



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**“SÍNTESIS DE ANÁLOGOS DE MELATONINA COMO
POTENCIALES AGENTES ANSIOLÍTICOS”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA
JESICA TALIA MONTIEL AVILES**



MÉXICO, D.F.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: M. en C. Eduardo Guillermo Ramón Marambio Dennet

VOCAL: Profesor: Dr. Alfonso Sebastián Lira Rocha

SECRETARIO: Profesor: Dr. Francisco Hernández Luis

1er. SUPLENTE: Profesor: Dra. Elena Guadalupe Ramírez López

2° SUPLENTE: Profesor: M. en C. Nayeli López Balbiaux

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: LABORATORIO 121, CONJUNTO E,

DEPARTAMENTO DE FARMACIA, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

ASESOR DEL TEMA: DR. ALFONSO SEBASTIÁN LIRA ROCHA

(nombre y firma)

SUPERVISOR TÉCNICO: QFB. RUBÉN MARTÍNEZ VÁZQUEZ

(nombre y firma)

SUSTENTANTE: JESICA TALIA MONTIEL AVILES

(nombre y firma)



ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Melatonina y la Glándula Pineal	3
2.2. Biosíntesis de Melatonina	5
2.3. Metabolismo de la Melatonina	6
2.4. Receptores de Melatonina	7
2.5. Funciones de la Melatonina	9
2.6. Melatonina como ansiolítico	12
2.7. Estudios de Afinidad de Análogos 1-N sustituidos de Melatonina	13
3. OBJETIVOS.	17
4. PARTE EXPERIMENTAL	19
4.1. Reactivos y Equipo	19
4.2. Cromatografía	20
4.3 Parte Química: Síntesis y Descripción.	20
4.3.1. Método General de Preparación de Compuestos M3A, M3B, M7A, M8A	20
4.3.2. Método General de Preparación de Compuestos M3C	25
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
5.1. Síntesis y Caracterización estructural de los análogos de melatonina	27
5.1.1. Análisis de Espectroscopia IR.	27
5.1.2. Análisis de Espectroscopia RMN-¹H	29
5.1.3. Análisis de Espectrometría de Masas.	31





6. CONCLUSIONES	33
7. BIBLIOGRAFÍA	34
8. ANEXOS	37
8.1 ESPECTROS.....	37
8.2 GLOSARIO	61





1. INTRODUCCIÓN

La melatonina (*N*-acetil-5-metoxitriptamina, MEL) es una hormona derivada del triptófano, sintetizada y secretada principalmente por la glándula pineal siguiendo un ritmo circadiano [1]. En los individuos, la secreción de melatonina en el torrente sanguíneo se produce principalmente por la noche, con niveles insignificantes secretados durante el día [2].

Después de su aislamiento y caracterización química en 1959, se informó de varios estudios que pretenden aclarar las respuestas fisiológicas y de comportamiento que ejerce esta sustancia endógena [1].

Se han propuesto varios receptores de MEL (MT1, MT2, MT3), sin embargo, los ligandos específicos hacia estos receptores son desconocidos. Dos de los receptores (MT1 y MT2 de alta afinidad, acoplados a proteína G) han sido clonados en los mamíferos, incluyendo los seres humanos [3]. Estos dos receptores están presentes en los seres humanos en diferentes partes del cerebro (núcleos supraquiasmático, la corteza, etc.) y en la periferia (riñón, adipocitos, retina, vasos sanguíneos, etc.) [2].

La MEL es uno de los muchos sensores endógenos corporales del medio ambiente y tiene un número de acciones importantes: actúa como un mediador químico de la información fotoperiódica; es un sincronizador materno/fetal; tiene una potente actividad antioxidante; es un agente oncostático; modula funciones endocrinas, neurofisiológicas y de comportamiento en los vertebrados; es un inductor del sueño en los seres humanos. En ratones, la síntesis de MEL está asociada con la supresión humoral y celular en las respuestas inmunológicas [2]. Además, la MEL puede influir en el ritmo circadiano de reptiles, aves y mamíferos, incluyendo a los humanos. En este último contexto, su función exacta no se ha dilucidado completamente.

De todo lo anterior se deriva la importancia de las posibles aplicaciones terapéuticas de la MEL, como puede ser la sincronización de los ritmos circadianos alterados tales como el “*jet-lag*” (también conocido como





descompensación horaria), el ciclo alterado sueño-vigilia, los trastornos estacionales y la depresión de invierno.

Aunque la MEL se descubrió hace más de 50 años, los datos sobre la función fisiológica de esta hormona en los seres humanos son escasos; por ello sustancias análogas (agonistas-antagonistas), capaces de interactuar de manera específica con cada uno de los tres tipos de receptores podrían ayudar a realizar diversos estudios farmacológicos; así también, las sustancias de estructuras análogas a la MEL permitirían conocer su modo de acción.

El grupo de investigación conformado por la Dra. Elia Naranjo y el Dr. Alfonso Lira han diseñado, sintetizado y evaluado las propiedades ansiolíticas de análogos de MEL, en particular, aquellos que se caracterizan por tener un grupo bencilo o un grupo fenilo en la posición 1 del anillo indólico de la melatonina. Los resultados indican que estos compuestos tienen una buena actividad ansiolítica en ratas, y la cual a su vez está en función de los sustituyentes presentes en dichos grupos.

El presente trabajo versa sobre la preparación de una nueva serie de análogos de MEL con sustituyentes en la posición 1 del anillo indólico con potencial actividad ansiolítica.





2. ANTECEDENTES

Hace tres siglos, el filósofo francés René Descartes describió la glándula pineal como "*el asiento del alma*", pero no fue hasta la década de 1950 que se identificó a la MEL (Figura 1), como la principal sustancia secretada por la glándula pineal [1].

Su nombre es indicativo de la primera función identificada de la MEL [1] por Lerner y sus colegas; que la aislaron [2], y la identificaron como el ingrediente activo de la glándula pineal para aclarar la piel [3] en peces y anfibios. Estas propiedades, sin embargo, sólo eran de interés para algunos especialistas. La hormona recibió mucha más atención cuando se encontró que ésta sirve para regular y restablecer los ritmos circadianos [4], sobretodo en especies que responden a variaciones de la luz del día, una variable ambiental utilizada para la sincronización temporal de la reproducción, el metabolismo y el comportamiento, etc. [1].

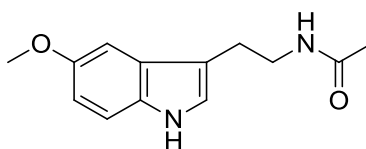


Figura 1. Melatonina (*N*-acetil-5-metoxitriptamina)

2.1 Melatonina y la Glándula Pineal

En los seres humanos, la glándula pineal se encuentra en el centro del cerebro, detrás del tercer ventrículo [4]; consta de dos tipos de células: las neurogliales y pinealocitos; ambos producen indolaminas (en su mayoría MEL) [1]. La síntesis y secreción de la MEL son estimuladas por la oscuridad y son inhibidas por la luz ambiental [3], ya que, la información lumínica de la retina se transmite a través de la glándula pineal (Figura 2) donde la producción y secreción de MEL están mediados en gran parte por fibras postganglionares nerviosas de la retina que pasan a través del tracto retino al núcleosupraquiasmático (NSQ), a continuación al ganglio cervical superior, y, finalmente a la glándula pineal [1]. La activación de receptores α_1 y β_1 adrenérgico [5] en la glándula pineal aumenta el



AMP cíclico y las concentraciones de calcio; esto activa la arilalquilamina *N*-acetiltransferasa, iniciando la síntesis y liberación de la MEL. El ritmo diario de la secreción de la MEL también es controlado por un marcapasos endógeno de funcionamiento libre ubicado en el NSQ.

Durante las horas del día, las células fotorreceptoras de la retina son hiperpolarizadas, lo que inhibe la liberación de norepinefrina [1]. Con ello el ritmo diario de síntesis de MEL exhibido por la glándula pineal es generado por un reloj circadiano endógeno en el NSQ del hipotálamo y esta comunicado a la glándula pineal por una compleja ruta de multicomponentes [3].

Investigaciones sobre la MEL en los mamíferos y otros vertebrados, indica que no sólo se sintetiza por la glándula pineal; sino que hay otras estructuras relacionadas, como la retina, y también un buen número de diferentes órganos y otro tipo de células. Estos incluyen el tracto gastrointestinal, médula ósea, leucocitos, membrana cóclea, glándula Harderiana [1], riñón, adipocitos [6], y, quizás, también la piel y otras áreas del cerebro [1].



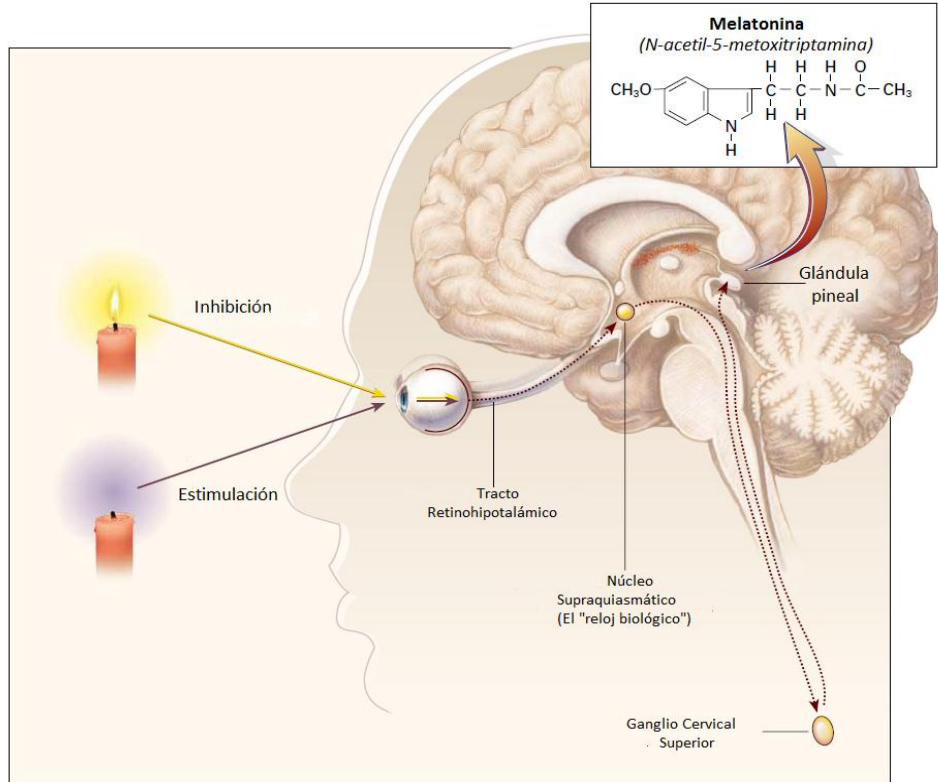


Figura 2. Fisiología de la secreción de la MEL

2.2 Biosíntesis de Melatonina

La MEL se sintetiza a partir del triptófano tomado de la circulación [7] (Figura 3); primero es hidroxilado por la enzima triptófano 5-hidroxilasa (TROH) a 5-hidroxitriptófano; después es descarboxilado por la L-aminoácido aromático ácido descarboxilasa (AAD) y forma la 5-hidroxitriptamina (5-HT) o serotonina, después es *N*-acetilada por la serotonina *N*-acetiltransferasa (NAT) para producir *N*-acetilserotonina [8]; la regulación fisiológica de la NAT ha recibido considerable atención, por su fuerte aumento de la actividad durante la noche; el siguiente paso es la transferencia de un grupo metilo de la *S*-adenosilmetionina al grupo 5-hidroxilo de *N*-acetilserotonina para producir MEL. Esta reacción es catalizada por la enzima Hidroxiindol *O*-Metiltransferasa (HIOMT) [9].

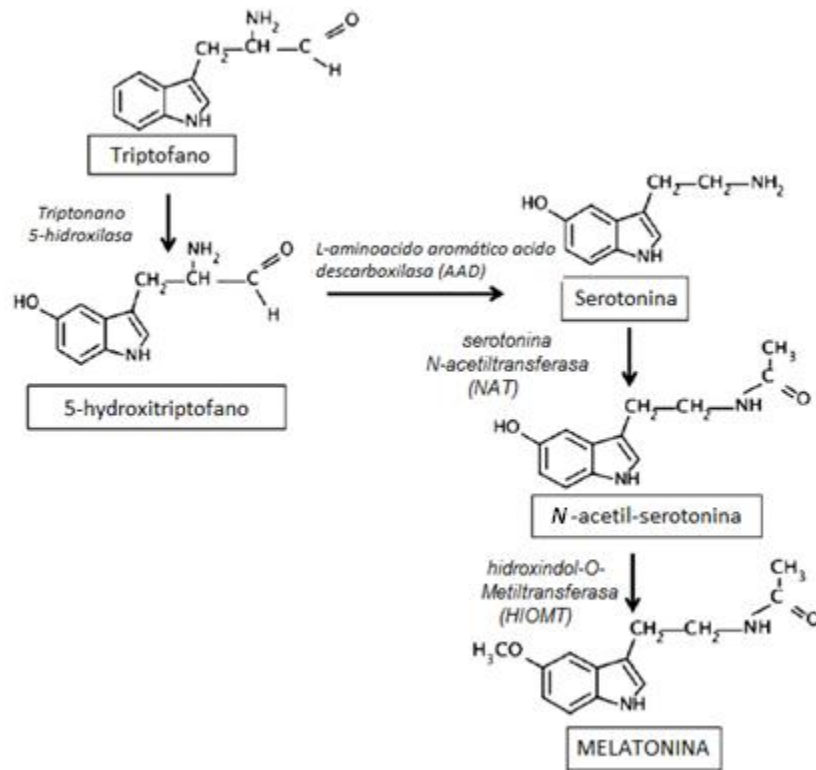


Figura 3. Vía metabólica de la síntesis de MEL

2.3 Metabolismo de la Melatonina

La MEL parece ser secretada por difusión simple y existe un consenso en que la concentración de melatonina en la glándula pineal, es un reflejo directo tanto de su síntesis como de su concentración en el plasma [9]. Después de la liberación en la circulación la MEL accede a diversos fluidos, tejidos y compartimientos celulares (saliva, orina, líquido cefalorraquídeo, folículo preovulatorio, el semen, líquido amniótico y la leche). Como no hay almacenamiento de la MEL, está se encuentra disponible; el perfil hormonal del plasma refleja fielmente la actividad pineal. La secreción se produce de noche, con los niveles plasmáticos máximos alrededor de las 3:00 a 4:00 a.m. Además, se ha establecido una clara relación entre los picos o valles y etapas del sueño.

El perfil plasmático de MEL muestra una gran heterogeneidad entre los sujetos; se proporciona una buena evaluación de la secreción de MEL en la



ausencia de la función renal o hepática anormal. La MEL en sangre se une principalmente a la albúmina (70%) y en menor medida a la glicoproteína alfa-1-ácido (AGP o AAG) [6]. La mayor parte de la MEL en la circulación general se convierte en 6-hidroximelatonina en el hígado [9] y puede llegar a todos los tejidos del cuerpo incluyendo el cerebro y es capaz de cruzar la barrera hematoencefálica para modular la actividad cerebral.

El hígado es el sitio principal para el metabolismo de más del 90% de MEL circulante [6] y es realizado por las monooxigenasas del citocromo P450 [10]; primero es hidroxilada, después se excreta en la orina en forma de sulfato y en menor medida, en forma de conjugados glucurónidos; cerca de 1% melatonina se mantiene sin cambios en la orina. Además de una actividad secretora pineal baja, los pacientes con cirrosis hepática muestran una depuración disminuida de MEL, con el consiguiente aumento plasmático retardado de la MEL y un aumento de los niveles diurnos de esta hormona; además en los pacientes con insuficiencia renal crónica, hay aumentos de MEL durante el día y los niveles se llegan a disparar [6].

La lipofilia de la MEL contribuye a su fácil difusión pasiva a través de las membranas celulares, así como a través de las capas de células. Al administrar MEL marcada radioactivamente por vía intravenosa, ésta desaparece rápidamente de la sangre con una vida media de aproximadamente 30 minutos dependiendo de las especies examinadas [9].

2.4 Receptores de Melatonina

Los receptores de MEL se encuentran por todas partes del cuerpo humano. Sin embargo, el papel funcional de cómo actúa la melatonina sobre sus receptores en los seres humanos sigue siendo, excepto por los efectos que promueven los ciclos circadianos y el sueño, poco claro.

Dos sitios de membrana de grupos farmacológicamente y cinéticamente distintos han sido identificados: MT1 (alta afinidad [picomolares]) y sitios de MT2 (baja afinidad [nanomolar]) [1]; estos dos tipos de receptores se identificaron en una amplia variedad de tejidos con diferentes perfiles de expresión [11]. La





activación de receptores de la melatonina MT1, que pertenecen a la familia de proteínas de unión a trifosfato de guanosina; ó también conocidos como receptores acoplados a proteínas G (GPCR) [12], se traduce en la inhibición de la actividad de la adenilato ciclasa en las células “*target*” (diana). Estos receptores están probablemente involucrados en la regulación de la función de la retina, los ritmos circadianos, y la reproducción. Los receptores MT2 están acoplados a la estimulación de la hidrólisis de fosfoinositida, pero su distribución no se ha determinado. Con el uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), dos formas de un receptor de melatonina de alta afinidad, que se han designado Mel1a y Mel1b , se han clonado a partir de varios mamíferos, incluyendo los seres humanos; el receptor de Mel1a se expresa en la pars tuberalis de la hipófisis (PT) [1]; es una subdivisión de la hipófisis filogenéticamente conservada, presente en anfibios, reptiles, aves y mamíferos incluido el hombre [3] y el NSQ; por otra parte el receptor Mel1b se expresa principalmente en la retina y, en menor medida, en el cerebro[1]. La MEL también se une con menor afinidad para el llamado sitio de unión de MT3, que se ha caracterizado como una enzima perteneciente a la familia quinona-reductasa [13].

Hasta ahora, la evidencia experimental indica que la activación de los receptores MT1 reduce la actividad neuronal en el NSQ, induce vasoconstricción e inhibe la secreción de la hormona, mientras que la activación del subtipo MT2 produce un cambio de fase en los ritmos circadianos, promueve el movimiento ocular no rápido (NREM), induce la proliferación de esplenocitos y la vasodilatación y regula la expresión del gen del receptor de la oxitocina [7]; otras funciones y ubicaciones de los receptores dentro del sistema nervioso central se muestran en la Tabla 1 [1].



**Tabla 1.** Receptores de Melatonina del Sistema Nervioso Central en Humanos

Localización	Subtipo de receptor	Función (Posible)
SNC	MT1	<ul style="list-style-type: none">•Modulación de los ciclos circadianos•Inducción del sueño
Células de la retina	MT1, MT2	<ul style="list-style-type: none">•La inhibición de la estimulación evocada liberación de dopamina•La modulación de las vías fototransducción y funciones fotorreceptoras•La adaptación a las intensidades de luz bajas
Hipocampo	MT1, MT2	<ul style="list-style-type: none">•Memoria, excitación y la inhibición de la actividad neuronal•Variaciones en la enfermedad de Alzheimer
Cerebelo	MT1, MT2	<ul style="list-style-type: none">•Interacciones con las sinapsis glutaminérgicas
Sistema Central dopaminérgico	MT1	<ul style="list-style-type: none">•La modulación de la síntesis de dopamina y la liberación•La activación de los receptores de dopamina•La modulación de los comportamientos inducidos por cocaína

2.5 Funciones de la Melatonina

En la actualidad, existe una gran evidencia experimental que apoya el papel clave de la MEL como un mediador químico de la información fotoperiódica en la regulación de los ciclos circadianos. Sin embargo, además de sus bien conocidos efectos cronobiológicos como inductor del sueño [7] en los seres humanos, ya que, regula la fisiología vertebral de la retina [14]; se encontró que la melatonina estaba implicada en una variedad de otros procesos patofisiológicos [7] incluyendo la atenuación sustancial de las respuestas nociceptivas a diferentes estímulos nocivos [15]; la modulación de las respuestas inmunes y cardiovasculares; formación de hueso [7]; regulación de la motilidad gastrointestinal [10], también ha demostrado antagonizar directamente la unión de Ca^{2+} a la calmodulina [11], así también la supresión de tumores y la diabetes tipo 2 [7]; y como un sincronizador materno/fetal [14, 16]. Sin embargo, la MEL también tiene utilidad en retardar algunos aspectos de envejecimiento del cerebro [17].





Por otra parte, un número de evidencias experimentales destaca el papel de la MEL en los procesos antioxidantes [7, 18]; se ha demostrado que posee esta propiedad, tanto en cultivo de tejidos como en los animales intactos [17], la actividad “secuestrante” (scavenger) de radicales libres de la MEL se ha propuesto que funciona a través de la donación de electrones para desintoxicar una variedad de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, incluyendo el radical hidroxilo altamente tóxico [18]; así también en los procesos neuroprotectores [7], en modelos animales experimentales se ha demostrado que reduce la auto-oxidación de dopamina en la enfermedad de Parkinson [19].

Debido a su actividad, la administración de la MEL se ha propuesto como una estrategia terapéutica para el tratamiento de una variedad de condiciones patológicas (Tabla 2), incluyendo trastornos del sueño, depresión, cáncer, apoplejía y epilepsia. Algunos de los agonistas de la MEL se han desarrollado o están en fase de desarrollo para el tratamiento del insomnio primario, la depresión mayor [20] y la sincronización de los ritmos circadianos alterados tales como el “*jet-lag*”, el ciclo alterado sueño-vigilia, los trastornos estacionales [21].

Sin embargo, su pobre perfil farmacocinético, por ejemplo, su baja solubilidad y su tiempo de vida media corto, ha impulsado el diseño de ligandos sintéticos y así mejorar las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas [7].





Tabla 2. Función biológica y procesos que pueden ser afectados por la MEL y su posible mecanismo de acción en humanos.

Función o Proceso	Efecto	Mecanismo Propuesto
Sueño	Efecto hipnótico e incremento en la propensión al sueño	Acción mediada en el receptor del sistema límbico
Ritmo Circadiano	Control del ritmo circadiano y acción en el ciclo luz-obscuridad	Secreción de melatonina en respuesta al impulso neuronal de la retina y del NSQ; Termorregulación
Humor	posible acción en desordenes del humor como es el (TEA y SFSR)	Desconocido
Maduración Sexual y Reproducción	Inhibición del proceso de reproducción	Inhibición del eje Hipotalamo-pituitaria-gonadas; efecto sobre la esteroidogenesis de ovarios
Cáncer	Efectos antiproliferativos	Secuestro de radicales libres y posible aumento en la respuesta inmune
Respuesta inmune	Aumenta la respuesta inmune	Incremento en la producción de interleucinas
Envejecimiento	Posible efecto de protección y decaimiento de muerte celular	Secuestro de radicales libres

Hay muchas referencias que documentan la capacidad de la MEL para mantener índices de salud mitocondrial [22]. Estos incluyen baja regulación de Bax, caspasas, y la inhibición de la fragmentación del ADN mitocondrial, la apoptosis, la liberación del Citocromo C. La supresión de estos eventos mejora la función de la cadena respiratoria y la síntesis de ATP [17].

Con el fin de desarrollar nuevos agentes terapéuticos, la investigación se ha centrado en el descubrimiento de nuevos compuestos [7]; sustancias análogas (agonistas-antagonistas) capaces de interactuar con cada uno de los tres tipos de receptores y que podrían ayudar a realizar diversos estudios farmacológicos [14]; así también, sustancias de estructuras análogas a la MEL permitirían ayudar a conocer su modo de acción.





2.6 Melatonina como ansiolítico

La ansiedad es un estado fisiológico y psicológico que se caracteriza por diversos cambios en el estado emocional como lo es el miedo y los síntomas físicos angustiantes en respuesta a factores de estrés. El trastorno de ansiedad generalizada (TAG) se caracteriza por una ansiedad y preocupación excesiva. Las personas con TAG tienen dificultades para controlar su preocupación, y a menudo experimentan otros síntomas relacionados, como son la inquietud, la irritabilidad y la tensión muscular [23].

La ansiedad, es un mecanismo que nos permite adaptarnos a situaciones adversas que ponen en peligro la homeostasis o equilibrio corporal y psíquico de un individuo [24]; se considera una conducta emocional compleja (con respuestas cognitivas, fisiológicas y motoras), generalmente asociada a situaciones o estímulos concretos [25].

En general, la ansiedad se presenta como una serie de trastornos psiconeuróticos, razón por la cual su explicación biológica o psicológica es difusa. Las manifestaciones fisiológicas que se presentan cuando la ansiedad ha dejado de ser un mecanismo de defensa, para convertirse en una situación patológica, se pueden explicar mediante una hipótesis en la cual se propone que la ansiedad es capaz de estimular al Sistema Nervioso Autónomo (SNA), produciendo descargas adrenérgicas, las cuales son responsables de las manifestaciones fisiológicas presentadas por la ansiedad entre las que se encuentran: pulso acelerado, aumento de la presión sanguínea, sudoración excesiva, dificultad para respirar con subsiguiente sensación de asfixia, diarrea, vértigo, micción frecuente, transpiración, dolores musculares, insomnio y temores irrazonables [26].

La MEL ha mostrado efectos ansiolíticos tanto en estudios preclínicos y clínicos pero su papel selectivo en la ansiedad aún no se ha identificado [23].

Recientemente, compuestos como agomelatina y Neu-P11, agonistas no selectivos del receptor de MT1/MT2, han demostrado que poseen propiedades ansiolíticas en los modelos preclínicos de la ansiedad. Además, el ramelteón (un





agonista del receptor MT1/MT2 no selectivo) y la agomelatina, dos medicamentos actualmente en el mercado con efectos ansiolíticos, uno de tipo hipnótico y un antidepresivo, respectivamente. (Figura 4)

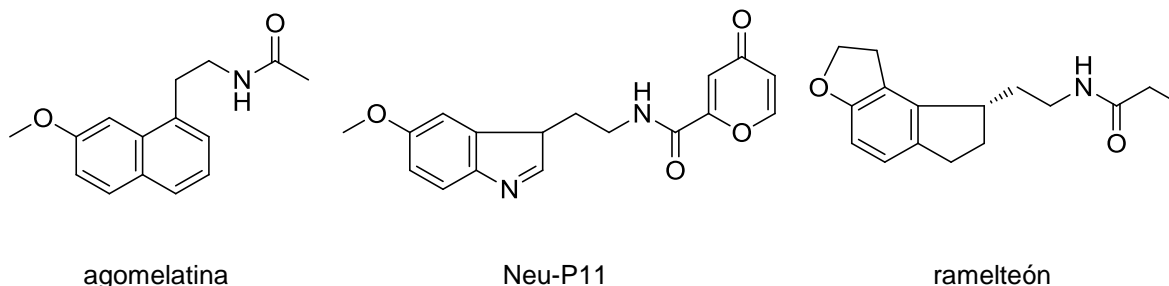


Figura 4. Agonistas análogos a melatonina

Debido a la falta de selectividad hacia los receptores MT1 y MT2, estos agonistas melatonérgicos no permiten la investigación farmacológica sobre el papel específico de cada subtipo de receptor MEL sobre la ansiedad [23].

2.7 Estudios de Afinidad de Análogos 1-N sustituidos de Melatonina

La actividad biológica de la MEL depende de sus componentes farmacofóricos como son el grupo acetamido, el grupo 5-metoxilo y el anillo aromático de tipo indólico. El reconocimiento melatonina-sitio receptor se presenta, en primera instancia, por las fuerzas electrostáticas tanto del ligando como del sitio receptor, los cuales son, en general, el reflejo de las propiedades electrónicas de ambas entidades [14].

Todos los modelos coinciden en que son esenciales; el grupo 5-metoxilo, como un grupo donador de puentes de hidrógeno, el carbonilo como un grupo aceptor y el átomo de nitrógeno de acetamido como un grupo de donadores. En el caso del núcleo indólico se ha propuesto la interacción entre el anillo de indol y los residuos de aminoácidos aromáticos.

Lira et al. [14] reportaron la preparación de compuestos en los que se incorporaron en la posición 1 del anillo indólico grupos bencilo, benzoilo y fenilo sustituidos en posición “para” con grupos tanto electroattractores como electrodonadores (Figura 5); cuando se realizaron estudios sobre las propiedades



electrónicas de estos derivados; se observó que la incorporación de un grupo bencilo no altera, significativamente, la densidad electrónica sobre el anillo indólico independientemente de los sustituyentes que a su vez tenga el grupo bencilo. El grupo benzoilo, en la misma posición causa una disminución de la densidad de carga, y dependiendo de los sustituyentes sobre el grupo benzoilo es la magnitud de dicho decremento. La incorporación de un grupo fenilo en la misma posición no causa un decremento significativo, pero dependiendo de los sustituyentes sobre el grupo fenilo se mantiene o disminuye la densidad de carga [14].

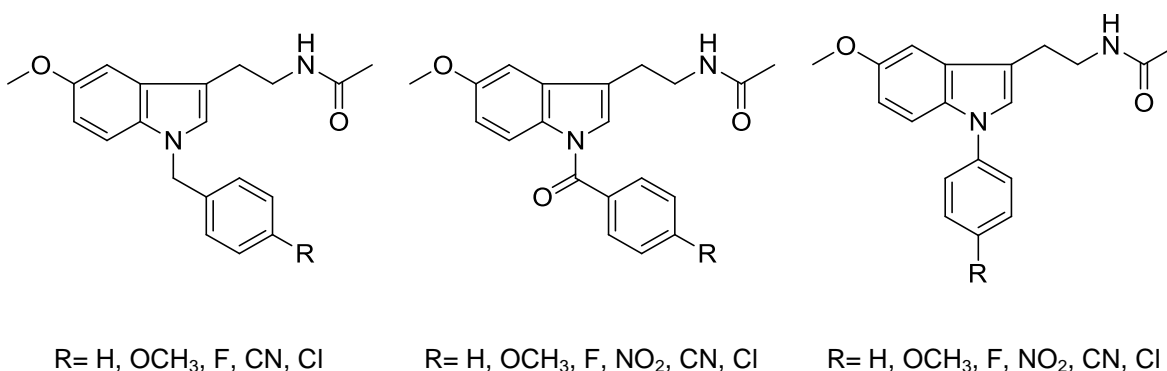


Figura 5. Análogos preparados por Lira et al.

Los resultados de los estudios de afinidad de los análogos de MEL, mostró que la incorporación de un grupo voluminoso en la posición 1 del anillo indólico disminuyó sensiblemente la constante de afinidad, por lo que se debe considerar que no es exclusivo el factor electrónico responsable de la interacción ligando-receptor sino que también está involucrado el factor estérico; ya que se observa mayor afinidad con el grupo bencilo como sustituyente, seguido por el grupo fenilo incrementando la afinidad con grupos electrodonadores para ambos casos.

En cuanto la evaluación biológica de estos compuestos; los resultados sobre la actividad contráctil de duodeno aislado de rata, mostraron un efecto de relajación dosis-respuesta, esto es, se comportan de manera similar a la melatonina mostrando mayor actividad los compuestos con sustituyente del grupo metoxilo. Para la evaluación del efecto ansiolítico en rata se observan que los compuestos con un grupo metoxilo resultaron ser igual o ligeramente más activos que la melatonina [28]. Teniendo esta información como antecedentes, en el





presente se propone la síntesis de los compuestos sustituidos en la posición 1 del anillo indólico grupos bencilo, benzoilo y fenilo, pero sustituidos en posición “meta”.

Otros compuestos como son los análogos 1-*N* sustituidos de la MEL; **M6B** 1-*N*-(4-cianobenzoil)melatonina y **M7C** 1-*N*-(4-clorofenil)melatonina [27] muestran efectos ansiolíticos, relajante muscular, analgésico, anticonvulsivo y sedante similares a la MT in vivo; pero sus acciones son inducidas a dosis más bajas en comparación con MEL, lo que indica que son más activas que ésta. Este hecho puede asumirse a las modificaciones estructurales realizadas en la posición 1 de la molécula; ya que la inserción de grupos voluminosos, con la presencia de grupos electroattractores, muestran una influencia en la afinidad hacia el sitio receptor de MEL; como es el caso del compuesto **M6B**; que presenta un grupo cianobenzoilo, y provoca una disminución en el volumen del potencial molecular electrostático de la zona aromática, lo que se ha postulado como un punto importante en la interacción MEL-sitio receptor. El compuesto **M7C** presenta un átomo de cloro, y esto contribuye con los requerimientos estructurales responsables de la unión al sitio receptor de la MT (Figura 6).

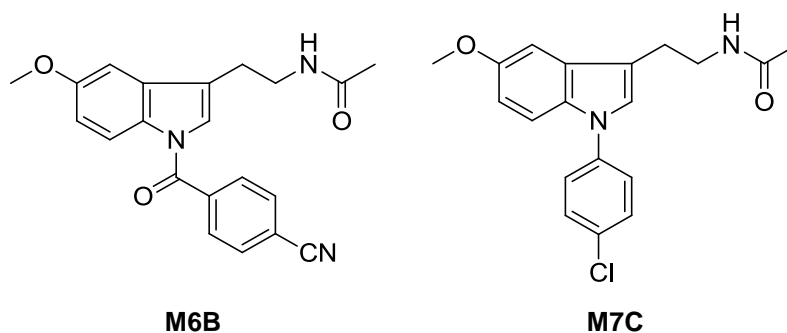


Figura 6. Compuestos análogos de melatonina 1-*N*-sustituidos

De ambos compuestos el que presenta mejores efectos (ansiolítico, miorrelajante, analgésico, anticonvulsivo y sedante) es el compuesto **M7C**; así también la potencia están dados en una relación directamente proporcional a la dosis administrada [27]; con esto podemos decir que los grupos funcionales en la



posición 1 de la molécula de MT modulan la selectividad y la afinidad a los receptores MEL; por lo tanto aumentando la actividad melatoninérgica.

Con estos resultados se propone en el presente trabajo la síntesis de compuestos análogos de MEL con sustituyentes halogenados como lo es el átomo de cloro en posición “orto” y “meta”, además el trifluoruro de metilo en posición “orto, meta y para”.

Por lo tanto, manteniendo constantes los grupos 5-metoxilo y acetamido e incorporando sustituyentes al núcleo indólico que modifiquen las propiedades electrónicas de este elemento farmacofórico se alteran las propiedades biológicas de la melatonina. Esta modificación producirá sustancias análogas a la melatonina, las cuales, en principio, podrían tener el mismo efecto farmacológico que la MEL pero buscando una mejor selectividad, eficacia, potencia y, en particular, sin efectos colaterales como lo presentan las benzodiazepinas [14].





3. OBJETIVOS

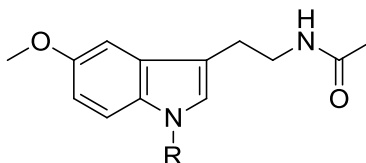
3.1 Objetivo General

Sintetizar y caracterizar análogos de melatonina como potenciales agentes ansiolíticos

3.2 Objetivo Particular

- ✓ Sintetizar los compuestos propuestos.

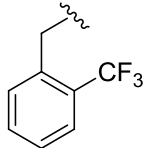
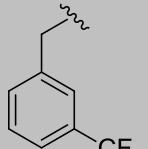
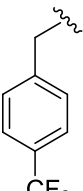
COMPUESTOS PROPUESTOS



Compuesto	R	Nombre
M3A-3		<i>N</i> -{2-[5-metoxi-1-(3-metoxibencil)-1 <i>H</i> -indol-3-il]-etil}-acetamida ó 1- <i>N</i> -(<i>m</i> -metoxibencil)melatonina
M3B-3		<i>N</i> -{2-[5-metoxi-1-(3-metoxibenzoil)-1 <i>H</i> -indol-3-il]-etil}-acetamida ó 1- <i>N</i> -(<i>m</i> -metoxibenzoil)melatonina
M3C-3		<i>N</i> -{2-[5-metoxi-1-(3-metoxifenil)-1 <i>H</i> -indol-3-il]-etil}-acetamida ó 1- <i>N</i> -(<i>m</i> -metoxifenil)melatonina
M7A-2		<i>N</i> -{2-[1-(2-clorobencil)-5-metoxi-1 <i>H</i> -indol-3-il]-etil}-acetamida ó 1- <i>N</i> -(<i>o</i> -clorobencil)melatonina
M7A-3		<i>N</i> -{2-[1-(3-clorobencil)-5-metoxi-1 <i>H</i> -indol-3-il]-etil}-acetamida ó 1- <i>N</i> -(<i>m</i> -clorobencil)melatonina





M8A-2		$N\text{-}\{2\text{-}[5\text{-metoxi-1-(2-(trifluorometil)bencil)-1H-indol-3-il]-etil}\text{-acetamida}$ ó 1- $N\text{-}(o\text{-trifluorometilbencil})\text{melatonina}$
M8A-3		$N\text{-}\{2\text{-}[5\text{-metoxi-1-(3-(trifluorometil)bencil)-1H-indol-3-il]-etil}\text{-acetamida}$ ó 1- $N\text{-}(m\text{-trifluorometilbencil})\text{melatonina}$
M8A-4		$N\text{-}\{2\text{-}[5\text{-metoxi-1-(4-(trifluorometil)bencil)-1H-indol-3-il]-etil}\text{-acetamida}$ ó 1- $N\text{-}(p\text{-trifluorometilbencil})\text{melatonina}$

- ✓ Caracterizar los derivados obtenidos mediante sus constantes físicas (punto de fusión y R_f); propiedades espectroscópicas (infrarrojo, Resonancia Magnética Nuclear de Protón) y espectrometría de Masas.



4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Reactivos y Equipo

Todas las materias primas utilizadas en la síntesis se adquirieron comercialmente en grado reactivo. La caracterización de los intermediarios previamente reportados se realizó por comparación de sus puntos de fusión y siguiendo técnicas convencionales mediante análisis cromatográficos en capa fina.

Para la evaporación de los disolventes empleados, se utilizó un evaporador rotatorio marca IKA HB10 Basic. Los puntos de fusión se determinaron mediante un aparato Fischer-Johns y no están corregidos.

Los espectros de RMN ^1H , así como la preparación de las muestras para el análisis de Resonancia Magnética Nuclear de Líquidos, el ajuste del equipo y la adquisición del núcleo de Hidrógeno, se realizó en un aparato Varian VxR-300S (400MHz), en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI) de la Facultad de Química de la UNAM. Los desplazamientos químicos están reportados en ppm (δ) y las constantes de acoplamiento (J) se reportan en Hertz (Hz). La multiplicidad de las señales se expresa como: s= señal simple; sa= señal simple ancha; d= señal doble; dd= señal doble de doble; ddd= señal doble de doble de doble; dt=señal doble de triple; t=señal triple; m=señal múltiple. Se utilizó Tetrametilsilano (TMS) como referencia interna y como disolvente CDCl_3 .

Los espectros de infrarrojo (IR), fueron determinados en un equipo Nicolet FT5SX. Las unidades se reportan en cm^{-1} . Los espectros de masas, fueron determinados por impacto electrónico (IE), en un espectrómetro JEOL Sx102. El ión molecular se indica como M^+ . La nomenclatura se indica como m/z masa/carga, son su respectivo % de abundancia relativa.





4.2. Cromatografía

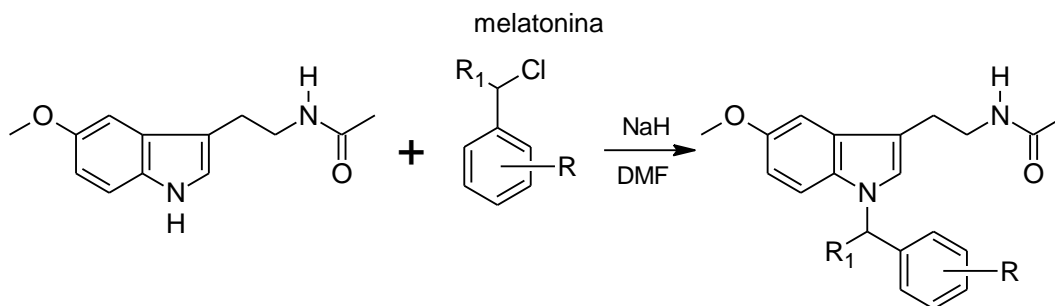
El curso de las reacciones se siguió mediante técnicas convencionales, utilizando placas de vidrio recubiertas de gel sílice Sigma-Aldrich TLC 0.2mm y para su visualización se empleó una lámpara de luz UV (254/366nm) o una cámara con vapores de yodo. Para la purificación en cromatografía preparativa se emplearon placas preparativas RP-18 F₂₅₄S (Merck)

4.3. Parte Química: Síntesis y Descripción

4.3.1. Método General de Preparación de Compuestos M3A, M3B, M7A, M8A

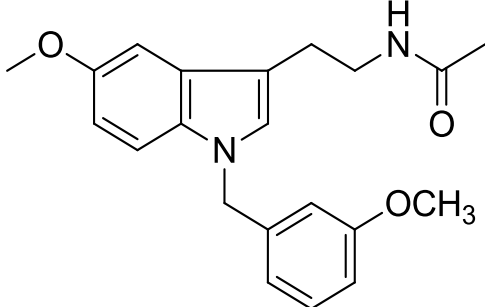
En un matraz bola de 25 mL, acondicionado con agitación magnética, se pesaron 48 mg de NaH (1.2 mmol); y se adicionaron 2 mL de DMF anhidra. A esta suspensión se adicionó lentamente, mediante cánula, una solución de melatonina (232.3mg, 1 mmol) en 2 mL de DMF anhidra. Todo en condiciones anhidras, atmosfera de nitrógeno y con baño de hielo, se mantuvo en agitación y en ausencia de luz durante 1 h. Después se adicionó mediante cánula, una solución del correspondiente cloruro de bencilo o benzoilo (1.2 mmol) en 2 mL de DMF anhidra; se dejó la mezcla de reacción 1 h con el baño de hielo y después se retiró el baño de hielo y se dejó con agitación (Tabla 3). Después de lo cual, la mezcla de reacción se vertió sobre agua-hielo (40 mL), formándose un precipitado, el cual se colectó por filtración al vacío. El análisis por CCF analítica (sistema de elución 95:5 CHCl₃/MeOH) indicó la presencia de otro compuesto además del deseado. La purificación del producto se logró mediante recristalización a partir de tolueno, con excepción del compuesto **M3B-3** que se purificó mediante una cromatografía en capa fina preparativa (sistema elución 95:5 CHCl₃/MeOH).



**Tabla 3.** Tiempo de reacción para obtención de los compuestos sustituidos bencil/benzoil

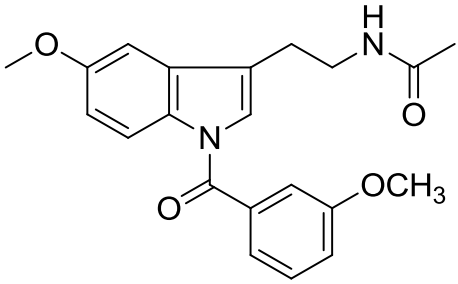
Compuesto	R ₁	R	Tiempo de reacción (h)
M3A-3	H	3-OCH ₃	1
M3B-3	C=O	3-OCH ₃	4
M7A-2	H	2-Cl	5
M7A-3	H	3-Cl	2
M8A-2	H	2-CF ₃	3
M8A-3	H	3-CF ₃	2
M8A-4	H	4-CF ₃	1

➤ 1-N-*m*-metoxibencilmelatonina (M3A-3)

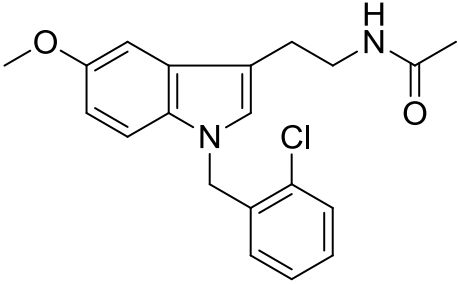
 <p>N-{2-[5-metoxi-1-(3-metoxibencil)-1H-indol-3-il]-etil}-acetamida</p>	Aspecto: sólido blanco
	Peso molecular: 352.43 uma
	Punto fusión: 89-91°C
	R _f : 0.52
	IR (espectro 1)v: 3264cm ⁻¹ (-NH), 3083 cm ⁻¹ (-CH insaturado) 2959, 2936, 2832 cm ⁻¹ (-CH saturado), 1637 cm ⁻¹ (C=O amida), 1591,1580,1487 cm ⁻¹ (C=C aromático) 1263, 1227 cm ⁻¹ (C-O-C)
RMN ¹ H(CDCl ₃ , espectro 2) δ:1.91 (s, 3H), 2.94 (t, J=6.8 Hz, 2H), 3.57 (dt, J=6.8, 6 Hz, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 5.21 (s, 2H), 5.51 (sa, 1H), 6.64 (dd, J=2.4, 1.6 Hz, 1H) H-2', 6.68 (ddd, J=7.6, 1.6, 0.4 Hz, 1H) H-4', 6.79 (ddd, J=8.4, 2.4, 1 Hz, 1H) H-6', 6.85 (ddd, J=8.4, 2.4, 0.4 Hz, 1H), 6.93 (s,1H), 7.04 (dd, J=2.4, 0.4 Hz, 1H), 7.16 (dd, J=6.8, 0.4 Hz, 1H), 7.21 (ddd, J=10.4, 8.4 Hz, 1H) H-5'.	
EM (m/z espectro 3): 353 (MH ⁺ , 3.5), 352 (M ⁺ , 15), 293 (72), 280 (62), 121(100)	



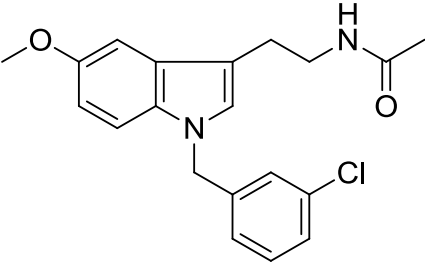
➤ 1-*N-m*-metoxibenzoilmelatonina (**M3B-3**)

 <i>N</i> -{2-[5-metoxi-1-(3-metoxibenzoil)-1H-indol-3-il]-etil}-acetamida	Aspecto: sólido blanco fino
	<i>Peso molecular</i> : 366.16 uma
	<i>Punto fusión</i> : 103 - 105°C
	<i>R_f</i> : 0.52
	<i>IR (espectro 4)</i> v: 3276 cm ⁻¹ (-NH), 3076 cm ⁻¹ (-CH insaturado), 2942, 2830 cm ⁻¹ (-CH saturado), 1677 cm ⁻¹ (C=O), 1634 cm ⁻¹ (C=O amida), 1555, 1473, 1449, 1310 cm ⁻¹ (C=C aromático) 1275 cm ⁻¹ (C-O-C)
<i>RMN</i> ¹ <i>H</i> (CDCl ₃ , espectro 5) δ: 1.94 (s, 3H), 2.86 (t, <i>J</i> = 6.8 Hz, 2H), 3.54 (td, 7.2, 6.8 Hz 2H), 3.86 (s, 3H), 3.89 (s, 3H) 5.55 (sa, 1H), 6.64 (dd, <i>J</i> = 9, 2.4, Hz, 1H), 7.04 (d, <i>J</i> = 2.4 Hz, 1H), 7.11 (s, 1H), 7.12 (ddd, <i>J</i> = 7.8, 2.8, 0.8 Hz, 1H) H-4', 7.262 - 7.226, (m, 2H) H-2' y H-6', 7.42 (ddd, <i>J</i> = 8.2, 7.3, 0.7 Hz, 1H) H-5', 8.29 (d, <i>J</i> =9.2 Hz, 1H).	
<i>EM (m/z espectro 6)</i> : 367 (MH ⁺ , 1.0), 366 (M ⁺ , 2.5), 307 (9.5), 135 (100), 107 (25).	

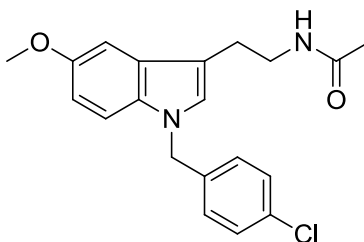
➤ 1-*N-o*-clorobencilmelatonina (**M7A-2**)

 <i>N</i> -{2-[1-(2-clorobencil)-5-metoxi-1H-indol-3-il]-etil}-acetamida	Aspecto: sólido blanco
	<i>Peso molecular</i> : 356.85 uma
	<i>Punto fusión</i> : 96 – 98 °C
	<i>R_f</i> : 0.36
	<i>IR (espectro 7)</i> v: 3300 cm ⁻¹ (-NH), 3111 cm ⁻¹ (-CH insaturado) 2937, 2910, 2863 cm ⁻¹ (-CH saturado), 1643 cm ⁻¹ (C=O amida), 1566, 1488, 1443, 1435 cm ⁻¹ (C=C aromático) 1228 cm ⁻¹ (C-O-C)
<i>RMN</i> ¹ <i>H</i> (CDCl ₃ , espectro 8) δ: 1.92 (s, 3H), 2.95 (t, <i>J</i> =6.8 Hz, 2H), 3.59 (dt, <i>J</i> = 6.8, 6 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 5.33 (s, 2H), 5.53 (sa, 1H), 6.64 (ddd, <i>J</i> =7.4, 1.6, 0.8 Hz, 1H) H-6', 6.86 (ddd, <i>J</i> = 9, 2.4, 0.8, 0.4 Hz, 1H), 6.94 (s 1H), 7.06 (dd, <i>J</i> =2.4, 0.8, 0.4 Hz, 1H), 7.12 – 7.08 (m, 1H) H-5', 7.14 (dd, <i>J</i> =8.8, 0.8 Hz, 1H), 7.23–7.18 (m, 1H) H-4', 7.4 (dd, <i>J</i> = 8, 1.2 Hz, 1H) H-3'	
<i>EM (m/z espectro 9)</i> : 357 (MH ⁺ , 1.0), 356 (M ⁺ , 3), 297 (16.5), 284(18), 125 (100).	

➤ 1-*N-m*-clorobencilmelatonina (**M7A-3**)

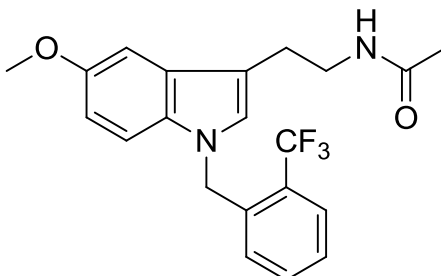
 <i>N</i> -{2-[1-(3-clorobencil)-5-metoxi-1H-indol-3-il]-etil}-acetamida	Aspecto: sólido blanco
	Peso molecular: 356.85 uma
	Punto fusión: 115 - 117 °C
	<i>R_f</i> : 0.49
<i>IR</i> (espectro 9): 3313 cm ⁻¹ (-NH), 3073, 3006 cm ⁻¹ (-CH insaturado) 2935, 2912, 2841 cm ⁻¹ (-CH saturado), 1640 cm ⁻¹ (C=O amida), 1563, 1488, 1430, cm ⁻¹ (C=C aromático) 1229 cm ⁻¹ (C-O-C)	
<i>RMN</i> ¹ H(CDCl ₃ , espectro 10) δ: 1.92 (s, 3H), 2.95 (t, <i>J</i> =6.8 Hz, 2H), 3.59 (dt, <i>J</i> =6.8, 6.4 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 5.20 (s, 2H), 5.53 (sa, 1H), 6.85 (ddd, <i>J</i> =8.9, 2.4, 0.4 Hz, 1H), 6.93 (s, 1H) H-2', 7.04 (dd, <i>J</i> =2.4, 0.4 Hz, 1H), 7.16 (dd, <i>J</i> =6.8, 0.8, 0.4 Hz, 1H), 7.21 (ddd, <i>J</i> =10.4, 8.4 Hz, 1H) H-4'.	
<i>EM</i> (<i>m/z</i> espectro 11): 357 (MH ⁺ , 2), 356 (M ⁺ , 7.5), 297 (24), 284 (24), 125 (100).	

Para analizar el grupo de M7A; se sintetizó el compuesto **M7A-4** [27] (Figura 4) 1-*N-p*-clorobencilmelatonina, que previamente ya se había sintetizado para tener una comparativa con respecto a la información de Espectroscopia RMN y que fueran en las mismas condiciones.

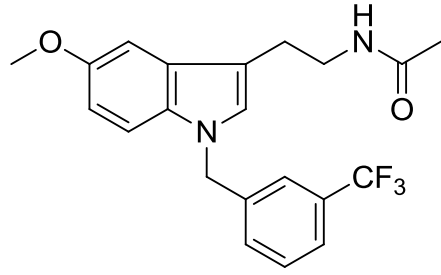
Figura 4. Compuesto **M7A-4**

RMN ¹H(CDCl₃) δ: 1.91 (s, 3H), 2.93 (t, *J*=6.8 Hz, 2H), 3.56 (dt, *J*=6, 2.8 Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 5.20 (s, 2H), 5.63 (sa, 1H), 6.84 (dd, *J*=8.8, 2.5 Hz, 1H), 6.91 (s, 1H), 7.01 (d, *J*=8.4 Hz, 2H) H-2', 7.04 (d, *J*=2.5 Hz, 1H) H-6', 7.10 (d, *J*= 8.9 Hz, 1H) H-5', 7.25 (d, *J*= 8.5 Hz, 2H) H-3'.

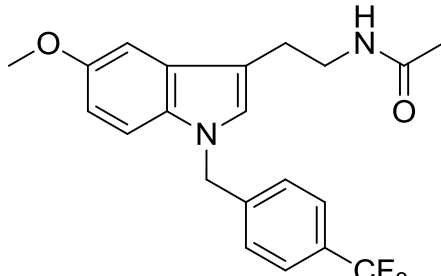
➤ 1-*N-m*-trifluorometilbencilmelatonina (**M8A-2**)

 <i>N</i> -(2-[5-metoxi-1-(2-(trifluorometil)encil)-1H-indol-3-il]-etil)-acetamida	Aspecto: sólido blanco fino
	<i>Peso molecular</i> : 390.16 uma
	<i>Punto fusión</i> : 105 – 107 °C
	<i>R_f</i> : 0.35
	<i>IR (espectro 12)</i> v: 3301 cm ⁻¹ (-NH), 3090 cm ⁻¹ (-CH insaturado) 2924, 2855 cm ⁻¹ (-CH saturado), 1646 cm ⁻¹ (C=O amida), 1557, 1488, cm ⁻¹ (C=C aromático) 1311, 1128 cm ⁻¹ (C-F) 1227 cm ⁻¹ (C-O-C)
<i>RMN ¹H</i> (CDCl ₃ , espectro 13) δ: 1.93 (s, 3H), 2.96 (t, <i>J</i> =6.8 Hz, 2H), 3.60 (dt, <i>J</i> =6.8, 6.4 Hz 2H), 3.86 (s, 3H), 5.46 (s, 2H), 5.59 (sa, 1H), 6.57 (d, <i>J</i> =5.6 Hz, 1H) H-6', 6.84 (dd, <i>J</i> =8.8, 2.4, Hz, 1H), 6.94 (s, 1H), 7.05 (d, <i>J</i> =9.2 Hz, 1H), 7.07 (dd, <i>J</i> = 5.2, 2.4 Hz, 1H), 7.36–7.032 (m, 2H) H-4' y H-5', 7.70 (dd, <i>J</i> = 7.6, 3.2, 1H) H-3'.	
<i>EM (m/z espectro 14)</i> : 391 (MH ⁺ , 3), 390 (M ⁺ , 13), 331 (28.5), 318 (24), 159 (100), 109 (65.5).	

➤ 1-*N-m*-trifluorometilbencilmelatonina (**M8A-3**)

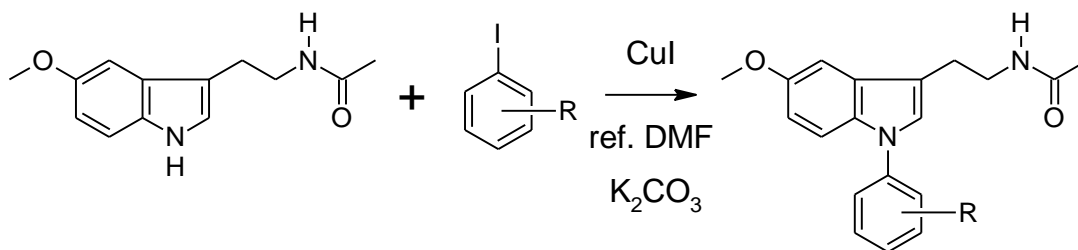
 <i>N</i> -(2-[5-metoxi-1-(3-(trifluorometil)encil)-1H-indol-3-il]-etil)-acetamida	Aspecto: sólido blanco fino
	<i>Peso molecular</i> : 390.16 uma
	<i>Punto fusión</i> : 87 – 89 °C
	<i>R_f</i> : 0.41
	<i>IR (espectro 15)</i> v: 3317 cm ⁻¹ (-NH), 3106 cm ⁻¹ (-CH insaturado) 2926, 2905 cm ⁻¹ (-CH saturado), 1640 cm ⁻¹ (C=O amida), 1560, 1489, 1430, cm ⁻¹ (C=C aromático) 1329, 1110 cm ⁻¹ (C-F) 1230 cm ⁻¹ (C-O-C)
<i>RMN ¹H</i> (CDCl ₃ , espectro 16) δ: 1.92 (s, 3H), 2.95 (t, <i>J</i> =6.4 Hz, 2H), 3.59 (dt, <i>J</i> = 6.8, 6.4 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 5.29 (s, 2H), 5.54 (sa, 1H), 6.86 (dd, <i>J</i> =8.8, 2.4, Hz, 1H), 6.94 (s, 1H), 7.06 (d, <i>J</i> =2.4 Hz, 1H), 7.11 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 1H), 7.20 (dd, 6.8, 2.4 Hz, 1H) H-6', 7.42–7.38 (m, 2H) H-2' y H-5', 7.52 (dd, <i>J</i> = 7.6, 2 Hz, 1H) H-4'.	
<i>EM (m/z espectro 17)</i> : 391 (MH ⁺ , 1), 390 (M ⁺ , 3.5), 331 (27), 318 (21.5), 159 (100), 109 (25).	

➤ 1-*N*-*p*-trifluorometilbencilmelatonina (**M8A-4**)

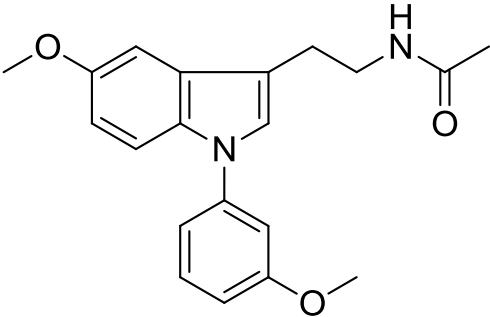
 <i>N</i> -[2-[5-metoxi-1-(4-(trifluorometil)bencil)-1H-indol-3-il]-etil]-acetamida	Aspecto: sólido blanco fino
	Peso molecular: 390.16 uma
	Punto fusión: 111 – 113°C
	<i>R_f</i> : 0.46
	<i>IR</i> (espectro 17)v: 3301 cm ⁻¹ (-NH), 3107 cm ⁻¹ (-CH insaturado) 2920 cm ⁻¹ (-CH saturado), 1643 cm ⁻¹ (C=O amida), 1566, 1489, 1437, cm ⁻¹ (C=C aromático) 1326, 1109 cm ⁻¹ (C-F) 1231 cm ⁻¹ (C-O-C)
<i>RMN¹H</i> (CDCl ₃ , espectro 18) δ: : 1.93 (s, 3H), 2.95 (t, <i>J</i> =6.8, Hz, 2H), 3.59 (dt, <i>J</i> =6.8, 6.4 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 5.29 (s, 2H), 5.56 (sa, 1H), 6.85 (dd, <i>J</i> =9, 2.4, Hz, 1H), 6.94 (s, 1H), 7.06 (d, <i>J</i> =2.4 Hz, 1H), 7.09 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 1H), 7.16 (d, <i>J</i> =8 Hz, 2H) H-2' y H-6', 7.54 (d, <i>J</i> =8 Hz, 2H) H-3' y H-5'.	
<i>EM</i> (<i>m/z</i> espectro 19): 391 (MH ⁺ , 1), 390 (M ⁺ , 3.5), 331 (28), 318 (22.5), 159 (100), 109 (28).	

4.3.2. Método General de Preparación de Compuestos M3C

En un matraz bola de 25 mL, acondicionado con agitación magnética se adicionaron 232.3 mg de melatonina (1 mmol), 175 mg de K₂CO₃ (1.27 mmol), 47.6 mg de CuI (0.25 mmol), (1.2 mmol) del correspondiente yodoanisol y 6 mL de DMF anhidra. Se calentó la mezcla a reflujo 28h. Después de este tiempo se agregaron 10 mL de CH₂Cl₂ y se filtró al vacío; y el disolvente se eliminó a presión reducida. El análisis por CCF analítica (sistema elución 95:5 CHCl₃/MeOH) indicó la presencia de otro compuesto además del deseado. La purificación del producto se logró mediante recristalización a partir de tolueno.



➤ 1-*N-m*-metoxifenilmelatonina (**M3C-3**)

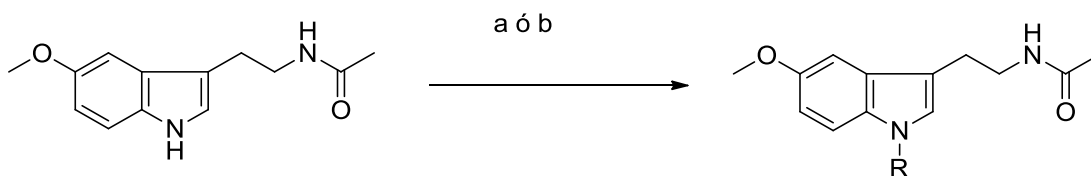
 <p><i>N</i>-{2-[5-metoxi-1-(3-metoxifenil)-1H-indol-3-il]-etil}-acetamida</p>	Aspecto: sólido fino color crema
	<i>Peso molecular</i> : 338.40 uma
<i>Punto fusión</i> : 133 - 135°C	
<i>R_f</i> : 0.43	
<i>IR (espectro 20)</i> v: 3247 cm ⁻¹ (-NH), 3076 cm ⁻¹ (-CH insaturado), 2958, 2936, (-CH saturado) 1636 (C=O amida), 1492, 1479, 1443 cm ⁻¹ (C=C aromático) 1237 cm ⁻¹ (C-O-C)	
<i>RMN¹H</i> (CDCl ₃ , espectro 21) δ: 1.95 (s, 3H), 2.98 (t, <i>J</i> =6.4 Hz, 2H), 3.32 (dt, <i>J</i> =6.8, 6.4 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 5.62 (sa, 1H), 6.86 (dd, <i>J</i> = 2.4, 0.81H) H-4', 6.88 (dd, <i>J</i> =8.8, 2.4, 1H), 7.04 (t, <i>J</i> = 2.4 Hz, 1H) H-2', 7.05 (dd, <i>J</i> = 2, 0.8 Hz, 1H) H-6', 7.07 (d, <i>J</i> =2.4 Hz, 1H), 7.18 (s, 1H), 7.40 (t, <i>J</i> =8 Hz, 1H) H-5', 7.51 (d, <i>J</i> =9.2 Hz, 1H).	
<i>EM (m/z espectro 22)</i> : 339 (MH ⁺ , 3.0), 338 (M ⁺ , 16), 280 (15), 279 (70), 266(100)	



5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Síntesis y caracterización estructural de los análogos de melatonina

La caracterización estructural de los compuestos sintetizados se realizó con base en sus datos espectroscópicos. El esquema de síntesis para los compuestos de las diferentes series se ilustra a continuación:



(a) i) NaH/DMF/baño de hielo. ; ii) halobencilo o halobenzoilo
(b) iodofenilo/ K_2CO_3 /CuI/DMF/reflujo

5.1.1 Análisis de Espectroscopia IR

En el espectro de todos los compuestos se observa una banda con una intensidad mediana entre $3500\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$ correspondiente a las vibraciones N-H de la amida; así también otra banda intensa entre $1740\text{--}1630\text{ cm}^{-1}$ correspondiente a las vibraciones C=O de la amida; lo que indica que el grupo acetamido se mantiene intacto. Otras bandas características que se presentan son: $3095\text{--}3010\text{ cm}^{-1}$ correspondiente a las vibraciones C-H insaturado; entre $2960\text{--}2925\text{ cm}^{-1}$ correspondiente a las vibraciones C-H saturado, entre $1625\text{--}1475\text{ cm}^{-1}$ correspondiente C-C de los anillos aromáticos; entre $1310\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$ correspondiente a las vibraciones C-O-C (Tabla 4).

En particular, el espectro del compuesto **M3B3** muestra una banda en 1677 cm^{-1} correspondiente a las vibraciones C=O ($1775\text{--}1650\text{ cm}^{-1}$) del grupo carbonilo perteneciente al grupo benzoilo como sustituyente. Además para la serie **M8A** se observa una banda intensa entre $1350\text{--}1100\text{ cm}^{-1}$ correspondiente a las vibraciones C-F₃ [30].





Tabla 4. Bandas más relevantes en los espectros de IR de los compuestos

Compuesto	M3A3	M3B3	M3C3	M7A2	M7A3	M8A2	M8A3	M8A4
Bandas	Frecuencia cm⁻¹							
N-H	3264	3276	3247	3300	3313	3301	3317	3301
C=O	1637	1677 1634	1636	1643	1640	1646	1640	1643
C-H Insaturados	3083	3076	3076	3111	3073 3006	3090	3106	3107
C-H Saturados	2959 2936 2832	2942	2958	2937 2910	2935 2912	2924	2926	2920
C-C	1591	1555 1473	1492	1566 1488	1563 1488	1557	1560	1566
	1580	1449	1479	1443	1430	1488	1489	1489
	1487	1310	1443	1435			1430	1437
C-O-C	1263 1227	1275	1237	1228	1229	1227	1230	1231
C-F₃	-	-	-	-	-	1311 1128	1329 1110	1326 1109

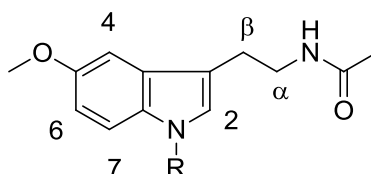




5.1.2 Análisis de Espectroscopia RMN ^1H

Los desplazamientos comunes en RMN ^1H para cada serie se listan en la Tabla 5, además se incluye el desplazamiento de los protones de la MEL como punto de comparación [3].

Tabla 5. Desplazamiento químico (CDCl_3 , ppm) de las señales comunes de los compuestos obtenidos



Comp	R	H-2	H-4	H-6	H-7	H- α	H- β	NH	CH_3O	CH_3CO
Mela[3]	H	7.37	7.03	6.87	7.27	3.6	2.95	6.01	3.86	1.96
M3A-3	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{-3-OMe}$	6.93	7.04	6.85	7.16	3.58	2.93	5.51	3.86	1.91
M3B-3	$\text{COC}_6\text{H}_4\text{-3-OMe}$	7.11	7.04	7.00	8.29	3.54	2.86	5.59	3.88	1.94
M3C-3	$\text{C}_6\text{H}_4\text{-3-OMe}$	7.18	7.07	6.89	7.51	3.63	2.99	5.62	3.86	1.95
M7A-2	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{-2-Cl}$	6.94	7.06	6.86	7.14	3.59	2.95	5.53	3.86	1.92
M7A-3	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{-3-Cl}$	6.93	7.05	6.86	7.12	3.59	2.95	5.53	3.86	1.93
M7A-4[29]	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{-4-Cl}$	6.91	7.04	6.84	7.10	3.56	2.93	5.63	3.85	1.91
M8A-2	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{-2-CF}_3$	6.94	7.07	6.84	7.05	3.60	2.96	5.59	3.86	1.93
M8A-3	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{-3-CF}_3$	6.94	7.06	6.86	7.11	3.59	2.95	5.54	3.86	1.93
M8A-4	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{-4-CF}_3$	6.95	7.06	6.85	7.10	3.59	2.95	5.56	3.86	1.93

En general, la señal correspondiente al protón H-2 se observa como una señal simple mientras que el protón H-4 se observa como una señal doble por acoplamiento con H-6, a su vez H-6 presenta una señal doble de doble por acoplamiento con H-4 y H-7, mientras que este último se observa como una señal doble con constante de acoplamiento entre 8 a 9 Hz, típico de un acoplamiento orto. El grupo metilo del acetamido aparece a 1.96 ppm como una señal simple y





el mismo patrón se observa para el grupo metoxilo a 3.88 ppm aprox. La señal para los protones β se observa como una señal triple mientras que los protones α muestran un triple de dobles.

La comparación del desplazamiento de los protones de los nuevos compuestos con los de la melatonina, indica que H-2 para los compuestos con grupo bencilo experimenta un desplazamiento a campo alto (aprox. 0.43 ppm) mientras que en los compuestos con el grupo benzoilo y fenilo no es tan marcada esta variación (aprox. 0.26 ppm). Lo que indica que la presencia del sustituyente en la posición 1 tiene un efecto electroprotector sobre este protón. En el caso de H-4 los desplazamientos se mantienen constantes para todos los compuestos, situación similar sucede para los protones de los grupos metoxilo y acetamido. Se observa un efecto de desprotección para H-6 en el caso del compuesto **M3B-3** (aprox. 0.15 ppm) mientras que en los otros compuestos se mantiene similar a MEL, también se altera el desplazamiento de H-7 hacia campo bajo en este mismo compuesto, esta variación se puede atribuir al efecto de desprotección que ejerce la vecindad del grupo carbonilo, situación similar que presenta el compuesto **M3C-3**, en este caso el efecto lo ejerce el grupo fenilo unido directamente al núcleo indólico, mientras que en los otros compuestos hay un efecto de protección (aprox. 0.15 ppm). Los protones H- α mantienen constantes sus desplazamientos. Merecen particular atención los protones H- β debido a que su desplazamiento es similar en todos los casos a excepción, de nuevo, del compuesto **M3B-3**, ya que hay un efecto de protección (aprox. 0.09 ppm). Una probable explicación a este fenómeno sería que el grupo benzoilo adopte una conformación ortogonal con respecto al núcleo indólico, quedando estos protones en la zona electrónica del anillo aromático. (Figura 3)



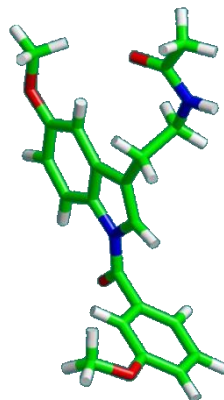


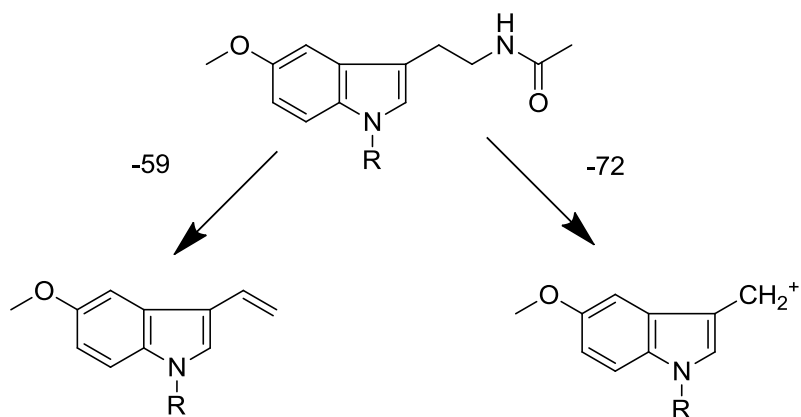
Figura 3. Conformación en la cual probablemente se da la interacción entre los protones β y el anillo aromático del compuesto **M3B-3**

5.1.3 Análisis de Espectrometría de Masas

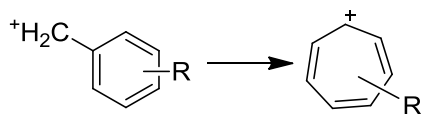
En todos los espectros de masas de los compuestos obtenidos se pueden observar los picos base que corresponden a la especie (ión cuasi-molecular) MH^+ ; así como también el pico correspondiente al ión molecular M^+ .

- M3A-3** m/z (%): 353 ($M^+ + 1$, 3.5), 352 (M^+ , 15), 293 (72), 280 (62), 121 (100)
M3B-3 m/z (%): 357 ($M^+ + 1$, 1.0), 366 (M^+ , 2.5), 307 (9.5), 135 (100), 107 (25).
M3C-3 m/z (%): 339 ($M^+ + 1$, 3.0), 338 (M^+ , 16), 279 (70), 266(100)
M7A-2 m/z (%): 357 ($M^+ + 1$, 1.0), 356 (M^+ , 3), 297 (16.5), 284 (18), 125 (100).
M7A-3 m/z (%): 357 ($M^+ + 1$, 2), 356 (M^+ , 7.5), 297 (24), 284 (24), 125 (100).
M8A-2 m/z (%): 391 ($M^+ + 1$, 3), 390 (M^+ , 13), 331 (28.5), 318 (24), 159 (100)
M8A-3 m/z (%): 391 ($M^+ + 1$, 1), 390 (M^+ , 3.5), 331 (27), 318 (21.5), 159 (100)
M8A-4 m/z (%): 391 ($M^+ + 1$, 1), 390 (M^+ , 3.5), 331 (28), 318 (22.5), 159 (100)

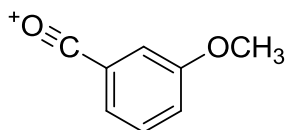
Los principales fragmentos que se observan en los espectros de masas se ilustran a continuación; donde las principales pérdidas son de $M^+ - 59$ [C_2H_4NO] $^+$ y $M^+ - 72$ [C_3H_6NO] $^+$; debido a la ruptura en la parte alifática de la molécula.



En los compuestos bencílicos se observa la ruptura de la parte bencílica de la molécula debido al pico correspondiente del fragmento característico; ión tropilio con el sustituyente. El cual muestra un 100% de abundancia en todos estos compuestos.



Para el compuesto con el grupo benzoilo se presenta un fragmento adicional.





6. CONCLUSIONES

Se realizó la síntesis de nuevos análogos de melatonina como potenciales agentes ansiolíticos; con base en los datos espectroscópicos (IR, RMN ^1H) y espectrométricos (EM) y sus constantes físicas de los compuestos sintetizados se puede afirmar que se obtuvieron los siguientes compuestos:

- 1) 1-*N*-(*m*-metoxibencil)melatonina (M3A-3)
- 2) 1-*N*-(*m*-metoxibenzoil)melatonina (M3B-3)
- 3) 1-*N*-(*m*-metoxifenil)melatonina (M3C-3)
- 4) 1-*N*-(*o*-clorobencil)melatonina (M7A-2)
- 5) 1-*N*-(*m*-clorobencil)melatonina (M7A-3)
- 6) 1-*N*-(*o*-trifluorometilbencil)melatonina (M8A-2)
- 7) 1-*N*-(*m*-trifluorometilbencil)melatonina (M8A-3)
- 8) 1-*N*-(*p*-trifluorometilbencil)melatonina (M8A-4)

Resta por evaluar la actividad ansiolítica de los nuevos derivados de melatonina obtenidos en el presente trabajo.





7. BIBLIOGRAFÍA

1. Brzezinski, A., *Melatonin in Humans*. New England Journal of Medicine, 1997. **336**(3): 186-195.
2. Lerner, A.B., *Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes*. Journal of the American Chemical Society, 1958. **80**(10): 2587.
3. Borjigin, J., X. Li, and S.H. Snyder, *The pineal gland and melatonin: molecular and pharmacologic regulation*. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 1999. **39**: 53-65.
4. Macchi, M.M. and J.N. Bruce, *Human pineal physiology and functional significance of melatonin*. Frontiers in Neuroendocrinology, 2004. **25**(3-4): 177-195.
5. Sun, X., *Circadian 5-HT production regulated by adrenergic signaling*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2002. **99**(7): 4686-4691.
6. Claustrat, B., J. Brun, and G. Chazot, *The basic physiology and pathophysiology of melatonin*. Sleep Medicine Reviews, 2005. **9**(1): 11-24.
7. Pala, D., *Homology models of melatonin receptors: challenges and recent advances*. International Journal of Molecular, 2013. **14**(4): 8093-121.
8. Datta, P.C. and M.G. King, *Melatonin: Effects on brain and behavior*. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 1980. **4**(4): 451-458.
9. Cardinali, D.P. and P. Pévet, *Basic aspects of melatonin action*. Sleep Medicine Reviews, 1998. **2**(3): 175-190.
10. Carpentieri, A., *New perspectives in melatonin uses*. Pharmacological Research, 2012. **65**(4): 437-444.
11. Ekmekcioglu, C., *Melatonin receptors in humans: biological role and clinical relevance*. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2006. **60**(3): 97-108.
12. Descamps-Francois, C., *Design and synthesis of naphthalenic dimers as selective MT1 melatonergic ligands*. European Journal of Medicinal Chemistry, 2003. **46**(7): 1127-9.





13. Pandi-Perumal, S.R., *Physiological effects of melatonin: Role of melatonin receptors and signal transduction pathways*. Progress in Neurobiology, 2008. **85**(3): 335-353.
14. Lira-Rocha, A., O. Espejo-González, and E.B. Naranjo-Rodríguez, *Receptor-binding studies of 1-N-substituted melatonin analogues*. European Journal of Medicinal Chemistry, 2002. **37**(12): 945-951.
15. Ambriz-Tututi, M., *Melatonin: A hormone that modulates pain*. Life Sciences, 2009. **84**(15–16): 489-498.
16. Tamura, H., *Melatonin and pregnancy in the human*. Reproductive Toxicology, 2008. **25**(3): 291-303.
17. Bondy, S.C. and E.H. Sharman, *Melatonin and the aging brain*. Neurochemistry International, 2007. **50**(4): 571-580.
18. Vijayalaxmi, *Melatonin as a radioprotective agent: a review*. International Journal of Radiation Oncology*Biology*Physics, 2004. **59**(3): 639-653.
19. Karasek, M., *Melatonin, human aging, and age-related diseases*. Experimental Gerontology, 2004. **39**(11–12): 1723-1729.
20. Rajaratnam, S.M.W., D.A. Cohen, and N.L. Rogers, *Melatonin and Melatonin Analogues*. Sleep Medicine Clinics, 2009. **4**(2): 179-193.
21. Srinivasan, V., *Jet lag: Therapeutic use of melatonin and possible application of melatonin analogs*. Travel Medicine and Infectious Disease, 2008. **6**(1–2): 17-28.
22. Hardeland, R., *Melatonin—A pleiotropic, orchestrating regulator molecule*. Progress in Neurobiology, 2011. **93**(3): 350-384.
23. Ochoa-Sanchez, R., *Anxiolytic effects of the melatonin MT2 receptor partial agonist UCM765: Comparison with melatonin and diazepam*. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 2012. **39**(2): 318-325.
24. Brunton, L.L., J.S. Lazo, and K.L. Parker, *Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 11 ed. 2006. 2018.





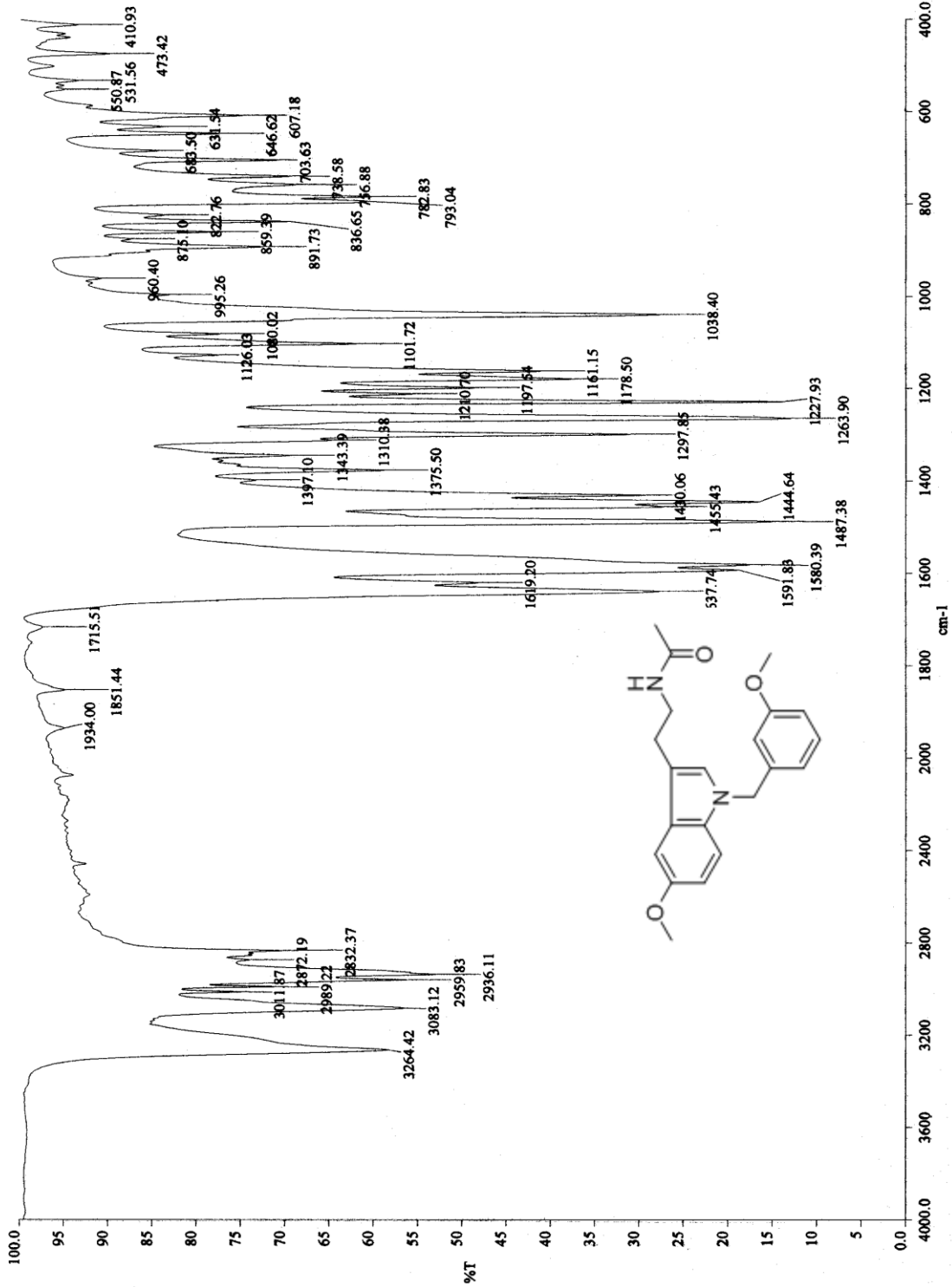
25. Rodriguez, J.L. and E.A. Meadows, *Anxiety Disorders*, in *Encyclopedia of Human Behavior (Second Edition)*, V.S. Ramachandran, Editor. 2012, Academic Press: San Diego. 169-176.
26. File, S.E., *Recent developments in anxiety, stress, and depression*. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1996. **54**(1): 3-12.
27. Bustamante-García, R., *Behavioural actions of two new 1-N substituted analogues of melatonin*. *Behavioural Brain Research*, 2013. **236**(0): 148-156.
28. Lira-Rocha, A., *Síntesis de Análogos de Melatoninas como Potenciales Agentes Agonistas y Antagonistas*, in *Posgrado en Ciencias Químicas 2006*, UNAM: México.
29. Zepeda-Velázquez, C.A., *Obtención de Derivados 1-N Sustituidos de Melatonina*, in *Facultad de Química 2004*, UNAM: México.
30. E., P., *Tablas para la Elucidación Estructural de Compuestos Orgánicos por Métodos Espectroscópicos*. 1° Edición ed. 1980, España: Alhambra. 307.





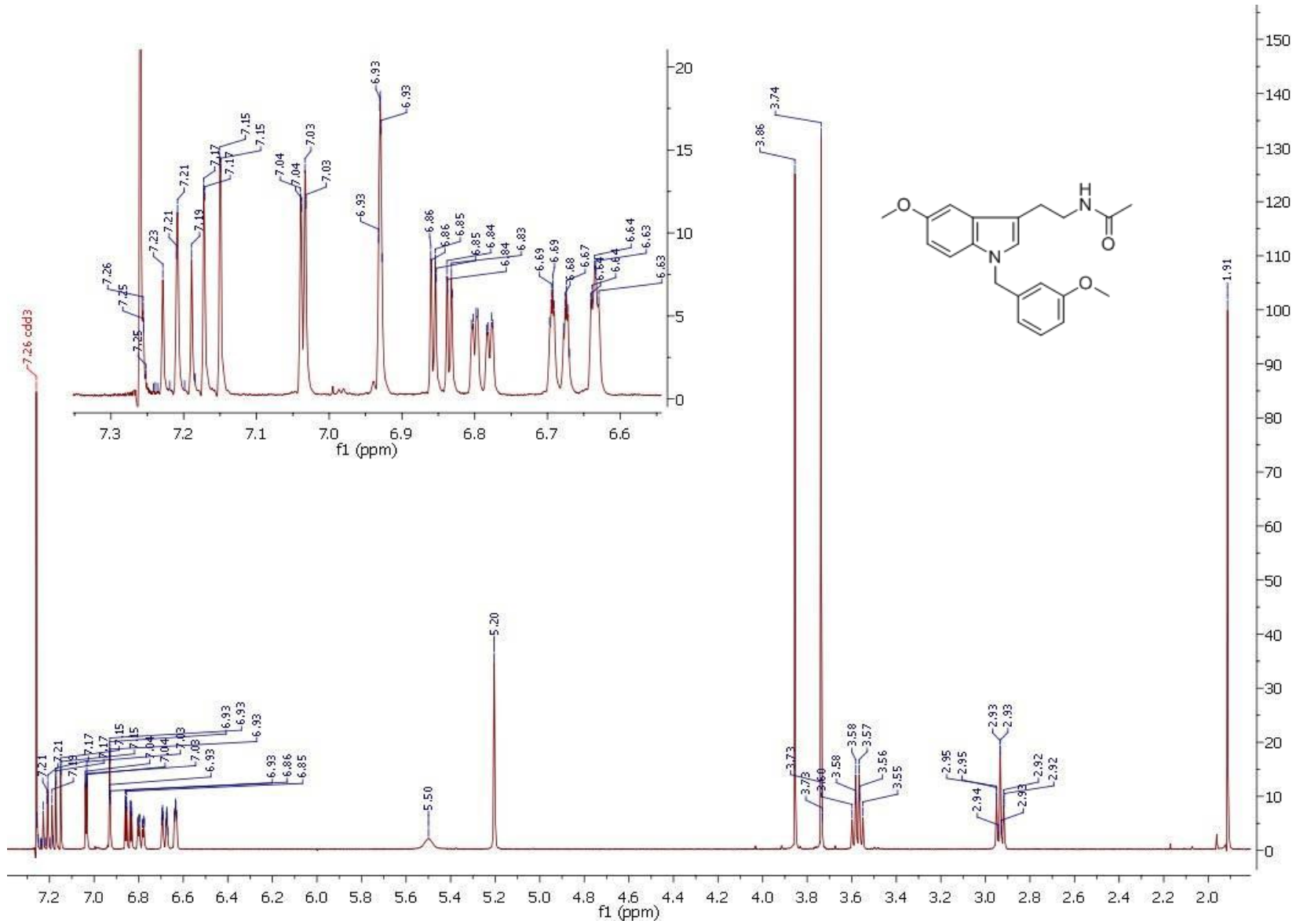
8. ANEXOS

8.1 Anexo A: Espectros



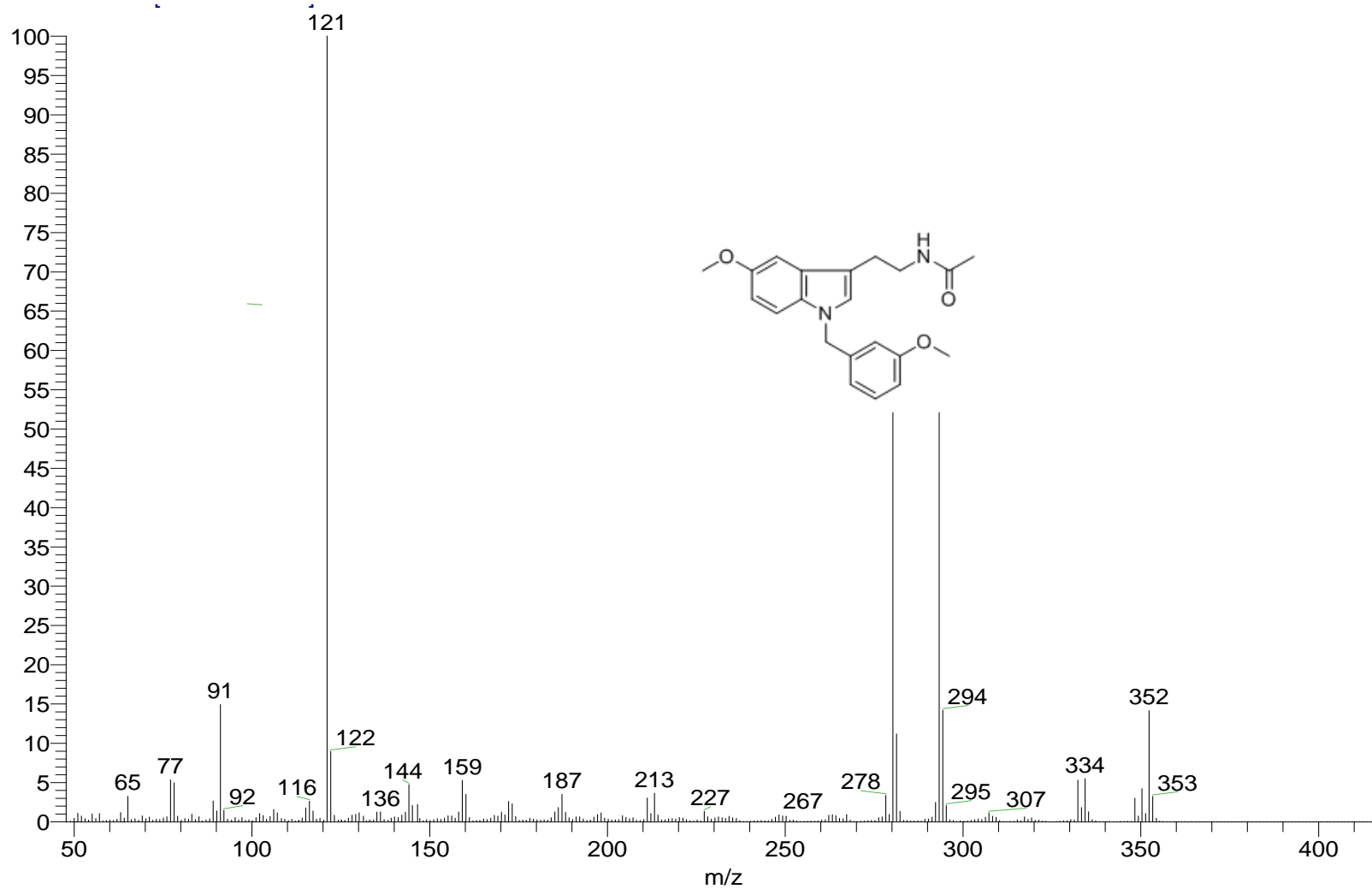
Espectro 1. IR Compuesto M3A-3





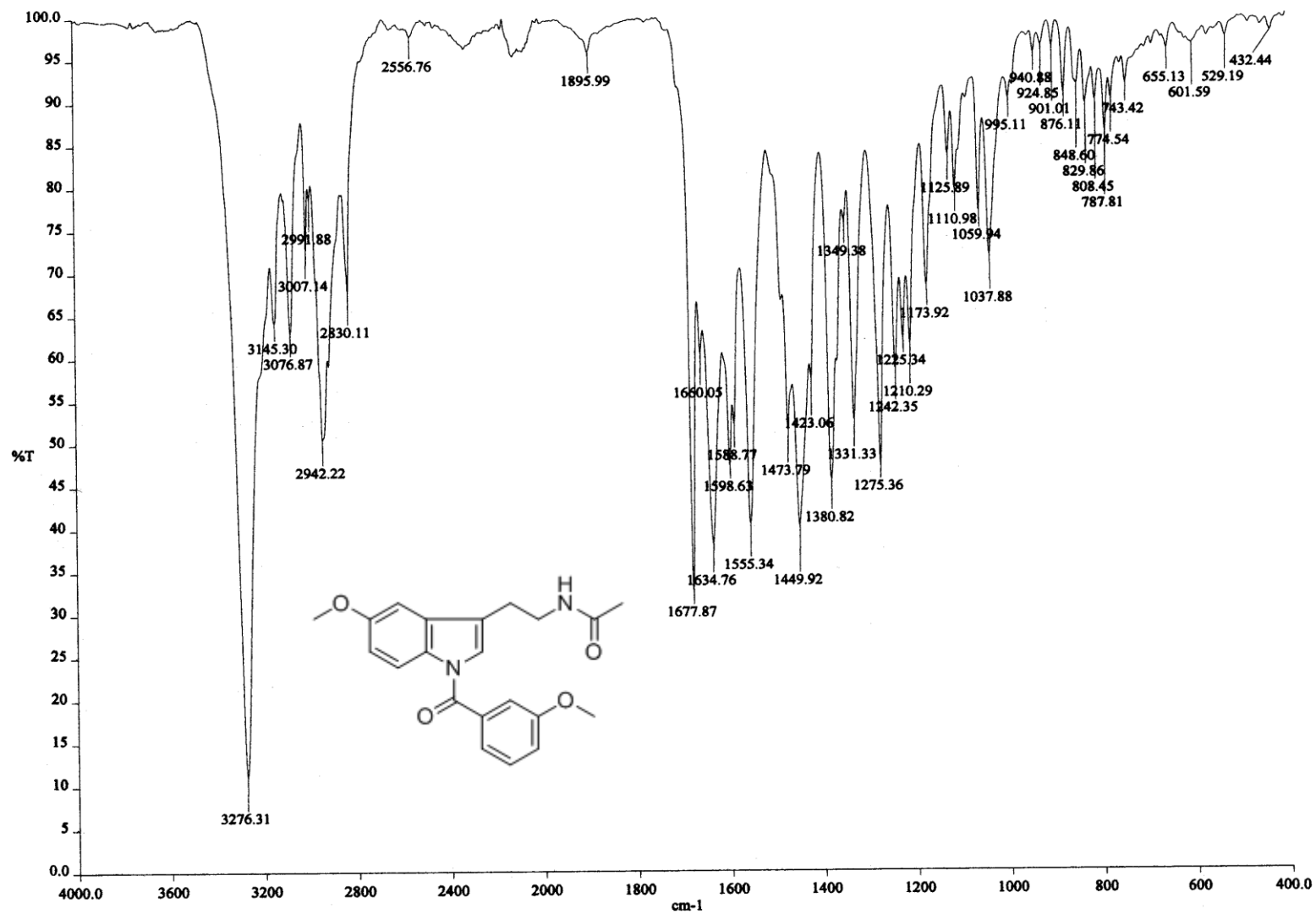
Espectro 2. RMN ¹H (CDCl₃) Compuesto M3A-



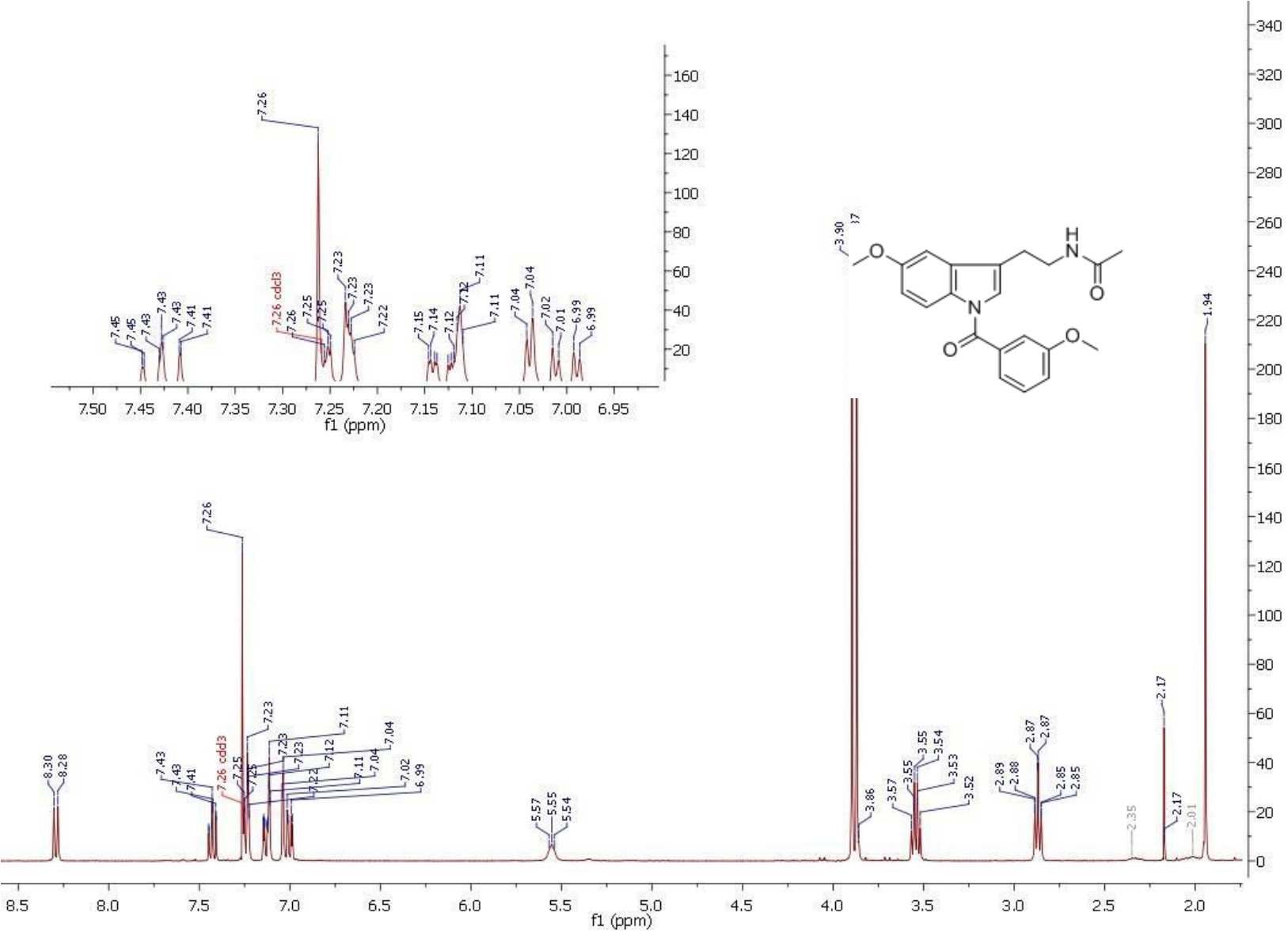


Espectro 3. EM Compuesto M3A-3



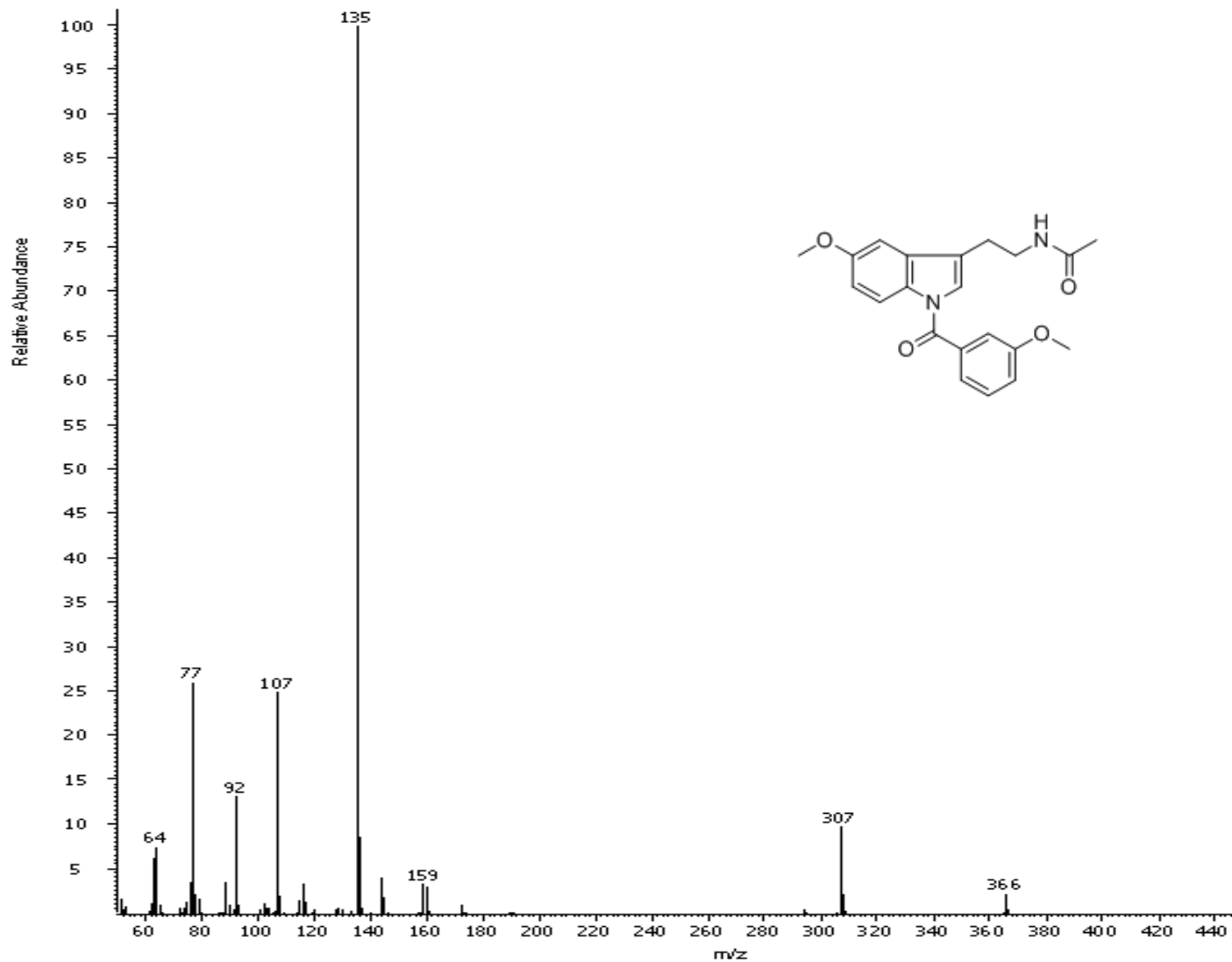


Espectro 4. IR Compuesto M3B-3

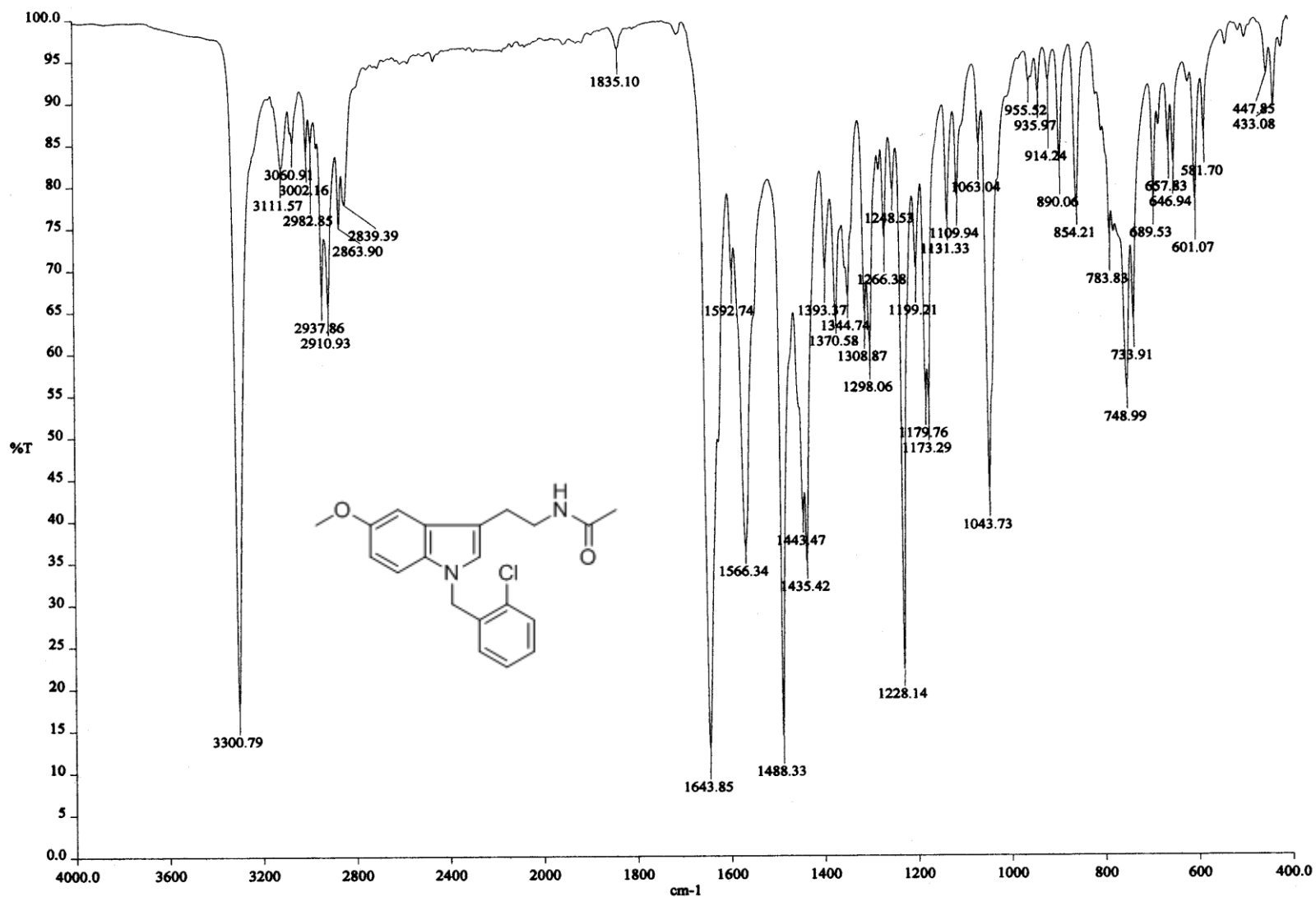


Espectro 5. RMN ¹H (CDCl₃) Compuesto M3B-



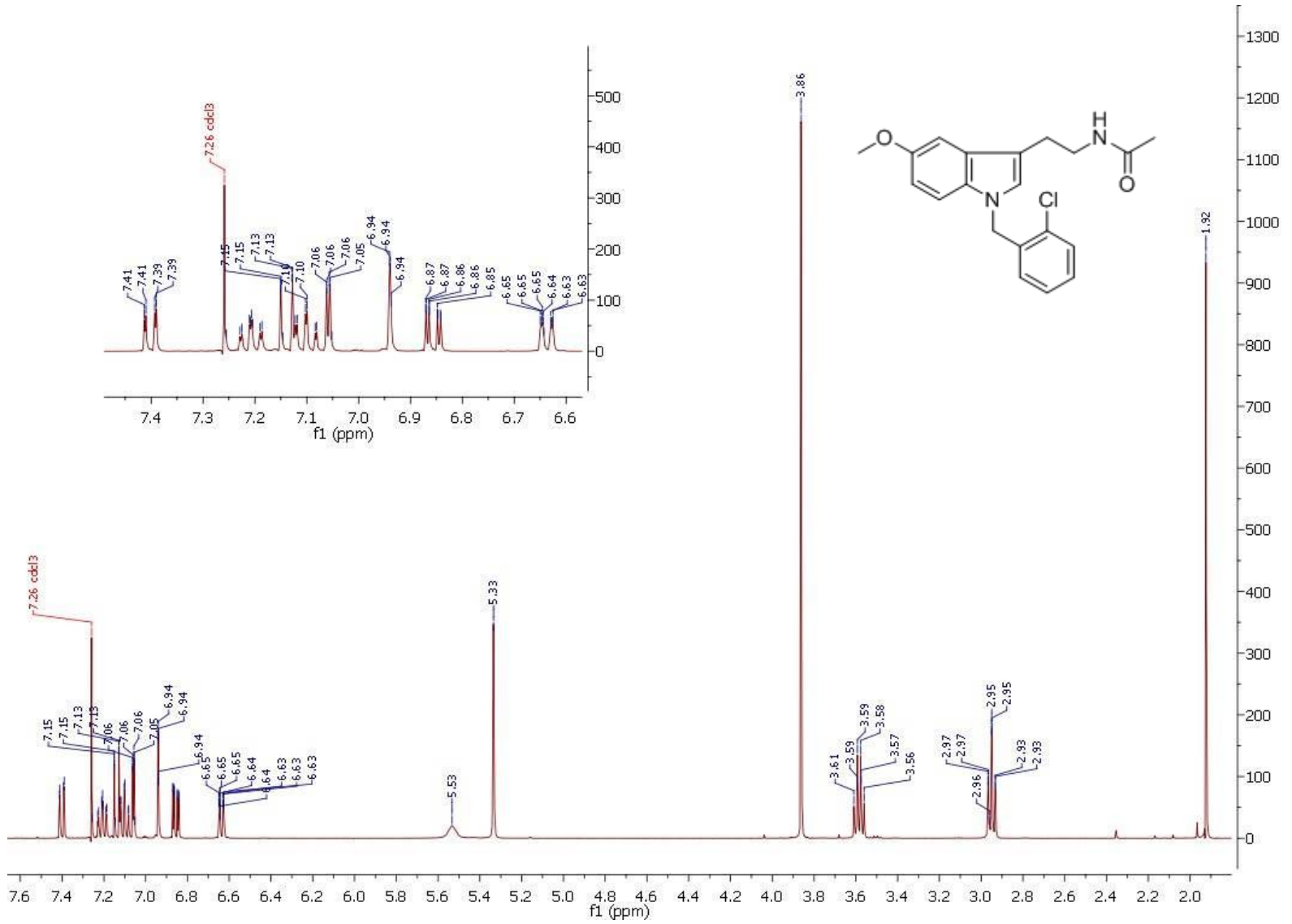


Espectro 6. EM Compuesto M3B-3



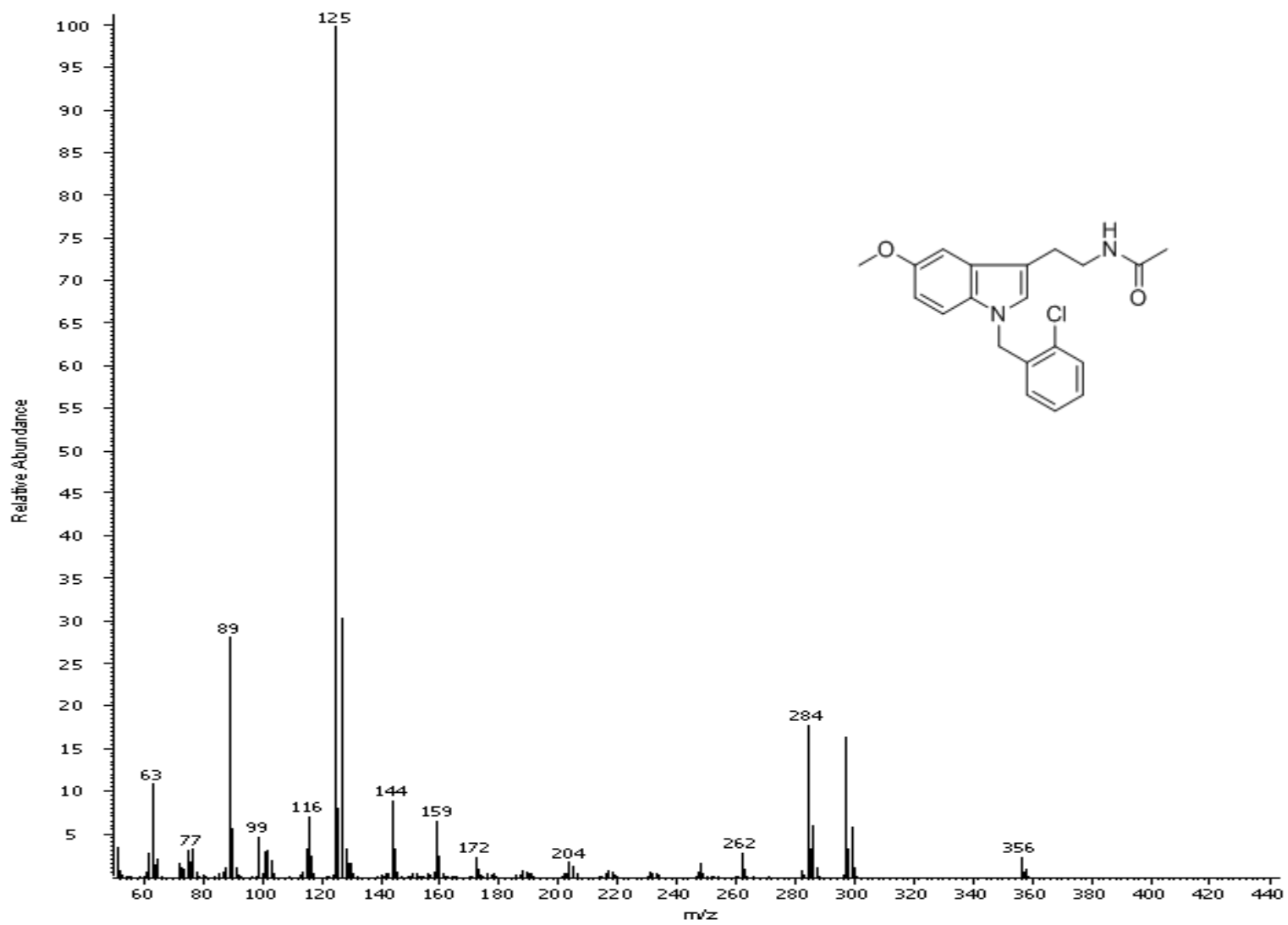
Espectro 7. IR Compuesto M7A-2





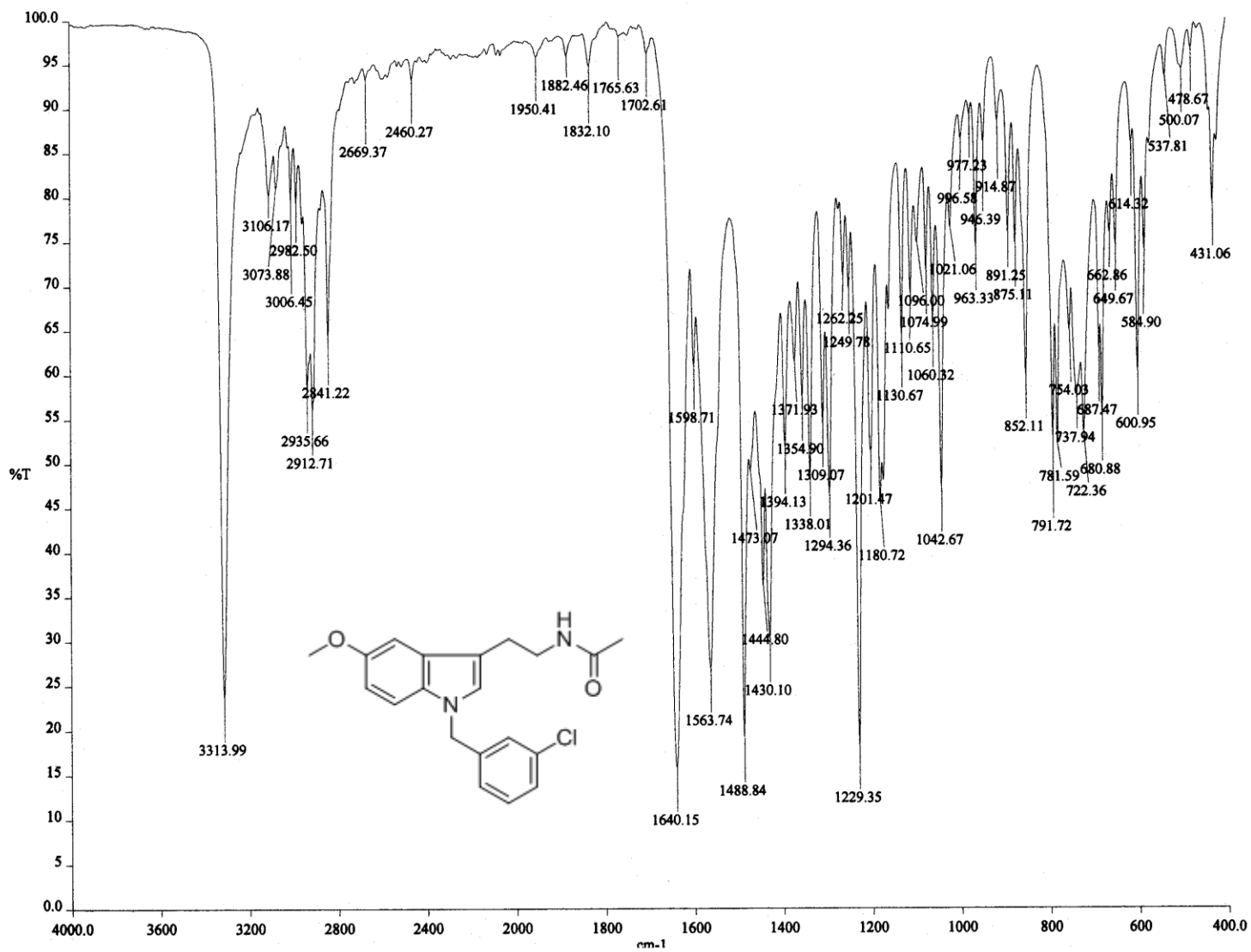
Espectro 8. RMN ^1H (CDCl_3) Compuesto M7A-2





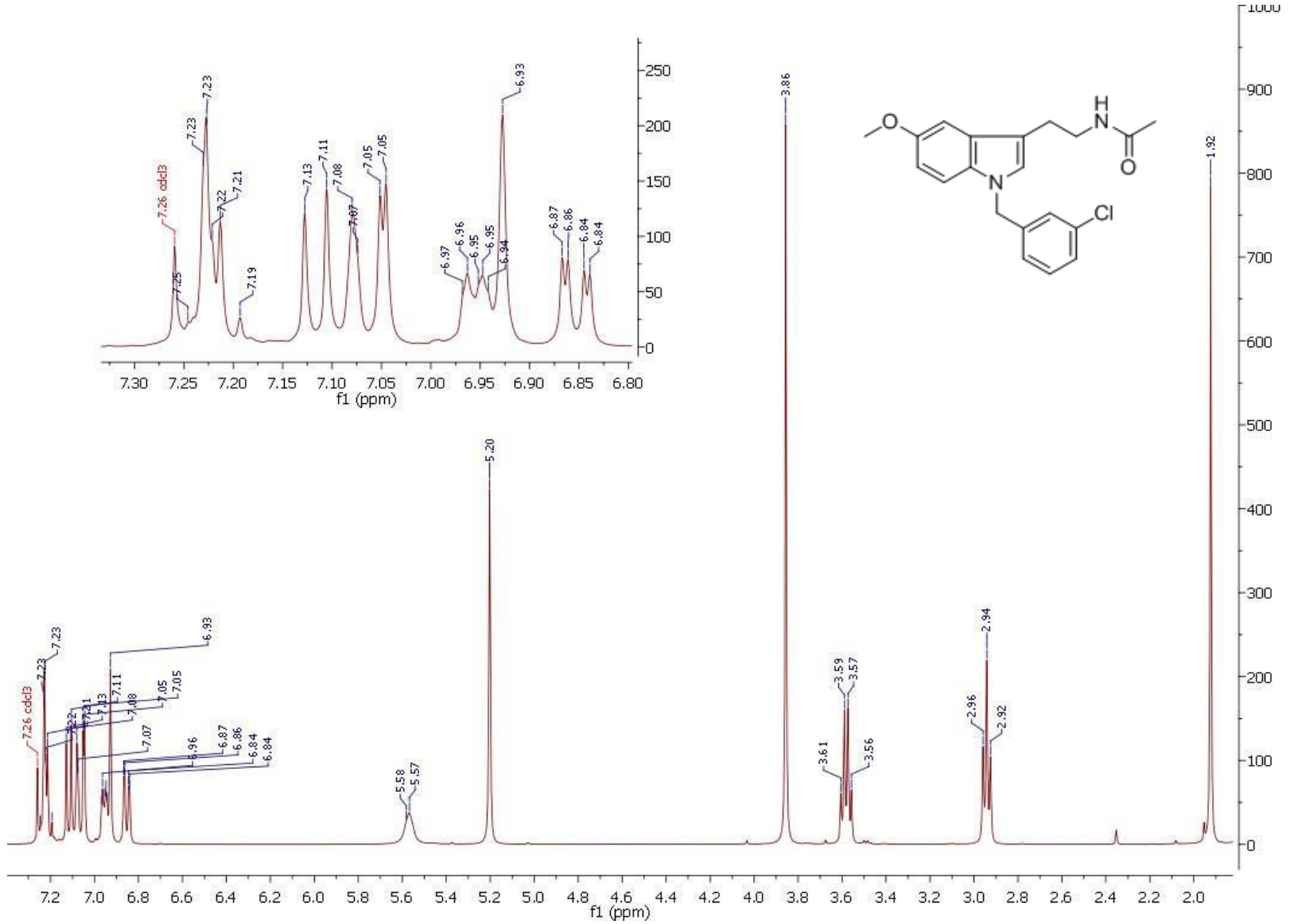
Espectro 9. EM Compuesto M7A-2





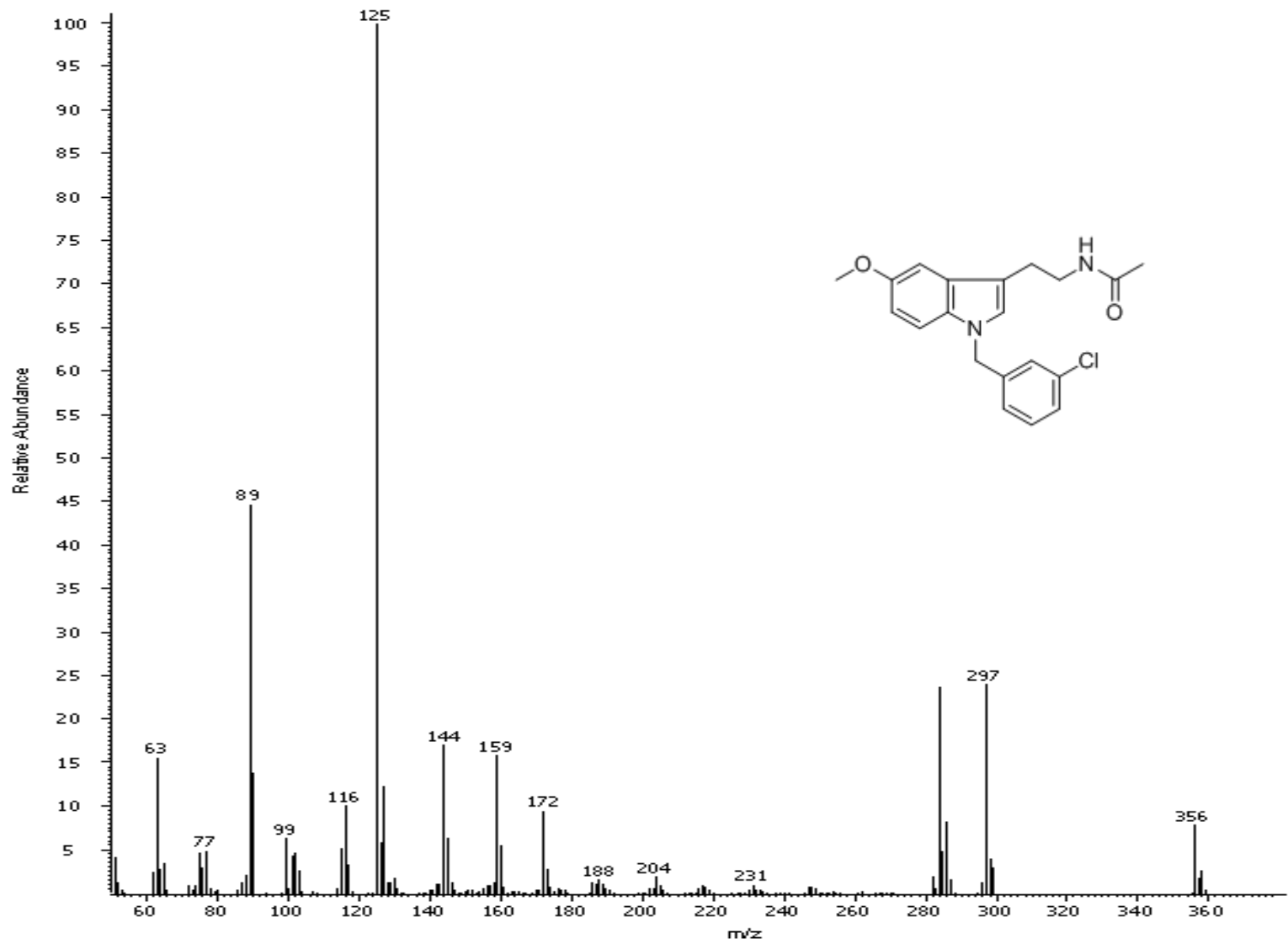
Espectro 10. IR Compuesto M7A-3





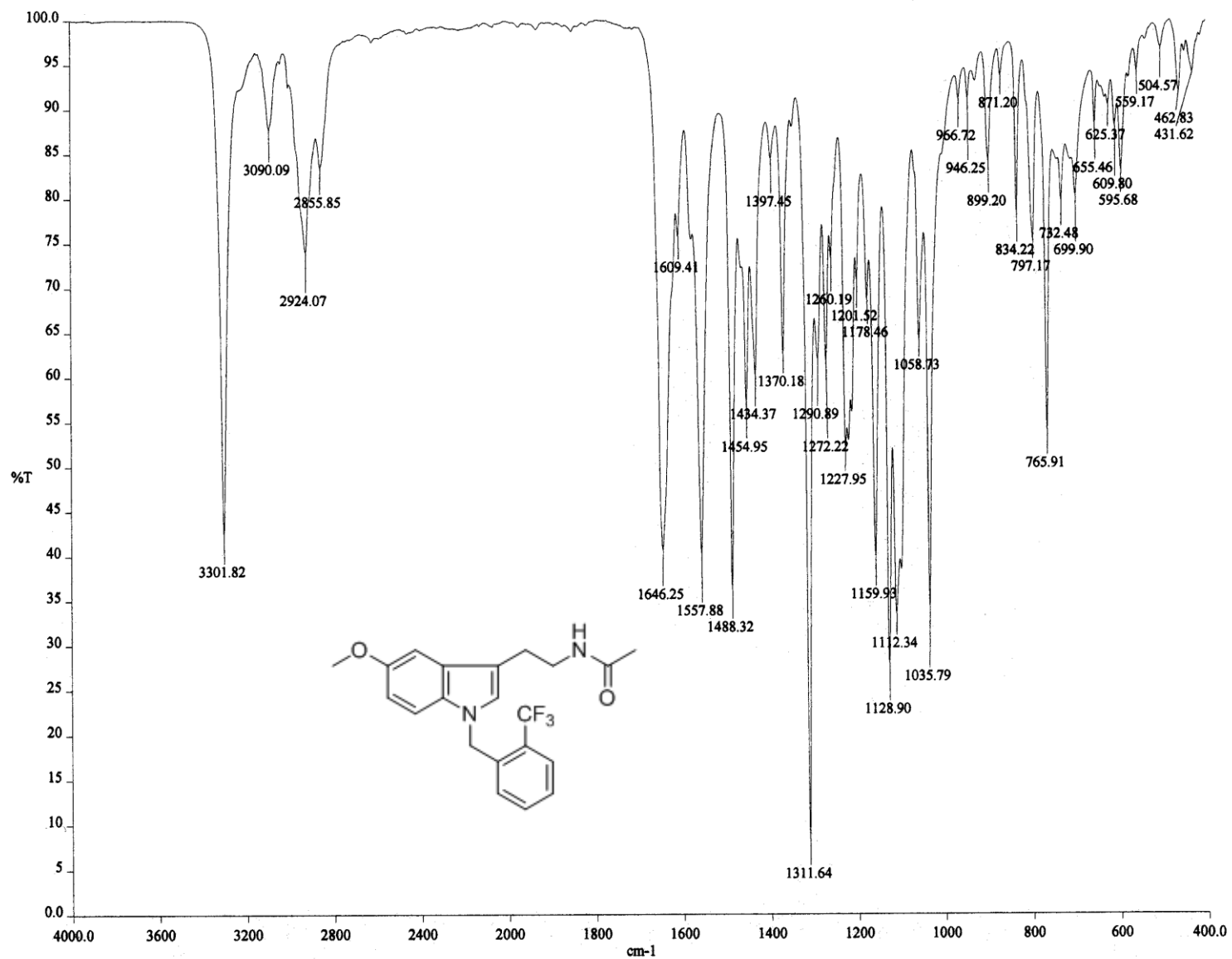
Espectro 11. RMN ^1H (CDCl_3) Compuesto M7A-3





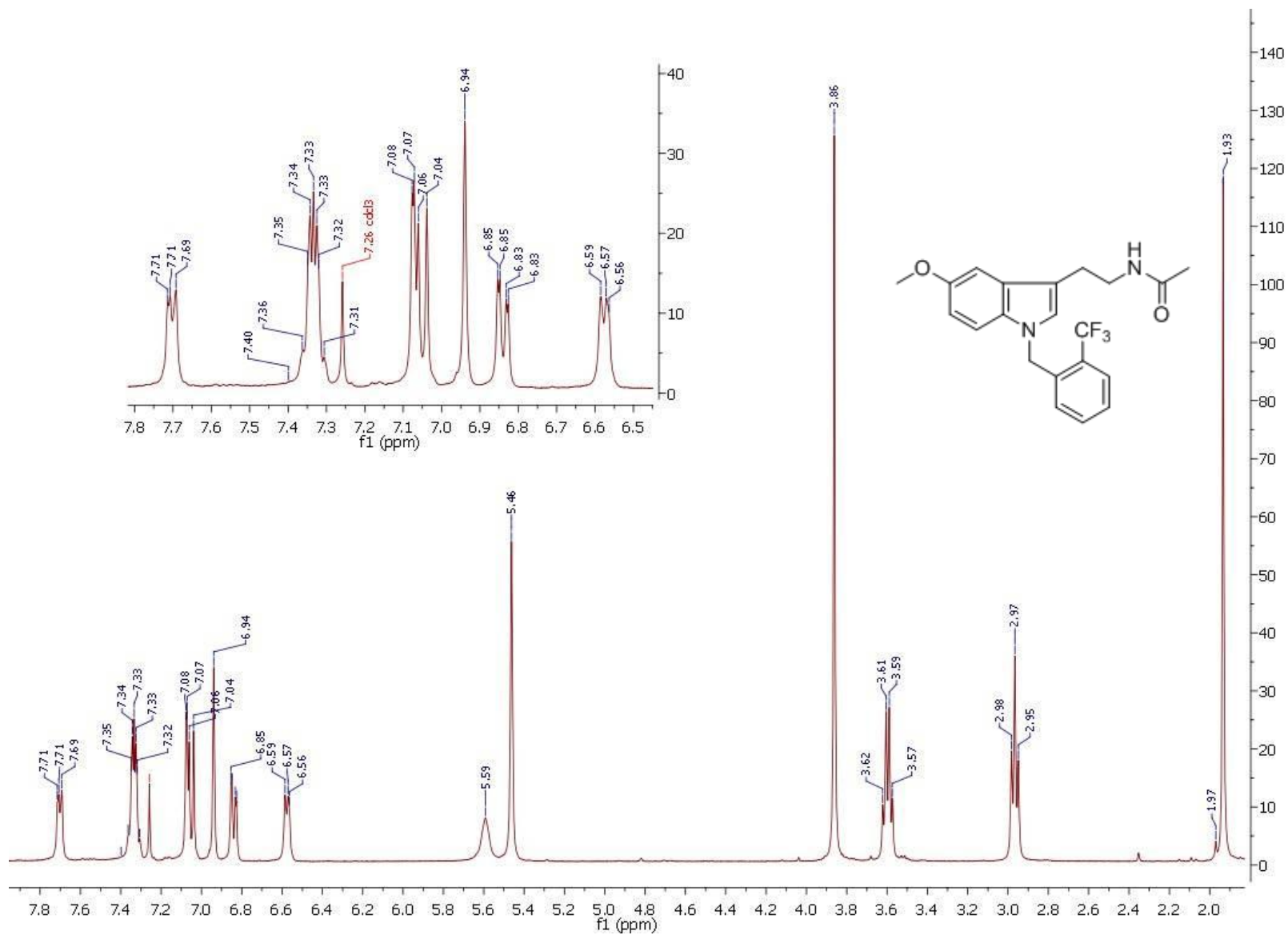
Espectro 12. EM Compuesto M7A-3





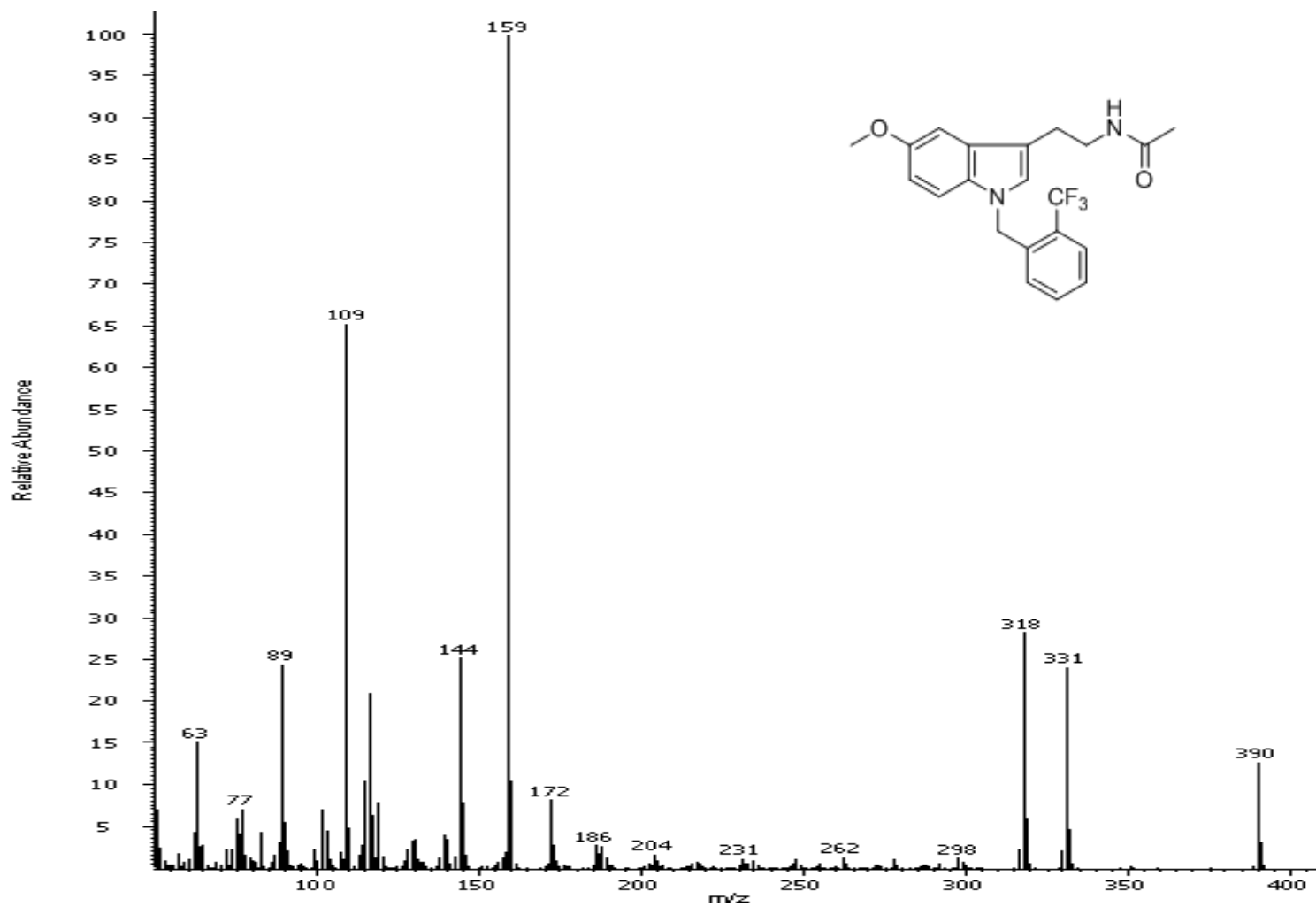
Espectro 13. IR Compuesto M8A-2





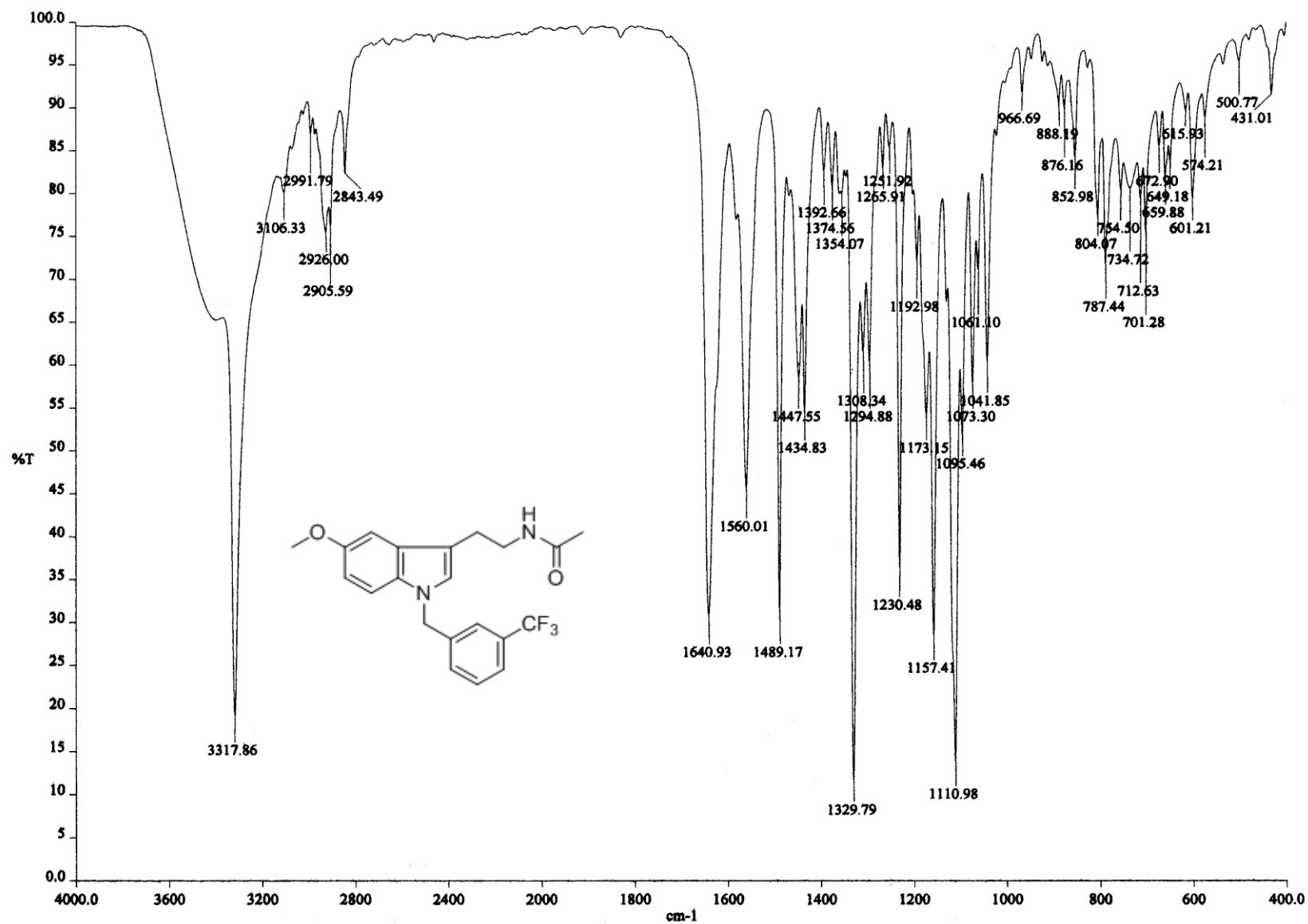
Espectro 14. RMN ^1H (CDCl_3) compuesto **M8A-2**



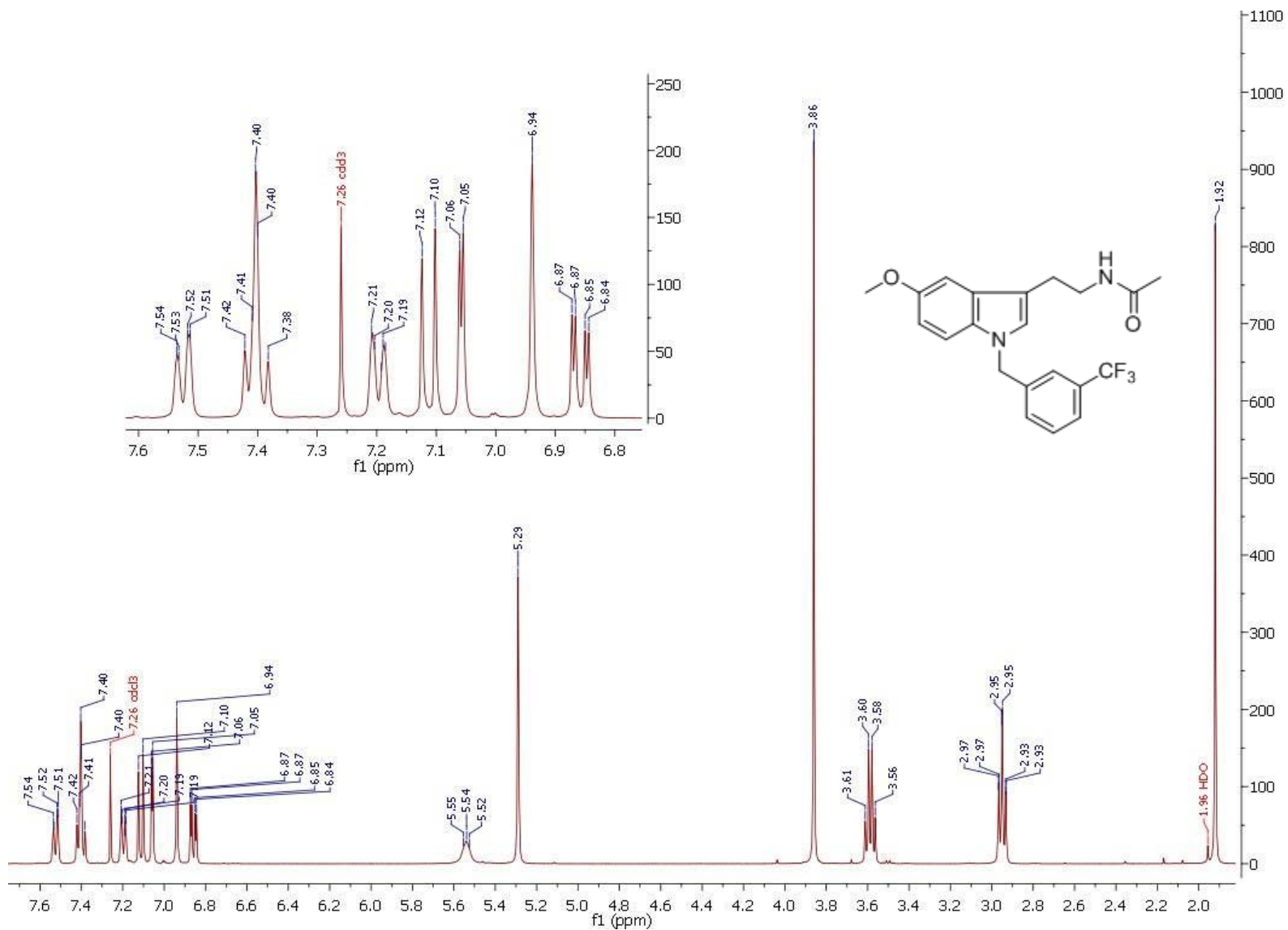


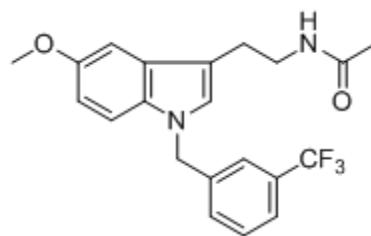
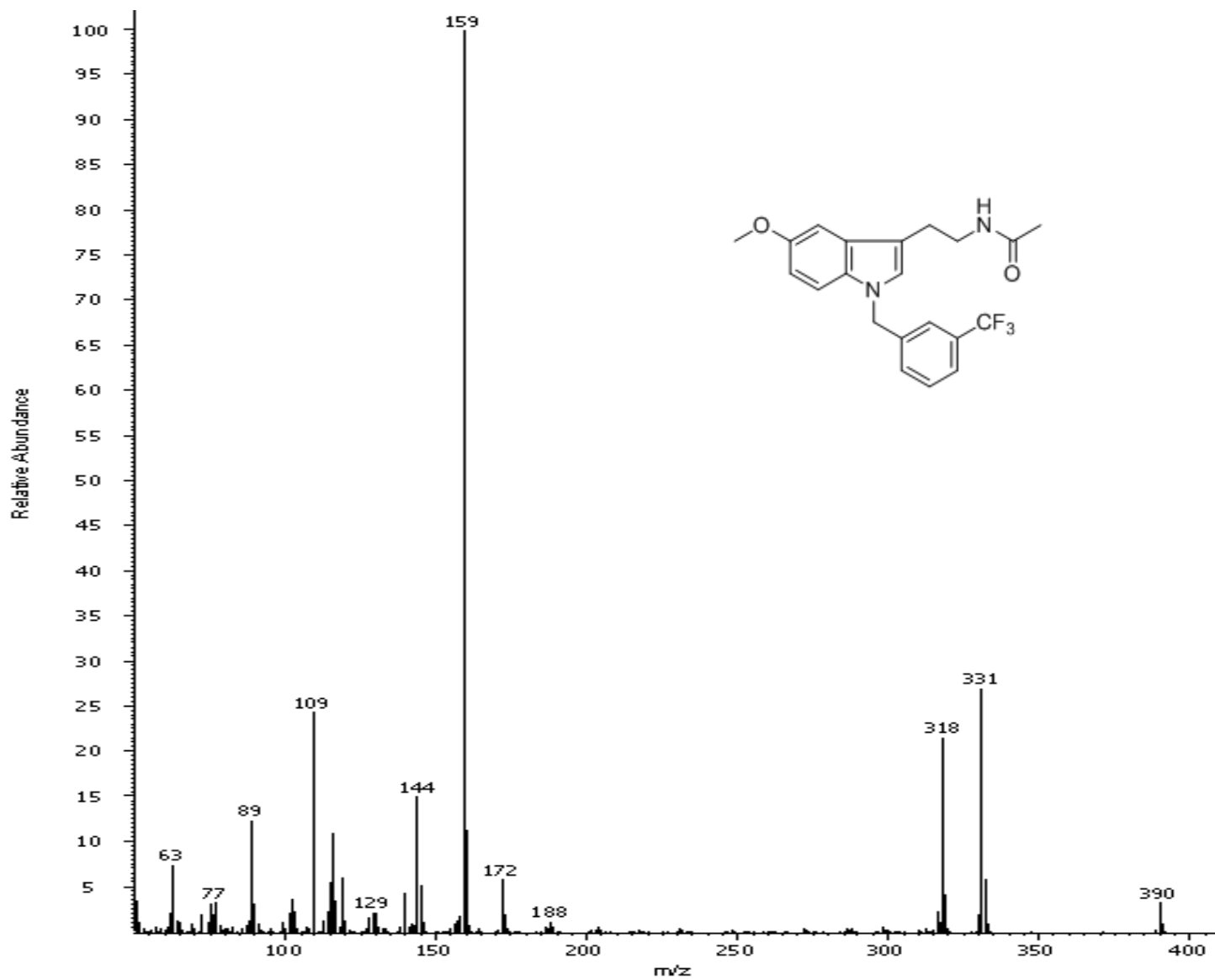
Espectro 15 EM Compuesto M8A-



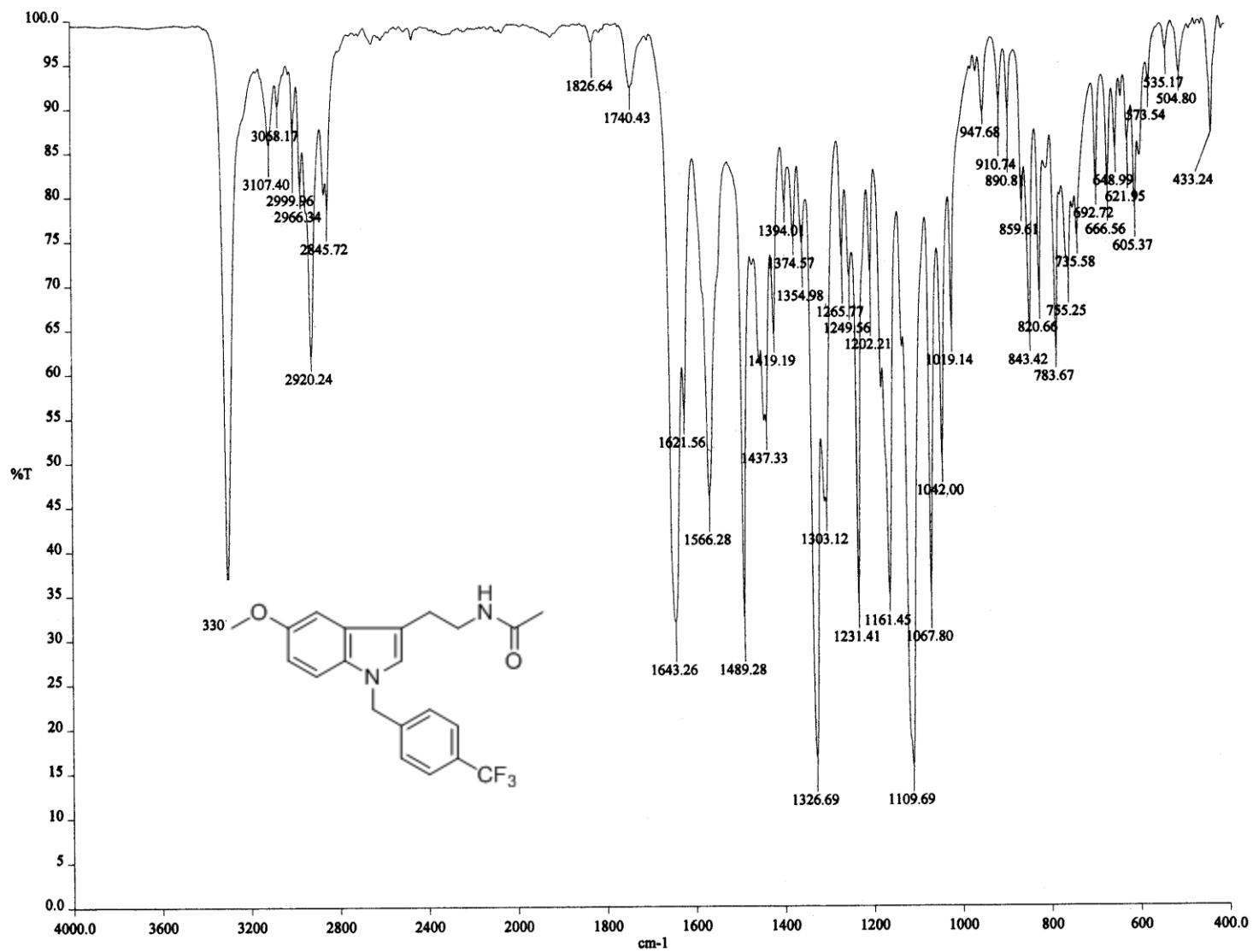


Espectro 16. IR Compuesto M8A-3

Espectro 17 RMN ¹H (CDCl₃) Compuesto M8A-3

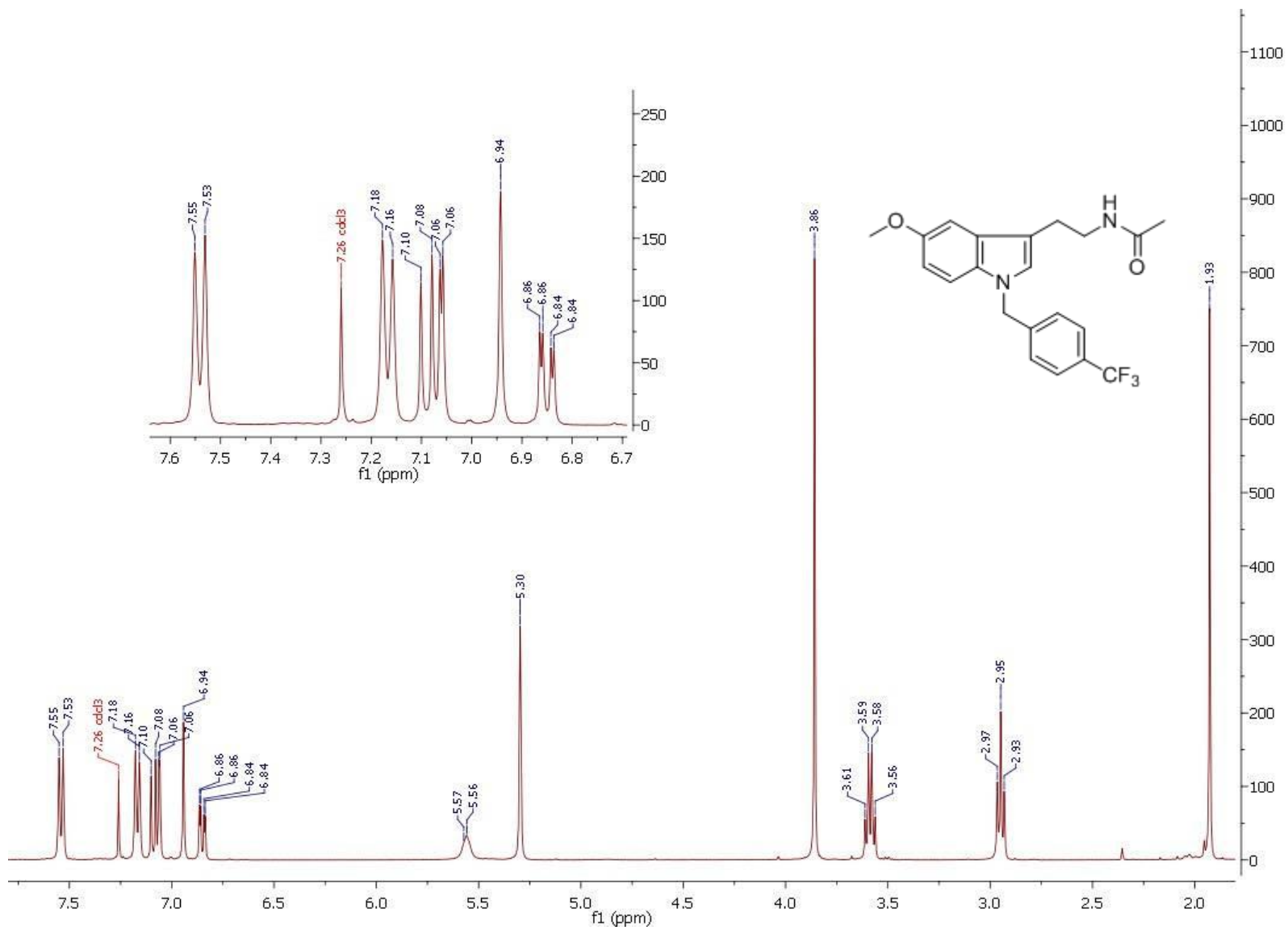


Espectro 18. EM Compuesto M8A-



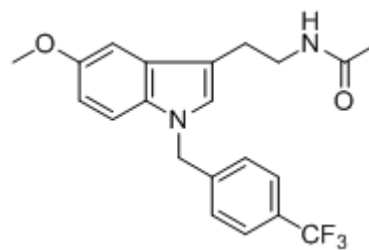
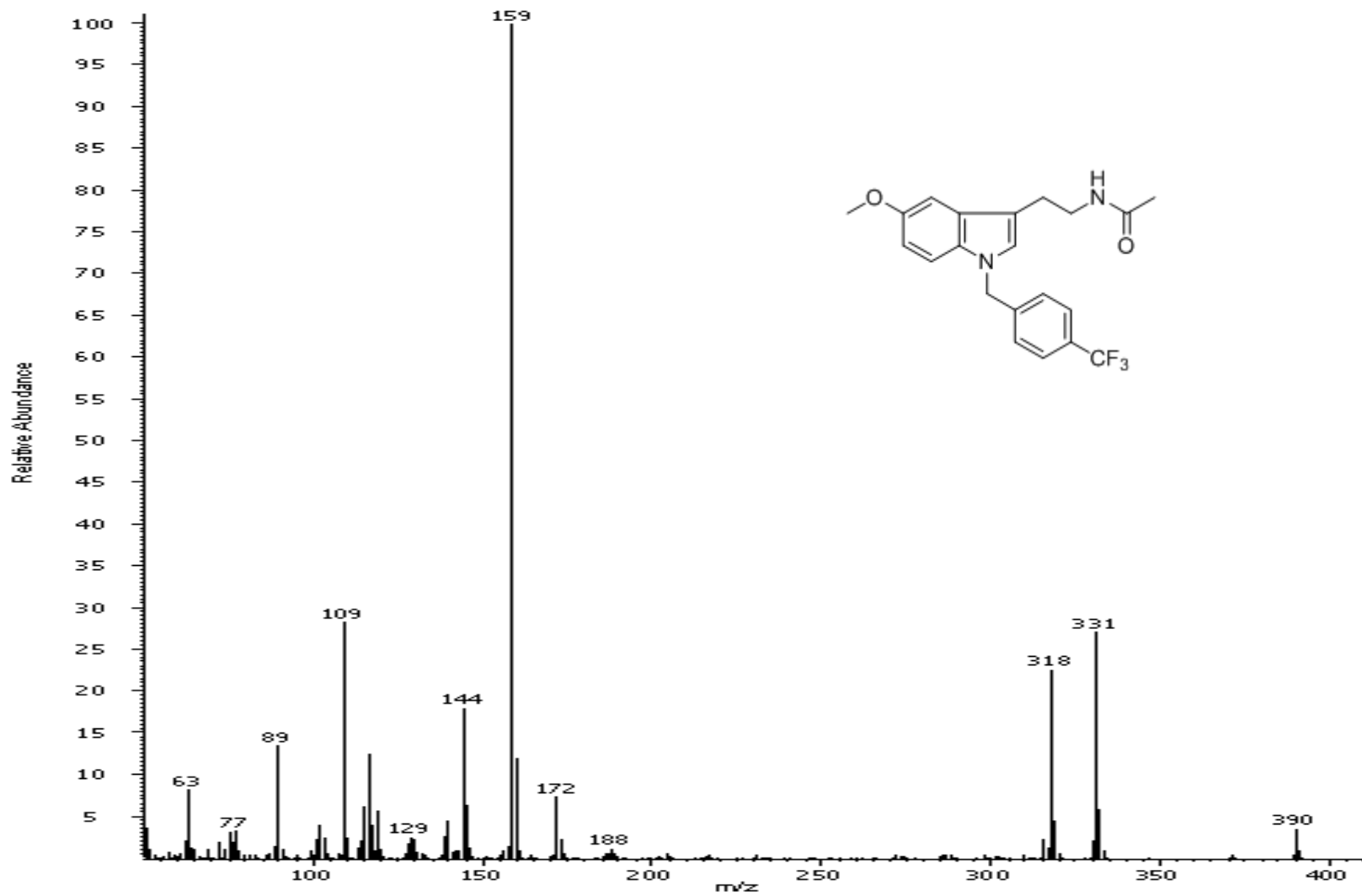
Espectro 19. IR Compuesto M8A-4



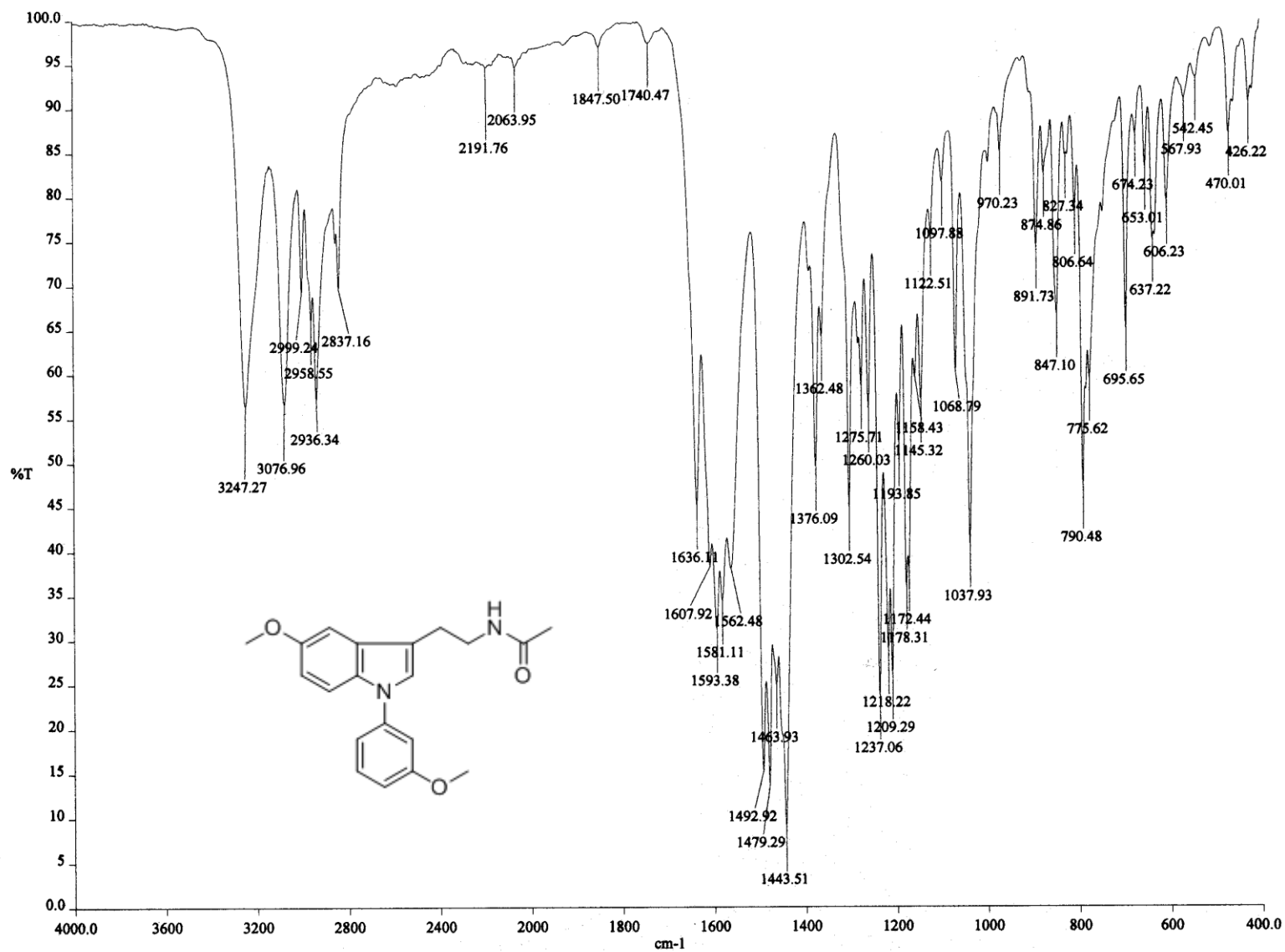


Espectro 20. RMN ^1H (CDCl_3) Compuesto M8A-4

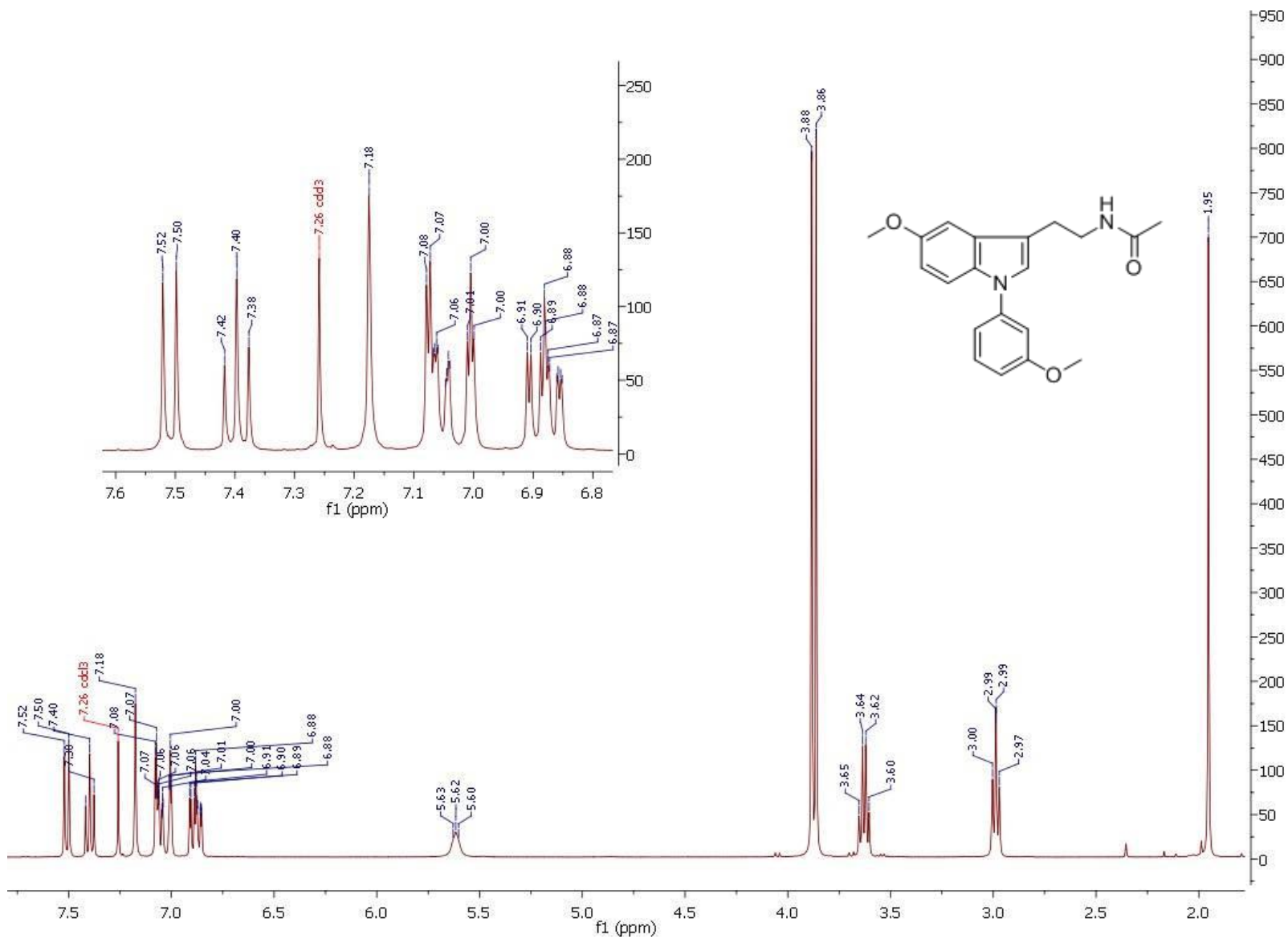




Espectro 21. EM Compuesto M8A-4

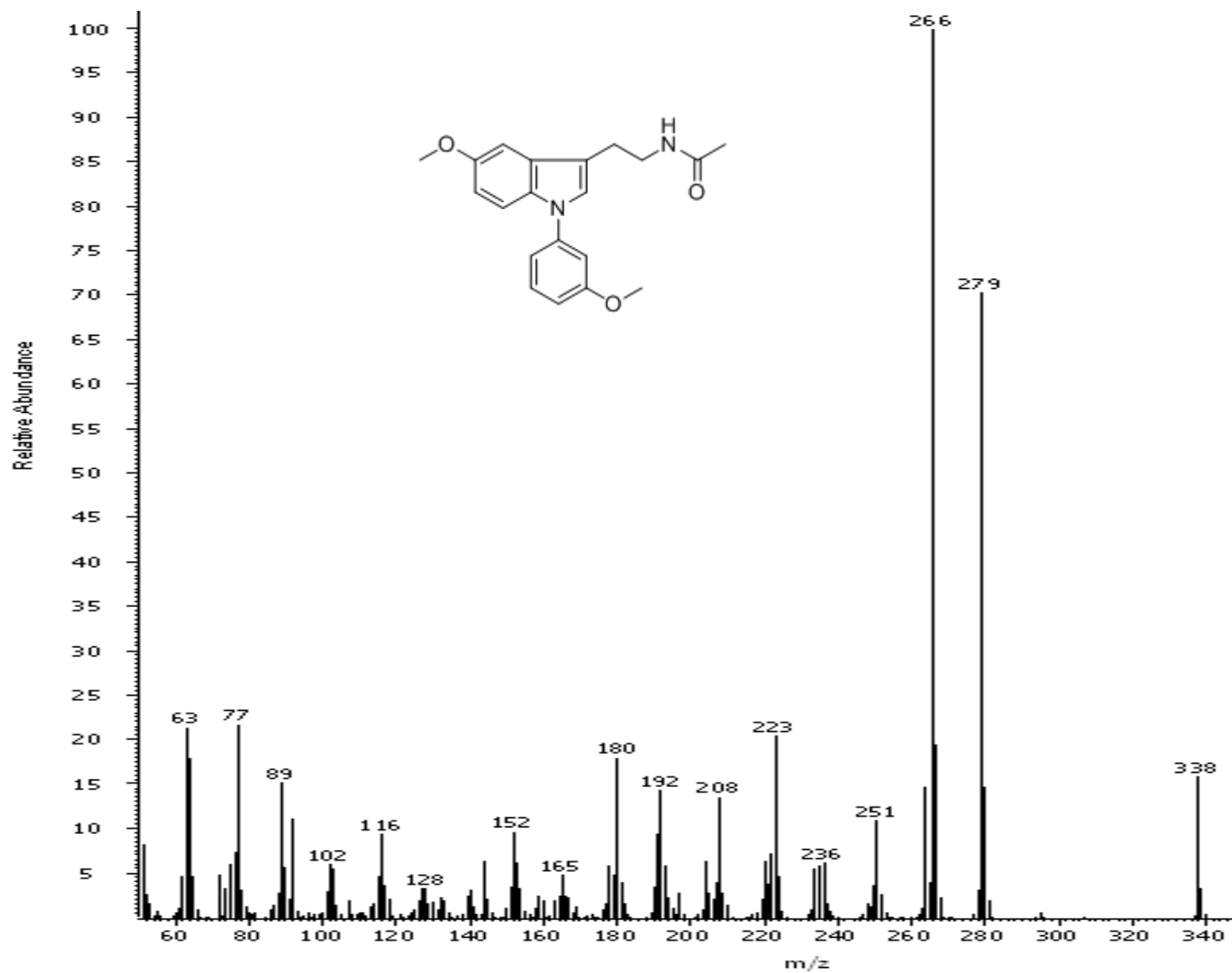


Espectro 22. IR Compuesto M3C-3



Espectro 23. RMN ¹H (CDCl₃) compuesto M3C-3





Espectro 24. EM Compuesto M3B-



8.2 Anexo B: Glosario

AAD: Enzima Acido Descarboxilasa

Actividad “secuestrante” (scavenger): Se refiere a la capacidad para actuar como estabilizador de diversas especies reactivas.

AGP ó AAG: Glicoproteína alfa-1-ácido

AMP cíclico: Adenosín monofosfato cíclico; es un nucleótido que funciona como segundo mensajero en varios procesos biológicos

CCF: Cromatografía de Capa Fina

CDCl₃: Cloroformo deuterado

Célula “*Target*” (Diana): Célula, donde se dirige la acción de un reactivo o fármaco

Clon: Conjunto de fragmentos idénticos de ácido desoxirribonucleico obtenidos a partir de una misma secuencia original.

EM: Espectrometría de Masas

GPCR: Receptores acoplados a proteínas G

HIOMT: Enzima O-Metiltransferasa

IE: Impacto electrónico

IR: Infrarrojo

J: Constante de Acoplamiento (Hz)

“*Jet-lag*”: Descompensación horaria, disritmia circadiana o síndrome de los husos horarios, es un desequilibrio producido en el reloj interno de una persona.

M⁺: Ión Molecular

MH⁺: Ión Cuasi-molecular

MEL: Melatonina

MT1, MT2, MT3. Sitios de membrana de grupos farmacológicamente y cinéticamente distintos.

m/z: Relación masa-carga

NAT: Enzima N-acetiltransferasa





NREM: Movimiento ocular no rápido

NSQ: Núcleosupraquiasmático

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

ppm: partes por millón

PT: Pars tuberalis de la hipófisis; es parte del lóbulo anterior de la glándula pituitaria, y envuelve el tallo hipofisario

RMN ^1H : Resonancia Magnética Nuclear de Protón

R_f : Factor de Retención

SNA: Sistema Nervioso Autónomo

TAG: Trastorno de ansiedad generalizada

TROH: Enzima triptófano 5-hidroxilasa

5-HT: 5-hidroxitriptamina ó serotonina

α_1 y β_1 adrenérgico: Receptores activados por las catecolaminas adrenalina (epinefrina) y noradrenalina (norepinefrina).

δ : Desplazamiento Químico (ppm)

