SHIROODI, R.K. "Guanidine hydrochloride: An active and simple catalyst for Strecker type reaction". En: *J. Mol. Cat. A: Chem.*, Vol. 271 (2007); p. 142-144.

Entre estos tipos (Tabla 3) sobresalen los ácidos de Lewis por su economía, simplicidad operacional, estabilidad al encontrarse con pequeñas cantidades de agua y el amplio rango de disolventes a usar.

Además presentan como mayor ventaja que la reacción se da de un modo “one-pot”, ya que no requiere un paso de separación de la imina generada para su subsecuente uso, lo cual elimina el trabajo de aislamiento de intermediarios y agiliza la obtención de los  $\alpha$ -aminonitrilos esperados.

**Tabla 3.** Catalizadores empleados en la obtención de diversos  $\alpha$ -aminonitrilos.

Catalizadores/ Disolventes	InCl <sub>3</sub> / THF	BiCl <sub>3</sub> / MeCN	CoCl <sub>2</sub> / MeCN	Cu(OTf) <sub>2</sub> , Et <sub>3</sub> N/MeCN	NiCl <sub>2</sub>	40%PW/SiO <sub>2</sub> / MeCN	SiO <sub>2</sub> - SO <sub>3</sub> H/ CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>
<b>Ref.</b>	87	88	89,90	91	92	93	94

<sup>87</sup>RANU, B.; DEY, S.S. and HAJRA, A. “Indium Trichloride Catalyzed One-Step Synthesis of  $\alpha$ -Aminonitriles by a Three-Component Condensation of Carbonyl Compounds, Amines and Potassium Cyanide”. En: *Tetrahedron.*, Vol. 58 (2002); p. 2529-2532.

<sup>88</sup>DE, K. and GIBBS, A. “Bismuth Trichloride Catalyzed Synthesis of  $\alpha$ -Aminonitriles”. En: *Tetrahedron Lett.*, Vol. 45 (2004); p. 7407-7408.

<sup>89</sup>DE, S. K. “Cobalt(II) chloride catalyzed one-pot synthesis of  $\alpha$ -aminonitriles”. En: *Beilstein J. Org. Chem.*, Vol. 1 (2005); doi:10.1186/1860-5397-1-8.

<sup>90</sup>TULINSKY, J.; CHENEY, B. V.; MIZSAK, S. A.; WATT, W.; HAN, F.; DOLAK, L. A.; JUDGE, T. and GAMMILL, R. “Novel Asymmetric Synthesis of Atropisomeric 6-Aryl Pyrazinones Via an Unusual Chirality Transfer Process”. En: *J. Org. Chem.*, Vol. 64 (1999); p.93-100.

<sup>91</sup>PARASKAR, A. and SUDALAI, A. “Cu(OTf)<sub>2</sub> or Et<sub>3</sub>N-Catalyzed Three-Component Condensation of Aldehydes, Amines and Cyanides: A High Yielding Synthesis of  $\alpha$ -Aminonitriles”. En: *Tetrahedron Lett.*, Vol. 47 (2006); p. 5759-5762.

<sup>92</sup>KANTA DE, S. “Nickel (II) Chloride Catalyzed One-Pot Synthesis of  $\alpha$ -Aminonitriles”. En: *J. Mol. Cat. A: Chem.*, Vol. 225 (2005); p. 169-171.

<sup>93</sup>RAFIEE, E.; RASHIDZADEH, S. and AZAD, A. “Silica-Supported Heteropoly Acids: Highly Efficient Catalysts for Synthesis of  $\alpha$ -Aminonitriles, Using Trimethylsilyl Cyanide or Potassium Cyanide”. En: *J. Mol. Cat. A: Chem.*, Vol. 261 (2007); p 49-52.

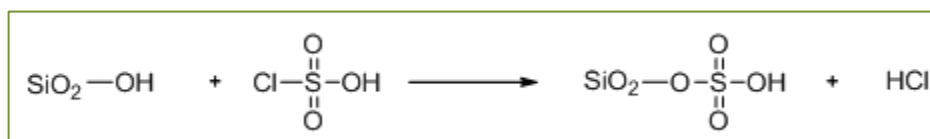
<sup>94</sup>CHEN, W.Y. and LU, J. “Silica Sulfuric Acid Catalyzed One-Pot Synthesis of  $\alpha$ -Aminonitriles”. En: *Synlett*, Vol. 15 (2005); p. 2293-2296.

## Catalizadores soportados

Desde hace algo menos de 10 años los catalizadores heterogéneos soportados sobre gel de sílice o alúmina han emergido en la metodología orgánica sintética debido a aspectos tanto ambientales como económicos e industriales (química verde). Entre los catalizadores ácidos más usados se tienen los obtenidos a partir de gel de sílice o alúmina y HF, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HClO<sub>4</sub> y H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, los cuales ofrecen incrementos en las velocidades de reacción, fácil manejo, mayor selectividad y en la mayoría de los casos un tratamiento más sencillo de la masa de reacción. Además disminuyen los problemas de corrosión de plantas y reactores a escala industrial.<sup>95</sup>

El catalizador preparado por la reacción del gel de sílice y el ácido clorosulfónico (Esquema 6) ha mostrado gran eficiencia en las reacciones de condensación *in situ* a partir del compuesto carbonílico y la amina.<sup>96</sup>

**Esquema 6.** Generación del catalizador ácido clorosulfónico sólido.



Su reusabilidad es uno de sus beneficios más importantes haciéndolo muy atractivo para su aplicabilidad comercial. El trabajo de Chen y Lu,<sup>97</sup> mostró que después de la recuperación por filtrado y lavado con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, sin perder actividad catalítica de

<sup>95</sup>PORE, D. M.; SOUDAGAR, M. S.; DESAI, U. V.; THOPATE, T. S. and WADAGAONKAR, P. P. "Potassium Phosphate or Silica Sulfuric Acid Catalyzed Conjugate Addition of Thiol to  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Ketones at Room Temperature Under Solvent-Free Conditions" En: *Tetrahedron Lett.*, Vol. 47 (2006); p. 9325-9328.

<sup>96</sup>SHATERIAN, H.; GHASHANG, M. and HASSANKHANI, A. "One-Pot Synthesis of Aril 14H-Dibenzo[a,j]Xanthene Leuco-dye Derivatives". En: *Dyes and Pigments*, Vol. 76 (2008); p. 564-568.

<sup>97</sup>CHEN, W. and LU, J. "Silica Sulfuric Acid Catalyzed One-Pot Synthesis of  $\alpha$ -Aminonitriles". En: *Synlett*, Vol. 15 (2005); p. 2293-2296.

tres ciclos. Estudios más recientes mostraron que si el filtrado y lavado se realiza con  $\text{CHCl}_3$  y el secado a una temperatura no mayor a  $60^\circ\text{C}$  puede ser utilizado, por lo menos, durante cinco ciclos más sin ninguna disminución de su actividad.

## **2.6 MÉTODOS SINTÉTICOS PARA LA GENERACIÓN DE A-AMINONITRILOS**

### **2.6.1 Empleo de ácidos de Lewis**

Las variaciones a las que ha estado sujeta por años la reacción de Strecker han llevado al uso de los catalizadores tipo ácido de Lewis. Actualmente los catalizadores ácidos más utilizados son los cloruros de indio, cobalto y bismuto; éstos son empleados en un mayor grado con aldehídos alifáticos o aromáticos, con aminas tanto primarias como secundarias cíclicas en un solvente orgánico como el MeCN y en presencia de KCN, llevándose a cabo a temperatura ambiente y bajo agitación vigorosa.<sup>87-89</sup>

Bajo estas condiciones los menores rendimientos de la reacción se obtienen al emplear aldehídos alifáticos y aminas primarias como la anilina. Con respecto al empleo de benzaldehídos con grupos electroattractores (halógenos) en posición C-4 ha mostrado favorecer la obtención del producto, con respecto a los resultados al utilizar aldehídos con grupos electrodonadores como el grupo metoxi en esta misma posición. A las aminas utilizadas se observa una tendencia positiva al emplearse aminas primarias como la bencilamina (Tabla 4).

**Tabla 4.** Rendimientos al emplear ácidos de Lewis en la reacción de Strecker.

Aldehído	Amina	InCl <sub>3</sub>		BiCl <sub>3</sub>		CoCl <sub>3</sub>	
		Rend%	Tiempoh	Rend%	Tiempoh	Rend%	Tiempoh
Benzaldehído	Anilina	75	6	84	10	91	10
Benzaldehído	Morfolina	82	4	89	7	74	12
Furfural	Bencilamina	47	8	82	6	-	-
Tiofen-2-carbaldehído	Bencilamina	62	8	84	6	82	11
4-Metoxi benzaldehído	Bencilamina	93	5	90	6	85	3
4-Metoxi benzaldehído	Anilina	-	-	-	-	83	12
4-Metoxi benzaldehído	Pirrolidina	-	-	86	6	-	-
4-Cloro benzaldehído	Bencilamina	-	-	91	8	-	-
4-Cloro benzaldehído	Anilina	-	-	-	-	89	12

### 2.6.2 Empleo de la acetona cianhídrica en la reacción de Strecker

El uso de disolventes orgánicos en la reacción de Strecker modificada, en lugar de llevarla como en su forma clásica en medio acuoso, ha conducido a la búsqueda de fuentes orgánicas de cianuro que resuelvan el problema de solubilidad de las sales inorgánicas en este medio de reacción. El uso de la acetona cianhídrica ha brindado solución no sólo a esta problemática, sino también a las marcadas exigencias de fuentes de cianuro como el HCN, el (EtO)<sub>2</sub>P(O)CN<sup>81</sup> o el Bu<sub>3</sub>SnCN<sup>84</sup> entre otras, además de ofrecer rendimientos comparables con los alcanzados por el TMSCN.

El uso del sistema acetona cianhídrica/ácido de Lewis ha sido empleado en la síntesis de α-aminonitrilos. De los encontrados en la literatura llama especialmente nuestra atención el uso reciente de catalizadores orgánicos como la Et<sub>3</sub>N la cual

brinda alternativas más limpias que las ofrecidas por los catalizadores metálicos tradicionales como el  $\text{BiCl}_3$ , que necesita un “work up” más tedioso al generarse emulsiones durante el proceso de extracción e inconvenientes al tratar de separarse por columna de gel de sílice o alúmina.

Los rendimientos de reacción observados con el sistema acetona cianhidrina/ $\text{Et}_3\text{N}$  cuando se emplean aldehídos aromáticos con grupos ya sean electrodonadores o electroattractores y aminas como la 4-metoxianilina y la bencilamina son altos y comparables con los alcanzados por uno de los mejores sistemas para este objetivo reportados en la literatura, el cual emplea el TMSCN y el  $\text{Cu}(\text{OTf})_2$  como catalizador ácido de Lewis<sup>91</sup> (Tabla 5).

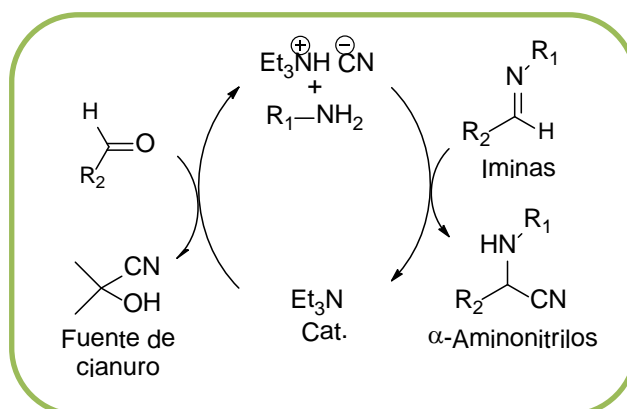
**Tabla 5.** Comparación de los rendimientos de reacción empleando  $\text{Cu}(\text{OTf})_2$  y  $\text{Et}_3\text{N}$  como catalizadores.

R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Rendimiento (%)	
		Catalizador	
		Cu(OTf) <sub>2</sub>	Et <sub>3</sub> N
C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -CH <sub>2</sub>	98	99
C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	4-MeO-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	95	93
4-MeO-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	4-MeO-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	99	95
4-HO-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	4-MeO-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	85	88
3,4-(MeO) <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>3</sub>	4-MeO-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	92	95
3,4-(O-CH <sub>2</sub> -O)-C <sub>6</sub> H <sub>3</sub>	4-MeO-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	90	93
2-Furil	4-MeO-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	74	78

Su mecanismo más probable es vía la generación de un aducto  $\text{Et}_3\text{N}\cdot\text{HCN}$ , formado por la reacción de la acetona cianhidrina con la  $\text{Et}_3\text{N}$ , transfiriendo el ion

CN<sup>-</sup> a la imina generada *in situ*, regenerándose así la Et<sub>3</sub>N y el α-aminonitrilo de interés (Esquema 7).

**Esquema 7.** Ciclo catalítico propuesto para la hidrogenación de iminas empleando Et<sub>3</sub>N como catalizador.



### 2.6.3 Empleo del catalizador ácido clorosulfónico soportado sobre gel de sílice

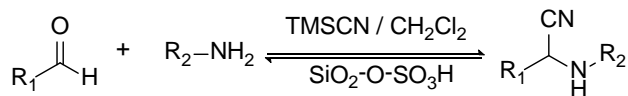
El desarrollo de metodologías eficientes que incluyan el uso de catalizadores reusables se ha convertido en un objetivo importante de la química orgánica ya que su dirección indaga por rutas sintéticas más limpias, siguiendo los planteamientos de la química verde con el fin de reducir o eliminar el uso y generación de sustancias peligrosas para el medio ambiente.<sup>98</sup>

En un procedimiento típico la obtención de los α-aminonitrilos se logra por la reacción del compuesto carbonílico, la amina, la fuente de cianuro y el catalizador ácido soportado utilizando un disolvente orgánico como el diclorometano (Tabla 6). Para reacciones de este tipo, al utilizar TMS-CN junto con aldehídos aromáticos o alifáticos, se obtienen en ambos casos los productos esperados con altos

<sup>98</sup>TALAWAR, M.B.; SIVABALAN, R.; MUKUNDAN, T.; MUTHURAJAN, A.K.; GANDHE, B. R. and RAO, S. "Environmentally compatible next generation green energetic materials (GEMs)". En: *J. Hazardous Materials*, Vol. 161 (2009); p. 589–607.

rendimientos, mientras que al utilizar cetonas no se observan ni en el mejor de los casos resultados aceptables.

**Tabla 6.** Resultados del empleo del SiO<sub>2</sub>-OSO<sub>3</sub>H como catalizador.



Aldehído	Amina	SiO <sub>2</sub> -OSO <sub>3</sub> H	
		Rend %	Tiempo h
Benzaldehído	Anilina	88	6
Benzaldehído	Bencilamina	76	5.5
4-Metoxi benzaldehído	Bencilamina	77	8
4-Cloro benzaldehído	Bencilamina	91	4.5
4-Cloro benzaldehído	Anilina	91	7

Este método demostró ser igualmente efectivo con aldehídos o aminas con sustituyentes electroattractores y electrodonadores en sus anillos aromáticos, lo mismo que al emplear aminas primarias (alifáticos o aromáticas) o aminas secundarias cíclicas (como la pirrolidina y la morfolina, precursores principales en nuestra investigación).

Sin embargo, su uso con aldehídos como el furfural y el tiofen-2-carbaldehído no brinda los productos esperados debido a que estos compuestos carbonílicos sufren fácilmente descomposición o polimerización en medios ácidos.<sup>94,99</sup> El uso del catalizador ácido sulfónico soportado en gel de sílice también ha sido empleado para la generación de imidazoles y oxazolinas. Para estos casos se emplean fuentes de cianuro orgánicas como el benzonitrilo, cianotiofeno y 4-cianopiperidina, entre otros.<sup>100</sup>

<sup>99</sup>ZOLFIGOL, M. A. "Silica sulfuric acid/NaNO<sub>2</sub> as a Novel Heterogenous System for Production of Thionitrites and Disulfides Under Mild Conditions". *En: Tetrahedron*, Vol. 57 (2001); p. 9509-9511.

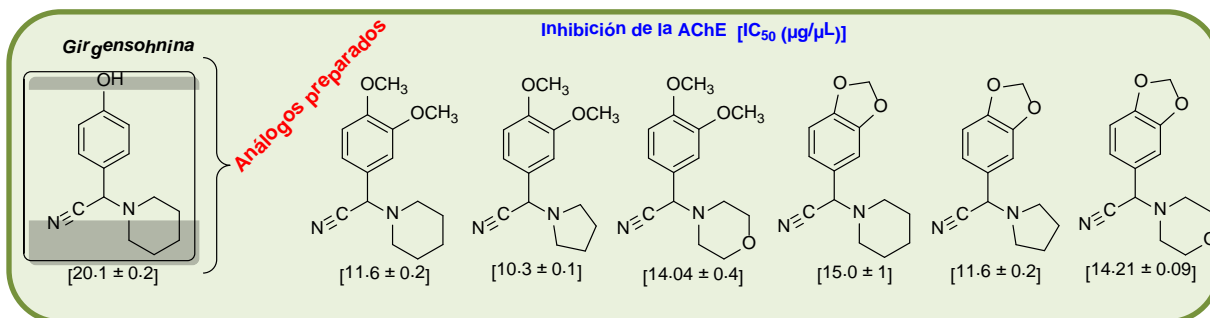
<sup>100</sup>MOHAMMADPOOR-BALTORK, I.; MIRKHANI, V., MOGHADAM, M.; TANGESTANINEJAD, S.; ZOLFIGOL, M. A.; ABDOLLAHI-ALIBEIK, M.; KHOSROPOUR, A. R.; KARGAR, H. and HOJATI, S. F. "Silica Sulfuric Acid: A Versatile and Reusable Heterogeneous Catalyst for the Synthesis of

## 2.7 LA GIRGENSOHNINA Y SUS ANÁLOGOS: SÍNTESIS y EVALUACIÓN BIOLÓGICA

Anteriormente (ver p. 20), se mencionó que la primera síntesis de este alcaloide fue realizada en nuestro laboratorio.<sup>50</sup> El estudio posterior<sup>101</sup> nos permitió mejorar la síntesis de girgensohnina y preparar sus análogos más cercanos, empleando aminas heterocíclicas (piperidina, morfolina y pirrolidina) y aldehídos aromáticos (3,4-dimetoxibenzaldehído y piperonal).

Se evaluó la inhibición de cada una de las moléculas obtenidas y del alcaloide cabeza de serie frente a la AChE bovina, empleando una modificación de la metodología descrita por Ellman<sup>102,103</sup> realizada en nuestro laboratorio.<sup>50</sup> Los resultados de este ensayo mostraron que los análogos presentan una inhibición mayor que la del alcaloide natural (Figura 11).

**Figura 11.** Actividad inhibitoria frente AChE de la girgensohnina y sus análogos sintéticos.



Oxazolines and Imidazolines Under Various Reaction Conditions". En: *Cat. Comm.*, Vol. 9 (2008); p. 894–901.

<sup>101</sup>CARREÑO, A. "Reacción de Strecker como proceso de cianación de tres componentes: acceso fácil de obtención del alcaloide girgensohnina y sus análogos". Tesis de pregrado, Universidad Industrial de Santander, 2010.

<sup>102</sup>ELLMAN, G.; COURTNEY, K.; ANDRES.V. and FEATHER-STONE, R. "A New And Rapid Colorimetric Determination Of Acetylcholinesterase Activity". En: *Biochem. Pharmacol.*, Vol. 7 (1961); p. 88-95.

<sup>103</sup>JÄRVINEN, P.; VUORELA, P.; HATAKKA, A. and FALLARERO, A. "Potency Determinations Of Acetylcholinesterase Inhibitors Using Ellman's Reaction-Based Assay In Screening: Effect Of Assay Variants". En: *Analytical Biochemistry*, Vol. 408 (2011); p. 166-168.

La búsqueda de nuevos, mejores y más potentes IChEs plantea un reto para nuestro grupo de investigación. Los resultados obtenidos bajo la metodología desarrollada centraron nuestra atención, siendo el objetivo más importante de esta investigación, en la elección de precursores que permitieran desarrollar análogos con inhibiciones mayores frente a la AChE.

## **2.8 DISEÑO RACIONAL DE SISTEMAS CON POSIBLE ACTIVIDAD BIOLÓGICA**

El diseño racional de sistemas que expresen una actividad biológica útil, que sea muy potente, pero a su vez extremadamente selectiva, no tóxica y de fácil obtención y producción a gran escala, es el objetivo en el que se centra parte de la química orgánica sintética en el laboratorio.<sup>104</sup>

Se sabe que de cada 10 mil moléculas que inician la larga cadena para la fabricación de un nuevo medicamento solo tres recuperan la inversión inicial. Por eso, el diseño racional de entidades químicas constituye una herramienta indispensable para la química medicinal y sintética aumentando las posibilidades de éxito y un decrecimiento de sus costos. El método más común de diseño racional inicia con la búsqueda de un compuesto líder, que se basa por lo general, en un sustrato natural, metabolito secundario que exprese alguna actividad biológica potente.

Teniendo como modelo la girsenosina, metabolito secundario, se cuenta con una ventaja y una gran oportunidad de avanzar en la búsqueda de compuestos líderes que expresen una mayor inhibición frente a la AChE.

---

<sup>104</sup> STELLMACH, J. "The Influences Of The Structure And Activity Of Biologically Active Compounds On The Assessment Of Inventive Step". En: *World Patent Information*. Vol. 31 (2009); p. 226-234.

Para el desarrollo de nuestro trabajo de investigación se realizó un diseño racional de sistemas análogos de la gircensohnina, posibles inhibidores de la AChE aplicando algunos principios de estudio de hibridación molecular, predicción de propiedades ADMET (absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad) y determinación de los parámetros de Lipinsky.

### 2.8.1 Estrategia de hibridación molecular

Los farmacóforos, unidades centrales con rasgos estructurales presentes en una molécula, se describen como los responsables de la actividad biológica de la misma al ser reconocida por un sitio receptor.<sup>105</sup> La estrategia de hibridación molecular consiste en la fusión de dos farmacóforos en una misma molécula con el fin de potenciar la actividad que expresa o de impedir la aparición de resistencia.

Este enfoque es derivado del principio de correlación entre la estructura molecular y la actividad biológica, surgiendo también de observaciones de moléculas ya sean híbridas como fármacos o de insecticidas, las cuales reciben una mayor respuesta al suministrar una combinación de productos que presentan una variación de sus modos o mecanismos de acción. Trabajos desarrollados por nuestro laboratorio en el año 2008 permitieron la síntesis de potentes híbridos de la cloroquina,<sup>106</sup> siguiendo los planteamientos de hibridación molecular.<sup>107</sup>

---

<sup>105</sup> ROBERT, L.; ROBERT, J. and ROBERT, A. "Receptors And Aging: Dedicated To The Memory Of Paul Ehrlich For The 100<sup>th</sup> Anniversary Of His Nobel Prize". En: Archives of Gerontology and Geriatrics, Vol. 51 (2010); p. 260-263.

<sup>106</sup> ROJAS, F.; GARCIA-SANCHEZ, R.; GOMEZ-BARRIO, A.; VILLABONA S.; A.; AMADO, D.; PÉREZ, B.; NOGAL-RUIZ, J.; MARTINEZ-FERNANDEZ, A. and KOUZNETSOV, V. "Synthesis and antimalarial activity of new heterocyclic hybrids based on chloroquine and thiazolidinone scaffolds". En: *Bioorg. Med. Chem.*, Vol. 19 (2011); p. 4562-4573.

<sup>107</sup> Kouznetsov, V. and Gómez-Barrio, A. "Recent developments in the design and synthesis of hybrid molecules based on aminoquinoline ring and their antiplasmodial evaluation". En: *Eur. J. Med. Chem.*, Vol. 44 (2009); p. 3091–3113.

## 2.8.2 Métodos computacionales

Los métodos computacionales se encuentran cada vez más envueltos en el diseño y el desarrollo de sistemas orgánicos sintéticos. Con ellos se logra que el proceso quimioinformático permita descartar compuestos con propiedades indeseables o con bajas propiedades ADMEToxo seleccionar así los candidatos más promisorios.<sup>108,109</sup>

Un enfoque pionero *in silico*<sup>110</sup> (hecho por una computadora o vía simulación computacional) para predecir propiedades ADME fue creado por Lipinski.<sup>111</sup> Al estudiar las propiedades fisicoquímicas y estructurales de 2245 fármacos del WorldDrugIndex. Los parámetros de Lipinski surgieron como predictores de la capacidad que tiene un compuesto de permear las membranas biológicas (biodisponibilidad oral), la cual es una propiedad de alta relevancia en el desarrollo de fármacos.

Lipinski encontró que un compuesto presenta “*drug-like properties*” (propiedades de fármaco), es decir, que son probablemente biodisponibles de forma oral, si cumplen, por lo menos, tres de los siguientes criterios: peso molecular ( $PM$ )  $\leq 500$  g/mol, lipofilicidad medida como el coeficiente de partición octanol/agua ( $Log P$ )  $\leq 5$ , número de aceptores de enlaces de hidrógeno ( $NAEH$ )  $\leq 10$ , y número de dadores de enlaces de hidrógeno ( $NDEH$ )  $\leq 5$ . Estos criterios son también conocidos como “la regla de los cinco” o “los cinco de Lipinski”, por la relación de múltiplos de 5 que han de cumplir las propiedades consideradas.

---

<sup>108</sup> KAPETANOVIC, I. M. “Computer-aided Drug Discovery and Development (CADD): *In silico*-chemico-biological Approach”. En: *Chem. Biol. Interact.*, Vol. 171 (2008); p. 165-176.

<sup>109</sup> GELDENHUYS, W. J.; GAASCH, K. E.; WATSON, M.; ALLEN, D. D. and VAN DER SCHYF, C. J. “Optimizing the Use of Open Source Software Applications in Drug Discovery”. En: *DDT*, Vol. (2006); p. 127-132.

<sup>110</sup> WATERBEEMD, H. and GIFFORD, E. “Admet/*In Silico*Modelling: Towards Prediction Paradise?”. En: *Nature Reviews: Drug Discovery*, Vol. 2 (2003); p. 192-204.

<sup>111</sup> LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W and FEENEY, P. J. “Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings”. En: *Adv. Drug. Del. Rev.*, Vol. 23 (1997); p. 3-25.

De estudios que siguen metodologías semejantes se han derivado otros descriptores moleculares estrechamente correlacionados con la biodisponibilidad oral, como el número de enlaces rotables (*NER*),<sup>112</sup> y el área superficial polar molecular (*PSA*- topological polar surface area).<sup>113</sup> El *NER* es un sencillo parámetro topológico que mide la flexibilidad molecular en términos de enlaces sencillos acíclicos, distintos de enlaces a hidrógeno, y sin considerar las uniones C-N amídico debido a su alta barrera de energía rotacional. Por otro lado, el parámetro *PSA* es definido como la suma de las superficies de átomos polares como oxígeno, nitrógeno, azufre y fósforo, incluso si están enlazados a hidrógeno en una molécula. Se ha demostrado que moléculas con  $NER \leq 10$  y  $PSA \leq 140 \text{ \AA}^2$  tienen alta probabilidad de alcanzar buena permeabilidad intestinal.

Un factor importante que influye en la absorción, distribución y eliminación de un compuesto en el organismo es su solubilidad acuosa, donde una pobre solubilidad acuosa supone que el fármaco será ineficaz por vía oral, se excretara sin haber entrado a la sangre.<sup>114,115</sup> Finalmente, la evaluación *in silico* sobre los efectos tóxicos de las moléculas que se buscan sintetizar<sup>116</sup> ha alcanzado gran importancia debido a que ésta es una de las causas más frecuentes de fracaso en procesos que involucran el desarrollo de fármacos.<sup>117</sup>

---

<sup>112</sup> VEBER, D.F.; JOHNSON, S.R.; CHENG, H.Y.; SMITH, B.R.; WARD, K.W. and KOPPLE, K.D. "Molecular Properties that Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates". En: *J. Med. Chem.*, Vol. 45 (2002); p. 2615-2623.

<sup>113</sup> ERTL, P.; ROHDE, B. and SELZER, P. "Fast Calculation of Molecular Polar Surface Area as a Sum of Fragment-based Contributions and its Application to the Prediction of Drug Transport Properties". En: *J. Med. Chem.*, Vol. 43 (2000); p. 3714-3717.

<sup>114</sup> FALLER, B. and ERTL, P. "Computational Approaches to Determine Drug Solubility". En: *Adv. Drug Deliv. Rev.*, Vol. 59 (2007); p. 533-545.

<sup>115</sup> BALAKIN, K.V.; SAVCHUK, N.P. and TETKO, I.V. "In Silico Approaches to Prediction of Aqueous and DMSO Solubility of Drug-Like Compounds: Trends, Problems and Solutions". En: *Curr. Med. Chem.*, Vol. 13 (2006); p. 223-241.

<sup>116</sup> HELMA, C. "In silico Predictive Toxicology: The State-of-the-Art and Strategies to Predict Human Health Effects". En: *Curr. Opin. Drug Disc. Develop.*, Vol. 8 (2005); p. 27-31.

<sup>117</sup> DEARDEN, J.C. "In silico Prediction of Drug Toxicity". En: *J. Comput. Aid. Mol. Design.*, Vol. 17 (2003); p. 119-127.

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El descubrimiento de los beneficios de los productos naturales del tipo alcaloide ha permitido, apoyado y respaldado los avances alcanzados por la química orgánica sintética. La baja cantidad de los alcaloides en la naturaleza y los inconvenientes que todavía existen con los métodos tradicionales de extracción, alientan a los investigadores sintéticos para desarrollar nuevas técnicas, modificaciones o metodologías que permitan acceder a estos sistemas biológicos.

Entre los sistemas y modelos más buscados se encuentran aquellos que presentan alguna actividad biológica la cual pueda ser evaluada y utilizada para el tratamiento o cura de padecimientos y enfermedades, no sólo de aquellas observadas en los seres humanos como la EA o el Parkinson, sino también aquellas que les llegan a afectar indirectamente como plagas, hongos y bacterias capaces de transmitir enfermedades o de acabar con cultivos de primera necesidad.

En el caso de este tipo de enfermedades que afecta el SNC y el manejo de plagas se ha logrado identificar un target importante para su manejo o tratamiento. Las moléculas capaces de inhibir a la AChE surgen como alternativas capaces de brindar soluciones a corto o mediano plazo. La importancia de su obtención sintética radica en la baja cantidad de estos productos en sus fuentes naturales, en la mayoría de los casos estos rendimientos no alcanzan al 1% del material vegetal, y depende fuertemente también, del lugar donde se encuentre en la planta, ya sea hojas, tallos, frutos, flores, entre otros.

Al encontrar compuestos naturales capaces de actuar sobre esta diana específica, diferentes grupos de investigación se han encargado de buscar, recrear, ampliar y estudiar moléculas encargadas de la defensa química observada en las plantas. Profundizando este tema, nuestra investigación se ha centrado en los alcaloides,

específicamente del tipo cianogénico. La evaluación de diferentes estrategias sintéticas que permitan su obtención propende por mejorar rendimientos y disminuir los riesgos, costos y desechos, producidos por las metodologías antes implementadas, además de contribuir con el desarrollo de nuevos y más eficaces inhibidores de la AChE.

#### **4. HIPÓTESIS DEL TRABAJO**

Producto del análisis de la información encontrada en la literatura científica se cree que sea posible la preparación de compuestos análogos de la girsensohnina, alcaloide inhibidor moderado de la AChE, mediante el empleo de la conocida reacción de Strecker cuyas condiciones han sido evaluadas y analizadas. Al estudiar su potencial sintético se cree que esto permitiría emplear variaciones estructurales con respecto a su compuesto modelo, apoyadas en la incidencia de estos fragmentos en moléculas que presentan algún tipo de actividad biológica.

Se plantea también que el alcance, la robustez y los rendimientos de esta ruta sintética permitirán generar una nueva serie de  $\alpha$ -aminonitrilos con fragmentos heterocíclicos que puedan aumentar la galería de nuevos agentes inhibidores de la AChE, con valores de  $IC_{50}$  menores al del alcaloide natural, brindando así, por ejemplo, mayores posibilidades en el tratamiento de plagas que afecten cultivos o transmitan enfermedades.

## 5. OBJETIVOS

Establecida la anterior hipótesis y teniendo en cuenta la información recopilada y presentada, se proponen los siguientes objetivos para su desarrollo:

### 5.1 Objetivo general

Sintetizar y estudiar el comportamiento químico de nuevos  $\alpha$ -aminonitrilos, análogos al alcaloide gircensohnina obtenidos mediante la reacción de Strecker modificada para obtener derivados e híbridos moleculares de interés agroquímico y/o biomédico como posibles agentes inhibidores de la enzima AChE.

### 5.2 Objetivos específicos

Preparar tanto el catalizador ácido sulfúrico soportado (SSA) como la acetona cianhídrica para su empleo en la reacción de Strecker modificada.

Estudiar las condiciones más favorables que involucren las variables disolvente, temperatura, catalizador ( $\text{InCl}_3$  vs SSA), fuente de cianuro ( $\text{KCN}$  vs  $\text{Me}_2\text{C}(\text{OH})\text{CN}$ ), tiempo de reacción y técnicas de purificación, que conduzcan a la formación de  $\alpha$ -aminonitrilos con fragmentos heterocíclicos nitrogenados con rendimientos razonables.

Seleccionar y obtener tanto los precursores amínicos secundarios (piperidina, pirrolidina, morfolina y N-metilpiperazina) como los carbonilos (aldehídos) para su condensación, empleando las modificaciones sobre la metodología Strecker desarrolladas en nuestro laboratorio.

Caracterizar todos los compuestos sintetizados empleando las técnicas instrumentales IR, CG-MS, RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  y sus constantes físicas según su estado de agregación.

Preparar una serie representativa de los productos cianogénicos obtenidos, para evaluar su actividad en bioensayos enzimáticos *in vitro* de inhibición de la enzima AChE e *in vivo* sobre larvas del mosquito *Aedes aegypti*.

## 6. DISEÑO RACIONAL DE NUEVOS SISTEMAS $\alpha$ -AMIONONITRÍLICOS CON POSIBLE ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Tal como se explicó en el estado del arte el método más común de diseño racional se basa generalmente en la búsqueda de un compuesto de origen natural que exprese alguna actividad biológica. Apoyándonos en la evidencia obtenida fruto del estudio y los resultados previos de la girsogenina se cuenta con la gran oportunidad de avanzar en la búsqueda de nuevos análogos estructurales.

### 6.1 INTRODUCCIÓN DEL PRINCIPIO DE HIBRIDACIÓN MOLECULAR

Para llevar a cabo el diseño de las nuevas moléculas se seleccionaron los posibles sistemas amínicos y carbonílicos a emplear teniendo en cuenta lo encontrado y reportado por la literatura científica.

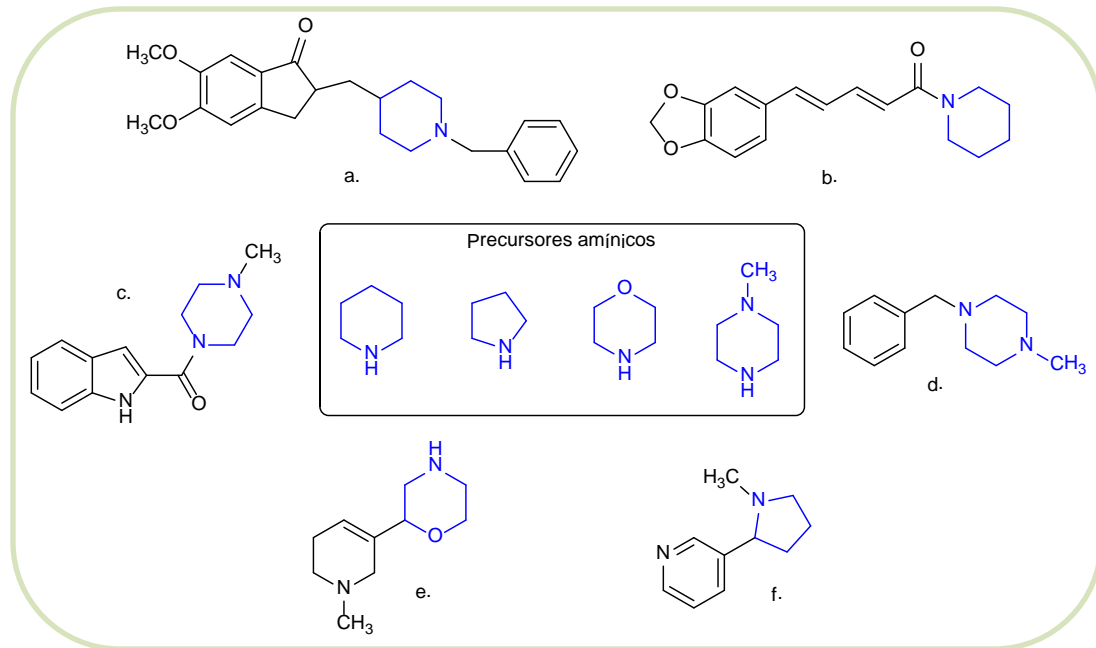
- Los compuestos con anillos de piperidina, morfolina, pirrolidina y piperazina, de origen tanto natural como sintético, son de gran interés científico. Estos anillos se presentan en las estructuras de muchos productos alcaloidales y candidatos a fármacos. Una búsqueda de la estructura del anillo de piperidina usando la versión electrónica de Drug Data Report MDL, la cual incluía información desde 1988 hasta 1998, reveló que más de 12000 sistemas piperidínicos se habían mencionado en estudios clínicos y preclínicos.<sup>118</sup>

La gran diversidad y complejidad de las moléculas en las que se encuentran involucrados estos tipos de sistemas les permite llevar a cabo un amplio rango de funciones biológicas, por ejemplo se encuentra en compuestos antifúngicos, insecticidas, con acción sobre los diferentes sistemas colinérgicos ya sean nicotínicos o muscarínicos y hasta en drogas sintéticas de abuso (Figura 12).

---

<sup>118</sup>WATSON, P., JIANG, B. and SCOTT, B. "A Diastereoselective Synthesis of 2,4-Disubstituted Piperidines: Scaffolds for Drug Discovery". *En: Org. Lett.*, Vol. 2 (2000); p. 3679 – 3681.

**Figura 12.** Precusores amínicos. Entidades con acción biológica.



a. Donepezilo, inhibidor de la AChE<sup>1</sup>. b. *Piperarboreum*, antifúngico.<sup>119</sup> c. Antagonista del receptor H<sub>4</sub>R.<sup>120</sup> d. BZP, droga de abuso.<sup>121</sup> e. Agonista muscarínicos selectivo M<sub>1</sub>.<sup>122</sup> f. Nicotina. Variedad de efectos sobre organismos multicelulares y células individuales.<sup>123</sup>

- Para la selección de los compuestos carbonílicos se evaluaron alcaloides naturales recurridos en diferentes sociedades y culturas para el control natural de plagas o tratamiento de padecimientos y compuestos sintéticos reportados y estudiados extensamente en la literatura científica (Figura 13). Aunque el benzaldehído vainillina se emplea como aditivo alimentario, estudios anteriores mostraron su utilidad contra la anemia de células falciformes y como

<sup>119</sup> DA SILVA, R., NAVICKIENE, H., KATO, M., BOLZANI, V., MÉDA, C., YOUNG, M. and FURLAN, M. "Antifungal Amides From Piper Arboreum And Piper Tuberculatum". En: *Phytochemistry*, Vol. 59 (2002); p. 521–527.

<sup>120</sup> TERZIOGLU, N., RIJN, R., BAKKER, R., DE ESCH, and LEURS, R. "Synthesis And Structure–Activity Relationships Of Indole And BenzimidazolePiperazines As Histamine H<sub>4</sub> Receptor Antagonists". En: *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, Vol. 14 (2004); p. 5251–5256.

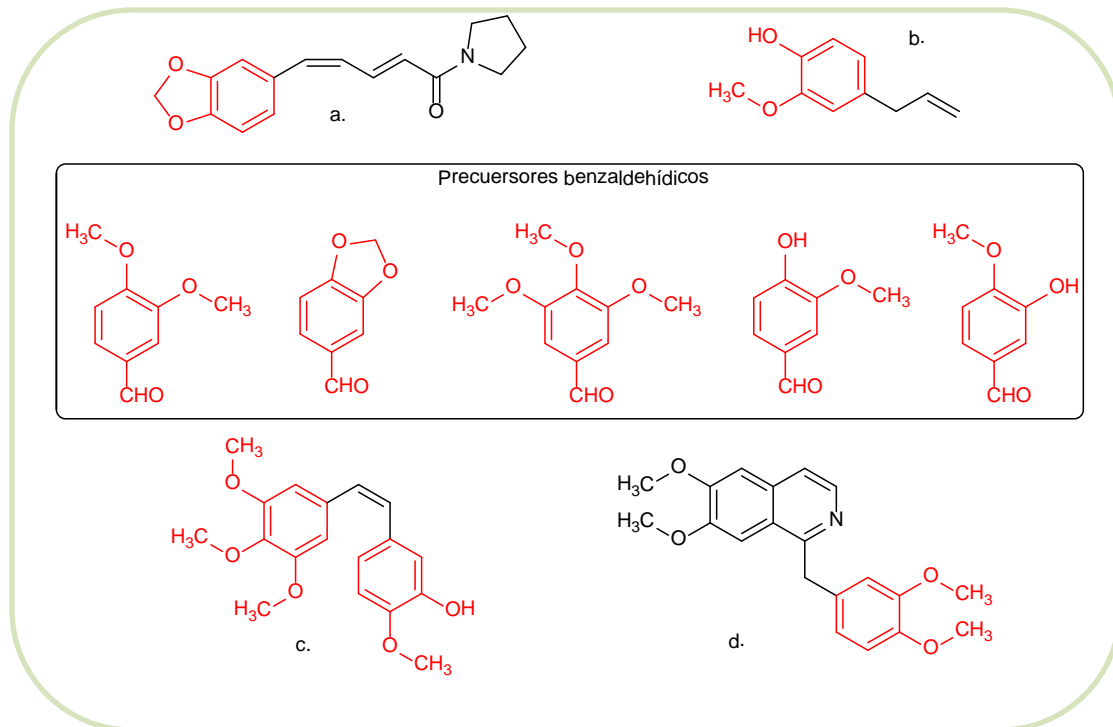
<sup>121</sup> ARBO, M., BASTOS, M. and CARMO H. "Piperazine Compounds As Drugs Of Abuse". En: *Drug and Alcohol Dependence*, Vol. 122 (2012); p. 174–185.

<sup>122</sup> KUMAR, S., SADASHIVA, M. and RANGAPPA, K. "An Efficient Synthesis Of 2-(1-Methyl-1,2,5,6-Tetrahydropyridin-3-yl)Morpholine: A Potent M<sub>1</sub> Selective Muscarinic Agonist". En: *Tetrahedron Lett.*, Vol. 48 (2007); p. 4565–4568.

<sup>123</sup> YILDIZ, D. "Nicotine, Its Metabolism And An Overview Of Its Biological Effects". En: *Toxicon*, Vol. 43 (2004); p. 619–632.

antimutagénico, antibacteriano y antioxidante.<sup>124,125</sup> Igualmente, la vainillina y la isovainillina se han utilizado como productos químicos intermedios en la producción de productos farmacéuticos y otros productos de química fina.<sup>126</sup>

**Figura 13.** Precursores benzaldehídicos. Entidades con acción biológica.



a. *Piperarboneum*, antifúngico.<sup>2</sup> b. Eugenol, bloqueador irreversible de la conducción nerviosa.<sup>127</sup> c. Combretastatina, inhibidor de la polimerización de la tubulina.<sup>128</sup> d. Papaverina, vasodilatador.<sup>129</sup>

<sup>124</sup> CHEN, X., WEI, M., ZHANG, H., LUO, C., CHEN, Y. and CHEN, Y. "Effect Of Vanillin And Ethyl Vanillin On Cytochrome P450 Activity In Vitro And In Vivo". En: *Food Chem. Toxicol.*, Vol. 50 (2012); p. 1897–1901.

<sup>125</sup> TAI, A., SAWANO, T., YAZAMA, F. and ITO, H. "Evaluation Of Antioxidant Activity Of Vanillin By Using Multiple Antioxidant Assays". En: *Biochim. Biophys. Acta*, Vol. 1810 (2011); p. 170–177.

<sup>126</sup> LI S., SHU, C., CHEN, L., CHEN, H., CHEN, P. and WANG, E. "Synthesis Of Substituted 2-Aroyl-3-Methylchromen-4-Ones From Isovanillin Via 2-Aroyl-3-Methylchroman Intermediates". En: *Tetrahedron*, Vol. 65 (2009); p. 8702–8707.

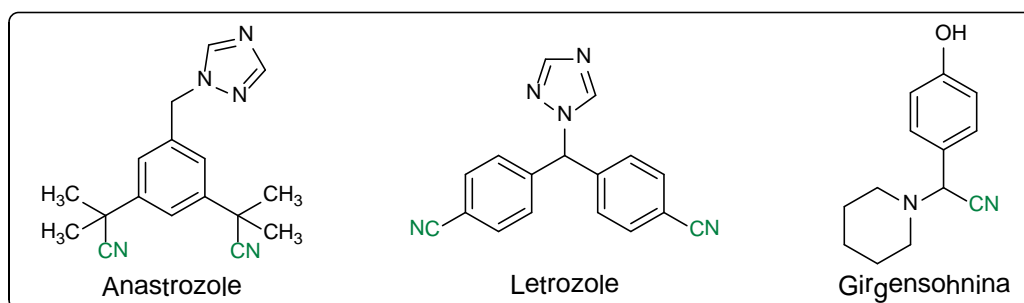
<sup>127</sup> TAO, G., IRIE, Y., LI, D. and KEUNGA, W. "Eugenol And Its Structural Analogs Inhibit Monoamine Oxidase A And Exhibit Antidepressant-Like Activity". En: *Bioorg. Med. Chem.*, Vol. 13 (2005); p. 4777–4788.

<sup>128</sup> DUCKI, S., RENNISON, D., WOO, M., KENDALL, A., CHABERT, F., MCGOWN, A. and LAWRENCE, N. "Combretastatin-like chalcones as inhibitors of microtubule polymerization. Part 1: Synthesis and biological evaluation of antivasular activity". En: *Bioorg. Med. Chem.*, Vol. 17 (2009); p. 7698–7710.

<sup>129</sup> GAO, Y., STEAD, S. and LEE, R. "Papaverine Induces Apoptosis In Vascular Endothelial And Smooth Muscle Cells". En: *Life Sciences*, Vol. 70 (2002); p. 2675–2685.

- En la naturaleza la mayoría de compuestos que tienen un fragmento nitrílico en su estructura se clasifican como cianoglucosídicos. Aunque se encuentran cianoglucosidos no cianogénicos,<sup>130</sup> los más estudiados y reportados son aquellos que presentan el grupo nitrílico alfa al enlace glicosídico, lo cual permite la liberación de aldehídos o cetonas, glucósidos y HCN por acción de las enzimas glicosidasas (Esquema 2). La obtención y estudio de compuestos parecidos a los cianogénicos no glicosídicos ha ofrecido compuestos similares como el anastrozole, letrozole, alcaloides usados para la prevención del cáncer,<sup>131</sup> y la gircensohnina, inhibidor de la AChE y compuesto cabeza de serie de nuestra investigación (Figura 14).

**Figura 14.** Gircensohnina y compuestos similares.

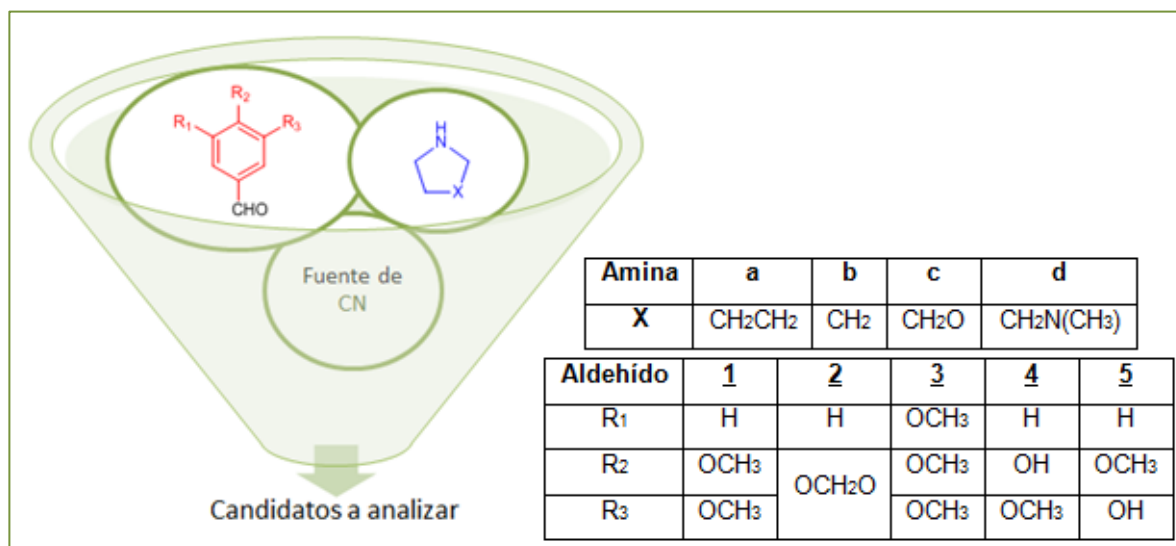


Teniendo en cuenta todo lo mencionado anteriormente y los diferentes fragmentos presentados, se determinaron 14 nuevos sistemas  $\alpha$ -aminonitrílicos, que más los 6 análogos previamente sintetizados, fueron seleccionados para conformar una quimioteca de 20 compuestos que seguidamente se evalúan empleando diferentes estrategias interactivas (Figura 15).

<sup>130</sup>YAMASAKI, K. "Non-CyanogenicCyanoglucosides". *En: Studies in Plant Science*, Vol. 6 (1999); p. 335-345.

<sup>131</sup>FATTORUSSO, E. and TAGLIALATELA-SCAFATI, O. "Modern Alkaloids: Structure, Isolation, Synthesis and Biology". WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. Weinheim, Germany. 2008; p. 25-43.

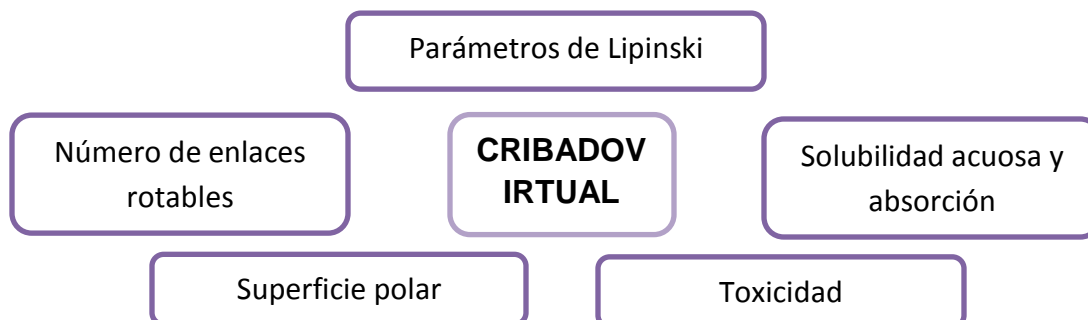
**Figura 15.** Estructuras producto del análisis de hibridación molecular.



## 6.2 CRIBADO VIRTUAL

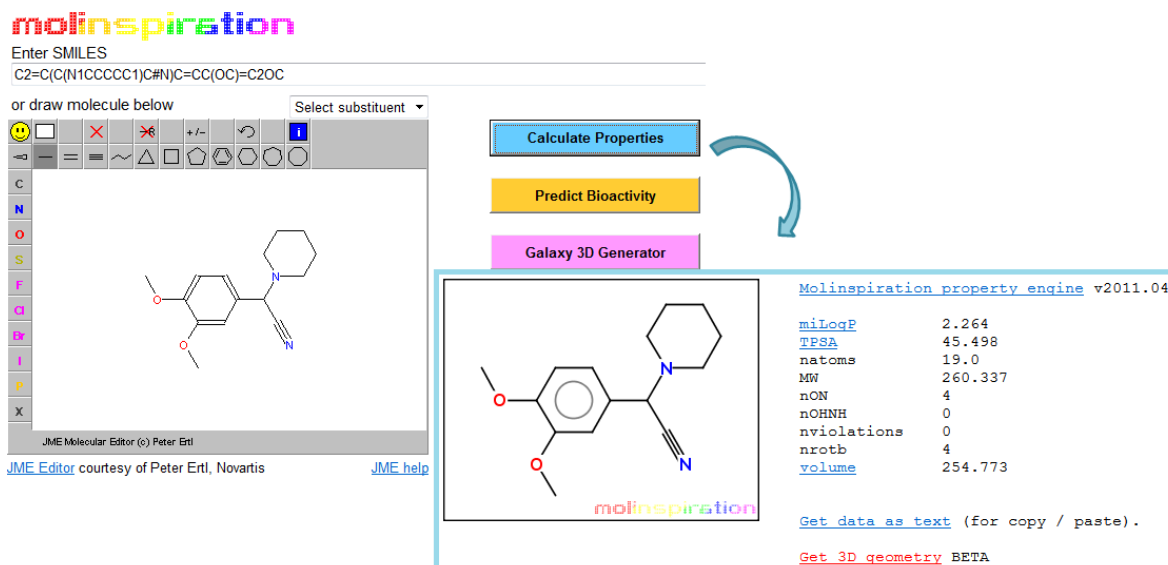
Como resultado de la aplicación de la estrategia de hibridación molecular expuesta con anterioridad surgieron 20 nuevos sistemas  $\alpha$ -aminonitrílicos, los cuales fueron sometidos a un cribado virtual. Para la selección de los candidatos más promisorios se tuvieron en cuenta los valores calculados para las propiedades moleculares relacionadas con ADMETox (Figura 16). Los cálculos fueron realizados *in silico* empleando softwares de tecnología web.

**Figura 16.** Pasos implementados para el cribado virtual.



Empleando el software Molinspiration<sup>132</sup> y los SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry Specification) se obtuvieron los parámetros de Lipinski (PM, LogP, NAEH y NDEH), NER y *PSA* para cada una de las moléculas (Figura 17). Este programa, desarrollado por Novartis, se ha utilizado continuamente tanto en la industria como en la academia lo que demuestran los muchos artículos que mencionan los resultados de este software al realizar cálculos de propiedades moleculares.<sup>133</sup>

**Figura 17.** Presentación de los resultados obtenidos del software Molinspiration.



Para determinar los valores de ALOGPs (coeficiente de distribución 1-octanol/agua), ALOGpS (solubilidad en agua) y los pKa se emplearon el programa ALOGP 2.1<sup>134</sup> (Figura 18) y I-Lab 2.0.<sup>135</sup>

<sup>132</sup> MolinspirationCheminformatics. [En: http://www.molinspiration.com/](http://www.molinspiration.com/).

<sup>133</sup> Publications Using And Acknowledging Molinspiration Software Or Free Molecular Property Calculation Services. [En: http://www.molinspiration.com/papers/index.html](http://www.molinspiration.com/papers/index.html).

<sup>134</sup> Virtual Computational Chemistry Laboratory. [En: http://www.vcclab.org/lab/alogps/](http://www.vcclab.org/lab/alogps/).

<sup>135</sup> I-Lab 2.0. [En: https://ilab.acdlabs.com/iLab2/index.php](https://ilab.acdlabs.com/iLab2/index.php).

**Figura 18.** Análisis utilizando el programa interactivo ALOGPS 2.1.

**Welcome to the ALOGPS 2.1 program!**

Provide CAS RN or SMILES of a molecule and press the "submit" button

© VCCLAB 2007

Upload a file with molecule(s) in 48 formats

[CAS RN](#) [formula](#) C15H20N2O2 [MW](#) 260.37

[SMILES](#) C2=C(C(N1CCCCC1)C#N)C=CC(OC)=C2OC [logS \(exp\)](#) :

[logP \(exp\)](#) : [ALOGpS](#) -3.17 (0.18 g/l)

[ALOGPs](#) 2.57 [AC\\_logS](#) -2.34 (1.19 g/l)

[AC\\_logP](#) 2.49 [AB/logS](#)

[AB/LogP](#) [Average logS](#) -2.76

[miLogP](#)

[ALOGP](#) 2.76

[MLOGP](#) 1.44

[KOWWIN](#) 2.20

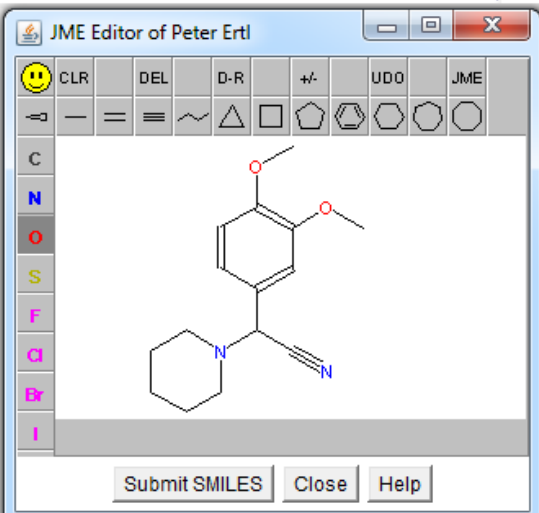
[XLOGP2](#) 1.56

[XLOGP3](#) 2.53

[Average logP](#) 2.22(+0.52)

User's [LogP\\_LIBRARY](#)

The calculated results are available.



JME Editor of Peter Ertl

Submit SMILES Close Help

Además de los coeficientes de distribución, el software I-Lab 2.0 ofrece también cálculos de diferentes parámetros entre los que se cuentan propiedades químicas y físicas, ADME y toxicidad (Figura 19).

Figura 19. Cálculos de diferentes parámetros empleando el programa I-Lab 2.0.

The screenshot shows the I-Lab 2.0 software interface. The main window is titled "LogPS - Enter compound". On the left, there is a sidebar with "Modules" including Phys Chem, ADME, Toxicity, NMR, and Naming. The central area displays the chemical structure of a compound: COc1ccc(cc1OC)C#N. To the right, under "Main physico-chemical determinants:", the following values are shown: LogP: 1.82, H-Donors: 0.00, pKa (Acid): No pKa, H-Acceptors: 4.00, pKa (Base): 4.00, and Vx: 2.11. Below this, the LogPS is -1.5. There are buttons for "Download Report" and "Save to Evernote".

Below the main window, there are two sections for "Predicted Values":

- Predicted Values - Human Oral Bioavailability:**
  - Oral Bioavailability more than 70%
  - Probability that compound has:
    - %F(Oral) > 30%: 0.849
    - %F(Oral) > 70%: 0.756
  - A list of properties with status indicators: Solubility (green), Stability (pH < 2) (green), Passive absorption (green), First-pass metabolism (orange), P-gp efflux (green), and Active transport (yellow).
- Predicted Values - Boiling Point/Vapor Pressure:**
  - Boiling Point:** BP (Celsius) at 760 mmHg = 368.64 ± 42.00
  - Vapor Pressure:** log<sub>10</sub>(p) = -4.901 ± 0.83 (p in mmHg); p (at 25 Celsius) = 0.0000126 mmHg
  - Enthalpy of Vaporization:** Δ<sub>vap</sub>H(T<sub>boiling point</sub>) = 61.53 kJ/mol (experimental)

Para calcular la absorción por difusión a través de la membrana intestinal se empleó un modelo de absorción no lineal derivada de una cinética de primer orden. Este cálculo, que se reporta como porcentaje de absorción (%ABS), relaciona los descriptores A, B, E, S y V que corresponden a las variables independientes de la ecuación:

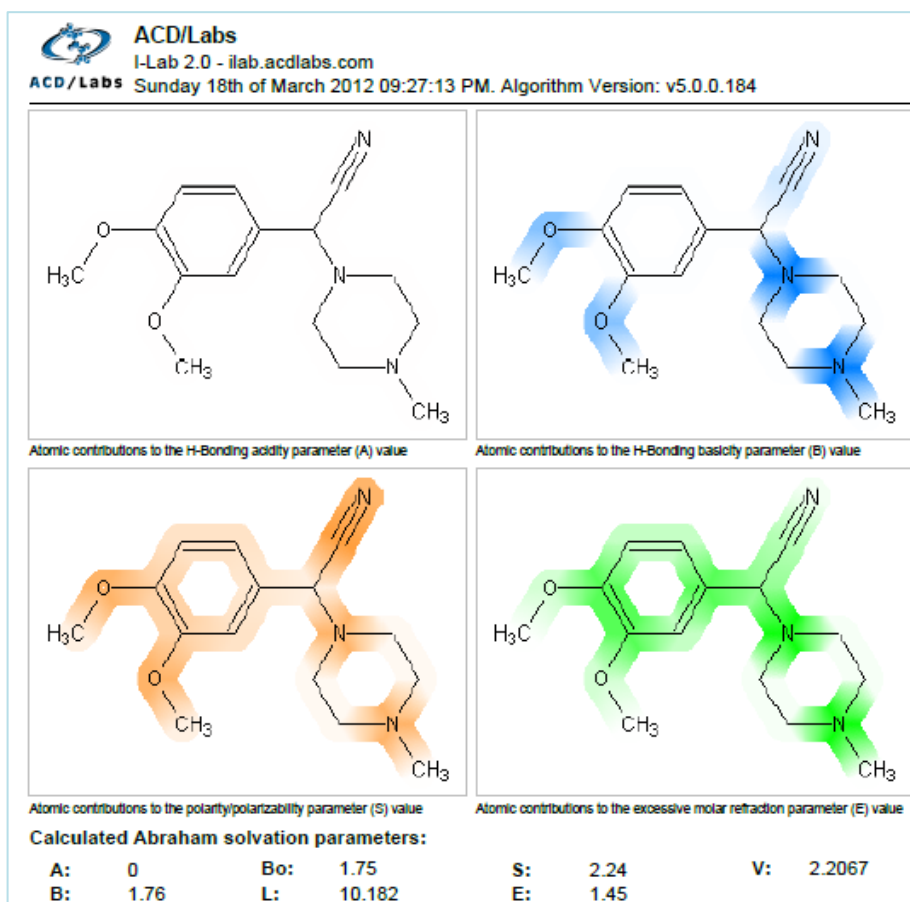
$$\%ABS = 100/[1+10^{-(1.02+0.0622E+0.0977S-0.599A-0.681B+0.445V)}]$$

Estos parámetros conocidos como los parámetros de Abraham se utilizan para predecir los coeficientes de partición de un soluto entre varios sistemas.<sup>136</sup>

<sup>136</sup> ABRAHAM, M.H.; CHADHA, H.S. and MITCHELL, R.C. "Hydrogen Bonding. Part 36. Determination of Blood Brain Distribution Using Octanol- Water Partition Coefficients". *En: Drug Des. Discov.*, Vol.13(1995); p. 123-131.

Para obtener estos descriptores se calcularon los parámetros de Abraham utilizando el software ADME,<sup>137</sup> desarrollado por la Compañía PharmaAlgorithms (Figura 20).

**Figura 20.** Determinación de los descriptores para la ecuación de Abraham.



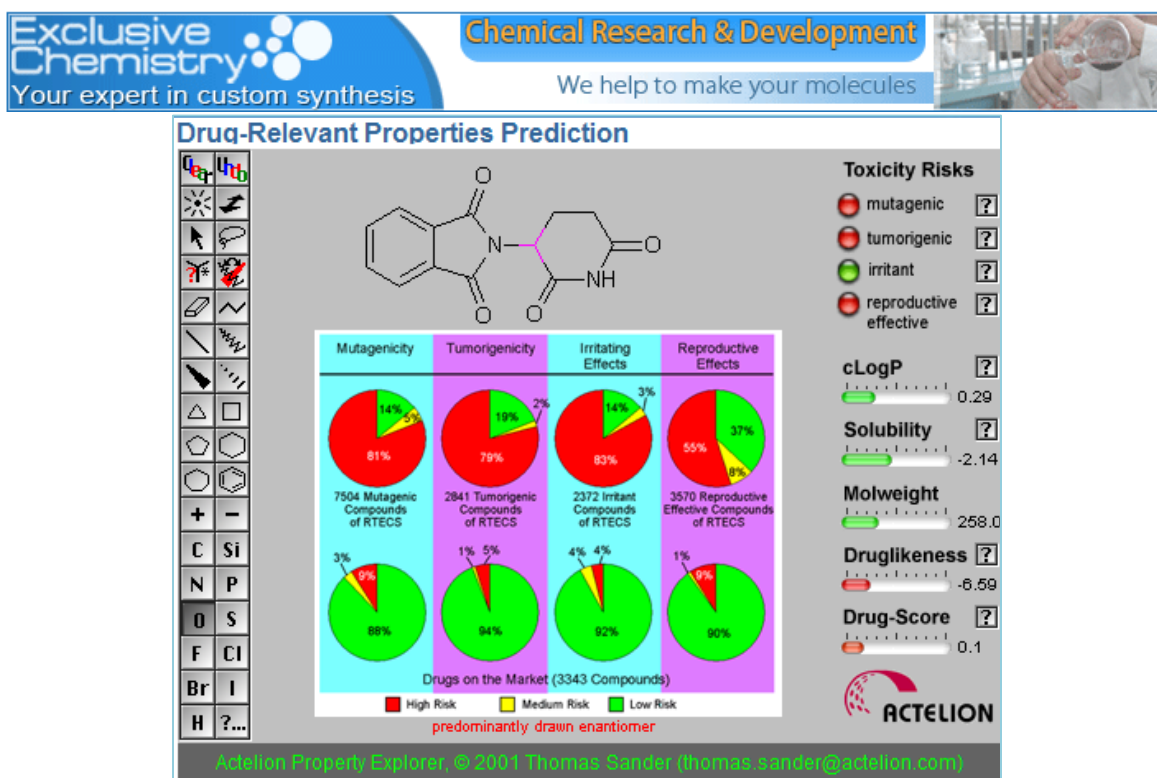
Para las predicciones de toxicidad se empleó el programa interactivo OSIRIS,<sup>138</sup> software muy importante del sistema de registro de sustancias in-house de la compañía biofarmacéutica independiente Actelion. Este sistema de predicción de riesgos toxicológicos emplea fragmentos estructurales obtenidos del examen minucioso de más de 15000 compuestos de la base de datos RTECS (Registry of ToxicEffects of ChemicalSubstances) y más de 3340 fármacos comercialmente

<sup>137</sup> PharmaAlgorithms. [En: http://pharma-algorithms.com/admetox\\_web.html](http://pharma-algorithms.com/admetox_web.html).

<sup>138</sup> Drug Relevant Properties Prediction. [En: www.rdchemicals.com/drug-relevant-properties.html](http://www.rdchemicals.com/drug-relevant-properties.html).

disponibles, que dan lugar a alertas de toxicidad de tipo mutagénico, tumorigénico, irritante y efectos reproductivos. La clasificación del riesgo de toxicidad se presenta con un código de colores: verde toxicidad bajo, amarillo toxicidad media y rojo alta toxicidad (Figura 21).

**Figura 21.** Resultados de toxicidad para la talidomida encontrados con el programa Osiris de ACTELION.



## 7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS DEL ESTUDIO DE CRIBADO VIRTUAL

Teniendo en cuenta la información que ofrecen el software anteriormente descrito a continuación se discutirán los valores, datos y resultados obtenidos del análisis realizado sobre los análogos (Figura 22).

Los resultados de la Tabla 7 muestran que las 20 moléculas cumplen con los parámetros de Lipinski: El peso molecular se encuentra entre 230.26 – 305.37 ( $\leq 500$ ), su promedio de  $cLogP = 0,83- 2.22$  ( $< 5$ ),  $NAEH = 4-6$  ( $< 10$ ) y  $NDEH = 0-1$  ( $< 5$ ), lo que indica que de encontrárseles actividad biológica, es muy probable que sean efectivas por vía oral. Esta consideración es ratificada por los resultados obtenidos en el cálculo de otros descriptores de biodisponibilidad oral; el  $NER = 3-6$  ( $\leq 10$ ), al igual que la  $PSA = 45.49-65.72$  ( $\leq 140 \text{ \AA}^2$ ), el cual también informa acerca de las propiedades de transporte de fármacos al correlacionarlo directamente con la absorción intestinal.<sup>139</sup>

En un estudio realizado Kelder y col. sobre 776 fármacos del SNC, administrados oralmente, y 1590 fármacos rechazados para actuar sobre el SNC, encontraron que los 776 fármacos que pueden permear la barrera hematoencefalica (BHE) tienen una  $PSA < 60-70 \text{ \AA}^2$ .<sup>140</sup> El estudio de Van de Waterbeemd sobre productos comerciales dirigidos a dianas y no dianas del SNC indicó que un fármaco puede alcanzar buena penetración de la BHE si la  $PSA < 90 \text{ \AA}^2$ .<sup>141</sup>

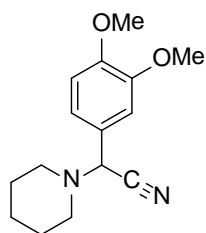
---

<sup>139</sup> PALM, K.; STENBERG, P.; LUTTMAN, K. and ARTURSSON, P. "Polar Molecular Surface Properties Predict the Intestinal Absorption of Drugs in Humans". En: *Pharm. Res.*, Vol. 14 (1997); p. 568-571.

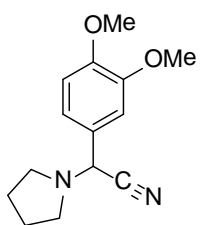
<sup>140</sup> KELDER, J.; GROOTENHUIS, P.; BAYADA, D.; DELBRESSINE, L. and PLOEMEN, J. "Polar Molecular Surface as a Dominating Determinant for Oral Absorption and Brain Penetration of Drugs". En: *Pharm. Res.*, Vol. 16 (1999); p. 1514-1519.

<sup>141</sup> VAN DE WATERBEEMD, H.; CAMENISH, G.; FOLKERS, G.; CHRETIEN, J. and RAEVSKY, O. "Estimation of Blood-Brain Barrier Crossing of Drugs Using Molecular Size and Shape, and H-Bonding Characteristics". En: *J. Drug Target.*, Vol. 6 (1998); p.151-165.

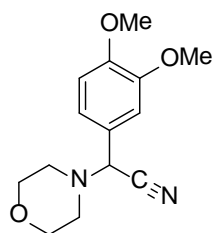
**Figura 22.** Estructuras de los análogos a evaluar



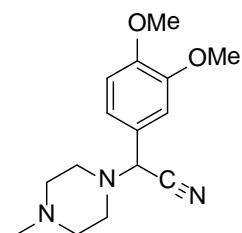
**1a**



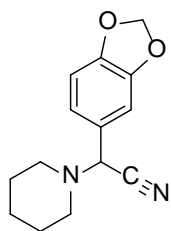
**1b**



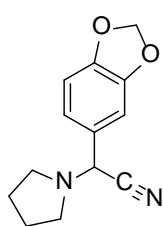
**1c**



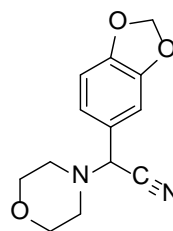
**1d**



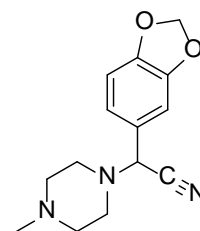
**2a**



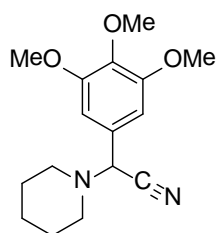
**2b**



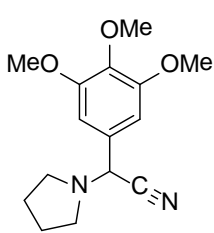
**2c**



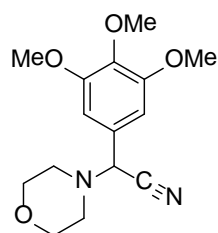
**2d**



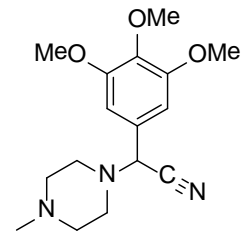
**3a**



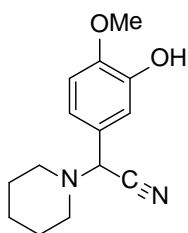
**3b**



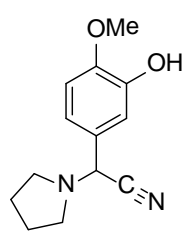
**3c**



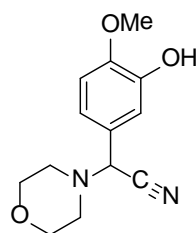
**3d**



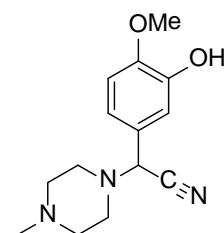
**4a**



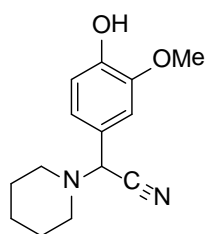
**4b**



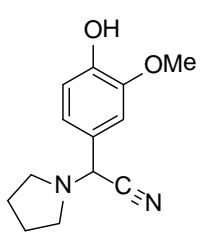
**4c**



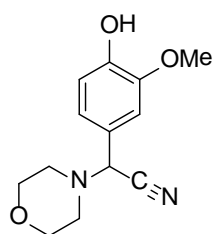
**4d**



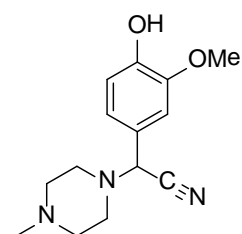
**5a**



**5b**



**5c**



**5d**

**Tabla 7.** Resultados de los parámetros de Lipinski,<sup>15</sup>NER y PSA.

Molécula	PM	NDEH	NAEH	Promedio cLogP <sup>17</sup>	TPSA Å <sup>2</sup>	NER
	≤ 500	≤ 5	≤ 10		≤140	≤ 10
<u>1</u> a	260.33	0	4	2.22(+/-0.52)	45.49	5
<u>1</u> b	246.3	0	4	1.82 (+/-0.47)	45.49	5
<u>1</u> c	262.3	0	5	0.94 (+/-0.54)	54.72	5
<u>1</u> d	275.35	0	5	1.05 (+/-0.57)	48.73	5
<u>2</u> a	244.29	0	4	0.97 (+/-0.46)	45.49	3
<u>2</u> b	230.26	0	4	1.87 (+/-0.43)	45.49	3
<u>2</u> c	246.26	0	5	0.97(+/-0.41)	54.72	3
<u>2</u> d	259.3	0	5	1.09(+/-0.46)	48.73	3
<u>3</u> a	290.36	0	5	2.10 (+/-0.61)	54.72	6
<u>3</u> b	276.33	0	5	1.70(+/-0.56)	54.72	6
<u>3</u> c	292.33	0	6	0.83(+/-0.62)	63.95	6
<u>3</u> d	305.37	0	6	0.94(+/-0.66)	57.96	6
<u>4</u> a	246.3	0	4	1.98 (+/-0.48)	56.49	4
<u>4</u> b	232.28	1	4	1.60(+/-0.44)	56.49	4
<u>4</u> c	248.28	1	5	0.71(+/-0.51)	65.72	4
<u>4</u> d	261.32	1	5	0,83(+/-0,55)	59.73	4
<u>5</u> a	246.3	1	4	1.99 (+/-0.48)	56.49	4
<u>5</u> b	232.28	1	4	1.60 (+/-0.44)	56.49	4
<u>5</u> c	248.28	1	5	0.71 (+/-0.51)	65.72	4
<u>5</u> d	261.32	1	5	0.83 (+/-0.55)	59.73	4
<b>Girgensohnina</b>	216.28	1	3	2.09 (+/-0.38)	47.26	3

El *pK<sub>a</sub>* calculado para las moléculas diseñadas se presenta en la Tabla 8. Aunque su contribución no está clara, la basicidad (o la acidez) de un fármaco puede influir en su biodisponibilidad, por ejemplo muchos compuestos usados para la medicación son ácidos o bases débiles lo cual es esencial para entender cómo el compuesto ingresa (o no ingresa) en el torrente sanguíneo.

**Tabla 8.** Valores de pKa para las moléculas diseñadas.

Molécula	pKa (básico)	pKa (ácido)	Log P ACD/Labs	PromedioLogS (S g/L)
<u>1</u> a	4 ± 0.4	----	2.09 ± 0.45	-3.17 (0.18)
<u>1</u> b	4.3 ± 0.4	----	1.57 ± 0.45	-2.61 (0.60)
<u>1</u> c	2.2 ± 0.5	----	0.84 ± 0.5	-2.25 (1.49)
<u>1</u> d	7.6 ± 0.4	----	0.76 ± 0.51	-2.06 (2.39)
<u>2</u> a	4 ± 0.4	----	3.59 ± 0.61	-1.54 (6.95)
<u>2</u> b	4.3 ± 0.4	----	3.06 ± 0.61	-1.75 (4.11)
<u>2</u> c	2.2 ± 0.5	----	2.34 ± 0.65	-1.74 (4.48)
<u>2</u> d	7.6 ± 0.4	----	2.26 ± 0.66	-1.57 (6.95)
<u>3</u> a	3.9 ± 0.4	----	1.56 ± 0.48	-3.41 (0.11)
<u>3</u> b	4.2 ± 0.4	----	1.03 ± 0.48	-2.99 (0.28)
<u>3</u> c	2.1 ± 0.5	----	0.3 ± 0.52	-2.55 (0.83)
<u>3</u> d	7.6 ± 0.4	----	0.23 ± 0.53	-2.36 (1.33)
<u>4</u> a	4 ± 0.4	9.5 ± 0.4	1.45 ± 0.46	-2.28 (1.29)
<u>4</u> b	4.3 ± 0.4	9.5 ± 0.4	0.92 ± 0.46	-1.76 (4.03)
<u>4</u> c	2.2 ± 0.5	9.5 ± 0.4	0.19 ± 0.51	-1.59 (6.36)
<u>4</u> d	7.7 ± 0.4	9.5 ± 0.4	0.11 ± 0.51	-1.52 (7.83)
<u>5</u> a	4.1 ± 0.4	9.5 ± 0.4	1.65 ± 0.44	-2.29 (1.25)
<u>5</u> b	4.4 ± 0.4	9.5 ± 0.4	1.12 ± 0.44	-1.79 (3.78)
<u>5</u> c	2.3 ± 0.5	9.5 ± 0.4	0.39 ± 0.49	-1.61 (6.09)
<u>5</u> d	7.7 ± 0.4	9.5 ± 0.4	0.32 ± 0.5	-1.55 (7.37)
<b>Girgensohnina</b>	4.2 ± 0.4	9.5 ± 0.4	1.82 ± 0.44	-2.01 (2.12)

La investigación de las medidas de velocidad límite de absorción oral en humanos de 238 fármacos mostró que la absorción de un fármaco suele ser muy baja si la solubilidad acuosa (Log S) calculada es < 0.0001 mg/L.<sup>142</sup>

Los resultados encontrados de S (g/L) (Tabla 8), en combinación con los porcentajes de absorción de las moléculas (Tabla 9), indican que aunque son solubles en agua, presentarían una buena absorción intestinal.

**Tabla 9.** Valores de los parámetros de Abraham y porcentaje de absorción encontradas.

<sup>142</sup> ZHAO, Y.; ABRAHAM, M.; LEE, J.; HERSEY, A.; LUSCOMBE, N.; BECK, G.; SHERBORNE, B. and COOPER, I. "Rate-Limited Steps of Human Oral Absorption and QSAR Studies". *En: Pharm. Res.*, Vol. 19 (2002); p. 1446-1457.

$$\%ABS = 100/[1+10^{-(1.02+0.0622E+0.0977S-0.599A-0.681B+0.445V)}]$$

Molécula	E	S	A	B	V	%ABS
<u>1</u> a	1.28	2.06	0	1.26	2.1069	96.0
<u>1</u> b	1.28	2.06	0	1.26	1.966	95.4
<u>1</u> c	1.32	2.21	0	1.47	2.0247	94.3
<u>1</u> d	1.45	2.24	0	1.76	2.2067	92.8
<u>2</u> a	1.46	1.74	0	1.19	1.8574	95.2
<u>2</u> b	1.46	1.73	0	1.19	1.7165	94.5
<u>2</u> c	1.50	1.89	0	1.4	1.7752	93.2
<u>2</u> d	1.63	1.91	0	1.68	1.9572	91.6
<u>3</u> a	1.33	2.35	0	1.44	2.3065	96.0
<u>3</u> b	1.33	2.35	0	1.44	2.1656	95.4
<u>3</u> c	1.37	2.5	0	1.65	2.2243	94.3
<u>3</u> d	1.50	2.53	0	1.93	2.4063	92.9
<u>4</u> a	1.35	1.73	0.28	1.16	1.966	93.9
<u>4</u> b	1.35	1.73	0.28	1.16	1.8251	93.1
<u>4</u> c	1.39	1.88	0.28	1.37	1.8838	92.7
<u>4</u> d	1.52	1.91	0.28	1.65	2.0658	89.5
<u>5</u> a	1.35	1.73	0.28	1.16	1.966	93.9
<u>5</u> b	1.35	1.73	0.28	1.16	1.8251	93.1
<u>5</u> c	1.39	1.88	0.28	1.37	1.8838	92.7
<u>5</u> d	1.52	1.91	0.28	1.65	2.0658	89.5
<b>Girgensohnina</b>	1.37	1.67	0.50	1.08	1.7664	91.3

Producto de la evaluación teórica de la toxicidad empleando el programa interactivo Osiris (Tabla 10), se encontró que todas las moléculas candidatas tienen bajos perfiles para el riesgo mutagénico (1), tumorigénico (2), irritante (3) y reproductivo (4). Esto se debe a que no se encuentran en estas moléculas fragmentos estructurales equivalentes a alguna de las estructuras de dominio del software OSIRIS, responsables de tales efectos tóxicos.

**Tabla 10.** Evaluación del riesgo de toxicidad empleando el programa Osiris.

Molécula	Efecto				cLogP	Solubilidad	PM
	1	2	3	4			
<u>1a</u>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	2.49	-2.34	260
<u>1b</u>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	2.17	-2.07	246
<u>1c</u>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	1.28	-1.45	262
<u>1d</u>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	1.4	0.95	275
<u>2a</u>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	2.8	-3.02	244
<u>2b</u>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	2.48	-2.75	230
<u>2c</u>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	1.59	-2.13	246
<u>2d</u>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	1.71	-1.63	259
<u>3a</u>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	2.38	-2.36	290
<u>3b</u>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	2.07	-2.09	276
<u>3c</u>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	1.18	-1.47	292
<u>3d</u>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	1.3	-0.97	305
<u>4a</u>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	2.3	-2.03	246
<u>4b</u>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	1.98	-1.76	232
<u>4c</u>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	1.09	-1.14	248
<u>4d</u>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	1.21	-0.64	261
<u>5a</u>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	2.3	-2.03	246
<u>5b</u>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	1.98	-1.76	232
<u>5c</u>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	1.09	-1.14	248
<u>5d</u>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	1.21	-0.64	261
<b>Girgensohnina</b>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	2.40	-2.01	216

Los resultados encontrados al determinar los valores de los diferentes descriptores moleculares evaluados en el cribado virtual respaldan, soporta y patrocina la búsqueda de métodos sintéticos que permitan la obtención de los análogos propuestos.

## 8. PARTE EXPERIMENTAL

### 8.1 CONSIDERACIONES GENERALES

Para llevar a cabo la síntesis de las moléculas diseñadas, se emplearon reactivos de las marcas Merck, Aldrich y J.T. Baker, de grado para síntesis. Todos los líquidos precursores de partida (piperidina, morfolina y pirrolidina) fueron destilados en el momento previo a su uso. Los aldehídos sólidos y fuentes de cianuro empleadas fueron usados directamente sin purificación previa. Los disolventes utilizados como medio de reacción y en las purificaciones cromatográficas fueron destilados y secados previamente a su uso.

La pureza de las sustancias sintetizadas, la supervisión del transcurso de las reacciones y la composición de las mezclas de reacción se monitorearon por cromatografía de capa fina (CCF) sobre cromatofolios de Silufol UV254, empleando luz UV de 254 nm para observar las manchas o empleando, para su revelado vapor de yodo. Para las separaciones cromatográficas en columna se utilizó como soporte sólido óxido de aluminio neutro (grado de actividad I, 70-230 Mesh) y como eluyentes mezclas éter de petróleo/acetato de etilo en proporciones determinadas por los resultados observados en las placas cromatográficas.

Los reactivos empleados para los ensayos de inhibición enzimática fueron suministrados por Sigma-Aldrich.

Técnicas Analíticas

#### Puntos de fusión

Los puntos de fusión fueron medidos empleando un fusiómetro Fisher-Johns. Los valores no fueron corregidos y se reportaron como un promedio de tres mediciones.

### Espectroscopia infrarroja

Los espectros de infrarrojo se llevaron a cabo en un espectrómetro Lumex Infracum FT-02, empleando pastillas de bromuro potásico para los compuestos sólidos y ventanas de cloruro de sodio para los compuestos líquidos. Sólo se reportan las bandas de absorción características expresadas en  $\text{cm}^{-1}$ .

### Cromatografía de gases-Espectrometría de masas

Los espectros de masas se obtuvieron en un cromatógrafo de gases HP 5890A serie II acoplado a un detector selectivo de masas HP 5972, con ionización por impacto de electrones (70 eV).

### Espectroscopia de resonancia magnética nuclear

Se utilizaron los espectrómetros Bruker AMX-400, Bruker AC-300, utilizando el disolvente deuterado adecuado en cada caso, cloroformo o dimetilsulfóxido. Los valores de los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en ppm, en los espectros de  $^1\text{H}$ , utilizando como referencia interna el tetrametilsilano, y referidos a la señal del disolvente (cloroformo deuterado) para los de  $^{13}\text{C}$ . Las constantes de acoplamiento (J) se expresan en Hz. Las abreviaturas para indicar la multiplicidad de las señales son las siguientes: (s)=singlete, (sa)=singlete ancho, (d)=doblete, (da)=doblete ancho, (dd)=doblete de dobletes, (ddd)=doble doblete de dobletes, triplete (t) y (m)=multiplete. Para los resultados de DEPT 135 el signo (+) indica carbonos primarios y terciarios, el signo (-) para los carbonos secundarios y su ausencia del signo - para carbonos cuaternarios.

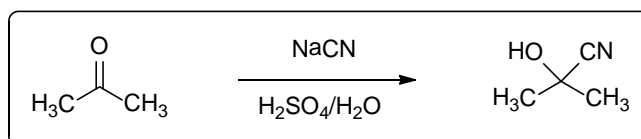
### Inhibición enzimática. Lector de microplacas

Las microplacas se leyeron en un lector VERSAMAX de Molecular Devices empleando una longitud de onda de 412 nm.

## 8.2 SÍNTESIS DE PRECURSORES

### 8.2.1 Obtención del precursor acetona cianhídrica.

Esquema 8. Síntesis del precursor acetona cianhídrica.



A un balón provisto de un embudo de adición, un condensador, un termómetro y constante agitación, se adicionó una disolución de cianuro de sodio (15.12 g), acetona (30 mL) y agua (36 mL). Posteriormente se adicionó muy lentamente una disolución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 40% por espacio de 1.5 horas a 15 °C. Después de completarse la adición, la disolución ácida se agitó por 20 min. más hasta alcanzar la temperatura ambiente. Se decantó la disolución, se extrajo con éter etílico y se dejó sobre sulfato de sodio por 2 horas después de lo cual se concentró y se destiló a presión reducida. El producto final (19.53 g) se almacenó protegida de la luz a -5°C para su posterior uso.<sup>29,143,144</sup> La acetona cianhídrica se obtuvo con rendimiento del 75% como un líquido incoloro con p.eb. 81°C. IR (KBr): 3410  $\nu_{(O-H)}$ , 2245  $\nu_{(CN)}$ , 1373  $\nu_{(C-N)}$  cm<sup>-1</sup>. Fórmula empírica: C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>NO (P.M. 85.11 g/mol). Las demás características están de acuerdo con los datos referidos en la literatura.

### 8.2.2 Preparación del catalizador ácido soportado en gel de sílice

Se cargó un balón de fondo redondo con gel de sílice (15.0 g) y se acondicionó a un sistema de agitación y una trampa de gases para observar el burbujeo característico producto del desprendimiento de gas (HCl) durante la reacción. el ácido clorosulfónico (5.83 g) se agregó gota a gota lentamente a temperatura ambiente hasta que no se observó generación de gases.

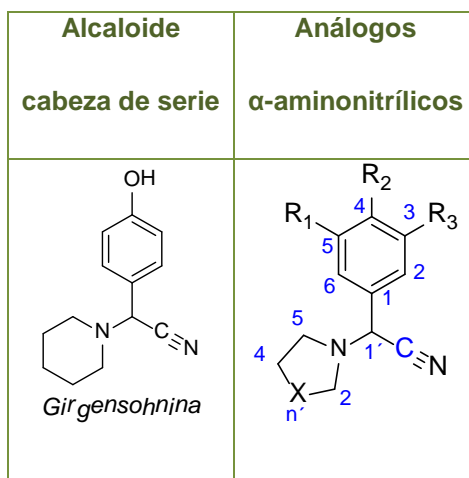
<sup>143</sup>HEUGENBAERT, T.; ROMAN, B.; DE BLIECK, A. and STEVENS, C. "A Safe Production Method For Acetone Cyanohydrin". *En: Tetrahedron: Lett.*, Vol. 51 (2010); p. 4189–4191.

<sup>144</sup>PARK, E.; LEE, S and CHANG, S. "Acetone Cyanohydrin As A Source Of HCN In TheCu-Catalyzed Hydrocyanation Of R-Aryldiazoacetates". *En: J. Org. Chem.*, Vol. 75 (2010); 2760–2762.

Se dejó el sistema por media hora más, obteniendo 19.2 g de catalizador ácido sólido de color blanco, el cual fue almacenado a temperatura ambiente.<sup>99</sup>La cantidad de H<sup>+</sup> en el catalizador se determina por titulación ácido-base. La liberación de H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> se titula con una solución de NaOH estándar calculándose así la cantidad de H<sup>+</sup> como 0.05 g de catalizador soportado/0.13 mmoles.

### 8.3 SÍNTESIS DE LOS $\alpha$ -AMINONITRILOS ANÁLOGOS DEL ALCALOIDE GIRGENSOHNINA

Figura 23. Estructuras de los análogos  $\alpha$ -aminonitrílicos obtenidos.



Mólec.	X	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
<b>1<sup>a</sup></b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
<b>1<sup>b</sup></b>	CH <sub>2</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
<b>1<sup>c</sup></b>	CH <sub>2</sub> O	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
<b>1<sup>d</sup></b>	CH <sub>2</sub> N(CH <sub>3</sub> )	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
<b>2<sup>a</sup></b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	H	OCH <sub>2</sub> O	
<b>2<sup>b</sup></b>	CH <sub>2</sub>	H	OCH <sub>2</sub> O	
<b>2<sup>c</sup></b>	CH <sub>2</sub> O	H	OCH <sub>2</sub> O	
<b>2<sup>d</sup></b>	CH <sub>2</sub> N(CH <sub>3</sub> )	H	OCH <sub>2</sub> O	
<b>3<sup>a</sup></b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
<b>3<sup>b</sup></b>	CH <sub>2</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>

Mólec.	X	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
<b>3<sup>c</sup></b>	CH <sub>2</sub> O	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
<b>3<sup>d</sup></b>	CH <sub>2</sub> N(CH <sub>3</sub> )	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
<b>4<sup>a</sup></b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	H	OH	OCH <sub>3</sub>
<b>4<sup>b</sup></b>	CH <sub>2</sub>	H	OH	OCH <sub>3</sub>
<b>4<sup>c</sup></b>	CH <sub>2</sub> O	H	OH	OCH <sub>3</sub>
<b>4<sup>d</sup></b>	CH <sub>2</sub> N(CH <sub>3</sub> )	H	OH	OCH <sub>3</sub>
<b>5<sup>a</sup></b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OH
<b>5<sup>b</sup></b>	CH <sub>2</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OH
<b>5<sup>c</sup></b>	CH <sub>2</sub> O	H	OCH <sub>3</sub>	OH
<b>5<sup>d</sup></b>	CH <sub>2</sub> N(CH <sub>3</sub> )	H	OCH <sub>3</sub>	OH

## Metodología general

En un balón de fondo redondo de 100 mL de capacidad y dos bocas, acoplado a un condensador, se depositaron 23.0 mmoles de la amina seleccionada, 21.0 mmoles de aldehído, 1.1 mmoles del ácido clorosulfónico soportado en gel de sílice SSA de la fuente de cianuro y 25 mL de acetonitrilo a temperatura ambiente.

La mezcla se agito durante media hora, luego se agregó la fuente de cianuro (32.0 mmoles), ésta varió entre KCN (macerado y agregado en pequeñas porciones sólidas) y la acetona cianhídrica, y se dejó con agitación vigorosa toda la noche a temperatura ambiente. Concluida la reacción, la masa de reacción se filtró para retirar el catalizador sólido y se eliminó el disolvente en un rotoevaporador. El producto obtenido se disolvió en acetato de etilo y agua (1:1) a un pH de 9 y se lavó con agua sal (4 x 25 mL). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio o magnesio anhidro; luego se eliminó el disolvente y el extracto orgánico se purificó por cromatografía de columna rápida empleando como eluente una mezcla de éter de petróleo-acetato de etilo. Finalmente los productos se recrystalizaron en metanol obteniendo en todos los casos sólidos blancos o crema.

A continuación se presentan los resultados de los 20 análogos sintetizados, se aclara que los compuestos **1a-c** y **2a-c** fueron obtenidos durante la evaluación de las condiciones de reacción realizada en nuestro laboratorio durante el trabajo de investigación para optar al título de química, estas condiciones sirvieron como base para la síntesis de los 14 análogos restantes.

**8.3.1 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetonitrilo (1a)**. A partir de 0.86 g (10.1 mmoles) de piperidina, 1.68 g (10.1 mmoles) de 3,4-dimetoxibenzaldehído, 0.86 g del catalizador SSA ( $\text{SiO}_2\text{-O-SO}_3\text{H}$ ) y 0.99 g (15.1 mmoles) de la fuente de cianuro seleccionada, el producto de la reacción se obtuvo como un sólido de color blanco con un rendimiento del 72% al emplear el KCN y 75% al emplear la

acetona cianhídrica;  $C_{15}H_{20}N_2O_2$  (260.33 g/mol); P.f. 60 – 62°C. IR (KBr): 2229  $\nu_{(C\equiv N)}$ , 1250  $\nu_{(N-C)}$   $cm^{-1}$ . CG-EM (70 eV):  $t_R = 20.7$  min.,  $m/z = (260, M+\bullet, 6)$ , 177 (30), 176 (100), 131 (5), 84 (59).  $^1H$ -RMN (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) $\delta$  (ppm): 6.21 – 6.12 (3H, m, 2,5,6- $H_{Ar}$ ), 4.38 (1H, s, 1'-H), 2.95 (6H, s, 3,4-OCH<sub>3</sub>), 1.72 – 1.54 (4H, m, 2,6- $H_{Pip}$ ), 0.79 – 0.64 (4H, m, 3,5- $H_{Pip}$ ), 0.59 (2H, d,  $J = 5.2$  Hz, 4- $H_{Pip}$ ).  $^{13}C$ -RMN (100 MHz) $\delta$  (ppm): 149.9 (4- $C_{Ar}$ ), 149.0 (3- $C_{Ar}$ ), 126.8 (1- $C_{Ar}$ ), 120.8 (6- $C_{Ar}$ ), 117.1 (-CN), 112.37 (2- $C_{Ar}$ ), 112.03 (5- $C_{Ar}$ ), 62.06 (1'-C), 56.44 (3,4-OCH<sub>3</sub>), 51.10 (2,6- $C_{Pip}$ ), 26.24 (3,5- $C_{Pip}$ ), 24.60 (4- $C_{Pip}$ ).

**8.3.2 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetonitrilo(1b)**. A partir de 0.86 g (12.1 mmoles) de pirrolidina, 2.01 g (12.1 mmoles) de 3,4-dimetoxibenzaldehído, 0.86 g del catalizador SSA (SiO<sub>2</sub>-O-SO<sub>3</sub>H) y 0.99 g (15.1 mmoles) de la fuente de cianuro seleccionada, el producto de la reacción se obtuvo como un líquido amarillo claro, el cual cambió a estado sólido después de su almacenamiento con un rendimiento del 56% al emplear el KCN y 58% al emplear la acetona cianhídrica;  $C_{14}H_{18}N_2O_2$  (246.30 g/mol). IR (KBr): 2229  $\nu_{(C\equiv N)}$ , 1273  $\nu_{(N-C)}$   $cm^{-1}$ . CG-EM (70 eV):  $t_R = 19.4$  min.,  $m/z = 246 (M+\bullet)$ , 177 (29), 176 (100), 151 (6), 146 (6), 70 (34).

**8.3.3 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(morfolin-4-il) acetonitrilo (1c)**. Se preparó a partir de morfolina 1.00 g (11.5 mmoles), 3,4-dimetoxibenzaldehído 1.90 g (11.5 mmoles), como catalizador SiO<sub>2</sub>-O-SO<sub>3</sub>H (1.00 g) y se varió la fuente de cianuro entre KCN 1.12 g (17.0 mmoles) y acetona cianhídrica 1.45g (17.0 mmoles). Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 75% al emplear el KCN y 78% al emplear la acetona cianhídrica;  $C_{14}H_{18}N_2O_3$  (262.30 g/mol); P.f. 95 – 96°C. IR (KBr): 2229  $\nu_{(C\equiv N)}$ , 1281  $\nu_{(N-C)}$ , 1111  $\nu_{(C-O-C)}$   $cm^{-1}$ . CG-EM (70 eV):  $t_R = 21.0$  min.,  $m/z = (262, M+\bullet, 7)$ , 177 (23), 176 (100), 86 (38), 56 (29).  $^1H$ -RMN (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) $\delta$  (ppm): 6.23 – 6.13 (3H, m, 2,5,6- $H_{Ar}$ ), 4.43 (1H, s, 1'-H), 2.95 (6H, s, 3,4-OCH<sub>3</sub>), 2.79 (4H, sa, 3,5- $H_{Morf}$ ), 1.68 (2H, m, 6- $H_{Morf}$ ), 1.63 – 1.52 (2H, m, 2- $H_{Morf}$ ).  $^{13}C$ -RMN (100 MHz) $\delta$  (ppm): 150.11 (4- $C_{Ar}$ ), 149.82 (3- $C_{Ar}$ ), 125.93 (1- $C_{Ar}$ ), 121.09

(6-C<sub>Ar</sub>), 116.95 (-CN), 112.42 (2-C<sub>Ar</sub>), 112.23 (5-C<sub>Ar</sub>), 66.85 (1'-C), 61.58 (3,5-C<sub>Morf</sub>), 56.46 (3,4-OCH<sub>3</sub>), 50.43 (2,6-C<sub>Morf</sub>).

**8.3.4 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetonitrilo (1d).** Se preparó a partir de N-metilpiperazina 0.90 g (9.0 mmoles), 3,4-dimetoxibenzaldehído 1.49 g (9.0 mmoles), como catalizador SiO<sub>2</sub>-O-SO<sub>3</sub>H (0.90 g) y se varió la fuente de cianuro entre KCN 0.91 g (14.0 mmoles) y acetona cianhídrica 1.19 g (14.0 mmoles). Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 71% al emplear el KCN y 73% al emplear la acetona cianhídrica; C<sub>15</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> (275.34 g/mol); P.f. 71 – 73°C. IR (KBr): 2220  $\nu_{(C\equiv N)}$ , 1247  $\nu_{(N-C)}$  cm<sup>-1</sup>. CG-EM (70 eV): t<sub>R</sub> = 21.0 min., m/z = (275, M+•, 28), 176 (10), 99 (100), 70 (14), 56 (34). <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz)δ (ppm): 7.06 (1H, ddd, J = 8.3, 2.1, 0.7 Hz, 6-H<sub>Ar</sub>), 6.98 (1H, d, J = 2.0 Hz, 2-H<sub>Ar</sub>), 6.83 (1H, d, J = 8.3 Hz, 5-H<sub>Ar</sub>), 4.76 (1H, s, 1'-H), 3.87 (6H, s, 3,4-OCH<sub>3</sub>), 2.74 – 2.16 (11H, m, 2-6-H<sub>N-pip</sub>, -NCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C-RMN (100 MHz)δ (ppm): 149.63 (3-C<sub>Ar</sub>), 149.41 (4-C<sub>Ar</sub>), 125.60 (1-C<sub>Ar</sub>), 120.59 (+, 6-C<sub>Ar</sub>), 115.78 (-CN), 110.97 (+, 5-C<sub>Ar</sub>), 110.85 (+, 2-C<sub>Ar</sub>), 61.93 (+, 1'-C), 56.24 (+, 3-OCH<sub>3</sub>), 56.20 (+, 4-OCH<sub>3</sub>), 55.06 (-, 2-6-C<sub>N-pip</sub>), 46.18 (+, -NCH<sub>3</sub>).

**8.3.5 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(piperidin-1-il) acetonitrilo (2a).** Se preparó a partir de piperidina 0.86 g (10.1 mmoles), piperonal 1.52 g (10.1 mmoles), como catalizador SiO<sub>2</sub>-O-SO<sub>3</sub>H (0.86 g) y se varió la fuente de cianuro entre KCN 0.99 g (15.1 mmoles) y acetona cianhídrica 1.30 g (15.1 mmoles). Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 71% al emplear el KCN y 72% al emplear la acetona cianhídrica; C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (244.29 g/mol); P.f. 74 – 75°C. IR (KBr): 2229  $\nu_{(C\equiv N)}$ , 1257  $\nu_{(N-C)}$  cm<sup>-1</sup>. CG-EM (70 eV): t<sub>R</sub> = 20.0 min., m/z = (244, M+•, 10), 161 (24), 160 (100), 84 (85). <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz)δ (ppm): 6.16 – 6.08 (3H, m, 2,5,6-H<sub>Ar</sub>), 5.24 (2H, s, 3-OCH<sub>2</sub>O), 4.36 (1H, s, 1'-H), 1.70 – 1.52 (4H, m, 2,6-H<sub>Pip</sub>), 0.77 – 0.62 (4H, m, 3,5-H<sub>Pip</sub>), 0.58 (2H, d, J = 5.1 Hz, 4-H<sub>Pip</sub>). <sup>13</sup>C-RMN (100 MHz)δ (ppm): 148.62 (3-C<sub>Ar</sub>), 148.42 (4-C<sub>Ar</sub>), 128.36 (1-C<sub>Ar</sub>), 121.94 (6-C<sub>Ar</sub>), 116.98

(-CN), 108.91 (2-C<sub>Ar</sub>), 108.77 (5-C<sub>Ar</sub>), 102.35 (3-OCH<sub>2</sub>O), 62.00 (1'-C), 51.07 (2,6-C<sub>Pip</sub>), 26.22 (3',5'-C<sub>Pip</sub>), 24.58 (4'-C<sub>Pip</sub>).

**8.3.6 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetoniitrilo (2b).** Se preparó a partir de pirrolidina 0.86 g (12.1 mmoles), piperonal 1.82 g (12.1 mmoles), como catalizador SiO<sub>2</sub>-O-SO<sub>3</sub>H (0.86 g) y se varió la fuente de cianuro entre KCN 1.18 g (18.1 mmoles) y acetona cianhídrica 1.54 g (18.1 mmoles). Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 62% al emplear el KCN y 54% al emplear la acetona cianhídrica; C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (230.26 g/mol); P.f. 55 – 56°C. IR (KBr): 2229  $\nu_{(C\equiv N)}$ , 1257  $\nu_{(N-C)}$  cm<sup>-1</sup>. CG-EM (70 eV): t<sub>R</sub> = 18.3 min., m/z = (230, M+•, 10), 161 (23), 160 (100), 70 (20). <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz)δ (ppm): 6.16 – 6.08 (3H, m, 2,5,6-H<sub>Ar</sub>), 5.23 (2H, s, 3-OCH<sub>2</sub>O), 4.51 (1H, s, 1'-H), 1.78 – 1.71 (2H, m, 2-H<sub>Pir</sub>), 1.69 – 1.63 (2H, m, 5-H<sub>Pir</sub>) 0.92 (4H, m, 3,4-H<sub>Pir</sub>). <sup>13</sup>C-RMN (100 MHz)δ (ppm): 148.57 (3-C<sub>Ar</sub>), 148.37 (4-C<sub>Ar</sub>), 129.27 (1-C<sub>Ar</sub>), 121.75 (6-C<sub>Ar</sub>), 117.58 (-CN), 109.04 (2-C<sub>Ar</sub>), 108.77 (5-C<sub>Ar</sub>), 102.32 (3-OCH<sub>2</sub>O), 58.47 (1'-C), 50.57 (2,5-C<sub>Pir</sub>), 23.79 (3,4-C<sub>Pir</sub>).

**8.3.7 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(morfolin-1-il) acetoniitrilo (2c).** Se preparó a partir de morfolina 1.00 g (11.5 mmoles), piperonal 1.72 g (11.5 mmoles), como catalizador SiO<sub>2</sub>-O-SO<sub>3</sub>H (1.00 g) y se varió la fuente de cianuro entre KCN 1.12 g (17.0 mmoles) y acetona cianhídrica 1.45 g (17.0 mmoles). Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 78% al emplear el KCN y 79% al emplear la acetona cianhídrica; C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (246.26 g/mol); P.f. 118 - 119°C. IR (KBr): 1250  $\nu_{(N-C)}$ , 1119  $\nu_{(C-O-C)}$  cm<sup>-1</sup>. CG-EM (70 eV): t<sub>R</sub> = 20.3 min., m/z = (246, M+•, 12), 161 (21), 160 (100), 102 (14), 86 (69), 56 (64). <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz)δ (ppm): 6.18 – 6.09 (3H, m, 2,5,6-H<sub>Ar</sub>), 5.24 (2H, s, 3-OCH<sub>2</sub>O), 4.43 (1H, s, 1'-H), 2.83 – 2.72 (4H, m, 3,5-H<sub>Morf</sub>), 1.74 – 1.64 (2H, m, 6-H<sub>Morf</sub>), 1.61 – 1.53 (2H, m, 2-H<sub>Morf</sub>). <sup>13</sup>C-RMN (100 MHz)δ (ppm): 148.69 (3-C<sub>Ar</sub>), 148.62 (4-C<sub>Ar</sub>), 127.51 (1-C<sub>Ar</sub>), 122.28 (6-C<sub>Ar</sub>), 116.82 (-CN), 109.01 (2-C<sub>Ar</sub>), 109.0 (5-C<sub>Ar</sub>), 102.42 (3-OCH<sub>2</sub>O), 66.82 (1'-C), 61.49 (3,5-C<sub>Morf</sub>), 50.37 (2,6-C<sub>Morf</sub>).

**8.3.8 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetonitrilo (2d).** Se preparó a partir de N-metilpiperazina 0.66 g (6.0 mmoles), piperonal 0.9 g (6.0 mmoles), como catalizador SiO<sub>2</sub>-O-SO<sub>3</sub>H (0.5 g) y se varió la fuente de cianuro entre KCN 0.59 g (9.0 mmoles) y acetona cianhídrica 0.76 g (9.0 mmoles). Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 68% al emplear el KCN y 71% al emplear la acetona cianhídrica; C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> (259.30 g/mol); P.f. 84 – 86°C. IR (KBr): 2227  $\nu_{(C\equiv N)}$ , 1247  $\nu_{(N-C)}$  cm<sup>-1</sup>. CG-EM (70 eV): t<sub>R</sub> = 20.2 min., m/z = (259, M+•, 31), 160 (19), 99 (100), 70 (14), 56 (35). <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz)δ (ppm): 7.00 (1H, ddd, J = 8.0, 1.8, 0.9 Hz, 6-H<sub>Ar</sub>), 6.97 (1H, dd, J = 1.3, 0.5 Hz, 2-H<sub>Ar</sub>), 6.79 (1H, d, J = 8.0 Hz, 5-H<sub>Ar</sub>), 5.98 (2H, s, 3-OCH<sub>3</sub>O), 4.73 (1H, s, 1'-H), 2.72 – 2.19 (11H, m, 2-6- H<sub>N-pip</sub>, -NCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C-RMN (100 MHz)δ (ppm): 148.48 (3-C<sub>Ar</sub>), 148.41 (4-C<sub>Ar</sub>), 127.05 (1-C<sub>Ar</sub>), 121.80 (+, 6-C<sub>Ar</sub>), 115.71 (-CN), 108.52 (+, 2-C<sub>Ar</sub>), 108.40 (+, 5-C<sub>Ar</sub>), 101.76 (+, 3-OCH<sub>2</sub>O), 61.93 (+, 1'-C), 55.06 (-, 2-6-C<sub>N-pip</sub>), 46.21 (+, -NCH<sub>3</sub>).

**8.3.9 2-(Piperidin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil)acetonitrilo(3a).** Se preparó a partir de piperidina 0.65 g (7.65 mmoles), 3,4,5-trimetoxibenzaldehído 1.5 g (7.6 mmoles), como catalizador SiO<sub>2</sub>-O-SO<sub>3</sub>H (0.8 g) y se varió la fuente de cianuro entre KCN 0.75 g (11.5 mmoles) y acetona cianhídrica 1.2 g (11.5 mmoles). Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 87% al emplear el KCN y 83% al emplear la acetona cianhídrica; C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (290.36 g/mol); P.f. 115-117°C. IR (KBr): 2221  $\nu_{(C\equiv N)}$ , 1231  $\nu_{(N-C)}$  cm<sup>-1</sup>. CG-EM (70 eV): t<sub>R</sub> = 21.2 min., m/z = 290 (M+•), 207 (63), 206 (100), 192 (12), 176 (32), 84 (50). <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz)δ (ppm): 6.76 (2H, s, 2,6-H<sub>Ar</sub>), 4.75 (1H, s, 1'-H), 3.87 (6H, s, 3,5-OCH<sub>3</sub>), 3.84 (3H, s, 4- OCH<sub>3</sub>), 2.59 – 1.68 (4H, m, 2,6-H<sub>Pip</sub>), 1.68 – 1.53 (4H, m, 3-5-H<sub>Pip</sub>), 1.48 (2H, dd, J = 10.8, 5.2 Hz 4-H<sub>Pip</sub>). <sup>13</sup>C-RMN (100 MHz)δ (ppm): 153.60 (3,5-C<sub>Ar</sub>), 138.19 (4-C<sub>Ar</sub>), 129.42 (1-C<sub>Ar</sub>), 115.95 (-CN), 104.80 (+, 2,6-C<sub>Ar</sub>), 63.33 (+, 1'-C), 61.16 (+, 4-OCH<sub>3</sub>), 56.47 (+, 3,5-OCH<sub>3</sub>), 51.20 (-, 2,6-C<sub>Pip</sub>), 26.08 (-, 3,5- C<sub>Pip</sub>), 24.20 (-, 4-C<sub>Pip</sub>).

**8.3.10 2-(Pirrolidin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetonitrilo (3b).** Se preparó a partir de pirrolidina 0.54 g (7.65 mmoles), 3,4,5-trimetoxibenzaldehído 1.5 g (7.65 mmoles), como catalizador SiO<sub>2</sub>-O-SO<sub>3</sub>H (0.8 g) y se varió la fuente de cianuro entre KCN 0.75 g (11.5 mmoles) y acetona cianhídrica 1.2 g (11.5 mmoles). Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 86% al emplear el KCN y 82% al emplear la acetona cianhídrica; C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (276.33 g/mol); P.f. 91-93°C. IR (KBr): 2220 $\nu_{(C\equiv N)}$ , 1235  $\nu_{(N-C)}$  cm<sup>-1</sup>. CG-EM (70 eV): t<sub>R</sub> = 20.0 min., m/z = 276 (M+•), 207 (68), 206 (100), 192 (15), 176 (39), 70 (21). <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz)δ (ppm): 6.73 (2H, s, 2,6-H<sub>Ar</sub>), 4.97 (1H, s, 1'-H), 3.87 (6H, s, 3,5-OCH<sub>3</sub>), 3.84 (3H, s, 4-OCH<sub>3</sub>), 2.71 – 2.59 (4H, m, 2,5-H<sub>Pir</sub>), 1.89 – 1.78 (4H, m, 3,4-H<sub>Pir</sub>). <sup>13</sup>C-RMN (100 MHz)δ (ppm): 153.65 (3,5-C<sub>Ar</sub>), 138.27 (4-C<sub>Ar</sub>), 130.10 (1-C<sub>Ar</sub>), 116.48 (-CN), 104.76 (+, 2,6-C<sub>Ar</sub>), 61.16 (+, 1'-C), 59.75 (+, 4-OCH<sub>3</sub>), 56.50 (+, 3,5-OCH<sub>3</sub>), 50.62 (-, 2,5-C<sub>Pir</sub>), 23.75 (-, 3,4-C<sub>Pir</sub>).

**8.3.11 2-Morfolino-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetonitrilo (3c).** Se preparó a partir de morfolina 0.84 g (9.7 mmoles), 3,4,5-trimetoxibenzaldehído 1.9 g (9.7 mmoles), como catalizador SiO<sub>2</sub>-O-SO<sub>3</sub>H 0.8 g y se varió la fuente de cianuro entre KCN 0.95 g (14.6 mmoles) y acetona cianhídrica 1.24 g (14.6 mmoles). Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 83% al emplear el KCN y 77% al emplear la acetona cianhídrica; C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (292.33 g/mol); P.f. 137-139°C. IR (KBr): 2224 $\nu_{(C\equiv N)}$ , 1248  $\nu_{(N-C)}$  cm<sup>-1</sup>. CG-EM (70 eV): t<sub>R</sub> = 21.3 min., m/z = 292 (M+•), 207 (52), 206 (100), 176 (14), 86 (20), 66 (14). <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz)δ (ppm): 6.74 (2H, s, 2,6-H<sub>Ar</sub>), 4.74 (1H, s, 1'-H), 3.87 (6H, s, 3,5-OCH<sub>3</sub>), 3.83 (3H, s, 4-OCH<sub>3</sub>), 3.79 – 3.66 (4H, m, 3,5-H<sub>Morf</sub>), 2.68 – 2.43 (4H, m, 2,6-H<sub>Morf</sub>). <sup>13</sup>C-RMN (100 MHz)δ (ppm): 153.72 (3,5-C<sub>Ar</sub>), 138.50 (4-C<sub>Ar</sub>), 128.24 (1-C<sub>Ar</sub>), 115.50 (-CN), 105.06 (+, 2,6-C<sub>Ar</sub>), 66.94 (-, 3,5-C<sub>Morf</sub>), 62.76 (+, 1'-C), 61.15 (+, 4-OCH<sub>3</sub>), 56.50 (+, 3,5-OCH<sub>3</sub>), 50.26 (-, 2,6-C<sub>Morf</sub>).

**8.3.12 2-(4-Metilpiperazin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetonitrilo (3d).** Se preparó a partir de N-metilpiperazina 0.66 g (6.0 mmoles), 3,4,5-

trimetoxibenzaldehído 1.2 g (6.0 mmoles), como catalizador  $\text{SiO}_2\text{-O-SO}_3\text{H}$  (0.8 g) y se varió la fuente de cianuro entre KCN 0.6 g (9 mmoles) y acetona cianhídrica 0.76 g (9 mmoles). Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 73% al emplear el KCN y 69% al emplear la acetona cianhídrica;  $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_3$  (305.37 g/mol); P.f. 117-118°C. IR (KBr): 2221  $\nu_{(\text{C}\equiv\text{N})}$ , 1247  $\nu_{(\text{N-C})}$   $\text{cm}^{-1}$ . CG-EM (70 eV):  $t_R$  = 22.1 min.,  $m/z$  = 305 ( $\text{M}^+$ ), 305 (26), 206 (16), 99 (100), 70 (14), 56 (31).  $^1\text{H-RMN}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 6.73 (2H, d,  $J$  = 0.5 Hz, 2,6- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 4.76 (1H, s, 1'-H), 3.86 (6H, s, 3,5- $\text{OCH}_3$ ), 3.83 (3H, s, 4- $\text{OCH}_3$ ), 2.78 – 2.14 (11H, m, 2-6- $\text{H}_{\text{N-pip}}$ , - $\text{NCH}_3$ ).  $^{13}\text{C-RMN}$  (100 MHz)  $\delta$  (ppm): 153.66 (3,5- $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 138.35 (4- $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 128.80 (1- $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 115.64 (-CN), 104.94 (+, 2,6- $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 62.35 (+, 1'-C), 61.16 (+, 4- $\text{OCH}_3$ ), 56.49 (+, 3,5- $\text{OCH}_3$ ), 55.08 (-, 2-6- $\text{C}_{\text{N-pip}}$ ), 46.20 (+, - $\text{NCH}_3$ ).

**8.3.13 2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(piperidin-1-il)acetonitrilo (4a)**. Se preparó a partir de piperidina 0.86 g (10.0 mmoles), 3-hidroxi-4-metoxibenzaldehído 1.53 g (10.0 mmoles), como catalizador  $\text{SiO}_2\text{-O-SO}_3\text{H}$  (0.9 g) y como fuente de cianuro KCN 0.99 g (15.0 mmoles). Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 70%;  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$  (246.30 g/mol); P.f. 93-95°C. IR (KBr): 2232  $\nu_{(\text{C}\equiv\text{N})}$ , 1248  $\nu_{(\text{N-C})}$   $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H-RMN}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 7.09 (1H, dd,  $J$  = 2.2, 0.6 Hz, 2- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 7.02 (1H, ddd,  $J$  = 8.3, 2.2, 0.8 Hz, 6- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 6.83 (1H, d,  $J$  = 8.3 Hz, 5  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 4.72 (1H, s, 1'-H), 3.89 (3H, s, 4- $\text{OCH}_3$ ), 2.58 – 2.34 (4H, m, 2,6- $\text{H}_{\text{Pip}}$ ), 1.66 – 1.51 (4H, m, 3,5- $\text{H}_{\text{Pip}}$ ), 1.51 – 1.41 (2H, dd,  $J$  = 10.8, 5.2 Hz 4- $\text{H}_{\text{Pip}}$ ).  $^{13}\text{C-RMN}$  (100 MHz)  $\delta$  (ppm): 147.14 (4-C), 146.07 (3-C), 126.92 (1-C), 119.79 (+, 6-H), 116.10 (-CN), 114.38 (+, 5-C), 110.52 (+, 2-C), 62.78 (+, 1'-C), 56.29 (+, 4- $\text{OCH}_3$ ), 51.08 (-, 2,6- $\text{C}_{\text{Pip}}$ ), 26.06 (-, 3,5- $\text{C}_{\text{Pip}}$ ), 24.27 (-, 4- $\text{C}_{\text{Pip}}$ ).

**8.3.14 2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(pirrolidin-1-il)acetonitrilo (4b)**. Se preparó a partir de pirrolidina 0.86 g (12.0 mmoles), 3-hidroxi-4-metoxibenzaldehído 1.84 g (12.0 mmoles), como catalizador  $\text{SiO}_2\text{-O-SO}_3\text{H}$  (0.9 g) y como fuente de cianuro KCN 1.18 g (18.0 mmoles). Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 71%;  $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$  (232.28 g/mol); P.f. 88-90°C. IR (KBr): 2220  $\nu_{(\text{C}\equiv\text{N})}$ , 1218  $\nu_{(\text{N-C})}$

$\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H}$ -RMN (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) $\delta$  (ppm): 7.06 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, 2- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 7.00 (1H, ddd,  $J = 8.3, 2.2, 0.7$  Hz, 6- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 6.82 (1H, d,  $J = 8.3$  Hz, 5- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 4.94 (1H, s, 1'-H), 3.88 (3H, s, 4-OCH<sub>3</sub>), 2.69 – 2.57 (4H, m, 2,5- $\text{H}_{\text{pir}}$ ), 1.85 – 1.77 (4H, m, 3,4- $\text{H}_{\text{pir}}$ ).  $^{13}\text{C}$ -RMN (100 MHz) $\delta$  (ppm): 147.17 (4-C), 146.08 (3-C), 127.60 (1-C), 119.53 (+, 6-H), 116.56 (-CN), 114.32 (+, 5-C), 110.67 (+, 2-C), 59.02 (+, 1'-C), 56.27 (+, 4-OCH<sub>3</sub>), 50.47 (-, 2,5- $\text{C}_{\text{pir}}$ ), 23.64 (-, 3,4- $\text{C}_{\text{pir}}$ ).

**8.3.15 2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(morfolin-1-il) acetoniitrilo (4c)**. Se preparó a partir de morfolina 1.0 g (11.5 mmoles), 3-hidroxi-4-metoxibenzaldehído 1.74 g (11.5 mmoles), como catalizador  $\text{SiO}_2\text{-O-SO}_3\text{H}$  (0.9 g) y como fuente de cianuro KCN 1.12 g (17.2 mmoles). Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 76%;  $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$  (248.28 g/mol); P.f. 142-143°C. IR (KBr): 2238 $\nu_{(\text{C}\equiv\text{N})}$ , 1249  $\nu_{(\text{N}-\text{C})}$   $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H}$ -RMN (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) $\delta$  (ppm): 7.07 (1H, d,  $J = 2.2$ , 2- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 7.01 (1H, ddd,  $J = 8.3, 2.2, 0.7$  Hz, 6- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 6.84 (1H, d,  $J = 8.3$  Hz, 5- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 5.90 (1H, s, 3-OH), 4.72 (1H, s, 1'-H), 3.89 (3H, s, 4-OCH<sub>3</sub>), 3.78 – 3.62 (4H, m, 3,5- $\text{H}_{\text{Morf}}$ ), 2.66 – 2.45 (4H, m, 2,6- $\text{H}_{\text{Morf}}$ ).  $^{13}\text{C}$ -RMN (100 MHz) $\delta$  (ppm): 147.43 (4-C), 146.21 (3-C), 125.71 (1-C), 119.99 (+, 6-H), 115.65 (-CN), 114.45 (+, 5-C), 110.64 (+, 2-C), 66.96 (-, 3,5- $\text{C}_{\text{Morf}}$ ), 62.15 (+, 1'-C), 56.29 (+, 4-OCH<sub>3</sub>), 50.11 (-, 2,6- $\text{C}_{\text{Morf}}$ ).

**8.3.16 2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)acetoniitrilo (4d)**. Se preparó a partir de N-metilpiperazina 0.9 g (9.0 mmoles), 3-hidroxi-4-metoxibenzaldehído 1.53 g (9.0 mmoles), como catalizador  $\text{SiO}_2\text{-O-SO}_3\text{H}$  (0.9 g) y como fuente de cianuro KCN 0.91 g (14.0 mmoles). Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 63%;  $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2$  (261.32 g/mol); P.f. 167-169°C. IR (KBr): 2232 $\nu_{(\text{C}\equiv\text{N})}$ , 1236  $\nu_{(\text{N}-\text{C})}$   $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H}$ -RMN (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) $\delta$  (ppm): 7.03 (1H, dd,  $J = 2.2$ , 2- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 6.98 (1H, ddd,  $J = 8.3, 2.2, 0.7$  Hz, 6- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 6.82 (1H, d,  $J = 8.3$  Hz, 5- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 4.72 (1H, s, 1'-H), 3.88 (3H, s, 4-OCH<sub>3</sub>), 2.74 – 2.30 (8H, m, 2,6- $\text{H}_{\text{N-pip}}$ ), 2.28 (3H, s, -NCH<sub>3</sub>).  $^{13}\text{C}$ -RMN (100 MHz) $\delta$  (ppm): 147.61 (4- $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 146.36 (3- $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 126.16 (1- $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 119.76 (+, 6- $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 115.82 (-CN), 114.70 (+, 5- $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 110.74 (+, 2- $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 61.73 (+, 1'-C), 56.25 (+, 4-OCH<sub>3</sub>), 55.02 (-, 2,6- $\text{C}_{\text{N-pip}}$ ), 46.12 (+, -NCH<sub>3</sub>).

**8.3.17 2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(piperidin-1-il)acetonitrilo (5a)**. Se preparó a partir de piperidina 0.86 g (10.0 mmoles), 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído 1.53 g (10.0 mmoles), como catalizador  $\text{SiO}_2\text{-O-SO}_3\text{H}$  (0.9 g) y como fuente de cianuro KCN 0.99 g (15.0 mmoles). Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 72%;  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$  (246.30 g/mol); P.f. 133-135°C. IR (KBr): 2230  $\nu_{(\text{C}\equiv\text{N})}$ , 1248  $\nu_{(\text{N}-\text{C})}$   $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H-RMN}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 7.04 (1H, ddd,  $J = 8.2, 2.1, 0.8$  Hz, 6- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 7.00 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, 2- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 6.91 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz, 5- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 4.75 (1H, s, 1'-H), 3.91 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 2.58 – 2.41 (4H, m, 2,6- $\text{H}_{\text{Pip}}$ ), 1.68 – 1.45 (6H, m, 3-5- $\text{H}_{\text{Pip}}$ ).  $^{13}\text{C-RMN}$  (100 MHz)  $\delta$  (ppm): 146.94 (3- $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 146.21 (4- $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 125.64 (1- $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 121.23 (+, 6- $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 116.21 (-CN), 114.56 (+, 5- $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 110.42 (+, 2- $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 63.04 (+, 1'-C), 56.35 (+, 3-OCH<sub>3</sub>), 51.33 (+, 2,6- $\text{C}_{\text{Pip}}$ ), 26.10 (-, 3,5- $\text{C}_{\text{Pip}}$ ), 24.29 (-, 4- $\text{C}_{\text{Pip}}$ ).

**8.3.18 2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(pirrolidin-1-il)acetonitrilo (5b)**. Se preparó a partir de pirrolidina 0.86 g (12.0 mmoles), 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído 1.84 g (12.0 mmoles), como catalizador  $\text{SiO}_2\text{-O-SO}_3\text{H}$  (0.9 g) y como fuente de cianuro KCN 1.18 g (18.0 mmoles). Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 71%;  $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$  (232.28 g/mol); P.f. 118-119°C. IR (KBr): 2217  $\nu_{(\text{C}\equiv\text{N})}$ , 1232  $\nu_{(\text{N}-\text{C})}$   $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H-RMN}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 7.01 (1H, dd,  $J = 8.2, 2.0$  Hz, 6- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 6.98 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, 2- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 6.89 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, 5- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 4.95 (1H, s, 1'-H), 3.88 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 2.70 – 2.58 (4H, m, 2,5- $\text{H}_{\text{Pir}}$ ), 1.89 – 1.76 (4H, m, 3,4- $\text{H}_{\text{Pir}}$ ).  $^{13}\text{C-RMN}$  (100 MHz)  $\delta$  (ppm): 147.01 (3- $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 146.27 (4- $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 126.32 (1- $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 120.98 (+, 6- $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 116.69 (-CN), 114.67 (+, 5- $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 110.34 (+, 2- $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 59.35 (+, 1'-C), 56.29 (+, 3-OCH<sub>3</sub>), 50.57 (-, 2,5- $\text{C}_{\text{Pir}}$ ), 23.65 (-, 3,4- $\text{C}_{\text{Pir}}$ ).

**8.3.19 2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(morfolin-1-il) acetonitrilo (5c)**. Se preparó a partir de morfolina 1.0 g (11.5 mmoles), 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído 1.74 g (11.5 mmoles), como catalizador  $\text{SiO}_2\text{-O-SO}_3\text{H}$  (0.9 g) y como fuente de cianuro KCN 1.12 g (17.2 mmoles). Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 72%;  $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$  (248.28 g/mol); P.f. 107-109°C. IR (KBr): 2236  $\nu_{(\text{C}\equiv\text{N})}$   $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H-}$

RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz)δ (ppm): 7.02 (1H, ddd,  $J = 8.2, 2.1, 0.7$  Hz, 6-H<sub>Ar</sub>), 6.98 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, 2-H<sub>Ar</sub>), 6.90 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz, 5-H<sub>Ar</sub>), 4.73 (1H, s, 1'-H), 3.90 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 3.79 – 3.64 (4H, m, 3,5-H<sub>Morf</sub>), 2.63 – 2.49 (4H, m, 2,6-H<sub>Morf</sub>). <sup>13</sup>C-RMN (100 MHz)δ (ppm): 147.10 (3-C<sub>Ar</sub>), 146.54 (4-C<sub>Ar</sub>), 124.37 (1-C<sub>Ar</sub>), 121.45 (+, 6-C<sub>Ar</sub>), 115.73 (-CN), 114.76 (+, 5-C<sub>Ar</sub>), 110.55 (+, 2-C<sub>Ar</sub>), 66.93 (-, 3,5-C<sub>Morf</sub>), 62.39 (+, 1'-C), 56.32 (+, 3-OCH<sub>3</sub>), 50.16 (-, 2,6-C<sub>Morf</sub>).

**8.3.20 2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetonitrilo (5d).** Se preparó a partir de N-metilpiperazina 0.9 g (9.0 mmoles), 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído 1.53 g (9.0 mmoles), como catalizador SiO<sub>2</sub>-O-SO<sub>3</sub>H (0.9 g) y como fuente de cianuro KCN 0.91 g (14.0 mmoles). Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 61%; C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> (261.32 g/mol); P.f. 151-153°C. IR (KBr): 2247 $\nu_{(C\equiv N)}$ , 1219  $\nu_{(N-C)}$  cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz)δ (ppm): 6.02 (1H, d,  $J = 1.7$  Hz, 2-H<sub>Ar</sub>), 5.95 (1H, dd,  $J = 8.2, 1.7$  Hz, 6-H<sub>Ar</sub>), 5.91 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, 5-H<sub>Ar</sub>), 4.28 (1H, s, 1'-H), 2.87 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 1.73 – 1.21 (11H, m, 2-6-H<sub>N-pip</sub>, -NCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C-RMN (100 MHz)δ (ppm): 148.74 (3-C), 148.00 (4-C), 124.88 (1-C), 121.34 (+, 6-H), 117.26 (-CN), 116.25 (+, 5-C), 112.61 (+, 2-C), 61.40 (+, 1'-C), 56.61 (+, 3-OCH<sub>3</sub>), 55.36 (-, 2-6-C<sub>N-pip</sub>), 46.61 (-, -NCH<sub>3</sub>).

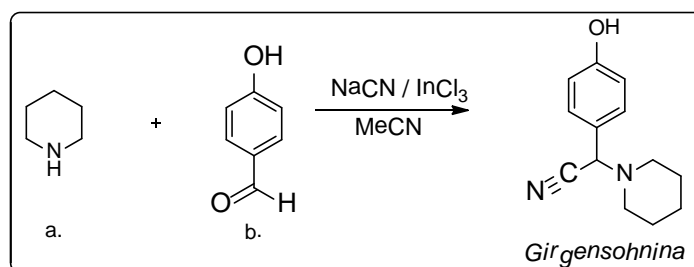
## 9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS EXPERIMENTALES

La búsqueda de nuevas estrategias sintéticas que permitan la obtención de productos naturales y de sus análogos estructurales ha fomentado el trabajo y el desarrollo mancomunado de áreas de la ciencia que van desde la química orgánica hasta la medicinal y la agroquímica. Para la realización de pruebas en las que se evalúa la bioactividad de este tipo de moléculas es necesaria la obtención de cantidades considerables de productos con alta pureza. Los métodos tradicionales de extracción se encuentran ampliamente limitados debido a la gran cantidad de metabolitos secundarios obtenidos junto con el material de interés, además de presentarse en la mayoría de las ocasiones con rendimientos extremadamente bajos, sin siquiera representar el 1% del material vegetal estudiado.

### 9.1 ESTUDIOS PREVIOS

En el marco teórico que soporta el presente trabajo de investigación se presentaron los primeros resultados obtenidos al implementar una nueva metodología desarrollada en nuestro laboratorio, la cual permitió la obtención del alcaloide girgensohnina<sup>50</sup> (Esquema 9).

**Esquema 9.** Síntesis del alcaloide girgensohnina.



a. Piperidina. b. 4-Hidroxibenzaldehído

Según tendencias modernas en la química orgánica sintética y criterios de la química verde, se cambió el catalizador metálico dispendioso  $\text{InCl}_3$  por un catalizador ácido soportado en gel de sílice más asequible ( $\text{SiO}_2\text{-O-SO}_3\text{H}$  - SSA). Los catalizadores sólidos presentan varias ventajas frente a los catalizadores ácido de Lewis tradicionales, ya que son recuperables, reutilizables, no tóxicos y de sencilla manipulación. Cabe mencionar que entre las ventajas brindadas por el catalizador SSA empleado se cuenta la regeneración de la actividad catalítica del mismo después de su recuperación al lavarse con disolventes orgánicos (los reportes en la literatura hablan de su posible uso hasta por 5 ciclos sin disminución considerable en los rendimientos de los productos obtenidos<sup>97</sup>), además de simplificar el trabajo de tratamiento de la masa de reacción ya que éste puede retirarse por simple filtrado.

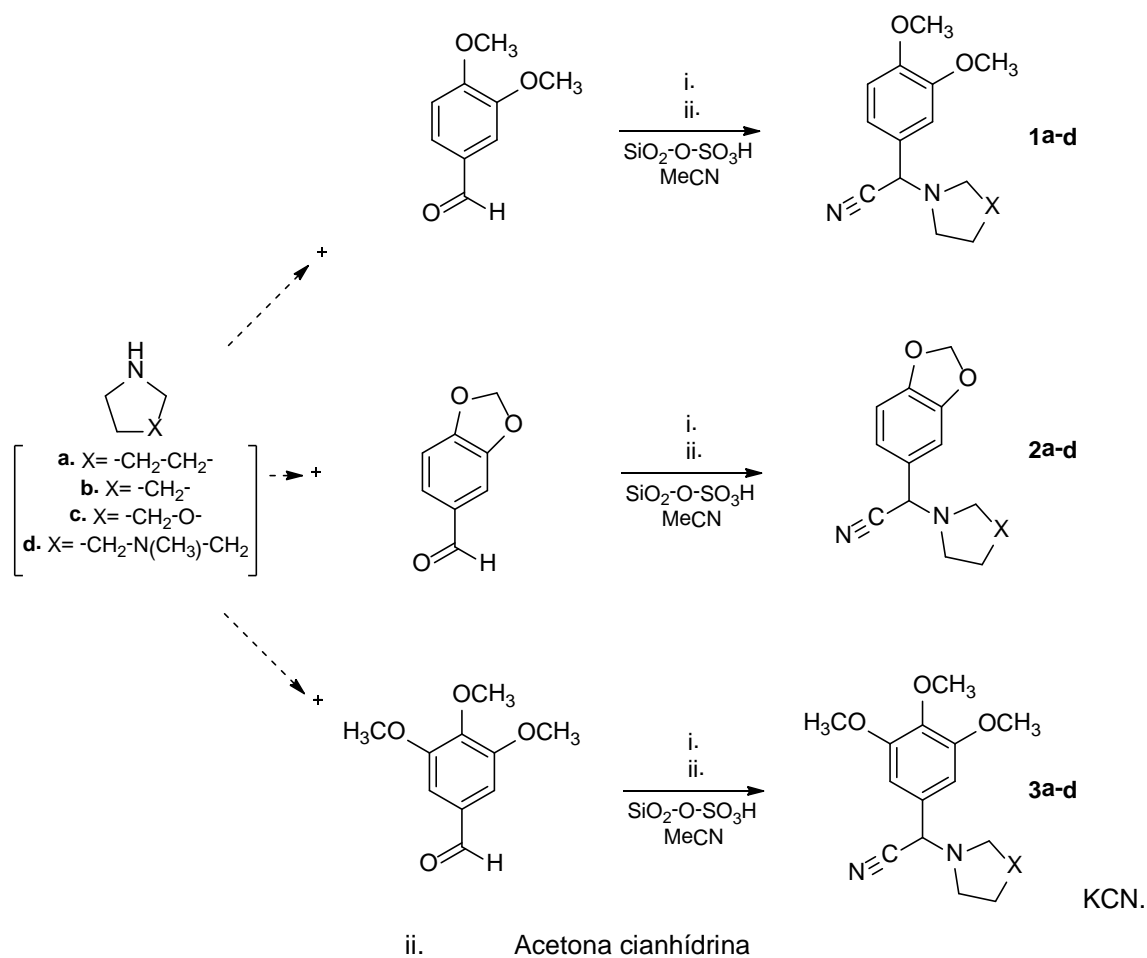
Cuando se emplearon ácidos de Lewis ( $\text{InCl}_3$  y  $\text{BiCl}_3$ ) como catalizadores de reacción no fue posible su recuperación, además debido al tratamiento previo de lavado del producto y al proceso de extracción en la que se emplea agua, se observó la formación de emulsiones de difícil ruptura. Adicionalmente, los desechos obtenidos por su empleo suponen la contaminación de las fuentes de agua y la corrosión de los elementos metálicos expuestos a su acción. Como fuentes de cianuro se emplearon una sal inorgánica KCN y la acetona cianhídrica, precursor orgánico sintetizado en nuestro laboratorio como parte del desarrollo del proyecto, encontrando que los rendimientos de reacción eran comparables a los previamente encontrados.

## **9.2 PREPARACIÓN DE LOS NUEVOS $\alpha$ -AMINONITRILOS 1, 2 y 3.**

Empleando las mejores condiciones ensayadas sobre los procedimientos seguidos para la obtención de la girgensohnina vía la reacción de Strecker, se introdujeron los compuestos 3,4-dimetoxibenzaldehído, 3,4,5-trimetoxibenzaldehído y

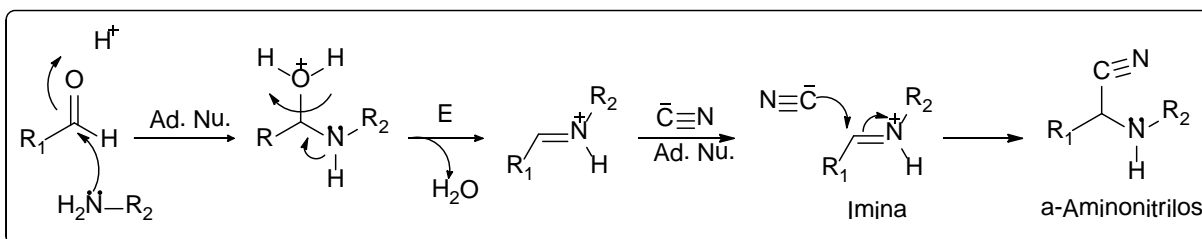
piperonal como compuestos carbonílicos y piperidina, pirrolidina, morfolina y N-metilpiperazina como aminas secundarias, lo cual permitió la obtención de los primeros 12 análogos al alcaloide girsenosohnina (Esquema 10).

**Esquema 10.** Reacción de Strecker para la obtención de los  $\alpha$ -aminonitrilos **1**, **2** y **3**



En forma general durante el mecanismo de reacción que sigue el proceso descubierto por Strecker se dan dos adiciones nucleofílicas así, en la primera etapa se genera la imina correspondiente a la adición nucleofílica de la amina al compuesto carbonílico y luego, la adición nucleofílica del ion cianuro para atrapar *in situ* la imina formada (Esquema 11).

**Esquema 11.** Mecanismo propuesto para la reacción de Strecker.




Inicialmente la reacción se llevó a cabo empleando un balón de dos bocas, un condensador con trampa para gases y un tapón esmerilado. Agregando primero el precursor carbonílico sólido, se diluyó en MeCN y se colocó en el montaje. Se adicionó la amina secundaria seleccionada y luego lentamente la fuente de cianuro, en ambos casos, como sólido o líquido se agregó lentamente observándose un cambio en el color y consistencia de la masa de reacción.

Cuando, empleando TLC, se determinó la finalización de la reacción, se filtró para retirar el catalizador sólido, luego se eliminó el disolvente por destilación. Para la mayoría de estos productos no se hace viable su purificación por columna cromatográfica empleando gel de sílice ya que la muestra queda retenida en la cabeza de la columna y se observa su oscurecimiento, no permitiendo recuperar el producto.

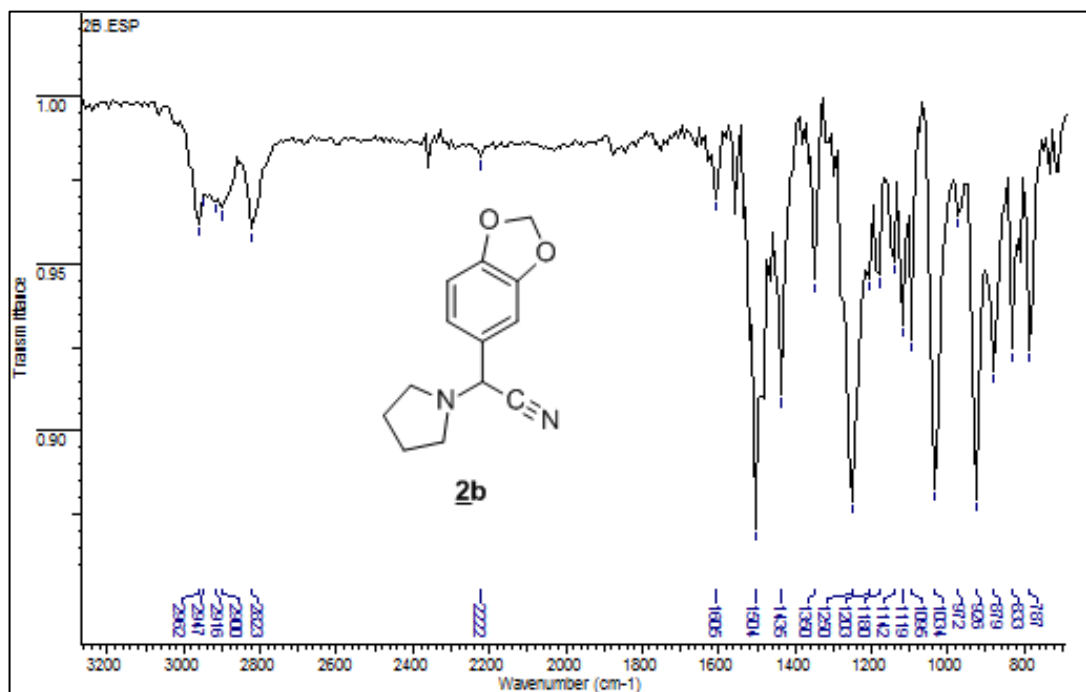
Aunque se observaron mejores resultados al emplear alúmina, el rendimiento de las reacciones se disminuía considerablemente. Se realizó entonces una técnica de cromatografía “flash” usando columnas rápidas de alúmina a una sola concentración de eluyente y procesos exhaustivos de cristalización en metanol. Los productos **1a-d**, **2a-d** y **3a-d** fueron obtenidos como sólidos cristalinos blancos con rendimientos entre el 56 y el 83% (Tabla 11).

**Tabla 11.** Propiedades y rendimientos de los productos **1**, **2y3**.

Molécula	Estado físico	Color	P.F. (°C)	Rendimiento (%)		IR CN (cm <sup>-1</sup> )
				KCN		
<b>1a</b>	Sólido	Blanco	60-62	72	75	2229
<b>1b</b>	Líquido	Amarillo claro	--	56	58	2229
<b>1c</b>	Sólido	Blanco	95-96	75	78	2229
<b>1d</b>	Sólido	Blanco	71-73	71	73	2220
<b>2a</b>	Sólido	Blanco	74-75	71	72	2222
<b>2b</b>	Sólido	Blanco	55-56	62	54	2229
<b>2c</b>	Sólido	Blanco	118-119	78	79	---
<b>2d</b>	Sólido	Blanco	84 - 86	68	71	2227
<b>3a</b>	Sólido	Blanco	115-117	87	83	2221
<b>3b</b>	Sólido	Blanco	91-93	86	82	2220
<b>3c</b>	Sólido	Blanco	137-139	83	77	2224
<b>3d</b>	Sólido	Blanco	117-118	73	69	2221

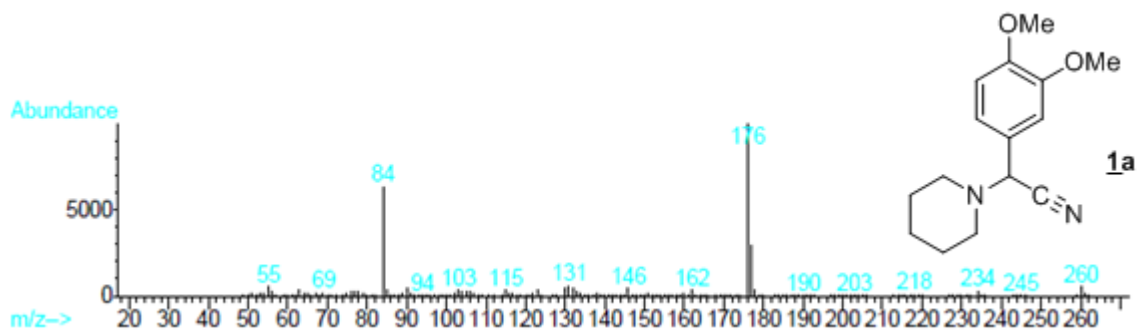
Los resultados de espectroscopia IR de los productos **1**, **2y3** generados muestran en forma general y característica para todos los casos unan banda débil entre 2220 y 2230 cm<sup>-1</sup> atribuida a la tensión del nitrilo (C≡N) y entre 1230 y 1280 cm<sup>-1</sup> una banda debida a la tensión del enlace C-N (Figura 24).

Figura 24. Resultado de IR para el producto **2b**.



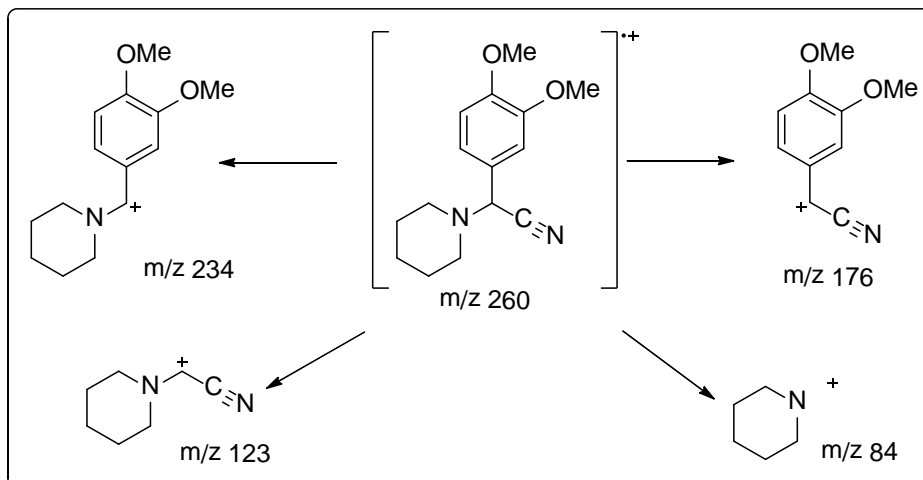
Los espectros de masas confirmaron la formación de los productos al registrar picos correspondientes a los iones moleculares de baja intensidad cuya relación  $m/z$  corresponde a la masa nominal de sus fórmulas moleculares condensadas (Figura 25).

Figura 25. Fragmentograma del producto **1a**.



El análisis de los datos de EM mostró además de su pico molecular la escisión del enlace C-N que une a la amina heterocíclica con el fragmento restante de la molécula, brindando iones complementarios (Esquema 12).

**Esquema 12.** Posible ruta de fragmentación del producto **1a**.



Esta ruptura se convirtió en una característica general de los compuestos **1-3** al igual que la presencia de su ion molecular. Los productos de serie **c** y **d** presentaron además el ion  $m/z\ 56$  debido a la pérdida de  $\text{CH}_2\text{O}$  del ion  $m/z\ 86$  o  $\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)$  del ion  $m/z\ 99$ , respectivamente.

En la Tabla 12 se presenta la recopilación de los resultados obtenidos para los primeros doce análogos obtenidos indicando las posibles rupturas que ofrecieron los fragmentos expuestos.

**Tabla 12.** Iones característicos de análogos **1-3**.

Molécula	t <sub>R</sub>	M <sup>+</sup>	Φ <sub>1</sub>	Φ <sub>2</sub>	Φ <sub>3</sub>	Φ <sub>4</sub>	Φ <sub>5</sub>
<b>1a</b>	20.7	260	245 [ M <sup>+</sup> -15]	234 [ M <sup>+</sup> -26]	176 [ M <sup>+</sup> -84]	84 [ M <sup>+</sup> -176]	--
<b>1b</b>	19.4	246	231 [ M <sup>+</sup> -15]	220 [ M <sup>+</sup> -26]	176 [ M <sup>+</sup> -70]	70 [ M <sup>+</sup> -176]	--
<b>1c</b>	21.0	262	247 [ M <sup>+</sup> -15]	236 [ M <sup>+</sup> -26]	176 [ M <sup>+</sup> -86]	86 [ M <sup>+</sup> -176]	56 [Φ <sub>4</sub> -30]
<b>1d</b>	21.0	275	260 [ M <sup>+</sup> -15]	249 [ M <sup>+</sup> -26]	176 [ M <sup>+</sup> -99]	99 [ M <sup>+</sup> -176]	56 [Φ <sub>4</sub> -43]
<b>2a</b>	20.0	244	--	218 [ M <sup>+</sup> -26]	160 [ M <sup>+</sup> -84]	84 [ M <sup>+</sup> -160]	--
<b>2b</b>	18.3	230	--	204 [ M <sup>+</sup> -26]	160 [ M <sup>+</sup> -70]	70 [ M <sup>+</sup> -160]	--
<b>2c</b>	20.3	246	--	220 [ M <sup>+</sup> -26]	160 [ M <sup>+</sup> -86]	86 [ M <sup>+</sup> -160]	56 [Φ <sub>4</sub> -30]
<b>2d</b>	20.2	259	--	233 [ M <sup>+</sup> -26]	160 [ M <sup>+</sup> -99]	99 [ M <sup>+</sup> -160]	56 [Φ <sub>4</sub> -43]
<b>3a</b>	21.2	290	275 [ M <sup>+</sup> -15]	264 [ M <sup>+</sup> -26]	206 [ M <sup>+</sup> -84]	84 [ M <sup>+</sup> -206]	--
<b>3b</b>	20.0	276	261 [ M <sup>+</sup> -15]	250 [ M <sup>+</sup> -26]	206 [ M <sup>+</sup> -70]	70 [ M <sup>+</sup> -206]	--
<b>3c</b>	21.3	292	277 [ M <sup>+</sup> -15]	266 [ M <sup>+</sup> -26]	206 [ M <sup>+</sup> -86]	86 [ M <sup>+</sup> -206]	56 [Φ <sub>4</sub> -30]
<b>3d</b>	22.1	305	290 [ M <sup>+</sup> -15]	279 [ M <sup>+</sup> -26]	206 [ M <sup>+</sup> -99]	99 [ M <sup>+</sup> -206]	56 [Φ <sub>4</sub> -43]

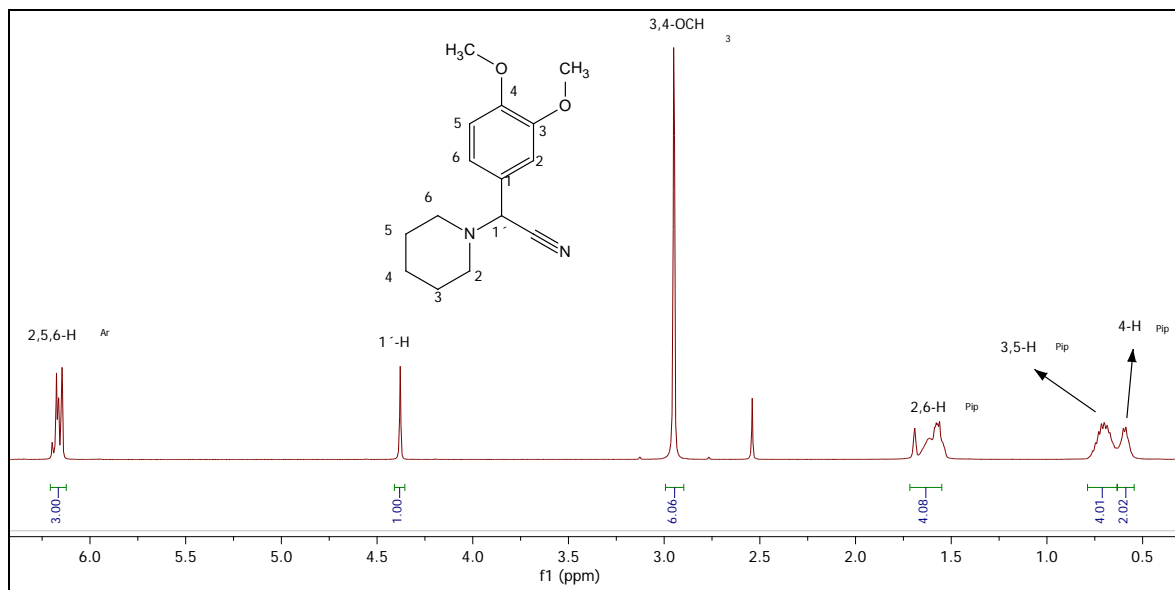
La estructura de las nuevas moléculas híbridas también fue confirmada por espectrometría de <sup>1</sup>H-RMN y <sup>13</sup>C-RMN (DEPT 135) a excepción del producto aceitoso **1b**, que presentó una descomposición rápida lo que hizo imposible su análisis bajo esta técnica.

Los desplazamientos químicos observados en los espectros de <sup>1</sup>H-RMN se asignaron de la siguiente manera y en forma general: las señales registradas a campos bajos entre 6.08-7.11 ppm fueron asignadas a los protones aromáticos, los valores de las constantes de acoplamiento para los protones aromáticos de los productos **1d** y **2d** permitieron definirles de la forma mas acertada.

Las señales a campo medio entre 4.38-4.71 ppm se adjudicaron al protón α (1''-C) al carbono del nitrilo. Mientras las señales de los grupos metoxi de los análogos **1**

y **3** aparecieron de 3.91 a 2.95 ppm, los dos protones provenientes del piperonal se observaron para los análogos **2** entre 5.23 – 6.00 ppm. Los desplazamientos químicos observados hacia campos altos se asignaron a los protones del heterociclo de la amina (Figura 26).

**Figura 26.** Espectro de  $^1\text{H}$  RMN del producto **1a**.



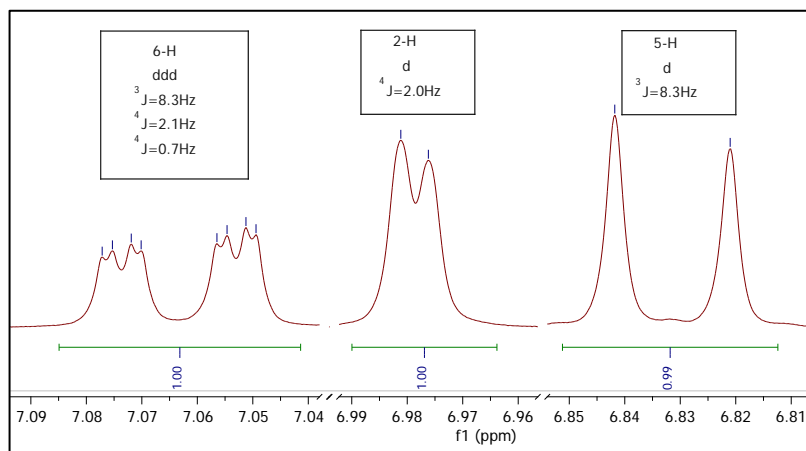
Las señales asignadas a los protones aromáticos se resolvieron mejor para los productos **1d** y **2d**, permitiendo la identificación para **1d** así, la señal del protón 6-H hacia la región de campo mas bajo a 7.06 ppm que resuena como un doble doblete (ddd), fue correlacionada con los protones 2-H ( $^4J = 2.2$  Hz), 5-H ( $^3J = 8.3$  Hz) y 1''-H ( $^4J = 0.7$  Hz), esta última interacción se debe al acoplamiento de largo alcance entre estos protones.

La señal del protón 2-H se presenta a 6.98 ppm como un doblete (d) producto de su interacción con el protón 6-H ( $^4J = 2.0$  Hz) sin mostrar interacción con el protón 5-H ni con el protón 1'-H, contrario a lo observado en el protón 6-H, debido probablemente al grupo metoxilo del carbono 3-C. La señal correspondiente al protón 5-H se presenta a campo mas alto que los demás protones aromáticos a

6.83 ppm como un doblete (d) debido a su interacción con el protón 6-H ( $^3J= 8.3$  Hz).

El producto **2d** presentó un comportamiento similar al producto **1d**, salvo el protón 2-H que aparece como un doblete (dd) debido al protón 6-H ( $^4J= 1.3$  Hz) y al 1'-H ( $^4J= 0.8$  Hz), esta última no observada en el producto **1d** (Figura 27).

**Figura 27.** Espectro de los protones arílicos del producto **1d**.



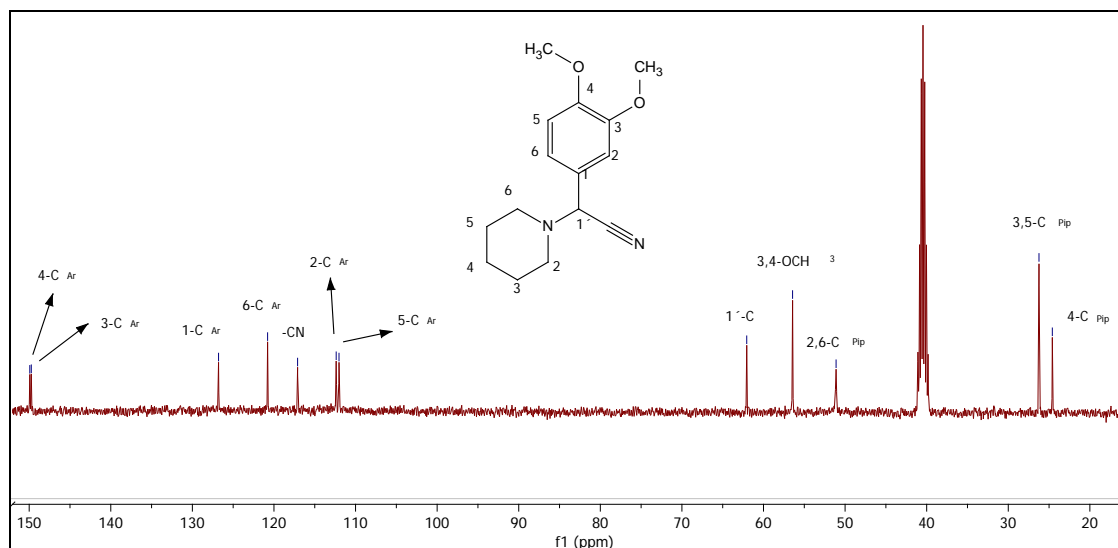
Los protones observados a campos altos y atribuidos a los protones del anillo heterocíclico se mostraron en todos los casos como multipletes. En la Tabla 13 se presenta la recopilación de los resultados obtenidos para los primeros análogos obtenidos asignando a cada señal su protón correspondiente.

**Tabla 13.** Desplazamientos químicos (ppm), multiplicidades y constantes de acoplamiento (*J*, Hz) de los protones en los espectros de <sup>1</sup>H-RMN de los compuestos **1** - **3**.

<b>Desplazamientos químicos (ppm) multiplicidad y constantes de acoplamiento J (Hz)</b>													
	Protones arílicos			Protones sustituyentes			Protones heterocíclicos						Protón α
	2-H	5-H	6-H	3-OCH <sub>3</sub>	4-OCH <sub>3</sub>	5-OCH <sub>3</sub>	2-H	6-H	3-H	5-H	-NCH <sub>3</sub>	4-H	1'-H
<b>1a</b>	6.21-6.12 m			2.95 s		--	1.72-1.54 m		0.79-0.64 m		--	0.59 d 5.2	4.38 s
<b>1c</b>	6.26-6.13 m			2.95 s		--	1.68-1.64 m	1.63-1.52 m	2.79 sa		--	--	4.43 s
<b>1d</b>	6.98 d 2.0	6.83 d 8.3	7.06 ddd 8.3,2.1,0.7	3.91 - 3.90 m		--	2.62-2.46 m				2.30 s	--	4.79 s
<b>2a</b>	6.16-6.08 m			5.24 s	--	--	1.70 - 1.52 m		0.77 - 0.62 m		--	0.58 d 5.1	4.36 s
<b>2b</b>	6.16-6.08 m			5.23 s	--	--	1.78-1.71 m	1.69-1.63 m	0.92 m		--	--	4.51 s
<b>2c</b>	6.18-6.09 m			5.24 s	--	--	1.61-1.53 m	1.74-1.64 m	2.83-2.72 m		--	--	4.43
<b>2d</b>	6.97 dd 1.3,0.8	6.79 d 8.0	7.00 ddd 8.0,1.8,0.8	6.00 s	--	--	2.74-2.21 m				--	4.73 s	
<b>3a</b>	6.78 s	--	6.78 s	3.89 s	3.86 s	3.89 s	2.58-2.49 m		1.70-1.58 m		--	1.48 dd 10.8,5.2	4.77 s
<b>3b</b>	6.73 d 0.4	--	6.73 d 0.4	3.89 s	3.86 s	3.89 s	2.69-2.65 m		1.89-1.82 m		--	--	4.99 s
<b>3c</b>	6.77 s	--	6.77 s	3.89 s	3.86 s	3.89 s	2.71-2.46 m		3.82-3.69 m		--	--	4.77
<b>3d</b>	6.73 d 0.5	--	6.73 d 0.5	3.89 s	3.86 s	3.89 s	2.81-2.18 m				--	4.79	

Los espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN de los productos mostraron correlación entre sí, presentando a valores entre 58.0 y 66.0 ppm al carbono directamente unido al nitrilo ( $1^{\circ}\text{-C}$ ). Además se encuentra en una zona entre 115.0 y 117.5 ppm el carbono del fragmento nitrílico (CN). Los carbonos del anillo aromático se ubican en una zona variando desde 108.0 y 150.5 ppm (Figura 28).

**Figura 28.** Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN del producto **1a**.



En la Tabla 14 se presenta la recopilación de los resultados obtenidos para los compuestos **1** - **3**.

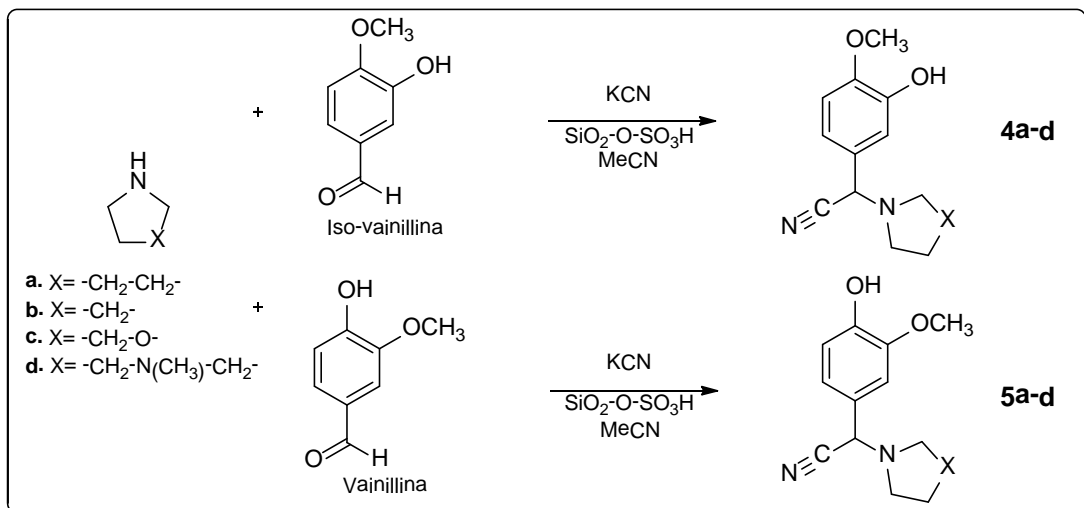
**Tabla 14.** Desplazamientos químicos (ppm) de los carbonos en los espectros de  $^{13}\text{C}$ -RMN de los compuestos **1** - **3**.

Desplazamientos químicos de los carbonos ( ppm)																	
	Carbonos fenólicos						Carbonos sustituyentes			Carbon o $\alpha$	Carbon o nitrílico	Carbonos heterocíclicos					
	1-C	2-C	3-C	4-C	5-C	6-C	3-OCH <sub>3</sub>	4-OCH <sub>3</sub>	5-OCH <sub>3</sub>	1'-C	-CN	2-C	3-C	4-C	5-C	6-C	-NCH <sub>3</sub>
<b>1a</b>	126.8	112.4	149.0	149.9	112.0	120.8	56.4	56.4	--	62.1	117.1	51.1	26.2	24.6	26.2	51.1	--
<b>1c</b>	125.9	112.4	149.8	150.1	112.2	121.1	56.5	56.5	--	66.9	117.0	50.4	61.6	--	61.6	50.4	--
<b>1d</b>	125.4	110.6	149.4	149.2	110.7	120.3	55.8	55.9	--	61.8	115.5	54.8	54.8	54.8	54.8	54.8	45.9
<b>2a</b>	128.4	108.9	148.6	148.4	108.9	121.9	102.4	--	--	62.0	116.9	51.1	26.2	24.6	26.2	51.1	--
<b>2b</b>	129.3	109.0	148.6	148.4	108.8	121.8	102.3	--	--	58.5	117.6	50.6	23.8	--	23.8	50.6	--
<b>2c</b>	127.5	109.0	148.7	148.6	109.0	122.3	102.4	--	--	66.8	116.8	50.4	61.5	--	61.5	50.4	--
<b>2d</b>	126.8	108.2	148.2	148.2	108.1	121.5	101.5	--	--	61.7	115.4	54.8	54.8	--	54.8	54.8	45.9
<b>3a</b>	129.2	104.5	153.3	137.9	153.3	104.5	56.2	60.9	56.2	63.1	115.7	50.9	25.8	23.9	25.8	50.9	--
<b>3b</b>	129.8	104.5	153.4	138.0	153.4	104.5	56.2	59.5	56.2	60.9	116.2	50.3	23.5	--	23.5	50.3	--
<b>3c</b>	127.9	104.7	153.4	136.1	153.4	104.7	66.6	60.8	66.6	62.4	115.1	49.9	56.1	--	56.1	49.9	--
<b>3d</b>	128.5	104.7	153.4	138.1	153.4	104.7	56.2	60.9	56.2	62.1	115.4	54.8	54.8	54.8	54.8	54.8	45.9

### 9.3 PREPARACIÓN DE LOS HÍBRIDOS $\alpha$ -AMINONITRILOS **4** y **5**.

Usando las condiciones que llevaron a la obtención de los análogos ya presentados, se emplearon los nuevos precursores vainillina e isovainillina como compuestos carbonílicos y se varió nuevamente el fragmento amínico entre piperidina, pirrolidina, morfolina y N-metilpiperazina como aminas secundarias, lo cual permitió la obtención de seis nuevos híbridos al alcaloide girsenosina (Esquema 13).

**Esquema 13.** Reacción de Strecker para la obtención de los  $\alpha$ -aminonitrilos **4** y **5**.



El procedimiento seguido para la obtención de los análogos siguió los mismos lineamientos desarrollados previamente. Los métodos de purificación llevados a cabo para las masas de reacción anteriores no brindaron rendimientos aceptables; al usar la alúmina, la cual para los precursores anteriores habían dado resultados bajos, no permitió la recuperación del producto deseado. Para solventar este inconveniente se realizaron recristalizaciones consecutivas en metanol que permitieron la purificación de los productos pero afectaron en algún grado el rendimiento reportado. Debido a los rendimientos obtenidos al emplear las

diferentes fuentes de cianuro, para los análogos **4a-d** y **5a-d** se empleó solo la fuente de cianuro inorgánica. Los productos **4a-d** y **5a-d** fueron obtenidos como sólidos cristalinos blancos con rendimientos entre 63 y 76% (Tabla 15).

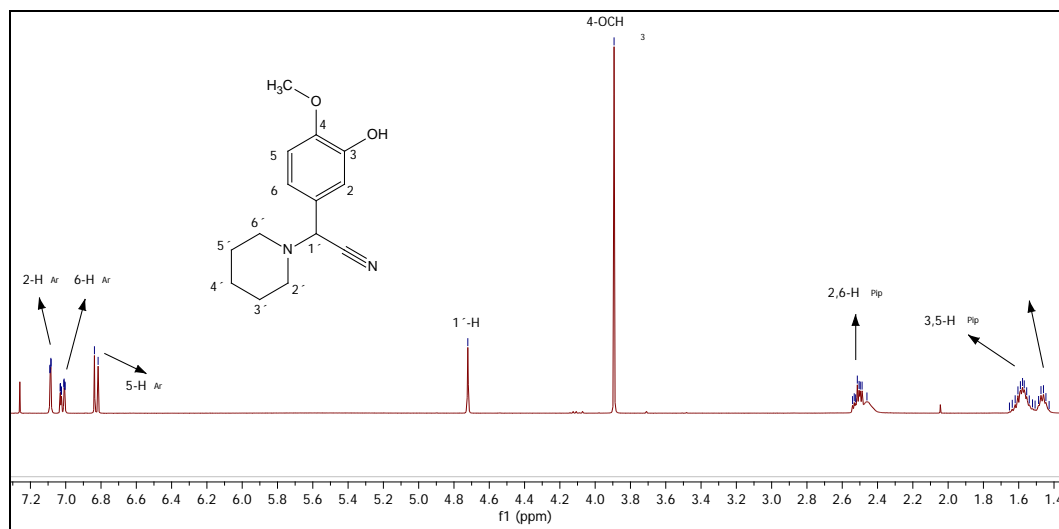
**Tabla 15.** Propiedades y rendimientos de los productos **4a-d** y **5a-d**.

Molécula	Estado físico	Color	P.F. (°C)	Rend. %	IR
				KCN	CN (cm <sup>-1</sup> )
<b>4a</b>	Sólido	Blanco	93-95	70	2232
<b>4b</b>	Sólido	Blanco	88-90	71	2220
<b>4c</b>	Sólido	Blanco	142-143	76	2238
<b>4d</b>	Sólido	Blanco	167-169	63	2232
<b>5a</b>	Sólido	Blanco	133-135	72	2230
<b>5b</b>	Sólido	Blanco	118-119	71	2217
<b>5c</b>	Sólido	Blanco	107-109	72	2236
<b>5d</b>	Sólido	Blanco	151-153	61	2247

Las estructuras de las nuevas moléculas híbridas fueron confirmadas por <sup>1</sup>H-RMN, <sup>13</sup>C-RMN (DEPT 135). Los desplazamientos químicos observados en los espectros de <sup>1</sup>H-RMN se asignaron siguiendo el mismo patrón empleado para los análogos anteriores: a campos bajos entre 6.80-7.10 ppm fueron asignadas a los protones aromáticos. Las señales a campo medio entre 4.30-4.90 ppm se adjudicaron al protón α al carbono del nitrilo 1'-C (N-CH-CN) y la señal del grupo metoxi de estos análogos aparecieron de 3.91 ppm salvo para el análogo **5d** cuyo valor fue de 2.90 ppm.

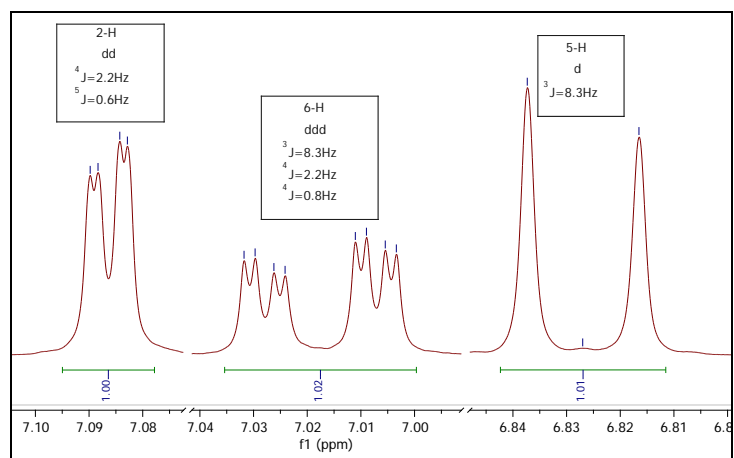
Sólo se observó el protón perteneciente a los análogos en el producto **4c** como una singulete ancho a 5.91 ppm. Los desplazamientos químicos observados hacia campos altos se asignaron a los protones del heterociclo de la amina, donde la señal a campo más bajo fue atribuida al grupo metilo unido al nitrógeno (N-CH<sub>3</sub>) en los productos **4d** y **5c** (Figura 29).

**Figura 29.** Espectro de  $^1\text{H}$  RMN del producto **4a**.



Las señales asignadas a los protones aromáticos se resolvieron para los productos **4** y **5**, permitiendo su identificación de forma a la ya expuesta para los productos **1d** y **2d** (Figura 30).

**Figura 30.** Espectro de los protones arílicos del producto **4a**.



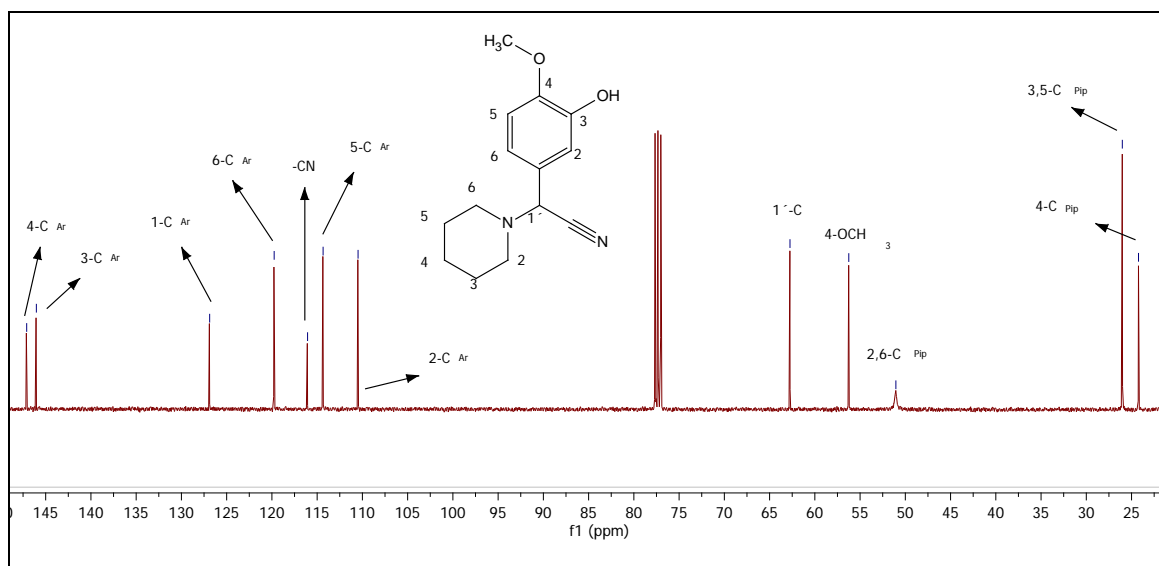
En la Tabla 16 se presenta la recopilación de los resultados obtenidos para los compuestos **4** y **5**.

**Tabla 16.** Desplazamientos químicos (ppm), multiplicidades y constantes de acoplamiento ( $J$ , Hz) de los protones en los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN de los compuestos **4** y **5**.

<b>Desplazamientos químicos (ppm) multiplicidad y constantes de acoplamiento <math>J</math> (Hz)</b>												
	Protones arílicos			Protones		Protones heterocíclicos						Protón $\alpha$
	2-H	5-H	6-H	3-H	4-H	2-H	6-H	3-H	5-H	-NCH <sub>3</sub>	4-H	1'-H
<b>4a</b>	7.09 dd 2.2,0.6	6.83 d 8.3	7.02 ddd 8.3,2.2,0.8	--	3.90 s	2.55 – 2.47 m		1.66 – 1.53 m		--	1.47 dd 11.1,5.5	4.73 s
<b>4b</b>	7.06 d 2.2	6.82 d 8.3	7.00 ddd 8.3,2.2,0.7	--	3.89 s	2.69 – 2.59 m		1.84 – 1.81 m		--	--	4.95 s
<b>4c</b>	7.07 d 2.2	6.84 d 8.3	7.01 ddd 8.3,2.2,0.7	5.91 sa	3.91 s	2.62 – 2.52 m		3.77 – 3.68 m		--	--	4.73 s
<b>4d</b>	7.03 d 2.2	6.82 d 8.3	6.98 ddd 8.3,2.2,0.7	--	3.90 s	2.62 – 2.46 m				2.30 s	--	4.74 s
<b>5a</b>	7.00 d 2.2	6.91 d 8.2	7.04 ddd 8.2,2.1,0.8	3.92 s	--	2.56 – 2.47 m		1.68 – 1.53 m		--	1.48 dd 10.8,5.3	4.75 s
<b>5b</b>	6.98 d 1.8	6.89 d 8.1	7.01 dd 8.1,2.0	3.89 s	--	2.70 – 2.60 m		1.89 – 1.78 m		--	--	4.96 s
<b>5c</b>	6.98 d 2.0	6.90 d 8.2	7.02 ddd 8.2,2.1,0.7	3.91 s	--	2.65 – 2.51 m		3.80 – 3.66 m		--	--	4.75 s
<b>5d</b>	6.02 d 1.7	5.91 d 8.1	5.95 dd 8.2,1.7	2.87 s	--	1.73 – 1.21 m		1.73 – 1.21 m		1.73 – 1.21 m		4.28 s

Los espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN de los productos mostraron correlación entre sí, presentando a valores entre 58.7 y 62.7 ppm al carbono directamente unido al nitrilo (CH-CN), además entre 115.4 y 117.3 ppm se encuentra el carbono del grupo nitrílico observado en las moléculas. Los carbonos del anillo aromático se observaron entre los 148.7 y 110.1 ppm (Figura 30).

**Figura 31.** Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN del producto **4a**.



En la Tabla 17 se presenta la recopilación de los resultados obtenidos para los compuestos **4** y **5**.

**Tabla 17.** Desplazamientos químicos (ppm) de los carbonos en los espectros de  $^{13}\text{C}$ -RMN de los compuestos **4** y **5**.

Desplazamientos químicos de los carbonos ( ppm)																
	Carbonos fenílicos						Carbonos sustituyentes		Carbono $\alpha$	Carbono nitrílico	Carbonos heterocíclicos					
	1-C	2-C	3-C	4-C	5-C	6-C	3-	4-	1'-C	-CN	2'-C	3'-C	4'-C	5'-C	6'-C	-NCH <sub>3</sub>
<b>4a</b>	126.6	110.2	145.7	146.8	114.0	119.4	--	55.9	62.4	115.7	50.7	25.7	23.9	25.7	50.7	--
<b>4b</b>	127.2	110.3	145.7	146.8	114.1	119.2	--	56.0	58.7	116.2	50.1	23.3	--	23.3	50.1	--
<b>4c</b>	125.5	110.4	146.0	147.2	114.2	119.7		56.0	61.9	115.4	49.9	66.7	--	66.7	49.9	--
<b>4d</b>	125.9	110.5	146.1	147.3	114.4	119.5	--	56.0	61.5	115.5	54.8	54.8	--	54.8	54.8	45.9
<b>5a</b>	125.3	110.1	146.6	145.9	114.3	120.3	56.1	--	62.7	115.9	51.0	25.8	24.0	25.8	51.0	--
<b>5b</b>	126.1	110.1	146.7	146.0	114.4	120.7	56.0	--	59.1	116.4	50.3	23.8	--	23.8	50.3	--
<b>5c</b>	124.1	110.3	146.9	146.3	114.5	121.2	56.1	--	62.1	115.5	49.9	66.7	--	66.7	49.9	--
<b>5d</b>	124.9	112.6	148.7	148.0	116.3	121.3	56.6		61.4	117.3	55.4	55.4	--	55.4	55.4	--

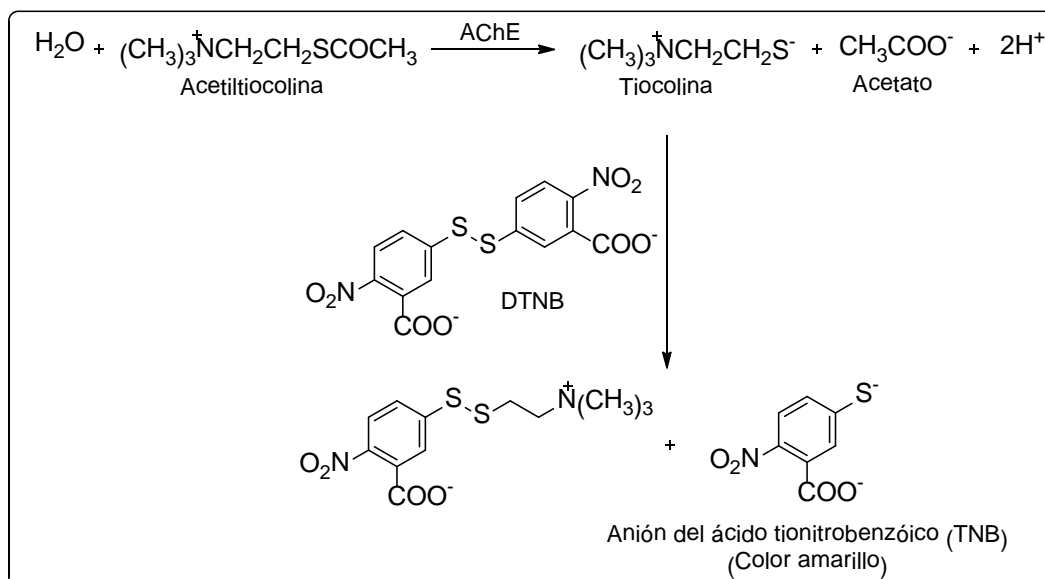
## 10. ENSAYOS DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA

La búsqueda de nuevos modelos moleculares que presenten actividad inhibitoria frente a la AChE se presenta como una nueva línea de estudios del LQOBio. Parte de los esfuerzos realizados se presentan en el presente trabajo, a través del diseño y síntesis de nuevos sistemas moleculares y del desarrollo de nuevos protocolos sencillos de evaluación.

### 10.1 ENSAYO DE INHIBICIÓN *IN VITRO* DE LA ENZIMA AChE BOVINA

El método más ampliamente utilizado para la determinación de la actividad de la acetilcolinesterasa, elaborado por Ellman en 1961, se basa en un ensayo colorimétrico, donde en lugar de utilizar acetilcolina, compuesto que no presenta propiedades espectroscópicas características, se utiliza la acetiltiocolina como sustrato alternativo (Esquema 14).

**Esquema 14.** Inhibición de la enzima acetilcolinesterasa.

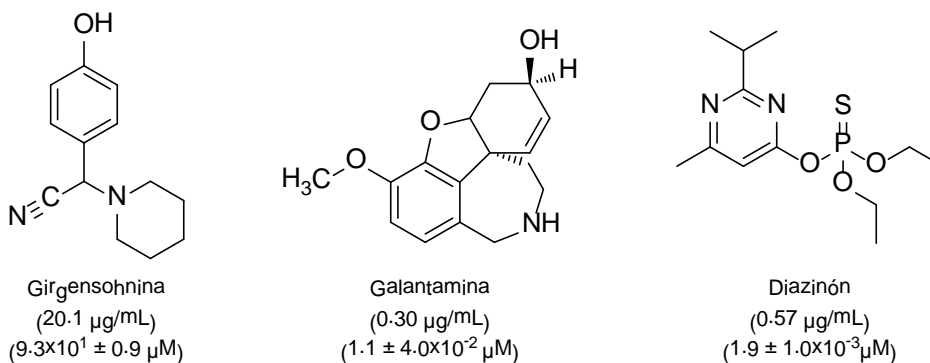


Para permitir su detección por medio de la absorción de la luz se acopla una reacción a la conversión. La acetiltiocolina se hidroliza por medio de la AChE

produciendo sus respectivos compuestos tiol. Éste es interceptado por el ácido 5,5´ditiobis [2-nitrobenzóico] (DTNB) formando un enlace bisulfuro y liberando el anión TNB de color amarillo. La formación de este compuesto se monitorea midiendo la absorción de la mezcla reaccionante a una longitud de onda definida.

El ensayo para medir la actividad inhibitoria de la enzima AChE llevado a cabo en el LQOBio fue adaptado del método de Ellman y del descrito por López y col.<sup>145</sup> en microplacas de 96 pocillos. La actividad enzimática se determinó mediante la lectura espectrofotométrica a 412 nm de la mezcla realizada entre muestra (disoluciones seriadas en buffer PBS), enzima AChE (0.25 mM en buffer fosfato) y buffer PBS (8 mM K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2.3 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.15 M NaCl, 0.05% Tween 20, pH 7.6). Las placas fueron incubadas por 30 minutos a temperatura ambiente y luego se añadió a cada pocillo una solución de sustrato (0.1 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.5 M ácido 5,5-ditiobis-[2-nitrobenzóico] (DTNB), 0.6 mM ioduro de acetilcolina (ACTI) en agua destilada, pH 7.5). Los compuestos fueron evaluados por triplicado en disoluciones seriadas a partir de 100 µg/mL. Como inhibidores de referencia fueron empleados el fármaco galantamina y el insecticida diazinón (Figura 32).

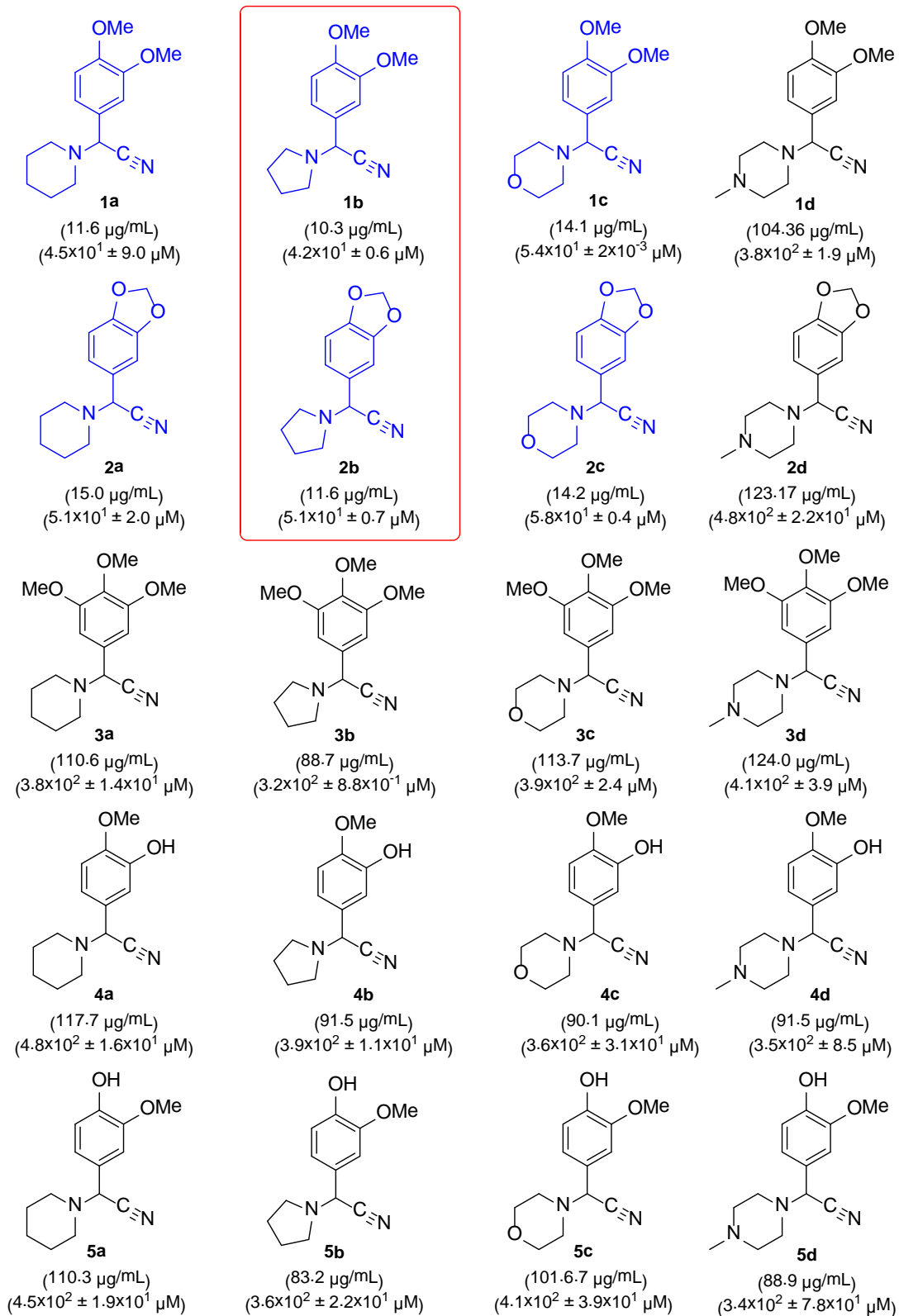
**Figura 32.** Resultados de los inhibidores de la AChE (IC<sub>50</sub>) de referencia.



Los resultados expresados como valores de IC<sub>50</sub>, junto con las estructuras moleculares de los compuestos evaluados, se resumen en la Figura 33.

<sup>145</sup>LOPEZ, S., BASTIDA, J., VILADOMAT, F. and CODINA, C. "Acetylcholinesterase Inhibitory Activity of Some Amaryllidaceae Alkaloids and Narcissus Extracts". En: Life Sci., Vol. 71 (2002); p. 2521-2529.

**Figura 33.** Resultados de inhibición de la enzima AChE ( $IC_{50}$ ) de los productos **1** - **5**.



El ensayo de inhibición de la AChE mostró que todos los compuestos son activos al presentar algún grado de inhibición durante el experimento. Modificaciones en el tamaño y tipo de heterociclo nitrogenado mejoraron la inhibición de la AChE en toda la serie. De los 20 compuestos evaluados, seis moléculas (**1a-c** y **2a-c**) produjeron una inhibición mayor que el alcaloide natural. Las moléculas **1b** y **2b**, con el fragmento pirrolidin-1-il como sustituyente mostraron la mayor inhibición entre todas las moléculas sintetizadas y evaluadas. Cabe destacar que todas las moléculas en las que se empleó esta amina heterocíclica, variando el precursor carbonílico, produjeron los mejores resultados durante el experimento.

Al emplear como precursor amínico la N-metilpiperazina los mejores valores de inhibición se obtuvieron con los productos **4d** y **5d** al encontrar valores  $IC_{50}$  de 91.5 y 88.9  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente. Para este mismo grupo de moléculas se observó que al remplazar el grupo metoxi ( $-\text{OCH}_3$ ) por el grupo  $-\text{OH}$ , capaz de formar un puente de hidrógeno, los valores de  $IC_{50}$  presentaron una disminución considerable.

## **10.2 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD LARVICIDA DE LOS ANÁLOGOS **1a-c** Y **2a-c**.**

El dengue se considera una de las enfermedades más importantes que afectan a la población humana. La falta de una vacuna que confiera inmunidad permanente a los cuatro serotipos del arbovirus y la inexistencia de fármacos para tratar esta dolencia han posicionado a las actividades de control del mosquito *A. aegypti* principal portador del virus, como el mecanismo más utilizado en la lucha contra la enfermedad. En este sentido, la búsqueda de nuevos insecticidas resulta una prioridad debido a que las poblaciones de este vector han desarrollado a través de los años resistencia a los productos tradicionalmente aplicados para la disminución de criaderos y de adultos de este mosquito.

Dentro de los mecanismos de acción de estos insecticidas el estudio de sistemas inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa ha permitido obtener compuestos capaces de afectar la transmisión de impulsos nerviosos al acumular acetilcolina en el tejido neuromuscular del insecto. La búsqueda de moléculas más efectivas que reduzcan la dependencia a compuestos organofosforados y piretroides y que inhiban a la AChE se ha estimulado gracias al incremento de poblaciones con tolerancia a los pesticidas actualmente usados.

El estudio de nuevas entidades químicas inspiradas en moléculas naturales con actividad inhibitoria frente a la AChE e insecticida, llevó a la evaluación de análogos estructurales del alcaloide cianogénico girgensohnina extraído de la especie vegetal *Girgensohnia oppositiflora* (Amaranthaceae), compuesto relacionado con la defensa de estas plantas, probablemente inhibiendo la AChE en los insectos. Para tal fin se diseñó, desarrolló y evaluó un protocolo de bioensayos *in vivo*, para su evaluación por parte de nuestro laboratorio.

### **10.2.1 Establecimiento y mantenimiento de una colonia de mosquitos del género *Aedes aegypti***

Este protocolo se diseñó y desarrolló con la colaboración del Doctor Jonny Duque, entomólogo y profesor de la Facultad de Salud de la UIS. El material para iniciar la colonia, obtenido como huevos sin eclosionar, y la identificación de la especie corrió por cuenta del Dr. Duque. Los procesos para los bioensayos siguieron los estándares de la World Health Organization (WHO).<sup>146</sup>

#### **Condiciones experimentales**

La colonia de *A. aegypti* empleada para la evaluación de los análogos se mantuvo permanentemente en un insectario sin climatizar debido a las condiciones

---

<sup>146</sup>World Health Organization. "Vector resistance to pesticides". Geneva; 1992. (WHO-Technical Report Series, 818). En: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/>

favorables de humedad ( $80 \pm 5\%$ ) y temperatura que presenta la ciudad de Bucaramanga y que favorecen la proliferación del mosquito. Se emplearon técnicas en el proceso de cría que corresponden con aspectos de la biología de este insecto en su medio natural<sup>147</sup> (Figura 34).

**Figura 34.** Establecimiento y mantenimiento de una colonia de mosquitos *Aedes aegypti*.



**a) Adultos:** Los adultos fueron alimentados con una solución de miel del 10 al 20% en un recipiente de vidrio de 100 mL de capacidad donde se introdujo una pieza de papel filtro por el que la solución asciende por capilaridad quedando a disposición de los mosquitos en toda su superficie. Las hembras de esta especie, que necesitan obtener sangre para la producción

<sup>147</sup> ALARCÓN, P.; DELACOUR, S.; PINAL, R.; RUIZ, I.; MUÑOZ, A. BENGEOA, M.; ERITJA, R. y LUCIENTES, J. "Establecimiento y Mantenimiento de una Colonia Autóctona Española de *Aedes (Stogomyia) Albopictus* Skuse, 1894, (Diptera Culicidae) en Laboratorio". En: *Rev. Ibero-Latinoam. Parasitol.*, Vol. 69 (2010); p. 140-148.

de huevos, muestran una periodicidad bimodal con un pico en la mañana temprano y otro al atardecer.

- b) Huevos:** Para recoger los huevos, producto de la puesta de las hembras grávidas, se usan recipientes plásticos de 100 mL cubiertos internamente con papel filtro y agua Brisa<sup>®</sup> comercial. Se añaden porciones pequeñas de alimento NutrafinBasixcomercial, para estimular la ovoposición de las hembras en estos recipientes y se mantienen los dispositivos en la jaula por espacio de una semana para permitir el proceso de maduración de los embriones.
- c) Larvas:** En el laboratorio las larvas se mantienen en contenedores plásticos de 40 cm de largo, 20 cm de ancho y 6 cm de alto y se alimentan con NutrafinBasix cada 6 días. Cuando las larvas alcanzan un estadio pupal (de seis a ocho días contados desde que emerge la larva instar 1 hasta que muda a pupa) se colocan en un recipiente con agua en el insectario hasta que alcanzan su desarrollo como mosquito.
- d) Pupas:** El periodo pupal no requiere alimentación y la duración de su desarrollo está relacionada con la temperatura del ambiente donde se desarrolla, además de la densidad de individuos en el recipiente contenedor.

### **10.2.2 Ensayo de actividad insecticida sobre larvas del mosquito *A. aegypti***

Se emplearon larvas entre tercer y cuarto instar y se expusieron a siete concentraciones diferentes, con cuatro replicas más su tratamiento control. Las concentraciones fueron colocadas en recipientes plásticos con DMSO al 1% y agua mineral, alcanzando un volumen final de 100 mL. Se realizaron dos lecturas de mortalidad a 24 y 48 horas posteriores al experimento a una temperatura de 23°C y humedad relativa de 80% (Tabla 18).

**Tabla 18.** Ensayo preliminar de los análogos.

Análogo	Concentraciones (ppm)									48h.
	1000	300	270	180	140	70	60	45	25	control
<u>1a</u>	0	0	--	--	--	--	--	--	5+	5+
<u>2a</u>	--	--	0	0			3+			5+
<u>1b</u>	--	--	--	--	0	5+	--	5+	--	5+
<u>2b</u>	--	--	0	0			1+	--	--	5+
<u>1c</u>	--	--	--	--	0	5+	--	5+	--	5+
<u>2c</u>	--	--	--	--	0	5+	--	5+	--	5+

Convenciones: (--) Concentración no evaluada; (+) Número de larvas vivas; (0) Cero larvas vivas.

Al analizar los resultados de los bioensayos se encontró que todos los análogos evaluados mostraron actividad larvicida a concentraciones menores a los 140 ppm y se seleccionó el compuesto 1a para su evaluación bajo condiciones más específicas y limitadas. Para esta molécula se evaluaron cinco concentraciones: 150, 130, 100, 85 y 55 ppm, se realizaron cuatro replicas por concentración y un control, se emplearon 20 larvas por pote y se alcanzó un volumen final de 100 mL (Tabla 19).

**Tabla 19.** Condiciones de evaluación del compuesto 1a.

Concentraciones	Condición	
<b>150 ppm</b>	Replicas por concentración	4
<b>130 ppm</b>	Control por concentración	1
<b>100 ppm</b>	Volumen final por pote (mL)	100
<b>85 ppm</b>	Larvas por pote	20
<b>50 ppm</b>	Tiempo del experimento (h)	48

La calibración con el dimetilsulfoxido (DMSO) demostró que el empleo de este codiluyente en un porcentaje menor al 1% en relación con el volumen total de 100 mL utilizados en los bioensayos no contribuye con la mortalidad de las larvas. La evaluación de la acción de este disolvente se hace imprescindible ya que en concentraciones mayores actúa como un inhibidor de la AChE. En la literatura no se encuentran estudios recientes en los que se evalúen moléculas diseñadas y sintetizadas frente a cualquiera de los estadios larvales, pupal o adulto de este vector. Los estudios encontrados evalúan la acción de aceites esenciales y solo algunos se centran en la identificación de la molécula o conjunto de moléculas responsables de esta acción.

Para análisis de las concentraciones letales (CL) fue empleado el modelo Probit<sup>148</sup> el cual tiene en cuenta el número de larvas afectadas por producto empleado durante dos tiempos de evaluación, que para este ensayo fueron de 24h y 48h (Tabla 20).

**Tabla 20.** Resultados del análisis bajo modelo Probit del análogo **1a**.

	<b>24h</b> (Límites de confianza)	<b>48h</b> (Límites de confianza)
LC <sub>50</sub>	88.12 ppm (83.43 – 94.74)	87.47 ppm (82.38 – 94.82)
LC <sub>99</sub>	147.54 ppm (125.30 – 210.54)	155.57 ppm (128.63 – 243.93)
χ <sup>2</sup>	0,58	7,14
AI	10,39 ± 2,01	9,30 ± 1,96

Los resultados de los bioensayos insecticidas *in vivo* y bajo condiciones de laboratorio demostraron que, en el estadio larval, la especie *A. aegypti* es

<sup>148</sup>FINNEY, D.J. "Probit analysis". Cambridge (UK): Cambridge University Press; 1971.

susceptible ante el empleo de la molécula **1a** (con IC<sub>50</sub> de 11.6 µg/mL) como insecticida.

La letalidad larval debida a la acción de la molécula **1a** se observó después de las 4 horas de su aplicación sobre los potes del ensayo, tiempo durante el cual también se observaron modificaciones morfológicas como engrosamiento, reducción de tamaño y oscurecimiento, resultado en la muerte de las larvas que las presentaron. Las larvas que no se vieron afectadas durante el experimento emergieron como adultos normales dentro de los parámetros observables.

## 11. CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta los objetivos logrados en la presente tesis de maestría se puede concluir que:

Se consiguió el diseño de 14 nuevas moléculas  $\alpha$ -aminonitrilas incorporando fragmentos con reportada acción biológica, a través de la aplicación del principio de hibridación molecular.

La realización del cribado *in silico*, utilizando como criterio seleccionador varios descriptores moleculares relacionados con las propiedades ADMET, mostró que todas las moléculas diseñadas presentan perfiles farmacocinéticos adecuados, convirtiéndolas en blancos atractivos para su desarrollo experimental.

Al emplear modificaciones sobre la reacción catalítica de Strecker de tres componentes se desarrolló un novedoso protocolo propio que consiste en utilizar el sistema “verde” acetona cianhídrica (KCN)/ácido clorosulfónico soportado en gel de sílice que brinda  $\alpha$ -aminonitrilos con buenos rendimientos.

Usando las condiciones de reacción y el sistema catalítico estudiado fue posible el acceso sintético a las 20 moléculas híbridas diseñadas y seleccionadas *in silico*, empleando una reacción “one-pot”, cuya formación se realiza bajo las normas de la química sostenible.

Gracias a la simplicidad, eficacia y forma económica de la reacción de Strecker bajo las condiciones encontradas se hizo posible obtener cantidades considerables de producto con las cuales se realizaron bioensayos enzimáticos frente a la AChE y de actividad insecticida frente a las larvas de los mosquitos del género *A. aegypti*.

El ensayo preliminar de inhibición de la enzima AChE mostró que todos los híbridos sintetizados son activos. Se destacan, sobremanera, las moléculas (compuestos **1a-c**, **2a-c** y **3a-c**), cuyos índices de inhibición ( $IC_{50}$ ,  $\mu\text{g/mL}$ ) fueron mejores a los obtenidos por el alcaloide natural, permiten proponerlos como compuestos líderes en el desarrollo de nuevos inhibidores de AChE.

Los resultados de los bioensayos *in vivo* de actividad insecticida, bajo condiciones de laboratorio demostraron que, en el estadio larval, la especie *A. aegypti* es susceptible ante el empleo de seis productos evaluados (**1a-c**, **2a-c** y **3a-c**), los cuales mostraron actividad larvicida a concentraciones entre 140 y 25 ppm.

La determinación de las concentraciones letales producto de la acción de la molécula **1a** sobre larvas de *A. aegypti* brindó valores de  $LC_{50}$  (límites de confianza) de 88.12 (83,43– 94,74) y 147.54 ppm (125,30 – 210,54); a las 24 y 48 horas respectivamente y  $LC_{99}$  de 87.47 (82,38 – 94,82) y 155.57 ppm (128,63 – 243,93), a las 24 y 48 horas respectivamente, con lo que se confirman las hipótesis y predicciones realizadas con base en el diseño de los análogos, cribado virtual, síntesis y valores de inhibición de la AChE.

## BIBLIOGRAFIA

1. GOTOR, V. "Biocatalysis Applied to the Preparation of Pharmaceuticals". En: *Org. Proc. Res. & Develop.* Vol. 6 (2002); p. 420-426.
2. MATIER, W.; OWENS, D. and COMER, W. T. "Antihypertensive Agents. Synthesis and Biological Properties of 2-Amino-4-aryl-2-imidazoles". En: *J. Med. Chem.* Vol. 16 (1973); p. 901-908.
3. ORHAN, I. and SENNER, B. "Acetylcholinesterase Inhibitors from Natural Resources". En: *FABAD J. Pharm. Sci.* Vol. 28 (2003); p. 51–58.
4. MALI, S. and BORGES R. "Phenolics, fibre, alkaloids, saponins, and cyanogenic glycosides in a seasonal cloud forest in India". En: *Biochemical Systematics and Ecology.* Vol. 31 (2003); p. 1221–1246.
5. ROBERTS, M. and WINK, M. "Alkaloids; Biochemistry, ecological and medicinal applications". New York: Plenum Press. 1998; p. 1-17, 159-191.
6. PICHERSKY, E. and GANG, D. R. "Genetics and Biochemistry of Secondary Metabolites in Plants: An Evolutionary Perspective" En: *Trends in Plants Science.* Vol. 5 (2000); p. 439-445.
7. CARRETERO, M. E. "Alcaloides: Aspectos Generales". En: *Panor. Act. Med.* Vol. 25 (2001); p. 222-227.
8. Alkaloids (Feb. 2012). En: <http://www.sciencedirect.com>
9. Secondary Metabolites (Sep. 2011). En: <http://www.sciencedirect.com>
10. FATTORUSSO, E. and TAGLIALATELA-SCAFATI, O. "Modern Alkaloids: Structure, Isolation, Synthesis and Biology". Weinheim, 2008. WILEY-VCH; p. 3-23.
11. WINK, M. "The Role Of Quinolizidine Alkaloids In Plant–Insects Interaction". Chapter 5, Heidelberg, WATERMAN P. Ed. IV. (1992); p. 197–239.

12. WINK, M. "Quinolizidine Alkaloids: Biochemistry, Metabolism, and Function in Plant Cell Suspension Cultures: Induction and Degradation". En: *PlantaMedica: Review*. (1987); p. 509-514.
13. POULTON, J. "Cyanogenesis in Plants". En: *Plant Physiol.* Vol. 94 (1990); p. 401-405.
14. WAGNER, U. G.; HASSLACHER, M.; GRIENGL, H.; SCHWAB, H. and KRATKY, C. "Mechanism of Cyanogenesis: The Crystal Structure of HydroxynitrileLyase from *HeveaBrasiliensis*". En: *Structure*, Vol. 4 (1996); p. 811-822.
15. MILLER, J. M. and CONN, E. E. "Metabolism of Hydrogen Cyanide by Higher Plants" En: *Plant Physiol.*, Vol. 65 (1980); p. 1199-1202.
16. KAKES, P. "Properties and Functions of the Cyanogenic System in Higher Plants". En: *Euphytica.*, Vol. 48 (1990); p. 25-43.
17. ZAGROBELNY, M.; BAK, S. and MØLLER, B. L. "Cyanogenesis in Plants and Arthropods" En: *Phytochemistry*. Vol. 69 (2008); p. 1457–1468.
18. ANDERSEN, L.; ADSERSEN, A. and JAROSZEWSKI, J. W. "Cyanogenesis of *PassifloraFoetida*" En: *Phytochemistry*, Vol. 47 (1998); p. 1049-1050.
19. SEIGLES, D. S. "Phytochemistry of *Acacia-sensulato*". En: *Biochem. Syst. Ecol.*, Vol. 31 (2003); p. 845–873.
20. WEBBER, B.; MILLER, R. and WOODROW, I. "Constitutive Polymorphic Cyanogenesis In The Australian Rainforest Tree, *RyparosaKurrangii* (Achariaceae)". En: *Phytochemistry*, Vol. 68 (2007); p. 2068–2074.
21. WITTSTOCK, U. and GERSHENZON, J. "Constitutive Plant Toxins And Their Role In Defense Against Herbivores And Pathogens". En: *Current Opinion in Plant Biology*, Vol. 5 (2002); p. 1-8.
22. ZAGROBELNY, M.; BAK, S.; RASMUSSEN, A.; JØRGENSEN, B.; NAUMANN, C. and MØLLER, B. "Cyanogenicglucosides and plant–insect interactions. Review". En: *Phytochemistry*, Vol. 65 (2004); p. 293–306.

23. NAMBISAN, B. "Strategies For Elimination Of Cyanogens From Cassava For Reducing Toxicity And Improving Food Safety". En: *Food and Chemical Toxicology*, Vol. 49 (2011); p. 690–693.
24. Fotografías cortesía Konzo.info. Facultad de Medicina de la Universidad de Bergen, Alemania.
25. OKAFOR, P.; OKOROWKWO, C. and MADUAGWU, E. "Occupational And Dietary Exposures Of Humans To Cyanide Poisoning From Large-Scale Cassava Processing And Ingestion Of Cassava Foods". En: *Food and Chemical Toxicology*, Vol. 40 (2002); p. 1001–1005.
26. VIJAYARAGHAVAN, R. and BHATTACHARYA, R. "Effect of sub-acute oral cyanide administration in rats: Protective efficacy of alpha-ketoglutarate and sodium thiosulfate" *Chemico-Biological Interactions.*, Vol. 156 (2005); p. 1–12.
27. AIKMAN, K.; BERGMAN, D.; EBINGER, J. and SEIGLER, D. "Variation of Cyanogenesis in Some Plant Species of the Midwestern United States". En: *Biochem. Syst. Ecol.*, Vol. 24 (1996); p. 637-645.
28. MALI, S. and BORGES, R. M. "Phenolics, Fibre, Alkaloids, Saponins, and Cyanogenic Glycosides in a Seasonal Cloud Forest in India". En: *Bioc. Sys. Ecol.*, Vol. 31 (2003); p. 1221–1246.
29. GREGORY, R. "Cyanohydrins in Nature and the Laboratory: Biology, Preparations, and Synthetic Applications". En: *Chem. Rev.*, Vol. 99 (1999); p. 3649-3682.
30. MORANT, A.; JØRGENSEN, K.; JØRGENSEN, C.; PAQUETTE, S.; SÁNCHEZ-PÉREZ, R.; LINDBERG, B. and BAK, S. "β-Glucosidases as Detonators of Plant Chemical Defense" En: *Phytochemistry*, Vol. 69 (2008); p. 1795–1813.
31. ZAGROBELNY, M.; BAK, S.; RASMUSSEN, V.; NAUMANN, C. M.; JØRGENSEN, B. and MØLLER, B. L. "Cyanogenic Glucosides and Plant–Insect Interactions". En: *Phytochemistry*, Vol. 65 (2004); p. 293–306.
32. RASMANN, S. and AGRAWAL, A. "Plant Defense Against Herbivory: Progress In Identifying Synergism, Redundancy, And Antagonism Between Resistance Traits". En: *Curr Opin. Plant Biol.*, Vol. 12 (2009); p. 1–6.

33. LIEBEREI, R.; BIEHL, B.; GIESEMANN, A. and JUNQUEIRA, N. "Cyanogenesis Inhibits Active Defense Reactions in Plants". En: *Plant Physiol.*, Vol. 90 (1989); p. 33-36.
34. DEWICK, P. "Medicinal Nat. Products", New York, Wiley; Second edition, (2001); cap. 6.
35. SWAIN, E.; PING-LI, C. and POULTON, J. E. "Development of the Potential for Cyanogenesis in Maturing Black Cherry (*Prunus serotina Ehrh.*) Fruits". En: *Plant Physiol.*, Vol. 98 (1992); p. 1423-1428.
36. MILLER, R.; MCCONVILLE, M. and WOODROW, I. "Cyanogenic Glycosides From The Rare Australian Endemic Rainforest Tree *Clerodendrum Grayi* (Lamiaceae)". En: *Phytochemistry*, Vol. 67 (2006), p. 43–51.
37. GIRALD, W.; COLLIN, A. AND IZQUIERDO, M. "Toxicity And Delivery Methods For The Linamarase/ Linamarin/ Glucoseoxidase System, When Used Against Human Glioma Tumors Implanted in The Brain Of Nude Rats". En: *Cancer Letters*, Vol. 313 (2011); p. 99–107.
38. AKGUL, Y.; FERREIRA, D.; ABOURASHED, E. and KHAN, I. "Phytochemical Communication: Lotaustralin from *Rhodiola Rosea* Roots". En: *Fitoterapia*, Vol. 75 (2004); p. 612– 614.
39. JOHANSEN, H.; RASMUSSEN, L.; OLSEN, C.; CHRISTIAN, H. and HANSEN, B. "Rate Of Hydrolysis And Degradation Of The Cyanogenic Glycoside – Dhurrin – In Soil". En: *Chemosphere*, Vol. 67 (2007); p. 259–266.
40. BURNS, A.; BRADBURY, J.; CAVAGNARO, T. and GLEADOW, R. "Total Cyanide Content Of Cassava Food Products In Australia". En: *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol. 25 (2012); p. 79–82.
41. WAJANT, H.; FÖRSTERB, S.; BIITTINGER, H.; EFFENBERGERB, F. and PFIZENMAIER, K. "Acetone Cyanohydrin Lyase from *Manihot Esculenta* (Cassava) is Serologically Distinct from other Hydroxynitrile Lyases" En: *Plant Science*, Vol. 108 (1995); p. 1-11.
42. JONES, D. "Why Are so Many Food Plants Cyanogenic?". En: *Phytochemistry*, Vol. 47 (1998); p. 155-162.

43. LOYOLA, V.; SÁNCHEZ, P.; CANTO, B.; GUTIÉRREZ, L.; GALAZ, R. Y. and MORENO, O. "Biosíntesis de los Alcaloides Indólicos. Una Revisión Crítica". En: *Rev. Soc. Quím. Méx.*, Vol. 48 (2004); p. 67-94.
44. HANLEY, E.; LAMONT, B.; FAIRBANKS, M. and RAFFERTY, C. "Plant Structural Traits and their Role in Anti-Herbivore Defence". En: *Persp. in Plant Ecol., Evol. Syst.* Vol. 8 (2007); p. 157–178.
45. ZAGROBELNY, M. and MØLLER, B. "Cyanogenic Glucosides In The Biological Warfare Between Plants And Insects: The Burnet Moth-Birdsfoot Trefoil Model System". En: *Phytochemistry*, Vol. 72 (2011); p. 1585–1592.
46. GARCÍA, R.; PÉREZ, R.; RODRIGUEZ, C. and SOTO, M. "Toxicity of Alkaloids of *Erythrina Americana* on Larvae of Mosquito *Culex quinquefasciatus*". En: *Rev. Fitotec. Mex.*, Vol. 27 (2004); p. 297-303.
47. THOMPSON, H. J. "Bioactive Foods in Promoting Health: Fruits and Vegetables. Chapter 2: Vegetable and Fruit Intake and the Development of Cancer: A Brief Review and Analysis". Boston. Elsevier, 2010; p. 19-36.
48. OKAMOTO, M.; ONO, M. and BABA, M. "Suppression of cytokine production and neural cell death by the anti-inflammatory alkaloid cepharanthine: a potential agent against HIV-1 encephalopathy". En: *Biochemical Pharmacology*, Vol. 62 (2001); p. 747–753.
49. NAHRSTEDT, A.; LECHTENBERG, M.; BRINKER, A.; SEIGLER, D. and HEGNAUER, R. "4-Hydroxymandelonitrile Glucosides, Dhurrin in *Suckleya suckleyana* and Taxiphillin in *Girgensohnia oppositiflora* (Chenopodiaceae)". En: *Phytochemistry*, Vol. 33 (1993); p. 847-850.
50. VARGAS MÉNDEZ, L.Y. "Diseño racional de rutas para la construcción de nuevas piperidinas C-4 sustituidas con el anillo de la tetrahydro(dihidro)quinolina y sus transformaciones químicas". Tesis doctoral, Universidad Industrial de Santander, 2009.
51. VOET, D. and VOET, J. "Bioquímica". Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana (2006); p. 777-789.

52. MASSOUD, F. and LÉGER, G. "Pharmacological Treatment of Alzheimer Disease". En; *The Canadian Journal of Psychiatry*, Vol. 56 (2011); p. 579-588.
53. JUNG, M. and PARK, M. "Acetylcholinesterase Inhibition by Flavonoids from *Agrimoniapilosa*". *Molecules*, Vol. 12 (2007); p. 2130-2139.
54. SANCHO, E. and ANDREU, E. "In Vivo Inhibition Of Ache Activity In The European Eel *Anguilla Anguilla* Exposed To Technical Grade Fenitrothion". *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, Vol. 120 (1998); p. 389-395.
55. LAZAREVIC-PAŠTI, T.; COLOVIC, M, SAVIC, J.; MOMIC, T. and VASIC, V. "Oxidation of diazinon and malathion by myeloperoxidase". *Pesticide Biochemistry and Physiology*, Vol. 100 (2011); p. 140-144.
56. LEE, J.; LEE, K.; YANG, J.; BAEK, N. and KIM, D. "Acetylcholinesterase Inhibitors from the Twigs of *Vaccinium Oldhami Miquel*". En: *Arch. Pharm. Res.*, Vol. 27 (2004); p. 53-56.
57. NORDMEYER, D. and DICKSON, D. "Biological Activity and Acetylcholinesterase Inhibition by Nonfumigant Nematicides and their Degradation Products on *Meloidogyne Incognita*". En: *Revue. Nématol.*, Vol. 13 (1990); p. 229-232.
58. GARCÍA, A. y GANDÍA, L. "Fronteras en la enfermedad de Alzheimer". Madrid. Universidad Autónoma de Madrid. Cap.7 (2002); p. 120-139.
59. CHAM-KIM, S. and LEE N. "Detoxification of Sarin, an Acetylcholinesterase Inhibitor, by Recombinant, Organophosphorus Acid Anhydrolase" En: *BMB Reports*, Vol. 34 (2001); p. 441-451.
60. RACCHI, M.; MAZZUCHELLI, M.; PORRELLO, E.; LANNI, C; and GOVONI, S. "Acetylcholinesterase inhibitors: novel activities of old molecules". *Pharmacol. Res.* Vol. 50 (2004); p. 441-451.
61. ZHAO, Y.; LI, Y.; WANG S.; and LI, Z. "Design, Synthesis, And Insecticidal Activity Of Novel Neonicotinoid Derivatives Containing N-Oxalyl Groups". En: *Arkivoc*, (2009) (xi) 152-164.
62. NAUEN, R.; EBBINGHAUS-KINTSCHER, U.; SALGADO, V. and KAUSSMANN, M. "Thiamethoxam Is A Neonicotinoid Precursor Converted To Clothianidin In

- Insects And Plants”. En: *Pesticide Biochemistry and Physiology*, Vol. 76 (2003); p. 55–69.
63. Costo del dengue en las Américas supera al del rotavirus.(Feb. 2011)  
[www.scidev.net](http://www.scidev.net).
64. ROEKRING, S. and DUNCAN R. “Induction of apoptosis in dengue virus infected *Aedes aegypti* mosquitoes”. En. *Journal of Invertebrate Pathology*, Vol. 104 (2010); p. 239–241.
65. BASTIDAS, E. y ENRIQUEZ, G. “Caracterización morfológica de palmas de aceite (*Elaeisguineensis* Jacq.) enfermas con pudrición de cogollo en la zona palmera occidental”. En: Tesis de grado, Universidad de Nariño (2008).
66. SANTOS, A. “Análisis de las últimas investigaciones sobre pudrición del cogollo en palma de aceite (*Elaeisguineensis* Jacq)”. En: Tesis especialización en Cultivos Perennes Industriales, Universidad Nacional de Colombia (2010).
67. CAMPANELLA, V., IPPOLITO, A. and NIGRO, F. “Activity of calcium salts in controlling *Phytophthora* root rot of citrus”. En: *Crop Protection*. Vol. 21 (2002); p. 751-756.
68. CHINCHILLA, C. “Manejo integrado de problemas fitosanitarios en palma aceitera *Elaeisguineensis* en América Central”. En: *Manejo integrado de plagas y agroecología*. Vol. 67 (2003); p. 69-82.
69. IHARA, M.; BROWN, I.; ISHIDA, C.; OKUDA, H.; SATTELLE, D. and MATSUDA, M. “Actions of imidacloprid, clothianidin and related neonicotinoids on nicotinic acetylcholine receptors of American cockroach neurons and their relationships with insecticidal potency”. En: *J. Pestic. Sci.*, Vol. 31 (2006); p. 35-40.
70. LAMBERTH, C. “Alkyne chemistry in crop protection”. En: *Bioorg. Med. Chem.*, Vol. 17 (2009); p. 4047-4063.
71. NORTH, M. “Synthesis and Applications of Non-Racemic Cyanohydrins and  $\alpha$ -Amino nitriles”. En: *Tetrahedron*, Vol. 60 (2004); p. 10383-10384.

72. STOUT, D. M.; BLACK, L. A. and MATIER, W. L. "Asymmetric Strecker Synthesis: Isolation of Pure Enantiomers and Mechanistic Implications". En: *J. Org. Chem.*, Vol. 48 (1983); p. 5369-5373.
73. CATIVIELA, C. and ORDÓÑEZ, M. "Recent Progress on the Stereoselective Synthesis of Cyclic Quaternary  $\alpha$ -Amino Acids" En: *Tetrahedron: Asymmetry*, Vol. 20 (2009); p. 1-63.
74. GRÖGER, H. "Catalytic Enantioselective Strecker Reactions and Analogous Synthesis". En: *Chem. Rev.*, Vol. 103 (2003); p. 2795-2827.
75. KATRITZKY, A.; YANG, H. and SINGH, S. "Preparation of Tertiary Alkyl Carbinamines, Propargylamines, and  $\alpha$ -Heteroaryl amines by Ketone-Based Aminoalkylation". En: *J. Org. Chem.*, Vol. 70 (2004); p. 286-290.
76. LAKSHMI, K., MAHENDAR, K., BOJJA, S. and CHOUDARY, B. M. "Synthesis of  $\alpha$ -Amino Nitriles through Strecker Reaction of Aldimines and Cetoimines by Using Nanocrystalline Magnesium Oxide". En: *Tetrahedron*, Vol. 64 (2008); p. 3351-3360.
77. SIPOS, S. and JABLONKAI, I. "One-Pot Reaction of  $\alpha$ -Aminonitriles From Alkyl and Aryl Cyanides: A Strecker Reaction Via Aldimine Alanes". En: *Tetrahedron Lett.*, Vol. 50 (2009); p. 1844-1846.
78. JENNER, G.; SALEM, R. B.; KIM, J. C. and MATSUMOTO, K. "Effect of Pressure on the Strecker Synthesis of Hindered  $\alpha$ -Aminonitriles from Ketones and Aromatic Amines". En: *Tetrahedron Lett.*, Vol. 44 (2003); p. 447-449.
79. RESNICK, L. and GALANTE, R. J. "A Practical Synthesis of 3-Ethyl-1-Norvaline". En: *Tetrahedron: Asymmetry*, Vol. 17 (2006); p. 846-849.
80. HEYDARI, A.; KHAKSAR, S. and TAJBAKHSI, M. "Trifluoroethanol as a Metal-Free, Homogeneous and Recyclable Medium for the Efficient One-Pot Synthesis of  $\alpha$ -Amino Nitriles and  $\alpha$ -Amino Phosphonates". En: *Tetrahedron Lett.*, Vol. 50 (2009); p. 77-80.
81. HARUSAWA, S.; HAMADA, Y. and SHIOIRI, T. "Diethylphosphorocyanidated (DEPC). "A Novel Reagent for the Classical Strecker's  $\alpha$ -Aminonitrile Synthesis". En: *Tetrahedron Lett.*, Vol. 20 (1979); p. 4664-4670.

82. NAKAMURA, S.; SATO, N.; SUGIMOTO, M.; TORU, T. and TETRAH T. "A New approach to Enantioselective Cyanation of Imines with Et<sub>2</sub>AlCN". En: *Tetrahedron: Asymmetry*, Vol. 15 (2004); p. 1513-1517.
83. MARTÍNEZ, R.; RAMÓN, D. and YUS, M. "Catalyst-Free Multicomponent Strecker Reaction in Acetonitrile". En: *Tetrahedron Lett.*, Vol. 46 (2005); p. 8471-8474.
84. VACHAL, P. and JACOBSEN, E. "Structure-Based Analysis and Optimization of Highly Enantioselective Catalyst for the Strecker Reaction". En: *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 124 (2002); p. 10012-10016.
85. SHAABANI, A.; ABBAS, R.; FARHANGI, E. and BADRI, Z. "Silica Sulfuric Acid Promoted the One-Pot Synthesis of Trisubstituted Imidazoles Under Conventional Heating Conditions or Using Microwave Irradiation". En: *Cat. Comm.*, Vol. 8 (2007); p. 1149-1152.
86. HEYDARI, A.; AREFI, A.; KHAKSAR, S. and SHIROODI, R.K. "Guanidine hydrochloride: An active and simple catalyst for Strecker type reaction". En: *J. Mol. Cat. A: Chem.*, Vol. 271 (2007); p. 142-144.
87. RANU, B.; DEY, S.S. and HAJRA, A. "Indium Trichloride Catalyzed One-Step Synthesis of  $\alpha$ -Aminonitriles by a Three-Component Condensation of Carbonyl Compounds, Amines and Potassium Cyanide". En: *Tetrahedron.*, Vol. 58 (2002); p. 2529-2532.
88. DE, K. and GIBBS, A. "Bismuth Trichloride Catalyzed Synthesis of  $\alpha$ -Aminonitriles". En: *Tetrahedron Lett.*, Vol. 45 (2004); p. 7407-7408.
89. DE, S. K. "Cobalt(II) chloride catalyzed one-pot synthesis of  $\alpha$ -aminonitriles". En: *Beilstein J. Org. Chem.*, Vol. 1 (2005); doi:10.1186/1860-5397-1-8.
90. TULINSKY, J.; CHENEY, B. V.; MIZSAK, S. A.; WATT, W.; HAN, F.; DOLAK, L. A.; JUDGE, T. and GAMMILL, R. "Novel Asymmetric Synthesis of Atropisomeric 6-Aryl Pyrazinones Via an Unusual Chirality Transfer Process". En: *J. Org. Chem.*, Vol. 64 (1999); p.93-100.

91. PARASKAR, A. and SUDALAI, A. "Cu(OTf)<sub>2</sub> or Et<sub>3</sub>N-Catalyzed Three-Component Condensation of Aldehydes, Amines and Cyanides: A High Yielding Synthesis of  $\alpha$ -Aminonitriles". En: *Tetrahedron Lett.*, Vol. 47 (2006); p. 5759-5762.
92. KANTA DE, S. "Nickel (II) Chloride Catalyzed One-Pot Synthesis of  $\alpha$ -Aminonitriles". En: *J. Mol. Cat. A: Chem.*, Vol. 225 (2005); p. 169-171.
93. RAFIEE, E.; RASHIDZADEH, S. and AZAD, A. "Silica-Supported Heteropoly Acids: Highly Efficient Catalysts for Synthesis of  $\alpha$ -Aminonitriles, Using Trimethylsilyl Cyanide or Potassium Cyanide". En: *J. Mol. Cat. A: Chem.*, Vol. 261 (2007); p 49-52.
94. CHEN, W.Y. and LU, J. "Silica Sulfuric Acid Catalyzed One-Pot Synthesis of  $\alpha$ -Aminonitriles". En: *Synlett*, Vol. 15 (2005); p. 2293-2296.
95. PORE, D. M.; SOUDAGAR, M. S.; DESAI, U. V.; THOPATE, T. S. and WADAGAONKAR, P. P. "Potassium Phosphate or Silica Sulfuric Acid Catalyzed Conjugate Addition of Thiolsto  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Ketones at Room Temperature Under Solvent-Free Conditions" En: *Tetrahedron Lett.*, Vol. 47 (2006); p. 9325-9328.
96. SHATERIAN, H.; GHASHANG, M. and HASSANKHANI, A. "One-Pot Synthesis of Aril 14H-Dibenzo[a,j]Xanthene Leuco-dye Derivatives". En: *Dyes and Pigments*, Vol. 76 (2008); p. 564-568.
97. CHEN, W. and LU, J. "Silica Sulfuric Acid Catalyzed One-Pot Synthesis of  $\alpha$ -Aminonitriles". En: *Synlett*, Vol. 15 (2005); p. 2293-2296.
98. TALAWAR, M. B.; SIVABALAN, R.; MUKUNDAN, T.; MUTHURAJAN, A. K.; GANDHE, B. R. and RAO, S. "Environmentally compatible next generation green energetic materials (GEMs)". En: *J. Hazardous Materials*, Vol. 161 (2009); p. 589-607.
99. ZOLFIGOL, M. A. "Silica sulfuric acid/NaNO<sub>2</sub> as a Novel Heterogenous System for Production of Thionitrites and Disulfides Under Mild Conditions". En: *Tetrahedron*, Vol. 57 (2001); p. 9509-9511.
100. MOHAMMADPOOR-BALTORK, I.; MIRKHANI, V., MOGHADAM, M.; TANGESTANINEJAD, S.; ZOLFIGOL, M. A.; ABDOLLAHI-ALIBEIK, M.;

- KHOSROPOUR, A. R.; KARGAR, H. and HOJATI, S. F. "Silica Sulfuric Acid: A Versatile and Reusable Heterogeneous Catalyst for the Synthesis of Oxazolines and Imidazolines Under Various Reaction Conditions". En: *Cat. Comm.*, Vol. 9 (2008); p. 894–901.
- 101.** CARREÑO, A. "Reacción de Strecker como proceso de cianación de tres componentes: acceso fácil de obtención del alcaloide gircensonhina y sus análogos". Tesis de pregrado, Universidad Industrial de Santander, 2010.
- 102.** ELLMAN, G.; COURTNEY, K.; ANDRES, V. and FEATHER-STONE, R. "A New And Rapid Colorimetric Determination Of Acetylcholinesterase Activity". En: *Biochem. Pharmacol.*, Vol. 7 (1961); p. 88-95.
- 103.** JÄRVINEN, P.; VUORELA, P.; HATAKKA, A. and FALLARERO, A. "Potency Determinations Of Acetylcholinesterase Inhibitors Using Ellman's Reaction-Based Assay In Screening: Effect Of Assay Variants". En: *Analytical Biochemistry*, Vol. 408 (2011); p. 166-168.
- 104.** STELLMACH, J. "The Influences Of The Structure And Activity Of Biologically Active Compounds On The Assessment Of Inventive Step". En: *World Patent Information*. Vol. 31 (2009); p. 226-234.
- 105.** ROBERT, L.; ROBERT, J. and ROBERT, A. "Receptors And Aging: Dedicated To The Memory Of Paul Ehrlich For The 100<sup>th</sup> Anniversary Of His Nobel Prize". En: *Archives of Gerontology and Geriatrics*, Vol. 51 (2010); p. 260-263.
- 106.** ROJAS, F.; GARCIA-SANCHEZ, R.; GOMEZ-BARRIO, A.; VILLABONA S.; A.; AMADO, D.; PÉREZ, B.; NOGAL-RUIZ, J.; MARTINEZ-FERNANDEZ, A. and KOUZNETSOV, V. "Synthesis and antimalarial activity of new heterocyclic hybrids based on chloroquine and thiazolidinone scaffolds". En: *Bioorg. Med. Chem.*, Vol. 19 (2011); p. 4562-4573.
- 107.** Kouznetsov, V. and Gómez-Barrio, A. "Recent developments in the design and synthesis of hybrid molecules based on aminoquinoline ring and their antiplasmodial evaluation". En: *Eur. J. Med. Chem.*, Vol. 44 (2009); p. 3091–3113.
- 108.** KAPETANOVIC, I. M. "Computer-aided Drug Discovery and Development (CADD): *In silico*-chemico-biological Approach". En: *Chem. Biol. Interact.*, Vol. 171 (2008); p. 165-176.

109. GELDENHUYS, W. J.; GAASCH, K. E.; WATSON, M.; ALLEN, D. D. and VAN DER SCHYF, C. J. "Optimizing the Use of Open Source Software Applications in Drug Discovery". En: *DDT*, Vol. (2006); p. 127-132.
110. WATERBEEMD, H. and GIFFORD, E. "Admet*In Silico*Modelling: Towards Prediction Paradise?".En: *Nature Reviews: Drug Discovery*, Vol. 2 (2003); p. 192-204.
111. LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W and FEENEY, P. J. "Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings". En: *Adv. Drug. Del. Rev.*, Vol. 23 (1997); p. 3-25.
112. VEBER, D. F.; JOHNSON, S. R.; CHENG, H. Y.; SMITH, B. R.; WARD, K. W. and KOPPLE, K. D. "Molecular Properties that Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates". En: *J. Med. Chem.*, Vol. 45 (2002); p. 2615-2623.
113. ERTL, P.; ROHDE, B. and SELZER, P. "Fast Calculation of Molecular Polar Surface Area as a Sum of Fragment-based Contributions and its Application to the Prediction of Drug Transport Properties". En: *J. Med. Chem.*, Vol. 43 (2000); p. 3714-3717.
114. FALLER, B. and ERTL, P. "Computational Approaches to Determine Drug Solubility". En: *Adv. Drug Deliv. Rev.*, Vol. 59 (2007); p. 533-545.
115. BALAKIN, K. V.; SAVCHUK, N. P. and TETKO, I. V. "*In Silico*Approaches to Prediction of Aqueous and DMSO Solubility of Drug-Like Compounds: Trends, Problems and Solutions". En: *Curr. Med. Chem.*, Vol. 13 (2006); p. 223-241.
116. HELMA, C. "*In silico*Predictive Toxicology: The State-of-the-Art and Strategies to Predict Human Health Effects". En: *Curr. Opin. Drug Disc. Develop.*, Vol. 8 (2005); p. 27-31.
117. DEARDEN, J. C. "*In silico*Prediction of Drug Toxicity". En: *J. Comput. Aid. Mol. Design.*, Vol. 17 (2003); p.119-127.

118. WATSON, P., JIANG, B. and SCOTT, B. "A Diastereoselective Synthesis of 2,4-Disubstituted Piperidines: Scaffolds for Drug Discovery". En: *Org. Lett.*, Vol. 2 (2000); p. 3679 – 3681.
119. DA SILVA, R., NAVICKIENE, H., KATO, M., BOLZANI, V., MÉDA, C., YOUNG, M. and FURLAN, M. "Antifungal Amides From Piper Arboreum And Piper Tuberculatum". En: *Phytochemistry*, Vol. 59 (2002); p. 521–527.
120. TERZIOGLU, N., RIJN, R., BAKKER, R., DE ESCH, and LEURS, R. "Synthesis And Structure–Activity Relationships Of Indole And BenzimidazolePiperazines As Histamine H4 Receptor Antagonists". En: *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, Vol. 14 (2004); p. 5251–5256.
121. ARBO, M., BASTOS, M. and CARMO H. "Piperazine Compounds As Drugs Of Abuse". En: *Drug and Alcohol Dependence*, Vol. 122 (2012); p. 174–185.
122. KUMAR, S., SADASHIVA, M. and RANGAPPA, K. "An Efficient Synthesis Of 2-(1-Methyl-1,2,5,6-Tetrahydropyridin-3-yl) Morpholine: A Potent M1 Selective Muscarinic Agonist". En: *Tetrahedron Lett.*, Vol. 48 (2007); p. 4565–4568.
123. YILDIZ, D. "Nicotine, Its Metabolism And An Overview Of Its Biological Effects". En: *Toxicol.*, Vol. 43 (2004); p. 619–632.
124. CHEN, X., WEI, M., ZHANG, H., LUO, C., CHEN, Y. and CHEN, Y. "Effect Of Vanillin And Ethyl Vanillin On Cytochrome P450 Activity In Vitro And In Vivo". En: *Food Chem. Toxicol.*, Vol. 50 (2012); p. 1897–1901.
125. TAI, A., SAWANO, T., YAZAMA, F. and ITO, H. "Evaluation Of Antioxidant Activity Of Vanillin By Using Multiple Antioxidant Assays". En: *Biochim. Biophys. Acta*, Vol. 1810 (2011); p. 170–177.
126. LI S., SHU, C., CHEN, L., CHEN. H., CHEN, P. and WANG, E. "Synthesis Of Substituted 2-Aroyl-3-Methylchromen-4-Ones From Isovanillin Via 2-Aroyl-3-Methylchroman Intermediates". En: *Tetrahedron*, Vol. 65 (2009); p. 8702–8707.
127. TAO, G., IRIE, Y., LI, D. and KEUNGA, W. "Eugenol And Its Structural Analogs Inhibit Monoamine Oxidase A And Exhibit Antidepressant-Like Activity". En: *Bioorg. Med. Chem.*, Vol. 13 (2005); p. 4777–4788.
128. DUCKI, S., RENNISON, D., WOO, M., KENDALL, A., CHABERT, F., McGOWN, A. and LAWRENCE, N. "Combretastatin-like chalcones as inhibitors of microtubule polymerization. Part 1: Synthesis and biological evaluation of antivasculature activity". En: *Bioorg. Med. Chem.*, Vol. 17 (2009); p. 7698–7710.

129. GAO, Y., STEAD, S. and LEE, R. "Papaverine Induces Apoptosis In Vascular Endothelial And Smooth Muscle Cells". En: *Life Sciences*, Vol. 70 (2002); p. 2675–2685.
130. YAMASAKI, K. "Non-CyanogenicCyanoglucosides". En: *Studies in Plant Science*, Vol. 6 (1999); p. 335-345.
131. FATTORUSSO, E. and TAGLIALATELA-SCAFATI, O. "Modern Alkaloids: Structure, Isolation, Synthesis and Biology". WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. Weinheim, Germany. 2008; p. 25-43.
132. MolinspirationCheminformatics. En: <http://www.molinspiration.com/>.
133. Publications Using And Acknowledging Molinspiration Software Or Free Molecular Property Calculation Services. En: <http://www.molinspiration.com/papers/index.html>.
134. Virtual Computational Chemistry Laboratory. En: <http://www.vcclab.org/lab/alogps/>.
135. I-Lab 2.0. En: <https://ilab.acdlabs.com/iLab2/index.php>.
136. ABRAHAM, M.H.; CHADHA, H.S. and MITCHELL, R.C. "Hydrogen Bonding. Part 36. Determination of Blood Brain Distribution Using Octanol- Water Partition Coefficients". En: *Drug Des. Discov.*, Vol.13(1995); p. 123-131.
137. PharmaAlgorithms. En: [http://pharma-algorithms.com/admetox\\_web.html](http://pharma-algorithms.com/admetox_web.html).
138. Drug Relevant Properties Prediction. En: [www.rdchemicals.com/drug-relevant-properties.html](http://www.rdchemicals.com/drug-relevant-properties.html).
139. PALM, K.; STENBERG, P.; LUTTMAN, K. and ARTURSSON, P. "Polar Molecular Surface Properties Predict the Intestinal Absorption of Drugs in Humans". En: *Pharm. Res.*, Vol. 14 (1997); p. 568-571.
140. KELDER, J.; GROOTENHUIS, P.; BAYADA, D.; DELBRESSINE, L. and PLOEMEN, J. "Polar Molecular Surface as a Dominating Determinant for Oral Absorption and Brain Penetration of Drugs". En: *Pharm. Res.*, Vol. 16 (1999); p. 1514-1519.
141. VAN DE WATERBEEMD, H.; CAMENISH, G.; FOLKERS, G.; CHRETIEN, J. and RAEVSKY, O. "Estimation of Blood-Brain Barrier Crossing of Drugs Using

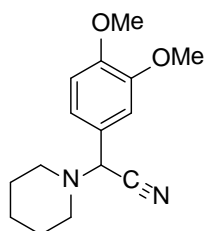
Molecular Size and Shape, and H-Bonding Characteristics”. En: *J. Drug Target.*, Vol. 6 (1998); p.151-165.

142. ZHAO, Y.; ABRAHAM, M.; LEE, J.; HERSEY, A.; LUSCOMBE, N.; BECK, G.; SHERBORNE, B. and COOPER, I. “Rate-Limited Steps of Human Oral Absorption and QSAR Studies”. En: *Pharm. Res.*, Vol. 19 (2002); p. 1446-1457.
143. HEUGEBAERT, T.; ROMAN, B.; DE BLIECK, A. and STEVENS, C. “A Safe Production Method For Acetone Cyanohydrin”. En: *Tetrahedron: Lett.*, Vol. 51 (2010); p. 4189–4191.
144. PARK, E.; LEE, S and CHANG, S. “Acetone Cyanohydrin As A Source Of HCN In The Cu-Catalyzed Hydrocyanation Of R-Aryldiazoacetates”. En: *J. Org. Chem.*, Vol. 75 (2010); 2760–2762.
145. LOPEZ, S., BASTIDA, J., VILADOMAT, F. and CODINA, C. “Acetylcholinesterase Inhibitory Activity of Some Amaryllidaceae Alkaloids and Narcissus Extracts”. En: *Life Sci.*, Vol. 71 (2002); p. 2521-2529.
146. World Health Organization. “Vector resistance to pesticides”. Geneva; 1992. (WHO-Technical Report Series, 818). En: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/>.
147. ALARCÓN, P.; DELACOUR, S.; PINAL, R.; RUIZ, I.; MUÑOZ, A. BENGUA, M.; ERITJA, R. y LUCIENTES, J. “Establecimiento y Mantenimiento de una Colonia Autóctona Española de *Aedes (Stogomyia) Albopictus* Skuse, 1894, (Díptera Culicidae) en Laboratorio”. En: *Rev. Ibero-Latinoam. Parasitol.*, Vol. 69 (2010); p. 140-148.
148. FINNEY, D.J. “Probit analysis”. Cambridge (UK): Cambridge University Press; 1971.

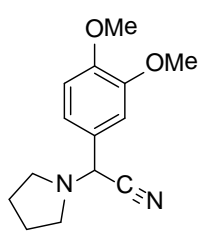
# *ANEXOS*

**ANEXOS A**  
**Espectros de Infrarrojo IR de los compuestos sintetizados**

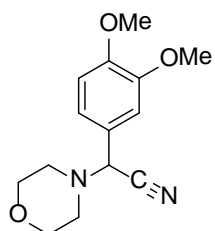
### Estructuras de los análogos evaluados



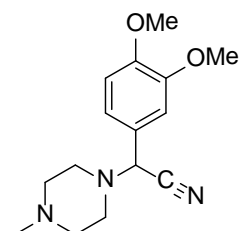
1a



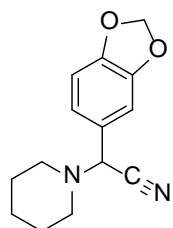
1b



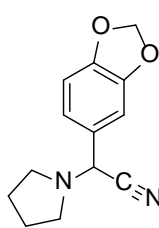
1c



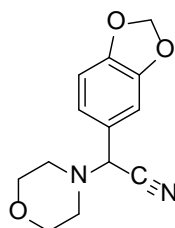
1d



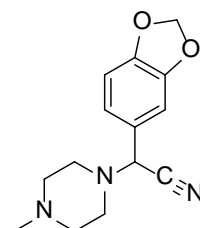
2a



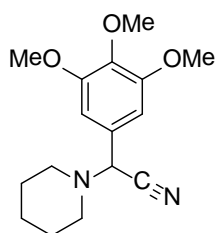
2b



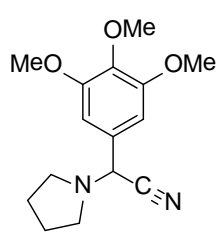
2c



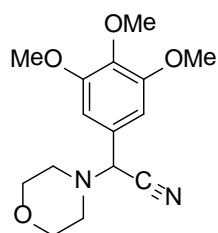
2d



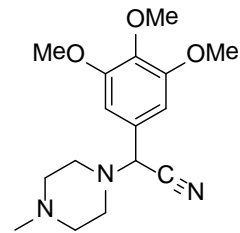
3a



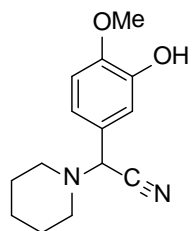
3b



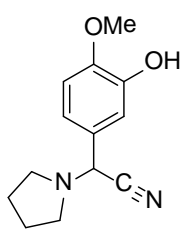
3c



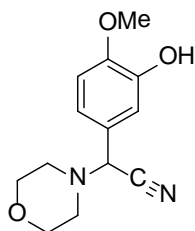
3d



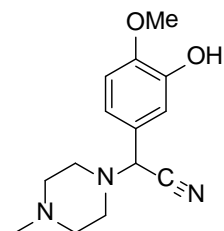
4a



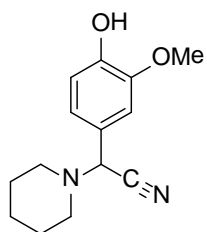
4b



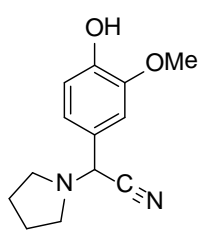
4c



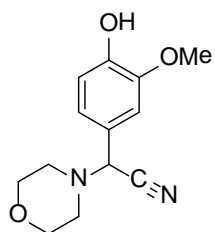
4d



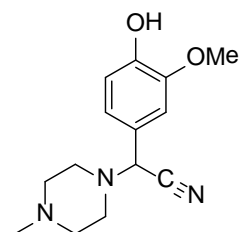
5a



5b

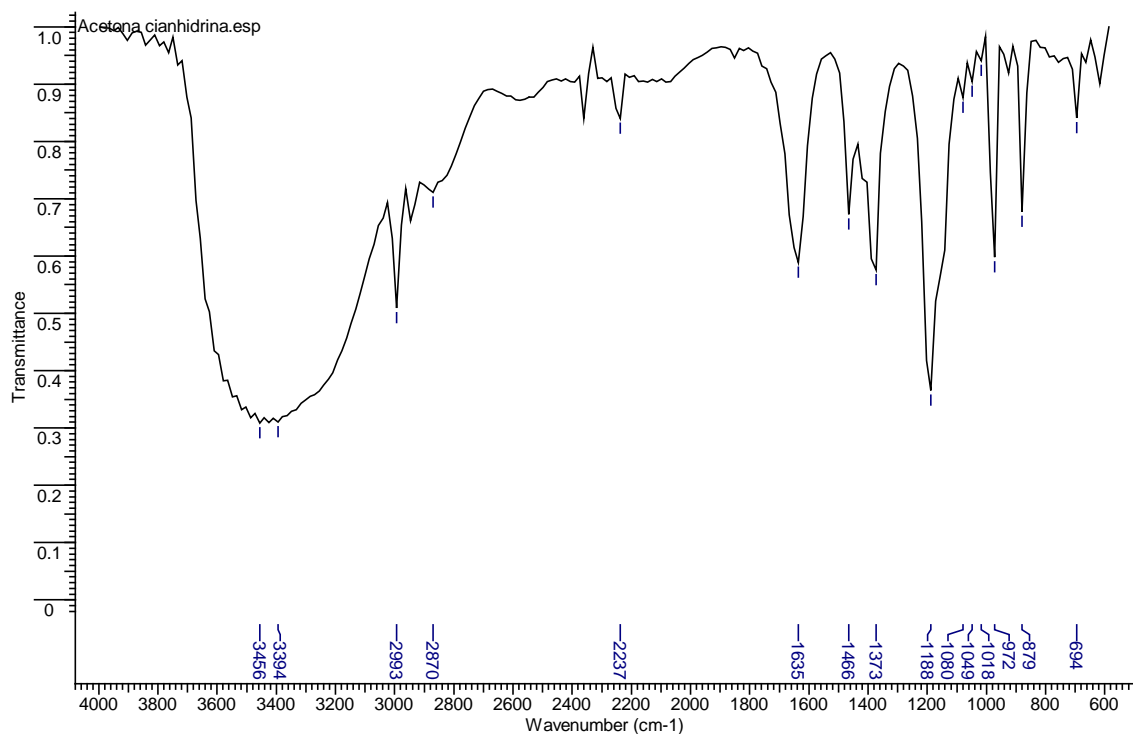


5c

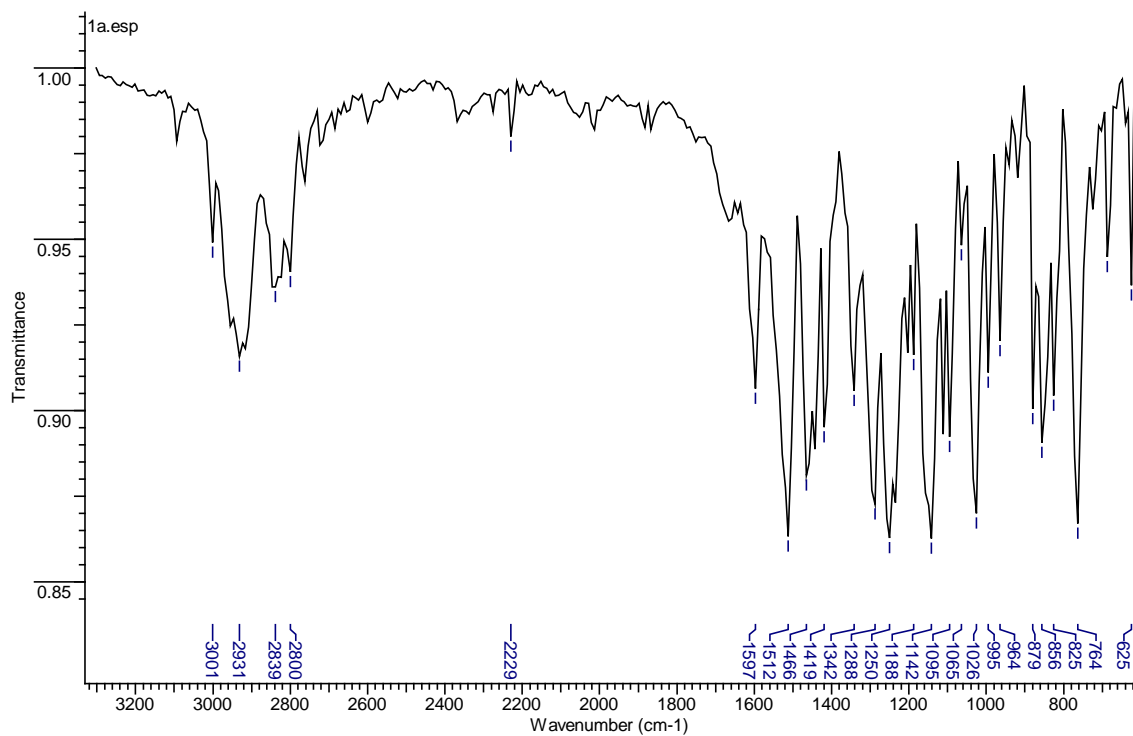


5d

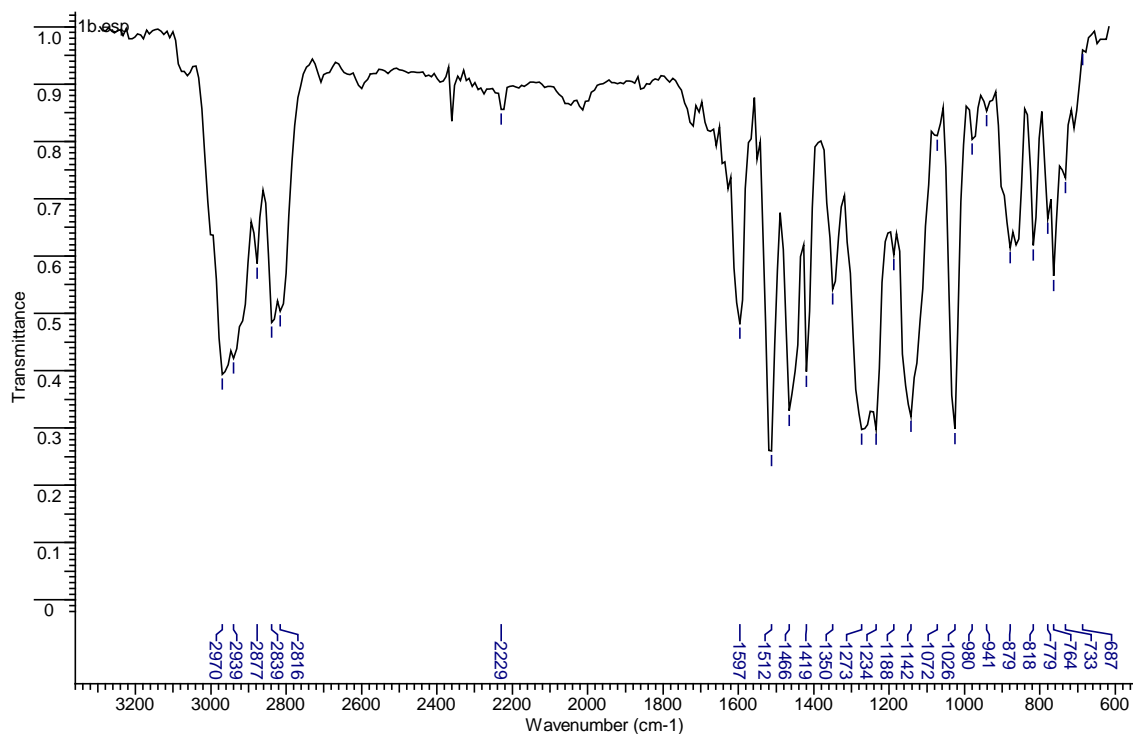
### Anexo A-A. Acetona cianhídrica A.



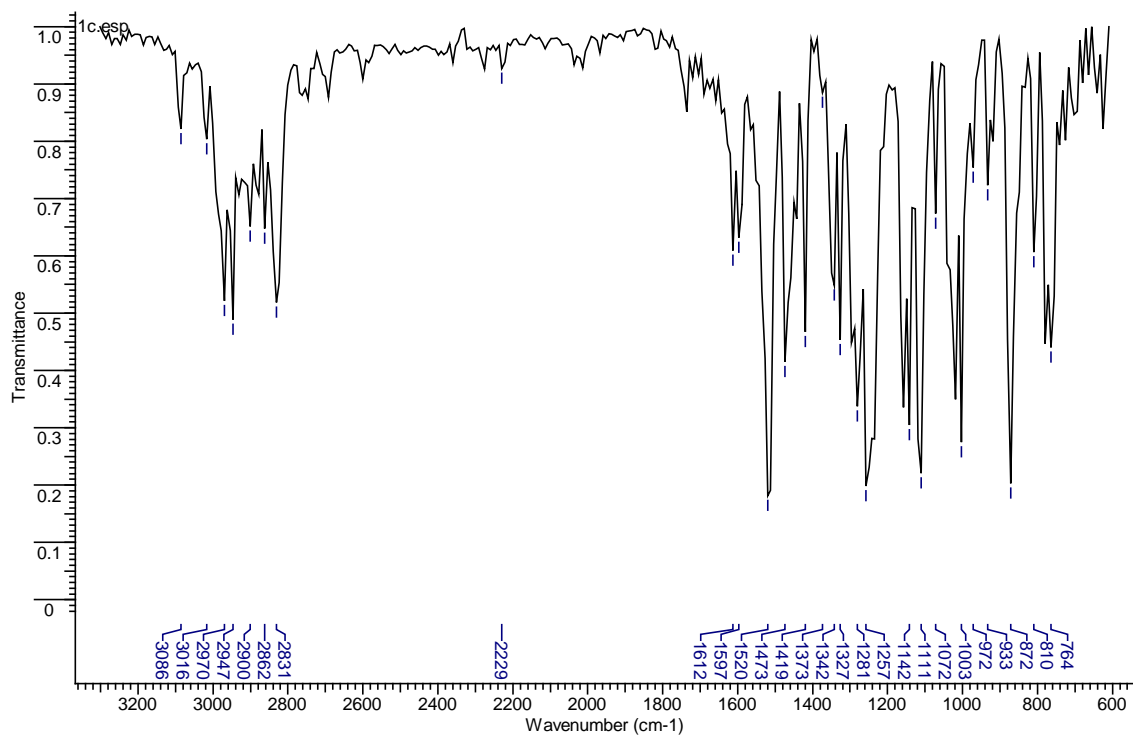
### Anexo A-1A. 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetonitrilo1a



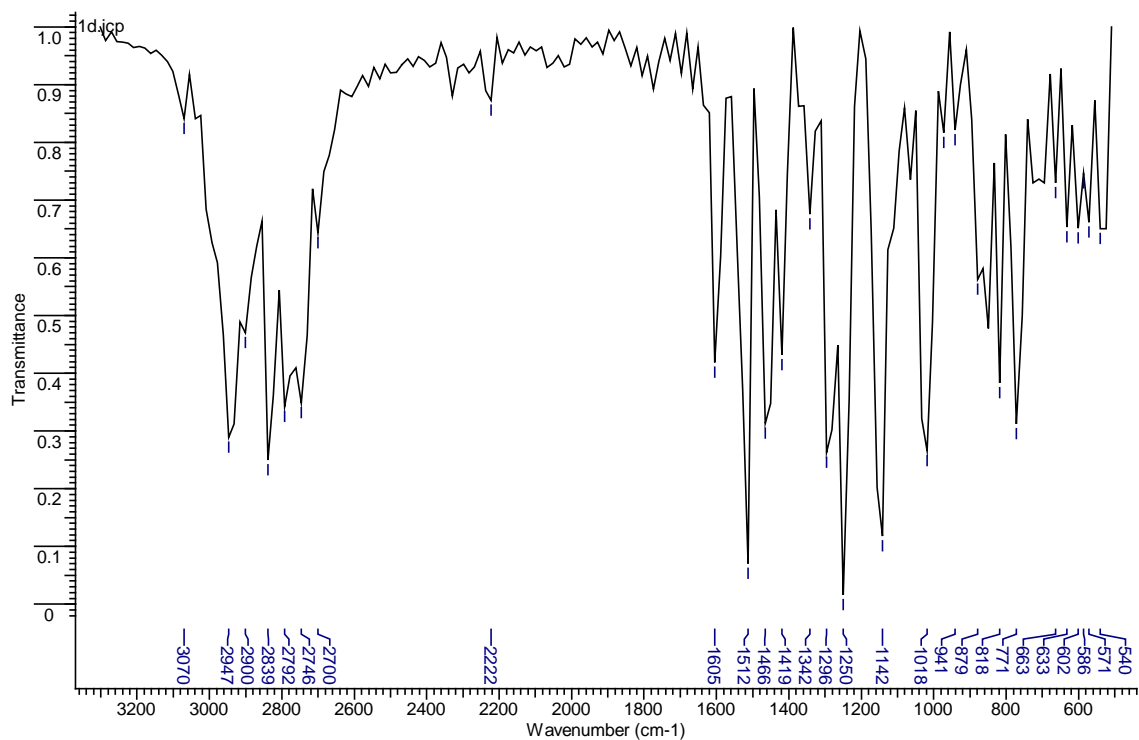
**Anexo A-1B. 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetonitrilo 1b**



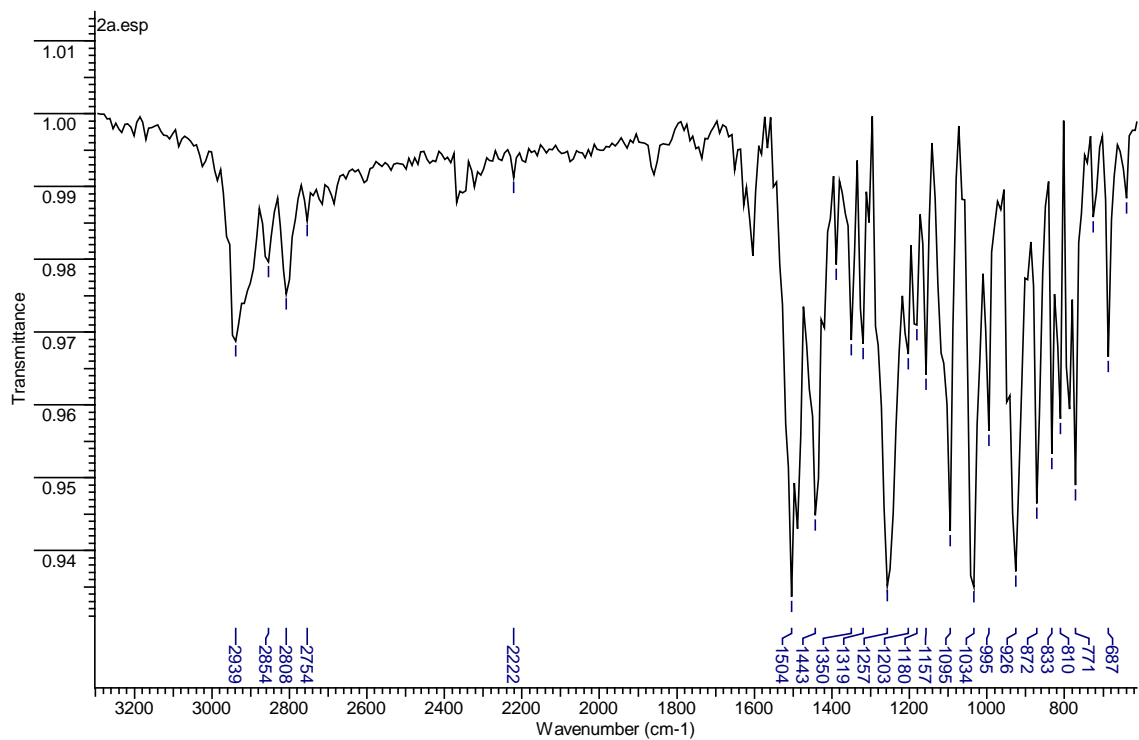
**Anexo A-1C. 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(morfolin-4-il) acetonitrilo 1c**



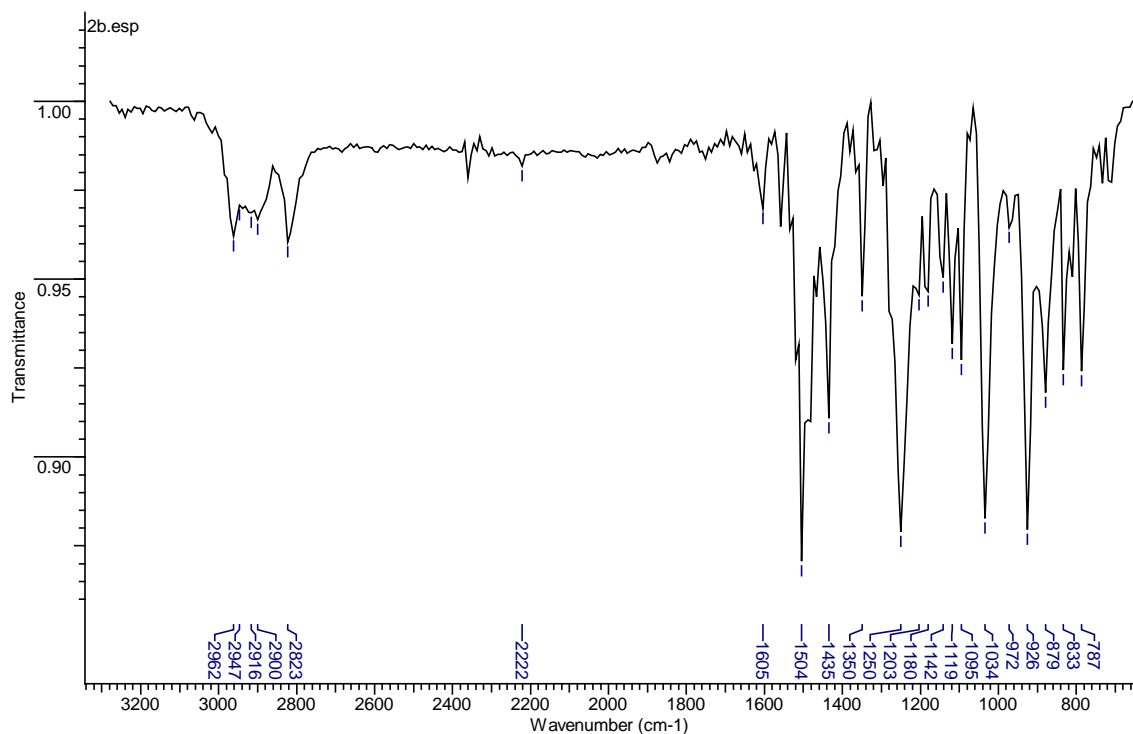
**Anexo A-1D.2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetonitrilo<sub>1d</sub>**



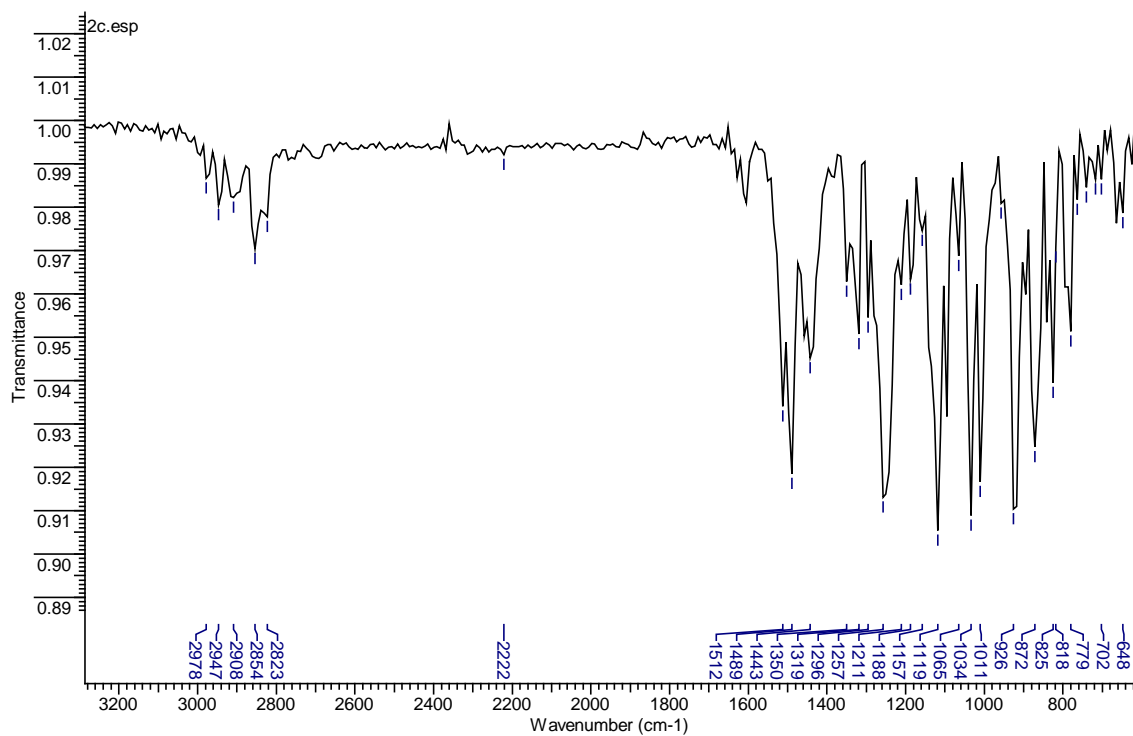
**Anexo A-2A.2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(piperidin-1-il) acetonitrilo<sub>2a</sub>**



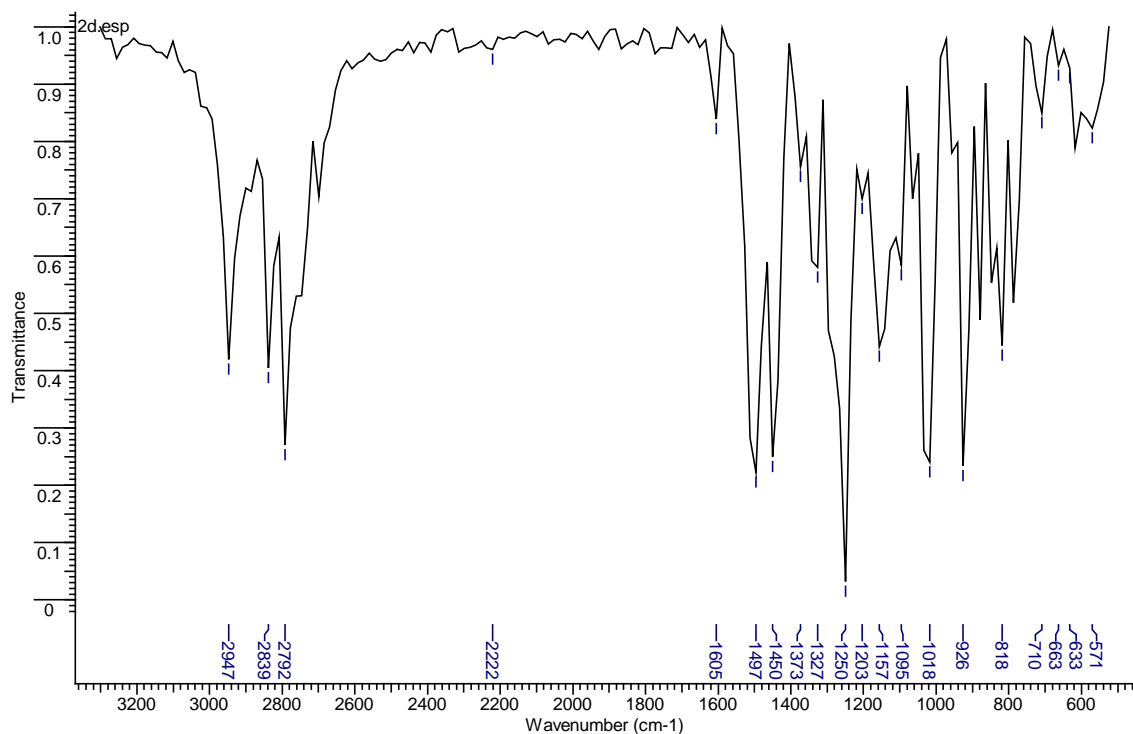
**Anexo A-2B.2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetonitrilo 2b**



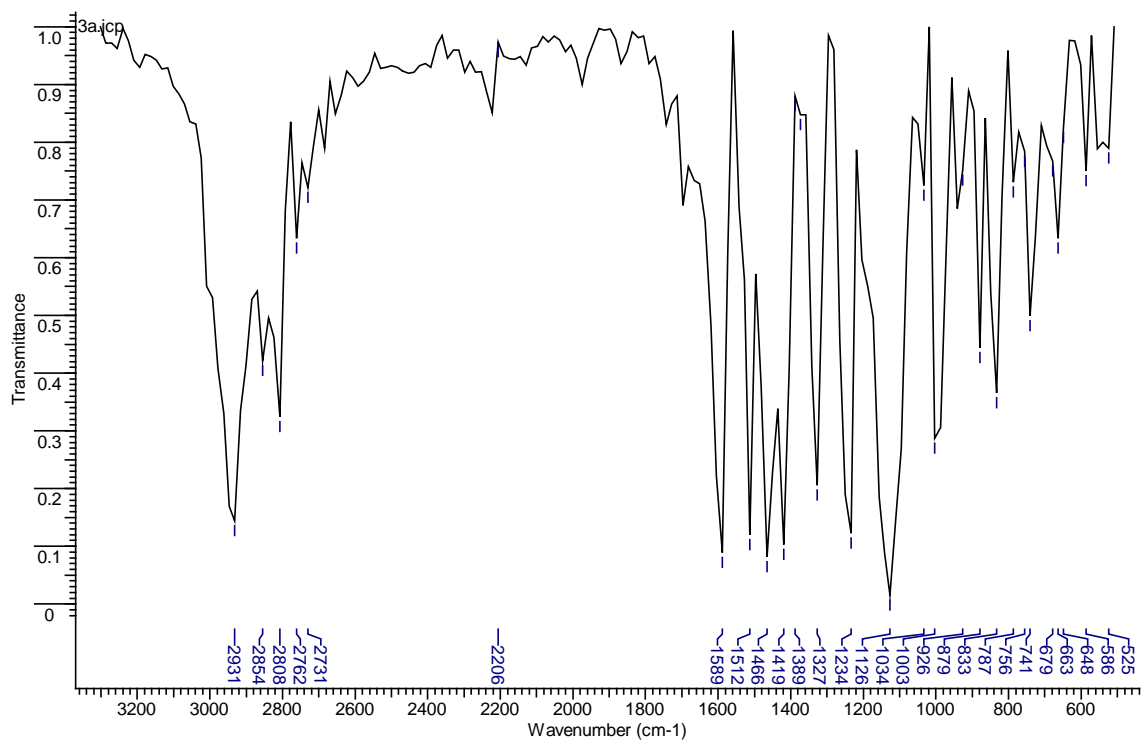
**Anexo A-2C. 2-(3,4- Dioximetilenfenil)-2-(morfolin-1-il) acetonitrilo 2c**



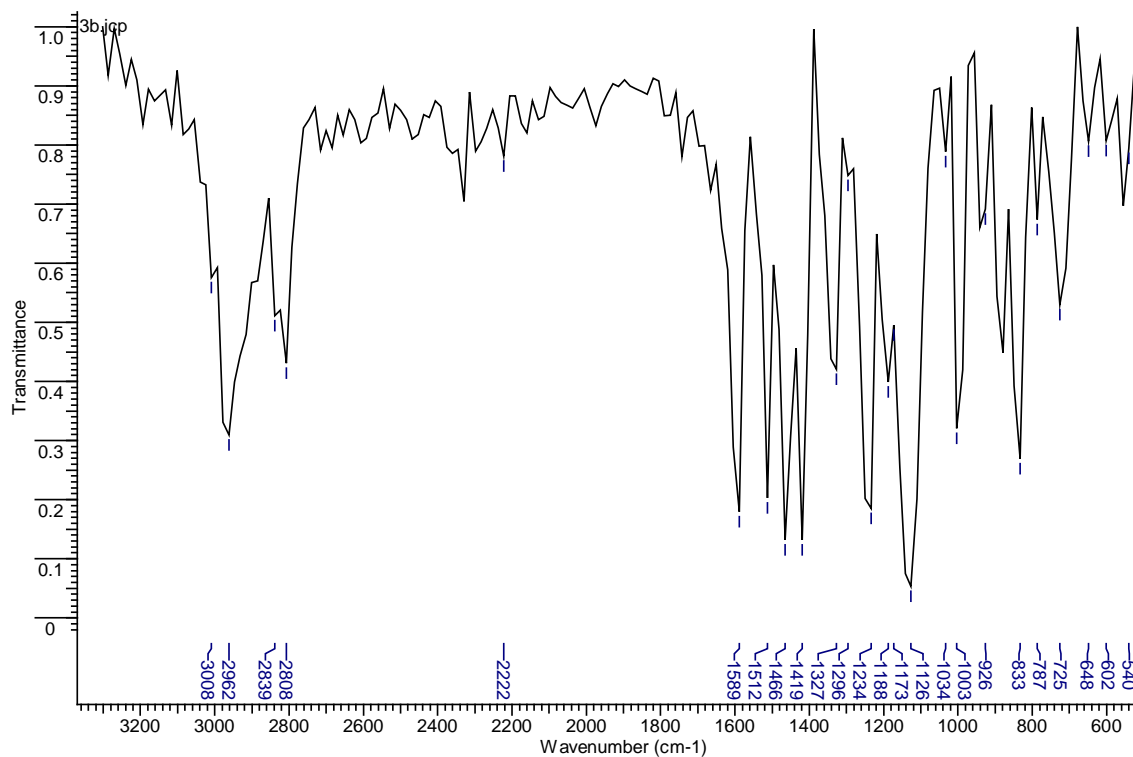
**Anexo A-2D. 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetonitrilo 2d**



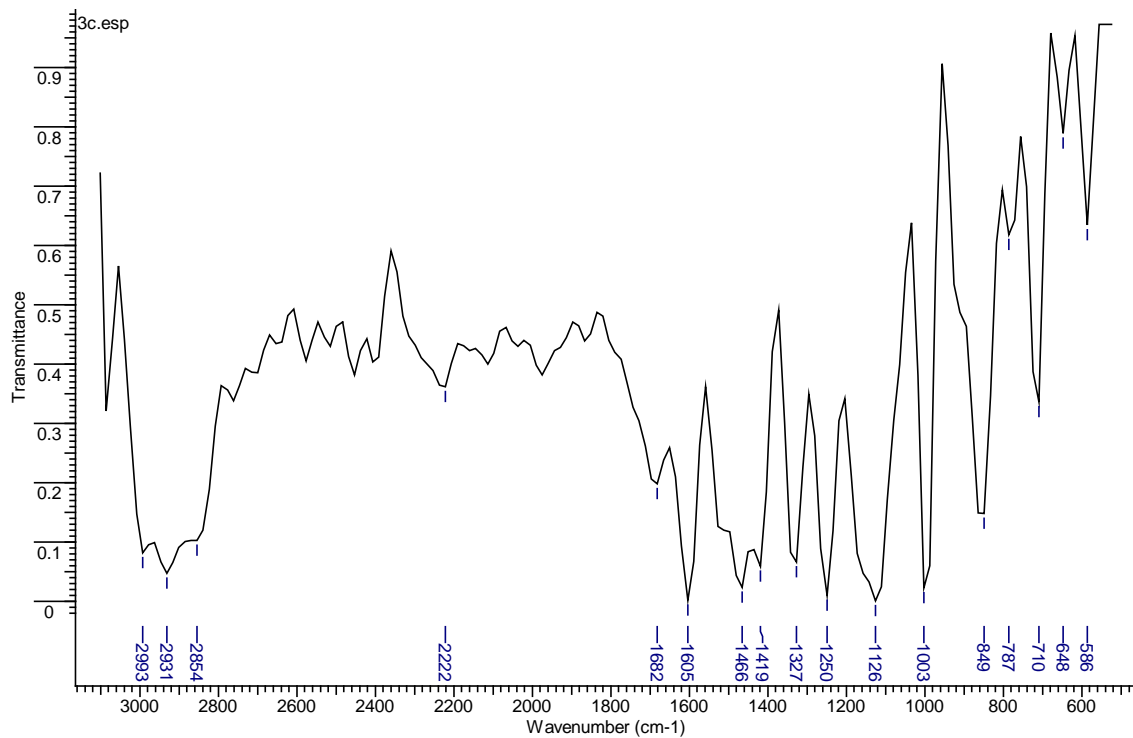
**Anexo A-3A. 2-(Piperidin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetonitrilo 3a**



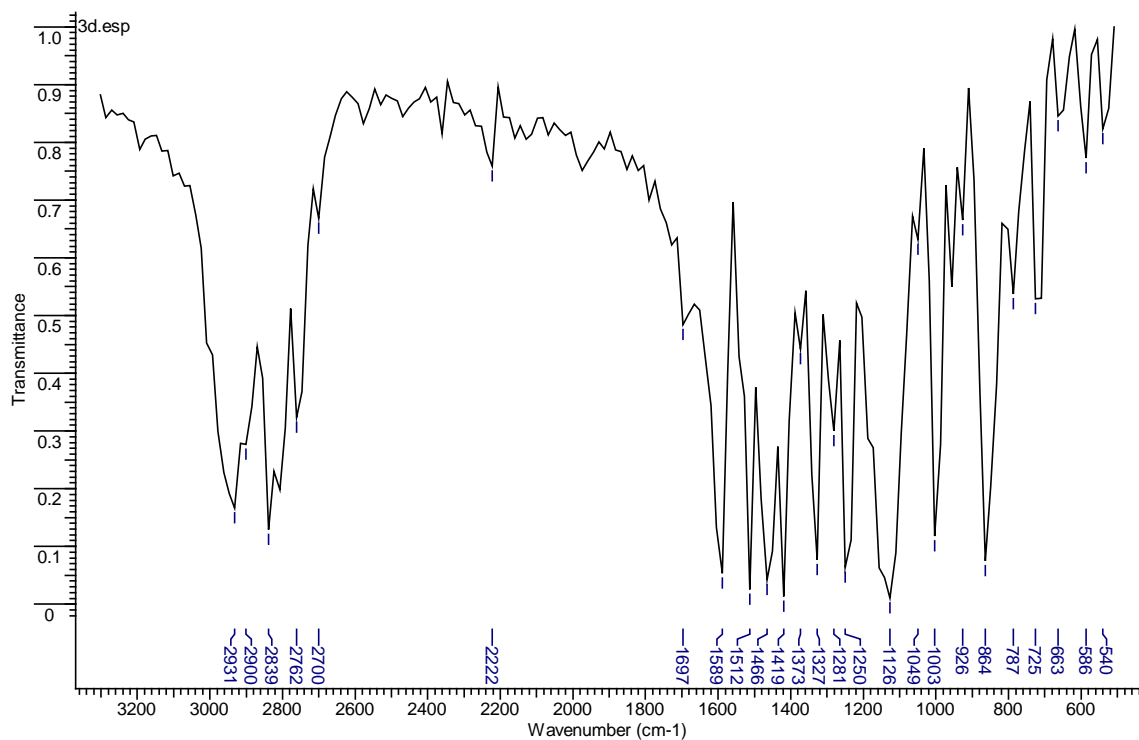
**Anexo A-3B. 2-(Pirrolidin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetonitrilo 3b**



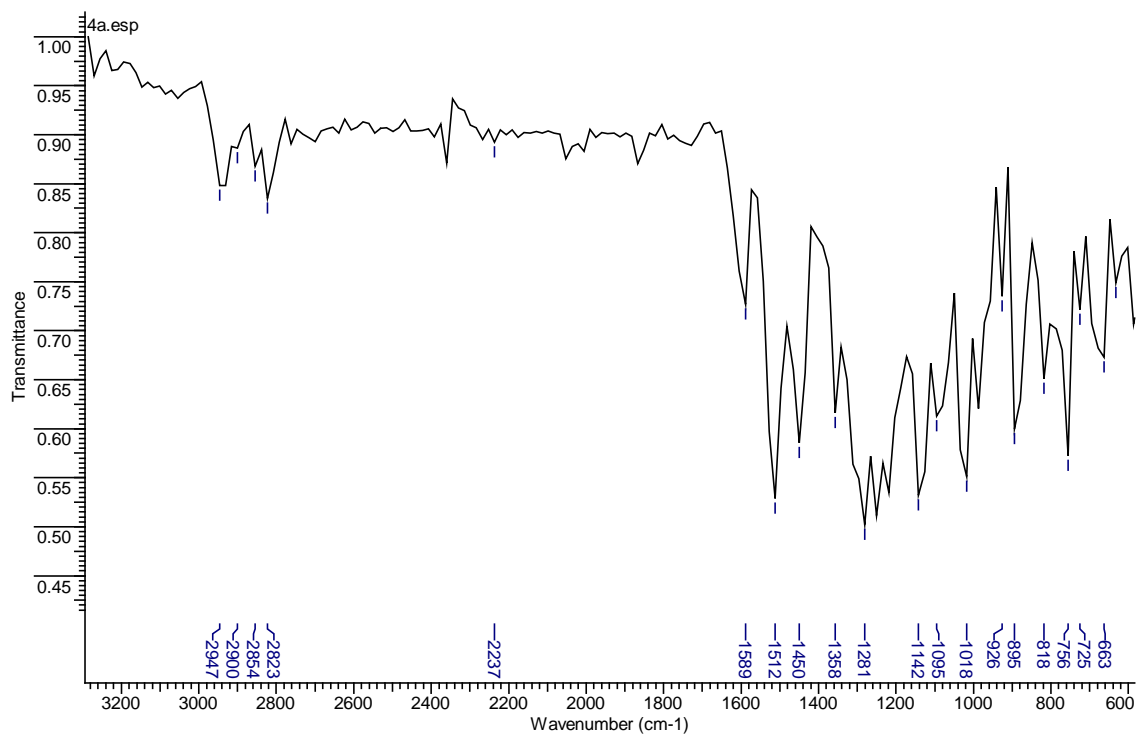
**Anexo A-3C. 2-Morfolino-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetonitrilo 3c**



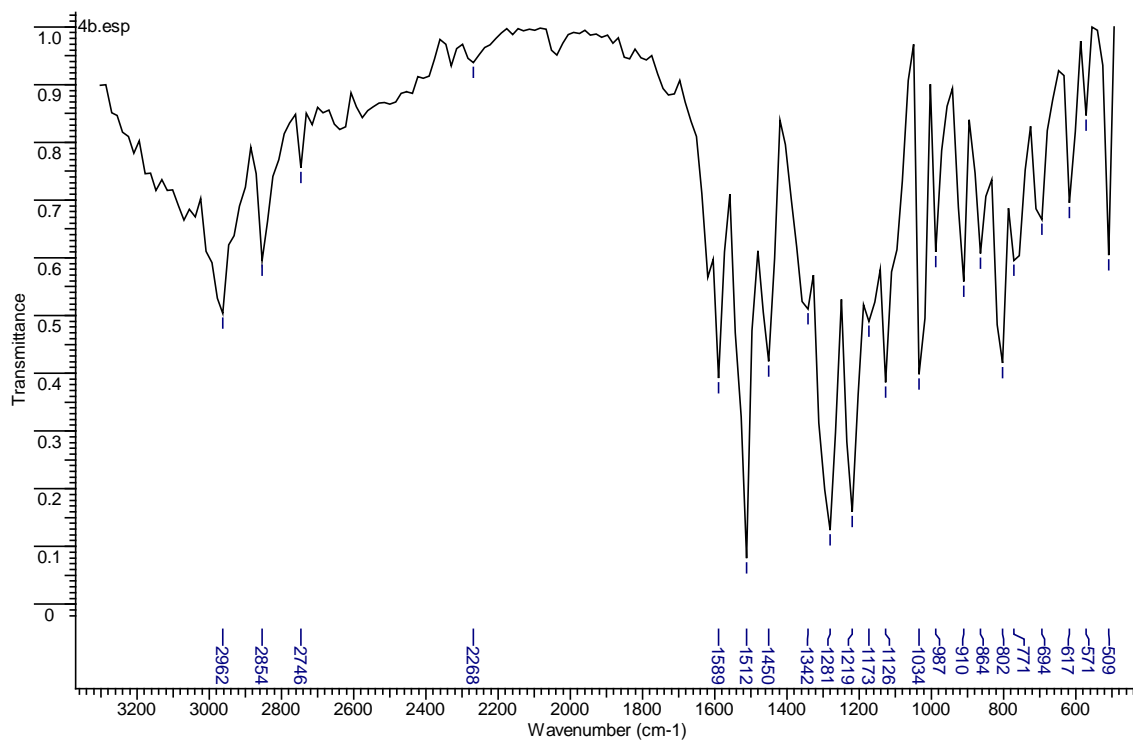
**Anexo A-3D. 2-(4-Metilpiperazin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetonitrilo<sub>3d</sub>**



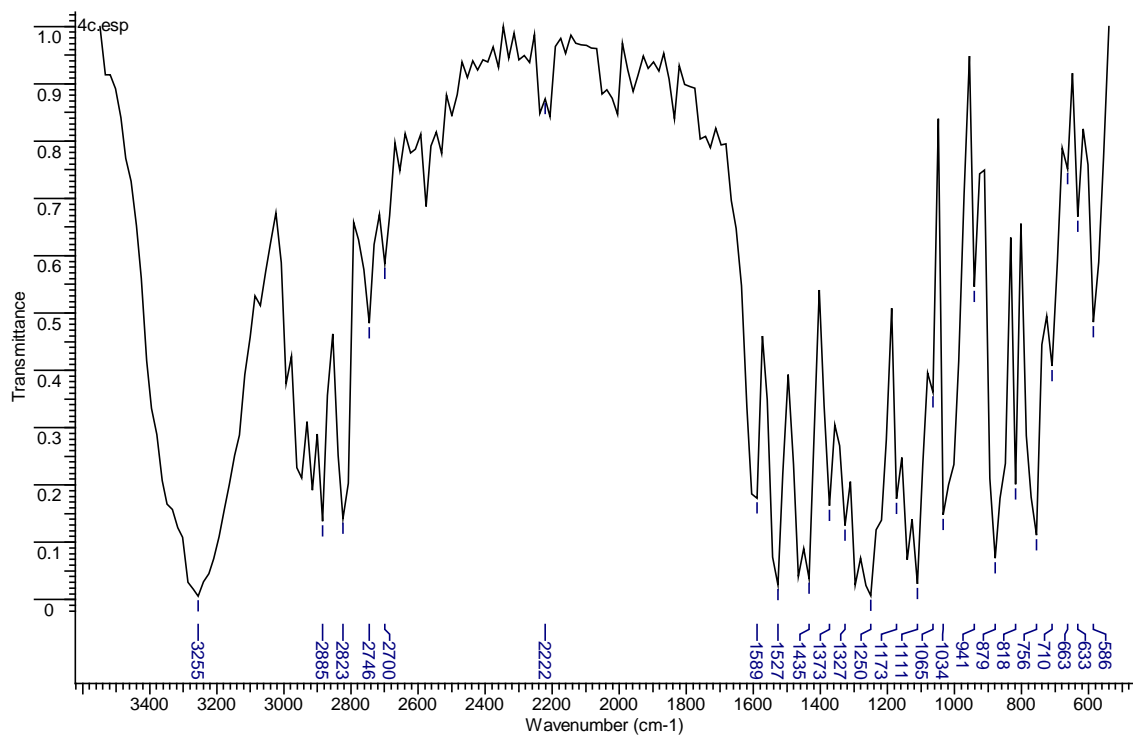
**Anexo A-4A. 2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetonitrilo<sub>4a</sub>**



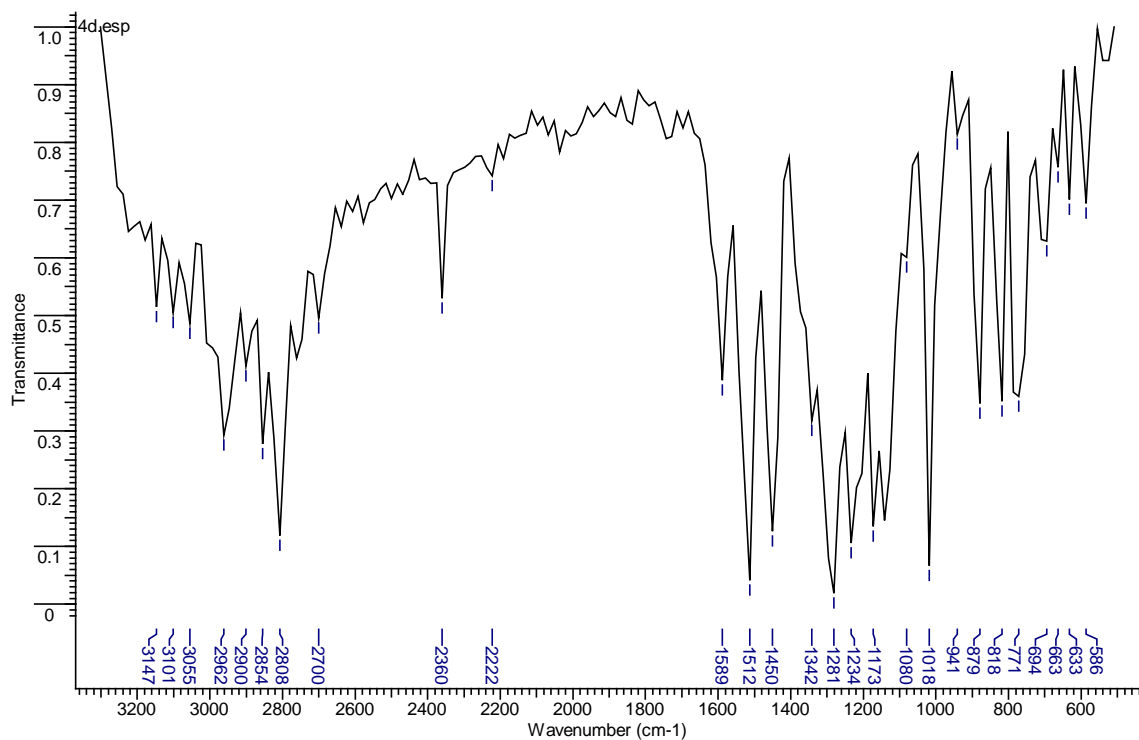
**Anexo A-4B. 2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetonitrilo**4b****



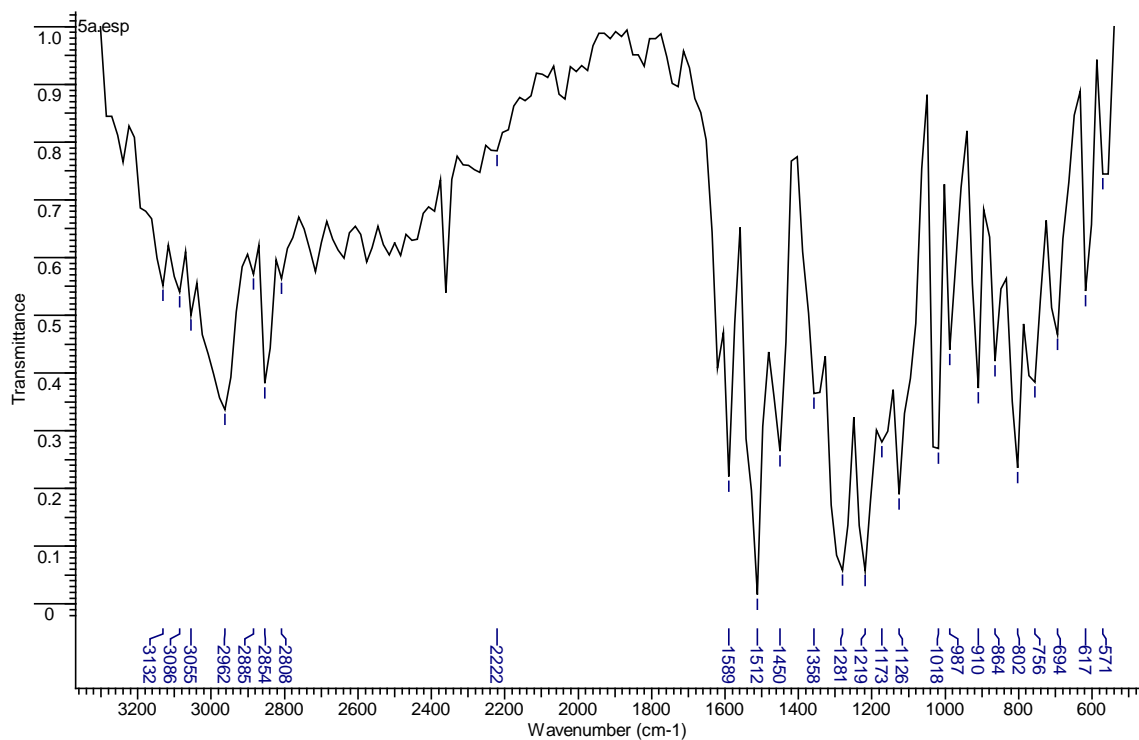
**Anexo A-4C. 2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(morfolin-1-il) acetonitrilo**4c****



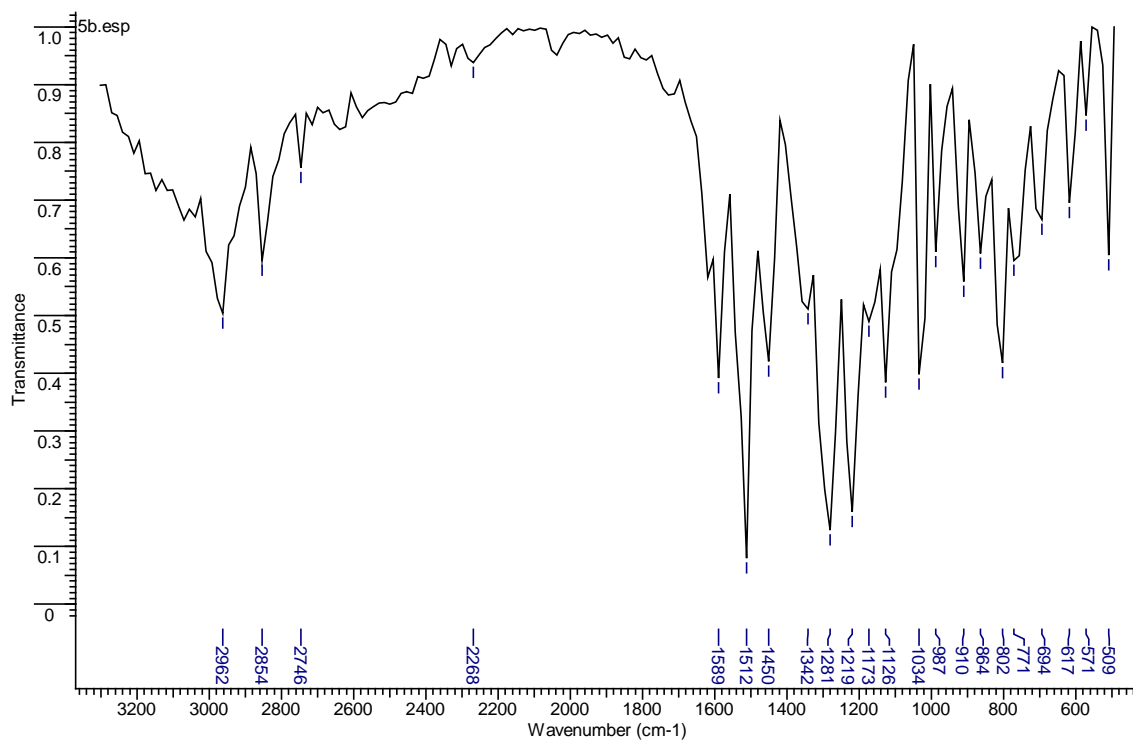
**Anexo A-4D. 2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)acetonitrilo4d**



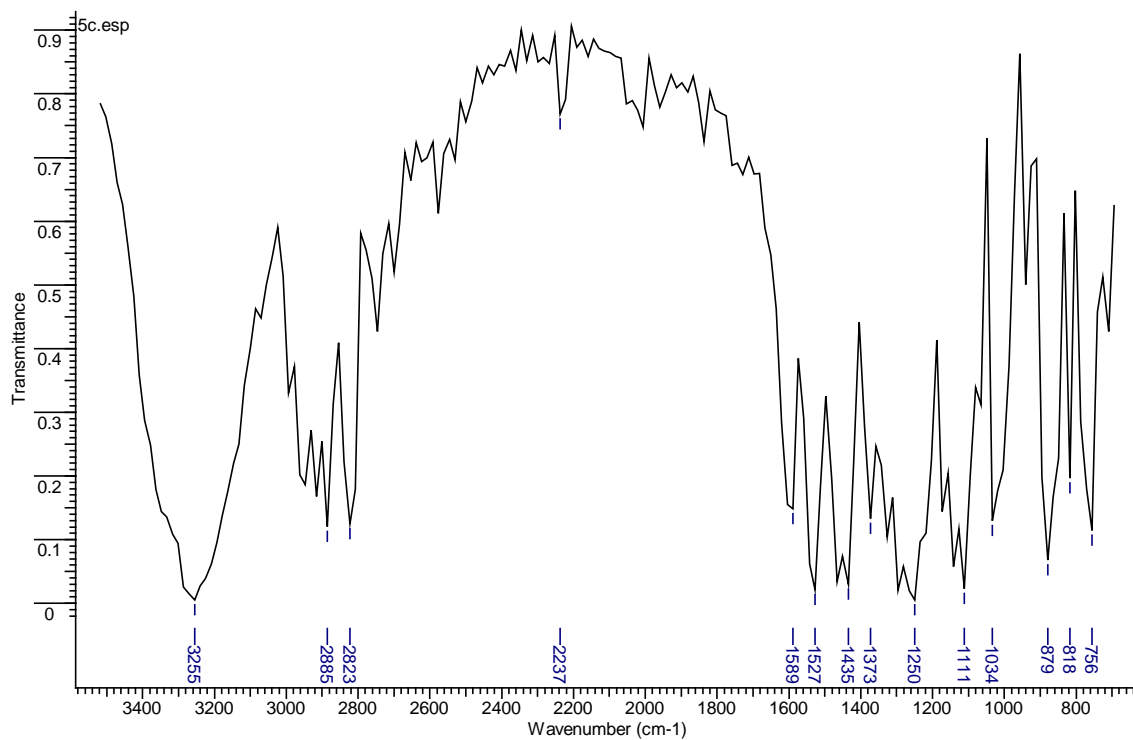
**Anexo A-5A. 2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetonitrilo5a**



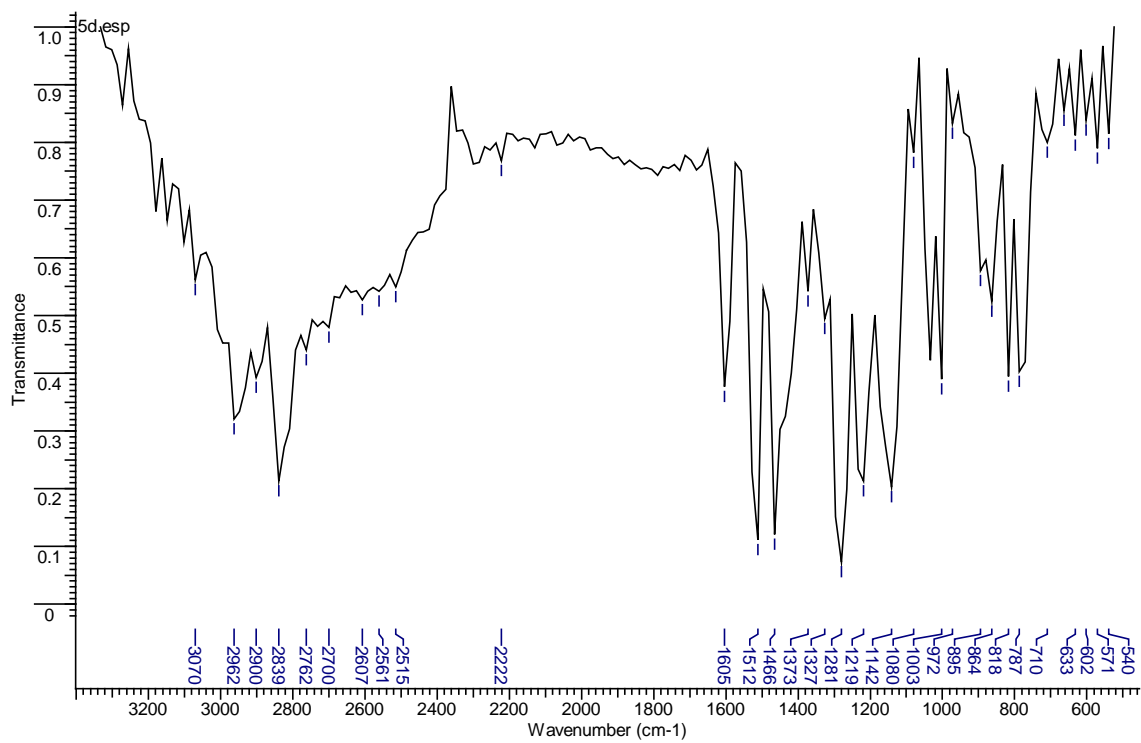
**Anexo A-5B. 2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetonitrilo**5b****



**Anexo A-5C. 2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(morfolin-1-il) acetonitrilo**5c****

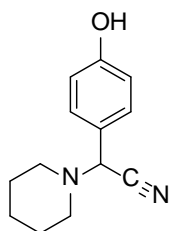


**Anexo A-5D. 2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetoniitrilo**5d

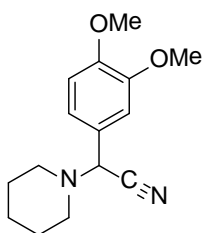


**ANEXOS B**  
**Fragmentogramas de los compuestos sintetizados**

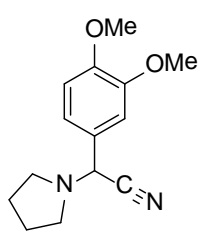
## Estructuras de los análogos evaluados



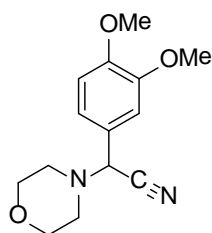
**Girgensohnina**



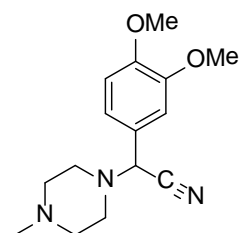
**1a**



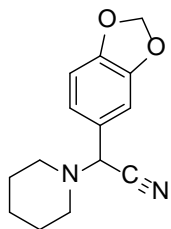
**1b**



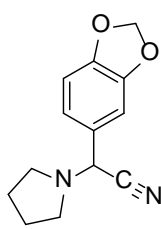
**1c**



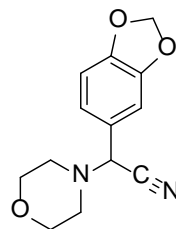
**1d**



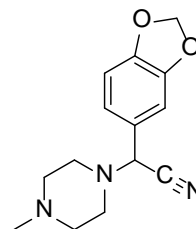
**2a**



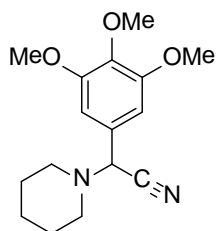
**2b**



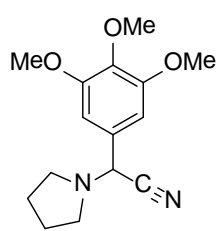
**2c**



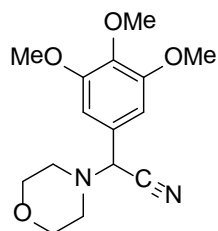
**2d**



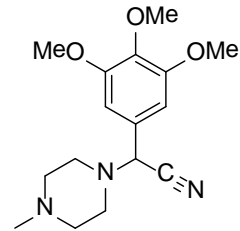
**3a**



**3b**

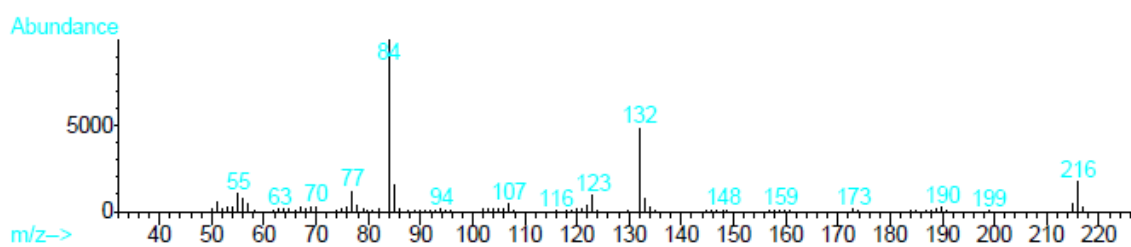


**3c**

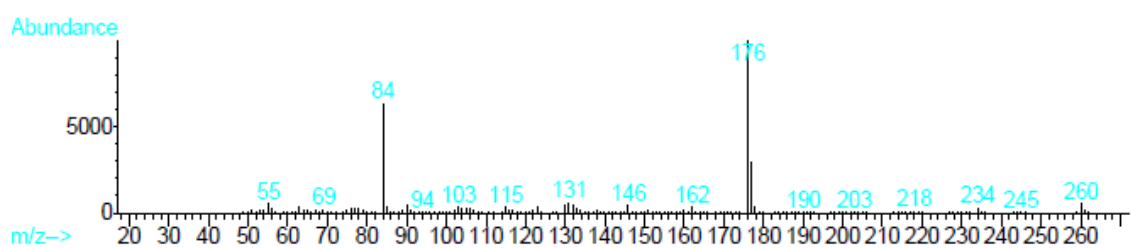


**3d**

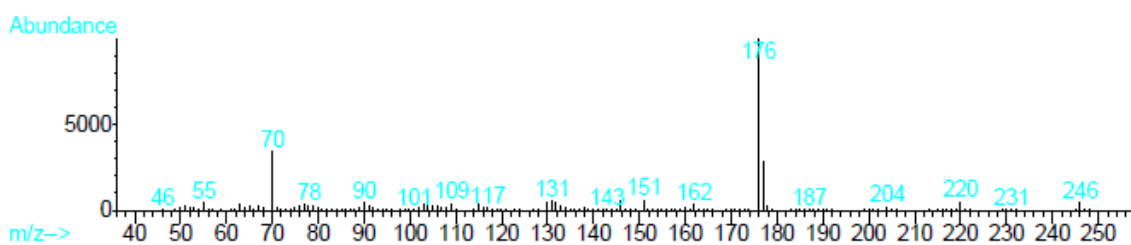
**Anexo B-Girgensohnina. 2-(4-Hidroxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetonitrilo.**



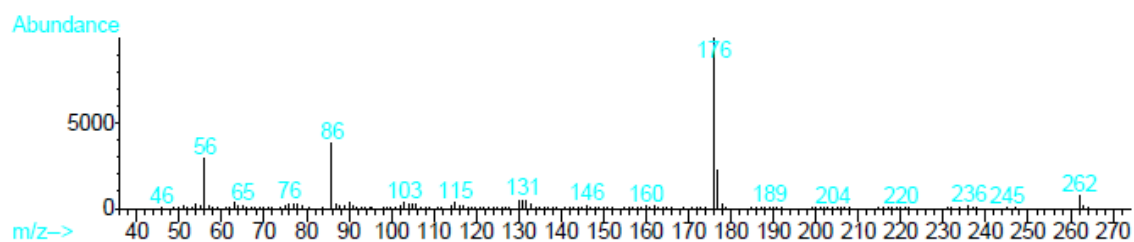
**Anexo B-1A. 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetonitrilo<sub>1a</sub>**



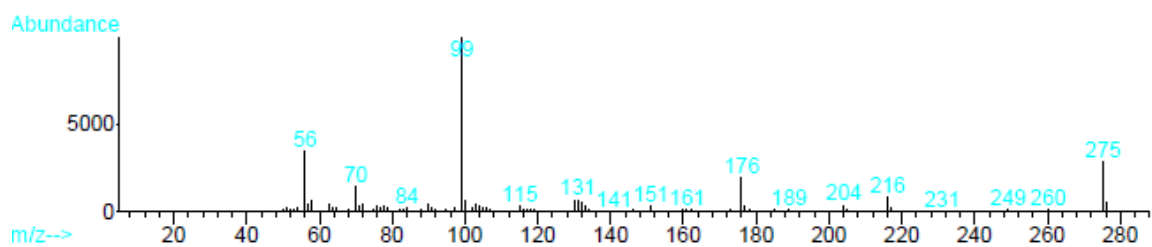
**Anexo B-1B. 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetonitrilo <sub>1b</sub>**



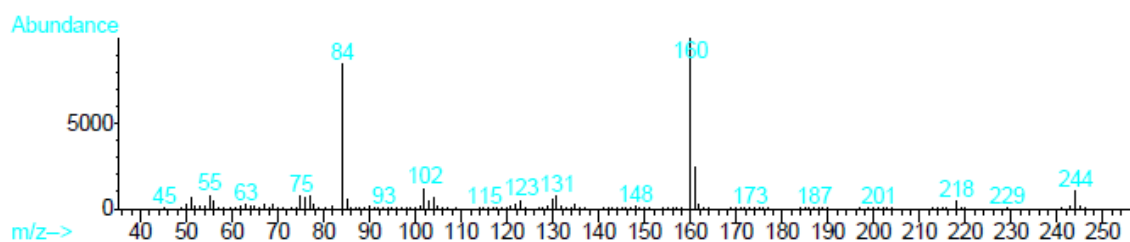
**Anexo B-1C. 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(morfolin-4-il) acetonitrilo<sub>1c</sub>**



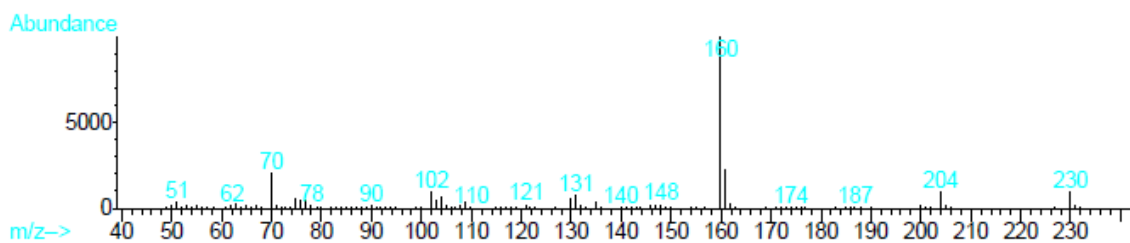
**Anexo B-1D.2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetonitrilo<sub>1d</sub>**



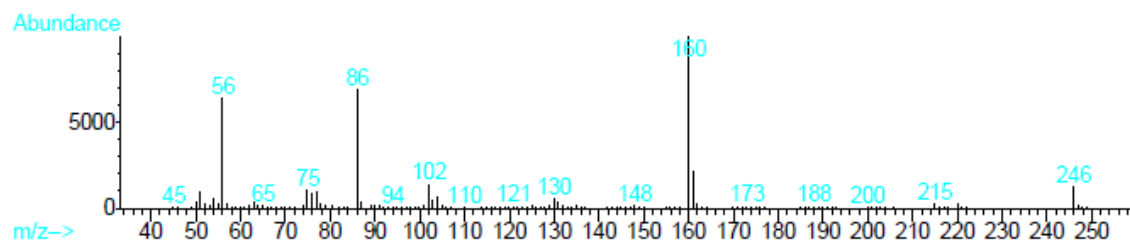
**Anexo B-2A.2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(piperidin-1-il) acetonitrilo<sub>2a</sub>**



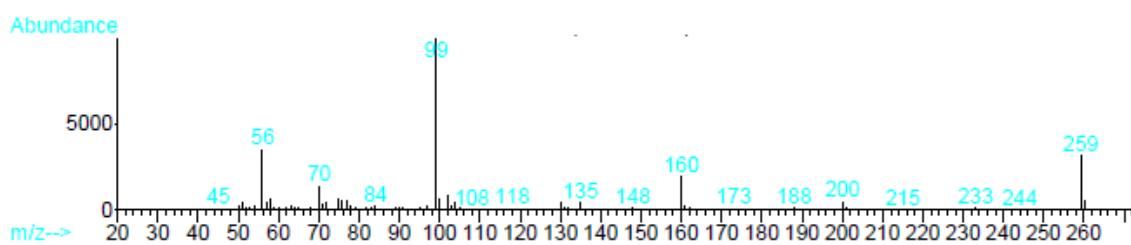
**Anexo B-2B.2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetonitrilo<sub>2b</sub>**



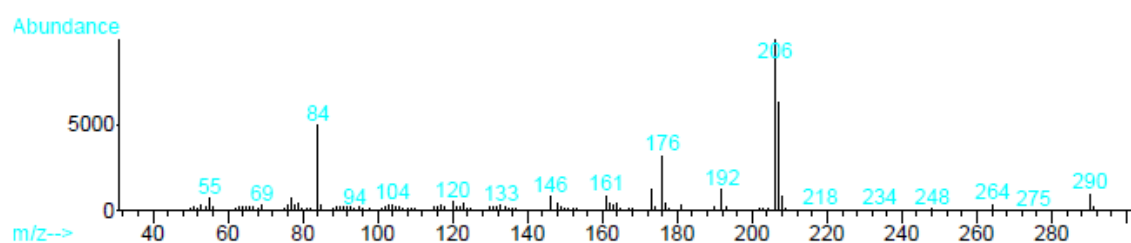
**Anexo B-2C. 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(morfolin-1-il) acetonitrilo<sub>2c</sub>**



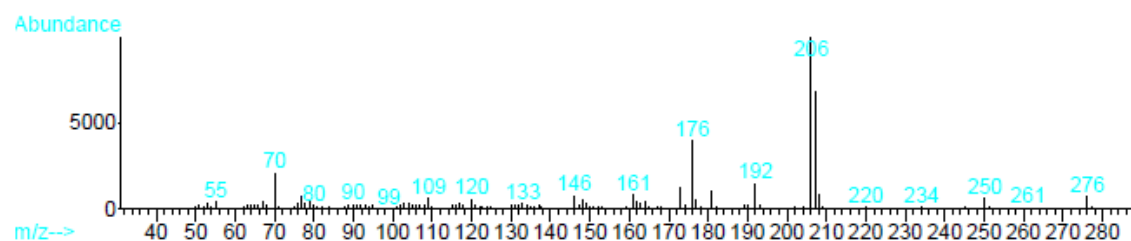
**Anexo B-2D. 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetonitrilo 2d**



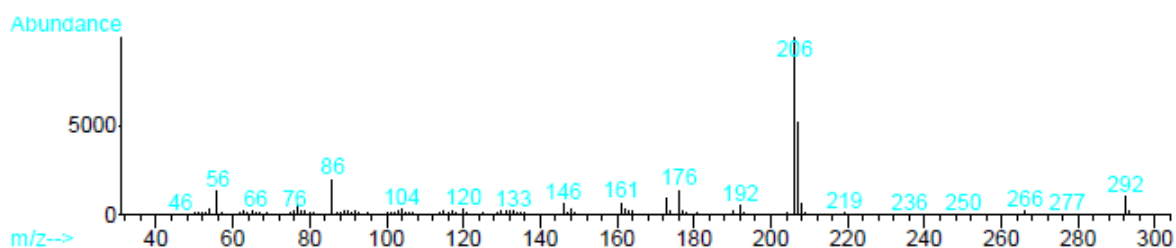
**Anexo B-3A. 2-(Piperidin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetonitrilo 3a**



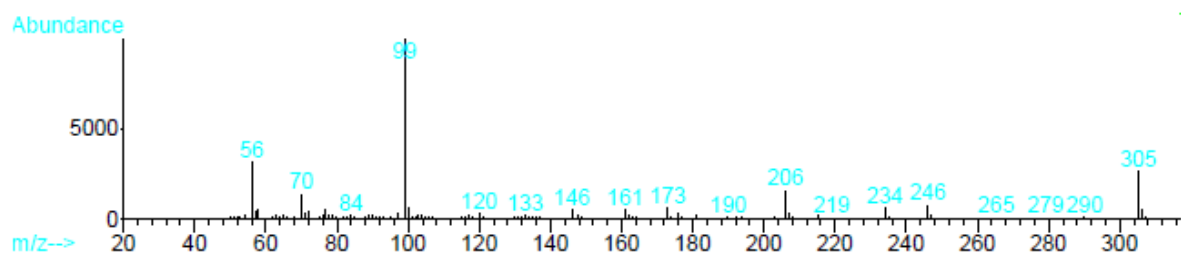
**Anexo B-3B. 2-(Pirrolidin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetonitrilo 3b**



**Anexo B-3C. 2-Morfolino-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetonitrilo 3c**

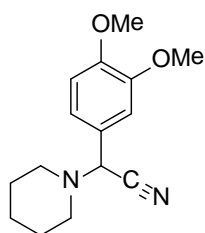


**Anexo B-3D. 2-(4-Metilpiperazin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetoniitrilo**3d

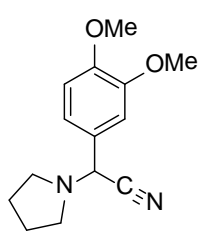


**ANEXOS C**  
**Espectros de RMN de los compuestos sintetizados**

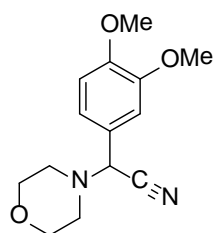
## Estructuras de los análogos evaluados



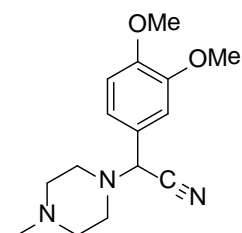
**1a**



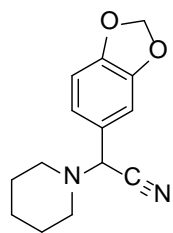
**1b**



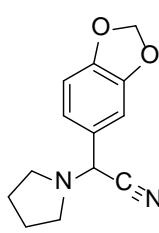
**1c**



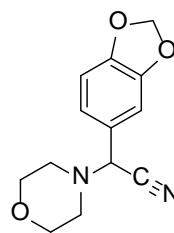
**1d**



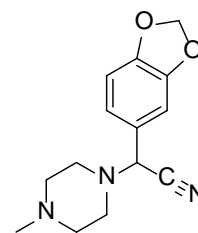
**2a**



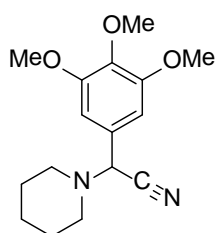
**2b**



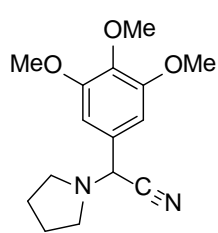
**2c**



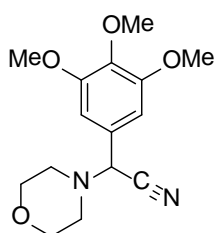
**2d**



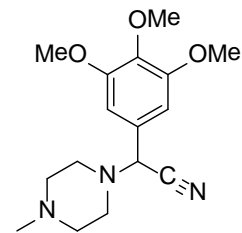
**3a**



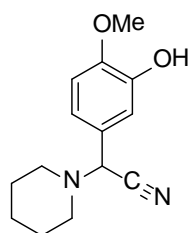
**3b**



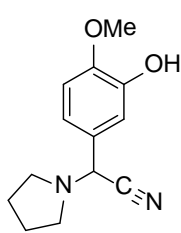
**3c**



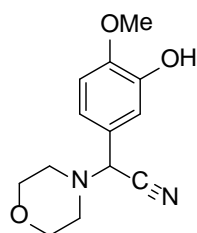
**3d**



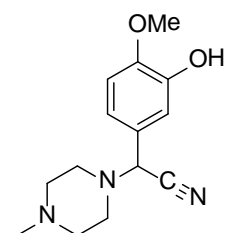
**4a**



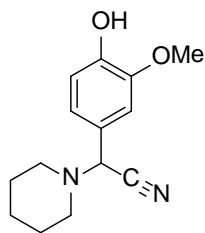
**4b**



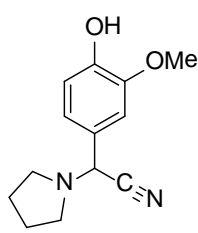
**4c**



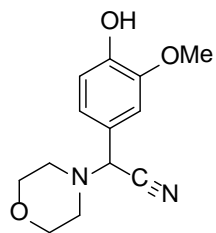
**4d**



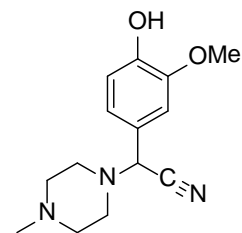
**5a**



**5b**

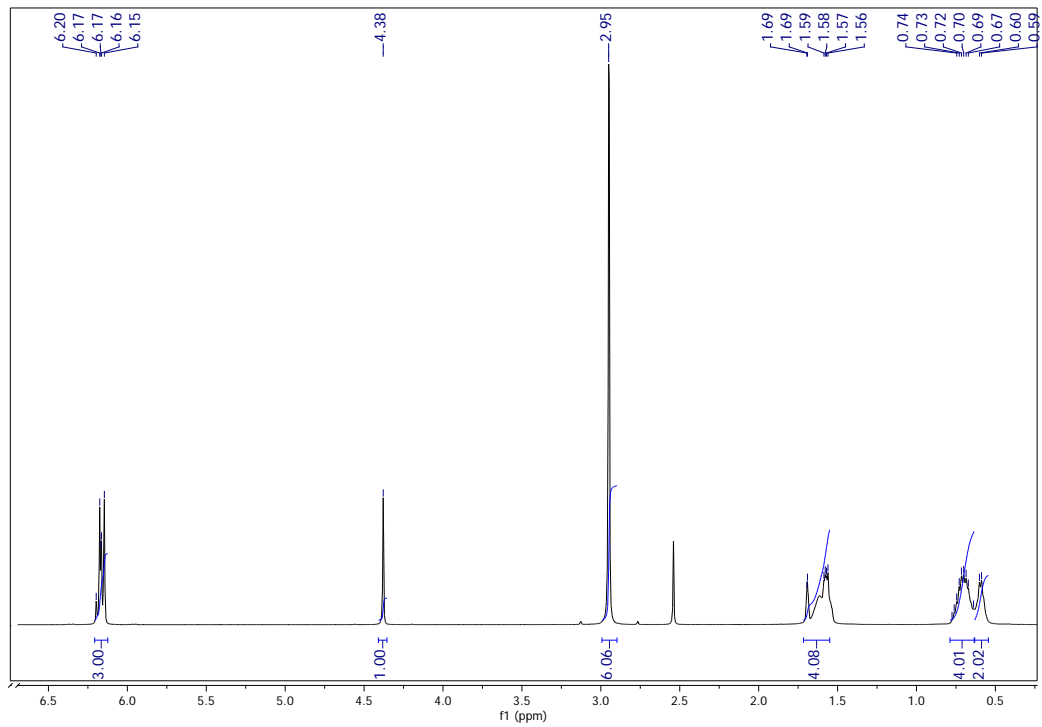


**5c**

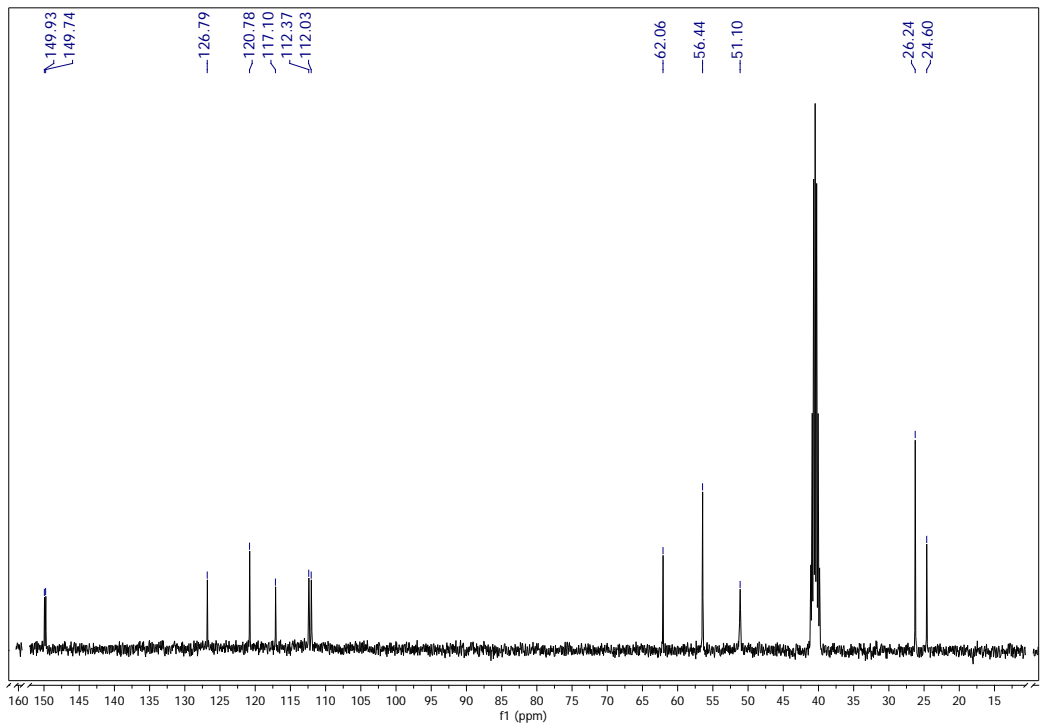


**5d**

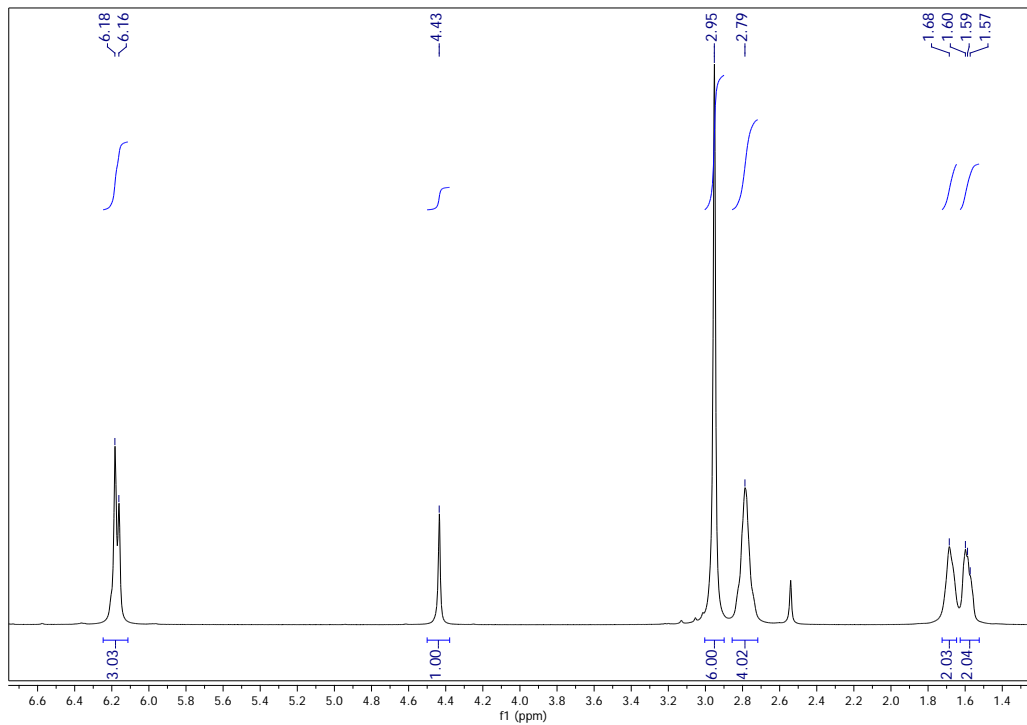
Anexo C-1A. <sup>1</sup>H-RMN.2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetonitrilo1a



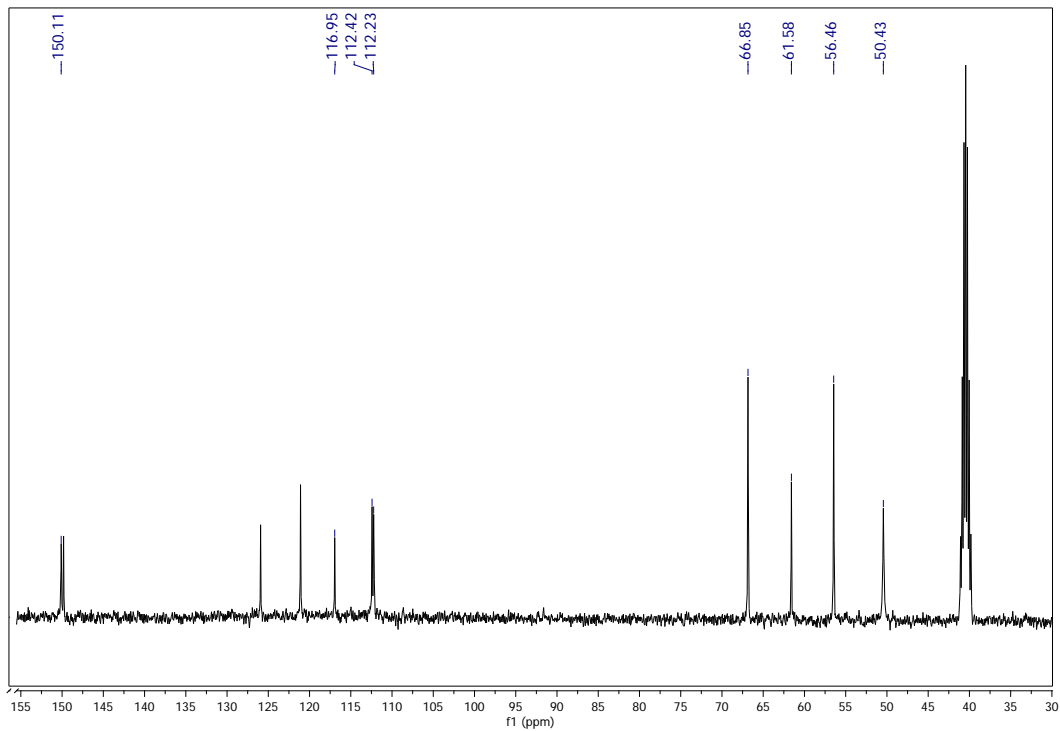
Anexo C-1A. <sup>13</sup>C-RMN.2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetonitrilo1a



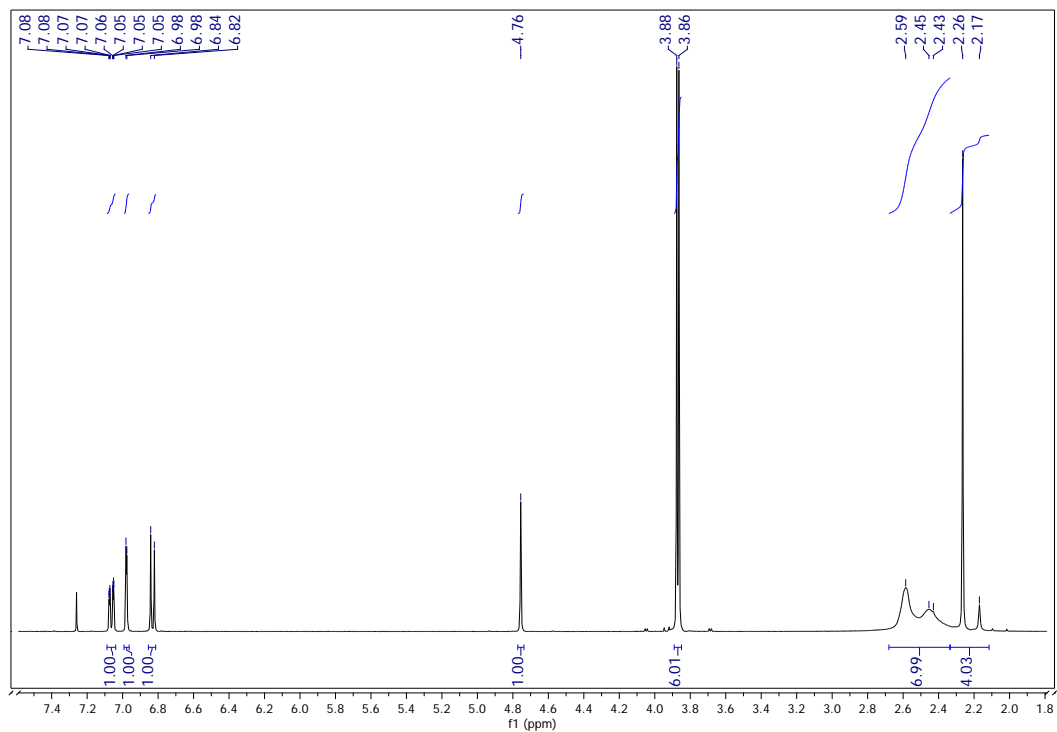
Anexo C-1C. <sup>1</sup>H-RMN. 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(morfolin-4-il) acetonitrilo<sub>1c</sub>



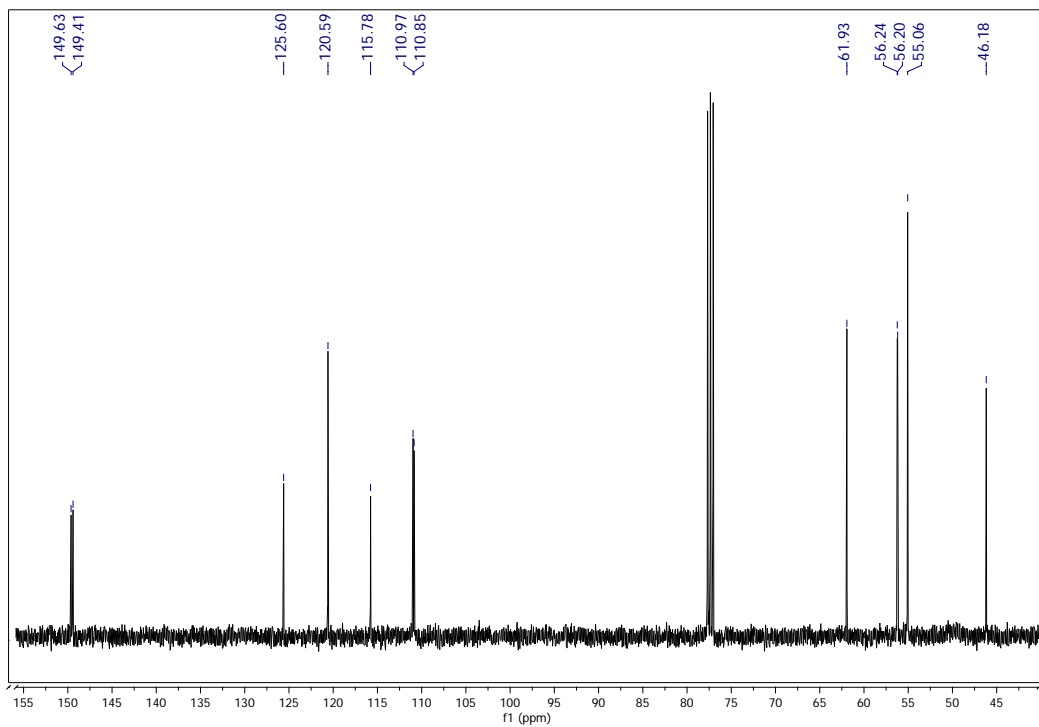
Anexo C-1C. <sup>13</sup>C-RMN. 2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(morfolin-4-il) acetonitrilo<sub>1c</sub>



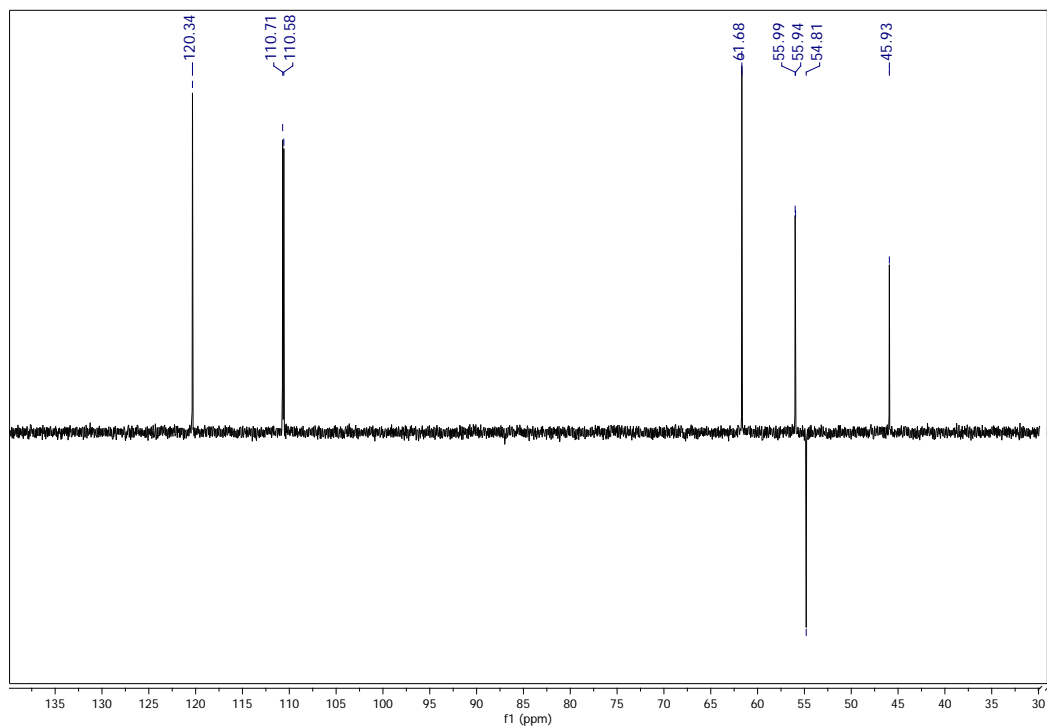
Anexo C-1D. <sup>1</sup>H-RMN.2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)acetoniitrilo1d



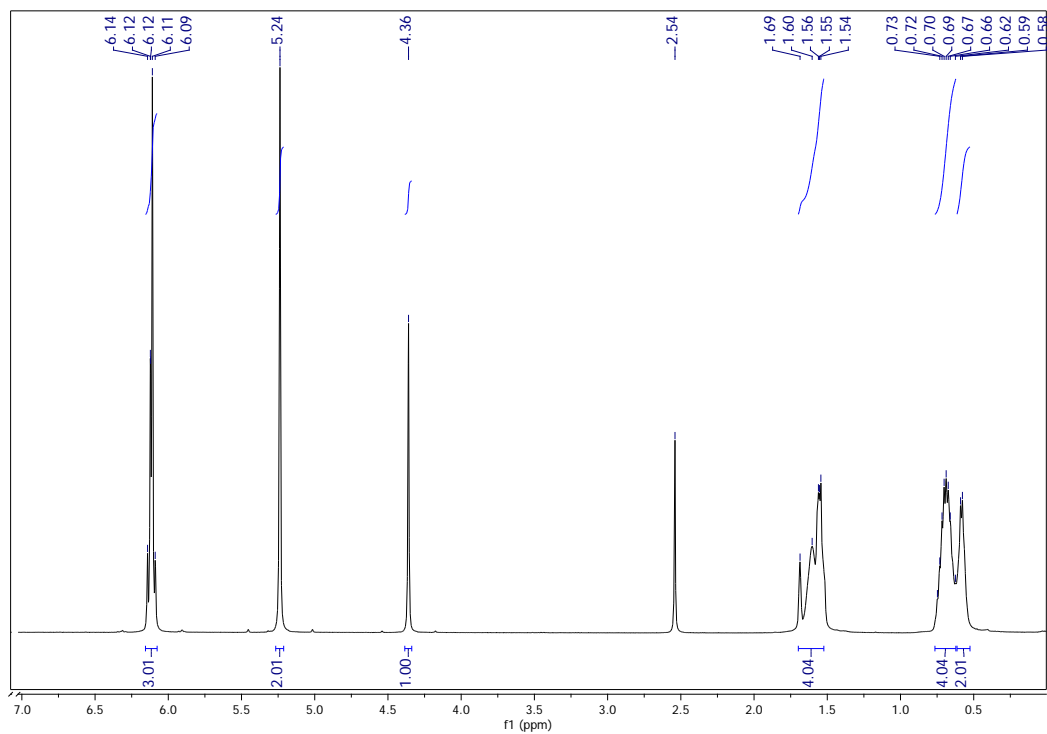
Anexo C-1D. <sup>13</sup>C-RMN.2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)acetoniitrilo1d



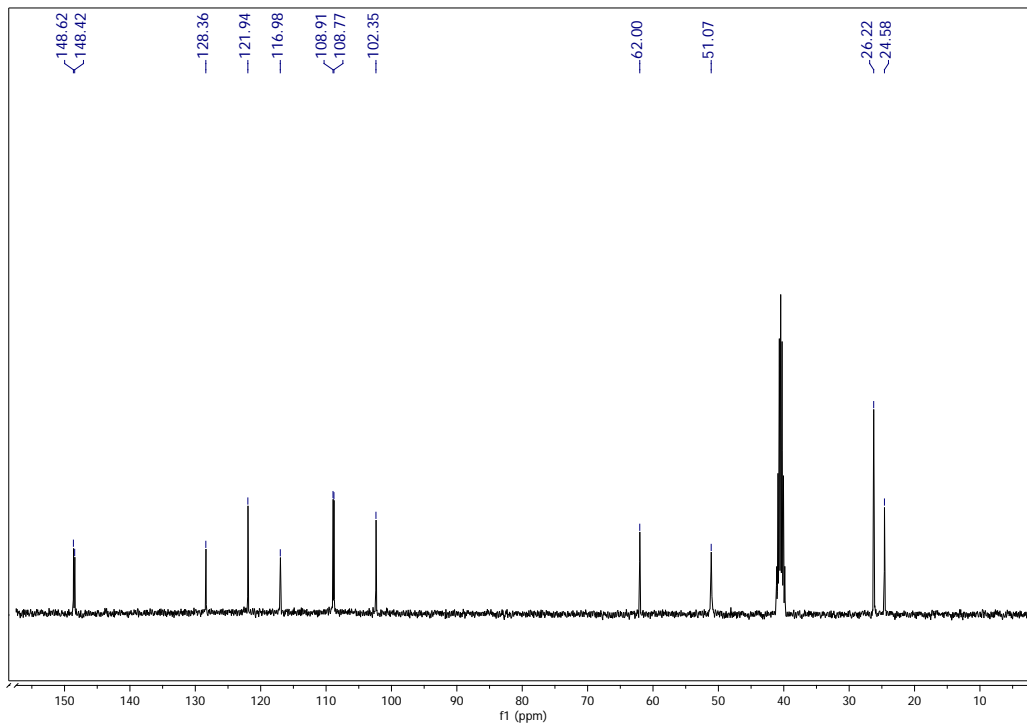
Anexo C-1D. DEPT 135.2-(3,4-Dimetoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)acetoni<sup>1</sup>trilo1d



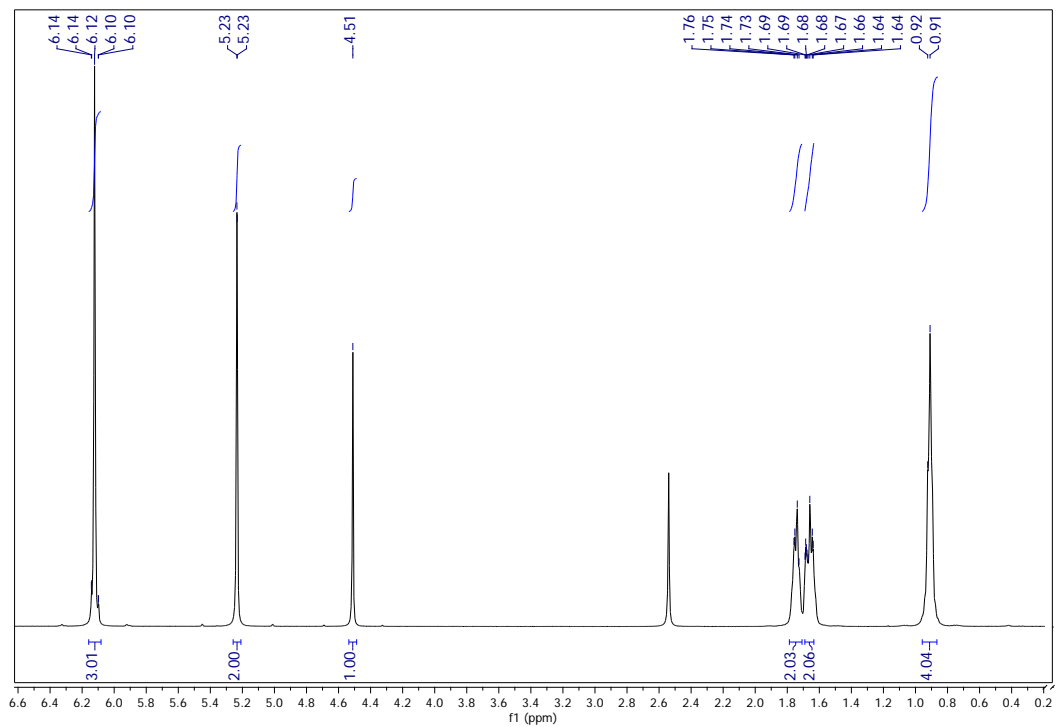
Anexo C-2A. <sup>1</sup>H-RMN.2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(piperidin-1-il) acetoni<sup>1</sup>trilo2a



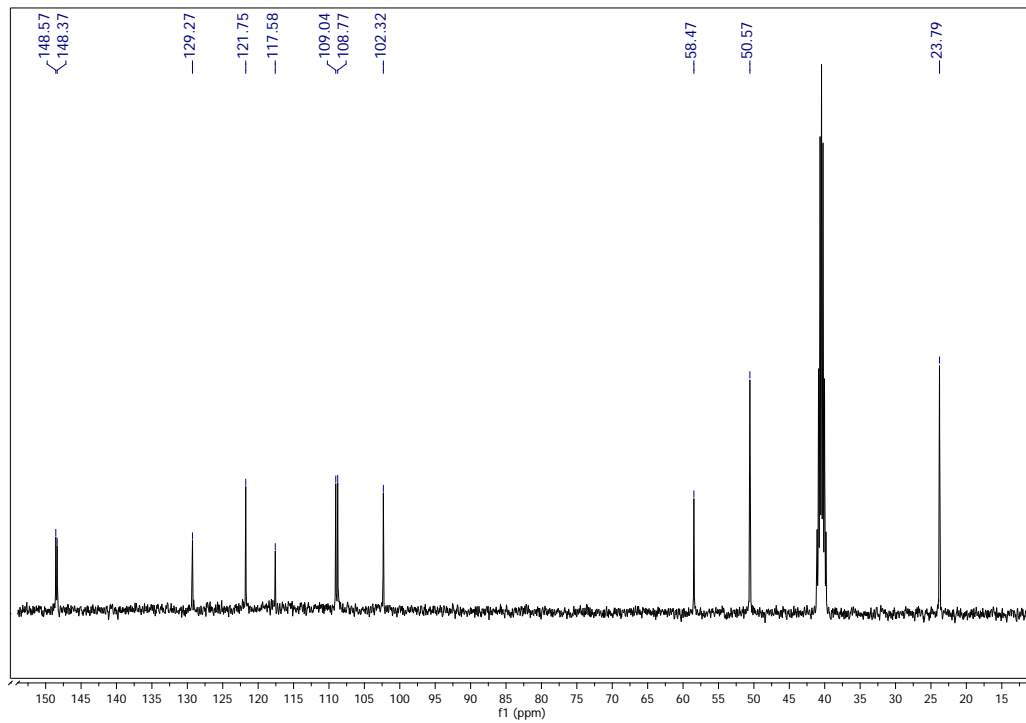
Anexo C-2A.  $^{13}\text{C}$ -RMN.2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(piperidin-1-il) acetonitrilo $_{2a}$



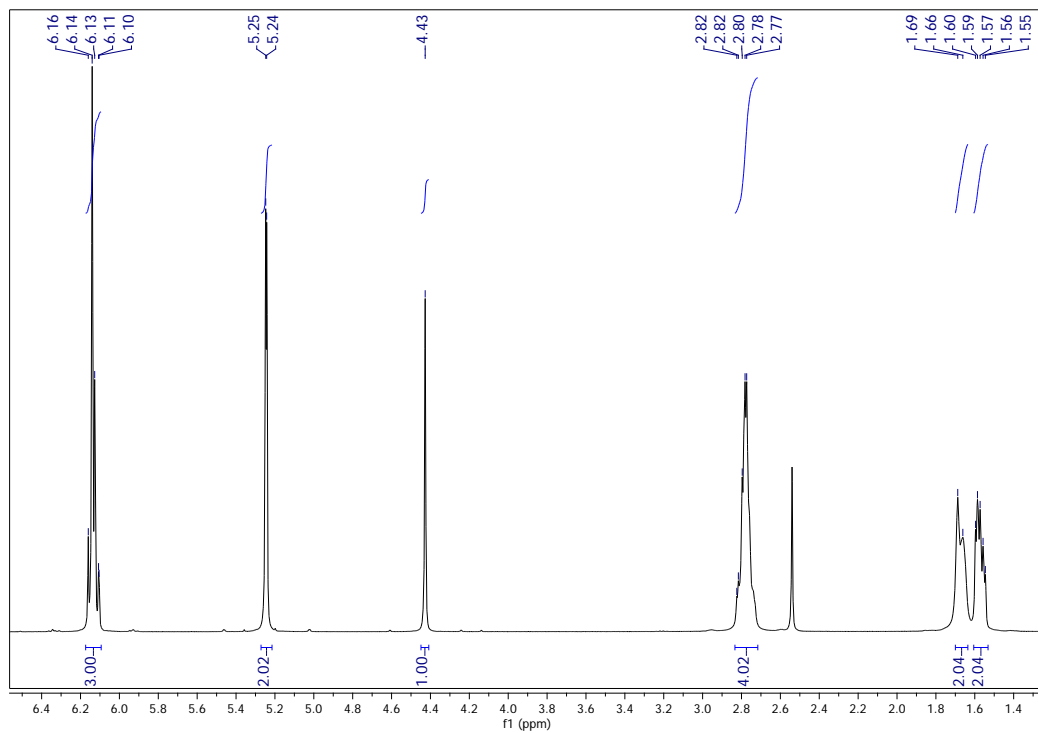
Anexo C-2B.  $^1\text{H}$ -RMN.2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetonitrilo $_{2b}$



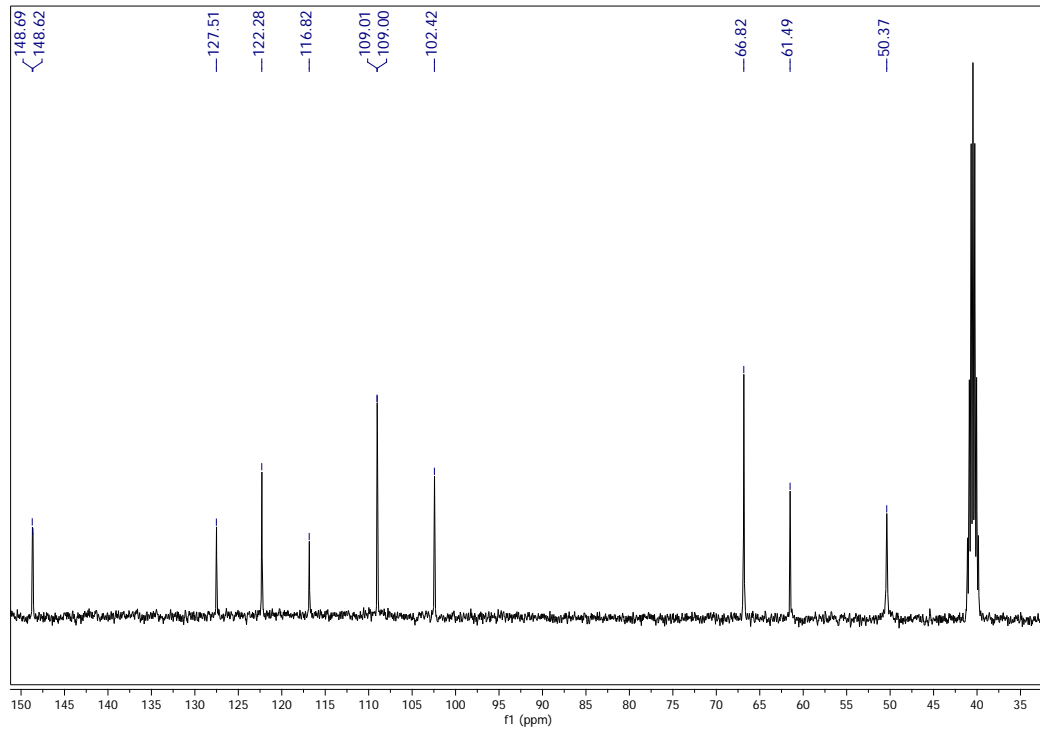
Anexo C-2B.  $^{13}\text{C}$ -RMN. 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetoneitrilo **2b**



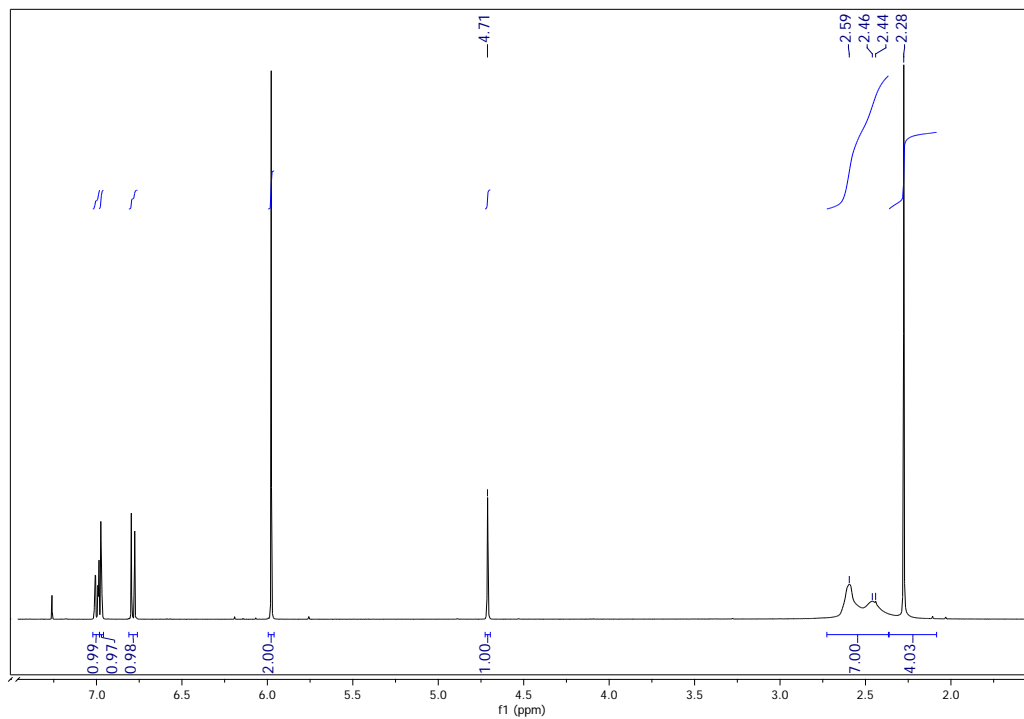
Anexo C-2C.  $^1\text{H}$ -RMN. 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(morfolin-1-il) acetoneitrilo **2c**



Anexo C-2C. <sup>13</sup>C-RMN. 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(morfolin-1-il) acetonitrilo 2c

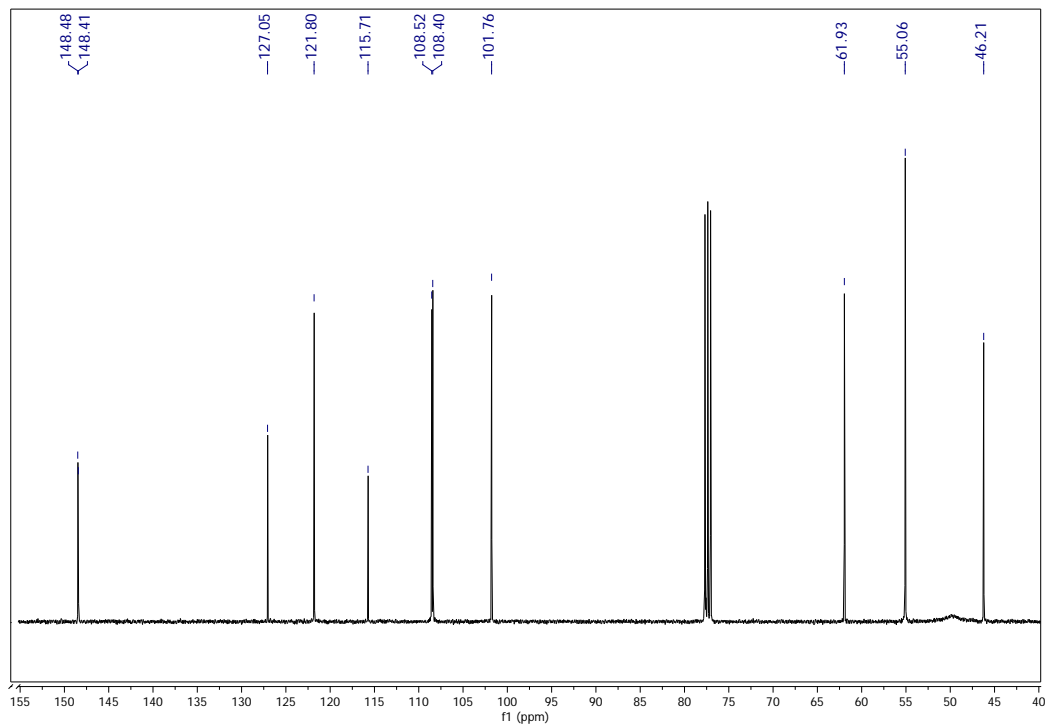


Anexo C-2D. <sup>1</sup>H-RMN. 2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetonitrilo 2d

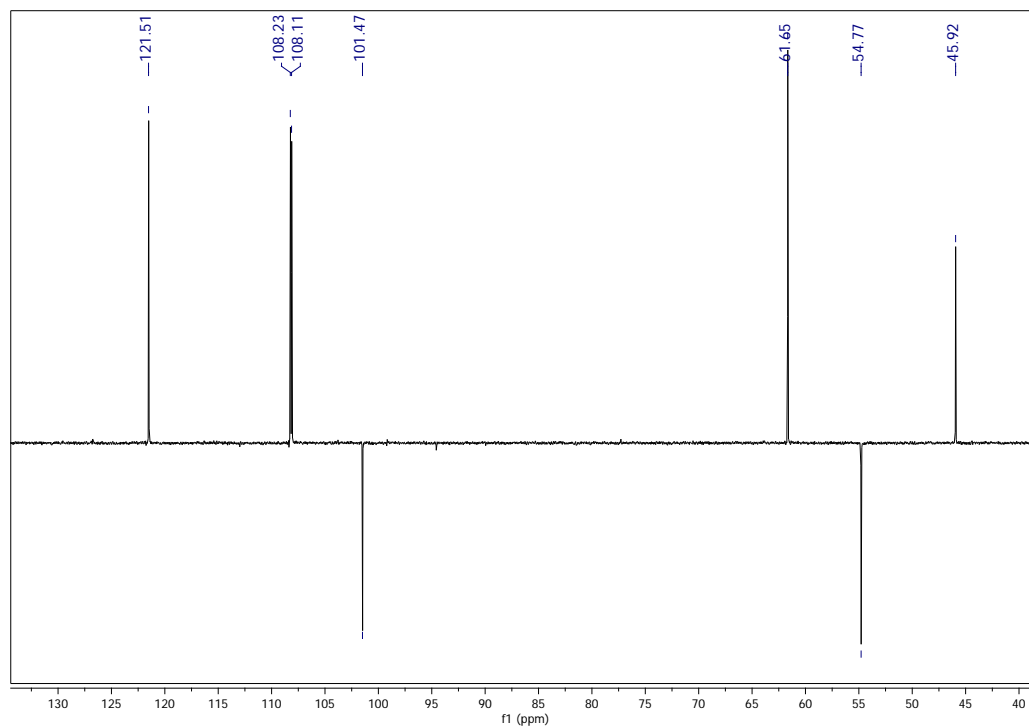


Anexo  
acetoneitrilo2d

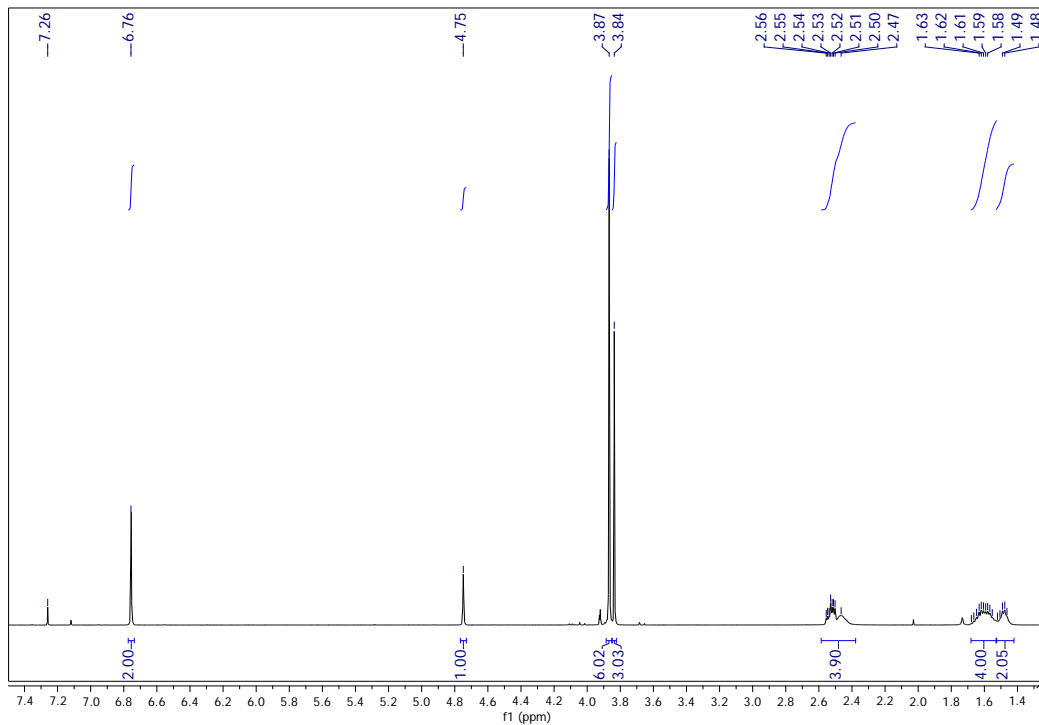
C-2D.  $^{13}\text{C}$ -RMN.2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)



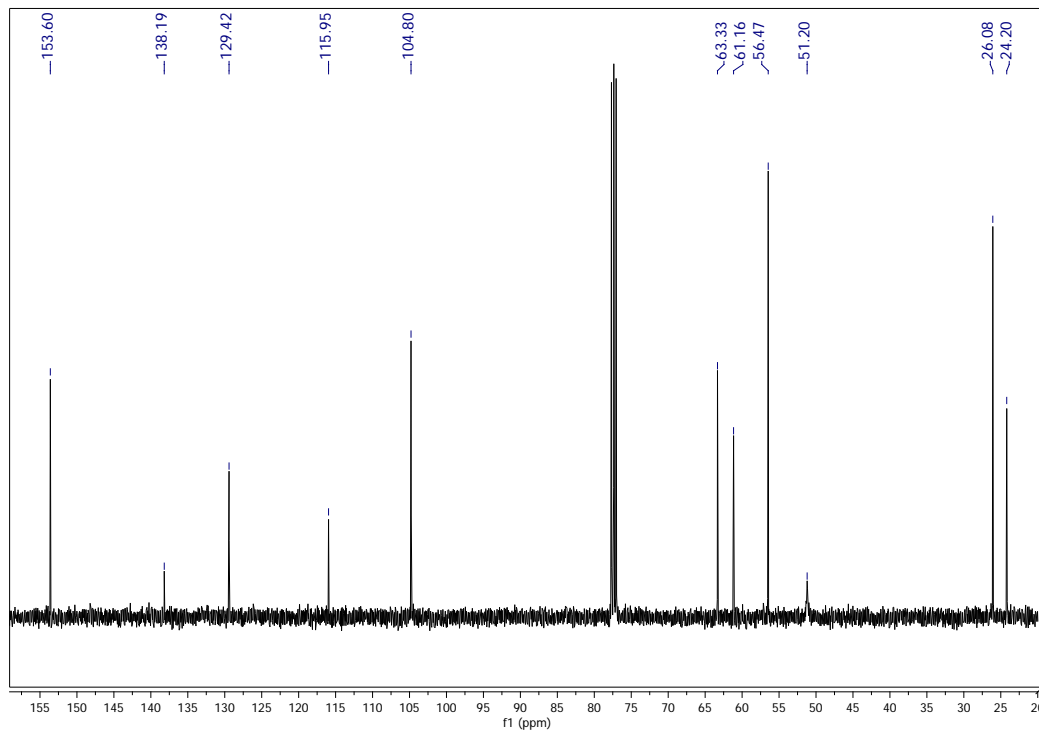
Anexo C-2D. DEPT 135.2-(3,4-Dioximetilenfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)  
acetoneitrilo2d



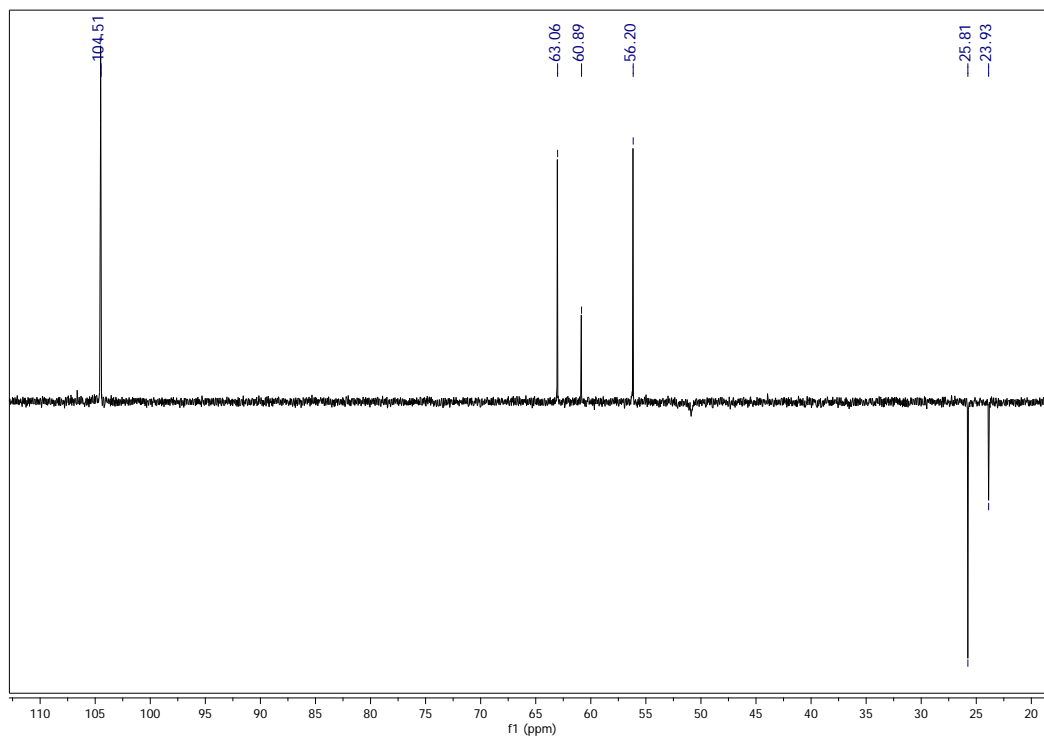
Anexo C-3A.  $^1\text{H}$ -RMN.2-(Piperidin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetnitrilo **3a**



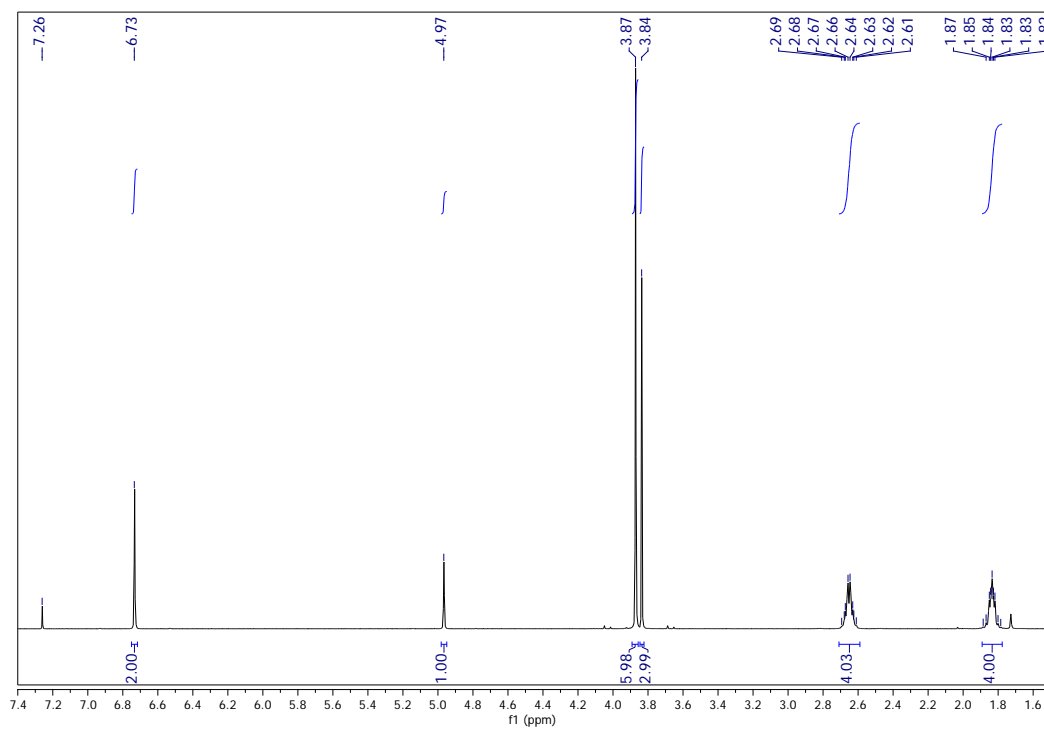
Anexo C-3A.  $^{13}\text{C}$ -RMN.2-(Piperidin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetnitrilo **3a**



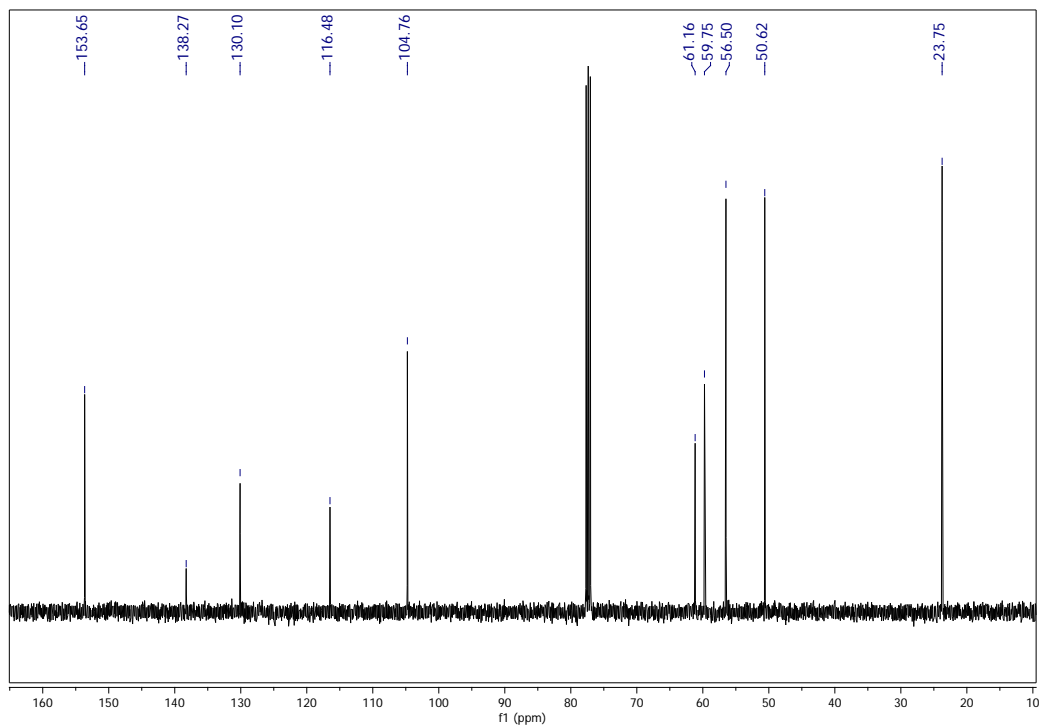
Anexo C-3A. DEPT 135.2-(Piperidin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetonitrilo **3a**



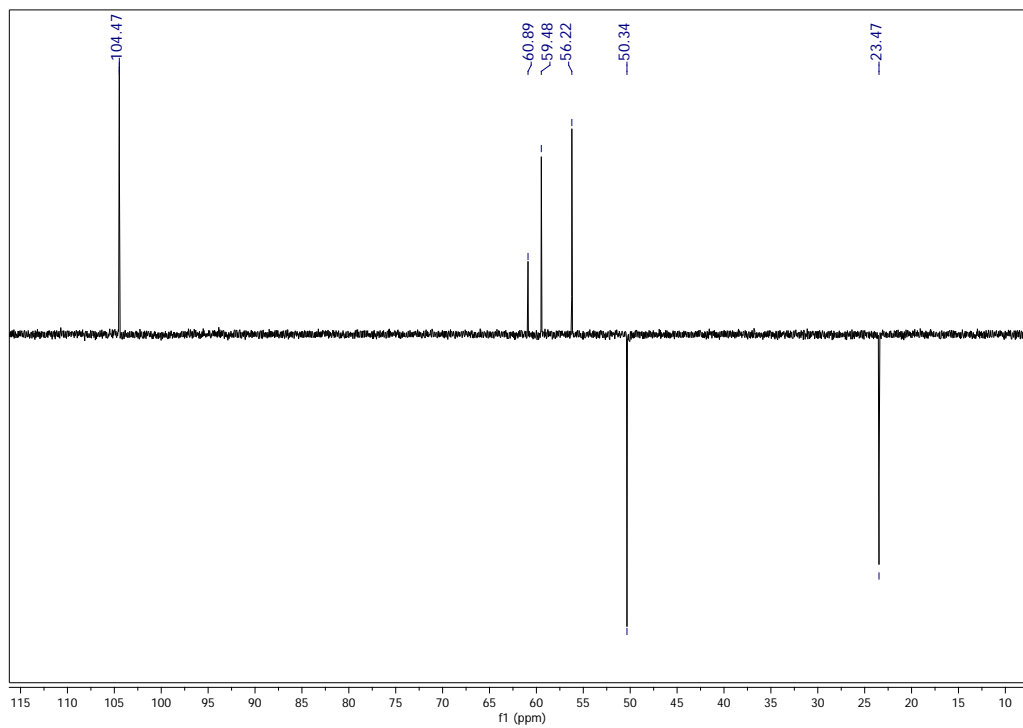
Anexo C-3B. <sup>1</sup>H-RMN.2-(Pirrolidin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetonitrilo **3b**



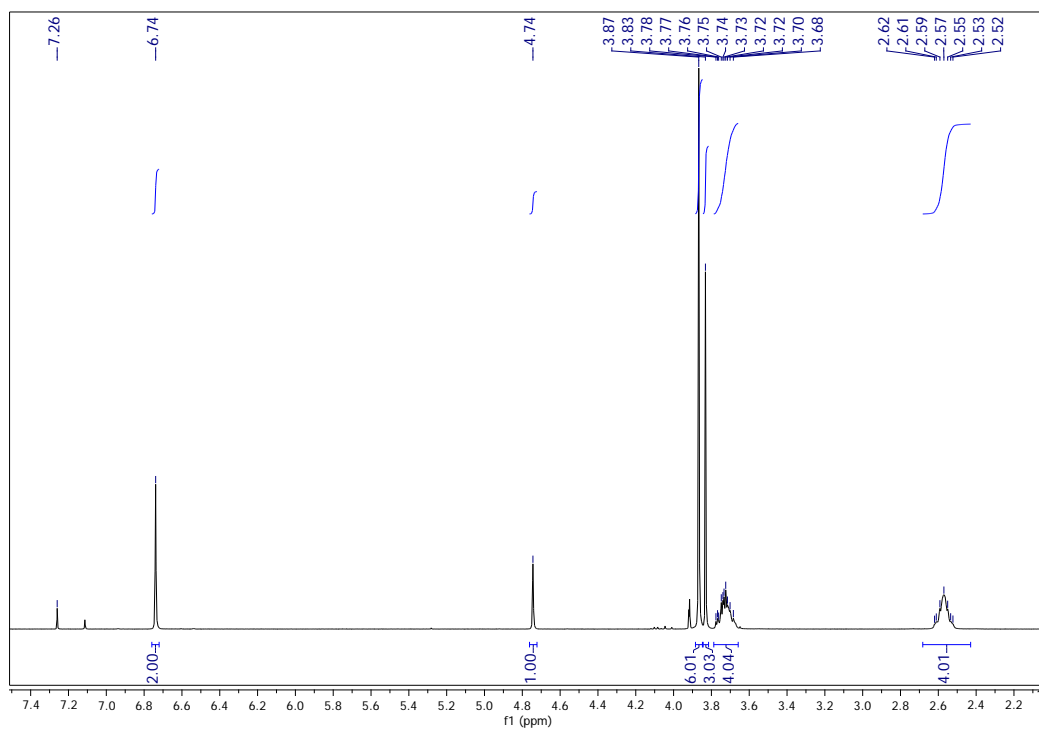
Anexo C-3B.  $^{13}\text{C}$ -RMN.2-(Pirrolidin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetonitrilo **3b**



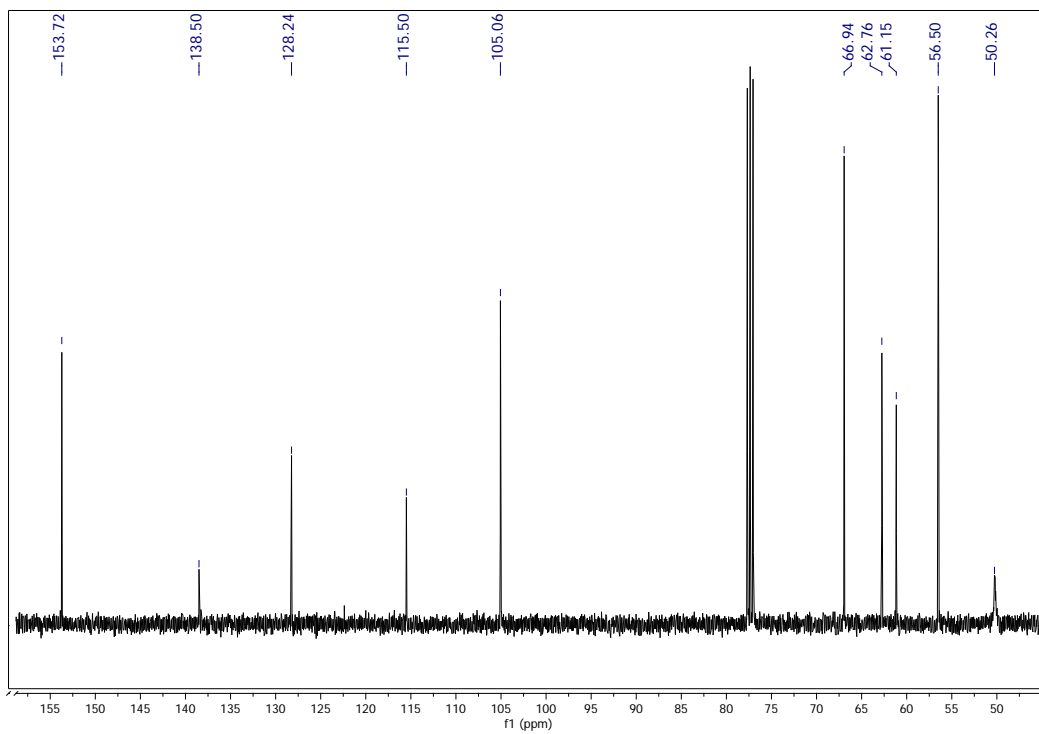
Anexo C-3B. DEPT 135.2-(Pirrolidin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetonitrilo **3b**



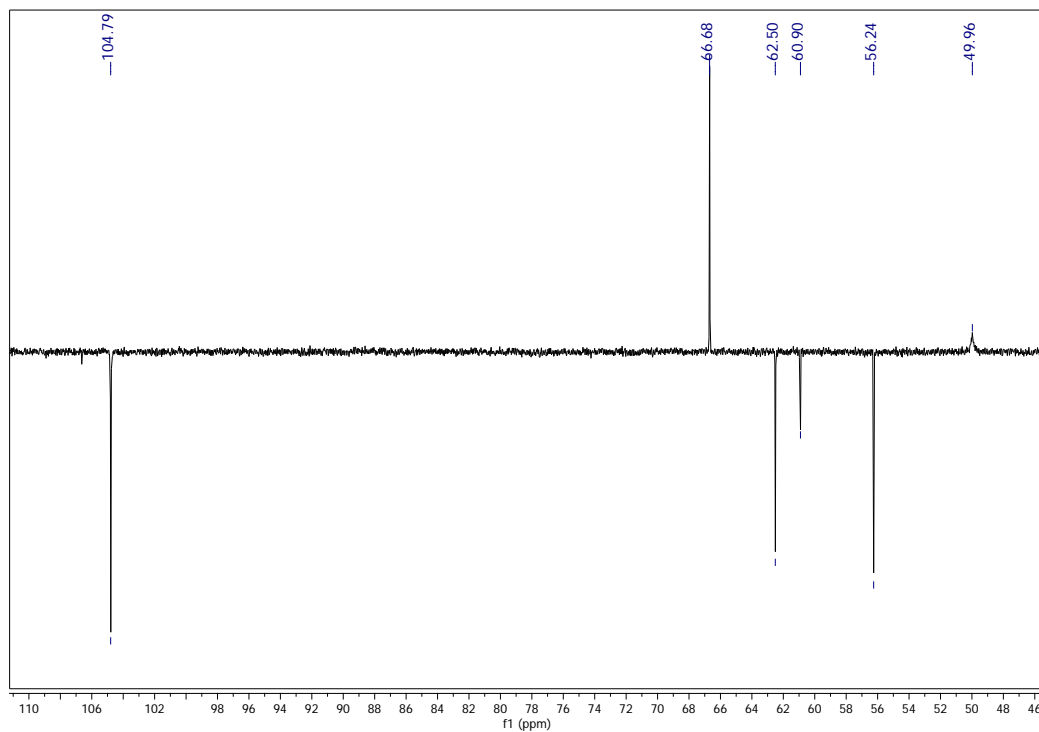
Anexo C-3C. <sup>1</sup>H-RMN.2-Morfolino-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetonitrilo **3c**



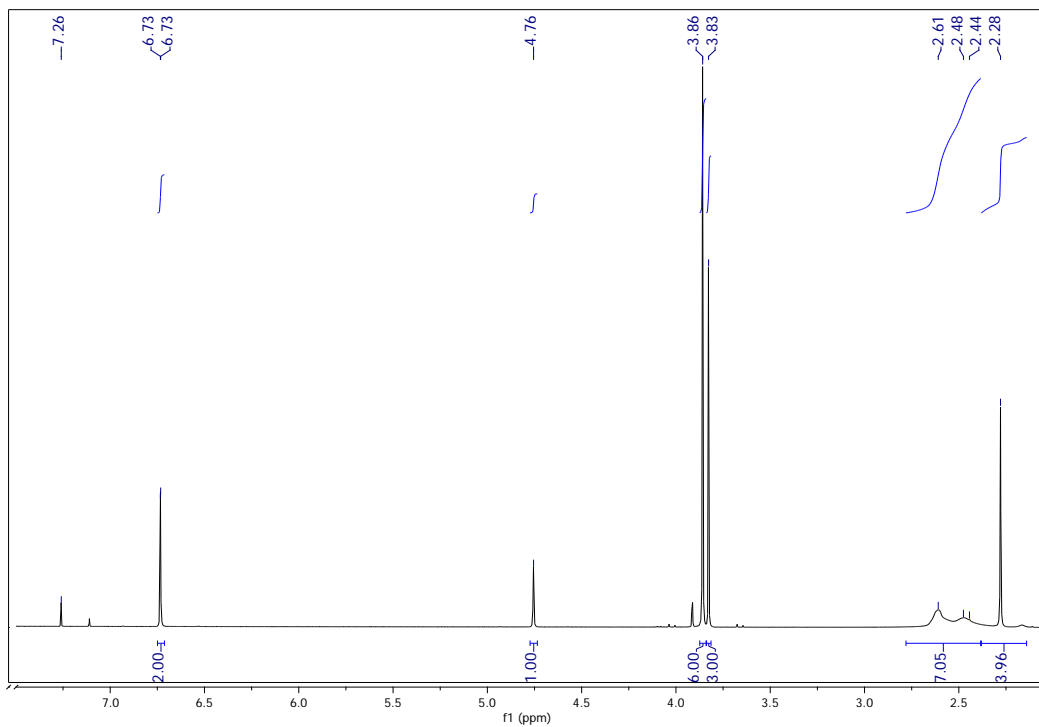
Anexo C-3C. <sup>13</sup>C-RMN.2-Morfolino-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetonitrilo **3c**



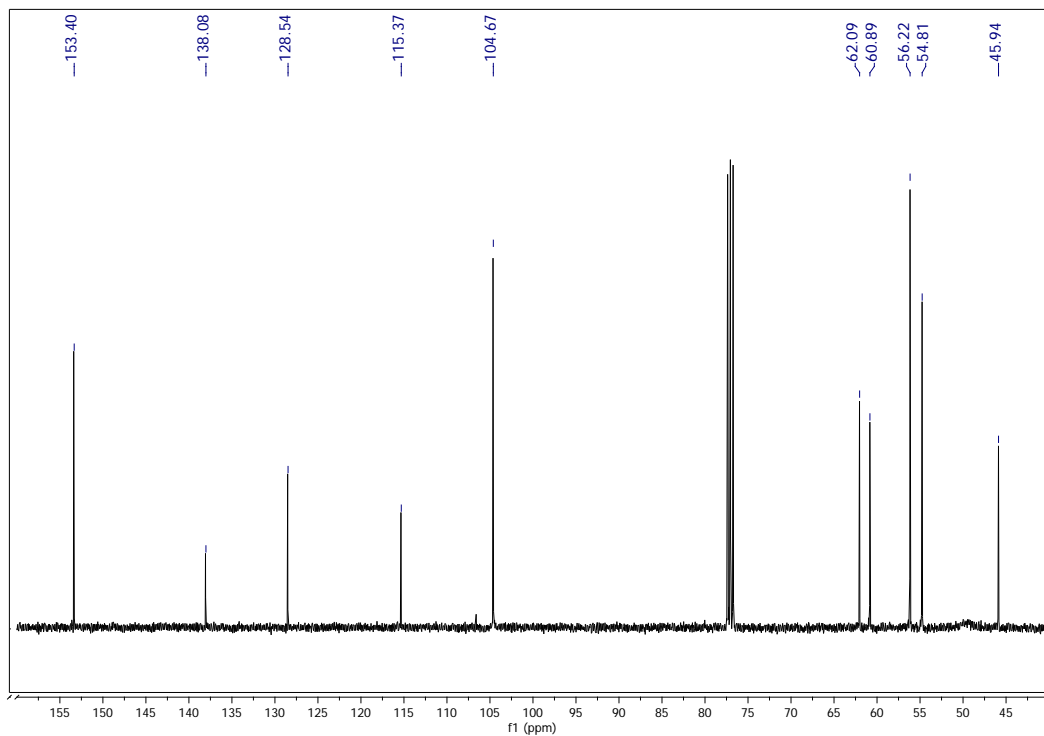
Anexo C-3C. DEPT 135.2-Morfolino-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetoneitrilo3c



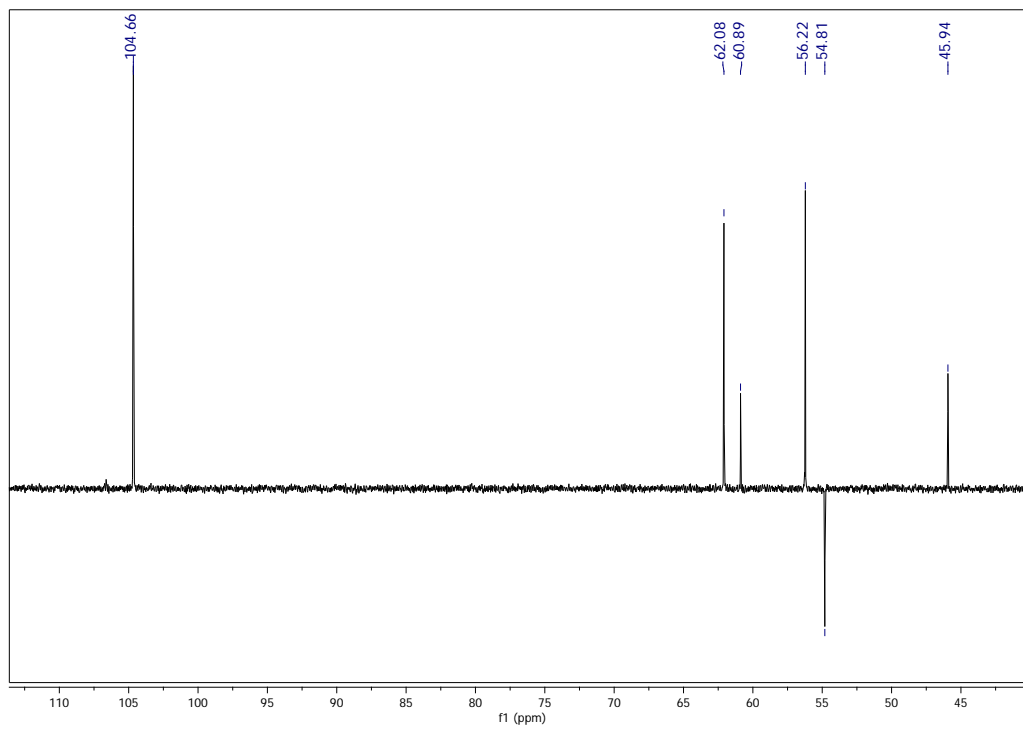
Anexo C-3D. <sup>1</sup>H-RMN.2-(4-Metilpiperazin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil) acetoneitrilo3d



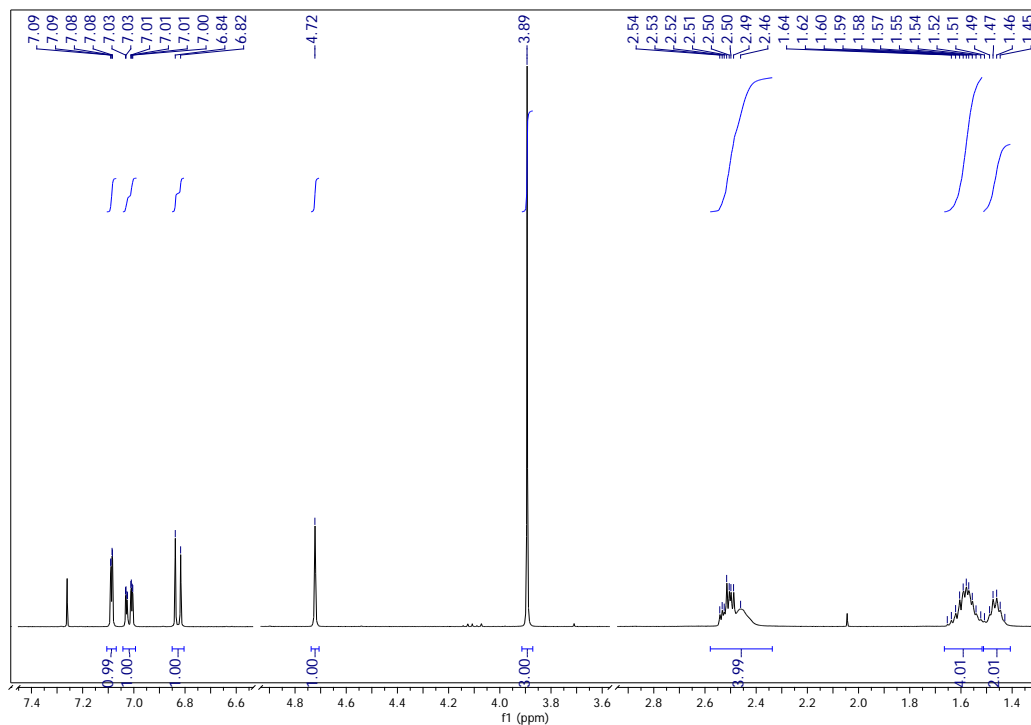
Anexo C-3D.  $^{13}\text{C}$ -RMN.2-(4-Metilpiperazin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil)  
acetoneitrilo3d



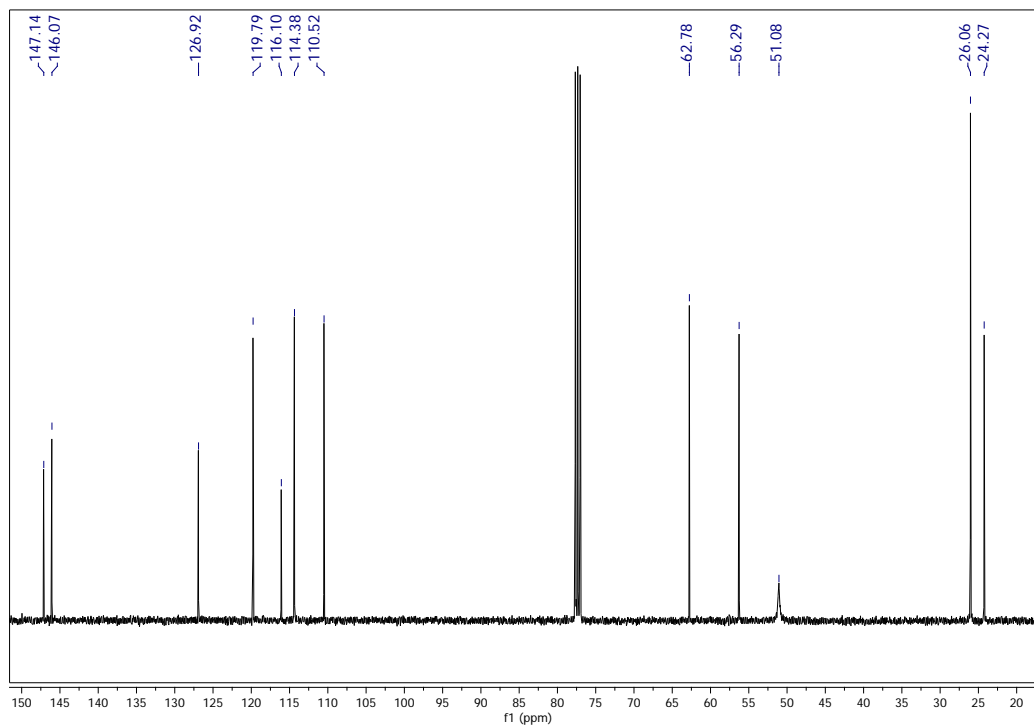
Anexo C-3D. DEPT 135.2-(4-Metilpiperazin-1-il)-2-(3,4,5-trimetoxifenil)  
acetoneitrilo3d



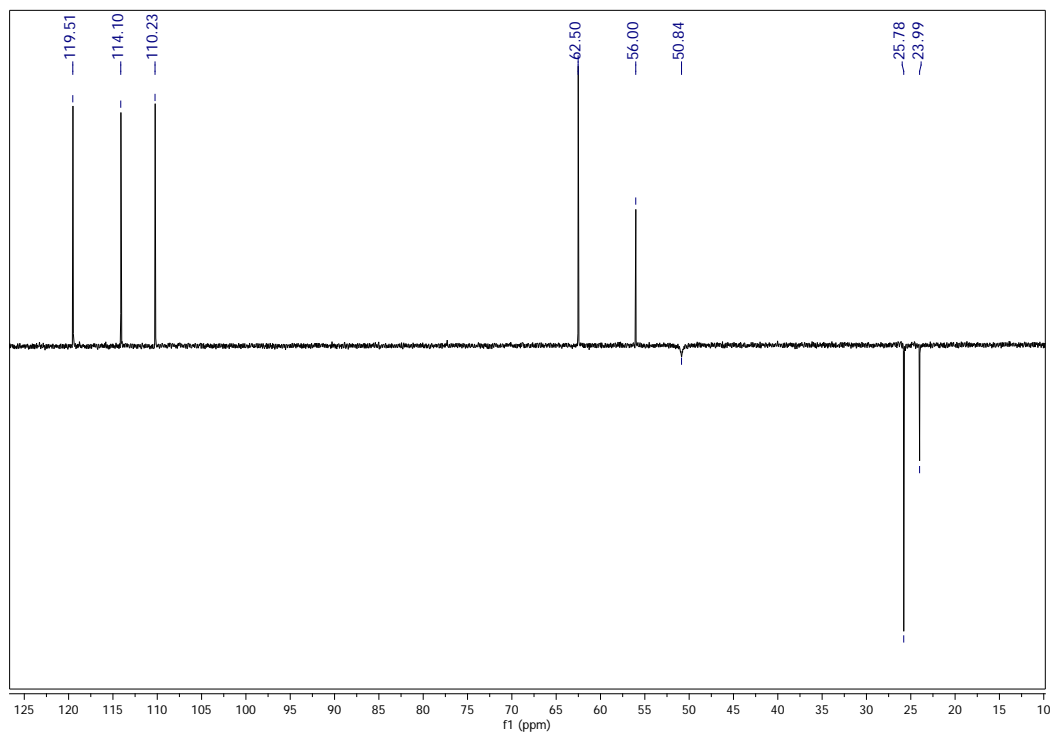
Anexo C-4A. <sup>1</sup>H-RMN.2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetonitrilo 4a



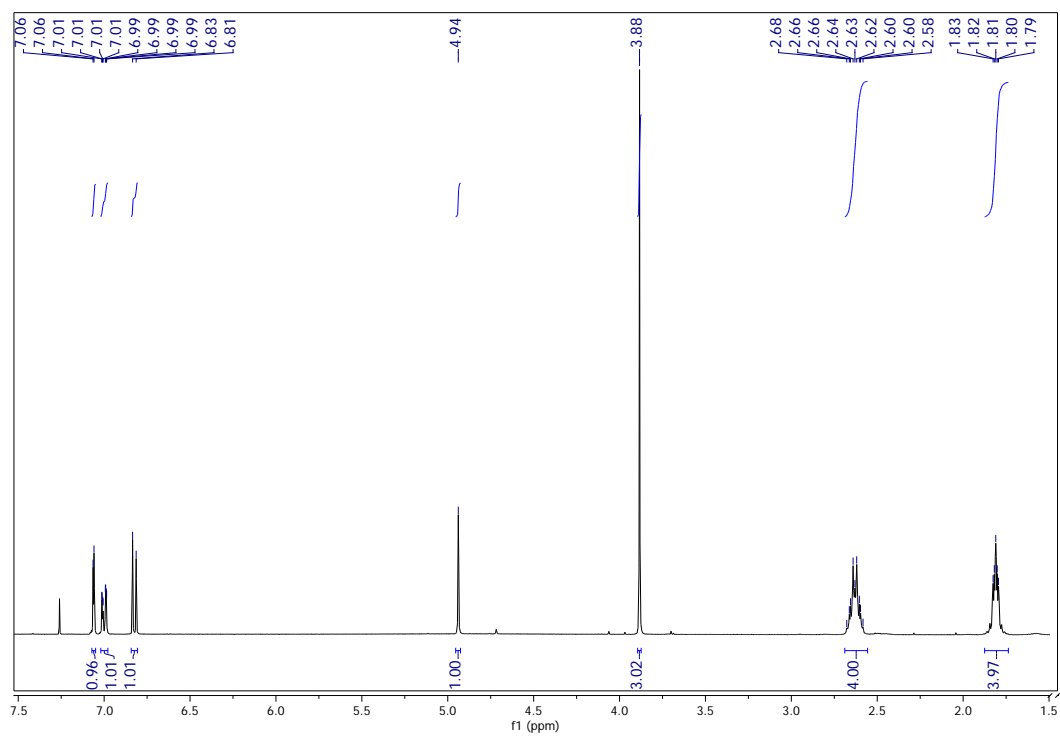
Anexo C-4A. <sup>13</sup>C-RMN.2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetonitrilo 4a



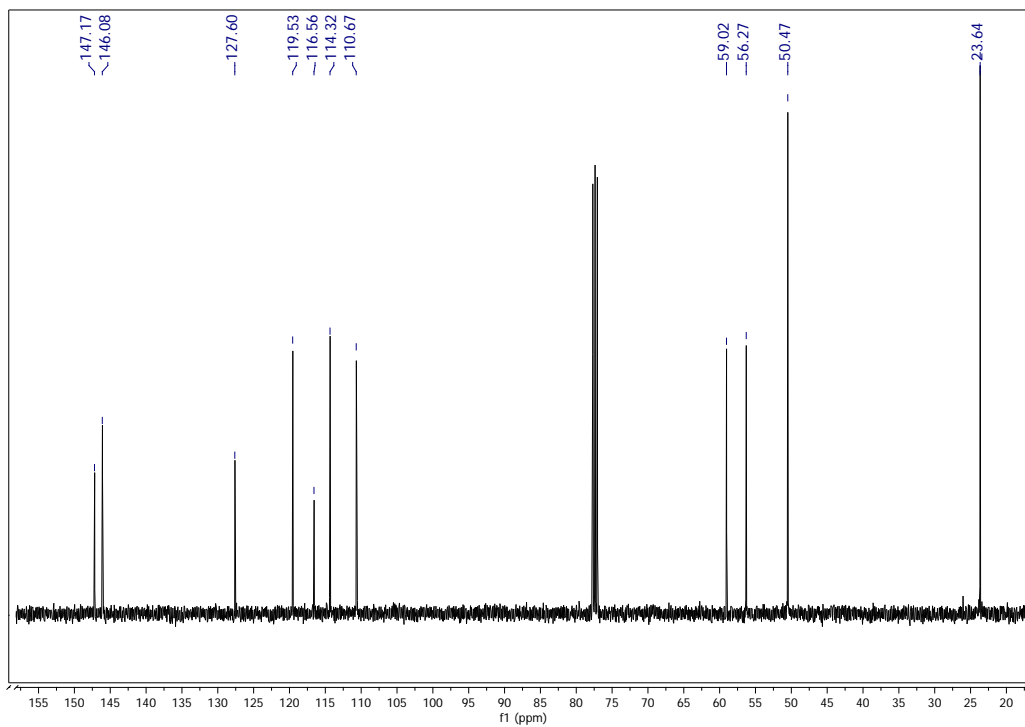
**Anexo C-4A. DEPT 135.2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetonitrilo 4a**



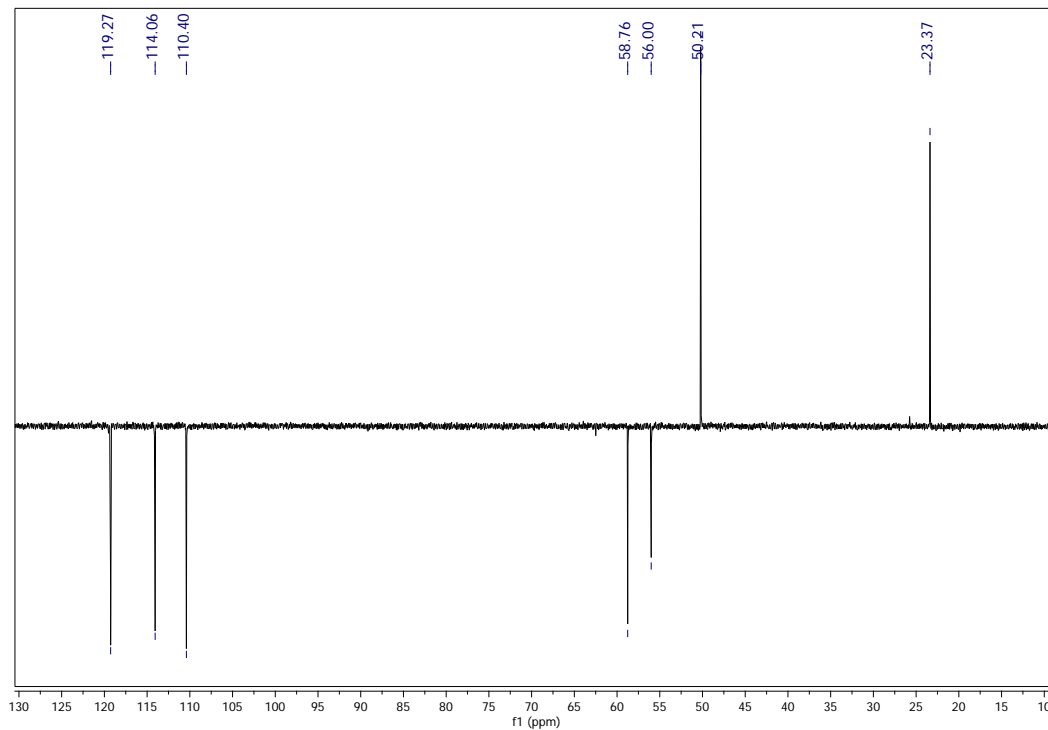
**Anexo C-4B. <sup>1</sup>H-RMN.2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetonitrilo 4b**



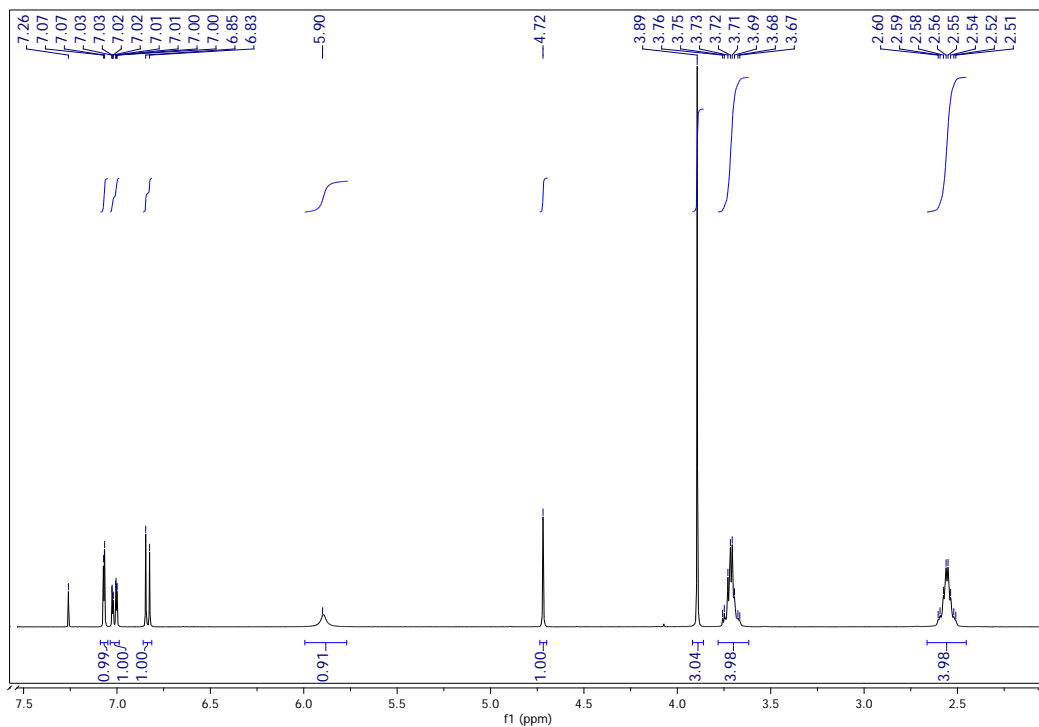
Anexo C-4B.  $^{13}\text{C}$ -RMN.2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetoneitrilo**4b**



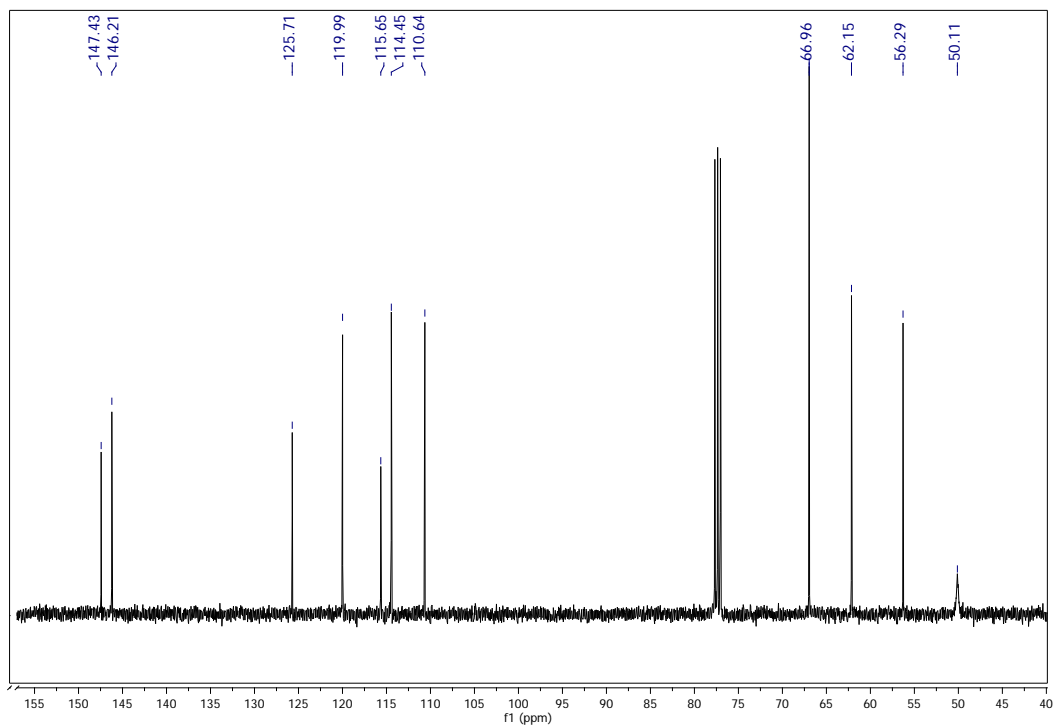
Anexo C-4B. DEPT 135.2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetoneitrilo**4b**



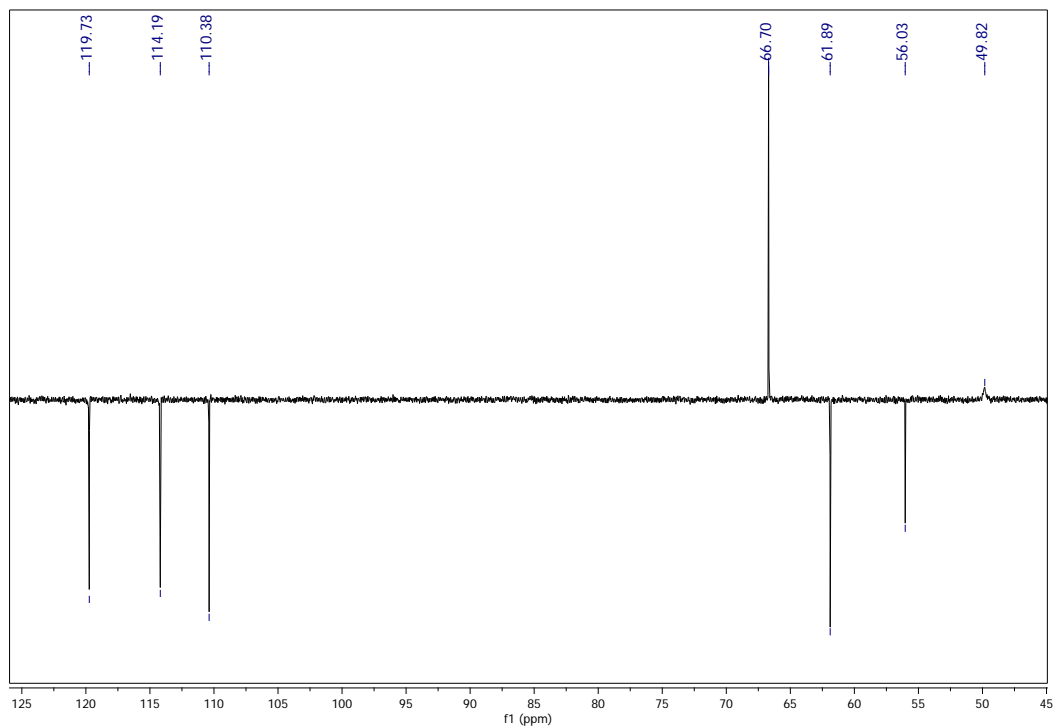
Anexo C-4C. <sup>1</sup>H-RMN.2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(morfolin-1-il) acetoneitrilo4c



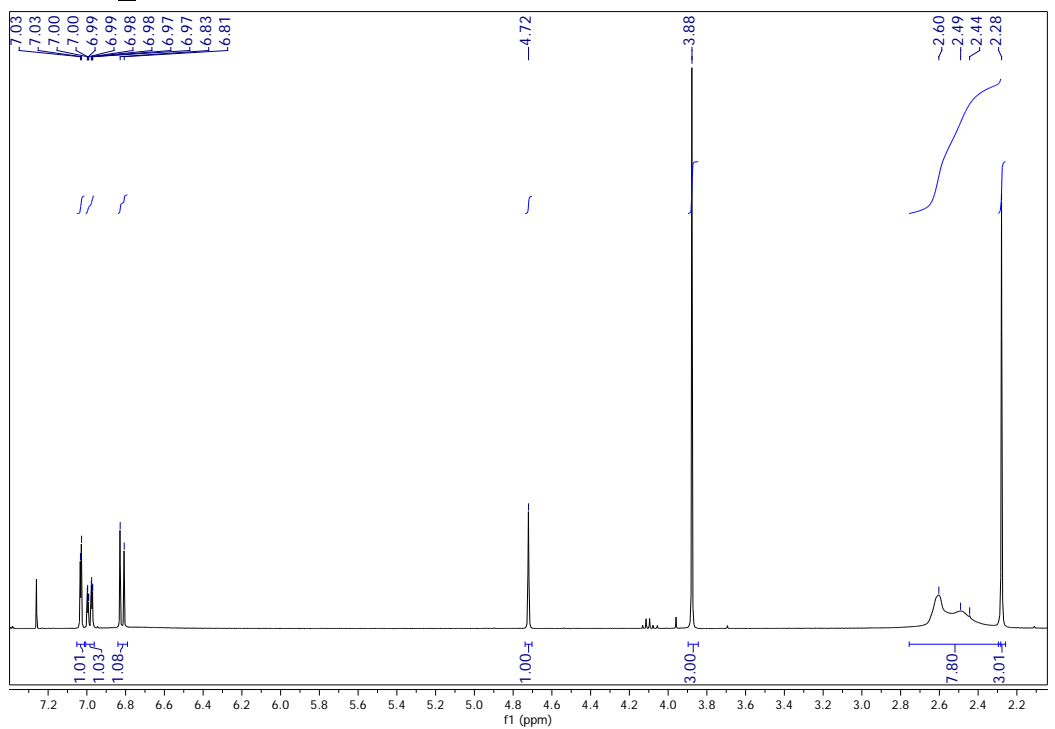
Anexo C-4C. <sup>13</sup>C-RMN.2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(morfolin-1-il) acetoneitrilo4c



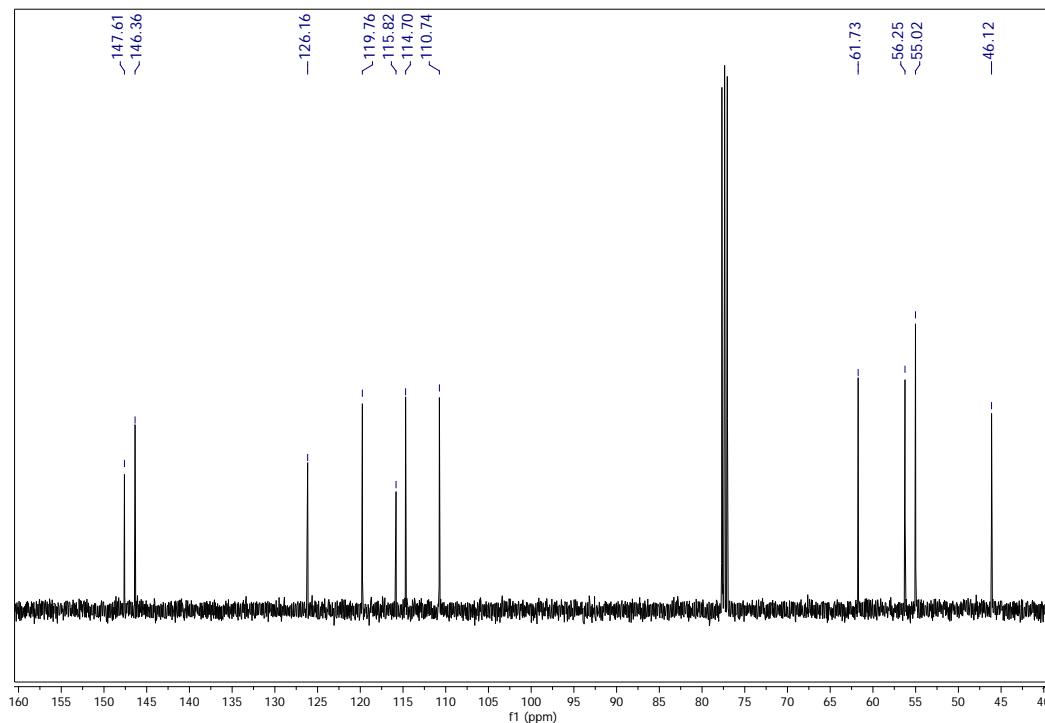
**Anexo C-4C. DEPT 135.2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(morfolin-1-il) acetonitrilo<sub>4c</sub>**



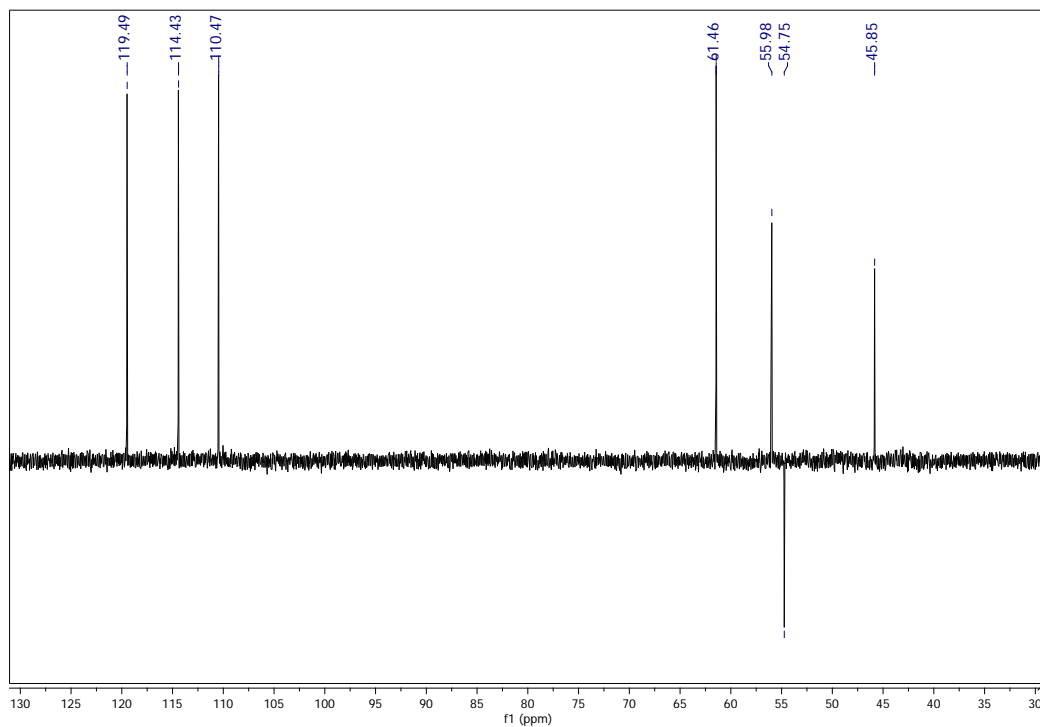
**Anexo C-4D. <sup>1</sup>H-RMN.2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)acetonitrilo<sub>4d</sub>**



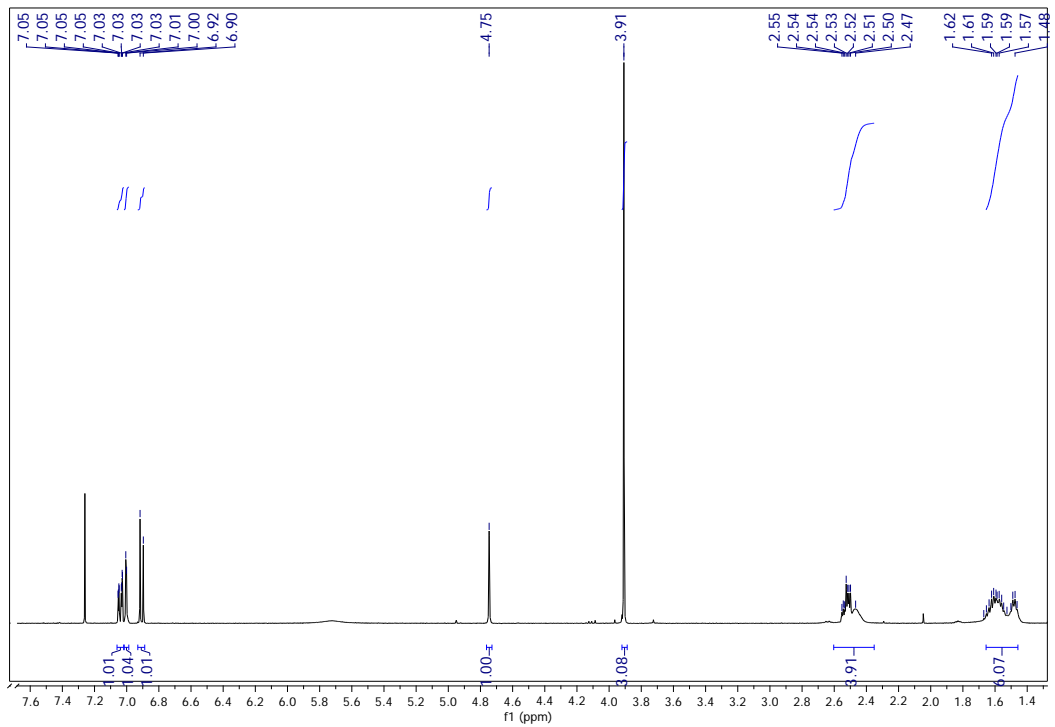
Anexo C-4D.  $^{13}\text{C}$ -RMN.2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)acetoneitrilo4d



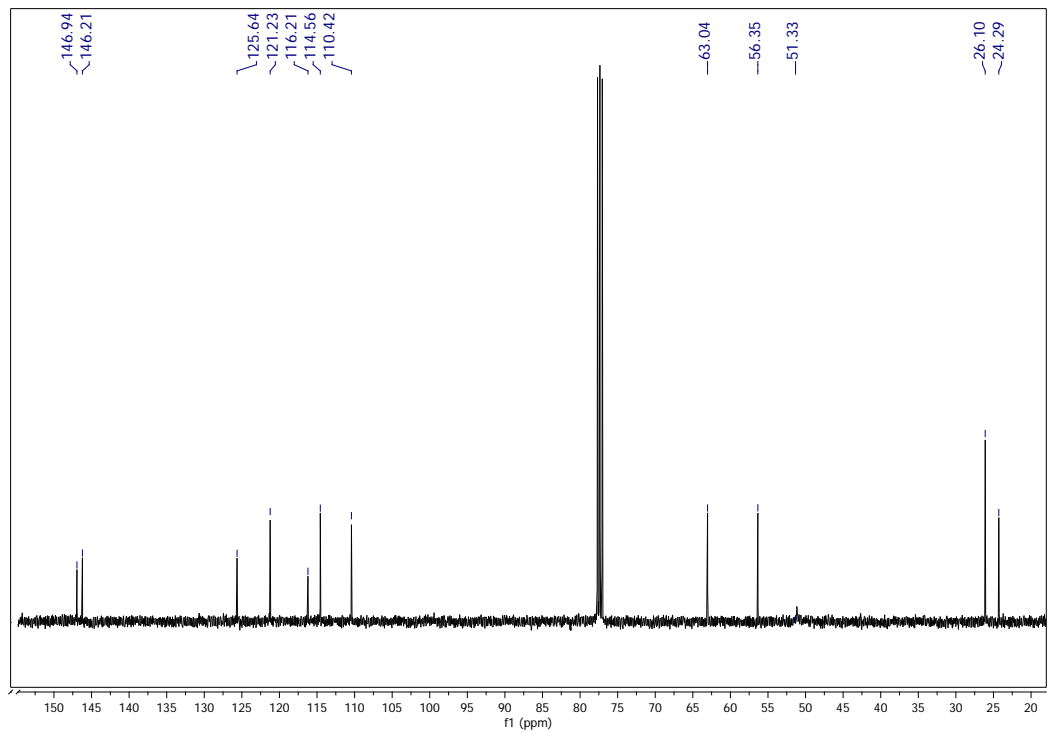
Anexo C-4D. DEPT 135.2-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)acetoneitrilo4d



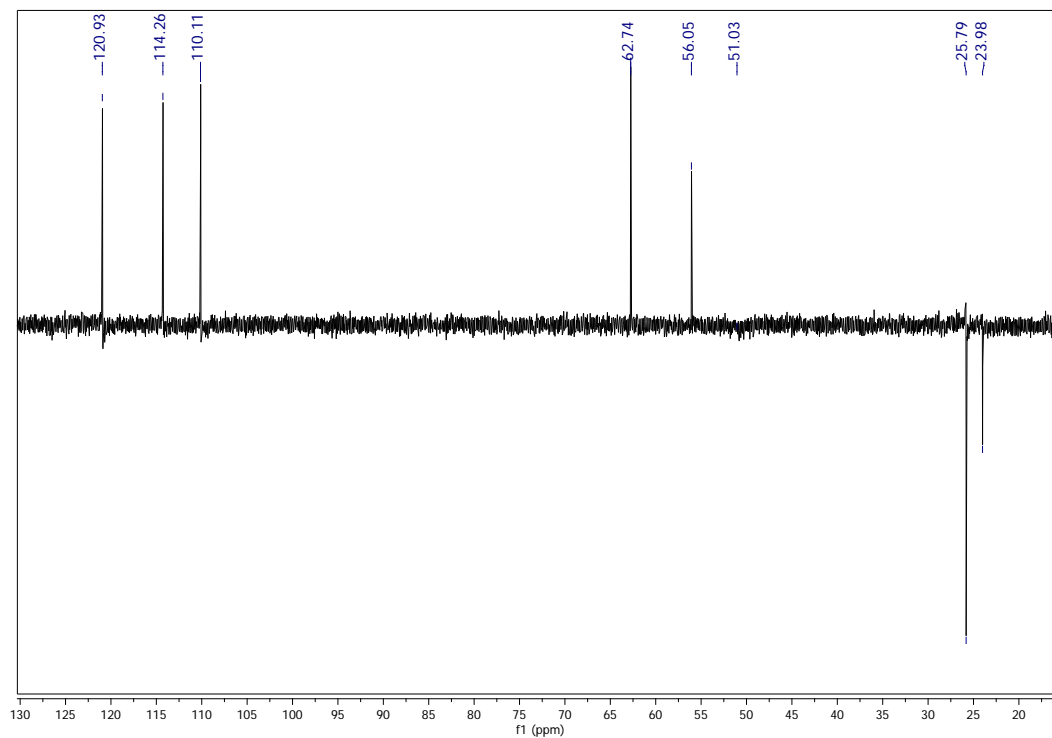
Anexo C-5A. <sup>1</sup>H-RMN.2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetonitrilo 5a



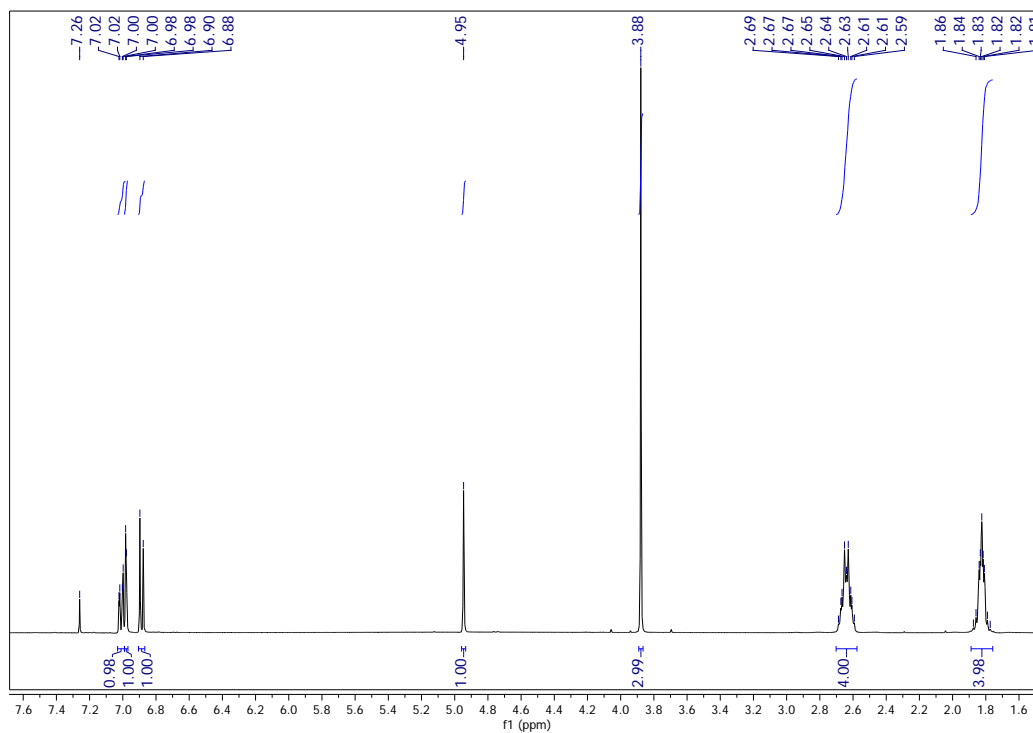
Anexo C-5A. <sup>13</sup>C-RMN.2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetonitrilo 5a



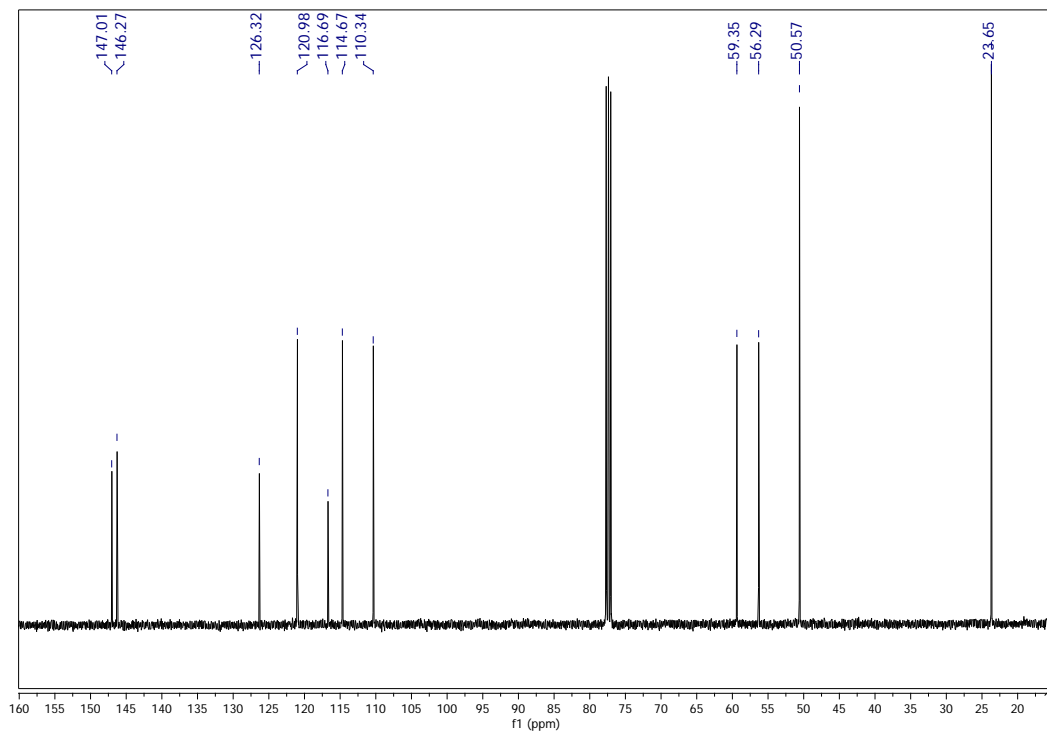
Anexo C-5A. DEPT 135.2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(piperidin-1-il) acetonitrilo<sub>5a</sub>



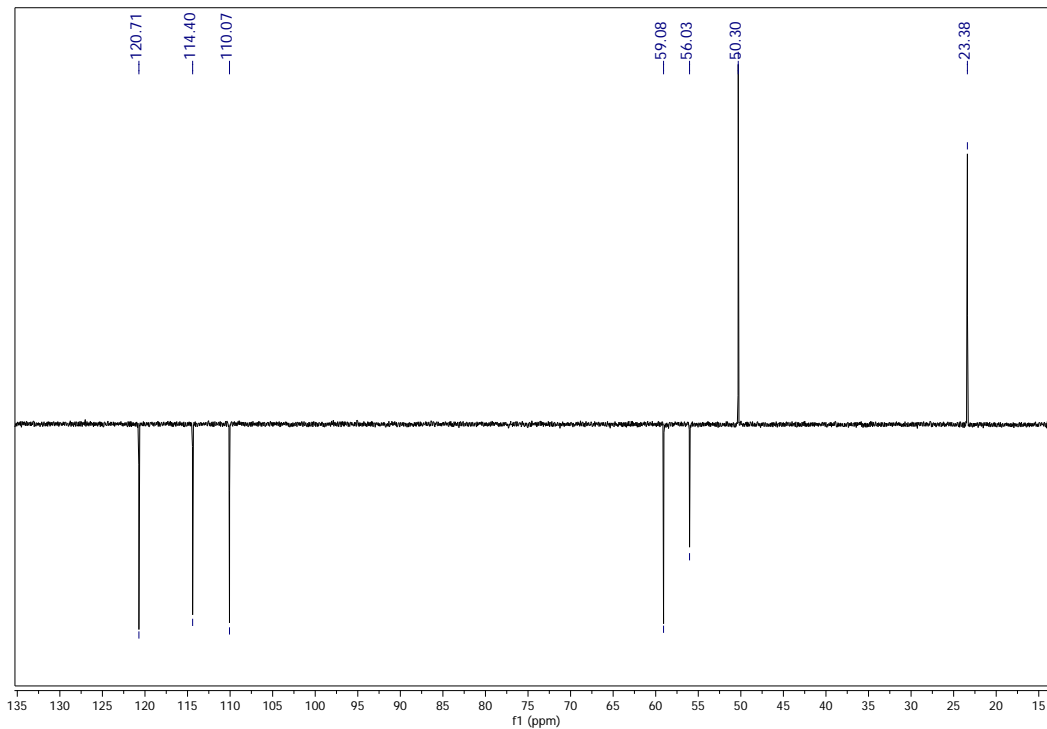
Anexo C-5B. <sup>1</sup>H-RMN.2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetonitrilo<sub>5b</sub>



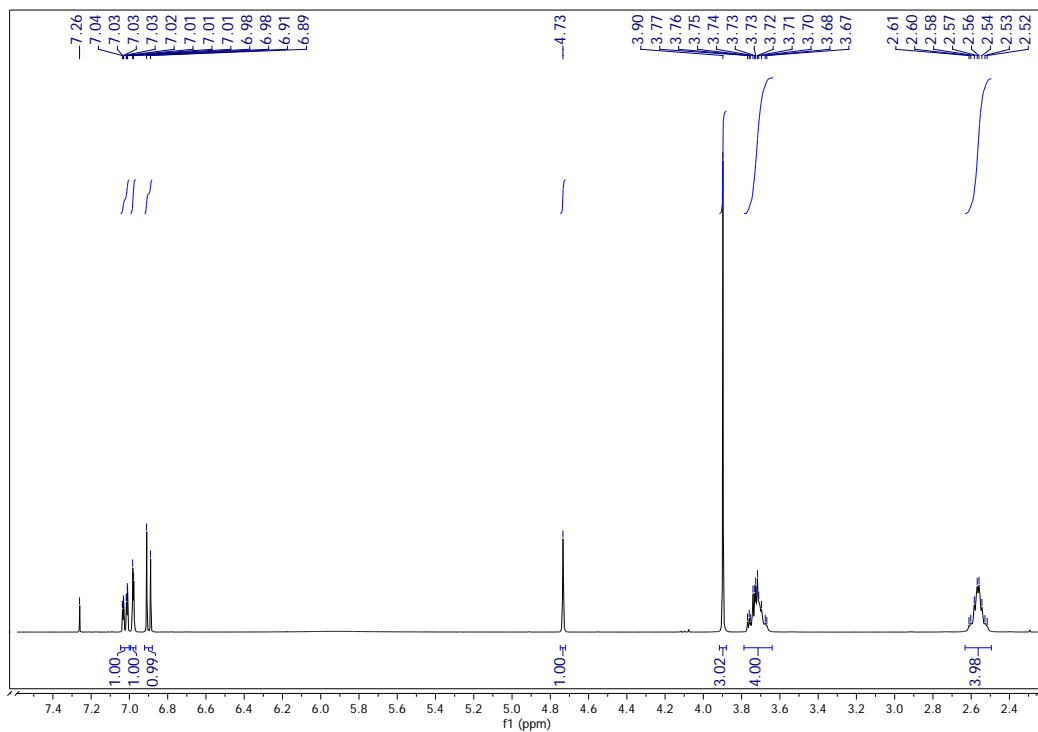
Anexo C-5B.  $^{13}\text{C}$ -RMN.2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetoniitrilo**5b**



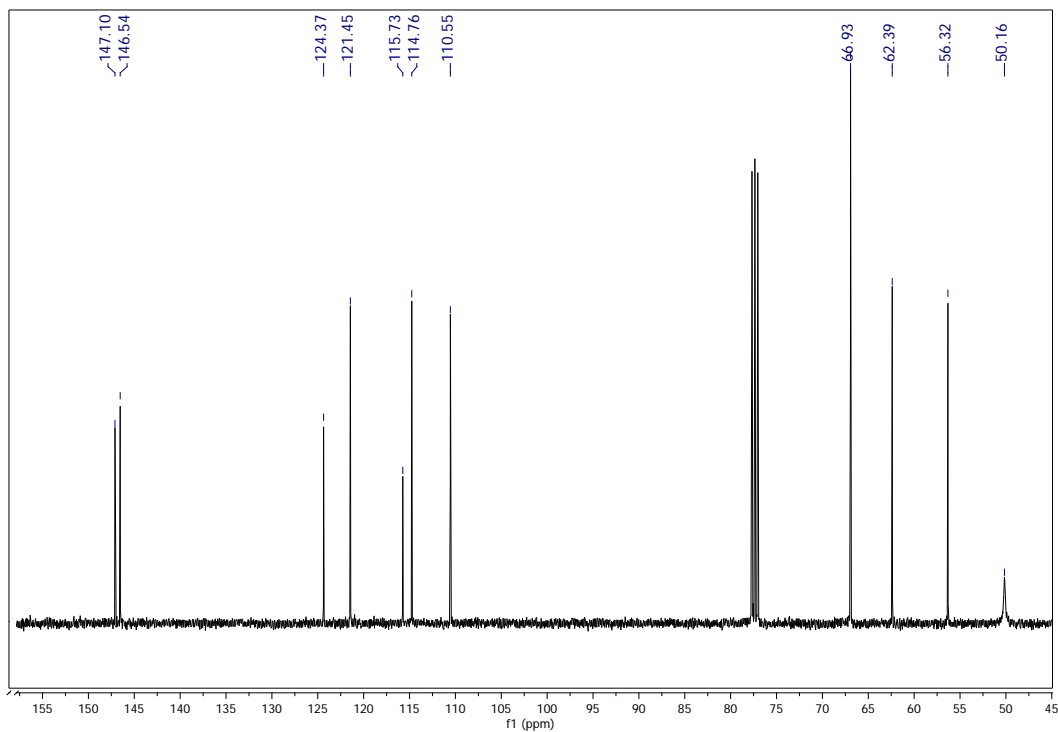
Anexo C-5B. DEPT 135.2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(pirrolidin-1-il) acetoniitrilo**5b**



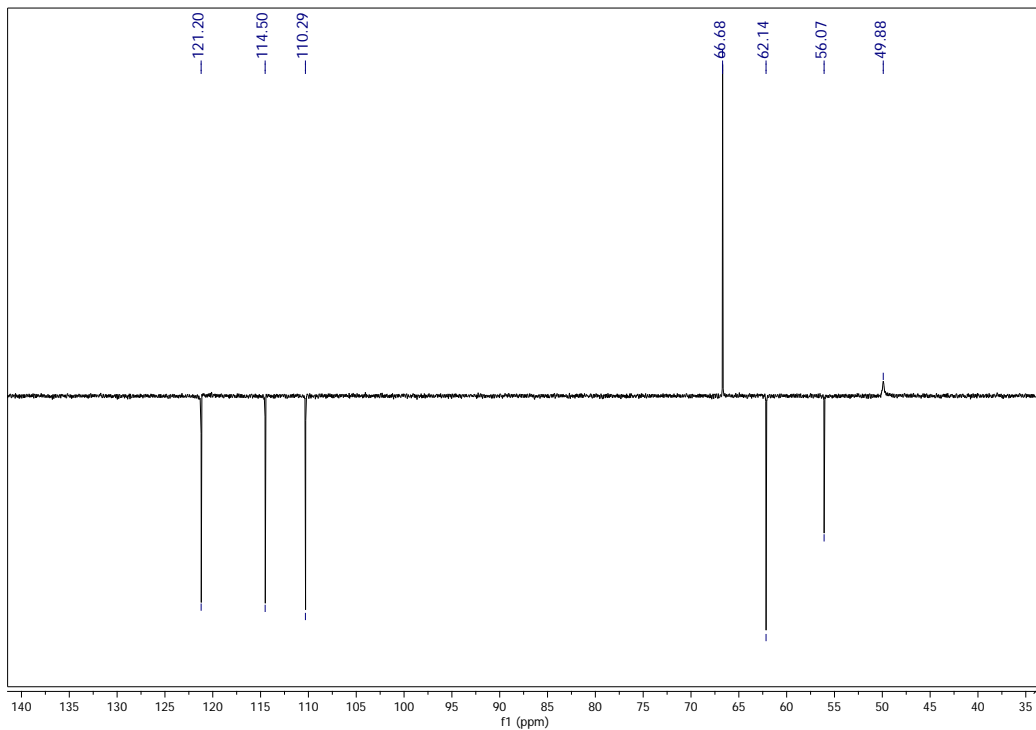
Anexo C-5C. <sup>1</sup>H-RMN.2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(morfolin-1-il) acetoniitrilo<sub>5c</sub>



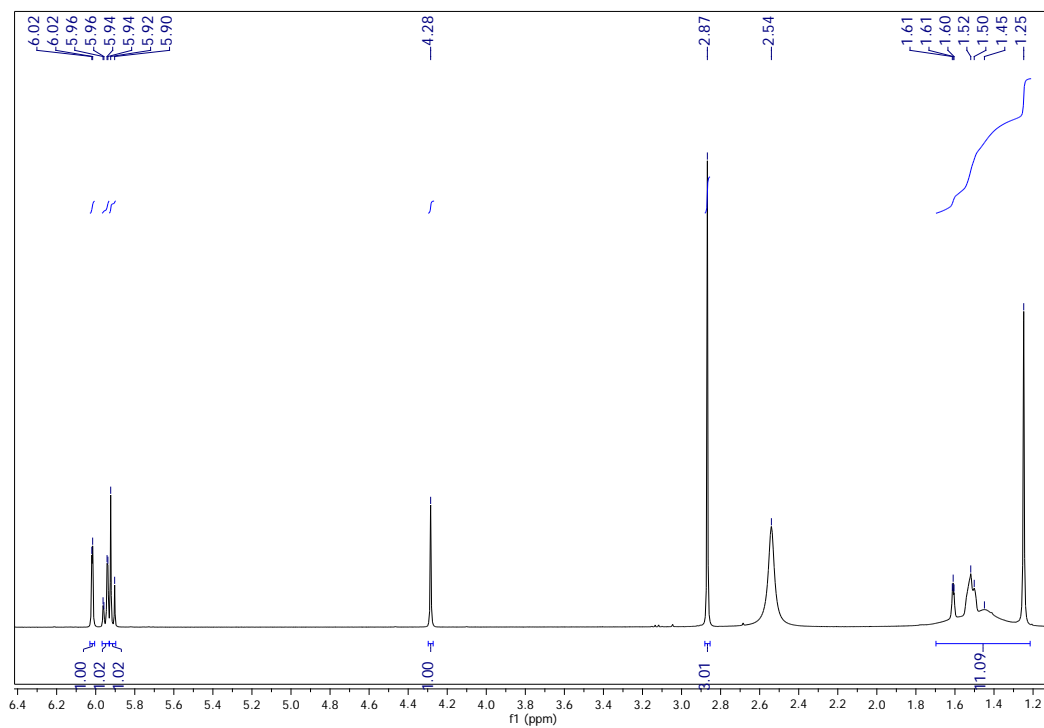
Anexo C-5C. <sup>13</sup>C-RMN.2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(morfolin-1-il) acetoniitrilo<sub>5c</sub>



Anexo C-5C. DEPT 135.2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(morfolin-1-il) acetoneitrilo<sub>5c</sub>

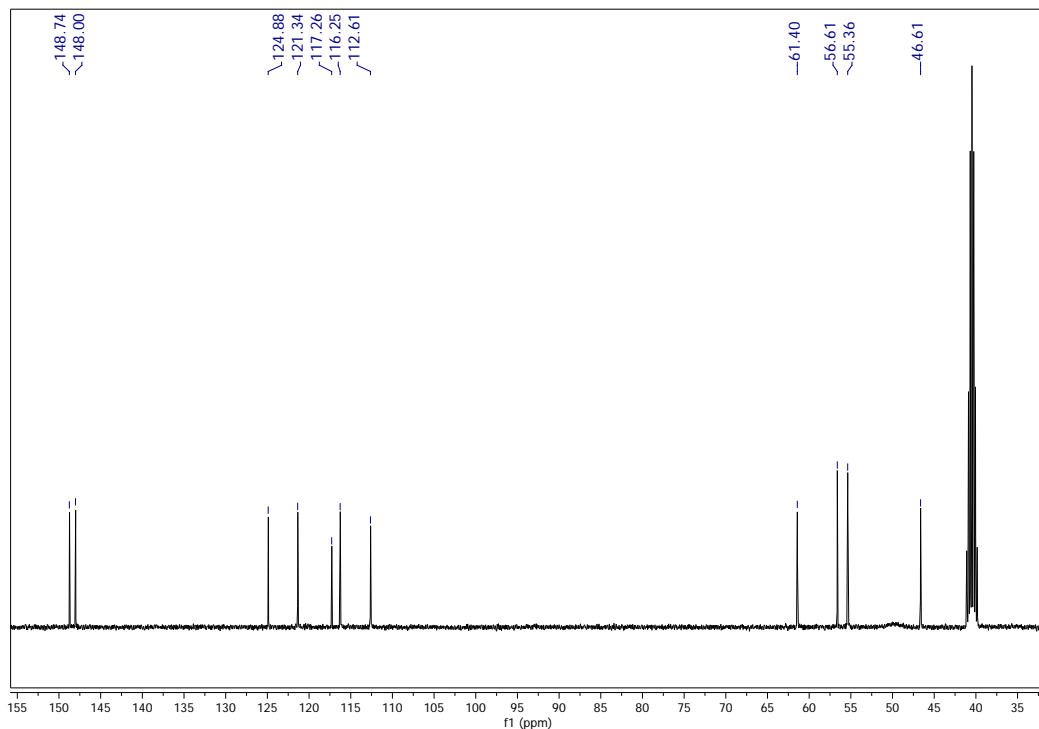


Anexo C-5D. <sup>1</sup>H-RMN.2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il) acetoneitrilo<sub>5d</sub>



Anexo  
acetoneitrilo5d

C-5D. <sup>13</sup>C-RMN.2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)



Anexo C-5D. DEPT 135.2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)  
acetoneitrilo5d

