



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
QUÍMICA FARMACÉUTICO BIOLÓGICA

“SÍNTESIS DE PIRROLOISOINDOLONAS DISEÑADAS COMO
INHIBIDORES DE COLINESTERASAS”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A:

REYES VALLEJO NATALIA

JURADO DE EXAMEN

DIRECTOR: DR. ADELFO N. REYES RAMÍREZ

ASESOR: DR. ERIK ANDRADE JORGE

ASESOR: DR. DAVID ATAHUALPA CONTRERAS CRUZ

SINODAL: QFB. EVANGELINA MERCADO MARIN

SINODAL: DRA. ALBERTA LOURDES CASTILLO GRANADA



Ciudad de México
Septiembre de 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

**Investigación realizada gracias al
Programa de Apoyo a Proyectos
de Investigación e Innovación
Tecnológica UNAM-PAPIIT
IN218721**

ÍNDICE

ABREVIATURAS, ACRÓNIMOS Y SÍMBOLOS	1
ÍNDICE DE COMPUESTOS	4
ÍNDICE DE ESPECTROS	6
ÍNDICE DE ESQUEMAS	7
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	8
ÍNDICE DE TABLAS	9
RESUMEN	10
INTRODUCCIÓN	11
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	12
Generalidades	12
Fisiopatología	12
Colinesterasas	14
Tratamiento de la EA	17
Farmacóforos de interés para el diseño de fármacos	21
Pirrolidinas	21
Pirrolidonas	22
Isoindolonas	24
Pirroloisindolonas	26
Reacción dominó	28
Acoplamiento molecular	29
Evaluación de la actividad enzimática	30
ANTECEDENTES DEL PROYECTO	32
PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA	33
HIPÓTESIS	34
OBJETIVOS	35
Objetivo general	35
Objetivos particulares	35
DISEÑO EXPERIMENTAL	36
MATERIALES Y METODOS	37

Materiales	37
Instrumentos	37
Equipos	37
Disolventes	38
Reactivos	38
Generalidades de la Metodología	39
Parte Química Sintética.	39
Parte Computacional. Docking	41
Parte Enzimática. Evaluaciones farmacológicas	41
Procedimiento experimental	42
Parte Química Sintética. Síntesis de los compuestos	42
Parte Computacional. Docking	53
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
Parte Química Sintética	55
Síntesis de intermediarios	55
Síntesis de pirrolo[2,1-<i>a</i>]isoindol-5-onas y sus derivados	60
Docking molecular	80
CONCLUSIONES	89
PERSPECTIVAS	90
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	91
BIBLIOGRAFÍA	97
ANEXOS	98
ANEXO 1. Espectros de RMN ¹H y RMN ¹³C	98
ANEXO 2. Espectros de IR	118
ANEXO 3. Espectros de Masas	128
ANEXO 4. Principales interacciones entre ligandos y las enzimas AChE y BuChE.	138

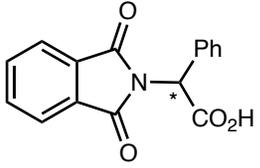
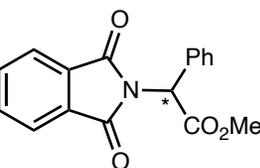
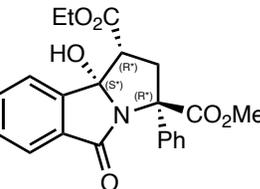
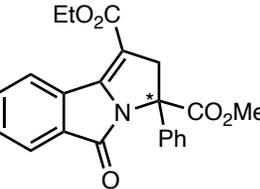
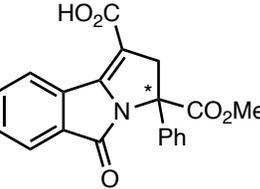
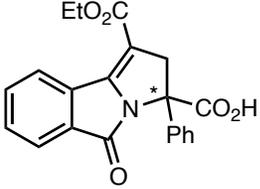
ABREVIATURAS, ACRÓNIMOS Y SÍMBOLOS

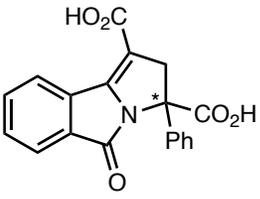
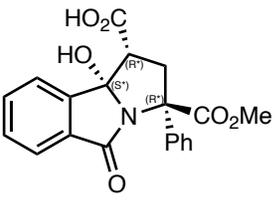
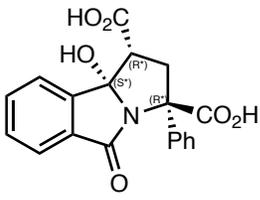
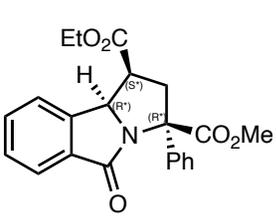
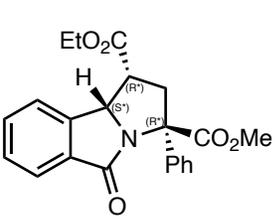
AcOEt	Acetato de etilo
Ach	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterasa
AcOH	Ácido acético
Asp	Ácido aspártico
Glu	Ácido glutámico
OT	Agujero oxianiónico
Ala	Alanina
DART+	Análisis Directo en Tiempo Real (del inglés <i>Direct Analysis in Real Time</i>)
Å	Ángstrom
Asn	Aspargina
PDB	Banco de Datos de Proteínas (del inglés <i>Protein Data Bank</i>)
ABP	Bolsillo de Unión Acilo
BuChE	Butirilcolinesterasa
MMFF94	Campo de Fuerza Molecular de Merck (del inglés <i>Merck Molecular Force Field</i>)
J	Constante de acoplamiento
K_d	Constante de disociación
CAT	Colinacetiltransferasa
CC	Cromatografía en Columna
CCF	Cromatografía de Capa Fina
HPLC	Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución
δ	Desplazamiento químico
ΔG	Energía libre de unión (de Gibbs)
EA	Enfermedad de Alzheimer
ELISA	Ensayo de Inmunoabsorción Ligando a Enzima
ECA	Enzima Convertidora de Angiotensina
Equ	Equivalentes
HRMS (ESI ⁺)	Espectrometría de Masas de alta resolución de ionización por electrospray (del inglés <i>electrospray ionization high-resolution mass spectrometry</i>)
SM (DART+)	Espectrometría de Masas por análisis en tiempo real (del inglés <i>mass spectrometry, direct analysis in real time</i>)
R_f	Factor de retención
Phe	Fenilalanina
Ph	Fenilo
Phth	Ftaloil

Gly	Glicina
Gln	Glutamina
g	Gramo
°C	Grados Celsius
Hz	Hertz
Hex	Hexano
LHMDS	Hexametildisilazida de litio
H ₂	Hidrógeno molecular
His	Histidina
h	Hora
AChEI	Inhibidores de la acetilcolinesterasa
BuChEI	Inhibidores de la butirilcolinesterasa
FT-IR/ATR	Infrarrojo por Transformada de Fourier / reflectancia total atenuada (del inglés <i>Fourier Transform Infrared /Attenuated Total Reflection</i>)
C.I	Ionización química (del inglés <i>Chemical ionization</i>)
Ile	Isoleucina
Kcal	Kilocaloría
uma	Unidad de Masa Atómica
U	Unidades
IUPAC	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (del inglés <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>)
log ₁₀	Logaritmo base 10
pK _a	Logaritmo negativo base 10 de la constante de disociación
Leu	Leucina
UV	Luz ultravioleta
Met	Metionina
µg	Microgramo
µM	Micromolar
mg	Miligramos
mL	Mililitro
mmol	Milimol
min	Minuto
mol	Mol
M	Molar
ppm	Partes por millón
pH	Potencial de Hidrógeno
%	Porcentaje

Pro	Prolina
APP	Proteína Precursora de Amiloide
p.f.	Punto de fusión
<i>m/z</i>	Relación masa-carga
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de Protón
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
c	Señal cuádruple
d	Señal doble
dd	Señal doble de dobles
dt	Señal doble de triples
m	Señal múltiple
s	Señal simple
s br	Señal simple amplia/ singlete amplio
t	Señal triple
td	Señal triple de dobles
Ser	Serina
σ	Sigma
SNC	Sistema Nervioso Central
CAS	Sitio Activo Catalítico (del inglés <i>Catalytic Active Site</i>)
AS	Sitio Aniónico
PAS	Sitio Aniónico Periférico (del inglés <i>Periferic Anionic Site</i>)
THF	Tetrahidrofurano
Tyr	Tirosina
Thr	Treonina
Trp	Triptofano
Val	Valina

ÍNDICE DE COMPUESTOS

	<p>Compuesto rac-1 Nombre IUPAC. Ácido (<i>RS</i>)-2-(1,3-dioxoisindolin-2-il)-2-fenilacético Nombre común. Ftaloil-DL-fenilglicina Fórmula química. C₁₆H₁₁NO₄ Peso Molecular. 281.2 g/mol</p>
	<p>Compuesto rac-2 Nombre IUPAC. (<i>RS</i>)-2(1,3-Dioxoisindolin-2-il)-2-fenilacetato de metilo Nombre común. Ftaloil-DL-fenilglicinato de metilo Fórmula química. C₁₇H₁₃NO₄ Peso Molecular. 295.3 g/mol</p>
	<p>Compuesto rac-3 Nombre IUPAC. (1<i>R</i>,3<i>R</i>,9<i>bS</i>)- y (1<i>S</i>,3<i>S</i>,9<i>bR</i>)-3-Fenil-9<i>b</i>-Hidroxi-5-oxo-2,3,5,9<i>b</i>-tetrahidro-1<i>H</i>-pirrolo[2,1-<i>a</i>]isoindol-1,3-dicarboxilato de 1-etilo 3-metilo Fórmula química. C₂₂H₂₁NO₆ Peso Molecular. 395.4 g/mol</p>
	<p>Compuesto rac-4 Nombre IUPAC. (<i>RS</i>)-3-Fenil-5-oxo-2,5-dihidro-3<i>H</i>-pirrolo[2,1-<i>a</i>]isoindol-1,3-dicarboxilato de 1-etilo 3-metilo Fórmula química. C₂₂H₁₉NO₅ Peso Molecular. 377.4 g/mol</p>
	<p>Compuesto rac-5 Nombre IUPAC. Ácido (<i>RS</i>)-3-fenil-3-(metoxicarbonil)-5-oxo-2,5-dihidro-3<i>H</i>-pirrolo[2,1-<i>a</i>]isoindol-1-carboxílico Fórmula química. C₂₀H₁₅NO₅ Peso Molecular. 349.3 g/mol</p>
	<p>Compuesto rac-6 Nombre IUPAC. Ácido (<i>RS</i>)-1-(etoxicarbonil)-3-fenil-5-oxo-2,5-dihidro-3<i>H</i>-pirrolo[2,1-<i>a</i>]isoindol-3-carboxílico Fórmula química. C₂₁H₁₇NO₅ Peso Molecular. 363.4 g/mol</p>

	<p>Compuesto rac-7 Nombre IUPAC. Ácido (<i>RS</i>)-3-fenil-5-oxo-2,5-dihidro-3<i>H</i>-pirrolo[2,1-<i>a</i>]isoindol-1,3-dicarboxílico Fórmula química. C₁₉H₁₃NO₅ Peso Molecular. 335.3 g/mol</p>
	<p>Compuesto rac-8 Nombre IUPAC. Ácido (<i>1R,3R,9bS</i>)- y (<i>1S,3S,9bR</i>)-3-fenil-9b-hidroxi-3-(metoxicarbonil)-5-oxo-2,3,5,9b-tetrahidro-1<i>H</i>-pirrolo[2,1-<i>a</i>]isoindol-3-carboxílico Fórmula química. C₂₀H₁₇NO₆ Peso Molecular. 367.4 g/mol</p>
	<p>Compuesto rac-9 Nombre IUPAC. Ácido (<i>1R,3R,9bS</i>)- y (<i>1S,3S,9bR</i>)-3-fenil-9b-hidroxi-5-oxo-2,3,5,9b-tetrahidro-1<i>H</i>-pirrolo[2,1-<i>a</i>]isoindol-3-carboxílico Fórmula química. C₁₉H₁₅NO₆ Peso Molecular. 353.3 g/mol</p>
	<p>Compuesto rac-10 Nombre IUPAC. (<i>1R,3S,9bS</i>)- y (<i>1S,3R,9bR</i>)-3-Fenil-5-oxo-2,3,5,9b-tetrahidro-1<i>H</i>-pirrolo[2,1-<i>a</i>]isoindol-1,3-dicarboxilato de 1-etilo 3-metilo Fórmula química. C₂₂H₂₁NO₅ Peso Molecular. 379.4 g/mol</p>
	<p>Compuesto rac-11 Nombre IUPAC. (<i>1R,3R,9bS</i>)- y (<i>1S,3S,9bR</i>)-3-Fenil-5-oxo-2,3,5,9b-tetrahidro-1<i>H</i>-pirrolo[2,1-<i>a</i>]isoindol-1,3-dicarboxilato de 1-etilo 3-metilo Fórmula química. C₂₂H₂₁NO₅ Peso Molecular. 379.4 g/mol</p>

ÍNDICE DE ESPECTROS

Espectro 1. RMN ¹ H (301 MHz, CDCl ₃) de <i>rac-1</i>	98
Espectro 2. RMN ¹³ C (76 MHz, CDCl ₃) de <i>rac-1</i>	99
Espectro 3. RMN ¹ H (301 MHz, CDCl ₃) de <i>rac-2</i>	100
Espectro 4. RMN ¹³ C (76 MHz, CDCl ₃) de <i>rac-2</i>	101
Espectro 5. RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de <i>rac-3</i>	102
Espectro 6. RMN ¹³ C (101 MHz, CDCl ₃) de <i>rac-3</i>	103
Espectro 7. RMN ¹ H (301 MHz, CDCl ₃) de <i>rac-4</i>	104
Espectro 8. a) RMN ¹³ C (76 MHz, CDCl ₃). b) RMN ¹³ C (101 MHz, CDCl ₃) del compuesto <i>rac-4</i>	105
Espectro 9. RMN ¹ H (301 MHz, CDCl ₃) de <i>rac-5</i>	106
Espectro 10. a) RMN ¹³ C (76 MHz, CDCl ₃). b) RMN ¹³ C (101 MHz, CDCl ₃) del compuesto <i>rac-5</i>	107
Espectro 11. RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de <i>rac-6</i>	108
Espectro 12. RMN ¹³ C (101 MHz, CDCl ₃) de <i>rac-6</i>	109
Espectro 13. RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) de <i>rac-7</i>	110
Espectro 14. RMN ¹³ C (101 MHz, CD ₃ OD) de <i>rac-7</i>	111
Espectro 15. RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) de <i>rac-8</i>	112
Espectro 16. RMN ¹³ C (101 MHz, CD ₃ OD) de <i>rac-8</i>	113
Espectro 17. RMN ¹ H (101 MHz, CD ₃ OD) de <i>rac-9</i>	114
Espectro 18. RMN ¹³ C (101 MHz, DMSO-D ₆) de <i>rac-9</i>	115
Espectro 19. RMN ¹ H (301 MHz, CDCl ₃) de <i>rac-10</i>	116
Espectro 20. RMN ¹³ C (76 MHz, DMSO-D ₆) de <i>rac-10</i>	117
Espectro 21. Espectro IR del compuesto <i>rac-1</i>	118
Espectro 22. Espectro IR del compuesto <i>rac-2</i>	119
Espectro 23. Espectro IR del compuesto <i>rac-3</i>	120
Espectro 24. Espectro IR del compuesto <i>rac-4</i>	121
Espectro 25. Espectro IR del compuesto <i>rac-5</i>	122
Espectro 26. Espectro IR del compuesto <i>rac-6</i>	123
Espectro 27. Espectro IR del compuesto <i>rac-7</i>	124
Espectro 28. Espectro IR del compuesto <i>rac-8</i>	125
Espectro 29. Espectro IR del compuesto <i>rac-9</i>	126
Espectro 30. Espectro IR del compuesto <i>rac-10</i>	127
Espectro 31. Espectro de Masas (DART+) y HRMS (ESI ⁺) del compuesto <i>rac-1</i>	128
Espectro 32. Espectro de Masas (DART+) y HRMS (ESI ⁺) del compuesto <i>rac-2</i>	129
Espectro 33. Espectro de Masas (DART+) y HRMS (ESI ⁺) del compuesto <i>rac-3</i>	130
Espectro 34. Espectro de Masas (DART+) y HRMS (ESI ⁺) del compuesto <i>rac-4</i>	131
Espectro 35. Espectro de Masas (DART+) y HRMS (ESI ⁺) del compuesto <i>rac-5</i>	132
Espectro 36. Espectro de Masas (DART+) y HRMS (ESI ⁺) del compuesto <i>rac-6</i>	133
Espectro 37. Espectro de Masas (DART+) y HRMS (ESI ⁺) del compuesto <i>rac-7</i>	134
Espectro 38. Espectro de Masas (DART+) y HRMS (ESI ⁺) del compuesto <i>rac-8</i>	135
Espectro 39. Espectro de Masas (DART+) y HRMS (ESI ⁺) del compuesto <i>rac-9</i>	136
Espectro 40. Espectro de Masas (DART+) del compuesto <i>rac-10</i>	137

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Obtención de pirrolidinas mediante cicloadición 1,3-dipolar	22
Esquema 2. Obtención de pirrolidinas mediante la reacción Hofmann-Löffler-Freytag	22
Esquema 3. Síntesis de 2-pirrolidonas a partir de 1,6-eninos y cetonas	24
Esquema 4. Ciclación de 1,6-dienos promovida por cobaloxima para la síntesis de 2-pirrolidonas	24
Esquema 5. Obtención de isoindolonas partiendo de ftalimidias	25
Esquema 6. Obtención de isoindolonas partiendo de oxoácidos	26
Esquema 7. Obtención de isoindolonas partiendo de anhídrido ftálico	26
Esquema 8. Síntesis de pirrolo[2,1- <i>a</i>]isoindol-5-onas mediante la reacción de Wittig	27
Esquema 9. Ciclación mediada por samario	27
Esquema 10. Síntesis de pirrolo[2,1- <i>a</i>]isoindol-5-onas mediante una reacción fotoquímica	27
Esquema 11. Síntesis de pirrolo[2,1- <i>a</i>]isoindol-5-onas por una variante de la reacción de Reformatsky (reactivo de órgano-zinc)	27
Esquema 12. Síntesis de pirrolo[2,1- <i>a</i>]isoindol-5-onas mediante procesos de adición-ciclación	28
Esquema 13. Reacciones implicadas en el método de evaluación enzimática con ácido hidroxámico	31
Esquema 14. Esquema de síntesis del proyecto.	40
Esquema 15. Reacción de condensación para la obtención de <i>rac-1</i>	42
Esquema 16. Reacción de esterificación para la obtención de <i>rac-2</i> . Método A	43
Esquema 17. Reacción de esterificación para la obtención de <i>rac-2</i> . Método B	43
Esquema 18. Reacción dominó, adición de Michael-adición nucleofílica intramolecular para la obtención de <i>rac-3</i>	44
Esquema 19. Reacción de eliminación para la obtención de <i>rac-4</i>	45
Esquema 20. Hidrólisis parcial de <i>rac-4</i> para la obtención de <i>rac-5</i>	46
Esquema 21. Hidrólisis parcial de <i>rac-4</i> para la obtención de <i>rac-6</i>	47
Esquema 22. Hidrólisis de <i>rac-4</i> para la obtención de <i>rac-7</i>	48
Esquema 23. Hidrólisis parcial de <i>rac-3</i> para la obtención de <i>rac-8</i>	49
Esquema 24. Hidrólisis de <i>rac-3</i> para la obtención de <i>rac-9</i>	50
Esquema 25. Hidrogenación de <i>rac-3</i> para la obtención de <i>rac-10</i> y <i>rac-11</i>	51
Esquema 26. Hidrogenación de <i>rac-4</i> para la obtención de <i>rac-10</i> y <i>rac-11</i>	52
Esquema 27. Mecanismo de reacción. Condensación entre anhídrido ftálico y D-(-)- α -fenilglicina (<i>rac-1</i>)	56
Esquema 28. Patrón de fragmentación propuesto para el compuesto <i>rac-1</i>	57
Esquema 29. Mecanismo de reacción. Esterificación de Fischer para la obtención del compuesto <i>rac-2</i>	58
Esquema 30. Mecanismos de reacción propuestos para la esterificación con SOCl ₂	59
Esquema 31. Patrón de fragmentación propuesto para el compuesto <i>rac-2</i>	60
Esquema 32. Mecanismo de reacción. Adición de Michael-adición nucleofílica intramolecular para la obtención de <i>rac-3</i>	61
Esquema 33. Patrón de fragmentación propuesto para el compuesto <i>rac-3</i>	63
Esquema 34. Mecanismo de reacción. Reacción de eliminación (deshidratación)	64
Esquema 35. Fragmento de masa [M+H] ⁺ del compuesto <i>rac-4</i>	66
Esquema 36. Mecanismo de reacción de la hidrólisis del éster etílico	67
Esquema 37. Patrón de fragmentación del compuesto <i>rac-5</i>	69
Esquema 38. Mecanismo de reacción de la hidrólisis selectiva del éster metílico, para la obtención de <i>rac-6</i>	69
Esquema 39. Fragmentación del compuesto <i>rac-6</i>	70
Esquema 40. Patrón de fragmentación del compuesto <i>rac-7</i>	72
Esquema 41. Mecanismo de reacción de la hidrólisis selectiva del éster etílico, para la obtención de <i>rac-8</i>	73
Esquema 42. Patrón de fragmentación del compuesto <i>rac-8</i>	74
Esquema 43. Patrón de fragmentación del compuesto <i>rac-9</i>	76
Esquema 44. Fragmento de masa [M+H] ⁺ del compuesto <i>rac-10</i>	79

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Esquema del sitio activo de la enzima AChE	15
Ilustración 2. Aminoácidos involucrados en los Subsitios de la AChE y BuChE	16
Ilustración 3. Grupos funcionales que pueden interactuar con el sitio PAS	16
Ilustración 4. Núcleo de 2-carbamatoéster-5-arléster	20
Ilustración 5. Estructura química de la fisostigmina	20
Ilustración 6. Estructura base de isoindolin-1,3-diona AChEI	20
Ilustración 7. Ejemplo de la pirrolidina como farmacóforo en buflomedil (vasodilatador)	21
Ilustración 8. Priles, moléculas que contienen el núcleo de la prolina en su estructura	21
Ilustración 9. Compuestos con actividad farmacológica que poseen pirrolidonas	23
Ilustración 10. Reacciones para la obtención de pirrolidonas	23
Ilustración 11. Núcleo base de isoindol-1-ona	24
Ilustración 12. Isoindolonas fusionadas a otro sistema cíclico	26
Ilustración 13. Núcleo de pirroloisoindolona	26
Ilustración 14. Métodos para determinar la actividad de la AChE	30
Ilustración 15. Pirrolo[2,1-a]isoindol-5-onas racémicas con actividad inhibitoria de la AChE	32
Ilustración 16. RMN ¹ H de <i>rac-3</i> , región de los alifáticos	62
Ilustración 17. RMN ¹ H de <i>rac-4</i> , región de los alifáticos	65
Ilustración 18. a) RMN ¹³ C (76 MHz, CDCl ₃). b) RMN ¹³ C (101 MHz, CDCl ₃) de <i>rac-4</i> , región de los aromáticos.	66
Ilustración 19. Comparación de los espectros de RMN de los compuestos <i>rac-4</i> y <i>rac-5</i>	68
Ilustración 20. Comparación de los espectros de RMN de los compuestos <i>rac-4</i> y <i>rac-6</i>	70
Ilustración 21. RMN ¹ H de <i>rac-7</i> , región de los alifáticos	71
Ilustración 22. RMN ¹ H de <i>rac-8</i> , región de los alifáticos	73
Ilustración 23. RMN ¹ H de <i>rac-9</i> , región de los alifáticos	75
Ilustración 24. Estabilidad del doble enlace expreso con la entalpia de hidrogenación	77
Ilustración 25. Mecanismo de hidrogenación	78
Ilustración 26. Señales dobleteadas en el espectro de RMN ¹ H de <i>rac-10</i>	79
Ilustración 27. Imagen representativa de los resultados obtenidos en el docking molecular	80
Ilustración 28. Compuestos con mayor actividad como AChEI	82
Ilustración 29. Graficos comparativos de pK _a y la afinidad dada por ΔG de los compuestos sintetizados a partir de felnilglicina (<i>rac-4</i> y <i>rac-6</i>) y fenilalanina (<i>rac-A</i> , <i>rac-B</i> y <i>rac-C</i>) obtenidos del docking molecular	83
Ilustración 31. Interacciones encontradas entre el compuesto donepezilo y las colinesterasas	138
Ilustración 32. Interacciones encontradas entre el compuesto galantamina y las colinesterasas	139
Ilustración 33. Interacciones encontradas entre el compuesto rivastigmina y las colinesterasas	140
Ilustración 34. Interacciones encontradas entre el compuesto tacrina y las colinesterasas	141
Ilustración 35. Interacciones encontradas entre el compuesto <i>rac-1</i> y las colinesterasas	142
Ilustración 36. Interacciones encontradas entre el compuesto <i>rac-2</i> y las colinesterasas	143
Ilustración 37. Interacciones encontradas entre el compuesto <i>rac-3</i> y las colinesterasas	144
Ilustración 38. Interacciones encontradas entre el compuesto <i>rac-4</i> y las colinesterasas	145
Ilustración 39. Interacciones encontradas entre el compuesto <i>rac-5</i> y las colinesterasas	146
Ilustración 40. Interacciones encontradas entre el compuesto <i>rac-6</i> y las colinesterasas	147
Ilustración 41. Interacciones encontradas entre el compuesto <i>rac-7</i> y las colinesterasas	148
Ilustración 42. Interacciones encontradas entre el compuesto <i>rac-8</i> y las colinesterasas	149
Ilustración 43. Interacciones encontradas entre el compuesto <i>rac-9</i> y las colinesterasas	150
Ilustración 44. Interacciones encontradas entre el compuesto <i>rac-10</i> y las colinesterasas	151

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Recomendaciones para el tratamiento farmacológico de la EA	17
Tabla 2. Moléculas con actividad inhibitoria de colinesterasas	18
Tabla 3. Inhibición de la AChE	32
Tabla 4. Energía libre de Gibbs (ΔG), constante de disociación (K_d) y $-\log_{10}$ de la constante de disociación (pK_d) de la interacción entre ligandos y la acetilcolinesterasa de <i>Electrophorus electricus</i> 1C2O	80
Tabla 5. Energía libre de Gibbs (ΔG), constante de disociación (K_d) y $-\log_{10}$ de la constante de disociación (pK_d) de la interacción entre ligandos y la butirilcolinesterasa humana 6EQQ	81
Tabla 6. Comparacion del potencial de inhibición de colinesterasas de los compuestos sintetizados a partir de felnilglicina (<i>rac-4</i> y <i>rac-6</i>) y fenilalanina (<i>rac-A</i> , <i>rac-B</i> y <i>rac-C</i>) obtenidos del docking molecular	83
Tabla 7. Residuos de aminoácidos y subsitios implicados en la interacción entre los ligandos y la acetilcolinesterasa de <i>Electrophorus electricus</i> 1C2O	83
Tabla 8. Residuos de aminoácidos y subsitios implicados en la interacción entre los ligandos y la butirilcolinesterasa humana 6EQQ	84
Tabla 9. Residuos de aminoácidos y tipos de interacciones entre los ligandos y la acetilcolinesterasa de <i>Electrophorus electricus</i> 1C2O	86
Tabla 10. Residuos de aminoácidos y tipos de interacciones entre los ligandos y la butirilcolinesterasa Humana 6EQQ	87

RESUMEN

En este trabajo se llevó a cabo el diseño, síntesis y evaluación de nuevas pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas y sus derivados con el propósito de obtener nuevos productos sintéticos con propiedades inhibitorias de enzimas colinesterasas. Las pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas sintetizadas a partir de una reacción dominó fueron modificadas mediante reacciones de deshidratación, hidrólisis e hidrogenación. Estos compuestos sintetizados poseen características estructurales que posibilitan la interacción con los sitios de acción de las principales enzimas responsables de la sintomatología de la Enfermedad de Alzheimer; además, son derivadas de α -aminoácidos, lo cual podría representar la disminución de efectos adversos, en caso de ser utilizadas *in vivo*. Los compuestos fueron caracterizados por propiedades físicas y por técnicas espectroscópicas.

Se realizó la evaluación del acoplamiento molecular *in silico*, de las moléculas sintetizadas con las enzimas acetilcolinesterasa y butirilcolinesterasa utilizando AutodockTools, cuyos resultados sugieren que los compuestos podrían ser inhibidores competitivos de las colinesterasas, en especial *rac-4* y *rac-6*, los cuales poseen los valores más bajos de ΔG y K_d , e interacciones con residuos clave en el ensayo con ambas enzimas.

INTRODUCCIÓN

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es un padecimiento crónico, neurodegenerativo y progresivo caracterizado por alteraciones en los procesos cognitivos, la conducta y el estado de ánimo; generador de discapacidad y dependencia en quienes la padecen. Para 2014 existía una prevalencia del 7.3 % y una incidencia de 27.3 (1000 personas/año) de la población adulta mayor mexicana para la EA, pero debido a la dificultad para diagnosticarla no existen datos concretos sobre la situación actual. Estudios en población mexicana han determinado que la presencia de EA es más evidente en las mujeres y el riesgo de padecerla se incrementa con la presencia de síndrome metabólico, diabetes, enfermedad cardiovascular, tabaquismo, inactividad física y depresión. La proyección del número de mexicanos afectados por la EA para el 2050 alcanzará la cifra de más de 3.5 millones, por lo que el impacto en el sistema de salud será severo. ^[1]

Aunado a esto, actualmente no existen intervenciones terapéuticas que curen o reviertan la progresión de la enfermedad, únicamente existen medicamentos dirigidos al alivio de la sintomatología, entre los que destacan los inhibidores de acetilcolinesterasa (AChEI), que enlentecen el deterioro cognitivo, aunque existe notable reducción de la eficacia farmacológica pasado un corto periodo de tiempo y un éxito terapéutico de leve a moderado en el tratamiento de los síntomas de la EA, además muchos de estos tratamientos involucran desventajas farmacocinéticas y serios efectos secundarios, como la hepatotoxicidad. ^[1, 2]

Debido a la falta de tratamientos efectivos y la alta demanda que incrementa a la par con el envejecimiento de la población, se observa la necesidad de desarrollar nuevas alternativas farmacoterapéuticas más efectivas y con menores efectos secundarios.

En años recientes, moléculas como las isoindolonas y sus derivados han cobrado relevancia debido a su amplia gama de actividad farmacológica, estas moléculas resultan tener características con posibilidad de interactuar con los centros activos de las colinesterasas, por lo que el propósito de este proyecto radica en el diseño y síntesis de nuevos compuestos de pirroloisoindolonas que puedan evaluarse como inhibidores duales de las colinesterasas, empleando métodos rápidos, reactivos poco peligrosos y accesibles, esto mediante una serie de reacciones en secuencia o reacción dominó.

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Generalidades

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es un padecimiento neurodegenerativo irreversible que afecta aproximadamente al 10 % de la población mayor de 65 años, es la causa más común de demencia a la cual se le adjudica el 80 % de los casos. A medida que avanza la enfermedad los pacientes pierden la habilidad de recordar, de comunicarse, de pensar claramente y de realizar actividades de la vida diaria. Esto a su vez representa grandes problemas socioeconómicos convirtiéndose así en uno de los problemas médicos más graves en la sociedad moderna. [3]

La mayoría de los pacientes con esta enfermedad padecen, en primer lugar, un déficit progresivo de la memoria episódica relacionado al olvido de acontecimientos recientes que con el paso del tiempo, desembocará en el desarrollo de amnesia retrógrada. Le siguen los trastornos cognitivos, del lenguaje, apraxia y otros trastornos neuropsiquiátricos, y conforme avanza la enfermedad, empieza a la dificultad visioespacial para planificar y reconocer personas e incluso se inducen a cierta agresividad física y verbal. [4] Estos síntomas son debido a los depósitos de proteína β -amiloide, la pérdida progresiva de neuronas de la corteza cerebral y de algunas estructuras subcorticales, así como la atrofia de diferentes zonas del cerebro y el desarrollo de placas amiloides y ovillos neurofibrilares. [3, 5]

La mayoría de las demencias degenerativas son consideradas como proteinopatías; aun así, hoy día la causa molecular de la EA sigue siendo desconocida, pero durante las últimas dos décadas ha habido avances en la explicación del mecanismo fisiopatológico a partir de varias hipótesis entre las cuales destacan la hipótesis de β -amiloide o hiperfosforilación de tau y la hipótesis colinérgica. [2]

Fisiopatología

La EA está relacionada concretamente con alteraciones en el procesamiento de las proteínas β -amiloide y tau. A través de mecanismos desconocidos, la proteína tau sufre una hiperfosforilación originando complejos proteicos llamados ovillos neurofibrilares, los

cuales están implicados en las alteraciones neurodegenerativas del sistema colinérgico que producen la sintomatología cognitiva característica de la patología. Por otro lado, en condiciones patológicas el procesamiento incorrecto de la proteína precursora de amiloide (APP), genera un péptido amiloide insoluble que se deposita y se acumula progresivamente en el tejido nervioso, generando las denominadas placas seniles, este procesamiento incorrecto se cree es debido a los complejos formados por la acetilcolinesterasa (AChE) y el péptido A β . [6] La presencia del péptido A β incrementa la actividad de la enzima acetilcolinesterasa (AChE), lo que aumenta la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina generando un déficit de este.

A su vez, en los pacientes con Alzheimer, la actividad colinérgica está disminuida debido a la disminución de la enzima colinacetiltransferasa (CAT), de las fibras y los receptores colinérgicos. [2, 5]

En relación con la alteración del sistema glutamatérgico, los pacientes con EA tienen la concentración de glutamato elevada de manera permanente, por lo que el magnesio, que en condiciones normales bloquea los receptores es desplazado permitiendo la estimulación constante del receptor. Esto supone una entrada masiva de calcio dentro de la neurona, provocando un efecto excitotóxico que desencadena la apoptosis. Este proceso da lugar a fenómenos neurodegenerativos, provocando la muerte de neuronas, especialmente colinérgicas, las cuales están ampliamente distribuidas en el SNC donde regulan distintas funciones fisiológicas incluyendo la memoria, aprendizaje, atención, información sensorial, entre otras. [2]

A fin de cuentas, los pacientes con EA presentan alteraciones de los sistemas serotoninérgico, glutamatérgico, dopaminérgico y noradrenérgico, pero sin duda el sistema colinérgico es el más afectado y el que mayor participación tiene durante el progreso de la enfermedad, por lo que los inhibidores de la enzima AChE pueden no solo ser útiles para aumentar la neurotransmisión colinérgica al provocar un aumento de concentración y acción prolongada de acetilcolina (ACh) en el espacio sináptico y una hiperestimulación de receptores nicotínicos y muscarínicos, sino que también pueden reducir la generación del péptido A β y las placas β -amiloides. [5, 6]

Hasta el momento, no existe un marcador bioquímico periférico confiable para la EA, y un diagnóstico definitivo solo se puede hacer mediante el examen neuropatológico *post mortem*. [4, 6]

Colinesterasas

El sistema colinérgico es uno de los sistemas moduladores más importantes de la transmisión neuronal en el cerebro, regulando funciones cognitivas como la memoria, el aprendizaje, la arborización dendrítica, así como el desarrollo y diferenciación neuronal. Su principal neurotransmisor es la acetilcolina que es degradada por las colinesterasas, un grupo de esterasas de serina comprendido por la acetilcolinesterasa (AChE) y la butirilcolinesterasa (BuChE). [7]

Las colinesterasas tienen una distribución muy amplia: Se han encontrado desde organismos unicelulares, plantas, invertebrados y en los vertebrados aparece desde etapas muy tempranas del desarrollo embrionario antes de la sinaptogénesis, lo cual sugiere que estas enzimas pueden tener diferentes funciones. [8]

La AChE y la BuChE son familias de glicoproteínas que pueden estar unidas a la membrana o ser liberadas al espacio extracelular y su heterogeneidad está dada por varias formas moleculares de cada enzima que pueden distinguirse por el número de subunidades catalíticas, las características de solubilidad y las propiedades hidrodinámicas, lo que permite separarlas y analizarlas por cromatografía de filtración en gel o por centrifugación diferencial en gradientes continuos de sacarosa. [8]

Mientras que la AChE aparece predominante en músculo y sistema nervioso. La BuChE está presente en otros tejidos, como el hígado donde después de ser sintetizada, es secretada al plasma. [8]

La butirilcolinesterasa tiene un papel compensatorio, pues se ha observado que en pacientes de edad avanzada los niveles de AChE disminuyen mientras los de BuChE aumentan. Es más abundante en áreas que se afectan muy temprano en las demencias como la límbica, por lo que diferentes estudios sugieren que dicha enzima desempeña un papel activo en el proceso de formación de los depósitos de amiloide. Por ello, los medicamentos que tienen la acción

dual de inhibir la acetilcolinesterasa y la butirilcolinesterasa, son muy útiles en el manejo del trastorno de comportamiento de estos pacientes y retardan la evolución de la enfermedad con mayor efectividad. [7, 9]

La AChE y la BuChE son dos proteínas homólogas, con un porcentaje de identidad en la secuencia de aproximadamente el 50 %. El centro activo de ambas enzimas se encuentra dividido en varias zonas muy próximas entre sí, tal como se muestra en la Ilustración 1.

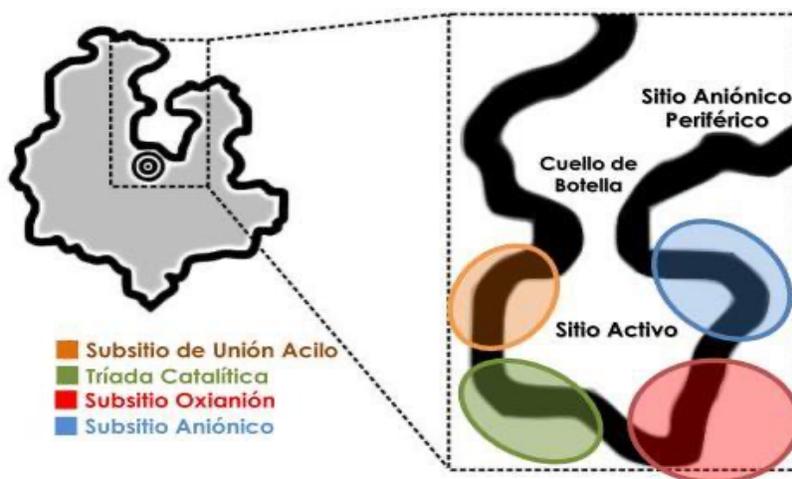


Ilustración 1. Esquema del sitio activo de la enzima AChE. [9]

Por un lado, una cavidad en cuya base está la tríada catalítica (Ser-His-Glu) que forma el centro catalítico llamado Sitio Activo Catalítico (CAS) y que se encuentra conservado en ambas enzimas. Esta cavidad se localiza en el fondo de un túnel estrecho, revestido principalmente de residuos aromáticos de aproximadamente 20 Å de profundidad y que recibe el nombre de cuello de botella. Este está rodeado por otros sitios de reconocimiento de ligandos (Ilustración 2) incluyendo los subsitios de unión acilo, aniónico, oxianiónico y otro centro activo claramente identificado, llamado Sitio Aniónico Periférico (PAS), [10] situado en la entrada de la cavidad la cual presenta cargas electrostáticas negativas por residuos ácidos y el cual está íntimamente involucrado en la formación de los agregados de placas β -amiloides, por lo que es un blanco en el diseño de los fármacos destinados al tratamiento de la EA; la Ilustración 3 muestra las características que pueden interactuar con este subsitio y que han de considerarse para el desarrollo de compuestos AChEI. [6, 7, 10]

	Sitio periférico (PAS)	Bolsillo de unión acilo (ABP)	Agujero oxianiónico (OT)	Sitio aniónico (AS)	Triada catalítica (CAS)
AChE	Tyr72 Asp74 Tyr124 Ser125 Trp286 Tyr337 Tyr341	Phe295 Phe297 Trp236 Phe338	Gly121 Gly122 Ala204	Trp86 Tyr133 Glu202 Gly448 Ile451	Ser203 His447 Glu334
BuChE	Asn68 Asp70 Gln119 Thr120 Ala328 Tyr332	Leu286 Val288 Trp231 Phe329	Gly116 Gly117 Ala199	Trp82 Tyr128 Glu197 Met437 Tyr440	Ser198 His438 Glu325

Ilustración 2. Aminoácidos involucrados en los Subsitios de la AChE y BuChE. [7]

Residuos PAS	Grupos que pueden unirse
Tyr341	Grupos N-H, O-H, fenilo, carbonilo, etc
Tyr377	Grupos N-H, O-H, fenilo, carbonilo, etc
Trp86	Grupo hidrofóbico o cadena carbonada
Tyr124	Grupos N-H, O-H, fenilo, carbonilo, etc
Phe295	Grupo hidrofóbico o cadena carbonada

Ilustración 3. Grupos funcionales que pueden interactuar con el sitio PAS. [7]

Para que la Ach sea hidrolizada, el subsitio aniónico atrae por fuerzas electrostáticas al grupo amonio e interacciones hidrofóbicas con los grupos metilo del nitrógeno cuaternario y dispone al sustrato en una orientación adecuada, mientras que 14 residuos de aminoácidos aromáticos se alinean con el sustrato para que quede próxima a la serina de la tríada catalítica. Algunos residuos de aminoácidos aromáticos son indispensables para la actividad enzimática, como en el caso del residuo triptófano 86.

El mecanismo catalítico es de tipo ácido-base y se basa en la desprotonación del grupo hidroxilo de la serina, que incrementa la nucleofilicidad y de esta manera se acelera la acilación de la enzima. [8, 11]

Tratamiento de la EA

En la actualidad, no existen intervenciones terapéuticas que detengan, curen o reviertan la progresión de la enfermedad, pero existen medicamentos disponibles en el mercado que son empleados como terapia dirigida al alivio de la sintomatología. Dependiendo del estadio de la enfermedad, se recomienda el uso de inhibidores de la acetilcolinesterasa (AChEI), y/o antagonistas de los receptores del glutamato; pero hay una notable reducción de la eficacia farmacológica pasado un corto periodo de tiempo. Por ello, resulta útil asociarlo a otro grupo de medicamentos basados en el tratamiento de los trastornos psicológicos y del comportamiento que ayudarán al paciente a paliar parcialmente su deterioro clínico, ^[2] tal es el caso de la Vitamina E que al secuestrar radicales libres parece retrasar la progresión a EA. ^[12] En la Tabla 1 se muestran las principales indicaciones terapéuticas empleadas a lo largo de la enfermedad.

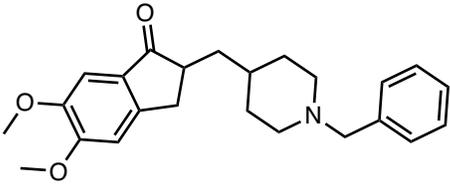
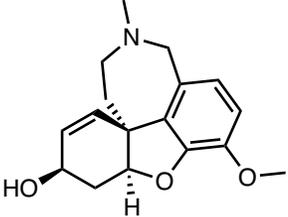
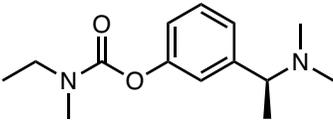
Tabla 1. Recomendaciones para el tratamiento farmacológico de la EA. ^[2]

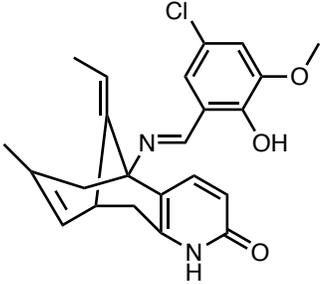
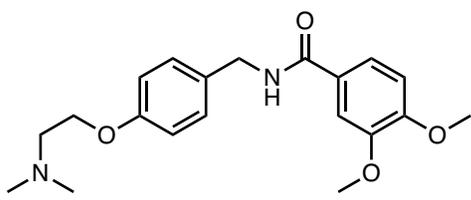
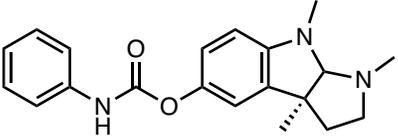
Estadio de la EA	Tratamiento farmacológico
Leve-moderado	Cualquier AChEI, según el perfil fisiopatológico de cada paciente
Moderado-grave	Memantina sola o asociada a un AChEI
Grave	Memantina sola o asociada a un AChEI
Alzheimer asociado a demencia vascular	Galantamina
Demencia vascular leve-moderada	Donepezilo
Demencia vascular por cuerpos de Lewy o asociada a Párkinson	Rivastigmina

La inhibición de las colinesterasas también puede ser contraproducente, ya que la acumulación de ACh puede ser dañina, y algunos inhibidores de AChE son pesticidas altamente peligrosos o toxinas. Sin embargo, existen otros inhibidores más seguros capaces de aumentar la concentración de ACh lo suficiente para compensar la pérdida neuronal causada por la patogenia de la EA, ^[1313] como son el donepezilo, rivastigmina y galantamina,

los cuales mejoran la transmisión colinérgica ya que actúan como agonistas indirectos de la acetilcolina, y producen efectos farmacológicos similares a los observados cuando se administra ACh o sus agonistas, lo cual se traduce en una mejora o una estabilización temporal de la memoria y la capacidad de pensamiento; es decir, enlentecen el deterioro cognitivo, aunque solo se ha conseguido retrasar esta progresión un tiempo de entre 2 y 7 meses aproximadamente. Poseen un éxito terapéutico de leve a moderado en el tratamiento de los síntomas de la EA, pero estos fármacos inhiben principalmente a la AChE y en menor manera a la BuChE. [14] En la Tabla 2 se muestran los principales fármacos AChEI utilizados para el tratamiento del Alzheimer, así como otros tres compuestos obtenidos de *Drugbank* que se encuentran en investigación, pero que pueden resultar de importancia al momento de comparar las moléculas sintetizadas en este proyecto.

Tabla 2. Moléculas con actividad inhibitoria de colinesterasas. [9]

Molécula	Fármaco y acción
	<p>Donepezilo (I).</p> <p>Inhibidor de 2ª generación, central, reversible y no competitivo de la acetilcolinesterasa.</p> <p>AChEI mejor tolerado, produciendo efectos más positivos en el rendimiento cognitivo de los pacientes con EA.</p>
	<p>Galantamina (II).</p> <p>Es un inhibidor competitivo, reversible y específico de la AChE y un modulador alostérico de los receptores nicotínicos.</p>
	<p>Rivastigmina (III).</p> <p>Inhibidor dual pseudoreversible que actúa principalmente en SNC con mínima acción periférica.</p> <p>Presenta una mayor incidencia de efectos adversos, principalmente de tipo gastrointestinal, lo que ha motivado una tasa de abandono</p>

	elevada, especialmente entre los pacientes tratados con la dosis más alta.
	<p>Mimopezil (IV).</p> <p>Inhibidor de AChE, es un profármaco en investigación que es rápidamente absorbida y convertida en huperizina A. [12]</p>
	<p>Itoprida (V).</p> <p>Es un inhibidor de la acetilcolinesterasa y un antagonista del receptor de dopamina D2 en investigación para tratar los síntomas de la dispepsia funcional, como las náuseas y los vómitos. [15]</p>
	<p>Fenserina (VI).</p> <p>Es un inhibidor de la AChE reversible y altamente selectivo de próxima generación que se encuentra en investigación.</p> <p>Tiene un mecanismo de acción dual que también incluye actividad anti-amiloide, que puede conferir efectos modificadores de la enfermedad en pacientes con EA.</p> <p>La fenserina puede llegar a concentrarse rápidamente en el cerebro, lo que reduciría la incidencia de toxicidad y efectos secundarios del fármaco. [16]</p>

Las moléculas que han reportado mayor actividad como AChEI se caracterizan por tener aminas secundarias o terciarias, tanto alifáticas como aromáticas.

Actualmente se encontró que los derivados de isosorbide pueden ser usados como inhibidores potentes y selectivos de la BuChE, por ejemplo, compuestos con 2-carbamatoéster-5-arilester como núcleo (Ilustración 4).^[17]

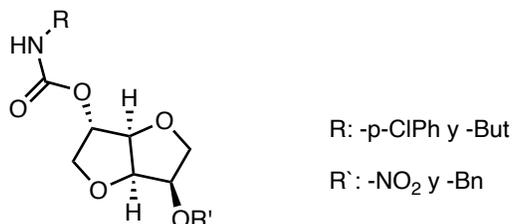


Ilustración 4. Núcleo de 2-carbamatoéster-5-ariléster.^[17]

Algunas estrategias terapéuticas en desarrollo involucran la utilización de precursores de acetilcolina, agonistas nítricos, liberadores de neurotransmisores, agonistas muscarínicos M1 o antagonistas muscarínicos M2 y novedosos AChEI,^[18] aunque también se han considerado el uso de productos naturales con actividad inhibidora de colinesterasa como los alcaloides, fisostigmina (Ilustración 5) y huperizina A. Además, algunas isoindolinas, dioxoisoindolinas y derivados de ácidos aminobenzoicos se han reconocido como moléculas capaces de inhibir la acetilcolinesterasa en modelos *in vitro*.^[19]

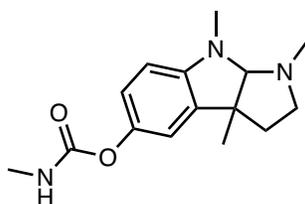


Ilustración 5. Estructura química de la fisostigmina.

De acuerdo con investigaciones recientes, las isoindolin-1,3-dionas son potentes y novedosas AChEI (Ilustración 6). Los dos grupos carbonilo en su estructura facilitan los puentes de hidrógeno con el CAS y el PAS simultáneamente. Como consecuencia estas moléculas posiblemente podrían inhibir tanto la formación las placas β -amiloide como la actividad hidrolítica de la AChE sobre la acetilcolina.^[20]

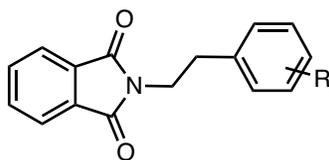
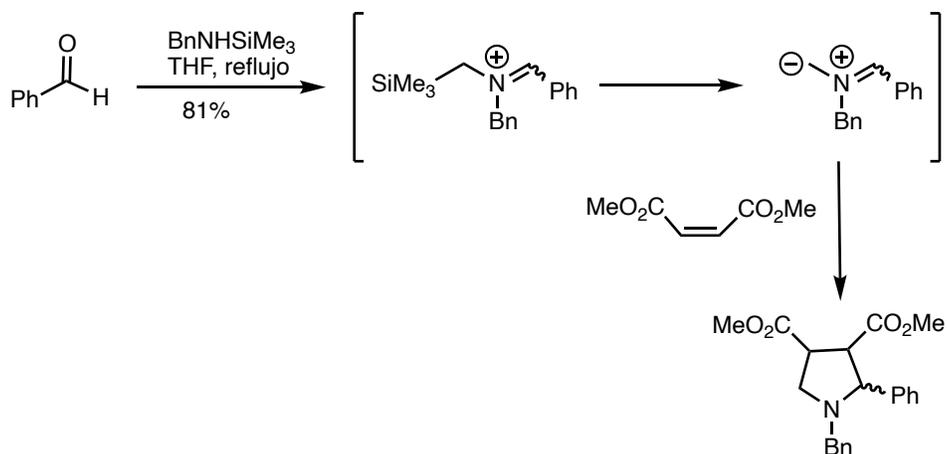
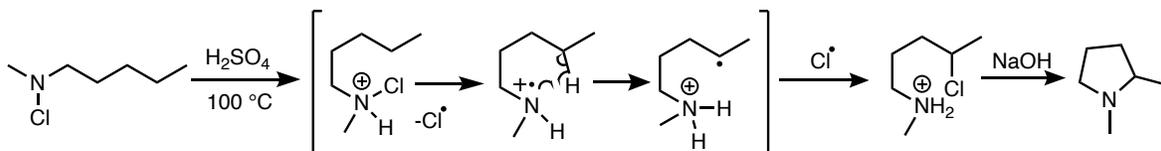


Ilustración 6. Estructura base de isoindolin-1,3-diona AChEI.^[19]



Esquema 1. Obtención de pirrolidinas mediante cicloadición 1,3-dipolar. [24]

Un método muy claro para la síntesis de pirrolidinas que no requiere materia prima difuncionalizada, se basa en la reacción de Hofmann-Löffler-Freytag, que es un proceso radical, para introducir el segundo grupo funcional. Esta reacción consiste en la conversión de una *N*-haloamina protonada en un compuesto heterocíclico (pirrolidina o piperidina) por descomposición térmica en presencia de ácido sulfúrico o mediante radiación UV (Esquema 2). [24, 25]



Esquema 2. Obtención de pirrolidinas mediante la reacción Hofmann-Löffler-Freytag. [24]

Pirrolidonas

Las pirrolidonas (**VII**) son compuestos heterocíclicos saturados de 5 miembros con un átomo de nitrógeno y un grupo carbonilo en el C-2 (Ilustración 9). Son fracciones estructurales frecuentemente encontradas en diferentes productos naturales, medicinales y compuestos biológicamente activos. Poseen gran aplicabilidad, principalmente en la industria farmacéutica, en la síntesis de herbicidas, fungicidas, y otros compuestos con actividad farmacológica, de entre los cuales destacan los racetamos como el piracetam (**XI**) y sus derivados.

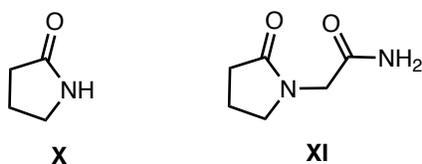


Ilustración 9. Compuestos con actividad farmacológica que poseen pirrolidonas.

Las estrategias tradicionales para la formación de 2-pirrolidinas se pueden dividir en intramoleculares e intermoleculares, tal como se indica en la Ilustración 10. [26]

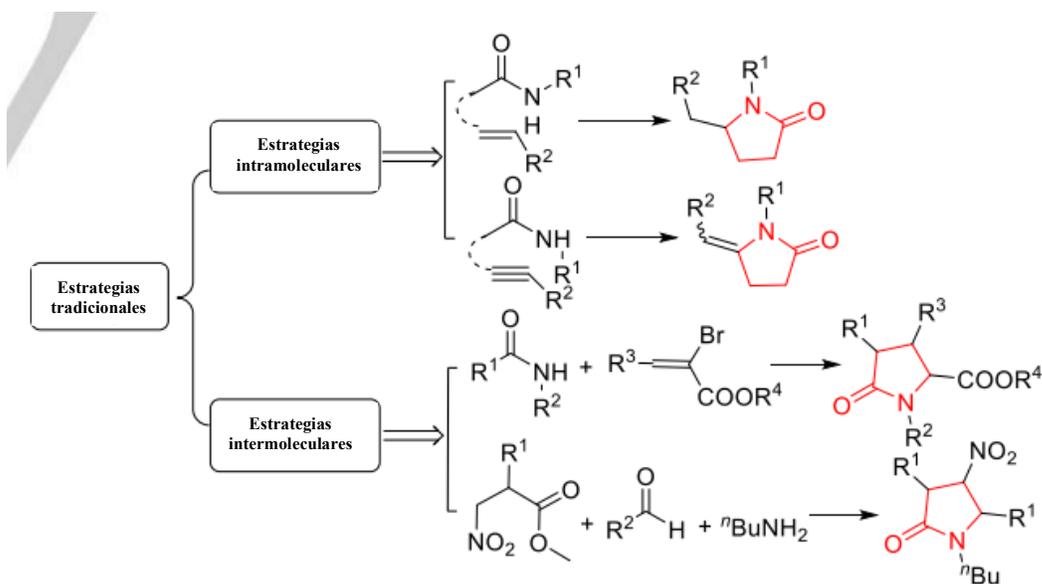
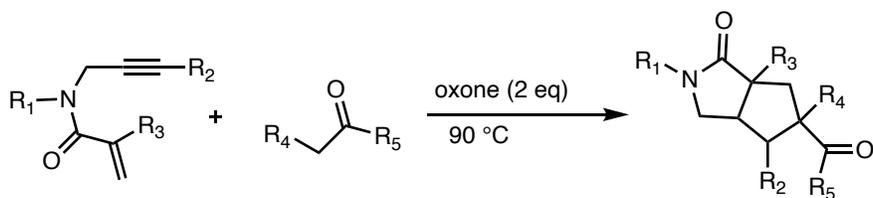
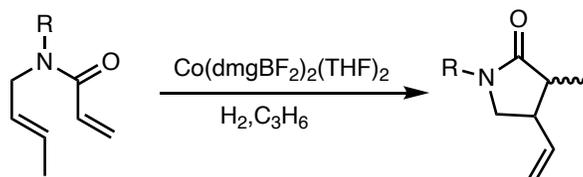


Ilustración 10. Reacciones para la obtención de pirrolidonas. [26]

Existen algunas deficiencias en la preparación de 2-pirrolidonas, como el requisito de altas cargas de catalizador, la formación de posibles productos secundarios de alquilación, y reacciones de epimerización en condiciones básicas, así como baja selectividad y rendimiento, por lo que en los recientes años se han desarrollado metodologías de síntesis basadas en la ciclación por radicales a partirde 1,6-eninos (Esquema 3) y 1,6-dienos (Esquema 4) ya que han demostrado necesitar condiciones de reacción suaves y menos pasos. [26]



Esquema 3. Síntesis de 2-pirrolidonas a partir de 1,6-eninos y cetonas.



Esquema 4. Ciclación de 1,6-dienos promovida por cobaloxima para la síntesis de 2-pirrolidonas.

Isoindolonas

Las isoindolonas son isómeros constitucionales de las indolonas o hidroxindoles, son moléculas que contienen como núcleo base la isoindol-1-ona (**XII**), el cual es un heterociclo benzofusionado que consiste en un anillo de pirrolidona y uno de benceno. Este núcleo, mostrado en la Ilustración 11, ha demostrado ser un farmacóforo de gran importancia, ya que se encuentra presente en numerosos compuestos con una amplia gama de actividad farmacológica entre las que se encuentran: antiinflamatoria, antiviral, antihipertensiva, anestésica, nootrópica (estimulantes de la memoria y potenciadores cognoscitivos), entre otras. [22, 27] Las propiedades de cualquier isoindolona dependen de sus diferentes sustituyentes.

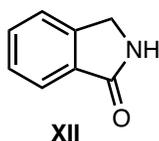


Ilustración 11. Núcleo base de isoindol-1-ona.

Son compuestos de origen natural, pues se han encontrado compuestos derivados de isoindolonas de gran interés farmacológico en una amplia variedad de productos naturales. Por ejemplo, se han aislado de especies de plantas chilenas del género *Berberis* como la chilénina, lenoxamina, nuevamina y magallanesina las cuales han mostrado actividad como antitumorales en cáncer de colon y próstata, además de que han sido probadas como

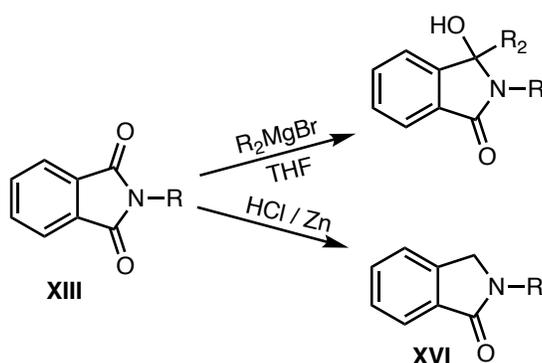
antimaláricos con buenos resultados. Otro ejemplo es la estausporina, que fue aislada como un metabolito del *Saccharothrix sp*, la cual posee actividad hipotensoras y citotóxicas. [288]

Sin embargo, los bajos rendimientos en procesos de extracción de sus fuentes naturales justifican el estudio de compuestos análogos de origen sintético, con el fin de aumentar la actividad farmacológica y disminuir los efectos no deseados. [22]

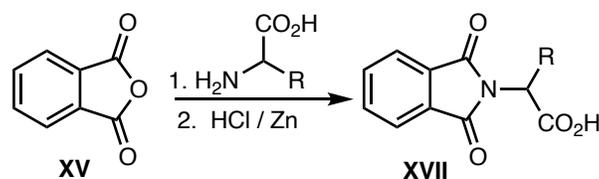
El interés en la síntesis de estos compuestos deriva de su probable actividad biológica, además de su potencial uso como precursor de otros fármacos. En este sentido, se han utilizado isoindolinas derivadas de alcoholes en el tratamiento de enfermedades de vasos coronarios, encargados de irrigar al miocardio, aunque el uso de isoindolinas derivadas de α -aminoácidos podría representar una ventaja contra las derivadas de alcoholes: pues podría evitar o disminuir efectos secundarios adversos, en caso de ser utilizadas *in vivo*. [29]

Actualmente se han descrito un gran número de rutas sintéticas para la obtención de isoindolonas partiendo de diferentes materias primas, así como haciendo uso de diferentes condiciones de reacción, algunas de las más empleadas son las que parten de ftalimidias (**XIII**), [27, 30] oxoácidos (**XIV**) [31] y anhídrido ftálico (**XV**) [32] como materias primas, las cuales se ejemplifican en los Esquemas 5, 6 y 7 respectivamente.

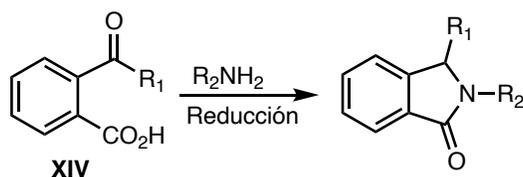
Se sabe que el farmacóforo isoindolina-1,3-diona interactúa con gran afinidad en el sitio aniónico periférico (PAS) de la AChE humana. [33]



Esquema 5. Obtención de isoindolonas partiendo de ftalimidias.



Esquema 6. Obtención de isoindolonas partiendo de oxoácidos.



Esquema 7. Obtención de isoindolonas partiendo de anhídrido ftálico.

Las isoindolonas se pueden dividir en 3 grupos principales según sus sustituyentes, estos son: isoindolonas *N*-sustituidas (**XVI**), isoindolonas 3-sustituidas (**XVII**) e isoindolonas que se encuentran fusionadas en el anillo pirrolidina con otro sistema cíclico (Ilustración 12), como las pirroloisoindolonas (**XVIII**), isoindolobenzacepinas (**XIX**) e isoindolquinolinas (**XX**).^[28]

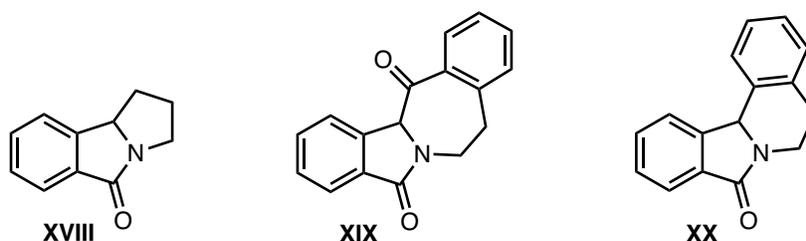


Ilustración 12. Isoindolonas fusionadas a otro sistema cíclico. Pirroloisoindolona, isoindolobenzacepina e isoindolquinolina respectivamente.

Pirroloisoindolonas

Son moléculas tricíclicas que integran en su estructura los núcleos de isoindolin-1-ona y pirrolidina (Ilustración 13).

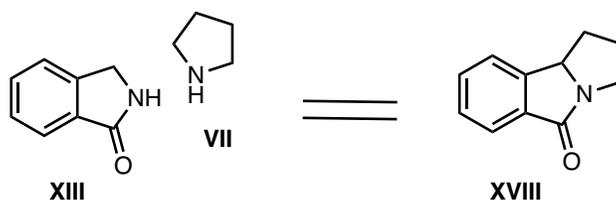
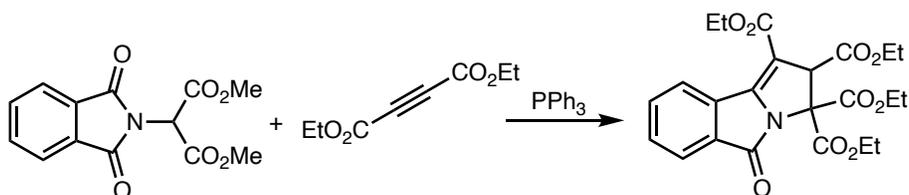


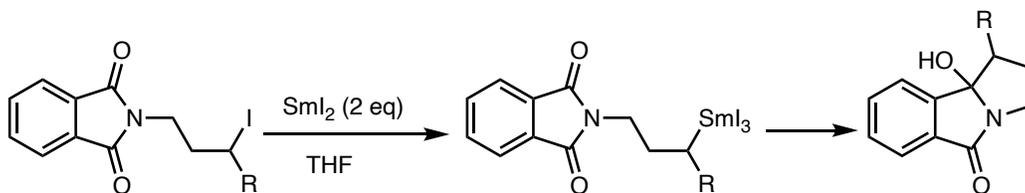
Ilustración 13. Núcleo de pirroloisoindolona.

En cuanto a su actividad biológica se ha encontrado que moléculas derivadas de pirroloisindolonas presentan una actividad más específica como analgésica, antitumoral y citotóxica.

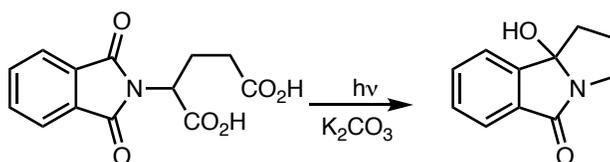
Sintéticamente se han desarrollado diversas metodologías para la obtención de estas moléculas, entre ellas se encuentran las reacciones de Wittig intramolecular de derivados de ftalimidias (Esquema 8), el uso de diyoduro de samario previo a una ciclación intramolecular (Esquema 9), reacciones fotoquímicas (Esquema 10), ciclaciones mediante la adición de un reactivo de órgano-zinc a un carbonilo (Esquema 11) u radicales libres, entre otras. [22, 33]



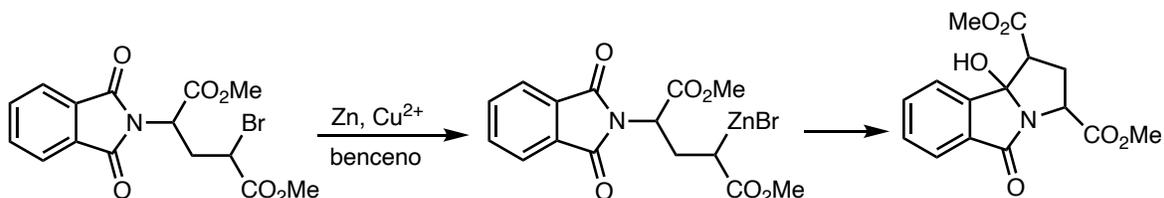
Esquema 8. Síntesis de pirrolo[2,1-*a*]isindol-5-onas mediante la reacción de Wittig.



Esquema 9. Ciclación mediada por samario.

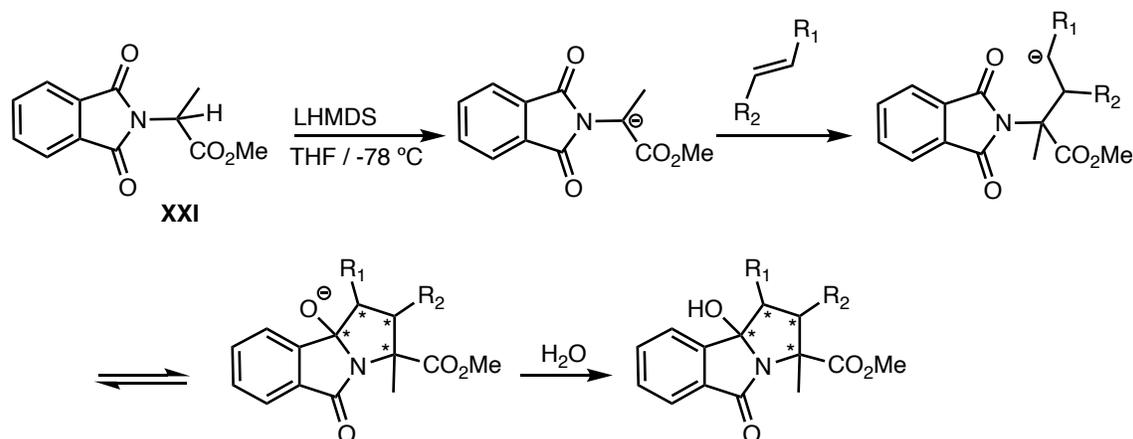


Esquema 10. Síntesis de pirrolo[2,1-*a*]isindol-5-onas mediante una reacción fotoquímica.



Esquema 11. Síntesis de pirrolo[2,1-*a*]isindol-5-onas por una variante de la reacción de Reformatsky (reactivo de órgano-zinc).

Un método útil para la síntesis de pirroloisoindolonas altamente funcionalizadas y que permite la modificación estructural a través de reacciones convencionales, consiste en una reacción dominó (o serie de reacciones en secuencia) ^[35] en condiciones básicas entre un éster derivado de las isoindolonas (**XXI**) y un compuesto α,β -insaturado (**XXII**), tratándose así de una adición de Michael seguida por una ciclación intramolecular, mecanismo que se encuentra simplificado a continuación en el Esquema 12.



Esquema 12. Síntesis de pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas mediante procesos de adición-ciclación.

Reacción dominó

Las reacciones dominó se definen como procesos de dos o más reacciones de formación de enlaces bajo condiciones de reacción idénticas, en las que la transformación posterior tiene lugar en las funcionalidades obtenidas en la transformación anterior. ^[36,36] Esto implica que, en un proceso ideal, la transformación completa debe ser llevada a cabo sin otro reactivo o catalizador y sin el cambio de las condiciones de reacción. ^[37]

Este tipo de reacciones permiten la formación de múltiples enlaces, ya sea C-C, C-O o C-N; en una sola operación, además de la preservación de recursos y la disminución de desechos, así como en la reducción de tiempo y costos. ^[36]

Las reacciones dominó permiten generar una elevada complejidad molecular de forma sencilla y controlada, por lo cual están encontrando numerosas aplicaciones en síntesis orgánica, incluyendo la síntesis total de productos naturales.

Las reacciones dominó se clasifican según el mecanismo de la formación de enlaces, de esta manera pueden ser catiónicas, aniónicas, radicalarias, pericíclicas, fotoquímicas, catalizadas por metales de transición, oxidativas o reductivas y enzimáticas, a su vez también pueden suceder por combinación de los mecanismos mencionados. [3636]

De acuerdo con dicha clasificación, las reacciones dominó más frecuentes son las aniónicas, como la adición de Michael la cual es la más representativa de estas transformaciones dominó [38] siendo así de utilidad debido a sus numerosas aplicaciones sintéticas sobre diversos sustratos.

Acoplamiento molecular

Las metodologías de acoplamiento molecular o *docking* se usan actualmente como una herramienta computacional estándar en diseño de fármacos para la optimización de compuestos. El docking es un método semi empírico computacional que utiliza el modelo de llave cerradura para predecir la interacción de dos moléculas, generalmente entre una molécula pequeña y una macromolécula tal como ligando-proteína, generando un modelo de unión mediante el empleo de algoritmos matemáticos, genéticos y de otro tipo. [3939]

Es una estrategia de mecánica molecular que busca predecir los enlaces no-covalentes entre dos moléculas. El objetivo es describir las conformaciones de enlace y afinidad, mediante el cálculo de la energía libre de unión (ΔG) de dicha asociación. [19]

Las herramientas básicas de una metodología de acoplamiento incluyen un algoritmo de búsqueda y una función de puntuación de energía para generar y evaluar posturas de ligandos. Durante el proceso de docking, los algoritmos de búsqueda generan un gran número de conformaciones ligando-enzima. Las funciones de evaluación son funciones matemáticas que califican la bondad de ajuste enzima-ligando, guiando a los algoritmos de búsqueda únicamente a las conformaciones relevantes que pueden basarse en la geometría del ligando y del sitio de unión (evaluación topológica), o en un cálculo de la energía de unión enzima-ligando (evaluación energética). [40]

Existen diferentes programas disponibles para realizar cálculos de acoplamiento, incluidos AutoDock, GOLD, FlexX, DOCK, ICM y LUDI. AutoDock es el programa más utilizado

para realizar el acoplamiento debido a que proporciona buenas aproximaciones a los datos experimentales y también es gratuito para los grupos académicos de todo el mundo. [3939]

Evaluación de la actividad enzimática

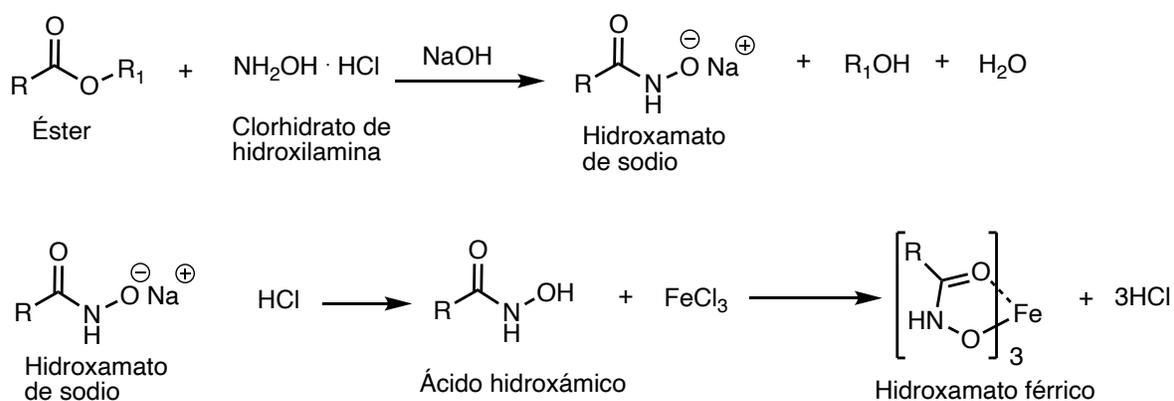
Finalmente, existen varios métodos descritos en la literatura para evaluar el potencial de un compuesto como inhibidor de las colinesterasas, con los cuales se detectan y cuantifican los productos de hidrólisis de la acetilcolina mediante ensayos colorimétricos o de fluorescencia, no radioactivos y diseñados para ser llevados a cabo en una microplaca. Algunos de los más relevantes se muestran en la Ilustración 14. Sin embargo, algunos de ellos tienen desventajas importantes a la hora de interpretar los resultados, por ejemplo, las interferencias con aldehídos o aminas en el método propuesto por Ellman. [41]

Tipo de ensayo	Descripción	Referencias
Método colorimétrico usando Ácido Ditiobis-Nitrobenzoico (DTNB) y acetiltiocolina	Formación de un compuesto de color amarillo, donde la inhibición se observa como manchas de color blanco o disminución del color amarillo	(Rhee et al. 2001) ³⁵
Método colorimétrico usando acetato de 1-naftilo y Fast Blue Salt (FBS)	Formación de un compuesto coloreado (púrpura) por la reacción entre el naftol, producto de hidrólisis del acetato de 1-naftilo, y el compuesto azoico FBS.	(Marston et al. 2002) ⁵¹
Método Quimioluminiscente	Determinada por la emisión de luz producida por el luminol y la peroxidasa utilizada.	(Guardigli et al. 2005) ⁴⁹
Método colorimétrico por formación de ácido hidroxámico	Formación de un compuesto color marrón, la inhibición se observa por desaparición del color marrón, es un método utilizado para la medición de hidrólisis de ésteres orgánicos	(Featherstone et al,1961) ⁵²

Ilustración 14. Métodos para determinar la actividad de la AChE. [19]

Con respecto a las técnicas HTS (*High-Throughput Screening*) para ensayos de inhibición de AChE, ofrecen resultados confiables incluso con poca cantidad de muestra; sin embargo, su implementación requiere el uso de equipos especializados, además de reacciones enzimáticas acopladas, lo que los hace más costosos que los métodos colorimétricos. [42] Por otro lado, el

ensayo conocido como el método del ácido hidroxámico para la determinación de los ésteres de colina descritos en un principio por Hestrin (1949), modificado por Bonting y Featherstone (1956), y recién estandarizado por Andrade-Jorge y col. (2018), posee algunas ventajas para evaluar la actividad inhibitoria contra la BuChE. [43] Se basan en convertir cuantitativamente a los ésteres de colina en ácido hidroxámico por acción de la hidroxilamina; la concentración de ácido hidroxámico se mide después de un tratamiento con FeCl₃ en solución ácida ya que adquiere una coloración marrón violeta al transformarse en hidroxamato férrico. Las reacciones implicadas en la cuantificación se observan en el Esquema 13.



Esquema 13. Reacciones implicadas en el método de evaluación enzimática con ácido hidroxámico.

ANTECEDENTES DEL PROYECTO

El grupo de investigación dirigido por el Dr. Adelfo N. Reyes Ramírez, ha desarrollado previamente metodologías que permiten el rápido acceso a pirroloisoindolonas a partir de materias primas comercialmente disponibles; estos procesos en cascada se llevan a cabo con alta diastereoselectividad y en buenos rendimientos, tanto en condiciones clásicas como en condiciones libres de disolvente, mediante "ball milling".^[44] Estas pirroloisoindolonas han mostrado actividad como inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA).^[45]

La misma metodología fue aplicada para la obtención de los compuestos *rac-A*, *rac-B* y *rac-C*, compuestos evaluados como inhibidores de la AChE mediante docking molecular y en un modelo enzimático, obteniendo resultados alentadores (Ilustración 15, Tabla 3),^[46, 47] por lo que las nuevas pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas sintetizadas en este trabajo, también será de interés evaluarlas como AChEI y BuChEI.

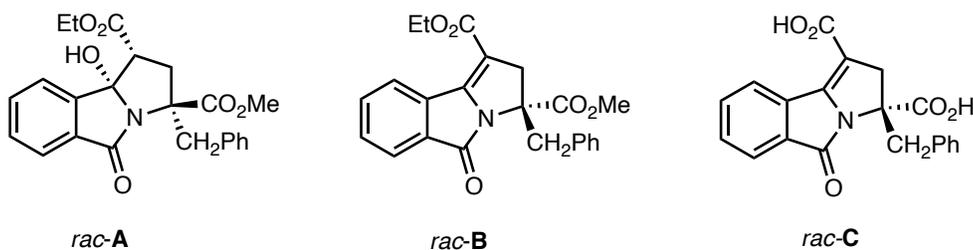


Ilustración 15. Pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas racémicas con actividad inhibitoria de la AChE.

Tabla 3. Inhibición de la AChE.

Compuesto	ΔG (Kcal/mol)	K_d (μM) Docking	K_d (μM)	Intervalo 95 %	Tipo de inhibición
<i>rac-A</i>	-10.21	0.032	163.4	117.7 a 209.0	Competitiva
<i>rac-B</i>	-10.48	0.020	55.47	39.6 a 71.32	Competitiva
<i>rac-C</i>	-8.47	0.0618	67.16	50.5 a 83.81	Competitiva
Neostigmina	-	-	22.56	20.19 a 24.93	Competitiva
galantamina	-9.34	0.141	0.316	0.270 a 0.362	Competitiva

PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA

La EA es la principal causa de demencia a nivel mundial, lamentablemente los tratamientos farmacológicos contra sus síntomas son pocos y suelen involucrar serios efectos secundarios, por lo que el propósito de este proyecto radica en la síntesis de nuevos compuestos derivados de pirroloisoindolonas que puedan evaluarse como Inhibidores duales de las colinesterasas, empleando métodos rápidos y que permitan obtener rendimientos mayores a los procesos actualmente descritos.

HIPÓTESIS

La modificación estructural de compuestos sintetizados derivados de las pirroloisoindolonas permitirá obtener nuevas moléculas potencialmente útiles en el tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer, proporcionando de esta manera información sobre los requerimientos estructurales necesarios que contribuyan a la mejora de la actividad inhibidora de colinesterasas.

OBJETIVOS

Objetivo general

El objetivo general del proyecto es la síntesis y análisis estructural de nuevas pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas con el propósito de obtener nuevos productos sintéticos con posible actividad inhibidora de colinesterasas.

Objetivos particulares

- Diseñar y llevar a cabo una ruta de síntesis para obtener de manera viable los compuestos propuestos, a partir de las síntesis previamente reportadas por nuestro grupo de investigación, así como por la búsqueda bibliográfica realizada.
- Caracterizar los compuestos obtenidos por espectroscopia en el infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear (RMN ^1H y de ^{13}C), así como por espectrometría de masas.
- Estimar la actividad inhibitoria de la acetilcolinesterasa y butirilcolinesterasa de los compuestos obtenidos mediante estudios de acoplamiento molecular.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Tipo de estudio: Experimental, descriptivo, comparativo y prospectivo.

Población de estudio: 9 Compuestos con el núcleo de la pirrolo[2,1-*a*]isoindolonas.

Criterios de inclusión: Obtener una serie de 9 pirroloisoindolonas racémicas diseñadas las cuales tienen en su estructura diferentes grupos funcionales y que además cumplan con la caracterización fisicoquímica y estructural mediante el uso de técnicas de punto de fusión, cromatografía, espectroscópicas y espectrométricas.

Criterios de exclusión: Aquellos compuestos que no cumplan con la caracterización fisicoquímica y estructural mediante el uso de técnicas de punto de fusión, cromatografía, espectroscópicas y espectrométricas.

Criterios de eliminación: Cambio en sus propiedades físicas de los compuestos y/o contaminados.

MATERIALES Y METODOS

Materiales

Agitador magnético	Matraz Kitasato
Agujas	Papel aluminio
Algodón	Papel filtro
Anillo metálico	Papel glassine
Caja Petri	Pinzas tres dedos
Cámara de elución	Pipeta graduada
Capilar	Piseta
Columna para CC	Placa para CCF
Embudo Buchner	Probeta
Embudo de separación	Recipiente para baños
Embudo de tallo largo de vidrio	Refrigerantes rectos
Espátula de acero	Soporte universal
Frasco	Tapón septum
Jeringa	Termómetro
Mangueras	Tiras indicadoras pH
Matraz bola	Tubos de ensayo
Matraz Erlenmeyer	Vasos de precipitado

Instrumentos

Balanza analítica
Balanza granataria

Equipos

Aparato Melt-Temp Electrathermal	Lampara de luz UV
Bomba de vacío	Parrilla de calentamiento y agitación
Campana de extracción	Recirculador

Estufa

Refrigerador

Estufa de vacío

Rotavapor

Disolventes

Acetato de etilo (AcOEt)

Etanol (EtOH)

Acetona

Hexano (Hex)

Agua (H₂O)

Isopropanol (*i*-Pro)

Cloroformo deuterado (CDCl₃)

Metanol (MeOH)

Cloruro de metileno (CH₂Cl₂)

Metanol deuterado (CD₃OD)

Dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-D₆)

Tolueno

Reactivos

Ácido acético (AcOH)

Hexametildisilazida de litio (LHMDS)

Ácido clorhídrico (HCl)

Hidróxido de litio monohidratado

(LiOH H₂O)

Ácido sulfúrico (H₂SO₄)

Hidróxido de paladio en carbono Pd(OH)₂/C

Acrilato de etilo

Hidróxido de sodio (NaOH)

Anhídrido ftálico

Permanganato de potasio (KMnO₄)

Cloruro de tionilo (SOCl₂)

Sulfato de sodio anhidro (Na₂SO₄)

D-(-)- α -fenilglicina

Tetrahidrofurano (THF)

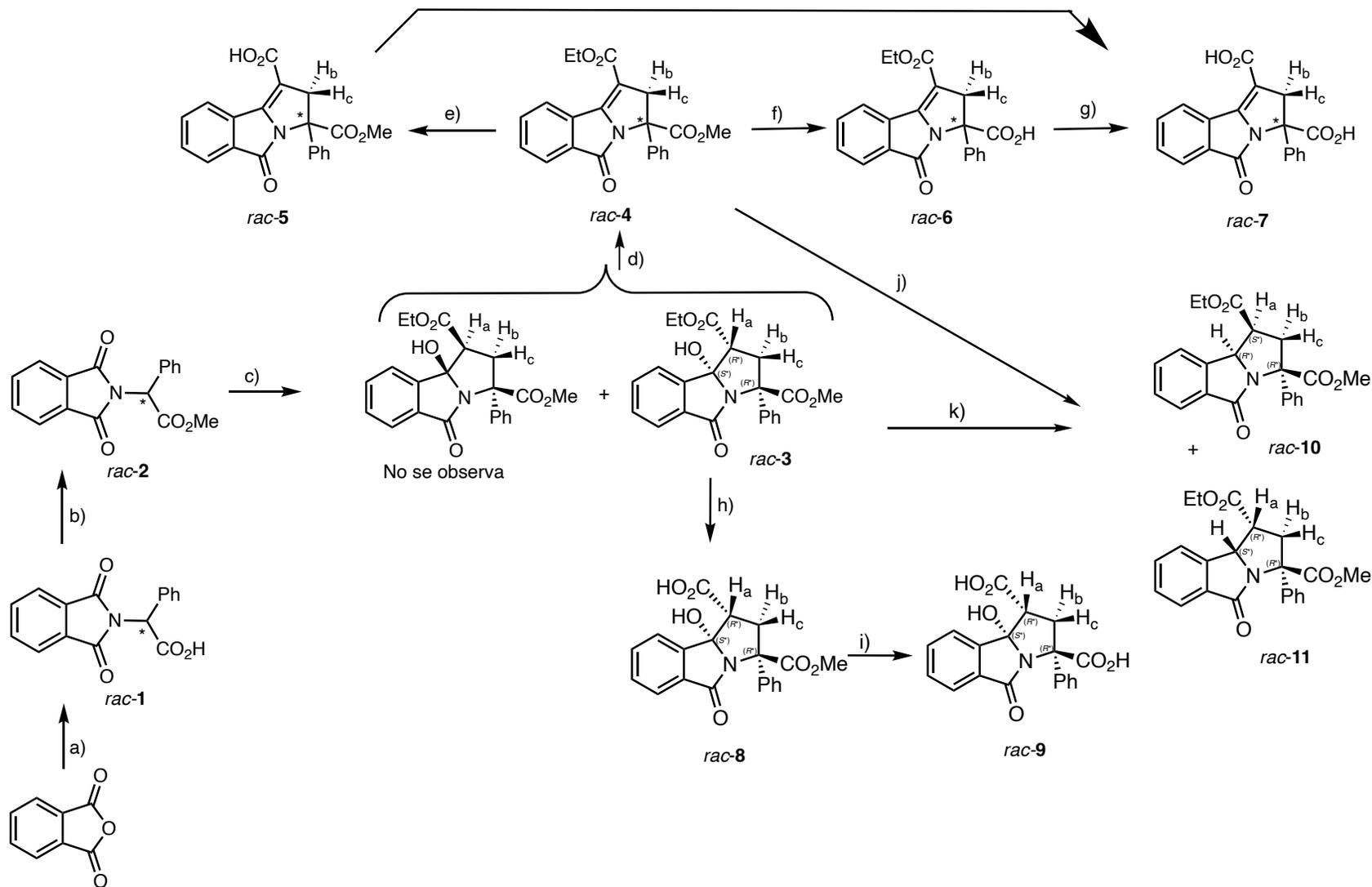
Generalidades de la Metodología

El trabajo realizado para esta tesis se dividió en dos partes operativas: la parte química sintética y la parte computacional.

Parte Química Sintética.

Para la síntesis de los compuestos se utilizaron los reactivos, disolventes, material y equipo del laboratorio de síntesis farmacéutica L-4 primer piso de la UMIEZ de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, bajo la dirección del Dr. Adelfo Natalio Reyes Ramírez. Todas las reacciones fueron realizadas en matraces previamente secados en estufa, provistos con agitadores magnéticos y evaporando a sequedad mediante un rotavapor estándar. El progreso de las reacciones fue monitoreado con CCF en placas comerciales de silica gel 60 (F254 Merck) bajo lámpara UV (254 nm) para visualizar materias primas y productos. Los puntos de fusión fueron medidos en un aparato Melt-Temp “Electrothermal” y no están corregidos. Los espectros infrarrojos (IR) se obtuvieron en un espectrómetro FT-IR Perkin-Elmer (PC16, Spectrum GX) con un accesorio de reflectancia total atenuada (ATR). Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) de ^1H y ^{13}C se registraron en espectrómetros Bruker ASCEND 400 (400 MHz) y Bruker 300 (300 MHz). El análisis directo de espectrometría de masas para determinar los espectros de baja resolución (DART-SM) se realizó en un instrumento Bruker micrOTOF-Q. Los datos se informan de la siguiente manera: desplazamiento químico en ppm (δ), área de integración, multiplicidad (s = singlete, s br = singlete amplio, d = doblete, t = triplete, c = cuádruple y m = multiplete) y constantes de acoplamiento en Hz (J) en el disolvente indicado.

La estrategia de síntesis (Esquema 14) de las pirroloisindolonas de éste proyecto de tesis, se prepararon mediante los procedimientos que se han desarrollado y reportado previamente por Reyes et al. (1999), Sánchez-Antonio et al. (2019) y Rivera-Sánchez (2019), y más reciente Andrade-Jorge et al. (2022), el cual consiste en un proceso de ciclación en cascada, que involucra una adición tipo Michael en la primera etapa seguido por una adición nucleofílica intramolecular en la segunda etapa; para la síntesis de los compuestos intermedios y derivados, se utilizaron procedimientos descritos en la literatura para compuestos similares.



Esquema 14. Esquema de síntesis del proyecto. Reactivos y condiciones: a) Calentamiento a 165-180 °C, 30 min; b) MeOH/H₂SO₄ o SOCl₂/MeOH; c) 1.2 eq Acrilato de etilo, 1.02 eq LHMS, THF, - 78 °C, 2 h; d) H₂SO₄, CH₂Cl₂, 25 °C, 40 min; e) 1 eq NaOH, MeOH, 25 °C, 8 h; f) 1.5 eq LiOH·H₂O, THF, reflujo, 10 h; g) 4.4 eq NaOH, MeOH, 70 °C, 23 h; h) 1.1 eq LiOH·H₂O, THF/H₂O, 60-65 °C, 1.5 h; i) NaOH, H₂O, THF, 60 °C, 1.5 h; j) H₂, Pd(OH)₂/C, 900 psi, 60 °C, 48 h; k) H₂, Pd(OH)₂/C, 900 psi, 60 °C, 24 h.

Los compuestos intermedios y las pirroloisindolonas racémicas de interés se purificaron del crudo mediante procedimientos cromatográficos y/o cristalización. En todos los casos se obtuvieron cantidades suficientes de los productos, para su completa caracterización y posterior evaluación de su actividad de inhibición enzimática.

Parte Computacional. Docking

Se llevó el acercamiento molecular de las pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas, los fármacos de referencia y las moléculas descritas en la Tabla 2 con las enzimas AChE y BuChE cuyos cristales se pueden obtener en la base de datos PDB (1C2O y 6EQQ respectivamente). Las estructuras de los compuestos conocidos se obtuvieron en PubChem y fueron optimizados al igual que las pirroloisindolonas y sus intermediarios en el Software Avogadro bajo el campo de fuerza MMFF94. Posteriormente con AutodockTools 1.5.6 se establecieron las condiciones en el cual los ligandos y los receptores interactuaron y finalmente los cálculos se llevaron a cabo en el sistema operativo Linux Fedora 22 con Autogrid4 y AutoDock4.

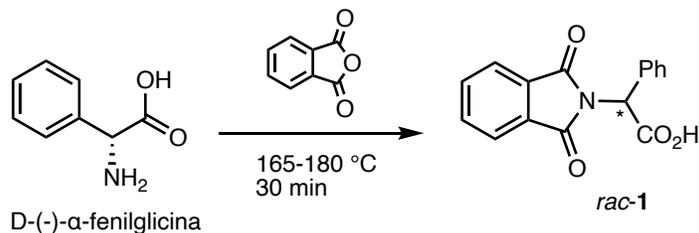
Parte Enzimática. Evaluaciones farmacológicas

La evaluación enzimática, posteriormente será realizada en el grupo de trabajo del Dr. Erik Andrade Jorge.

Procedimiento experimental

Parte Química Sintética. Síntesis de los compuestos

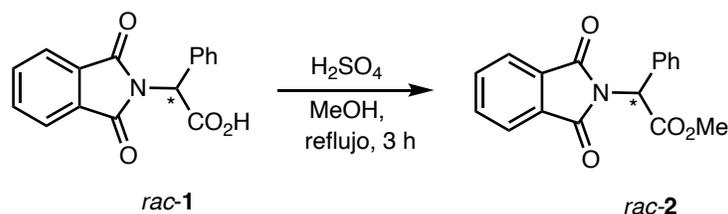
Ácido (*RS*)-2-(1,3-dioxoisoindolin-2-il)-2-fenilacético, [*rac*-1]



Esquema 15. Reacción de condensación para la obtención de *rac*-1.

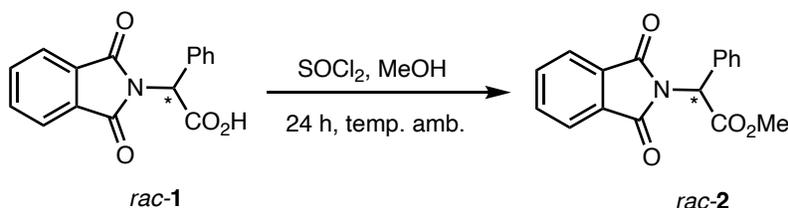
En un matraz bola de 250 mL provisto de agitación magnética se colocó anhídrido ftálico (16.2 g, 109.4 mmol) y D-(-)-α-fenilglicina (15.9 g, 105.2 mmol). Se calentó en un baño de aceite a 165-180 °C por 30 min con agitación constante, monitoreando el curso de la reacción con CCF (Hex-AcOEt, 7:3). El matraz con la mezcla de reacción se retiró del baño y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Al sólido resultante se añadieron 50 mL de agua, se trituroó, se filtró al vacío y el producto sólido se dejó en la estufa de vacío por 24 h a temperatura ambiente. El producto crudo se obtuvo con un rendimiento de 96.0 % (28.4 g), el cual fue purificado por CC (Hex-AcOEt, 7:3) y recristalizado (EtOH-H₂O, 2:1). El compuesto *rac*-1 se obtuvo como un sólido blanco; p.f. = 170–171 °C (lit. ^[44] 170.5–171.5 °C); R_f = 0.31 (Hex-AcOEt, 7:3); RMN ¹H (301 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.85 (2H, dd, J = 5.5, 3.1 Hz, H-Phth), 7.71 (2H, dd, J = 5.5, 3.0 Hz, H-Phth), 7.58 (2H, dd, J = 7.7, 1.9 Hz, H_{orto}-Ph), 7.42–7.29 (3H, m, H-Ph), 6.09 (1H, s, NCHPh); RMN ¹³C (76 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 173.2 (C, HOC=O), 167.0 (2C, NC=O), 134.3 (2CH, Phth), 133.7 (C_{ipso}, Ph), 131.7 (2C, Phth), 129.7 (2CH_{orto}, Ph), 128.8 (CH_{para}, Ph), 128.6 (2CH_{meta}, Ph), 123.7 (2CH, Phth), 55.5 (CH, NCH); FTIR-ATR ν (cm⁻¹): 1771, 1706 (C=O ácido carboxílico), 1379; SM (DART+): *m/z* (%) 282 (32) [M+H]⁺, 236 (100), 105 (15). HRMS (ESI⁺) *m/z* 282.07663 calculada para C₁₆H₁₂NO₄, encontrada 282.07685 [M+H]⁺.

(*RS*)-2-(1,3-Dioxoisindolin-2-il)-2-fenilacetato de metilo, [*rac*-2]



Esquema 16. Reacción de esterificación para la obtención de *rac*-2. Método A.

Método A. En un matraz bola de 250 mL provisto de agitación magnética el compuesto *rac*-1 (12.1 g, 43.0 mmol) fue disuelto en 100 mL de MeOH y posteriormente se mantuvo en agitación constante mientras se adicionó lentamente 1.4 mL de H₂SO₄. La mezcla se calentó a temperatura de reflujo por 3 h, monitoreando el curso de la reacción con CCF (Hex-AcOEt, 7:3). Al término de la reacción el matraz con la mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente. Una vez frío se colocó en baño de hielo con agitación constante. La mezcla de reacción ácida fue neutralizada adicionando lentamente Na₂CO₃·H₂O (3.1 g, 25 mmol). Se evaporó el disolvente al vacío en el rotavapor (40 °C aprox.). Al sólido resultante se le añadieron 200 mL de agua, se filtró al vacío y el producto sólido se dejó secar por 24 h en una estufa de vacío a temperatura ambiente. El compuesto *rac*-2 se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento de 85.8 % (10.9 g); p.f. = 94–95 °C; R_f = 0.36 (Hex-AcOEt, 8:2).

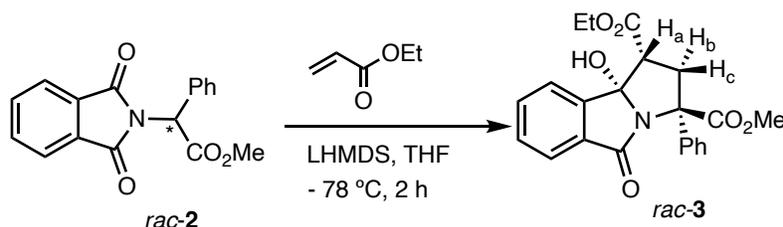


Esquema 17. Reacción de esterificación para la obtención de *rac*-2. Método B.

Método B. En un matraz bol a de 250 mL provisto de agitación magnética el compuesto *rac*-1 (12.0 g, 42.7 mmol) fue disuelto en 63 mL de MeOH y colocado en un baño de hielo. Se le adicionaron 4.6 mL de SOCl₂ lentamente dentro de una campana de extracción; 10 min. después de haber terminado de agregar el SOCl₂ se retiró del baño de hielo y se dejó en agitación constante por 24 h, monitoreando el curso de la reacción con CCF (Hex-AcOEt, 7:3). A la solución resultante se adicionaron 200 mL de agua y se mantuvo por 10 min dentro de la campana de extracción, se filtró al vacío y se dejó secando por 24 h. El producto crudo se obtuvo con un rendimiento de 89.7% (11.3 g), el cual fue purificado por CC (Hex-AcOEt,

85:15) y recristalizado de MeOH. El compuesto *rac-2* se obtuvo como un sólido blanco; p.f. = 94–96 °C (lit. ^[48] 99.6–100.5 °C); R_f = 0.36 (Hex-AcOEt, 8:2); RMN ¹H (301 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.85 (2H, dd, J = 5.4, 3.1 Hz, H-Phth), 7.72 (2H, dd, J = 5.5, 3.0 Hz, H-Phth), 7.55 (2H, dd, J = 7.6, 1.9 Hz, H_{orto}-Ph), 7.40–7.30 (3H, m, H-Ph), 6.03 (1H, s, NCHPh), 3.81 (3H, s, OCH₃); RMN ¹³C (76 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 168.5 (C, MeOC=O), 167.1 (2C, NC=O), 134.4 (C_{ipso}, Ph), 134.2 (2CH, Phth), 131.8 (2C, Phth), 129.7 (2CH_{orto}, Ph), 128.6 (CH_{para}, Ph), 128.5 (2CH_{meta}, Ph), 123.6 (2CH, Phth), 55.8 (CH, NCHPh), 53.0 (CH₃, OCH₃); FTIR-ATR ν (cm⁻¹): 1735 (C=O éster), 1713 (C=O imida), 1382; SM (DART+): m/z (%) 313 (16) [M+H₂O]⁺, 296 (85) [M+H]⁺, 236 (100), 149 (24). HRMS (ESI⁺) m/z 296.09228 calculada para C₁₇H₁₄NO₄, encontrada 296.09183 [M+H]⁺.

(1*R*,3*R*,9*bS*)- y (1*S*,3*S*,9*bR*)-3-Fenil-9*b*-hidroxi-5-oxo-2,3,5,9*b*-tetrahidro-1*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-1,3-dicarboxilato de 1-etilo 3-metilo, [*rac*-3]

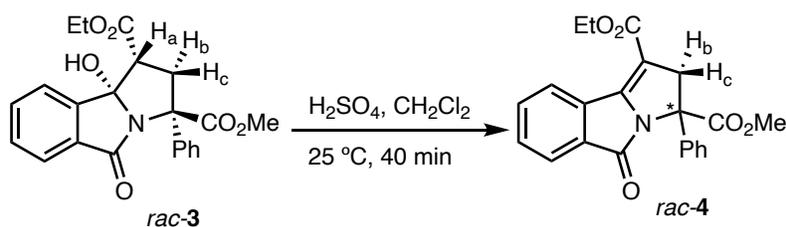


Esquema 18. Reacción dominó, adición de Michael-adición nucleofílica intramolecular para la obtención de *rac-3*.

Se colocó una solución de *rac-2* (16.3 g, 55.2 mmol) y 270 mL de THF en un matraz bola de 500 mL previamente secado en estufa, provisto de un agitador magnético y tapón septum. El aire fue desplazado por flujo de nitrógeno, para mantener la mezcla de reacción bajo atmósfera inerte. Con una jeringa se introdujo acrilato de etilo (7.0 mL, 64.3 mmol). El matraz con la mezcla de reacción se colocó en un baño de hielo sobre una parrilla y a agitación constante y posteriormente se adicionó lentamente LHMDS (1M en THF, 56.2 mL, 56.2 mmol) con una jeringa, cuidando de no administrar aire al sistema. Terminada la adición de la base, la mezcla de reacción se dejó en agitación por 2 h más, monitoreando el curso de la reacción por CCF (Hex-AcOEt, 7:3). A la mezcla de reacción, se adicionaron 100 mL de una solución saturada de NH₄Cl. El producto fue recuperado por extracción con AcOEt (3x100 mL). Las fases orgánicas se mezclaron, lavaron con salmuera (100 mL) y secaron

con Na₂SO₄ anhidro. Se filtró y se concentró en el rotavapor. El producto crudo, se obtuvo como un semisólido viscoso con un rendimiento de 97.6 % (21.3 g) el cual fue purificado por CC (Hex-AcOEt, 75:25) y recristalizado de CH₂Cl₂-Hex (1:3). El compuesto *rac-3* se recuperó como un sólido blanco con un p.f. = 163–165 °C (lit. ^[48] 164–166 °C); R_f = 0.21 (Hex-AcOEt, 7:3); RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.85 (1H, d, *J* = 7.7 Hz, H-6), 7.79 (1H, d, *J* = 7.7 Hz, H-9), 7.65 (1H, td, *J* = 7.6, 1.2 Hz, H-7), 7.56 (1H, td, *J* = 7.5, 0.4 Hz, H-8), 7.51 (2H, dd, *J* = 7.1, 1.7 Hz, H_{orto}-Ph), 7.40–7.28 (3H, m, H-Ph), 4.38–4.24 (2H, m, OCH₂CH₃), 3.65 (3H, s, OCH₃), 3.58 (1H, dd, *J* = 12.4, 7.2 Hz, H_a-1), 3.40 (1H, t, *J* = 12.7 Hz, protón diastereotópico H_b-2), 3.35 (1H, s br, OH), 3.26 (1H, dd, *J* = 13.0, 7.2 Hz, protón diastereotópico H_c-2), 1.36 (3H, t, *J* = 7.1 Hz, OCH₂CH₃); RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 172.0 (C, MeOC=O), 169.9 (C, EtOC=O), 169.0 (C, NC=O), 145.6 (C, C-9a), 140.8 (C_{ipso}, Ph), 133.3 (CH, C-8), 131.6 (C, C-5a), 130.3 (CH, C-7), 128.0 (2CH_{meta}, Ph), 127.7 (CH_{para}, Ph), 127.1 (2CH_{orto}, Ph), 124.1 (CH, C-6), 123.9 (CH, C-9), 95.8 (C, C-9b), 68.5 (C, C-3), 61.6 (CH₂, OCH₂CH₃), 53.1 (CH, C-1), 49.2 (CH₃, OCH₃), 44.6 (CH₂, C-2), 14.2 (CH₃, OCH₂CH₃); FTIR-ATR ν (cm⁻¹): 3439 (OH), 1744 (C=O éster), 1704 (C=O lactama); SM (DART+): *m/z* (%) 396 (28) [M+H]⁺, 378 (100), 336 (14). HRMS (ESI⁺) *m/z* 396.14471 calculada para C₂₂H₂₂NO₆, encontrada 396.14443 [M+H]⁺.

(*RS*)-3-Fenil-5-oxo-2,5-dihidro-3*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-1,3-dicarboxilato de 1-etilo 3-metilo, [*rac-4*]

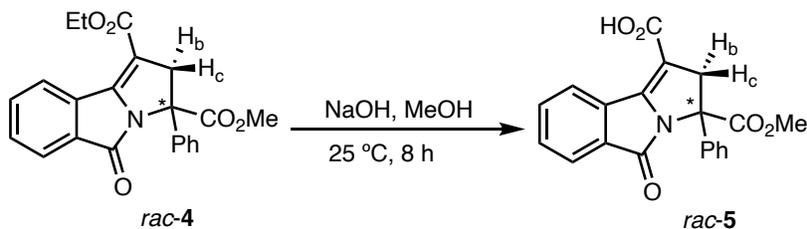


Esquema 19. Reacción de eliminación para la obtención de *rac-4*.

En un matraz bola de 250 mL provisto de agitación magnética se disolvió el compuesto *rac-3* (5.7 g, 14.4 mmol) en 58 mL de CH₂Cl₂, posteriormente se adicionaron 1.9 mL de H₂SO₄. La mezcla se dejó en agitación constante por 40 min, monitoreando el curso de la reacción con CCF (Hex-AcOEt, 7:3), una vez finalizada la reacción se lavó con 30 mL de agua y el producto fue recuperado por extracción con CH₂Cl₂ (3x60 mL). Las fases orgánicas se

mezclaron, lavaron con salmuera (60 mL) y secaron con Na₂SO₄ anhidro. Se filtró y se concentró en el rotavapor. El crudo de reacción se obtuvo como un sólido viscoso con un rendimiento de 60.4 % (3.3 g) el cual fue purificado por CC (Hex-AcOEt, 85:15) y recristalizado de MeOH. El compuesto *rac-4* recuperado como un sólido cristalino blanco con un p.f. = 90–92 °C; R_f = 0.70 (Hex-AcOEt, 7:3); RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.63 (1H, dd, *J* = 7.4, 1.1 Hz, H-9), 7.88 (1H, dt, *J* = 7.0, 0.8 Hz, H-7), 7.69 (1H, td, *J* = 7.5, 1.3 Hz, H-6), 7.63 (1H, td, *J* = 7.5, 1.2 Hz, H-8), 7.51 (2H, dd, *J* = 7.1, 1.7 Hz, H_{orto}-Ph), 7.40–7.35 (2H, m, H-Ph), 7.35–7.29 (1H, m, H-Ph), 4.33 (2H, c, *J* = 7.1 Hz, OCH₂CH₃), 4.15 (1H, d, *J* = 17.8 Hz, protón diastereotópico H-2), 3.83 (3H, s, OCH₃), 3.74 (1H, d, *J* = 17.8 Hz, protón diastereotópico H-2), 1.38 (3H, t, *J* = 7.1 Hz, OCH₂CH₃); RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 171.2 (C, MeOC=O), 164.0 (C, EtOC=O), 163.6 (C, NC=O), 148.6 (C, C-9b), 138.1 (C_{ipso}, Ph), 135.7 (C, C-5a), 132.7 (CH, C-7), 131.6 (CH, C-8), 129.5 (C, C-9a), 128.6 (2CH_{meta}, Ph), 128.3 (CH_{para}, Ph), 126.9 (CH, C-9), 126.4 (2CH_{orto}, Ph), 124.0 (CH, C-6), 107.1 (C, C-1), 69.7 (C, C-3), 60.9 (CH₂, OCH₂CH₃), 53.5 (CH₃, OCH₃), 51.0 (CH₂, C-2), 14.4 (CH₃, OCH₂CH₃); FTIR-ATR ν (cm⁻¹): 1721 (C=O éster), 1702 (C=O lactama), 1656 (C=C); SM (DART⁺): *m/z* (%) 378 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI⁺) *m/z* 378.13415 calculada para C₂₂H₂₀NO₅, encontrada 378.13409 [M+H]⁺.

Ácido (RS)-3-fenil-3-(metoxicarbonil)-5-oxo-2,5-dihidro-3H-pirrolo[2,1-a]isoindol-1-carboxílico, [*rac-5*]

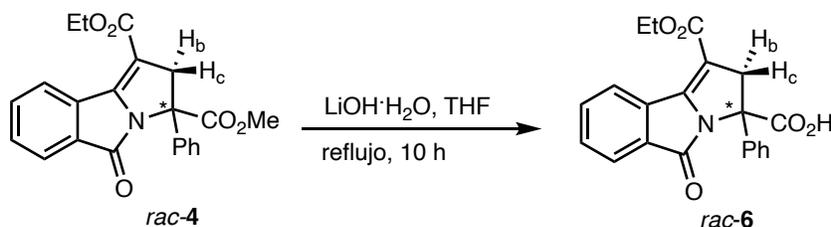


Esquema 20. Hidrólisis parcial de *rac-4* para la obtención de *rac-5*.

En un matraz bola de 50 mL provisto de agitación magnética se disolvió el compuesto *rac-4* (396.3 mg, 1.05 mmol) en 15 mL de MeOH, se colocó en baño de hielo y se adicionó NaOH (64.4 mg, 1.6 mmol) y 1 mL de agua. Se retiró del baño de hielo y se mantuvo en agitación constante a temperatura ambiente por 8 h, monitoreando el curso de la reacción por CCF

(Hex-AcOEt, 8:2). Una vez finalizada la reacción se evaporó el disolvente, se trató con 10 mL de agua y 15 mL de AcOEt. La fase acuosa fue acidificada a pH 1 con HCl 1N, y el producto fue recuperado por extracción con AcOEt (3 x 15 mL). Las fases orgánicas se mezclaron, lavaron con salmuera (15 mL) y secaron sobre Na₂SO₄ anhidro. Se filtró y se concentró en el rotavapor. El producto crudo se obtuvo como un sólido ligeramente amarillo con un rendimiento de 81.0 % (297.1 mg). Se purificó por CC (CH₂Cl₂-MeOH, 100:2) y el compuesto *rac-5* recuperado presentó un p.f. = 184–188 °C; R_f = 0.29 (Hex-AcOEt, 7:3); RMN ¹H (301 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.55 (1H, dt, *J* = 7.7, 1.0 Hz, H-9), 7.83 (1H, dt, *J* = 7.6, 1.0 Hz, H-6), 7.69 (1H, td, *J* = 7.6, 1.2 Hz, H-7), 7.60 (1H, td, *J* = 7.5, 1.1 Hz, H-8), 7.31–7.23 (3H, m, Ph), 7.17–7.11 (2H, m, H_{orto}, Ph), 4.44 (1H, d, *J* = 18.5 Hz, protón diastereotópico H-2), 3.76 (3H, s, OCH₃), 3.35 (1H, d, *J* = 18.5 Hz, protón diastereotópico H-2); RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 169.6 (C, MeOC=O), 167.1 (C, HOC=O), 163.8 (C, NC=O), 146.1 (C, C-9b), 137.4 (C_{ipso}, Ph), 134.1 (C, C-9a), 133.9 (CH, C-7), 132.0 (CH_{para}, Ph), 129.5 (2CH_{meta}, Ph), 129.0 (CH, C-8 y C, C-5a), 127.3 (CH, C-9), 124.4 (CH, C-6), 124.2 (2CH_{orto}, Ph), 111.2 (C, C-1), 72.2 (C, C-3), 52.1 (CH₃, OCH₃), 50.0 (CH₂, C-2); FTIR-ATR ν (cm⁻¹): 2955 (OH ácido), 1730 (C=O éster), 1692 (C=O ácido), 1647 (C=C); SM (DART+): *m/z* (%) 350 (100) [M+H]⁺, 304 (32). HRMS (ESI⁺) *m/z* 350.10285 calculada para C₂₀H₁₆NO₅, encontrada 350.10408 [M+H]⁺.

Ácido (RS)-1-(etoxicarbonil)-3-fenil-5-oxo-2,5-dihidro-3H-pirrolo[2,1-a]isoindol-3-carboxílico, [rac-6]

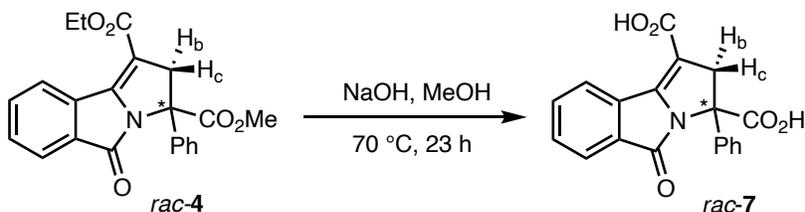


Esquema 21. Hidrólisis parcial de *rac-4* para la obtención de *rac-6*.

En un matraz bola de 100 mL equipado con un condensador y provisto de agitación magnética, se colocaron *rac-4* (592.6 mg, 1.57 mmol) y LiOH·H₂O (179.7 mg, 4.3 mmol) en 50 mL de THF. La solución resultante se calentó a temperatura de reflujo durante 10 h, el

curso de la reacción fue monitoreada por CCF (Hex-AcOEt, 8:2), una vez terminada la reacción se eliminó el disolvente a sequedad en el rotavapor. El producto fue disuelto con 10 mL de agua y la solución fue acidificada con HCl 10 % hasta pH 3. El producto fue recuperado por extracción con AcOEt (3x10 mL). Las fases orgánicas se combinaron, se lavó con salmuera (10 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Se filtró, se concentró a sequedad en el rotavapor y se purificó por CC (Hex-AcOEt, 7:3). El compuesto *rac*-**6** se obtuvo como un sólido amarillo con un rendimiento de 54.7 % (311.9 mg) con un p.f. = 194–196 °C; R_f = 0.36 (Hex-AcOEt, 7:3); RMN ¹H(400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.67 (1H, d, *J* = 7.7 Hz, H-9), 7.94 (1H, dt, *J* = 7.5, 1.0 Hz, H-6), 7.79 (1H, td, *J* = 7.6, 1.2 Hz, H-8), 7.71 (1H, td, *J* = 7.8, 1.1 Hz, H-7), 7.45–7.31 (3H, m, Ph), 7.29–7.19 (2H, m, 2H_{orto}-Ph), 4.56 (1H, d, *J* = 18.5 Hz, protón diastereotópico H-2), 4.42–4.22 (2H, m, OCH₂CH₃), 3.45 (1H, d, *J* = 18.5 Hz, protón diastereotópico H-2), 1.36 (3H, t, *J* = 7.1 Hz, OCH₂CH₃); RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 169.7 (C, HOC=O), 167.2 (C, EtOC=O), 163.4 (C, NC=O), 145.8 (C, C-9b), 137.5 (C_{ipso}, Ph), 134.1 (C, C-9a), 133.8 (CH, C-7), 131.9 (CH, C-8), 129.5 (2CH_{meta}, Ph), 129.1 (C, C-5a), 129.0 (CH_{para}, Ph), 127.4 (CH, C-9), 124.4 (CH, C-6), 124.2 (2CH_{orto}, Ph), 111.8 (C, C-1), 72.3 (C, C-3), 61.3 (CH₂, OCH₂CH₃), 50.1 (CH₂, C-2), 14.2 (CH₃, OCH₂CH₃); FTIR-ATR ν (cm⁻¹): 2937 (OH ácido), 1732 (C=O éster), 1689 (C=O ácido), 1650 (C=C); SM (DART+): *m/z* (%) 364 (100) [M+H]⁺, 318 (15). HRMS (ESI⁺) *m/z* 364.11850 calculada para C₂₁H₁₈NO₅, encontrada 364.11939 [M+H]⁺.

Ácido (RS)-3-fenil-5-oxo-2,5-dihidro-3H-pirrolo[2,1-a]isoindol-1,3-dicarboxílico, [*rac*-7]

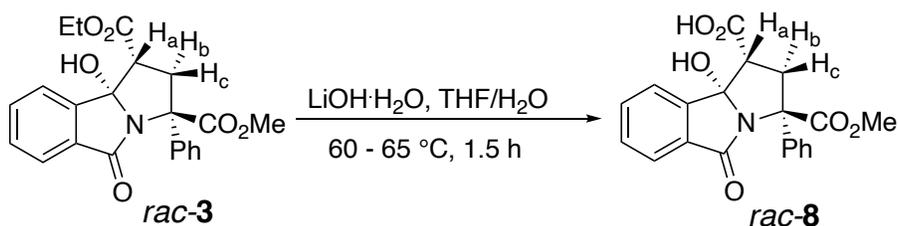


Esquema 22. Hidrólisis de *rac*-4 para la obtención de *rac*-7.

En un matraz de 250 mL equipado con un condensador y provisto de un agitador magnético se añadió compuesto *rac*-**4** (591.8 mg, 1.57 mmol), NaOH (280 mg, 7 mmol), 68 mL de MeOH y 6.7 mL de agua. La mezcla de reacción se dejó bajo agitación constante a 70 °C por

23 h, posteriormente se concentró en rotavapor y se trató con 10 mL de AcOEt y 10 mL de agua. Se acidificó la fase acuosa agregando HCl al 10 % hasta pH 1 aproximadamente, con lo que el compuesto precipitó. Se filtró al vacío y se dejó secando a temperatura ambiente. El producto crudo se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento de 88.4 % (465.2 mg), el cual fue purificado mediante recristalización MeOH:H₂O (5:1) y por CC (Hex-Acetona, 7:3). El compuesto *rac-7* recuperado tiene propiedades electrostáticas y tuvo un p.f. = 205–207 °C; R_f = 0.49 (CH₂Cl₂-MeOH-AcOH, 100:5:0.5); RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 8.62 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, H-9), 7.80 (1H, dt, *J* = 7.2, 1.0 Hz, H-6), 7.73 (1H, td, *J* = 7.6, 1.4 Hz, H-7), 7.67 (1H, td, *J* = 7.5, 1.2 Hz, H-8), 7.54 (2H, dd, *J* = 7.1, 1.6 Hz, H_{orto}-Ph), 7.41–7.29 (3H, m, Ph), 4.09 (1H, d, *J* = 17.9 Hz, protón diastereotópico H-2), 3.67 (1H, d, *J* = 17.9 Hz, protón diastereotópico H-2); RMN ¹³C (101 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 173.3 (C, HO_C=O), 166.8 (C, HO_C=O), 165.6 (C, N_C=O), 149.0 (C, C-9b), 139.8 (C_{ipso}, Ph), 136.9 (C, C-9a), 134.0 (CH, C-7), 132.9 (CH, C-8), 130.7 (C, C-5a), 129.5 (2CH_{meta}, Ph), 129.2 (CH_{para}, Ph), 128.1 (CH, C-9), 127.7 (2CH_{orto}, Ph), 124.5 (CH, C-6), 109.9 (C, C-1), 71.1 (C, C-3), 52.4 (CH₂, C-2); FTIR-ATR ν (cm⁻¹): 2928 (OH ácido), 1712 (C=O ácido), 1622 (C=C); SM (DART⁺): *m/z* (%) 336 (100) [M+H]⁺, 290 (82), 246 (42). HRMS (ESI⁺) *m/z* 336.08720 calculada para C₁₉H₁₄NO₅, encontrada 336.08826 [M+H]⁺.

Ácido (1*R*,3*R*,9*bS*)- y (1*S*,3*S*,9*bR*)-3-fenil-9*b*-hidroxi-3-(metoxicarbonil)-5-oxo-2,3,5,9*b*-tetrahidro-1*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-3-carboxílico, [*rac-8*]

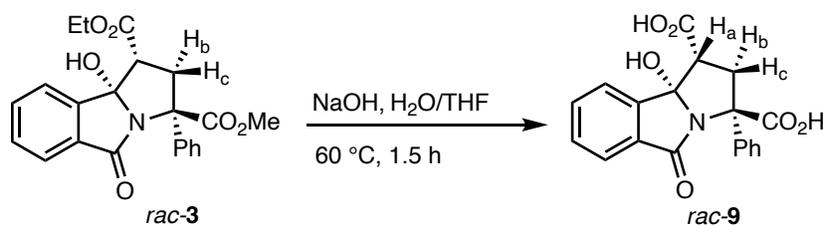


Esquema 23. Hidrólisis parcial de *rac-3* para la obtención de *rac-8*.

En un matraz bola de 50 mL provisto de agitación magnética se disolvieron el compuesto *rac-3* (225.3 mg, 0.57 mmol) y LiOH·H₂O (26.2 mg, 0.62 mmol) y en 12.7 mL de THF y 0.9 mL de H₂O. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación constante a 60–65 °C por 1.5 h. Se retiró del baño y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se evaporó el disolvente y se trató con 10 mL de agua y 10 mL de AcOEt. La fase acuosa fue separada y acidificada con

HCl 10 % hasta pH 1. El producto fue recuperado de la fase acuosa por extracción con AcOEt (3x5 mL). Las fases orgánicas se mezclaron, lavaron con salmuera (10 mL), secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró en rotavapor. El producto crudo se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento de 79.0 % (165.4 mg) el cual fue purificado por CC (CH₂Cl₂-MeOH, 100:5), el sólido de *rac*-**8** recuperado presentó un p.f. = 123–128 °C; R_f = 0.51 (CH₂Cl₂-MeOH-AcOH, 100:5:0.5); RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 8.00 (1H, dt, *J* = 7.5, 1.0 Hz, H-6), 7.73 (1H, dt, *J* = 9.1, 1.2 Hz, H-9), 7.69 (1H, dd, *J* = 7.5, 1.2 Hz, H-7), 7.60 (1H, td, *J* = 7.5, 1.0 Hz, H-8), 7.54–7.47 (2H, m, H_{orto}-Ph), 7.39–7.32 (2H, m, H_{meta}-Ph), 7.32–7.26 (1H, m, H_{para}-Ph), 3.61 (3H, s, OCH₃), 3.46 (1H, dd, *J* = 12.2, 7.1 Hz, H_a-1), 3.36 (1H, t, *J* = 12.5 Hz, protón diastereotópico H_b-2), 3.25 (1H, dd, *J* = 12.9, 7.1 Hz, protón diastereotópico H_c-2); RMN ¹³C (101 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 173.5 (C, HOC=O), 172.3 (C, MeOC=O), 171.2 (C, NC=O), 148.1 (C, C-9a), 142.7 (C, Ph), 134.4 (CH, C-8), 133.0 (C, C-5a), 131.2 (CH, C-7), 128.8 (2CH_{meta}, Ph), 128.4 (CH_{para}, Ph), 128.4 (2CH_{orto}, Ph), 126.0 (CH, C-6), 124.3 (CH, C-9), 97.6 (C, C-9b), 69.6 (C, C-3), 53.3 (CH, C-1), 50.7 (CH₃, OCH₃), 46.1 (CH₂, C-2); FTIR-ATR ν (cm⁻¹): 3399 (OH), 1731 (C=O éster), 1703 (C=O ácido), 1657 (C=O lactama); SM (DART⁺): *m/z* (%) 350 (15) [M+H-H₂O]⁺, 306 (100). HRMS (ESI⁺) *m/z* 350.10285 calculada para C₂₀H₁₆NO₅, encontrada 350.10387 [M+H-H₂O]⁺.

Ácido (1*R*,3*R*,9*bS*)- y (1*S*,3*S*,9*bR*)-3-fenil-9*b*-hidroxi-5-oxo-2,3,5,9*b*-tetrahidro-1*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-3-carboxílico, [*rac*-9**]**

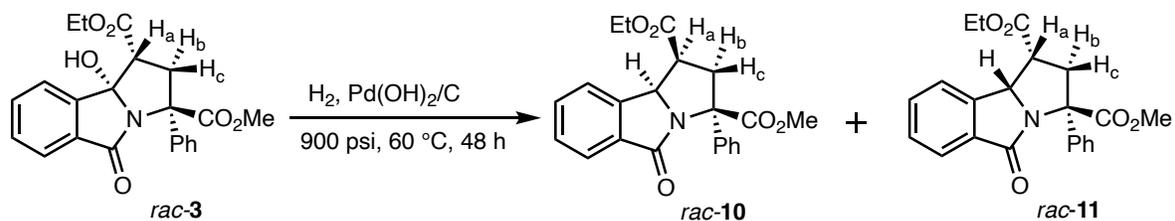


Esquema 24. Hidrólisis de *rac*-**3** para la obtención de *rac*-**9**.

En un matraz bola de 50 mL provisto de agitación magnética y un condensador, se disolvieron el compuesto *rac*-**3** (298.4 mg, 0.75 mmol) y NaOH (158 mg, 3.95 mmol), en 9 mL de MeOH y 1 mL de agua. La mezcla de reacción se calentó en baño de aceite a 60 °C y se mantuvo en agitación constante por 1.5 h. Se retiró del baño y se dejó enfriar a temperatura

ambiente. Se evaporó el disolvente y se trató con 10 mL de agua y 10 mL de AcOEt. Separadas las fases, la fase acuosa se acidificó con HCl 10 % hasta pH 1. El producto fue recuperado por extracción con AcOEt (3x5 mL). Las fases orgánicas se combinaron, lavaron con salmuera (10 mL), secaron con Na₂SO₄ anhidro y se concentró en rotavapor. El producto crudo se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento de 47.2 % (125 mg) el cual fue purificado por CC (CH₂Cl₂-MeOH, 100:5). El compuesto *rac*-9 recuperado tiene propiedades electrostáticas y presenta un p.f. = 165–168 °C; R_f = 0.35 (CH₂Cl₂-MeOH-AcOH, 100:5:0.5); RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm) 7.99 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, H-8), 7.74 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-7), 7.69 (1H, td, *J* = 7.6, 1.2 Hz, H-6), 7.59 (1H, td, *J* = 7.6, 1.1 Hz, H-9), 7.54 (2H, dd, *J* = 7.1, 1.7 Hz, H_{orto}-Ph), 7.34 (2H, dd, *J* = 8.3, 6.5 Hz, H_{meta}-Ph), 7.31–7.24 (1H, m, H_{para}-Ph), 3.48 (1H, dd, *J* = 12.3, 7.0 Hz, H_a-1), 3.41–3.32 (1H, m, protón diastereotópico H_b-2), 3.23 (1H, dd, *J* = 12.9, 7.0 Hz, protón diastereotópico H_c-2); RMN ¹³C (101 MHz, DMSO-D₆) δ (ppm): 172.4 (C, HOC=O), 170.5 (C, HOC=O), 168.5 (C, NC=O), 147.0 (C, C-9a), 142.5 (C_{ipso}, Ph), 133.0 (CH, C-8), 132.2 (C, C-5a), 130.0 (CH, C-7), 127.6 (2CH_{meta}, Ph), 127.5 (2CH_{orto}, Ph), 127.0 (CH_{para}, Ph), 124.8 (CH, C-6), 123.0 (CH, C-9), 95.9 (C, C-9b), 67.9 (C, C-3), 49.4 (CH, C-1), 44.6 (CH₂, C-2); FTIR-ATR ν (cm⁻¹): 1736 (C=O ácido), 1656 (C=O lactama); SM (DART⁺): *m/z* (%) 292 (100) [M+H-CO₂-H₂O]⁺, 246 (36). HRMS (ESI⁺) *m/z* 292.09737 calculada para C₁₈H₁₄NO₃, encontrada 292.09694 [M+H-CO₂-H₂O]⁺.

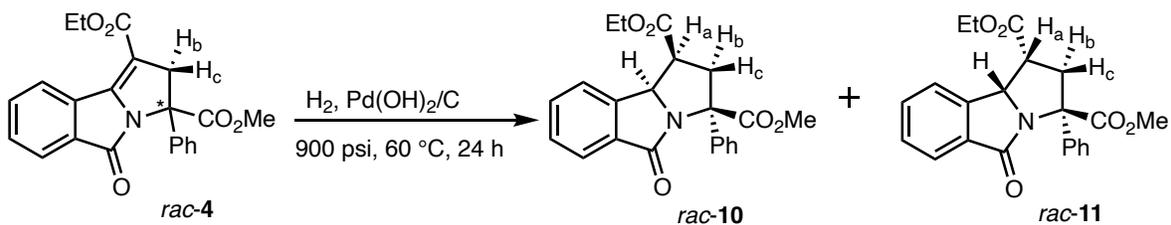
(1*R*,3*S*,9*bS*)- y (1*S*,3*R*,9*bR*)-3-Fenil-5-oxo-2,3,5,9*b*-tetrahidro-1*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-1,3-dicarboxilato de 1-etilo 3-metilo, *rac*-10 y (1*R*,3*R*,9*bS*)- y (1*S*,3*S*,9*bR*)-3-Fenil-5-oxo-2,3,5,9*b*-tetrahidro-1*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-1,3-dicarboxilato de 1-etilo 3-metilo, [*rac*-10 y *rac*-11]



Esquema 25. Hidrogenación de *rac*-3 para la obtención de *rac*-10 y *rac*-11.

Método A. En un reactor Parr modelo 4838 provisto de agitación magnética se adiciona una disolución del compuesto *rac*-3 (506.7 mg, 1.28 mmol) y catalizador Pd(OH)₂/C (30 mg) en 50 mL de MeOH, el reactor se llenó con hidrógeno hasta alcanzar 900 psi y se purgó el

reactor tres veces a la misma presión para eliminar el aire contenido en el reactor, posteriormente se calentó a 60 °C y permaneció en agitación continua durante 48 h. Se filtró el catalizador y la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida hasta eliminar el disolvente, en esta mezcla se obtuvo un producto mayoritario el cual fue recuperado por CC (Hex-AcOEt, 85:15) con un rendimiento de 64.8 % (314.6 mg) como un sólido blanco con un p.f. = 150–153 °C; $R_f = 0.16$ (Hex-AcOEt, 85:15, con 5 corridas); RMN ^1H (301 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.72 (1H, dt, $J = 7.1, 1.1$ Hz, H-9), 7.53–7.46 (3H, m, H-Phth), 7.45 (1H, dd, $J = 7.8, 1.1$ Hz, $\text{H}_{para}\text{-Ph}$), 7.42–7.37 (2H, m, $\text{H}_{meta}\text{-Ph}$), 7.35 (2H, dd, $J = 5.6, 1.2$ Hz, $\text{H}_{orto}\text{-Ph}$), 5.22–5.14 (1H, m, H-9b), 3.88 (3H, s, OCH_3), 3.86–3.75 (2H, m, OCH_2CH_3), 3.59–3.47 (2H, m, protones diastereotópicos H-2), 3.27–3.15 (1H, m, H-1), 0.93 (3H, td, $J = 7.1, 1.2$ Hz, OCH_2CH_3); RMN ^{13}C (76 MHz, DMSO-D_6) δ (ppm): δ 173.3 (C, $\text{MeOC}=\text{O}$), 171.3 (C, $\text{EtOC}=\text{O}$), 165.0 (C, $\text{NC}=\text{O}$), 140.7 (C_{ipso} , Ph), 135.6 (C, C-9a), 135.3 (C, C-5a), 131.4 (CH, C-8), 128.7 (CH_{para} , Ph), 128.3 (CH, C-6), 128.1 (2CH_{meta} , Ph), 127.7 (2CH_{orto} , Ph), 124.2 (CH, C-9), 122.9 (CH, C-7), 70.9 (C, C-3), 66.1 (CH, C-9b), 60.9 (CH_2 , OCH_2CH_3), 53.3 (CH_3 , OCH_3), 46.4 (CH, C-1), 43.2 (CH_2 , C-2), 13.7 (CH_3 , OCH_2CH_3). FTIR-ATR ν (cm^{-1}): 1724 (C=O éster), 1701 (C=O lactama); SM (DART+): m/z (%) 380 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 355 (20); m/z 380 calculada para $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{NO}_5$, encontrada 380 $[\text{M}+\text{H}]^+$.



Esquema 26. Hidrogenación de *rac-4* para la obtención de *rac-10* y *rac-11*.

Método B. En un reactor Parr modelo 4838 provisto de agitación magnética se adiciona una disolución del compuesto *rac-4* (417.5 mg, 1.11 mmol) y catalizador $\text{Pd(OH)}_2/\text{C}$ (50 mg) en 50 mL de MeOH, el reactor se llenó con hidrógeno hasta alcanzar 1000 psi y se purgó el reactor tres veces para desplazar el aire contenido en el reactor, posteriormente se calentó a 60 °C y se dejó con agitación continua durante 24 h. Al término de la reacción, se filtró el catalizador al vacío y la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida hasta eliminar el disolvente, en esta mezcla se obtuvo un producto mayoritario el cual fue recuperado por CC (Hex-AcOEt, 85:15). El compuesto se obtuvo como un semisólido transparente con un

rendimiento de 85.6 % (360.0 mg). Las propiedades físicas y datos espectroscópicos corresponden al compuesto obtenido por el método A.

Parte Computacional. Docking

Los ligandos fueron creados y optimizados con el software Avogadro, considerando su protonación bajo pH fisiológico (pH 7.4), el análisis conformacional se realizó bajo el campo de fuerza MMFF94 en el mismo software. Los enlaces rotacionales, grados de libertad de torsión, las cargas atómicas parciales y los hidrógenos no polares fueron asignados con AutoDock 1.5.6 tools. Estas estructuras fueron guardadas en el formato PDBQT.

Las estructuras cristalinas de las enzimas fueron descargadas de *Protein Data Bank*. Se utilizó como objetivo la cadena A de la acetilcolinesterasa de *Electrophorus electricus* (código del banco de datos de proteínas:1C2O) por Bourne, Y y Marchot, P (1999) y butirilcolinesterasa humana en complejo con huprine 19 (código del banco de datos de proteínas:6EQQ) por Nachon, F et al. (2017). Estas estructuras fueron acondicionadas para el acoplamiento molecular, para lo cual se removieron las moléculas de agua cristalográficas, contraiones y ligandos presentes en ellas con el programa Chimera 1.15. Las condiciones de acoplamiento se programaron con AutoDock 1.5.6 tools, usando un algoritmo genético híbrido Lamarckiano (Morris et al. 1998). Se le asignaron cargas parciales de Kollmann a las proteínas. Posteriormente se establecieron los parámetros del mapa atómico (grid) para cada proteína: usando una malla cubica de 60x60x60 Å con las coordenadas X= 42.095, Y=66.809 y Z=-81.47 y una separación de malla de 0.375 Å [46] para la AChE y una malla cubica de 64x64x64 Å con las coordenadas X= -40.166, Y=17.432 y Z=-24.775 y una separación de malla de 0.375 Å para la BuChE.

Para los estudios de acoplamiento se definieron los parámetros del algoritmo genético: 100 corridas, con un tamaño de población de 100, 10,000,000 como número máximo de evaluaciones y 100 conformaciones para seleccionar las 100 mejores. Finalmente, el cálculo se realizó en Linux Fedora 22 como sistema operativo y AutoDock4.

Se obtuvo el estado de energía más bajo, expresado como la energía libre de Gibbs (ΔG), la constante de disociación (K_d) y el logaritmo negativo de la constante de disociación (pK_d) en

AutoDock Tools 1.5.6 y las interacciones, la distancia y el tipo de enlace utilizando BIOVIA Discovery Studio 2020.

La validación de este análisis se realizó con la comparación de los resultados con otros de inhibidores ya conocidos de las colinesterasas (donepezilo, galantamina, rivastigmina y tacrina), aunque, también se compararon con los inhibidores de la Tabla 2 (fenserina, itoprida y mimopezil) para analizar el potencial que tienen las moléculas sintetizadas ante las moléculas que ya han sido descritas y probadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de este trabajo se presentan a continuación en dos partes, en la primera parte se discuten los métodos de síntesis de los compuestos objetivo, así como su caracterización mediante técnicas espectroscópicas en el infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear (RMN ^1H y de ^{13}C) y por espectrometría de masas, cuyos espectros se encuentran en los Anexos; mientras que en la segunda parte se explicarán los resultados obtenidos del docking molecular.

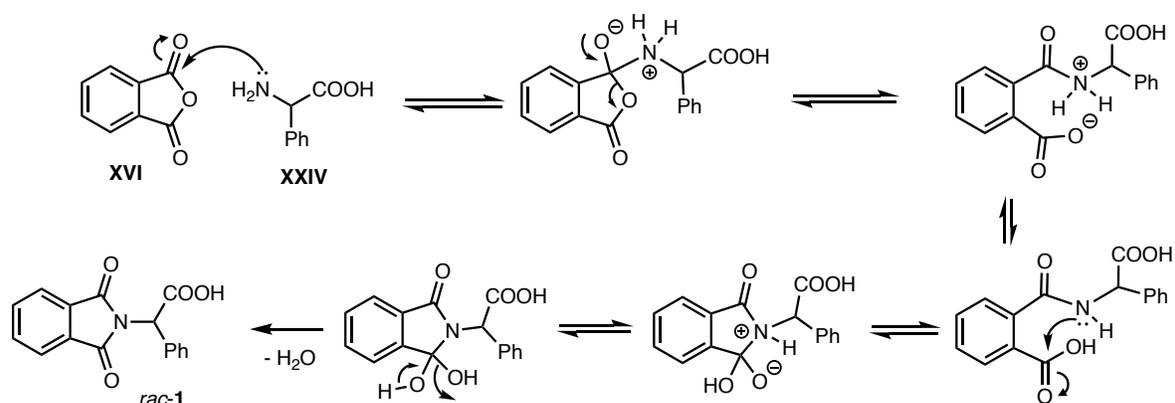
Parte Química Sintética

Síntesis de intermediarios

Los compuestos *rac-1* y *rac-2* funcionan como intermediarios para la síntesis de pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas, estos ya se encuentran reportados en la literatura y fueron sintetizados a partir de la metodología descrita en ella. ^[32, 48]

La primera reacción consistió en una reacción de condensación entre anhídrido ftálico y D-(-)- α -fenilglicina en una reacción libre de disolvente donde se obtuvo el compuesto *rac-1* (Esquema 15. Reacción de condensación para la obtención de *rac-1*. Esquema 15), con un rendimiento del 96.0 %, y una temperatura de fusión de 170–171 °C (lit. ^[48] 170.5–171.5 °C).

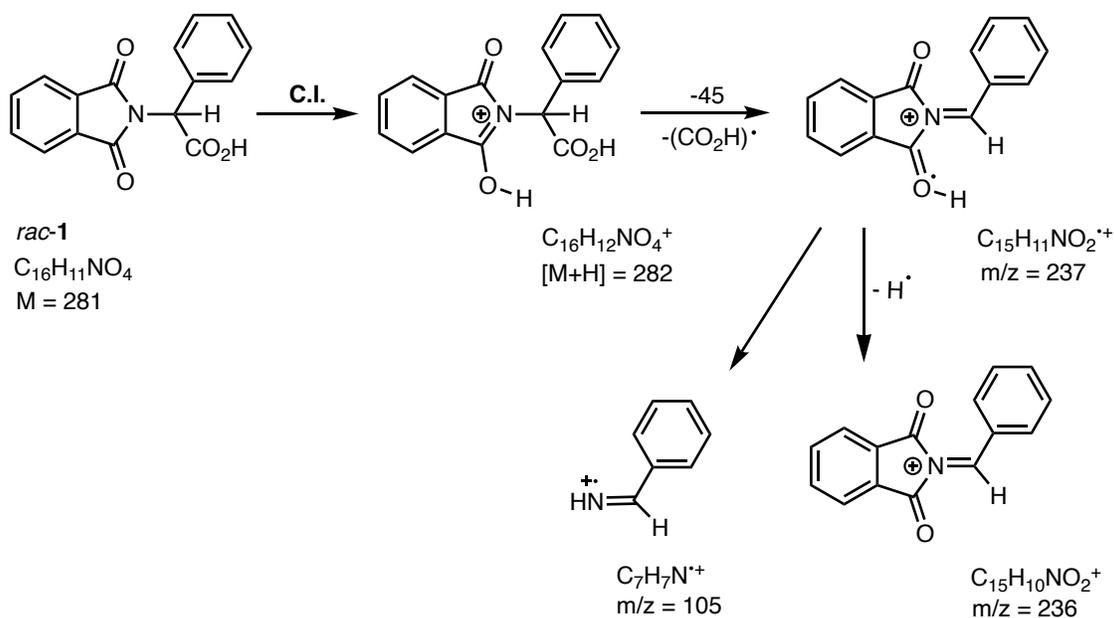
Ambos compuestos fueron mezclados y calentados a una temperatura por arriba de su punto de fusión (165–180 °C). En el Esquema 27, se muestra el mecanismo propuesto. La reacción consiste en dos etapas, la primera es un ataque nucleofílico del grupo amino presente en el aminoácido (XXIV) sobre uno de los carbonilos del anhídrido ftálico (XVI), y la segunda y más lenta consiste en la condensación entre el nitrógeno de la amida y el ácido carboxílico mediante una ciclación intramolecular, con la pérdida de agua.



Esquema 27. Mecanismo de reacción. Condensación entre anhídrido ftálico y D-(-)-α-fenilglicina (*rac-1*).

Esta reacción es ampliamente utilizada debido a que es amigable con el ambiente y a su eficiencia para la *N*-protección de aminoácidos con anhídrido ftálico **XVI** para generar ftalimidias *N*-sustituidas generalmente con buenos rendimientos y sin racemización de los productos. Este es un procedimiento simple y corto para la ftaloilación de aminoácidos, incluidos los aminoácidos funcionalizados y con impedimentos estéricos, además de ser apropiado para preparaciones a gran escala. [32, 49, 50] Particularmente, debido a la acidez incrementada del H-alfa en el aminoácido por la presencia del fenilo, bajo las condiciones de reacción empleadas el compuesto *rac-1* se obtiene en su forma racémica. La racemización de este compuesto ya ha sido descrita y fundamentada en la literatura. [48]

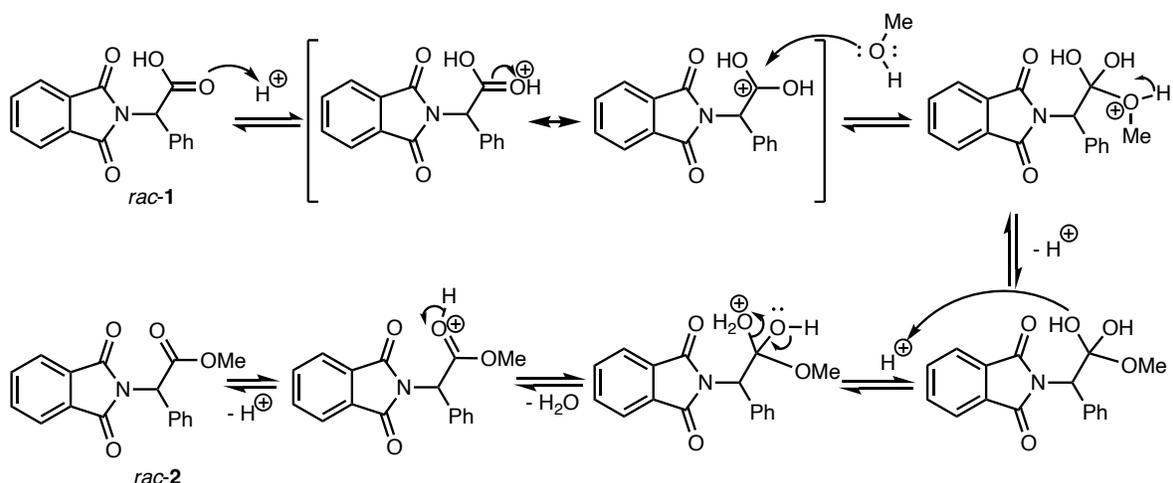
La masa exacta para *rac-1* es de 282.07663 calculada para C₁₆H₁₂NO₄ y encontrada de 282.07685 que corresponde al ion [M+H]⁺; mientras que en el espectro de masas de baja resolución (DART+) se observa el fragmento masa/carga (*m/z*) 282 (32) que corresponde al ion [M+H]⁺ y tres fragmentos más (*m/z*) 237 (18), 236 (100) y 105 (15), con lo cual se complementa la caracterización del compuesto. El patrón de fragmentación propuesto para el compuesto *rac-1* se muestra en el Esquema 28.



Esquema 28. Patrón de fragmentación propuesto para el compuesto *rac-1*.

Para la obtención del compuesto *rac-2* se emplearon dos metodologías diferentes ambas con buenos resultados. Al respecto en la literatura, se encuentran descritas varias metodologías de síntesis de ésteres metílicos, en el presente trabajo se emplearon dos de las más comunes. El método A, consiste en una esterificación de Fischer del compuesto *rac-1*, en la que se empleó un exceso de metanol en presencia de ácido sulfúrico como catalizador para obtener el éster metílico, *rac-2* (Esquema 16 Esquema 16. Reacción de esterificación para la obtención de *rac-2*. Método A.) con un rendimiento del 85.8 %, con un intervalo de fusión de 94–95 °C (lit. [48] 99.6–100.5 °C).

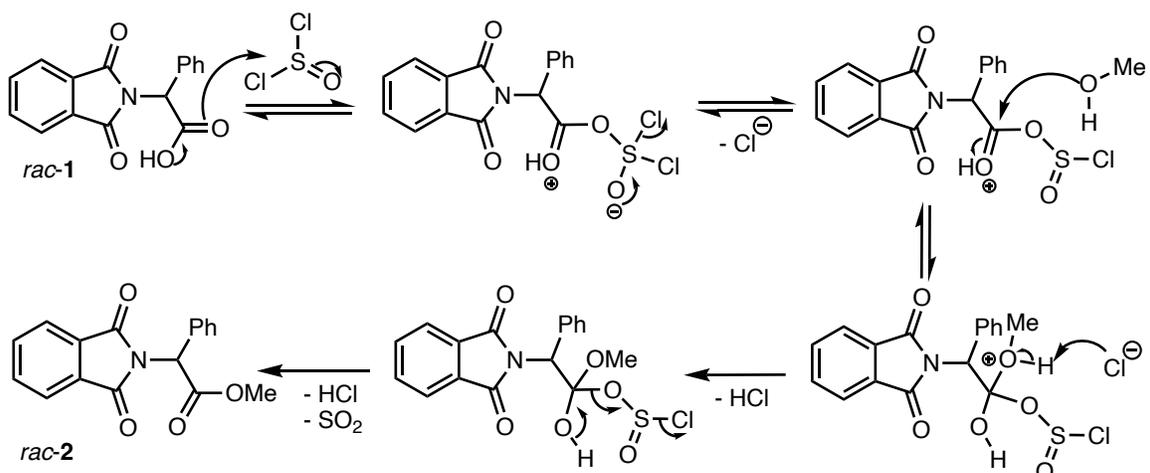
Esta reacción es ampliamente utilizada para obtener ésteres a partir de un ácido carboxílico. En la reacción, el ácido tiene la función de catalizar al protonar el oxígeno del grupo carboxilo, haciéndolo susceptible para el ataque nucleofílico por parte del oxígeno presente en el metanol, eliminando agua posteriormente y dando como resultado el éster metílico correspondiente (Esquema 29. Mecanismo de reacción. Esterificación de Fischer para la obtención del compuesto *rac-2*. Esquema 29). [22]



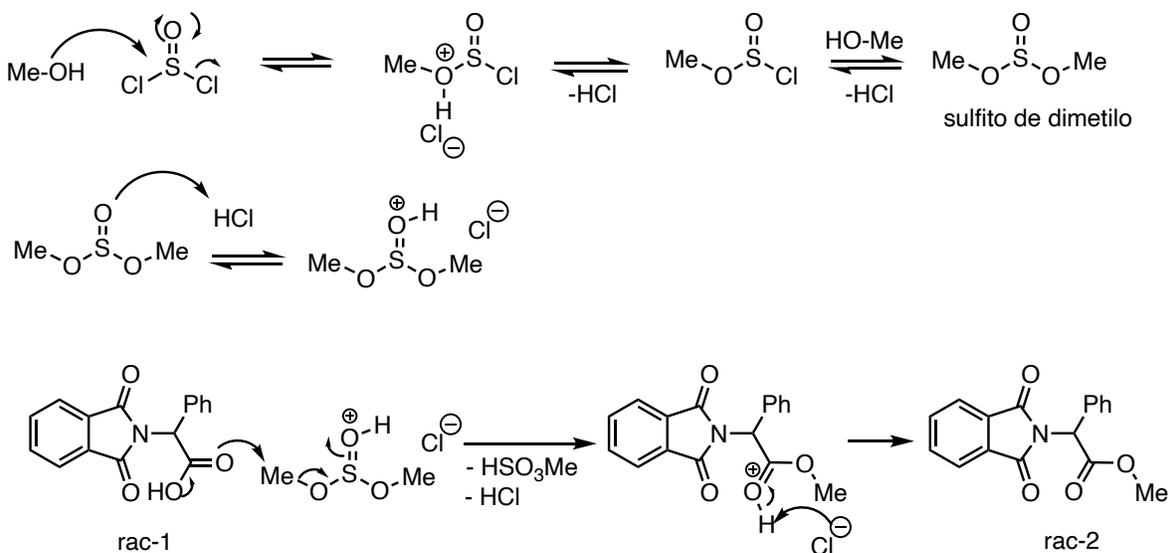
Esquema 29. Mecanismo de reacción. Esterificación de Fischer para la obtención del compuesto *rac-2*.

El método B, descrito por Brenner ^[51] que consiste en la reacción de un ácido carboxílico y un alcohol, catalizado por $SOCl_2$ para la obtención de un éster metílico del ácido correspondiente. De esta manera, a partir del compuesto *rac-1* mediante el tratamiento con $MeOH$ en presencia de $SOCl_2$, se obtuvo el éster metílico *rac-2* (Esquema 17) con un rendimiento del 89.7 %, con un intervalo de fusión de 94–96 °C (lit. ^[48] 99.6–100.5 °C). Para este proceso no se encuentra bien descrito el mecanismo de reacción, generalmente lo describen como un proceso en dos etapas, en donde se obtiene como un intermediario el cloruro de ácido y posteriormente mediante una sustitución nucleofílica del cloruro por el alcohol da lugar al éster correspondiente. Sin embargo, con el análisis de los componentes y condiciones de reacción se proponen dos mecanismos posibles en el Esquema 30. En el mecanismo a) es similar al propuesto para la formación de cloros de ácido por reacción entre un ácido carboxílico y $SOCl_2$, ^[52, 53] sin embargo, la presencia de un disolvente nucleofílico como los alcoholes y en nuestro caso particular el $MeOH$, éste compite con el cloruro dando lugar al éster metílico sin haberse formado el cloruro de ácido. La posibilidad de que el sulfito de dimetilo sea el agente esterificante no puede descartarse, como lo propone Hosagadi ^[54] en el mecanismo b).

Mecanismo a)



Mecanismo b)



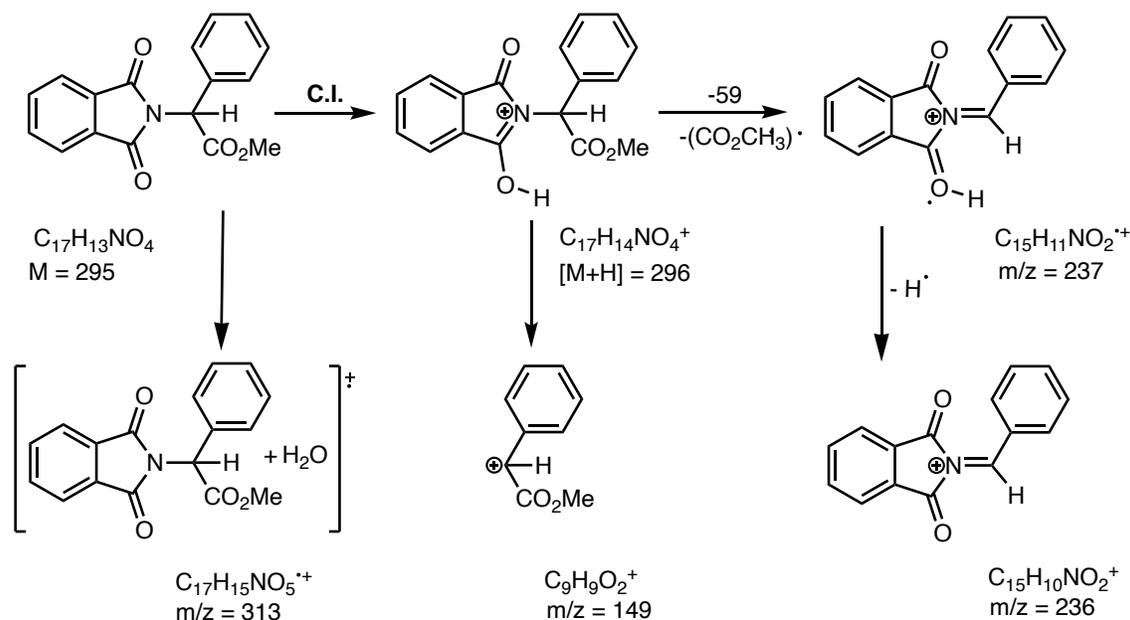
Esquema 30. Mecanismos de reacción propuestos para la esterificación con SOCl_2 .

El compuesto *rac-2* es un compuesto conocido y los datos espectroscópicos de RMN ^1H y ^{13}C corresponden con los descritos en un trabajo anterior. [48]

En el espectro en el infrarrojo (FTIR-ATR) de *rac-2*, se observan las bandas en 1735 cm^{-1} correspondiente al $\text{C}=\text{O}$ del éster, 1713 cm^{-1} correspondiente al $\text{C}=\text{O}$ de la imida, entre otras.

La masa exacta para *rac-2* es de 296.09228 calculada para $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{NO}_4$ y encontrada de 296.09183 que corresponde al ion $[\text{M}+\text{H}]^+$; mientras que en el espectro de masas de baja

resolución (DART+) se observa el fragmento de masa/carga (m/z) 296 (85) que corresponde al ion $[M+H]^+$ y cuatro fragmentos más (m/z) 313 (16) $[M+H_2O]^+$, 237 (18), 236 (100), 149 (24). El patrón de fragmentación propuesto para el compuesto *rac-2* se muestra en el Esquema 31.



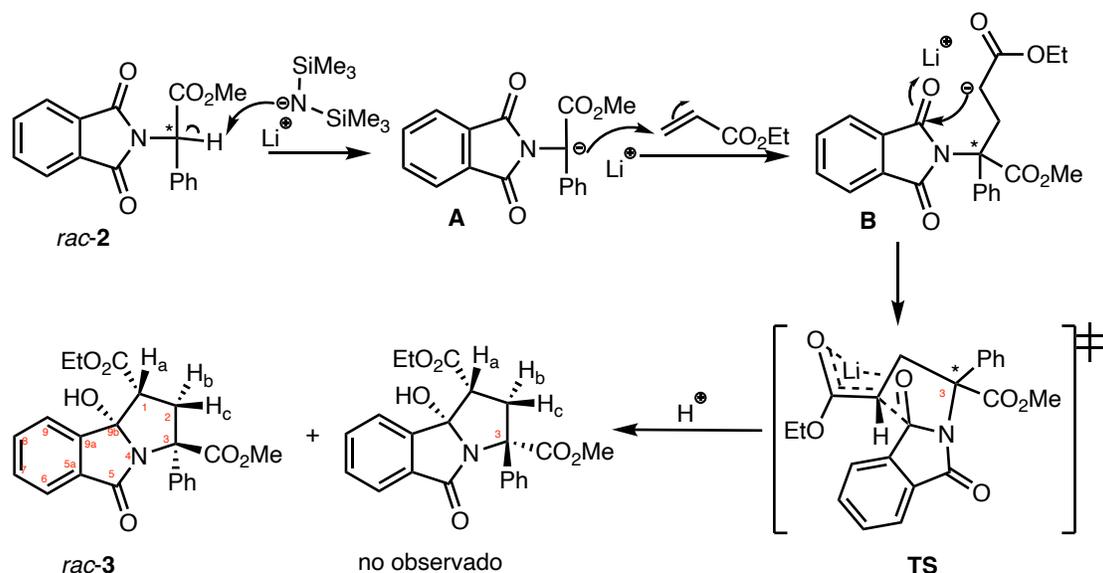
Esquema 31. Patrón de fragmentación propuesto para el compuesto *rac-2*.

Síntesis de pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas y sus derivados

El compuesto *rac-3* se obtuvo con un rendimiento 97.6 % y un p.f. de 163–165 °C (lit. [48] 164–166 °C), mediante una reacción dominó que consiste en una adición tipo Michael seguida de una ciclación intramolecular del compuesto *rac-2* con acrilato de etilo (Esquema 18).

Esta reacción procede al utilizar una base fuerte, voluminosa y no nucleofílica como lo es la LHMDS en un disolvente aprótico como THF, a una temperatura de -78 °C para sustraer el protón en posición alfa al grupo carbonilo del compuesto *rac-2* formando así el carbanión intermediario **A**, el cual en presencia de un compuesto α,β -insaturado como acrilato de etilo da lugar a una adición 1,4 sobre el sistema conjugado generando un segundo intermediario aniónico **B**, el cual en presencia de grupos susceptibles dentro de la misma molécula produce una reacción en secuencia al actuar como nucleófilo para generar una ciclación intramolecular en este caso al realizar una adición 1,5 sobre uno de los grupos carbonilos

presente en el núcleo de ftalimida para formar un nuevo anillo altamente funcionalizado, dando como resultado el compuesto *rac-3* (Esquema 32). [22, 54]



Esquema 32. Mecanismo de reacción. Adición de Michael-adición nucleofílica intramolecular para la obtención de *rac-3*.

Durante esta reacción varios factores tienen importancia, entre ellos es el orden de adición de los reactivos, la temperatura de reacción y la velocidad de adición de la base. Una adición lenta favorece la formación del carbanión **A** mientras que una adición rápida favorece la descomposición de este y en cuanto a la temperatura, entre más baja sea ésta da lugar a una mayor diastereoselectividad. [22] Por ello aun cuando durante esta reacción se formaron dos centros estereogénicos más, solo pueden verse dos pares de enantiómeros, el par de enantiómeros menos polar con $R_f = 0.21$ (Hex-AcOEt, 7:3) fue el más abundante y separado mediante CC, caracterizado como el compuesto *rac-3*. El par de enantiómeros más polar fue el menos abundante y no pudo ser recuperado en cantidad suficiente para ser caracterizado.

La temperatura de fusión y los datos espectroscópicos de RMN ¹H y del compuesto mayoritario *rac-3*, corresponden con los reportados previamente. La configuración relativa de *rac-3*, fue establecida mediante RMN ¹H y análisis de difracción de rayos X. [48] En particular, el espectro de RMN de ¹H de *rac-3* muestra un doblete de dobletes a 3.26 ppm con constantes de acoplamiento geminales y vecinales de $^2J = 13.0$ Hz y $^3J = 7.2$ Hz, respectivamente, que se asignó a H_c-2, un triplete a 3.40 ppm con $^3J = 12.7$ Hz que se asignó

a H_b-2, y un doblete de dobletes a 3.58 ppm con $^3J = 7.2$ Hz y $^3J = 12.4$ Hz que se asignó a Ha-1 (Ilustración 16).

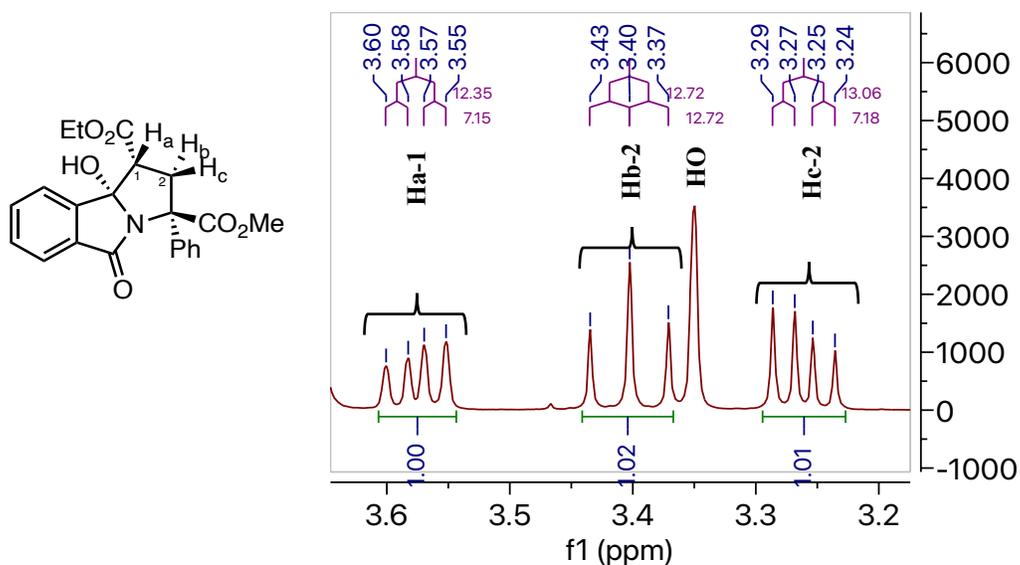
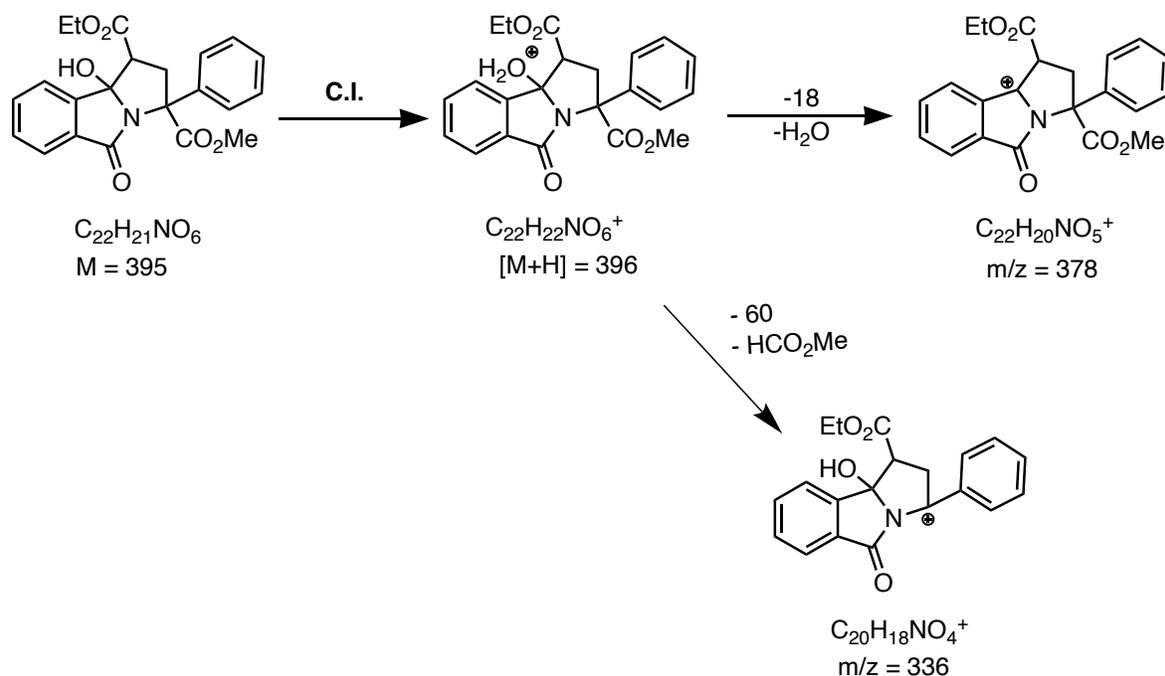


Ilustración 16. RMN ¹H de *rac*-**3**, región de los alifáticos, señales correspondientes a los hidrógenos de C-1 y C-2.

En el espectro en el infrarrojo (FTIR-ATR) de *rac*-**3**, se observan las bandas en 3439 cm⁻¹ (OH), 1744 cm⁻¹ correspondiente al C=O de los ésteres, 1704 cm⁻¹ correspondiente al C=O de la lactama, entre otras.

La masa exacta para *rac*-**3** es de 396.14471 calculada para C₂₂H₂₂NO₆ y encontrada de 396.14443 que corresponde al ion [M+H]⁺; el espectro de masas de baja resolución (DART+) presenta los fragmentos de masa/carga (*m/z*) 396 (28) [M+1]⁺, 378 (100), 336 (14). El patrón de fragmentación propuesto para el compuesto *rac*-**3** se muestra en el Esquema 33.

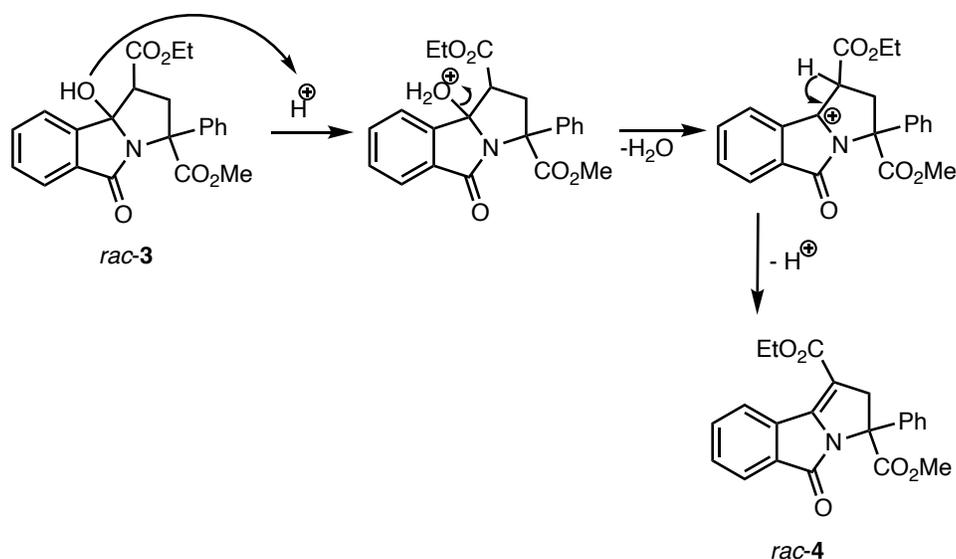


Esquema 33. Patrón de fragmentación propuesto para el compuesto *rac-3*.

Con la configuración relativa establecida para *rac-3*, la modificación estructural de las pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas obtenidas mediante condiciones estándar de hidrólisis, deshidratación, entre otras, dieron lugar a los compuestos *rac-4* a *rac-9* sin problemas para la asignación de la configuración relativa.

Así, la obtención del compuesto *rac-4* se realizó mediante una reacción de eliminación (deshidratación) del compuesto *rac-3* por catálisis ácida (Esquema 19), con un rendimiento del 60.4 % y p.f. de 90-92 °C.

El mecanismo de reacción consiste en la protonación del grupo hidroxilo para convertirlo en un buen grupo saliente. La eliminación de agua en el alcohol protonado genera un carbocatión muy estable, y que después de eliminar un protón del carbono vecino, da lugar al doble enlace en el compuesto *rac-4* (Esquema 34).



Esquema 34. Mecanismo de reacción. Reacción de eliminación (deshidratación).

El compuesto obtenido empleando este proceso presenta una fluorescencia azul intenso en CCF empleando como revelador radiación UV a 254 nm, revela intensamente con vapores de yodo y además presentan una mancha amarillo pálido al contacto con solución alcalina de KMnO_4 provocada por la oxidación del doble enlace.

La eliminación de H_a -1 con el OH en C-9 en el compuesto *rac-3*, da lugar a señales dobles para los hidrógenos geminales H_b -2 y H_c -2, ambos unidos al C-2, claramente reconocibles en el espectro de RMN ^1H del compuesto *rac-4* y la Ilustración 17. Los hidrógenos H_b y H_c son diastereotópicos, se diferencian y se acoplan entre ellos, uno de estos hidrógenos aparece como una señal doble con un desplazamiento químico de 4.15 ppm y el otro con una señal doble en 3.74 ppm, ambas con una constante de acoplamiento a dos enlaces, $^2J = 17.8$ Hz.

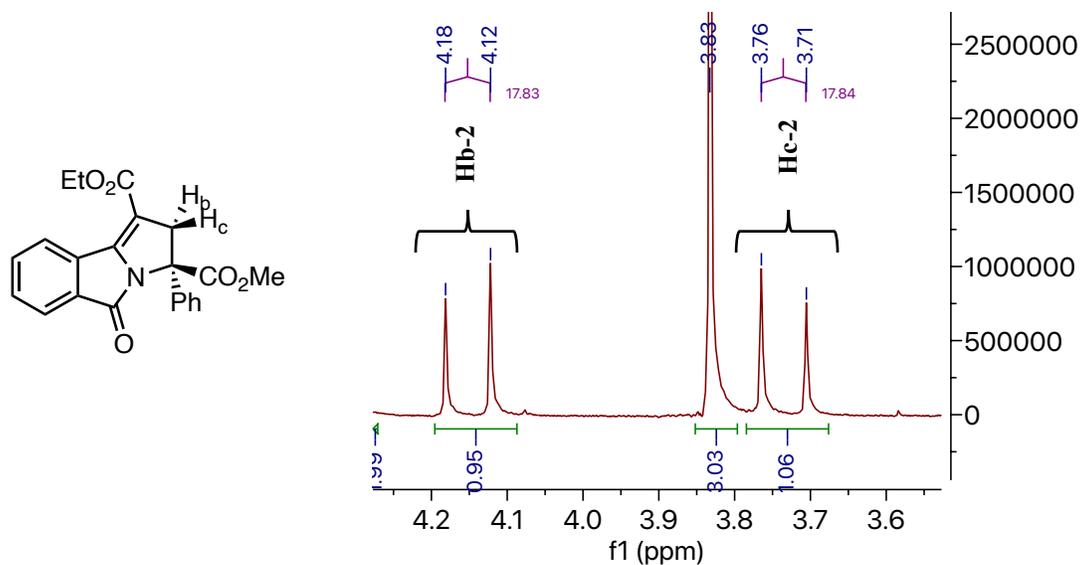


Ilustración 17. RMN ^1H de *rac*-4, región de los alifáticos, señales correspondientes a los hidrógenos diastereotópicos del C-2.

Mientras que en el espectro de RMN ^{13}C para el compuesto *rac*-4, se observan las señales en 148.5 ppm, correspondiente a un carbono cuaternario asignado a C-9b, y en 107 ppm para un carbono cuaternario que corresponde a C-1. Sin embargo, es necesario señalar que en el espectro de RMN ^{13}C adquirido a una frecuencia 76 MHz, se observan varias señales anchas adicionales debido seguramente a un fenómeno dinámico que se presenta a causa de la rotación restringida de enlaces y la presencia de más de una conformación en equilibrio (Ilustración 18a). Con un experimento en la resonancia, la obtención del espectro en un equipo de mayor frecuencia (101 MHz), las señales se definieron logrando así la asignación de los desplazamientos químicos de los carbonos en la región de los aromáticos (Ilustración 18b).

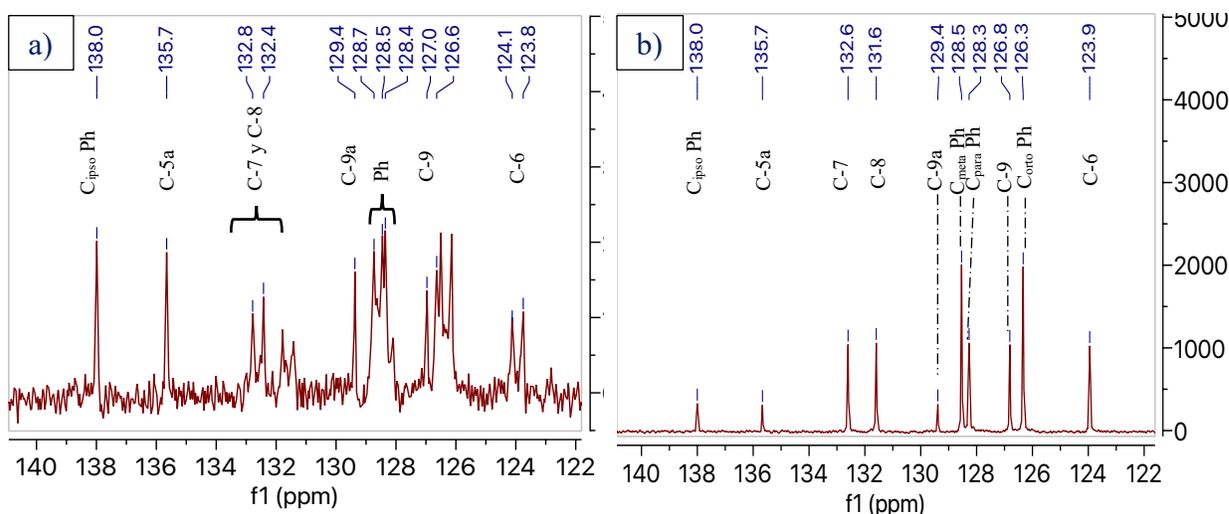
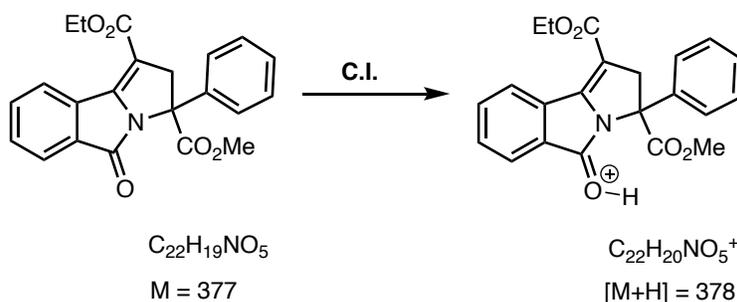


Ilustración 18. a) RMN ^{13}C (76 MHz, CDCl_3) de *rac-4*, región de los aromáticos con señales anchas debido al fenómeno dinámico. b) RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) de *rac-4*.

En el espectro en el infrarrojo (FTIR-ATR) de *rac-4*, se observa la banda característica del doble enlace C=C en 1656 cm^{-1} , entre otras.

La masa exacta para *rac-4* es de 378.13415 calculada para $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{NO}_5$ y encontrada de 378.13409 que corresponde al ion $[\text{M}+\text{H}]^+$; el espectro de masas de baja resolución (DART+) presenta únicamente el fragmento de masa/carga (m/z) 378 (100) $[\text{M}+1]^+$. El compuesto *rac-4* no se fragmenta bajo las condiciones de análisis (Esquema 35).

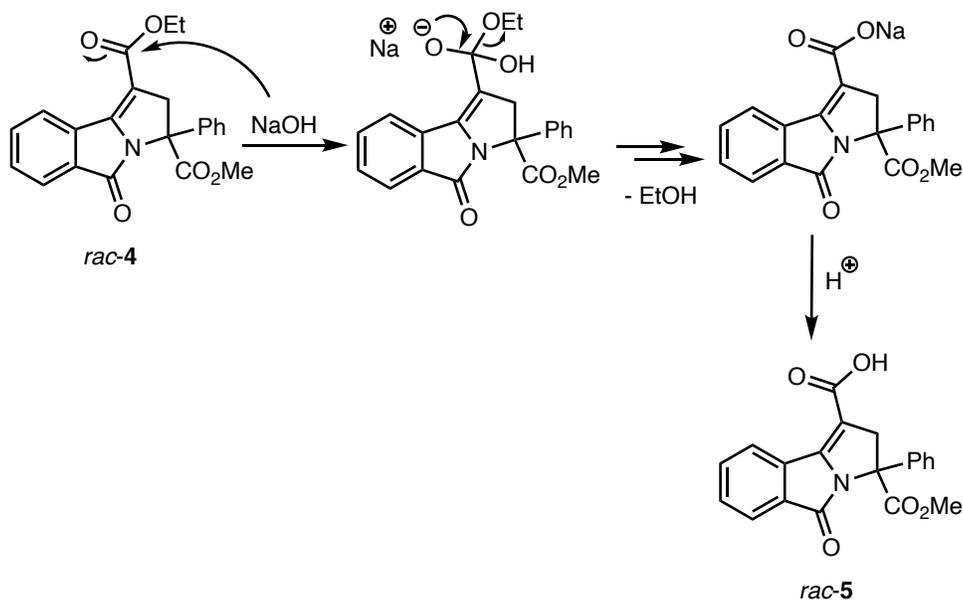


Esquema 35. Fragmento de masa $[\text{M}+\text{H}]^+$ del compuesto *rac-4*.

El compuesto *rac-5* se obtuvo con un rendimiento del 81.0 % y un p.f. de $184\text{--}188\text{ }^\circ\text{C}$, mediante una hidrólisis de *rac-4* catalizada con NaOH. De los dos grupos éster presentes en el compuesto *rac-4*, el éster etílico se hidroliza de manera regioselectiva, debido a un efecto estérico del éster metílico que se encuentra más impedido.

Las hidrólisis de ésteres ocurren a través de un mecanismo típico de sustitución nucleofílica en el grupo acilo en el que el ion hidróxido es el nucleófilo que se adiciona al grupo carbonilo del éster para dar un intermediario tetraédrico. La pérdida del ion alcóxido da un ácido carboxílico, el cual se puede desprotonar para generar el ion carboxilato por las condiciones básicas del medio de reacción empleado. La adición de HCl acuoso después del término de la reacción protona el ion carboxilato y da lugar al ácido carboxílico. [55]

El mecanismo propuesto para dicha reacción se ilustra en el Esquema 36.



Esquema 36. Mecanismo de reacción de la hidrólisis del éster etílico.

Para que el éster etílico sea el único en hidrolizarse durante esta reacción la proporción de los reactivos deben estar en proporción 1:1 ya que de haber un exceso en la base se forma el compuesto *rac-7* (diácido).

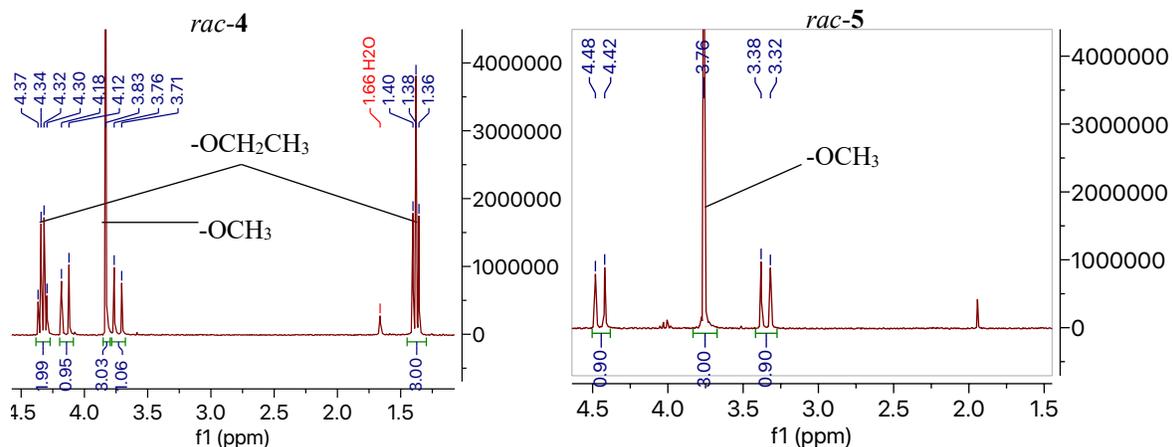
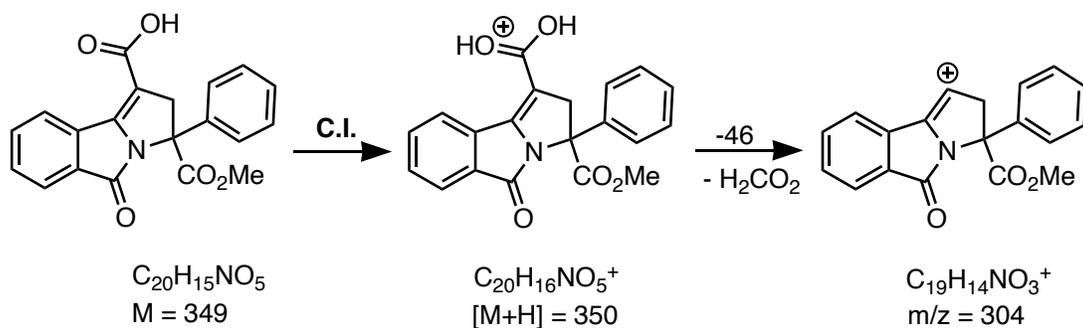


Ilustración 19. Comparación de los espectros de RMN de los compuestos *rac-4* y *rac-5*, señales correspondientes a los ésteres.

Tanto en el espectro de RMN ^1H así como el de RMN ^{13}C para el compuesto *rac-5*, se observa el mismo conjunto de señales que presenta *rac-4*. La diferencia principal es la ausencia de las señales correspondientes al fragmento $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ del éster etílico en los espectros de *rac-5* (Ilustración 19). De igual forma que para *rac-4*, el espectro de RMN ^{13}C del compuesto *rac-5* adquirido a la frecuencia de 76 MHz, también se observan varias señales anchas adicionales debido seguramente a un fenómeno dinámico que se presenta a causa de la rotación restringida de enlaces y la presencia de más de una conformación en equilibrio. Obtención el espectro en un equipo de mayor frecuencia (101 MHz), las señales se definieron logrando así la asignación de los desplazamientos químicos de los carbonos en la región de los aromáticos

En el espectro en el infrarrojo (FTIR-ATR) de *rac-5*, se observan las bandas en 2955 cm^{-1} (OH), 1730 cm^{-1} correspondiente al $\text{C}=\text{O}$ del éster, 1692 cm^{-1} correspondiente al $\text{C}=\text{O}$ del ácido, entre otras.

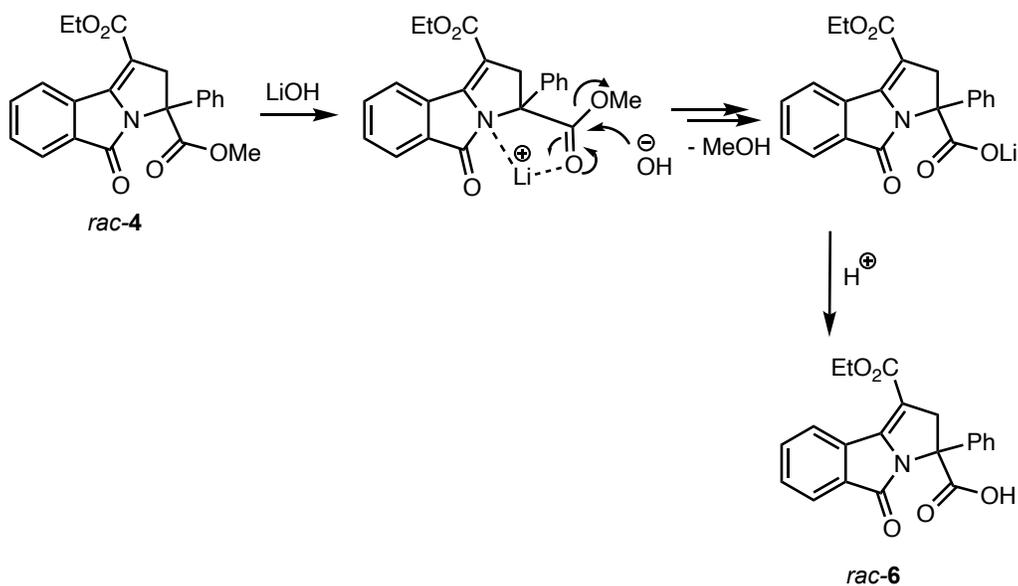
La masa exacta para *rac-5* es de 350.10285 calculada para $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{NO}_5$ y encontrada de 350.10408 que corresponde al ion $[\text{M}+\text{H}]^+$; el espectro de masas de baja resolución (DART+) presenta los fragmentos de masa/carga (m/z) 350 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 304 (32). El patrón de fragmentación propuesto para el compuesto *rac-5* se muestra en el Esquema 37.



Esquema 37. Patrón de fragmentación del compuesto *rac-5*.

El compuesto *rac-6* se obtuvo con un rendimiento 54.7 % y un intervalo de fusión de 194–196 °C, mediante una hidrólisis selectiva del éster metílico, utilizando LiOH a temperatura de reflujo (Esquema 21).

Realizando una búsqueda en la literatura, ^[56] se encontró que se puede llevar a cabo la hidrólisis sólo del éster metílico en presencia de un éster etílico, en la misma molécula de pirrolidina, utilizando LiOH. Esta hidrólisis selectiva puede ser explicada por la formación de un intermediario de coordinación entre un átomo de litio, el átomo de nitrógeno del anillo y el átomo de oxígeno del grupo carboxilo para favorecer el ataque nucleofílico por parte del ion hidroxilo, desplazando al ion alcóxido, tal como se muestra en el Esquema 38. El producto queda desprotonado debido a las condiciones de la reacción y vuelve a protonarse al tratarse con HCl. ^[53]



Esquema 38. Mecanismo de reacción de la hidrólisis selectiva del éster metílico, para la obtención de *rac-6*.

Tanto en el espectro de RMN ^1H , así como el de RMN ^{13}C para el compuesto *rac-6*, se observa el mismo conjunto de señales que presenta *rac-4*. La diferencia principal es la ausencia de las señales correspondientes al fragmento $-\text{OCH}_3$ del éster metílico en los espectros de *rac-6*, tal como lo indica la Ilustración 20.

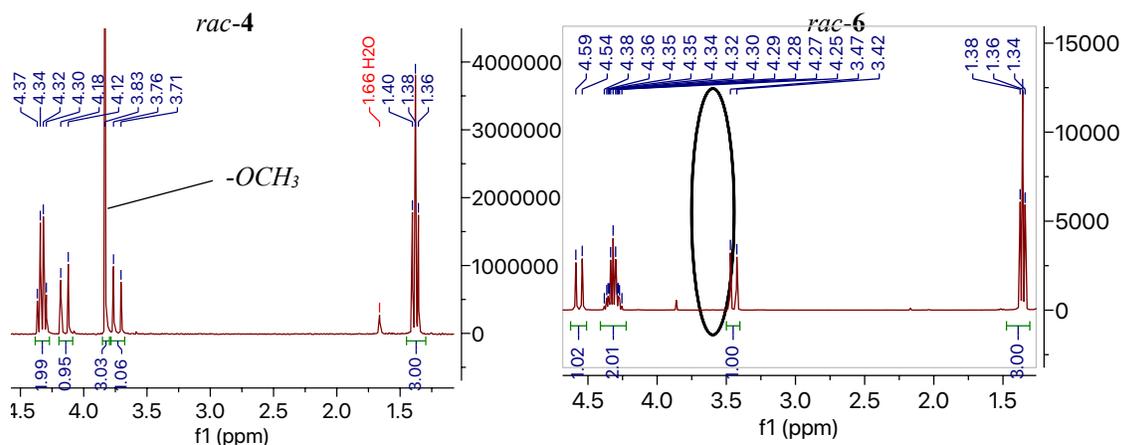
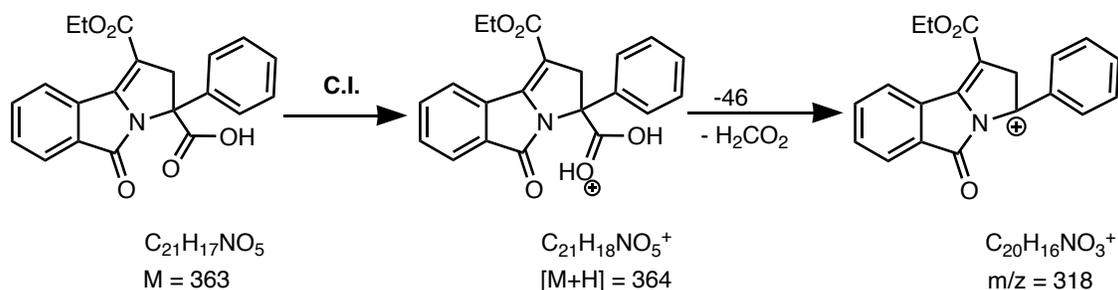


Ilustración 20. Comparación de los espectros de RMN de los compuestos *rac-4* y *rac-6*, señales correspondientes a los ésteres.

En el espectro en el infrarrojo (FTIR-ATR) de *rac-6*, se observan las bandas en 2937 cm^{-1} (OH), 1732 cm^{-1} correspondiente al $\text{C}=\text{O}$ del éster, 1689 cm^{-1} correspondiente al $\text{C}=\text{O}$ del ácido, entre otras.

La masa exacta para *rac-6* es de 364.11850 calculada para $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{NO}_5$ y encontrada de 364.11939 que corresponde al ion $[\text{M}+\text{H}]^+$; el espectro de masas de baja resolución (DART+) presenta los fragmentos de masa/carga (m/z) 364 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 318 (15). La fragmentación propuesta para el compuesto *rac-6* se muestra en el Esquema 39.



Esquema 39. Fragmentación del compuesto *rac-6*.

El compuesto *rac-7* se obtuvo de la misma manera que *rac-5*, mediante catálisis básica con NaOH, pero en esta ocasión, con un exceso de la base para lograr una hidrólisis de ambos ésteres con un rendimiento del 88.4 % y un p.f. de 205–207 °C (Esquema 22). El mecanismo es una sustitución nucleofílica en los grupos acilo, como se describe en el Esquema 36.

Tanto en el espectro de RMN ^1H , así como el de RMN ^{13}C para el compuesto *rac-7*, se observa el mismo conjunto de señales que presenta *rac-4*. La diferencia principal es la ausencia de las señales correspondientes a los fragmentos OCH_3 y OCH_2CH_3 de ambos ésteres en los espectros de *rac-7*, por lo que en la región de los alifáticos solo se encuentran las señales de los hidrógenos diastereotópicos como se muestra en la Ilustración 21.

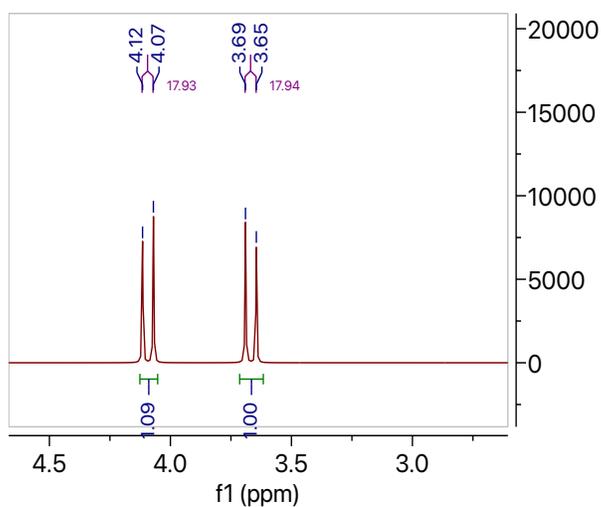
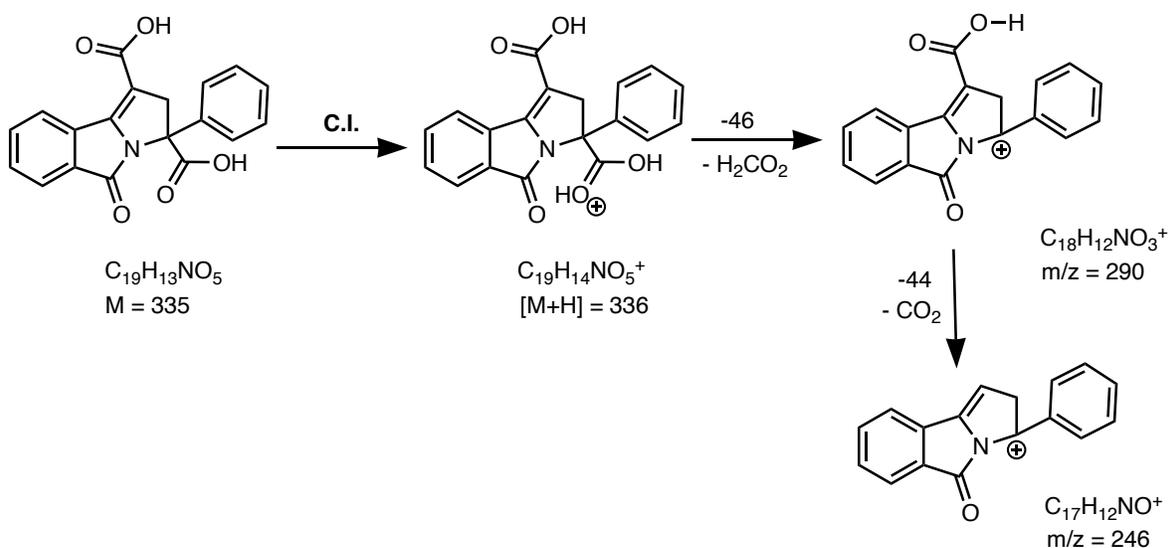


Ilustración 21. RMN ^1H de *rac-7*, región de los alifáticos, señales correspondientes a los hidrógenos diastereotópicos del C-2.

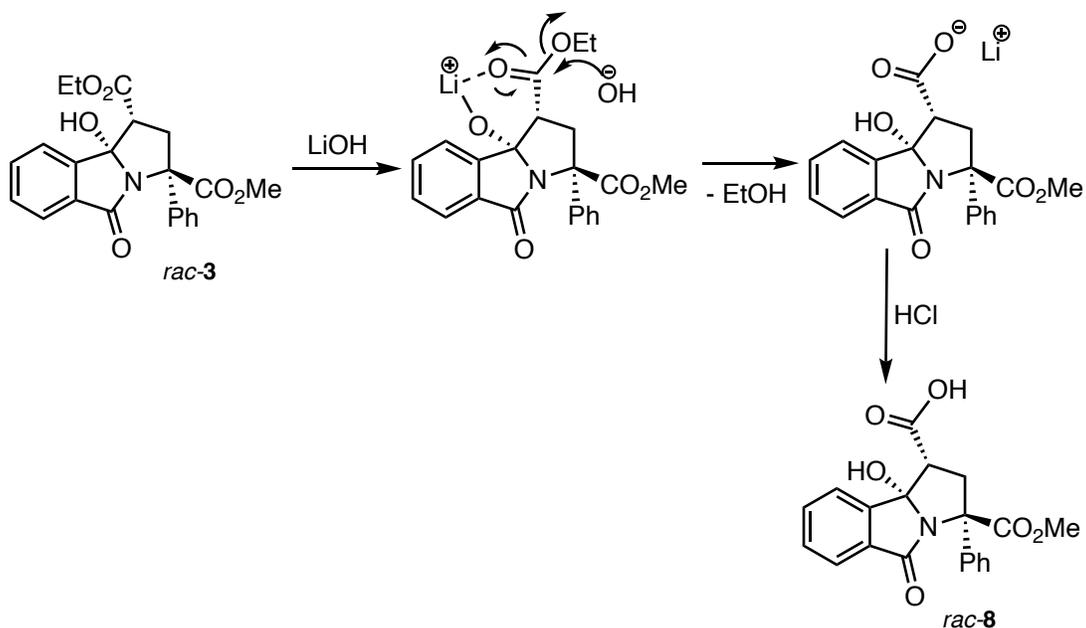
En el espectro en el infrarrojo (FTIR-ATR) de *rac-7*, se observan las bandas en 2928 cm^{-1} (OH ácido), 1712 cm^{-1} correspondiente al C=O de ácido, entre otras.

La masa exacta para *rac-7* es de 336.08720 calculada para $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{NO}_5$ y encontrada de 336.0882 que corresponde al ion $[\text{M}+\text{H}]^+$; el espectro de masas de baja resolución (DART+) presenta los fragmentos de masa/carga (m/z) 336 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 290 (82), 246 (42). La fragmentación propuesta para el compuesto *rac-7* se muestra en el Esquema 40.



Esquema 40. Patrón de fragmentación del compuesto *rac-7*.

De igual manera se hidrolizó el compuesto *rac-3* con LiOH obteniendo un mono ácido *rac-8* con un rendimiento del 79.0 % y un p.f. de 123–128 °C (Esquema 23). Sorpresivamente la hidrólisis también fue regioselectiva, lo cual se explica por la formación de un intermediario de coordinación entre el catión Li^+ , el átomo de oxígeno del grupo hidroxilo en C-9b y el átomo de oxígeno del éster etílico en C-1, que debido a la cercanía y en disposición *cis* al hidroxilo en C-9b es posible. Esta interacción favorece el ataque nucleofílico por parte del ion hidroxilo, desplazando al ion alcóxido el producto queda desprotonado debido a las condiciones de la reacción y vuelve a protonarse al tratarse con HCl, como se muestra en el Esquema 41.



Esquema 41. Mecanismo de reacción de la hidrólisis selectiva del éster etílico, para la obtención de *rac-8*.

Esto se pudo comprobar mediante RMN ^1H del producto *rac-8*. En el espectro se observa en la región de los alifáticos una señal simple a 3.61 ppm que corresponde a un metoxilo, acompañada únicamente de tres señales múltiples correspondientes a los dos hidrógenos diastereotópicos H_b-2 y H_c-2 , una en 3.36 ppm como una señal triple con una $^3J = 12.5$ Hz y la otra en 3.25 ppm como una señal doble de dobles $^2J = 12.9$ Hz y $^3J = 7.1$ Hz; y el hidrógeno de H_a-1 en 3.46. como una señal doble de dobles con $^2J = 12.2$ Hz y $^3J = 7.1$ Hz.

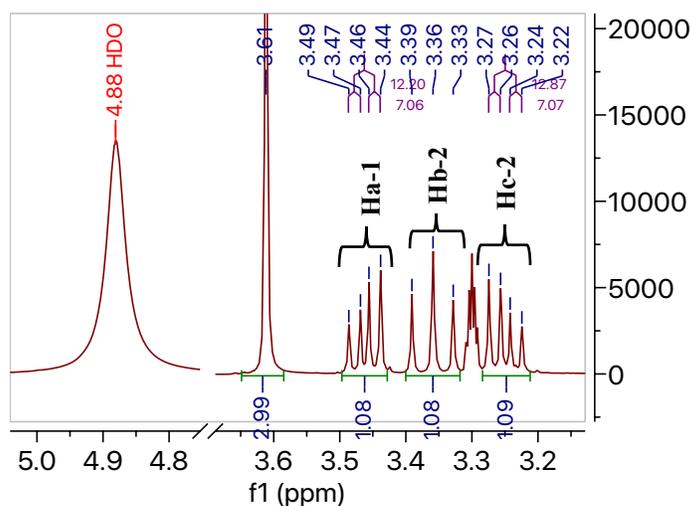
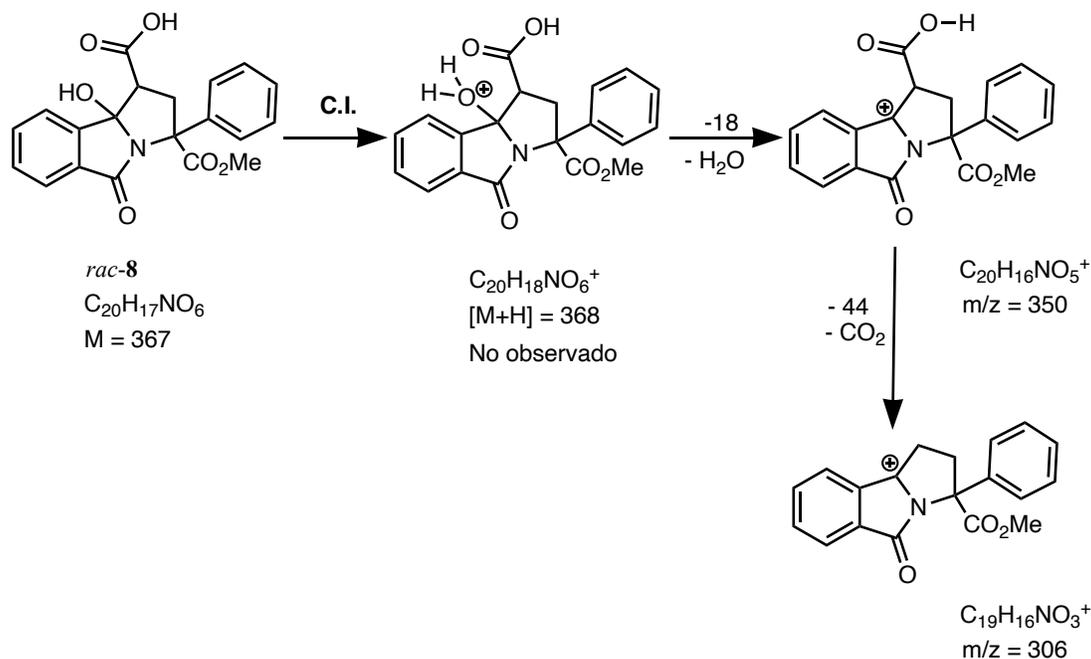


Ilustración 22. RMN ^1H de *rac-8*, región de los alifáticos, señales correspondientes a los hidrógenos del C-1, C-2, metoxilo y la señal de agua deuterada.

En este caso no se logra observar la señal del grupo hidroxilo tal como en el espectro del compuesto *rac-3*, lo cual puede deberse a un intercambio del hidrógeno por deuterio del CD₃OD empleado como disolvente para adquirir el espectro.

En el espectro en el infrarrojo (FTIR-ATR) de *rac-8*, se observan las bandas en 3399 cm⁻¹ (OH), 1713 cm⁻¹ correspondiente al C=O de éster y 1703 C=O del ácido, entre otras.

La masa exacta para *rac-8* es de 350.10285 calculada para C₂₀H₁₇NO₆ y encontrada de 350.10387 que corresponde al ion [M+H-H₂O]⁺; el espectro de masas de baja resolución (DART⁺), no se observa el fragmento *m/z* de 368 [M+H]⁺, solamente presenta los fragmentos de masa/carga (*m/z*) 350 (15), 306 (100). La fragmentación propuesta para el compuesto *rac-8* se muestra en el Esquema 42.



Esquema 42. Patrón de fragmentación del compuesto *rac-8*.

El compuesto *rac-9* se obtuvo con un rendimiento de 47.2 % y una temperatura de fusión de 165–168 °C, ambos ésteres del compuesto *rac-3* fueron hidrolizados por catálisis básica con exceso de NaOH, siguiendo el mismo mecanismo de reacción del Esquema 36.

Tanto en el espectro de RMN ¹H, así como el de RMN ¹³C para el compuesto *rac-9*, se observa el mismo conjunto de señales que presenta *rac-3*. La diferencia principal es la ausencia de las señales correspondientes a los fragmentos OCH₃ y OCH₂CH₃ de ambos

ésteres en los espectros de *rac-9*, y que al igual que en el espectro de *rac-8*, no se logra distinguir la señal del grupo hidroxilo, la cual debería estar en 3.33 ppm, esto seguramente por el intercambio parcial de hidrógeno por deuterio del CD₃OD, lo cual se aprecia en la Ilustración 23.

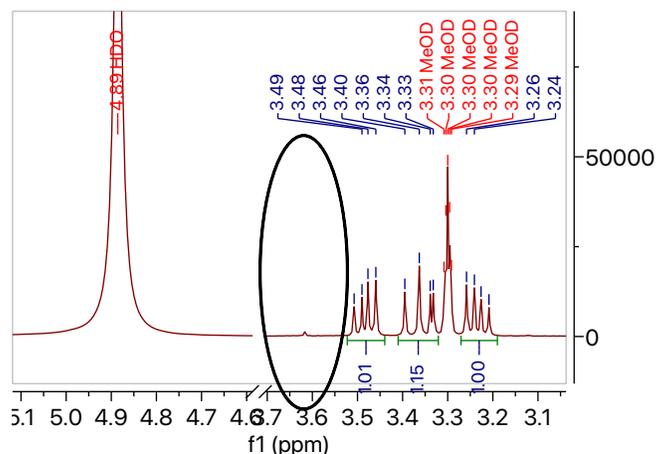
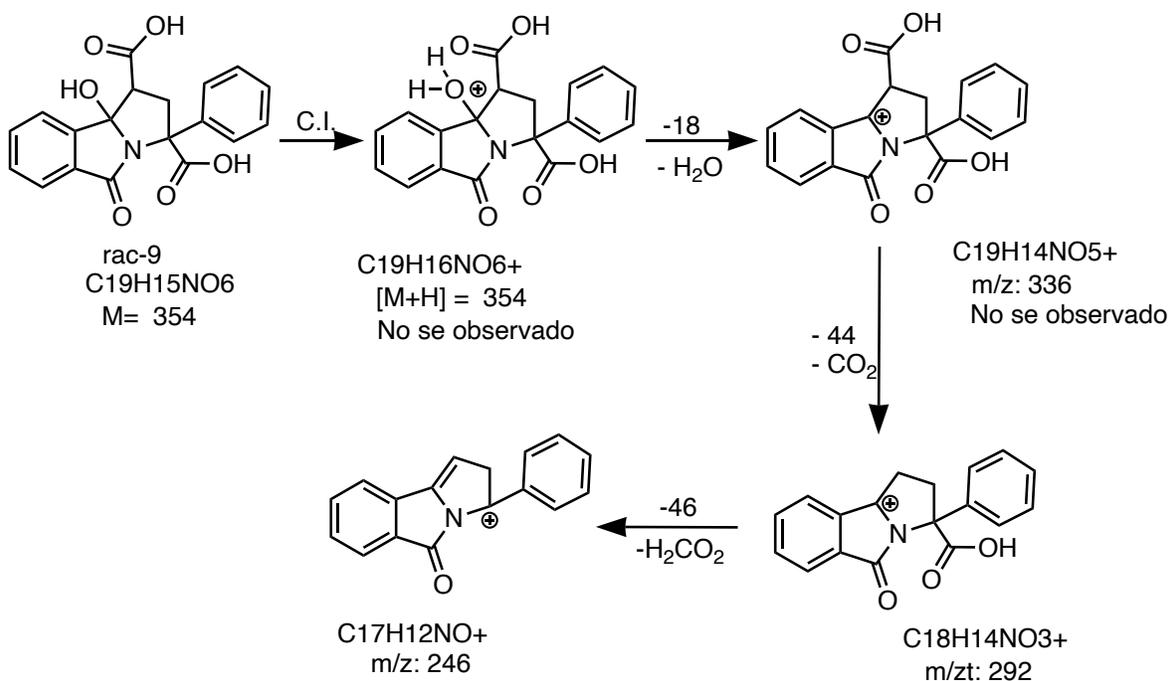


Ilustración 23. RMN ¹H de *rac-9*, región de los alifáticos, señales correspondientes a los hidrógenos del C-1, C-2, y la señal de agua deuterada. Representación de la ausencia de grupos metoxilo y etoxilo.

En el espectro en el infrarrojo (FTIR-ATR) de *rac-9*, se observan las bandas en 1736 cm⁻¹ (C=O) de ácido, 1656 cm⁻¹ correspondiente al C=O de lactama, entre otras.

La masa exacta para *rac-9* es de 292.09737 calculada para C₁₈H₁₄NO₃ y encontrada 292.09694 que corresponde al ion [M+H-CO₂-H₂O]⁺; el espectro de masas de baja resolución (DART+) presenta los fragmentos de masa/carga (*m/z*) 292 (100), 246 (36). La fragmentación propuesta para el compuesto *rac-9* se muestra en el Esquema 43.



Esquema 43. Patrón de fragmentación del compuesto *rac-9*.

Para la obtención de los productos *rac-10* y *rac-11* se emplearon dos alternativas de síntesis: Método A. Mediante una reacción de hidrogenólisis del alcohol terciario en el compuesto *rac-3*. El compuesto *rac-3* fue disuelto en MeOH y a la solución se agregó Pd(OH)₂/C (6 %) como catalizador. Para llevar a cabo esta reacción fue necesario calentar a 60 °C a una presión de 900 psi de presión con hidrógeno molecular durante 48 h (Esquema 25). Por CCF de la mezcla, se observaron 4 productos, de donde solamente el producto principal fue recuperado en un 64.8 % como un sólido blanco con p.f. de 150-153 °C.

Método B. Por hidrogenación catalítica del doble enlace del compuesto *rac-4*. El compuesto *rac-4* fue disuelto en MeOH y a la solución resultante se agregó Pd(OH)₂/C (10 %) como catalizador. Para llevar a cabo esta reacción fue necesario calentar a 60 °C a una presión de 900 psi de presión con hidrógeno molecular durante 24 h (Esquema 26). Después de eliminar el disolvente, el producto principal fue recuperado en un 85.6 % del mismo compuesto obtenido bajo las condiciones del Método A, como un sólido blanco con p.f. de 150 °C.

La hidrogenación catalítica es, sin lugar a duda, el método más ampliamente utilizado para la reducción de sustancias químicas orgánicas. La técnica está basada en la capacidad que

tiene la molécula de hidrógeno de reducir moléculas que contienen dobles o triples enlaces, o escindir determinados enlaces sencillos en presencia de un catalizador metálico. [57]

La conversión de la mayoría de los alquenos a alcanos es rápidamente efectuada a temperatura ambiente y presión atmosférica en presencia de un catalizador, sin embargo, esta velocidad va disminuyendo según el grado de sustitución del doble enlace, lo cual se ejemplifica en la Ilustración 24.

Ya que *rac-4* cuenta con un doble enlace tetrasustituido y conjugado con un grupo éster, hacen de este doble enlace más estable que la mayoría de los alquenos menos sustituidos, razón por la cual fue necesario emplear condiciones drásticas durante esta hidrogenación catalítica, calentando a 60 °C y elevando la presión a 1000 psi para lograr la adición de los hidrógenos al doble enlace.

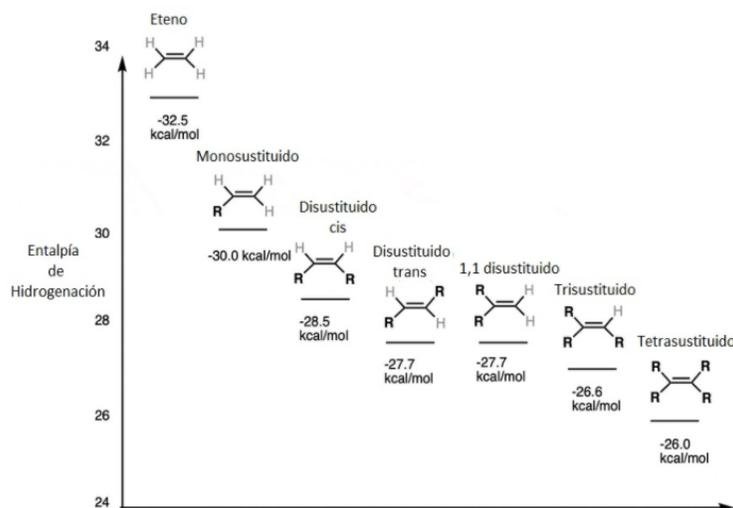


Ilustración 24. Estabilidad del doble enlace expresado con la entalpía de hidrogenación.

El mecanismo de reacción de la hidrogenación catalítica heterogénea de dobles enlaces es algo impreciso, sin embargo, son conocidos tres intermediarios principales que tienen lugar durante la hidrogenación.

Para que esta reacción pueda ocurrir es necesario un metal de transición para romper el enlace de una molécula de H₂ y de esta manera los átomos de hidrógeno son adsorbidos en la superficie del metal, formando enlaces metal-hidrógeno, similares a los de los hidruros de metales.

El primer intermediario se forma cuando la molécula es adsorbida de la misma manera a la superficie metálica del catalizador, lo cual ocurre normalmente en la cara menos impedida estéricamente, generando una adición *syn* y formando un enlace de tipo π en cada carbono del doble enlace con el metal. Posteriormente un átomo de hidrógeno se añade a un átomo de carbono del doble enlace generando el segundo intermediario, en donde ahora consiste en enlaces tipo δ entre el átomo de carbono y el metal. Y por último este intermediario reacciona nuevamente con otro átomo de hidrógeno para dar el producto saturado, el cual es desadsorbido de la superficie del metal mediante un proceso de difusión superficial (Ilustración 17).^[58]

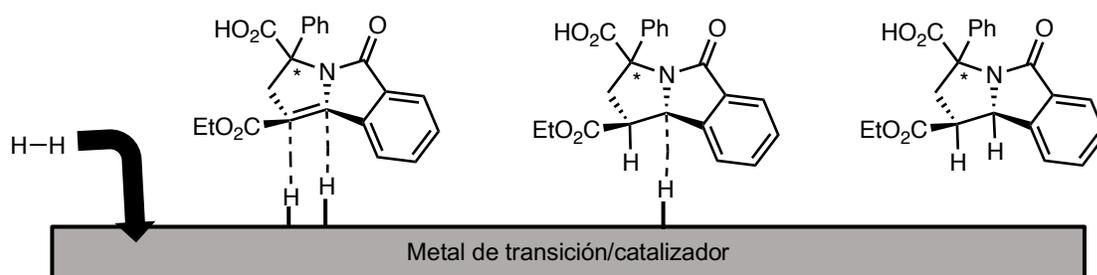


Ilustración 25. Mecanismo de hidrogenación

En la mayoría de los casos ambos átomos de hidrógeno son añadidos en la misma cara de doble enlace, pero hay muchas hidrogenaciones en las que la adición de hidrógeno no es del todo *syn*, por lo que normalmente es necesaria una corroboración independiente de la estereoquímica.

Las hidrogenaciones catalíticas suelen ser reacciones muy limpias con poca formación de subproductos, a menos que la reducción de otros grupos sea competitiva, pero, dependiendo de las condiciones y del catalizador, otros grupos funcionales también están sujetos a reducción bajo estas condiciones, esto se ve en el caso de la hidrogenólisis del compuesto *rac-3*, que, en este caso particular, bajo las condiciones empleadas el compuesto *rac-3* se deshidrata dando lugar al compuesto *rac-4*.

La hidrogenólisis del compuesto *rac-3*, así como la hidrogenación del compuesto *rac-4*, dieron lugar como producto principal a un sólido blanco con p.f. de 150 °C. Mientras que en el espectro de RMN ¹³C adquirido a 76 MHz se observa un solo conjunto de señales que

corresponden a un solo diastereoisómero en su forma racémica. En el espectro de RMN ^1H adquirido a una frecuencia 300 MHz, se observan algunas señales anchas y algunas otras se encuentran dobleteadas, así como se observa en la Ilustración 26, lo cual sugieren la presencia de dos diastereoisómeros *rac-10* y *rac-11*. Debido a las propiedades físicas y químicas similares, no fue posible la separación y caracterización de estos compuestos.

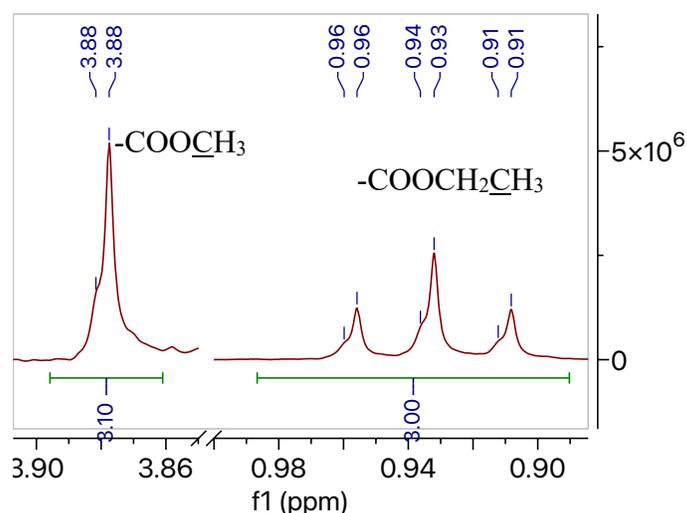
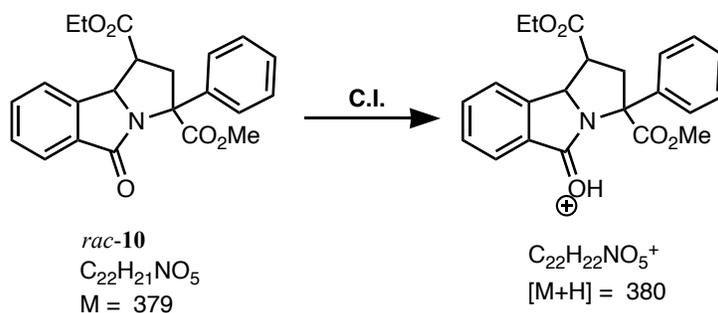


Ilustración 26. Señales dobleteadas en el espectro de RMN ^1H de *rac-10*.

La masa para *rac-10* es de 380 calculada para $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{NO}_5$ y encontrada 380 que corresponde al ion $[\text{M}+\text{H}]^+$; el espectro de masas de baja resolución (DART+) presenta únicamente el fragmento de masa/carga (m/z) 380 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$ y en 381 la correspondiente contribución isotópica de este fragmento. El compuesto *rac-4* no se fragmenta bajo las condiciones de análisis (Esquema 35). Esquema 44.



Esquema 44. Fragmento de masa $[\text{M}+\text{H}]^+$ del compuesto *rac-10*.

Docking molecular

Para comprobar la actividad de los compuestos sintetizados como inhibidores de las colinesterasas se llevó a cabo una simulación del acoplamiento molecular entre estas moléculas y las enzimas (Ilustración 27). En las Tablas 4 y 5 se muestran los resultados de las interacciones con la AChE y BuChE respectivamente, estos datos implican que las interacciones son exérgicas en todos los ligandos e incluso son similares a los valores de los fármacos de referencia.

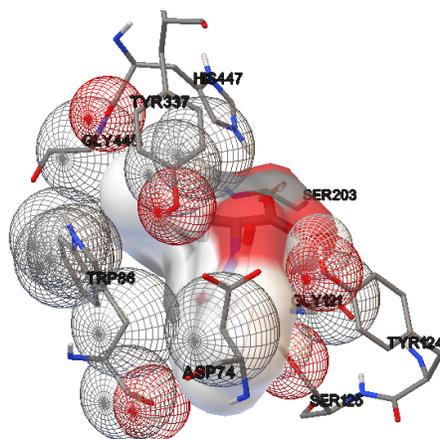


Ilustración 27. Imagen representativa de los resultados obtenidos en el docking molecular.

Tabla 4. Energía libre de Gibbs (ΔG), constante de disociación (K_d) y $-\log_{10}$ de la constante de disociación (pK_d) de la interacción entre ligandos y la acetilcolinesterasa de *Electrophorus electricus* 1C2O.

Ligando	ΔG (kcal/mol)	K_d (μM)	pK_d
<i>rac-1</i>	-8.59	0.5065	6.2954
<i>rac-2</i>	-8.34	0.7728	6.1119
<i>rac-3</i>	-8.61	0.4849	6.3143
<i>rac-4</i>	-9.92	0.0538	7.2694
<i>rac-5</i>	-8.85	0.3250	6.4881
<i>rac-6</i>	-9.57	0.0970	7.0133
<i>rac-7</i>	-8.58	0.5122	6.2906
<i>rac-8</i>	-7.41	3.6900	5.4330
<i>rac-9</i>	-6.81	0.0102	7.9935
<i>rac-10</i>	-8.79	0.3589	6.4450

fenserina	-9.95	0.0505	7.2966
itoprida	-8.50	0.5920	6.2277
mimopezil	-7.37	3.9300	5.4056
donepezilo	-10.65	0.0157	7.8038
galantamina	-9.78	0.0682	7.1665
rivastigmina	-8.51	0.5735	6.2415
tacrina	-7.32	4.3400	5.3625

La energía libre de Gibbs de todos los ligandos se encuentra entre los valores obtenidos con los fármacos de referencia por lo que la afinidad hacia la acetilcolinesterasa es adecuada.

En cuanto a las constantes de disociación muestran que las moléculas con doble enlace en lugar del grupo hidroxilo son más favorables. A excepción del *rac-9*, sin embargo, tiene una menor interacción con la enzima, por lo que se descarta como el compuesto con mayor potencial.

Tabla 5. Energía libre de Gibbs (ΔG), constante de disociación (K_d) y $-\log_{10}$ de la constante de disociación (pK_d) de la interacción entre ligandos y la butirilcolinesterasa humana 6EQQ.

Ligando	ΔG (kcal/mol)	K_d (μM)	pK_d
<i>rac-1</i>	-8.12	1.1200	5.9508
<i>rac-2</i>	-8.01	1.3500	5.8697
<i>rac-3</i>	-8.52	0.5677	6.2459
<i>rac-4</i>	-8.97	0.2647	6.5773
<i>rac-5</i>	-8.50	0.5863	6.2319
<i>rac-6</i>	-8.91	0.2956	6.5293
<i>rac-7</i>	-8.13	1.0900	5.9626
<i>rac-8</i>	-7.53	3.0300	5.5186
<i>rac-9</i>	-7.07	6.5800	5.1818
<i>rac-10</i>	-8.43	0.6585	6.1814
fenserina	-9.40	0.1292	6.8888
itoprida	-8.30	0.8275	6.0822
mimopezil	-9.20	0.1815	6.7411

donepezilo	-9.43	0.1217	6.9146
galantamina	-7.91	1.5800	5.8013
rivastigmina	-7.84	1.7900	5.7471
tacrina	-7.27	4.6700	5.3307

Aun cuando la afinidad de los compuestos sintetizados hacia la butirilcolinesterasa es menor que con respecto a la acetilcolinesterasa, los valores de ΔG son más favorables que los arrojados para la rivastigmina, la cuál es la referencia que actúa como fármaco dual sobre las colinesterasas a excepción de *rac-8* y *rac-9*. Al igual que con la AChE se observa una disminución en la actividad de los ligandos que presentan el grupo hidroxilo y una mayor afinidad por aquellos con doble enlace.

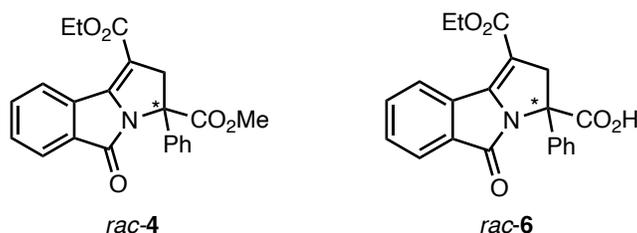


Ilustración 28. Compuestos con mayor actividad como AchEI.

Tomando en cuenta los resultados de ambas tablas los compuestos que poseen mayor actividad como inhibidor es de las colinesterasas y mayor probabilidad de ser fármacos auxiliares en el tratamiento de la EA son *rac-4* y *rac-6* (Ilustración 28) pues presentan afinidad por ambas enzimas e incluso pK_d parecidos al donepezilo.

En comparación con los resultados de los compuestos *rac-A*, *rac-B* y *rac-C* (Ilustración 15, Tabla 3) los datos son menos prometedores en cuanto al pK_d , pero al tener valores de ΔG similares (Tabla 6, Ilustración 29) sería importante realizar la cinética enzimática para evaluar si el sustituyente bencilo mejora la interacción con las colinesterasas en comparación al fenilo.

La razón por la que el sustituyente bencilo mejora la interacción con la AChE es posible se deba a los puentes de hidrógeno extra formados con el $-CH_2$ y al menor impedimento sobre la molécula.

Tabla 6. Comparación del potencial de inhibición de colinesterasas de los compuestos sintetizados a partir de felnilglicina (*rac-4* y *rac-6*) y fenilalanina (*rac-A*, *rac-B* y *rac-C*) obtenidos del docking molecular.

Compuesto	<i>rac-A</i>	<i>rac-B</i>	<i>rac-C</i>	<i>rac-4</i>	<i>rac-6</i>
ΔG (Kcal/mol)	-10.21	-10.48	-8.47	-9.92	-9.57
K_d (μM)	0.0320	0.0200	0.0618	0.0538	0.0970
PK_d	7.495	7.699	7.209	7.269	7.013

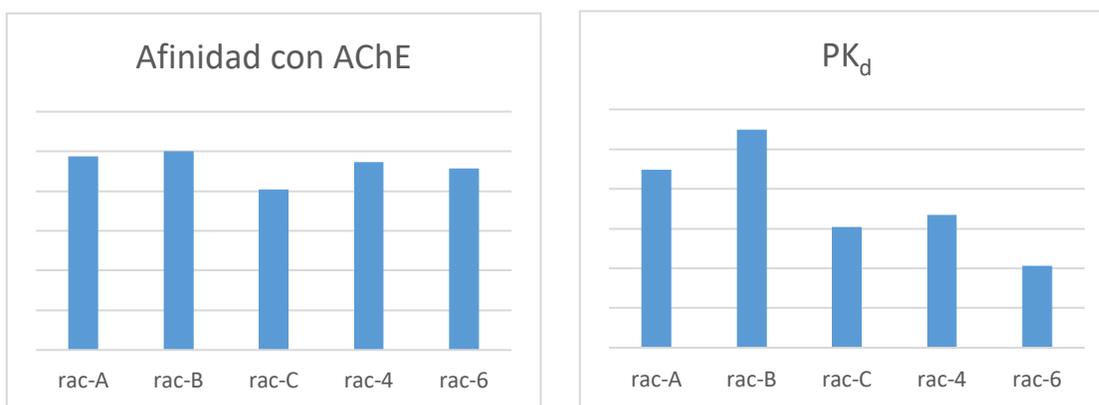


Ilustración 29. Gráficos comparativos de pK_d y la afinidad dada por ΔG de los compuestos sintetizados a partir de felnilglicina (*rac-4* y *rac-6*) y fenilalanina (*rac-A*, *rac-B* y *rac-C*) obtenidos del docking molecular.

Mediante el docking también se pudieron encontrar los principales residuos implicados en la interacción de los ligandos, los cuales se presentan en las Tablas 7 y 8.

Tabla 7. Residuos de aminoácidos y subsitios implicados en la interacción entre los ligandos y la acetilcolinesterasa de *Electrophorus electricus* 1C2O.

Ligando	Interacciones	Ligando	Interacciones
<i>rac-1</i>	PAS: Tyr124, Ser125, Tyr337 AS: Trp86 CAS: Ser203, His447	<i>rac-8</i>	PAS: Tyr124, Ser125, Tyr337, Tyr341 ABP: Phe295, Phe297, Phe338 AS: TRP86, Glu202 CAS: Ser203, His447
<i>rac-2</i>	PAS: Tyr124, Ser125, Tyr337 ABP: Phe297, Phe338 OT: Gly121 AS: Trp86 CAS: His447	<i>rac-9</i>	PAS: Tyr124, Ser125, Tyr337, Tyr341 OT: Gly121 AS: Glu202 CAS: Ser203, His447
<i>rac-3</i>	PAS: Try124, Ser125, Tyr337, Try341 ABP: Phe295, Phe297, Phe338 OT: Gly122,	<i>rac-10</i>	PAS: Tyr124, Ser125, Tyr337, Tyr341 ABP: Phe338 OT: Gly122

	AS: Glu202 CAS: Ser203, His447		AS: Trp86 CAS: Ser203, His447
<i>rac-4</i>	PAS: Tyr124, Ser125, Tyr337, Tyr341 ABP: Phe338, Phe297 OT: Gly122 CAS: His447	donepezilo	PAS: Asp74, Ser125, Tyr337 OT: Gly122. AS: Trp86, Glu202, Gly448, Ile451 CAS: His447
<i>rac-5</i>	PAS: Tyr124, Ser125, Tyr337 ABP: Phe297 OT: Gly122 CAS: Ser203, His447	galantamina	PAS: Asp74, Tyr124, Tyr337 ABP: Phe295, Phe297, Phe338 OT: Gly122 AS: Trp86, Glu202 CAS: Ser203, His447
<i>rac-6</i>	PAS: Trp124, Ser125, Tyr337, Tyr341 ABP: Phe338 OT: Gly122 CAS: His447	rivastigmina	PAS: Ser125 AS: Trp86, Glu202
<i>rac-7</i>	PAS: Tyr124, Ser125, Tyr337 OT: Gly122 CAS: Ser203, His447	tacrina	AS: Trp86 CAS: His447

En la literatura ya están bien definidos los sitios clave de interacción de la AChE con sus respectivos inhibidores y con la Ach, por ejemplo, enlace de hidrógeno con His447, Interacciones de Van der Waals con residuos como Gly121, Gly122, Tyr133, Ile451 y Gly448 e interacciones π - π con Trp86 y Phe338, los cuales juegan un papel importante en la estabilización del estado de transición durante la reacción catalítica. [59] Además de los residuos conservados se han enlistado algunas otras interacciones comunes, como Asp74, Ser203, Tyr337, Trp439 y Pro446. [60]

Como se puede ver, todos los compuestos sintetizados interaccionan con al menos tres residuos claves descritos por la literatura y la mayoría de ellos pertenecen a los subsitios de actividad de la enzima, especialmente en el PAS y con mínimo uno de los residuos que conforman la triada catalítica, lo cual implica que posiblemente sean inhibidores competitivos capaces de prevenir la formación de los agregados de placas β -amiloides.

Tabla 8. Residuos de aminoácidos y subsitios implicados en la interacción entre los ligandos y la butirilcolinesterasa humana 6EQQ.

Ligando	Subsitio: Residuos	Ligando	Subsitio: Residuos
<i>rac-1</i>	PAS: Ala328 OT: Gly116	<i>rac-8</i>	PAS: Ala328 OT: Gly116, Gly117, Ala199

	AS: Trp82 CAS: Ser198, His438		AS: Trp82, Glu197 CAS: Ser198, His438,
<i>rac-2</i>	PAS: Ala328 OT: Gly116 CAS: His438	<i>rac-9</i>	PAS: Ala328 OT: Gly116, Gly117, Ala199 AS: Trp82, Glu197 CAS: Ser198, His438
<i>rac-3</i>	PAS: Ala328 OT: Gly116, Gly117, Ala199, AS: Trp82, Glu197 CAS: Ser198, His438	<i>rac-10</i>	PAS: Ala328 ABP: Trp231, Leu286, Phe329 OT: Gly116, Gly117, Ala199 AS: Trp82, Glu197 CAS: His438
<i>rac-4</i>	PAS: Ala328 ABP: Phe329, Trp231, Leu286 OT: Gly116, Gly117, Ala199 CAS: His438	donepezilo	PAS: Ala328 ABP: Trp231, Leu286, Phe329 OT: Gly116, Ala199 AS: Trp82 CAS: His438
<i>rac-5</i>	PAS: Ala328 ABP: Leu286, Trp231, Phe329 OT: Gly116, Ala199, Gly117 CAS: His438	galantamina	PAS: Ala328 AS: Trp82, Glu197 CAS: His438
<i>rac-6</i>	PAS: Ala328 AS: Trp82 Glu197 Met437 Tyr440 CAS: Ser198, His438	rivastigmina	ABP: Phe329 OT: Gly116, Gly117, Ala199 AS: Glu197 CAS: His438
<i>rac-7</i>	PAS: Thr120 OT: Gly116 AS: Trp82, Tyr128, CAS: Ser198, His438	tacrina	AS: Trp82, Tyr128, Glu197 CAS: His438

En cuanto a las interacciones clave en los sitios de unión de la BuChE destacan las interacciones π - π con Trp82 y enlace de hidrógeno con His438. Además de otras interacciones comunes como Asp70, Ser198, Ala328, Trp430, Met434, Met443 y Met437. [60]

En la Tabla 8 se observa como todos los ligandos estudiados interaccionan con por lo menos un residuo de la triada catalítica y con uno perteneciente al PAS, por lo que si la teoría de que esta colinesterasa aumenta con la edad, estos compuestos tienen potencial para tratar el Alzheimer.

El *rac-6* resalta ya que posee más interacciones con residuos claves que el resto de los compuestos, e incluso que *rac-4*, el cual demuestra valores levemente mejores en cuanto a ΔG y pK_d .

Tabla 9. Residuos de aminoácidos y tipos de interacciones entre los ligandos y la acetilcolinesterasa de *Electrophorus electricus* 1C2O.

Ligando	Hidrofóbico	Enlaces de hidrógeno	$\pi - \pi$	π - catión	π - anión	π - donador	Electrostático
<i>rac-1</i>	Trp86 Tyr124 Tyr337 His447	Ser125 Ser203 His447	Trp86, Tyr124, Tyr337, His447	His447		Ser125	His447
<i>rac-2</i>	Trp86 Tyr124 Phe297 Tyr337 Phe338 His447	Gly121 Tyr124 Ser125	Trp86 Tyr124 Tyr337 His447	His447		Ser125	His447
<i>rac-3</i>	Phe295 Phe297 Tyr337 Phe338 Tyr341 His447	Gly120 Gly122 Ser125 Ser203	Tyr337 Tyr341	His447	Glu202	Tyr124	His447
<i>rac-4</i>	Tyr124 Phe297 Tyr337 Phe338 Tyr341 His447	Gly122 Ser125	Tyr124 Tyr337 His447	His447		Ser125	His447
<i>rac-5</i>	Tyr124 Phe297 Tyr337 His447	Gly120 Gly122 Ser125 Ser203 His447	Tyr124 Tyr337 His447	His447			His447
<i>rac-6</i>	Tyr124 Tyr337 Hi447 Phe338 Tyr341	Gly122 Ser125	Tyr124 Tyr337	His447			His447
<i>rac-7</i>	Tyr124 Tyr337	Gly122 Ser203 Ser125	Tyr124 Tyr337	His447			His447
<i>rac-8</i>	Trp86 Tyr337 Tyr341 Phe295 Phe297 Phe338 His447	Ser125 Ser203 Gly120	Trp86 Tyr337 Tyr341	His447	Glu202		His447 Glu202
<i>rac-9</i>	Tyr337	Gly121	Tyr337	His447	Glu202	Try124	Glu202

	Tyr341	Try124 Ser125 Ser203 His447	Tyr341				His447
<i>rac-10</i>	Trp86 Tyr124 Tyr337 Phe338 Tyr341	Gly122 Ser125 Ser203 Tyr337	Trp86 Tyr124 Tyr337	His447		Ser125	His447
donepezilo	Asp74 Trp86 Tyr337 Tyr449 Ile451	Gly122 Ser125 Tyr337 Gly448 Glu202	Trp86	His447	Glu202	Ser125	Asp74 Glu202 His447
galantamina	Trp86 Phe297 Tyr337 Phe338 His447	Gly122 Glu202 Ser203 Tyr337	Tyr124 Phe338				Asp74
rivastigmina	Trp86	Ser125	Trp86	Trp86			Trp86 Glu202
tacrina	Trp86 His447	Gly120	Trp86				

Tabla 10. Residuos de aminoácidos y tipos de interacciones entre los ligandos y la butirilcolinesterasa Humana 6EQQ.

#Ligando	Hidrofóbico	Enlaces de hidrógeno	$\pi - \pi$	π -catión	π -anión	π -alquil	Electrostático
<i>rac-1</i>	Trp82 Ala328	Ser198 His438	Trp82	His438		Ala328	His438
<i>rac-2</i>	Ala328 His438	Gly116 His438	His438	His438		Ala328 His438	His438
<i>rac-3</i>	Trp82 Gly116 Gly117 Glu197 Ala328	Gly116 Gly117 Glu197 Ser198 Ala199 His438	Trp82			Trp82 Ala328	
<i>rac-4</i>	Trp231 Leu286 Ala328 Phe329 His438	Gly116 Gly117 Ala199 His438	Trp231 Phe329			Leu286 Ala328 His438	
<i>rac-5</i>	Trp231 Leu286 Ala328 Phe329	Gly116 Gly117 Ala199	Trp231 Phe329			Leu286 Ala328	His438
<i>rac-6</i>	Trp82 Ala328 Trp430 His438 Met437 Tyr440	Glu197 Ser198 His438	Trp82 His438	His438		Trp82 Ala328 Trp430 Trp4440	His438

<i>rac-7</i>	Trp82 Gly115 Gly116 His438	Gly116 Thr120 Tyr128 Ser198	Trp82 His438	His438			His438
<i>rac-8</i>	Trp82 Gly116 Gly117 Ala328	Gly116 Gly117 Glu197 Ser198 Ala199 His438	Trp82			Ala328	
<i>rac-9</i>	Gly116 His117 Ala328 His438	Gly116 Gly117 Glu197 Ser198 Ala199 His438	Trp82 His438		Trp82	Ala328	Trp82 His438
<i>rac-10</i>	Trp82 Trp231 Leu286 Ala328 Phe329 His438	Gly116 Gly117 Ala199	Trp82 Trp231 Phe329		Glu197	Trp82 Leu286 His438	Glu197
donepezilo	Trp231 Leu286 Ala328 Phe329 Trp430	Gly116 Ala199 Ser287 His438	Phe329 Trp430	Trp82		Trp231 Ala328	Trp82 Glu197
galantamina	Trp82 Ala328 His438	Ser79 Glu197 Ala328	Trp82	Trp430		Trp82 Ala328 His438	Trp430
rivastigmina	Phe329 His438	Gly116 Gly117 Glu197 Ala199 Pro285 Ser287	Phe329			His438	
tacrina	Trp82	Tyr128 Glu197				Trp82 His438	

Como se observa en las Tablas 9 y 10, se obtuvieron los tipos de interacción mediante el análisis en el software BIOVIA Discovery Studio 2020.

CONCLUSIONES

En este trabajo se logró la síntesis de nuevas pirrolo[2,1-a]isoindol-5-onas racémicas, iniciando con la obtención del compuesto *rac-3* con un 97.5 % de rendimiento mediante una reacción dominó de la N-ftaloilfenilglicinato de metilo (*rac-2*) y acrilato de etilo y promovida por una base como LHMDS.

El compuesto *rac-3* fue modificado estructuralmente mediante condiciones de reacción convencionales de deshidratación, hidrólisis e hidrogenación catalítica para obtener los productos *rac-4* a *rac-10*; los cuales presentan una similitud estructural con fármacos inhibidores de colinesterasas, obteniendo así productos sintéticos con potenciales propiedades como inhibidores duales de la AChE y BuChE. De ellos destacan los compuestos *rac-4* y *rac-6*, ya que mediante el análisis docking demostraron tener valores similares de ΔG y pK_d a los fármacos de referencia, teniendo interacciones en al menos 3 subunidades del sitio activo de ambas enzimas y predominando las interacciones hidrofóbicas.

Todos los compuestos obtenidos en este trabajo fueron caracterizados mediante técnicas espectroscópicas y espectrométricas como IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C y espectrometría de masas.

PERSPECTIVAS

1. Cambiar y monitorear las condiciones para lograr una hidrólisis selectiva del éster metílico de *rac-3*.
2. Aislar los compuestos *rac-10* y *rac-11* y caracterizarlos.
3. Caracterizar los demás compuestos obtenidos a partir de la hidrogenación de los compuestos *rac-3* y *rac-4*, los cuales pueden corresponder a otros isómeros o a diferentes compuestos.
4. Realizar el docking para los isómeros que no se presentaron en este trabajo.
5. Realizar una comparación más completa entre la actividad inhibitoria de colinesterasas de los presentados en este trabajo contra los reportados en Rivera-Sánchez, Tesis UNAM (2019).^[22]

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Demencias, Una visión panorámica Temas derivados del V Simposio de Medicina Geriátrica realizado el 5 y 6 de septiembre del 2014. [Internet]. San Luis Potosí: Editorial Universitaria Potosina, 2014 [revisado junio 2021] Disponible en: <http://www.geriatria.salud.gob.mx/descargas/publicaciones/Demencia.pdf>
2. Segura-Ríos, M. Inhibidores de Acetilcolinesterasa y otros tratamientos para el Alzheimer (II). [Trabajo final de grado] Madrid: Facultad de Farmacia Universidad Complutense; 2019. Recuperado de: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/MARTA%20SEGURA%20RIOS.pdf>
3. Kudo, T. & Takeda, M. Alzheimer disease. *Nippon Rinsho*. 2001, 59 Suppl 8, 504–510.
4. Castellani, R. J. et al. Alzheimer Disease. *Dis. A Mon*. 2011, 56, 1–60.
5. Wenk, G. L. Neuropathologic Changes in Alzheimer's disease. *J Clin Psychiatry*. 2003, 64, Suppl 9, 7–10.
6. Velázquez-García, B. Inhibidores de Acetilcolinesterasa y otros tratamientos para el Alzheimer. [Trabajo final de grado] Madrid: Facultad de Farmacia Universidad Complutense; 2017. Recuperado de: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/BELLEN%20VELAZQUEZ%20GARCIA.pdf>
7. De la Torre-Moreno, J. M. Diseño basado en la estructura. Fundamento y un caso práctico. [Trabajo final de grado] Madrid: Facultad de Farmacia Universidad Complutense; 2016. Recuperado de <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/JOSE%20MANUEL%20DE%20LA%20TORRE%20MORENO.pdf>
8. Sánchez-Chávez, G.; Salceda, R. Enzimas polifuncionales: el caso de la acetilcolinesterasa. *REB*. 2018, 27(2), 44–51.
9. Alpízar-Quesada, C. L.; Morales-Alpízar, C. La enfermedad de Alzheimer y los inhibidores de la colinesterasa. *Acta méd. Costarric*. 2003, 45(2), 50-56.

10. Retta, G. Estudio de modelado molecular de inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa. XXVI JJI. Argentina: Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia Universidad Nacional de San Luis; **2018**. Recuperado de: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=https%3A%2F%2Fbdigital.uncu.edu.ar%2Fobjetos_digitales%2F13269%2F21-qumica-retta-gino-uns1.pdf&clen=770485&chunk=true
11. Pradas-González, M. Evolución de los inhibidores de la acetilcolinesterasa en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer: fármacos multidiana, nueva estrategia terapéutica. [Trabajo final de grado] Madrid: Facultad de Farmacia Universidad Complutense; **2016**. Recuperado de: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/MARIA%20PRADAS%20GONZALEZ.pdf>
12. DrugBank [Internet]; octubre 2007[actualizado en junio 2021; citado el 13 de junio de 2021]. Disponible en: <https://go.drugbank.com/drugs/DB05520>
13. Altamirano-Espino, J. A.; Sánchez-Labastida, L. A.; Martínez-Archundia, M.; Trujillo-Ferrera, J. Acetylcholinesterase Inhibition (Potential Anti-Alzheimer Effects) by Aminobenzoic Acid Derivatives: Synthesis, in Vitro and in Silico Evaluation. *MC&DD*. **2020**, 5,14177–14182.
14. Pang, X. et al. Evaluation of novel dual Acetyl- and Butyrylcholinesterase inhibitors as potential anti-Alzheimer's disease agents using pharmacophore, 3D-QSAR and molecular docking approaches. *Molecules*. **2017**, 22(8), 1254.
15. DrugBank [Internet]; noviembre 2007[actualizado en febrero 2021; citado el 13 de junio de 2021]. Disponible en: <https://go.drugbank.com/drugs/DB04924>
16. DrugBank [Internet]; octubre 2007[actualizado en junio 2021; citado el 13 de junio de 2021]. Disponible en: <https://go.drugbank.com/drugs/DB04892>
17. Gaynor, J. M.; Dillon, G. P.; Reidy, S.; Gilmer, J. F. Synthesis and structure activity relationships (SAR) of a new class of potent and selective butyrylcholinesterase inhibitors. *Chemico-Biological Interactions*; **2005**, 157–158, 380-381. doi: 10.1016/j.cbi.2005.10.063.

18. Zhou, A. et al. Combined 3D-QSAR, molecular docking, and molecular dynamics study of derivatives as potential acetylcholinesterase (AChE) inhibitors of Alzheimer's disease. *J. Mol. Model.* **2015**, 21(10).
19. Ruiz-Maciel, O. Evaluación in silico e in vitro de una serie de isoindolinas/dioxoisoindolinas como inhibidores de colinesterasa. [Tesis de Maestrías] México: Instituto Politécnico Nacional, Escuela Superior de Medicina, **2019**.
20. Ruiz-Maciel, O. et al. Inhibitory activity on cholinesterases produced by aryl-phthalimide derivatives: green synthesis, in silico and in vitro evaluation. *Med. Chem. Res.* **2020**, 29, 1030–1040.
21. Eicher, T. The chemistry of heterocycles. 2^a ed. Alemania: Wiley-VCH; **2003**, p. 114–116.
22. Rivera-Sánchez, F. Síntesis y caracterización de pirroloisoindolonas con promisorio actividad antihipertensiva. [Tesis que para obtener el título de Licenciado en Química Farmacéutico-Biológica] México: Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza; **2019**.
23. Ferreira da Costa, J. R. Síntesis de prolina-miméticos 3,5-disustituidos y su aplicación en la construcción de moléculas con potencial actividad biológica. [Memoria para optar al grado de Doctor] Santiago de Compostela: Universidad de Santiago de Compostela; **2013**.
24. Joule, J. A.; Mills, K. Heterocyclic Chemistry, 5^a edición. UK: Wiley; **2010**, p. 602–603.
25. Parikh, A.; Parikh, H. & Parikh, K. (n.d.). Hofmann-Löffler-Freytag Reaction. In Name Reactions in *Organic Synthesis*. Foundation Books; **2006**, 549–552. doi:10.1017/upo9788175968295.153
26. Jiang, L.; Hu, S.; Xu, Q.; Zheng, H. & Wei, W. (2021). Radical Cyclization of 1, n-Enynes and 1, n-Dienes for the Synthesis of 2-Pyrrolidone. *Chemistry – An Asian Journal*; **2021**, 16(20), 3068–3081. doi:10.1002/asia.202100829
27. Reyes, A.; Huerta, L.; Alfaro, M.; Navarrete, A. Synthesis, and nootropic activity of some 2,3-dihydro-1*H*-isoindolin-1-one derivatives structurally related with piracetam. *Chem. Biodiversity*. **2010**, 7(11), 2718–2726.

28. Aguilera-Cruz, A. E. Síntesis de isoindolonas con potencial actividad relajante sobre musculo liso. [Tesis que para obtener el título de Licenciado en Química Farmacéutico-Biológica] México: Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza; **2012**.
29. De la Rosa-Vázquez, J. A. Inhibición de canales de calcio Cav2.3 por isoindolona 1b. [Tesis que para obtener el grado de maestro en Ciencias] México: Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional; **2014**.
30. Kapples, K.; Shutske, G. Synthesis of 1-alkyl-2,3-dihydro-2-(4-pyridinyl)-1*H*-isoindoles as potential selective serotonin reuptake inhibitors. *J. Heterocyclic Chem*; **1996**, *34*(4), 1335–1338.
31. Breytenbach, J.; Dyk, S.; Heever, I.; Allin, S.; Hodgkinson, C.; Northfield, C. et al. Synthesis and antimicrobial activity of some isoindolin-1-ones derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett*; **2000**, *10*, 1629–1631.
32. Zeng, Q.; Liu, Z.; Li, B.; Wang, F. Mild and effective *N*-phthaloylation of amino acids. *Amino Acids*; **2004**, *27*, 183–186.
33. Andrade-Jorge, E.; Bahena-Herrera, J. R.; Garcia-Gamez, J.; Padilla-Martínez, I. I. & Trujillo-Ferrara, J. G. Novel synthesis of isoindoline/isoindoline-1,3-dione derivatives under solventless condition and evaluation with the human D2 receptor. *Med. Chem. Res.* **2017**, *26*, 2420–2431. doi.org/10.1007/s00044-017-1942-6.
34. Ramírez-Morales, T. Síntesis de pirroloisoindolonas como agentes antitumorales [Tesis que para obtener el título de Licenciatura en Química Farmacéutico-Biológica] México: Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza; **2012**.
35. Reyes-Ramírez, A.; Regla, I.; Fragoso, M.; Vallejo, L.; Demare, P.; Jiménez-Vázquez, H. et al. Stereoselective Tandem Michael-Intramolecular cyclization approach to functionalized pyrroloisoindolones. *Tetrahedron*; **1999**, *55*(37), 11187–11202.
36. Zhu, J.; Bienayme, H. Multicomponent Reactions. Weinheim: Wiley-VCH; **2005**, p. 121.
37. Tietze, L.; Brasche, G.; Gericke, K. Domino Reactions in Organic Synthesis. Weinheim: Wiley-VCH; **2006**, p 1–9, 51.

38. Huang, Z.; Chen, Q.; Yang, X.; Liu, Y.; Zhang, L.; Lu, T. et al. Phosphine-Mediated Domino Reactions of Phthalimidomalonates with Allenates or But-2-ynoate: Facile Entry into Highly Functionalized Pyrroloisoindolinone Derivates. *Org. Chem. Front*; **2017**, *4*, 967–971.
39. Bermudez-Lugo, J. A.; Rosales-Hernández, M. C.; Deeb, O.; Trujillo-Ferrara, J.; Correa-Basurto, J. In Silico Methods to Assist Drug Developers in Acetylcholinesterase Inhibitor Design. *Current Medicinal Chemistry*; **2011**, *18*, 1122–1136.
40. Guedes, I. A.; de Magalhães, C. S. & Dardenne, L. E. Receptor–ligand molecular docking. *Biophysical Reviews*. **2013**, *6*(1), 75–87. doi:10.1007/s12551-013-0130-2.
41. Rhee, I. K.; Van De Meent, M.; Ingkaninan, K. & Verpoorte, R. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. *J. Chromatogr. A*; **2001**, *915*, 217–223.
42. Andreani, A. et al. Synthesis and chemiluminescent high throughput screening for inhibition of acetylcholinesterase activity by imidazo[2,1-b] thiazole derivatives. *Eur. J. Med. Chem*; **2005**, *40*, 1331–1334. doi: 10.1016/j.ejmech.2005.05.010.
43. Ellman, G. L.; Courtney, K. D.; Andres, V. & Featherstone, R. M. A new and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. *Biochem. Pharmacol*; **1961**, *7*, 88–95.
44. Mckenzie, A.; Walker, N. LXXXVIII.—Optically active derivatives of phenylaminoacetic acid. *J. Chem. Soc.* **1928**, 646-652.
45. Villalobos-Molina, R.; Gallardo-Ortiz, I.; Reyes-Ramírez, A. N.; Pyrroloisoindolones New Inhibitors of the Angiotensin Converter Enzyme (ACEI) for the Treatment of Arterial Hypertension. Mex. Pat. Appl. 2018005359A; **2019**.
46. Andrade-Jorge, E.; Sánchez-Labastida, L. A.; Soriano-Ursúa, M. A.; Guevara-Salazar, J. A. & Trujillo-Ferrara, J. G. Isoindolines/isoindoline-1,3-diones as AChE inhibitors against Alzheimer’s disease, evaluated by an improved ultra-micro assay. *Med. Chem. Res.* **2018**, *27*(9), 2187–2198. doi:10.1007/s00044-018-2226-5.
47. Andrade-Jorge, E.; Rivera-Sánchez, F.; Rodríguez, J. E. et al. Isoindolone derivatives as novel potential anti-Alzheimer’s candidates: synthesis, in silico, and AChE

- inhibitory activity evaluation. *Med. Chem. Res.* 2022, <https://doi.org/10.1007/s00044-022-02884-0>.
48. Sánchez-Antonio, O.; González-Olvera, R.; Aguilera-Cruz A.; Reyes-Ramírez A.; Juaristi, E. Synthesis of novel isoindolone derivatives via cascade reactions. Contrasting diastereoselectivity under solution-phase vis-à-vis solvent-free ball-milling reaction conditions. *Tetrahedron*; **2019**, *75*, 130594.
 49. Bose, A.; Greer, F.; Price, C. A procedure for phtaloylation under mild conditions. *J. Am. Chem. Soc.*; **1958**, *23*, 1335–1338.
 50. Furniss, B.; Hannaford, A.; Smith, P.; Tatchell A. Vogel's Textbook of practical organic chemistry. 5ª edición. Inglaterra: Longman Scientific and Technical; **1989**, 472, 681, 1281.
 51. Brenner von M & Huber W. 137. Herstellung von α -Aminosäureestern durch Alkohololyse der Methylster. *Helvetica Chimica Acta*; **1953**, XXXVI, 1109-1115.
 52. Mouselmani, R. Da Silva, E. Lamaire, M. Dimethyl sulfite a potential agent for methylation. *Tetrahedron*; **2015**, *71*, 8905-8910.
 53. Hosangadi, B. D.; Dave, R. H. An Efficient General Method for Esterification of Aromatic Carboxylic Acid. *Tetrahedron*; **1996**, *37*(35), 6375-6378.
 54. Bruckner, R. Advanced Organic Chemistry: Reaction mechanism. EUA: Harcourt/Academic press; **2002**, p. 238–239, 430–432
 55. McMurry, J. Química orgánica, 7ª edición. México: CENGAGE Learning; **2008**, 246, 808–812.
 56. Pandey, J.; Dwivedi, N.; Singh, N.; Srivastava, A. K.; Tamarkar, A. & Tripathi, R. P. Diastereoselective synthesis of glycosylated prolines as α -glucosidase inhibitors and organocatalyst in asymmetric aldol reaction. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letter*; **2007**, *17*(5), 1321–1325. doi: 10.1016/j.bmcl.2006.12.002.
 57. Técnicas y Operaciones Avanzadas en el Laboratorio Químico (TALQ) [Internet]; [actualizado en abril 2014; citado el 06 de diciembre 2021]. Disponible en: <http://www.ub.edu/talq/es/node/216>
 58. Carey, F. A.; Sundberg, R. J. Advanced Organic Chemistry. Part B: Reactions and synthesis. 5ª edición. USA: Springer; **2007**, p. 368-374.

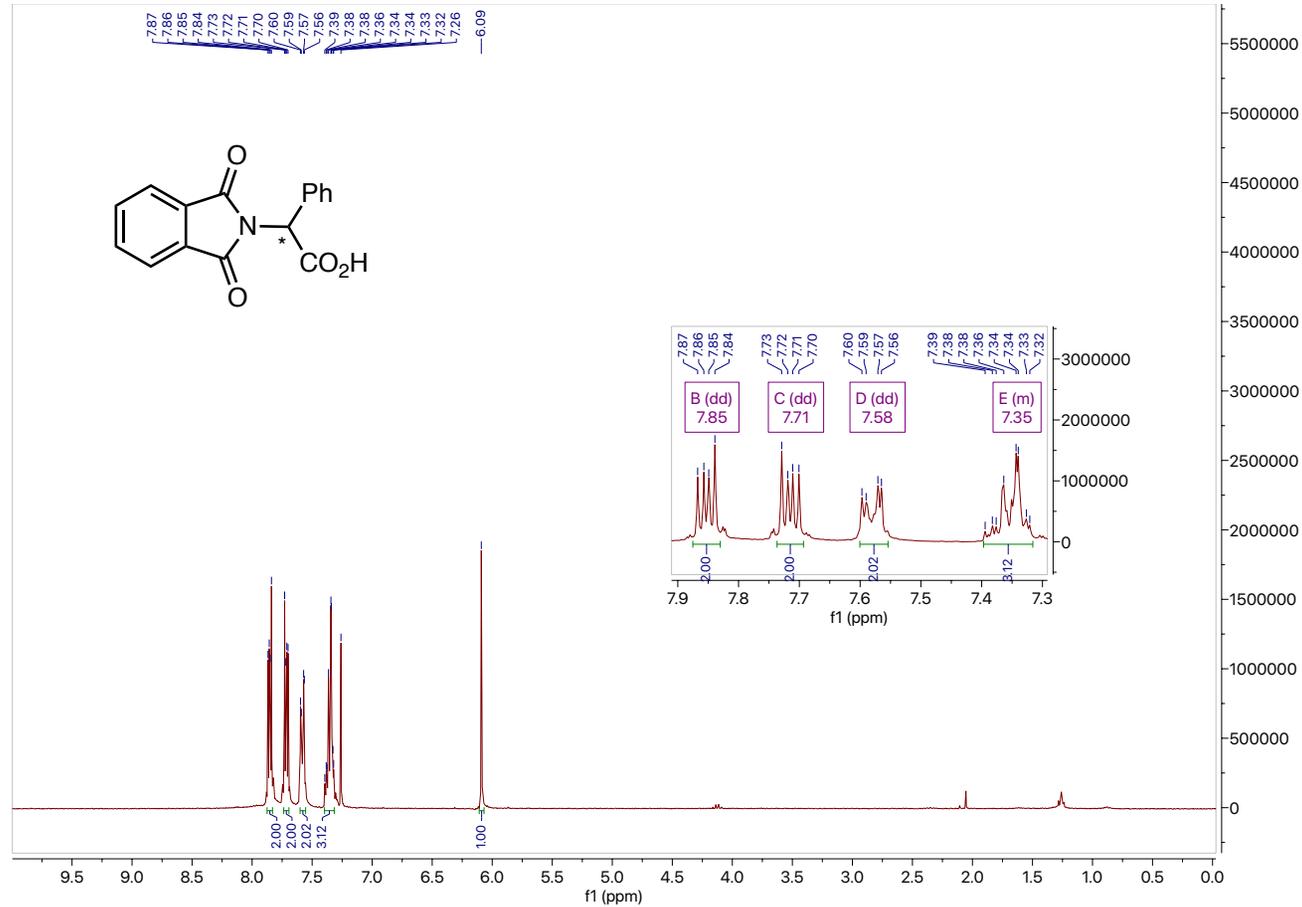
59. Iqbal, D.; Khan, M. S.; Waiz, M.; Rehman, M. T.; Alaidarous, M.; Jamal, A.; Alothaim, A. S.; AlAjmi, M. F.; Alshehri, B. M.; Banawas, S.; Alsaweed, M.; Madkhali, Y.; Algarni, A.; Alsagaby, S. A. & Alturaiki, W. Exploring the Binding Pattern of Geraniol with Acetylcholinesterase through *In Silico* Docking, Molecular Dynamics Simulation, and In Vitro Enzyme Inhibition Kinetics Studies. *Cells*; **2021**, *10*(12), 3533. <https://doi.org/10.3390/cells10123533>
60. Li, S.; Li, A. J.; Travers, J.; Xu, T.; Sakamuru, S.; Klumpp-Thomas, C.; Huang, R. & Xia, M. Identification of Compounds for Butyrylcholinesterase Inhibition. *SLAS discovery: advancing life sciences R & D*; **2021**, *26*(10), 1355–1364. <https://doi.org/10.1177/24725552211030897>

BIBLIOGRAFÍA

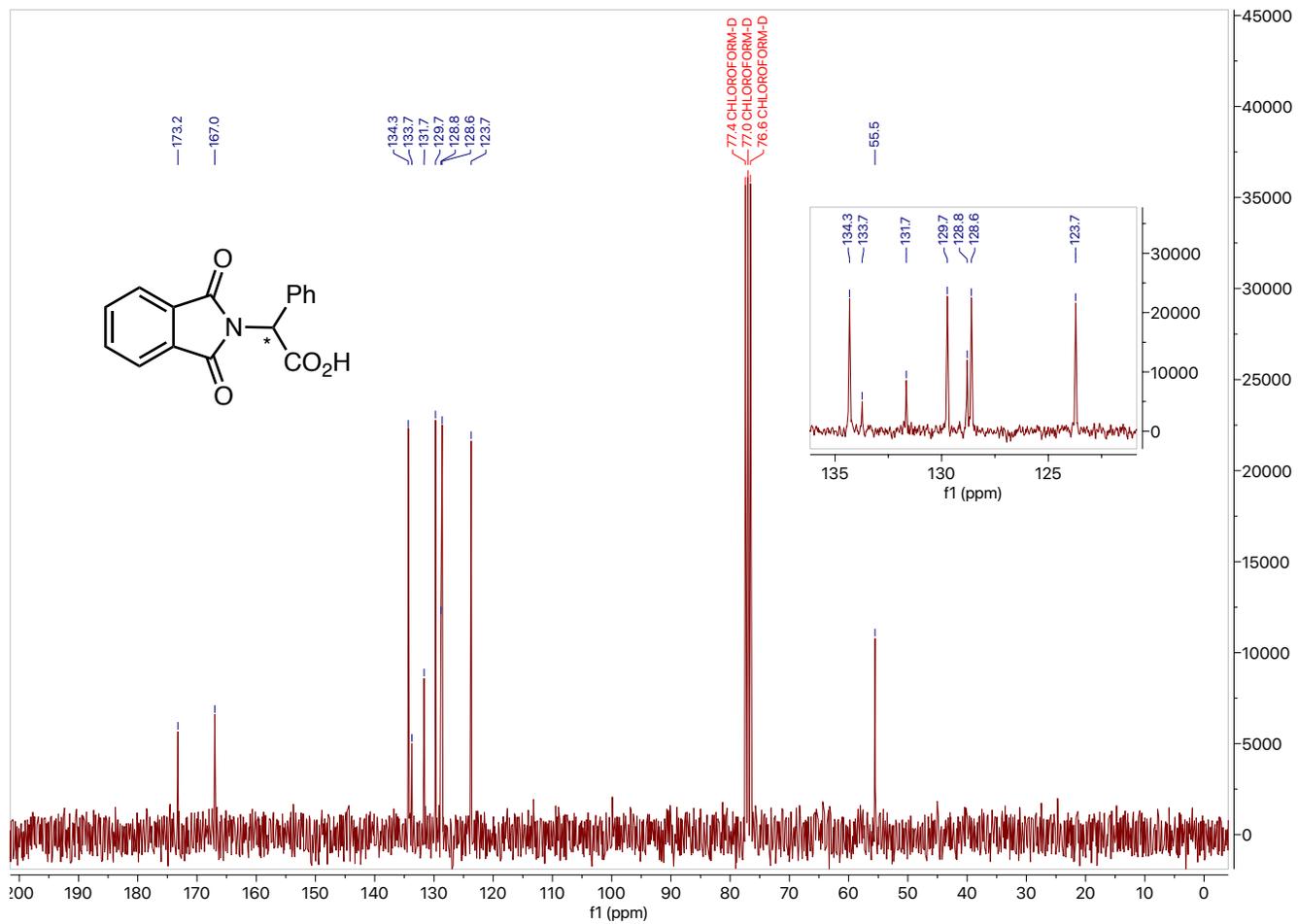
1. PubChem [internet] **2004** [consultado el 13 de junio de 2021]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3152>
2. PubChem [internet] **2004** [consultado el 13 de junio de 2021]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/9651>
3. PubChem [internet] **2004** [consultado el 13 de junio de 2021]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/77991>
4. PubChem [internet] **2004** [consultado el 13 de junio de 2021]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1935>
5. RCSB PDB [internet] **2000** [consultado el 13 de junio de 2021]. Disponible en: <https://www.rcsb.org/structure/1C2O>
6. RCSB PDB [internet] **2017** [consultado el 13 de junio de 2021]. Disponible en: <https://www.rcsb.org/structure/6EQQ>

ANEXOS

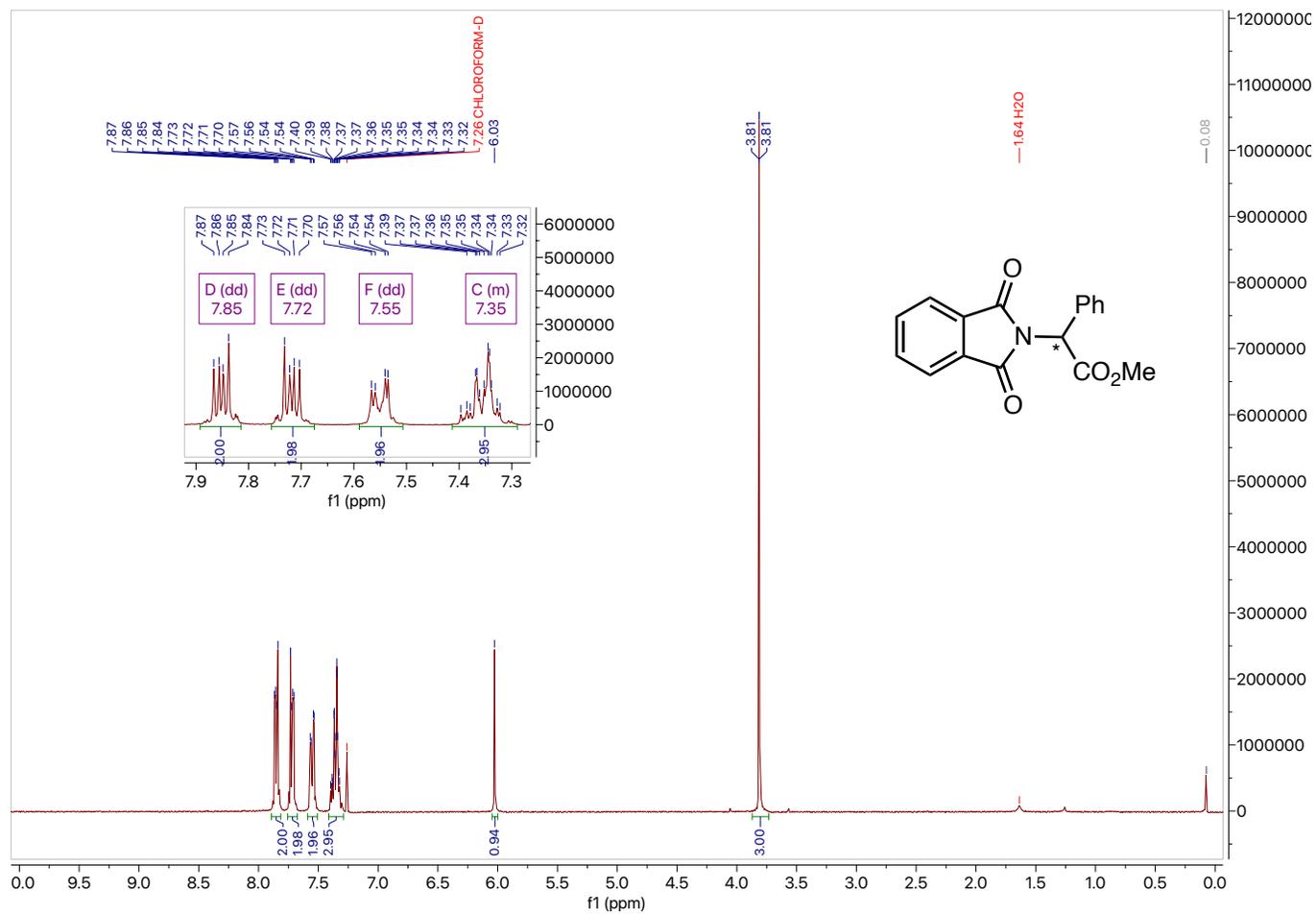
ANEXO 1. Espectros de RMN ^1H y RMN ^{13}C



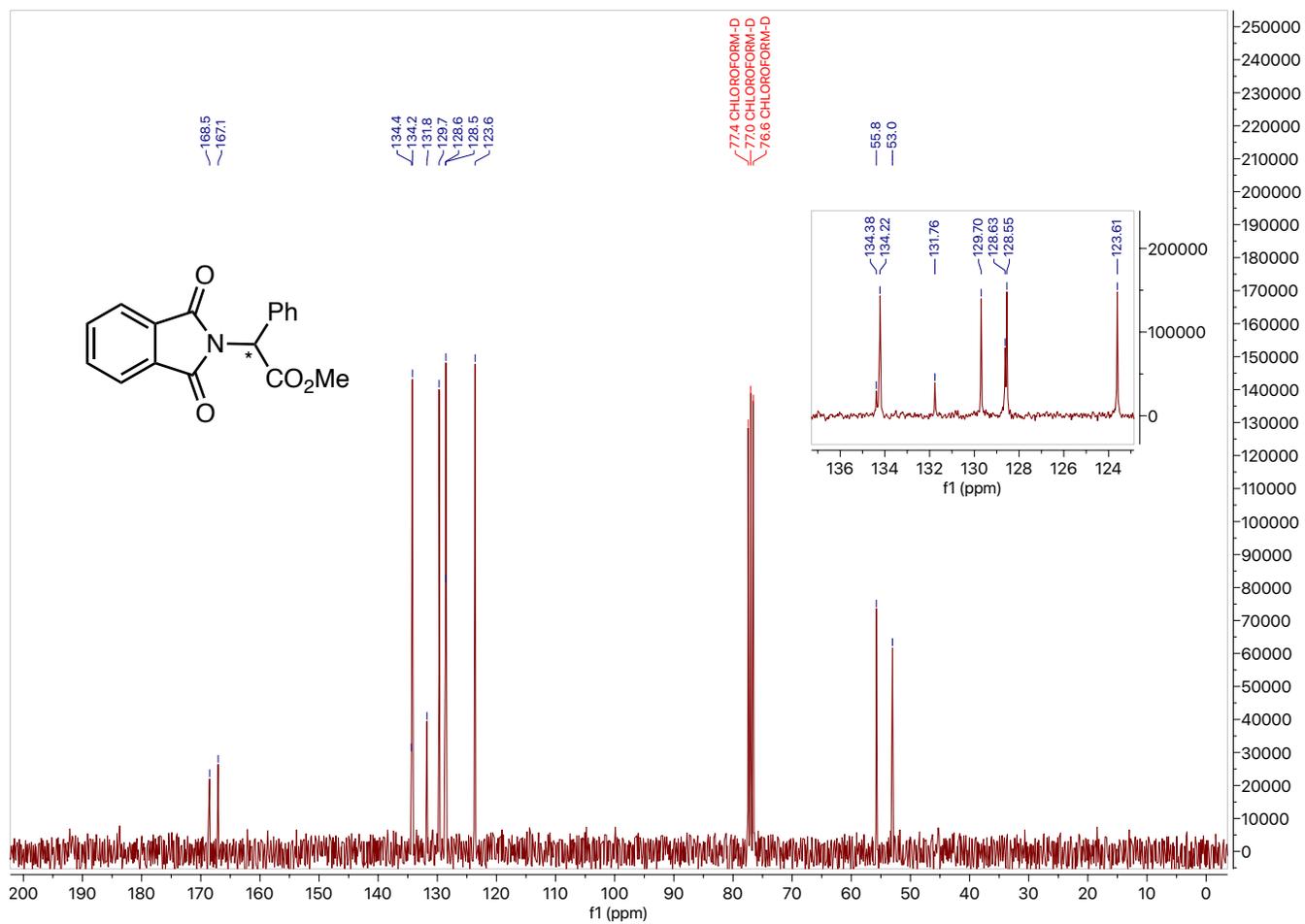
Espectro 1. RMN ^1H (301 MHz, CDCl_3) del compuesto [rac-1](#).



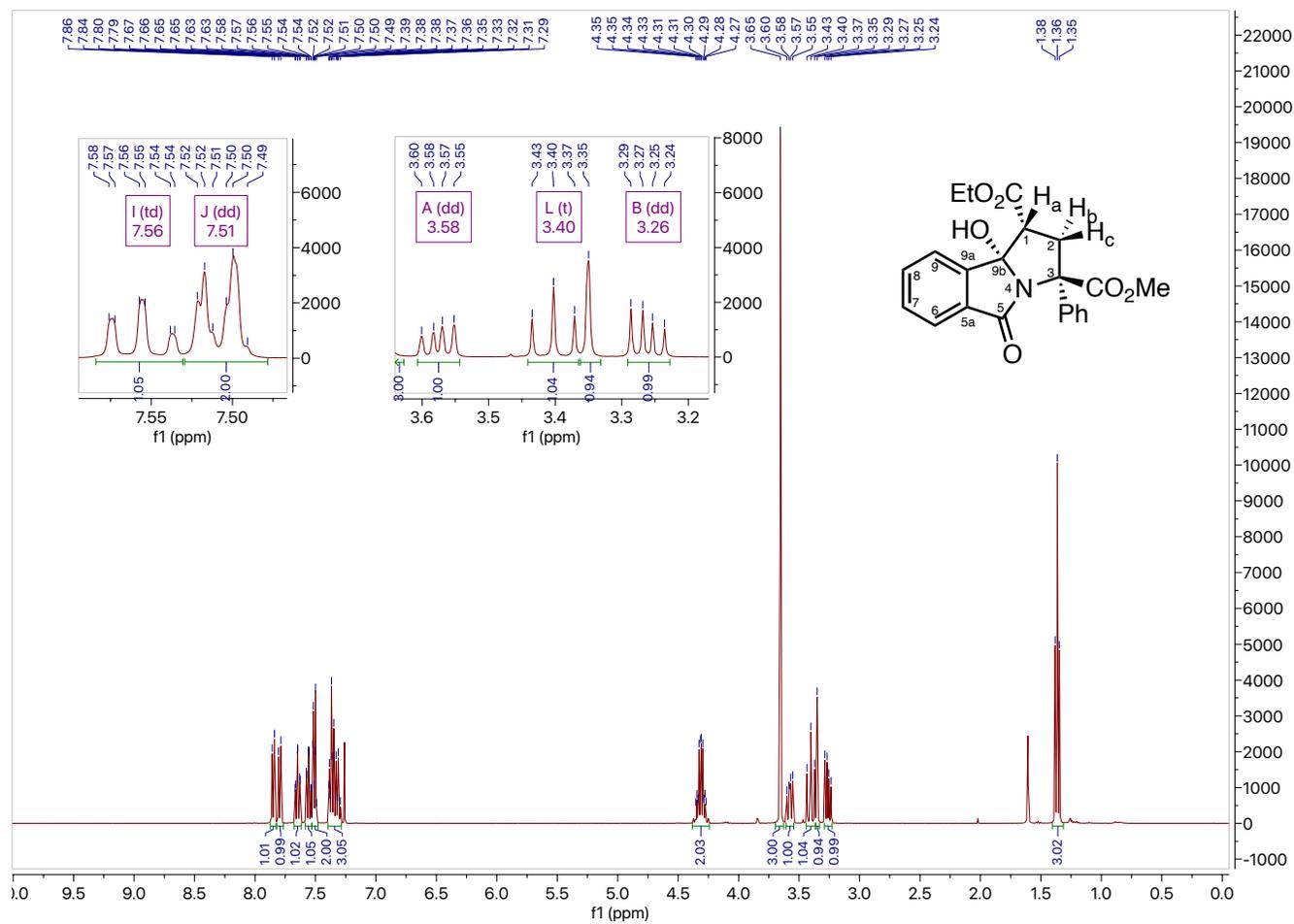
Espectro 2. RMN ¹³C (76 MHz, CDCl₃) del compuesto *rac*-1.



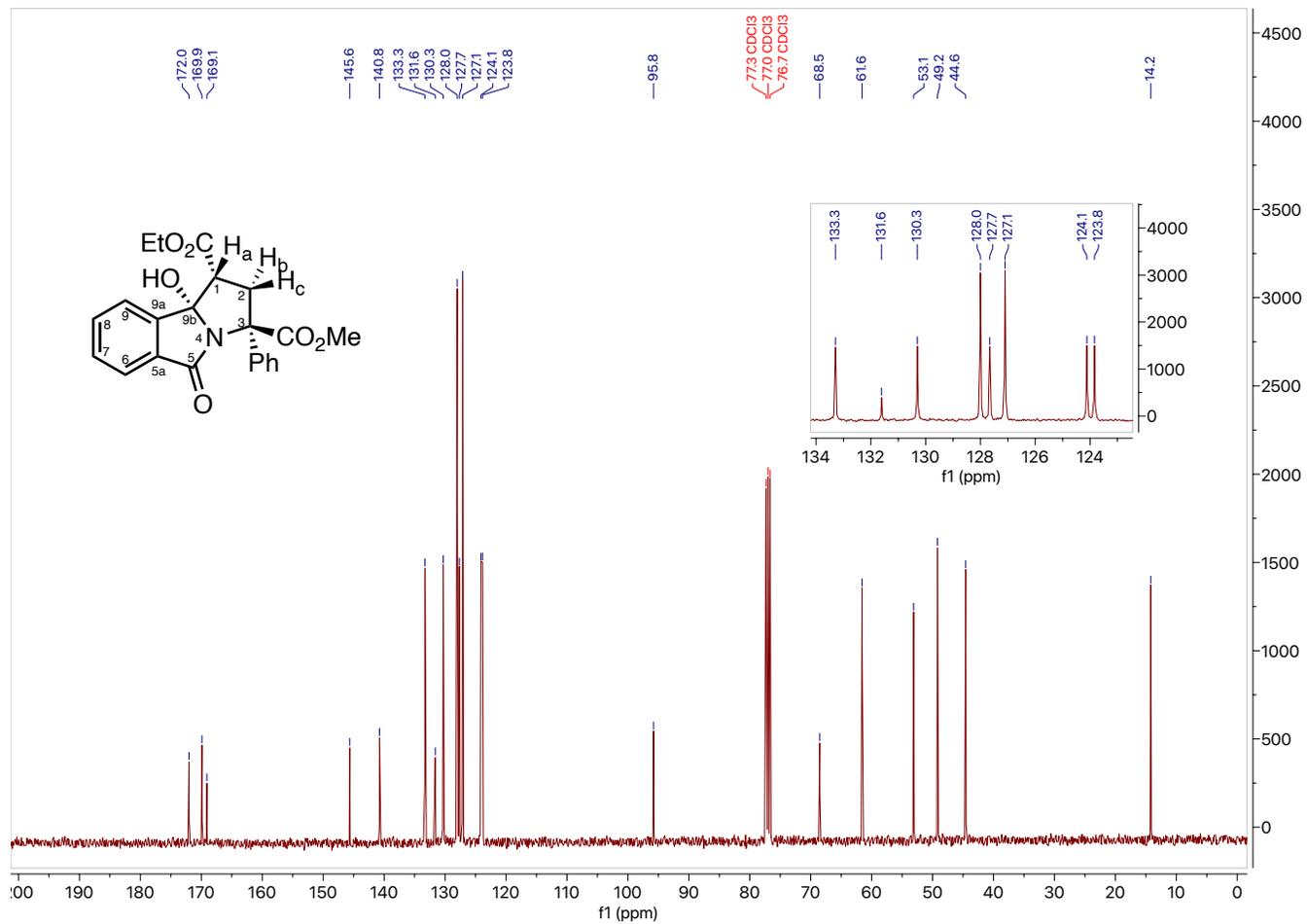
Espectro 3. RMN 1H (301 MHz, CDCl₃) del compuesto *rac-2*.



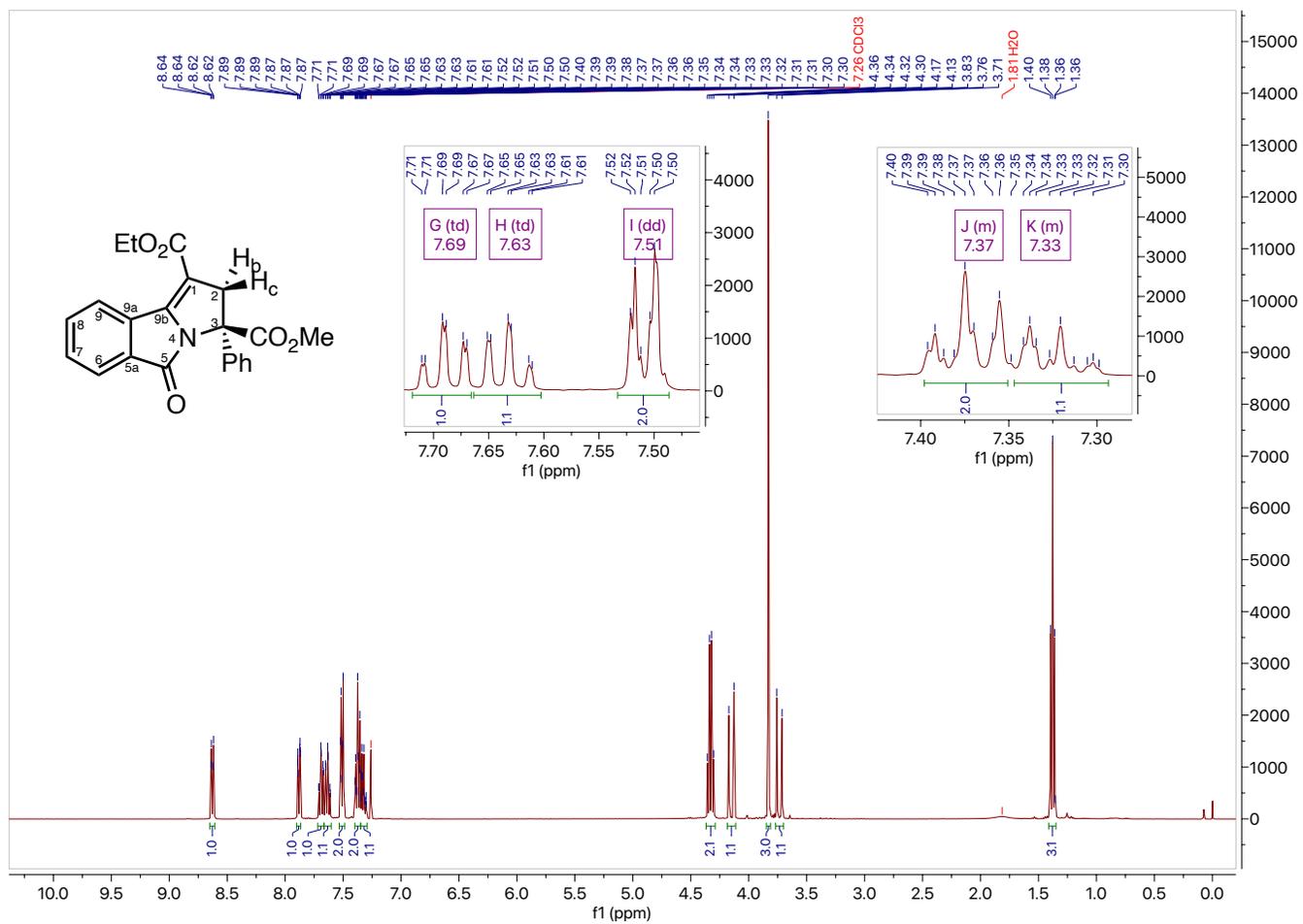
Espectro 4. RMN ¹³C (76 MHz, CDCl₃) del compuesto *rac-2*.



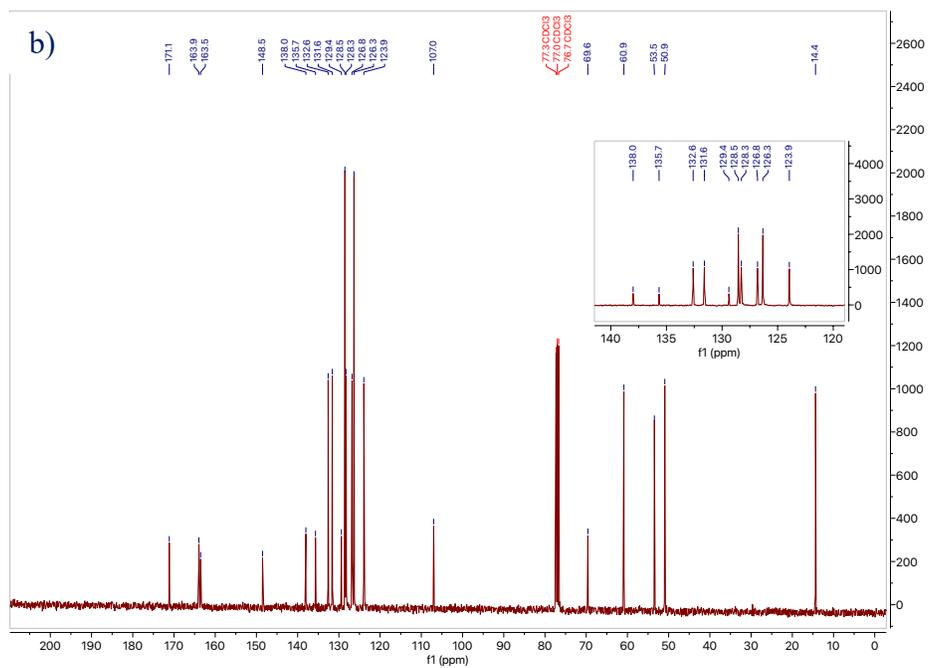
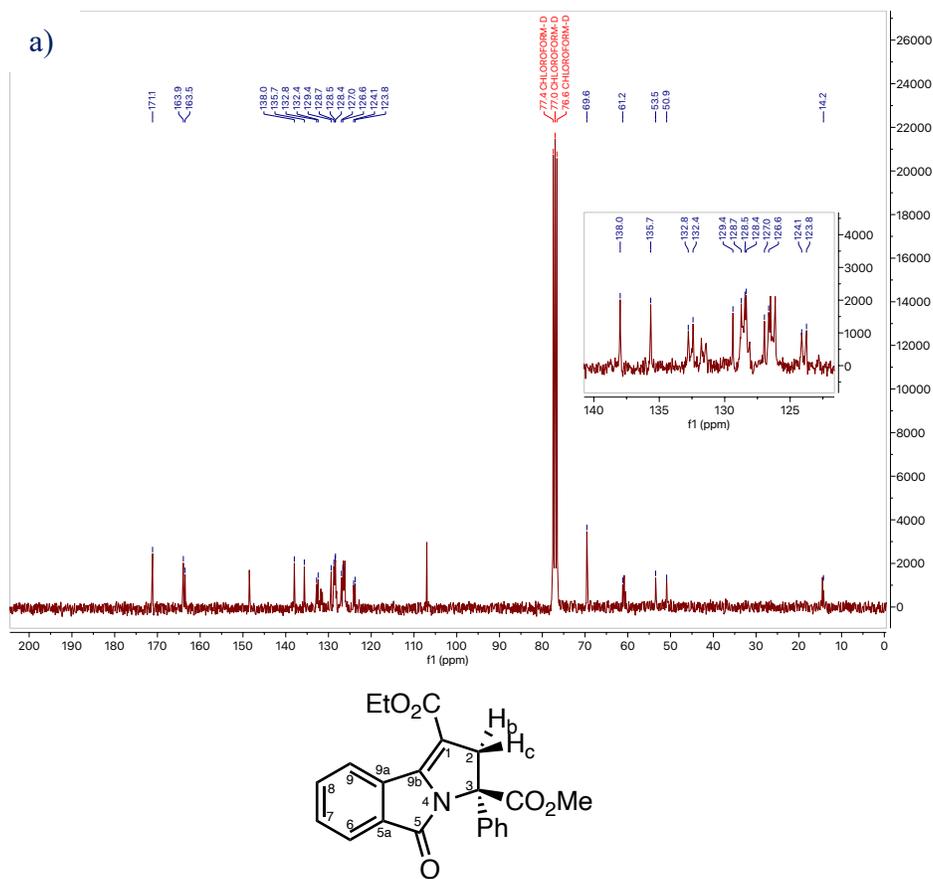
Espectro 5. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) del compuesto *rac-3*.



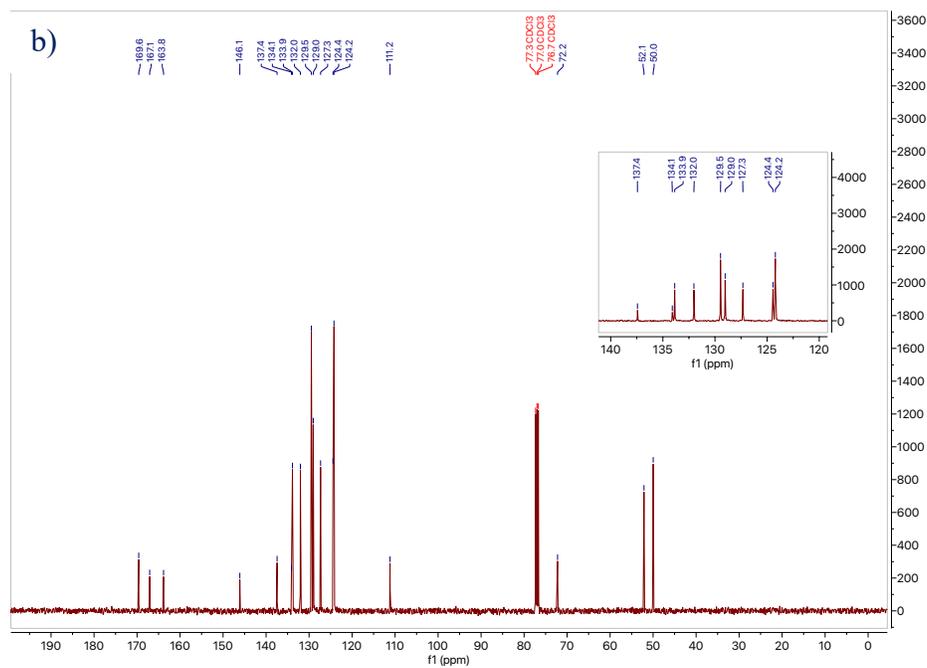
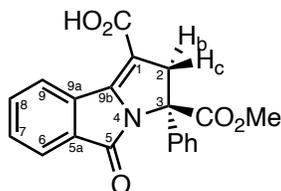
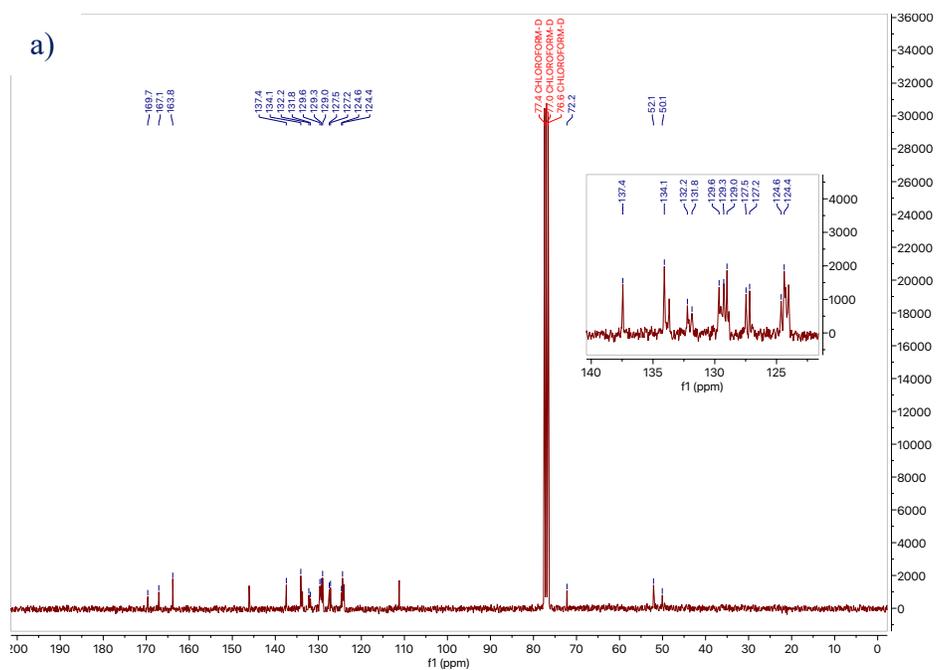
Espectro 6. RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) del compuesto [rac-3](#).



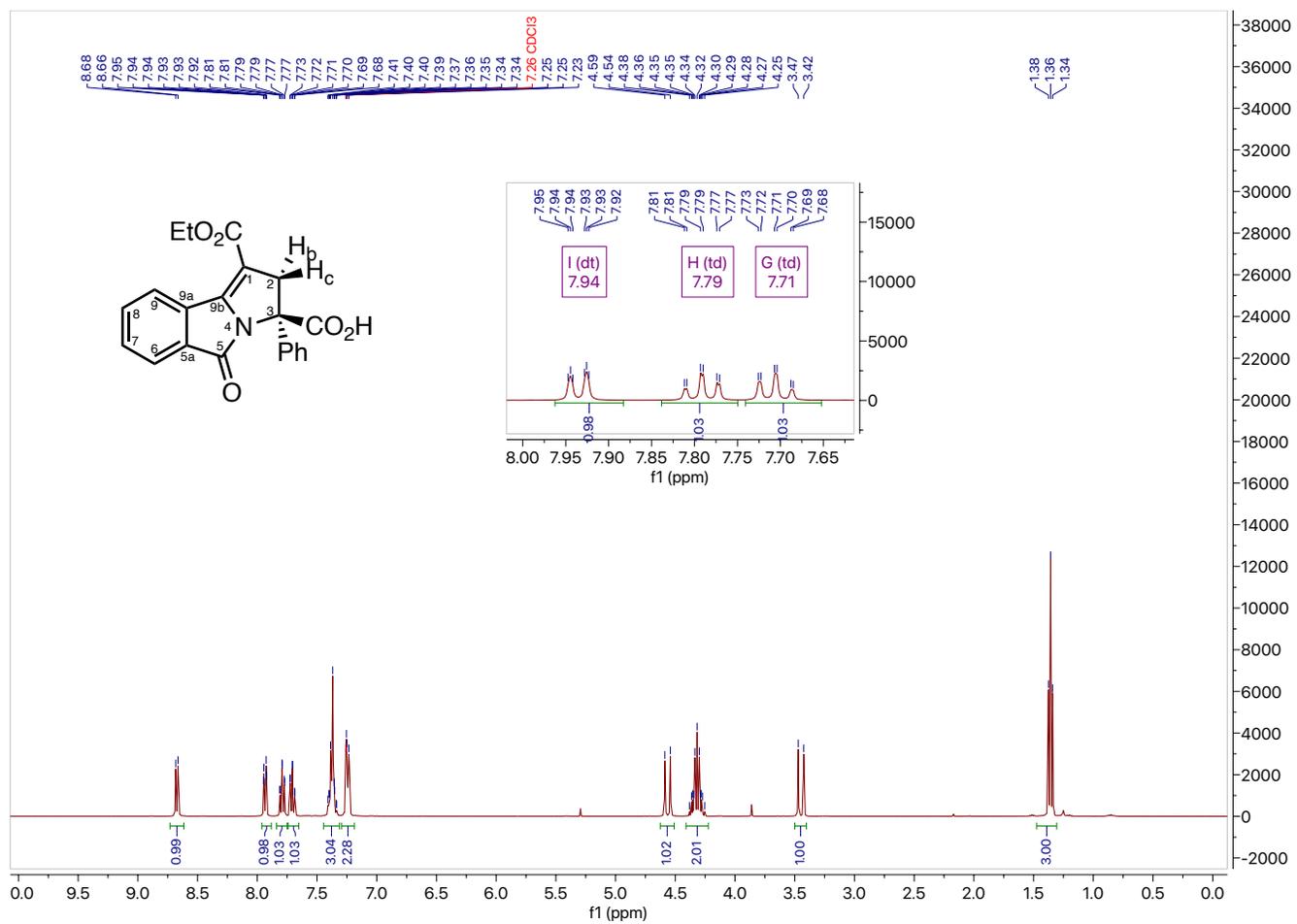
Espectro 7. RMN ^1H (301 MHz, CDCl_3) del compuesto *rac-4*.



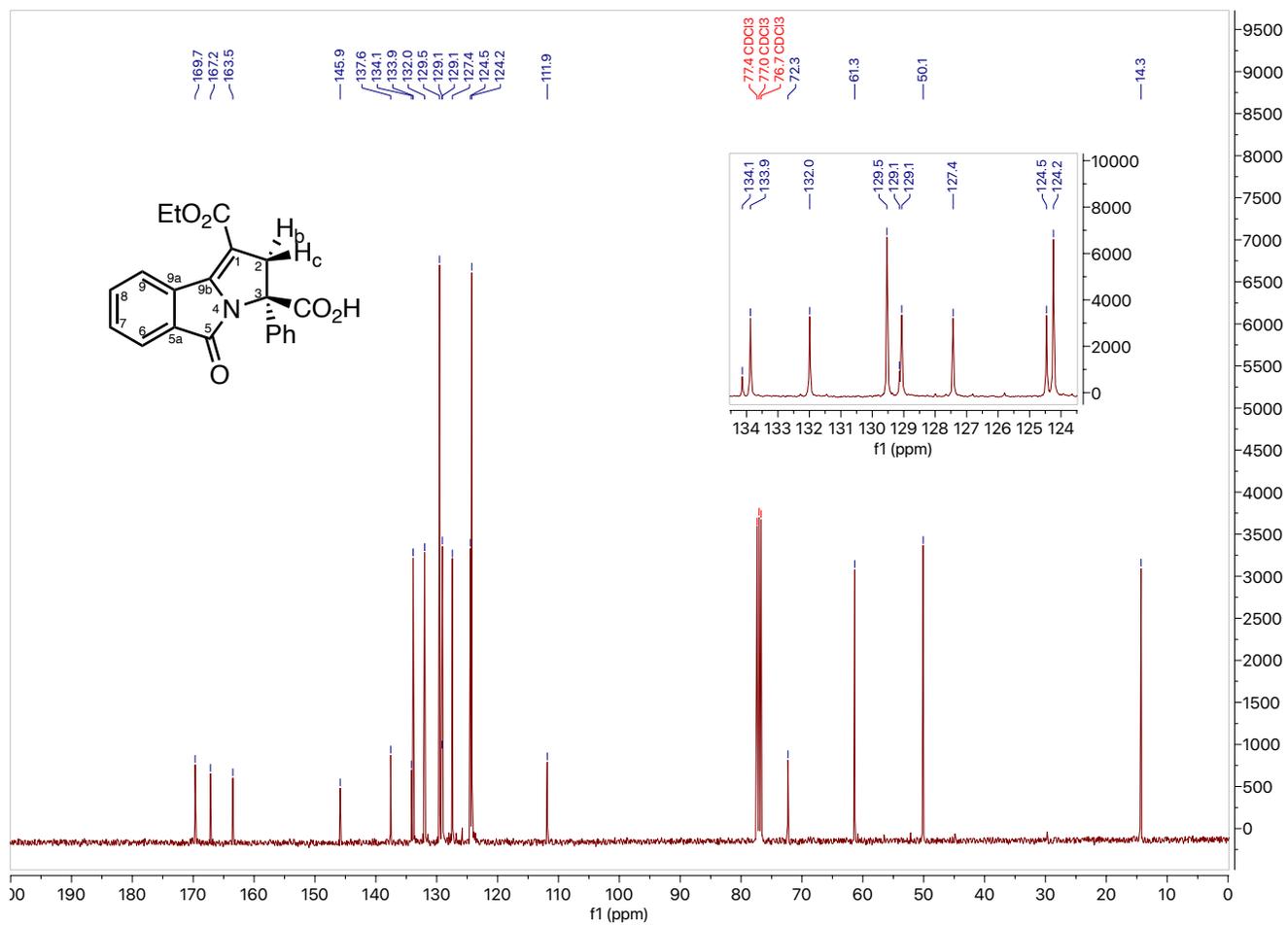
Espectro 8. a) RMN ^{13}C (76 MHz, CDCl_3). b) RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) del compuesto *rac-4*.



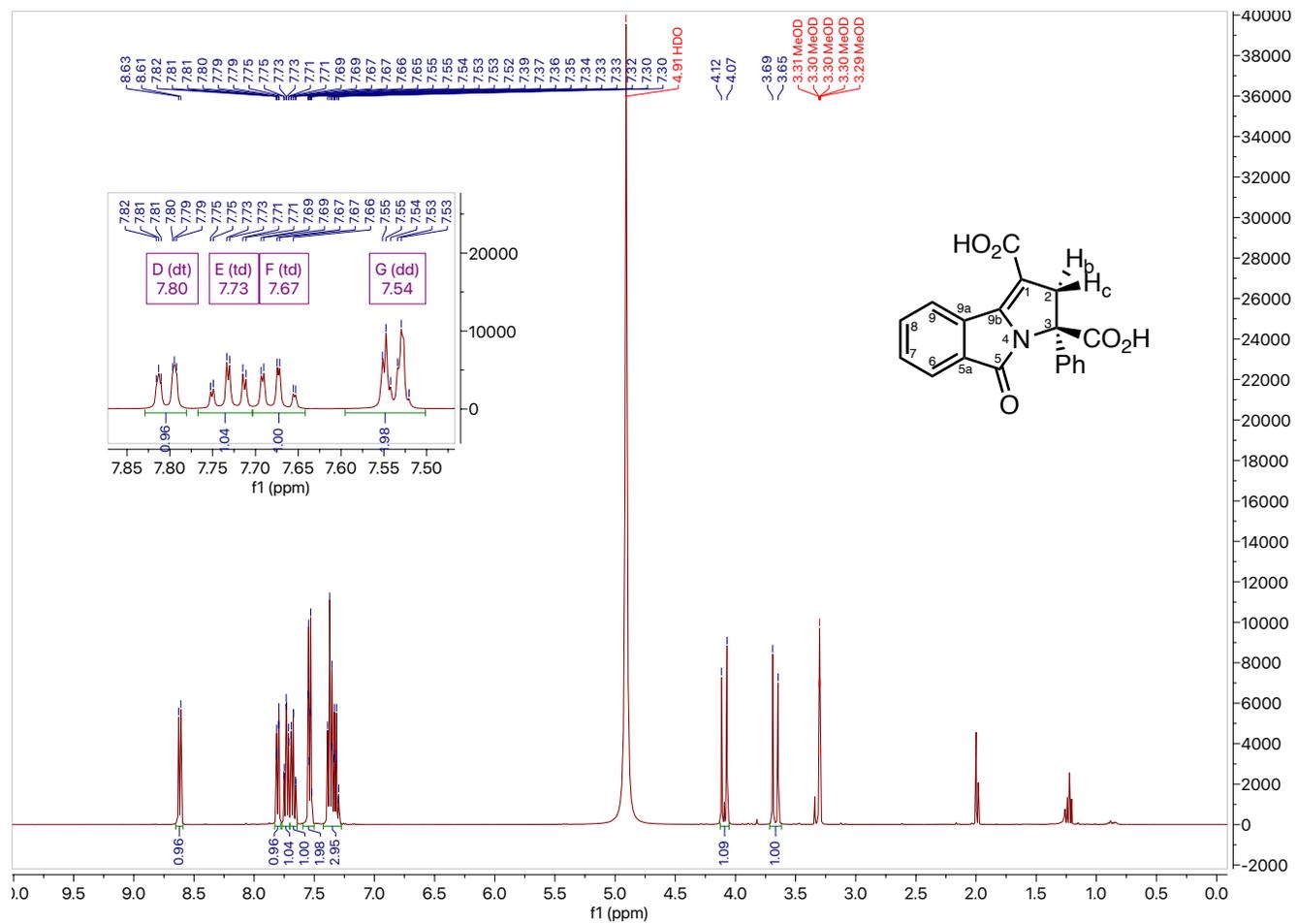
Espectro 10. a) RMN ^{13}C (76 MHz, CDCl_3). b) RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) del compuesto [rac-5](#).



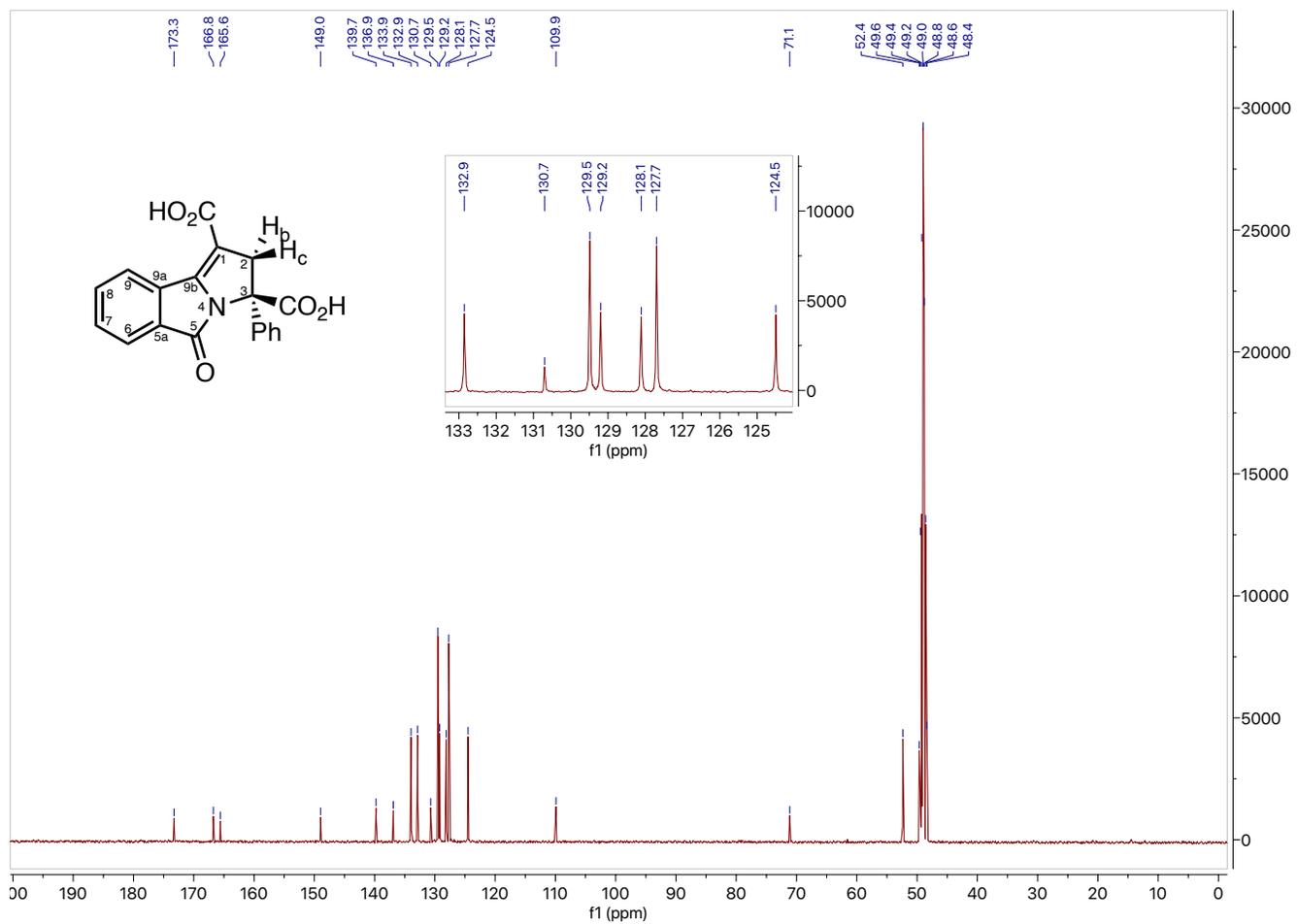
Espectro 11. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) del compuesto *rac-6*.



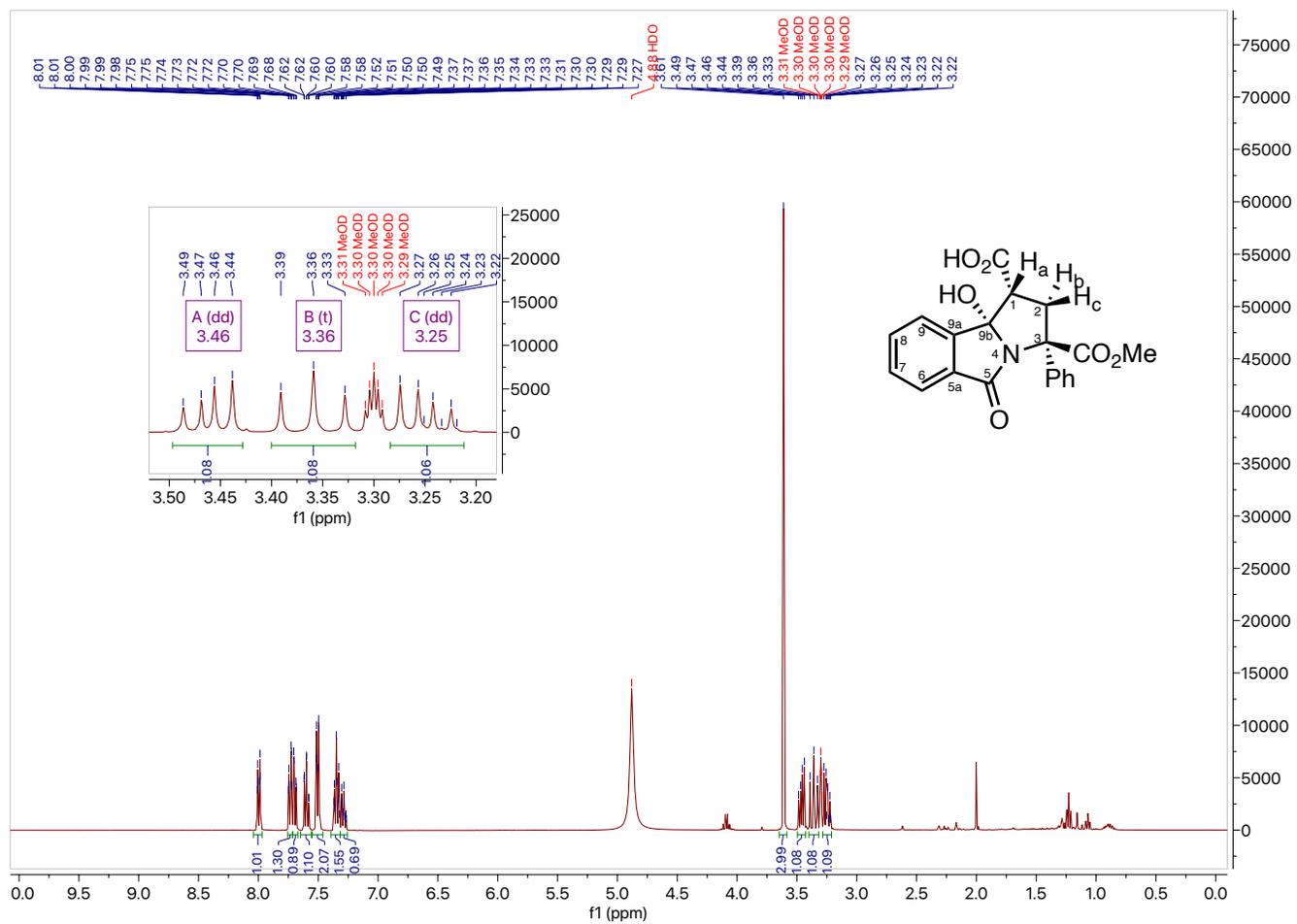
Espectro 12. RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) del compuesto *rac*-6.



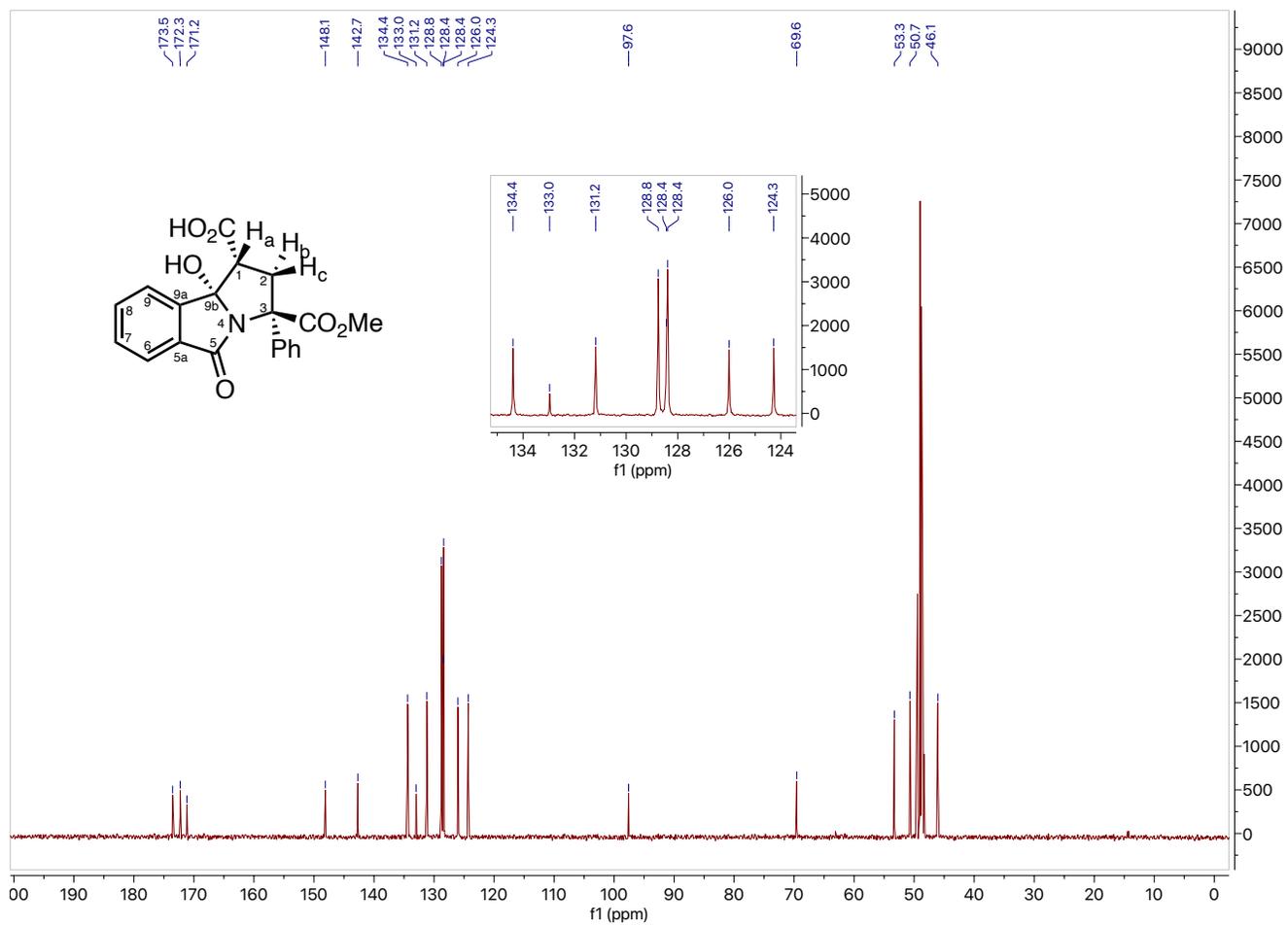
Espectro 13. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) del compuesto *rac-7*.



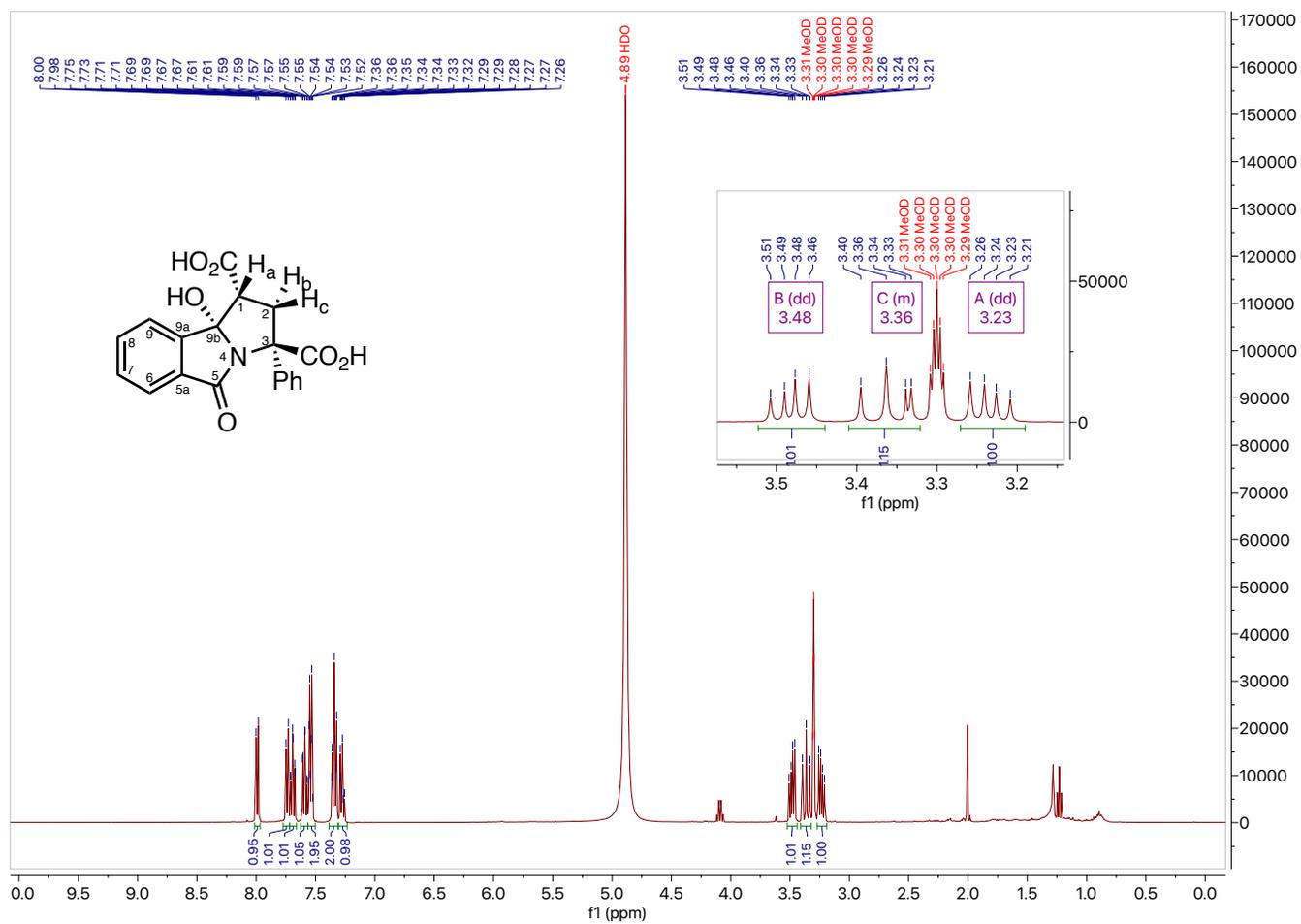
Espectro 14. RMN ¹³C (101 MHz, CD₃OD) del compuesto [rac-7](#).



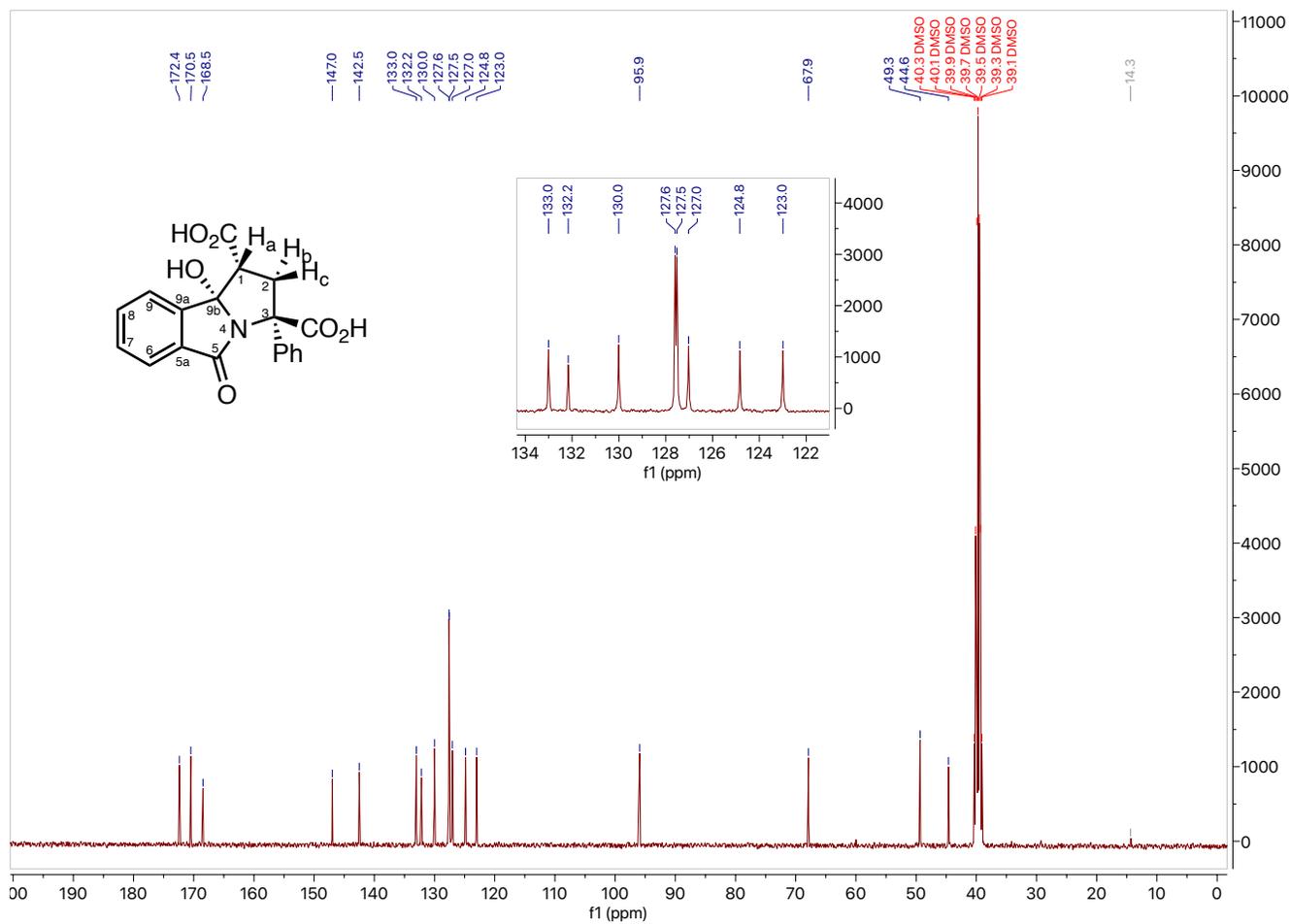
Espectro 15. RMN 1H (400 MHz, CD_3OD) del compuesto *rac-8*.



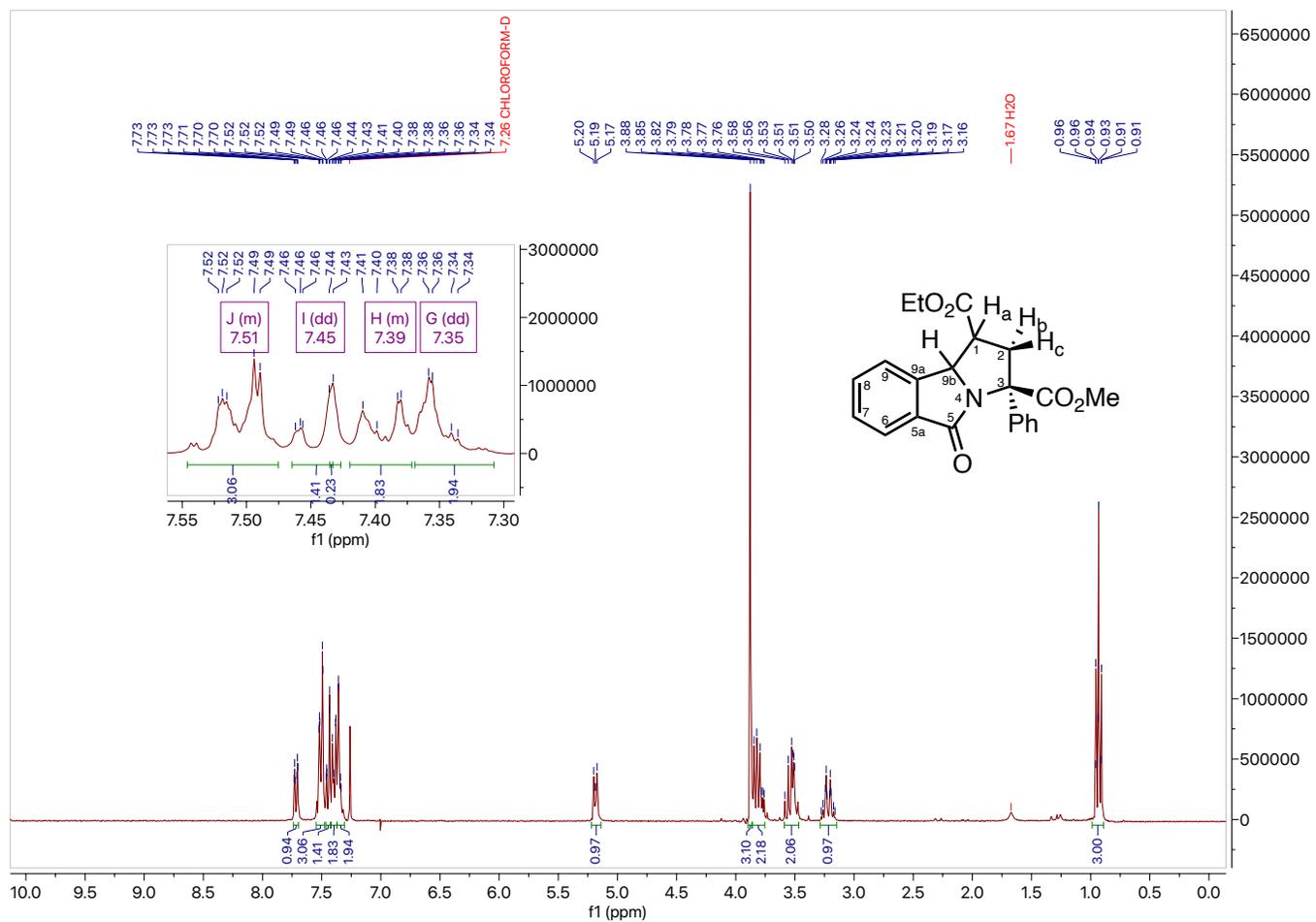
Espectro 16. RMN ^{13}C (101 MHz, CD_3OD) del compuesto *rac-8*.



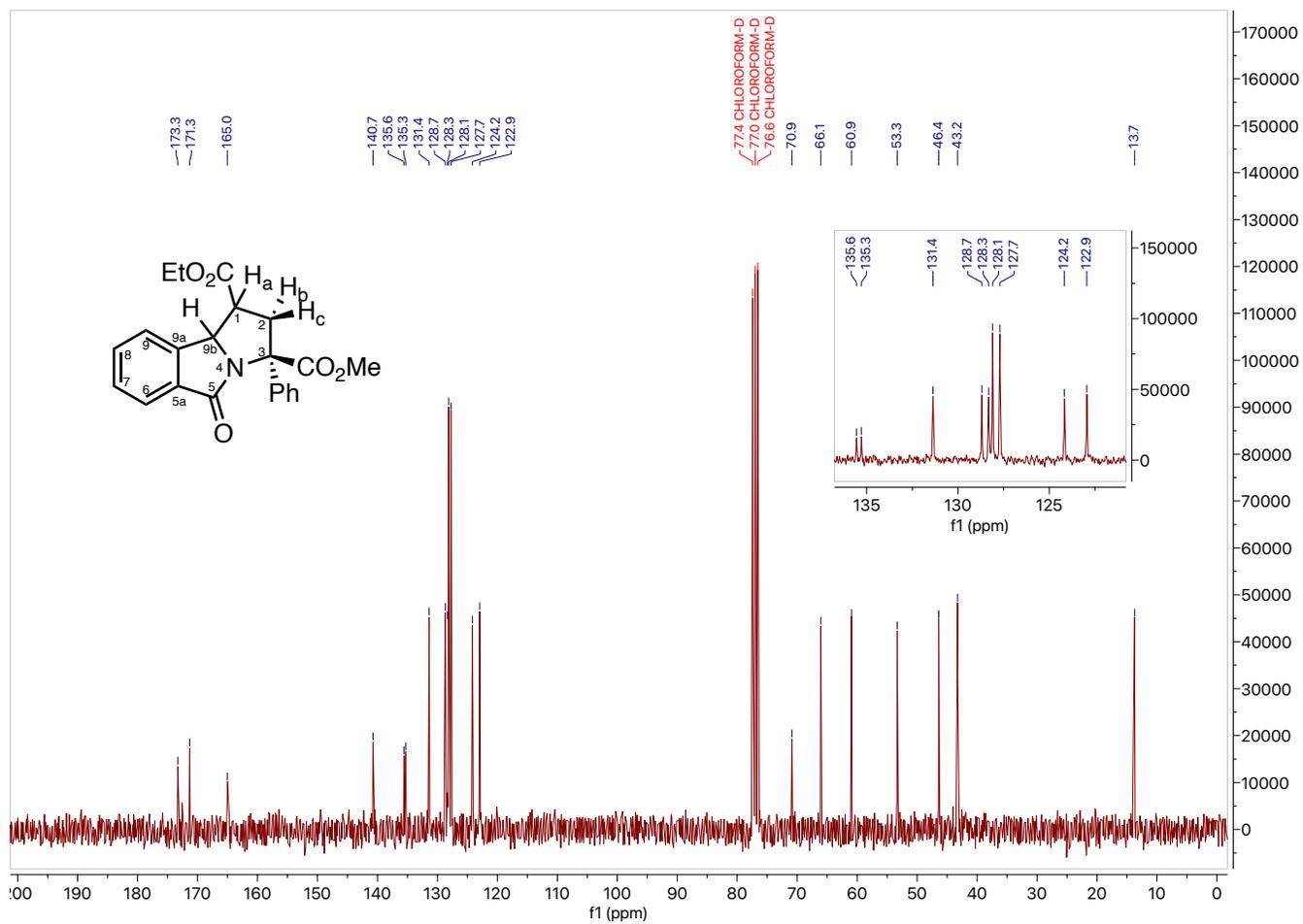
Espectro 17. RMN ^1H (101 MHz, CD_3OD) del compuesto *rac-9*.



Espectro 18. RMN ^{13}C (101 MHz, DMSO- D_6) del compuesto [rac-9](#).

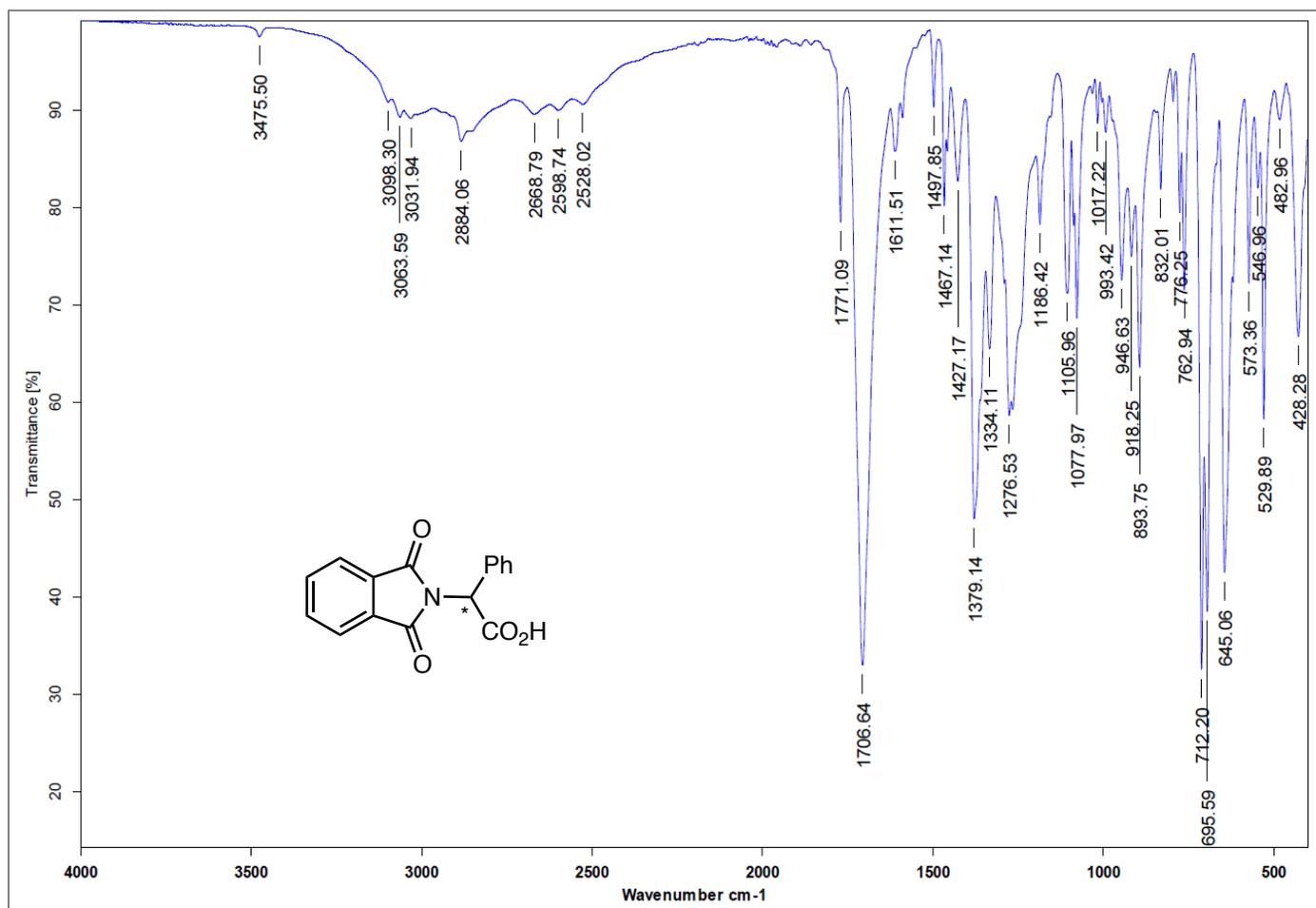


Espectro 19. RMN ¹H (301 MHz, CDCl₃) de la mezcla de los compuestos [rac-10](#) y [rac-11](#).

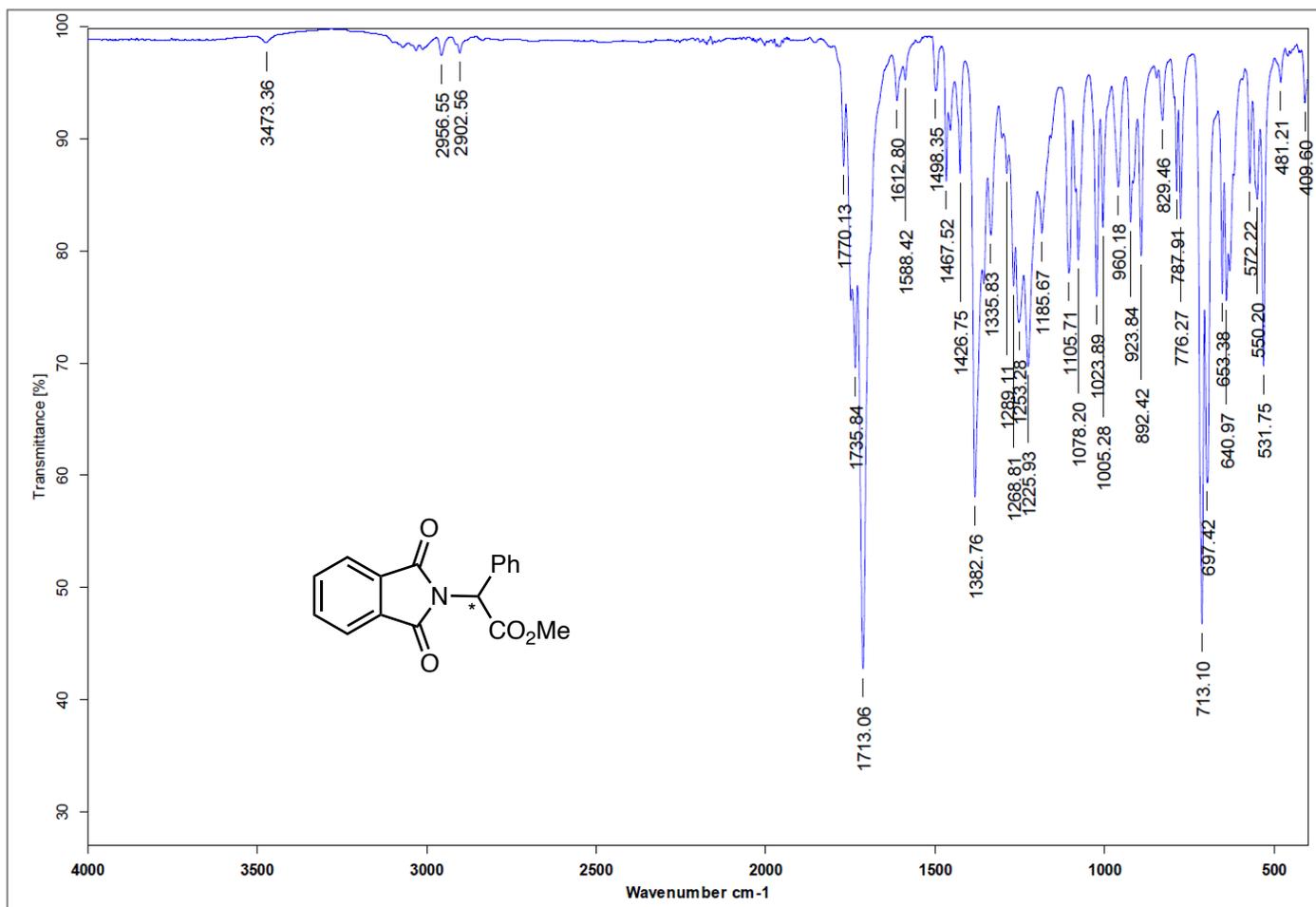


Espectro 20. RMN ¹³C (76 MHz, DMSO-D₆) de la mezcla de los compuestos [rac-10](#) y [rac-11](#).

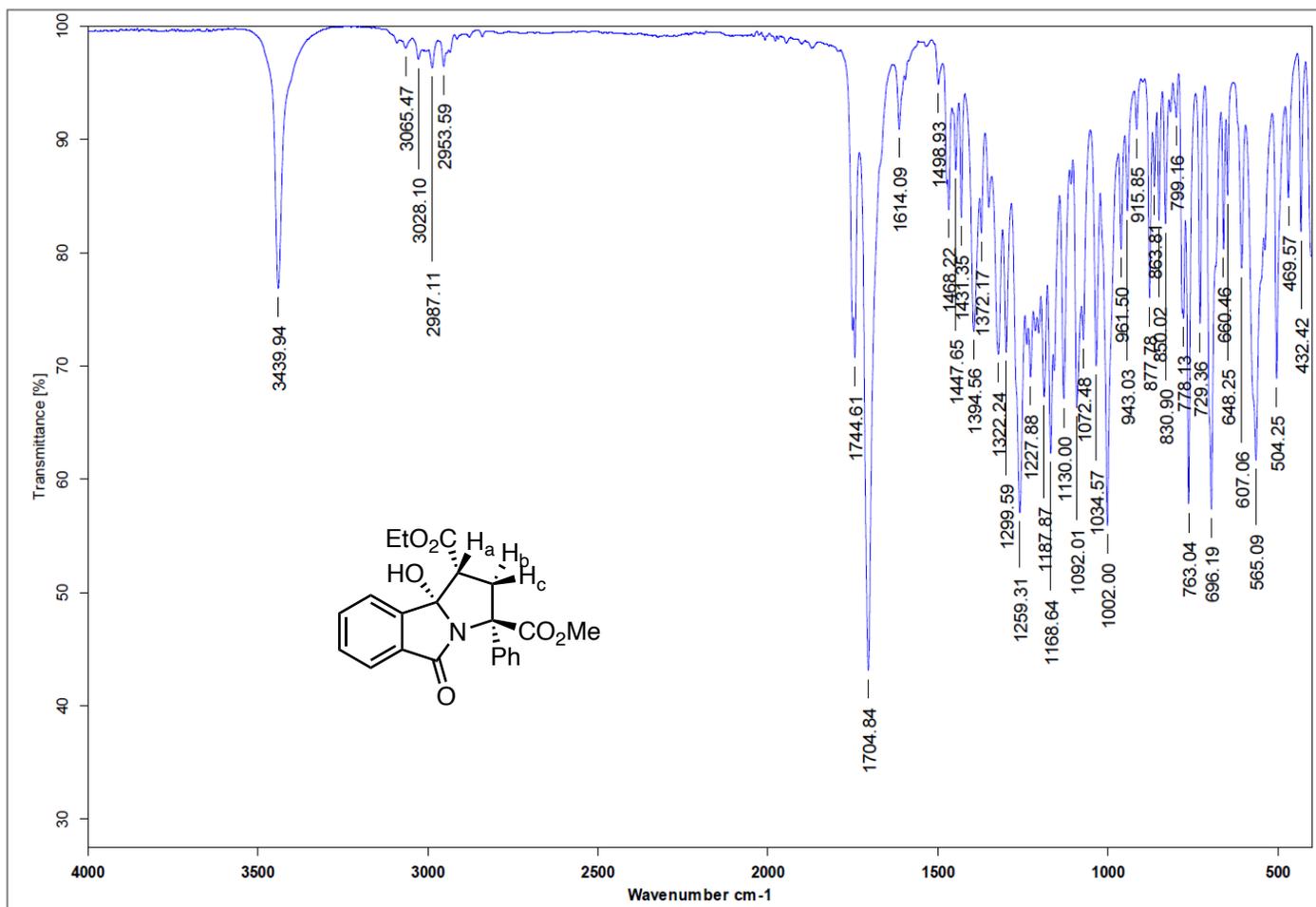
ANEXO 2. Espectros de IR



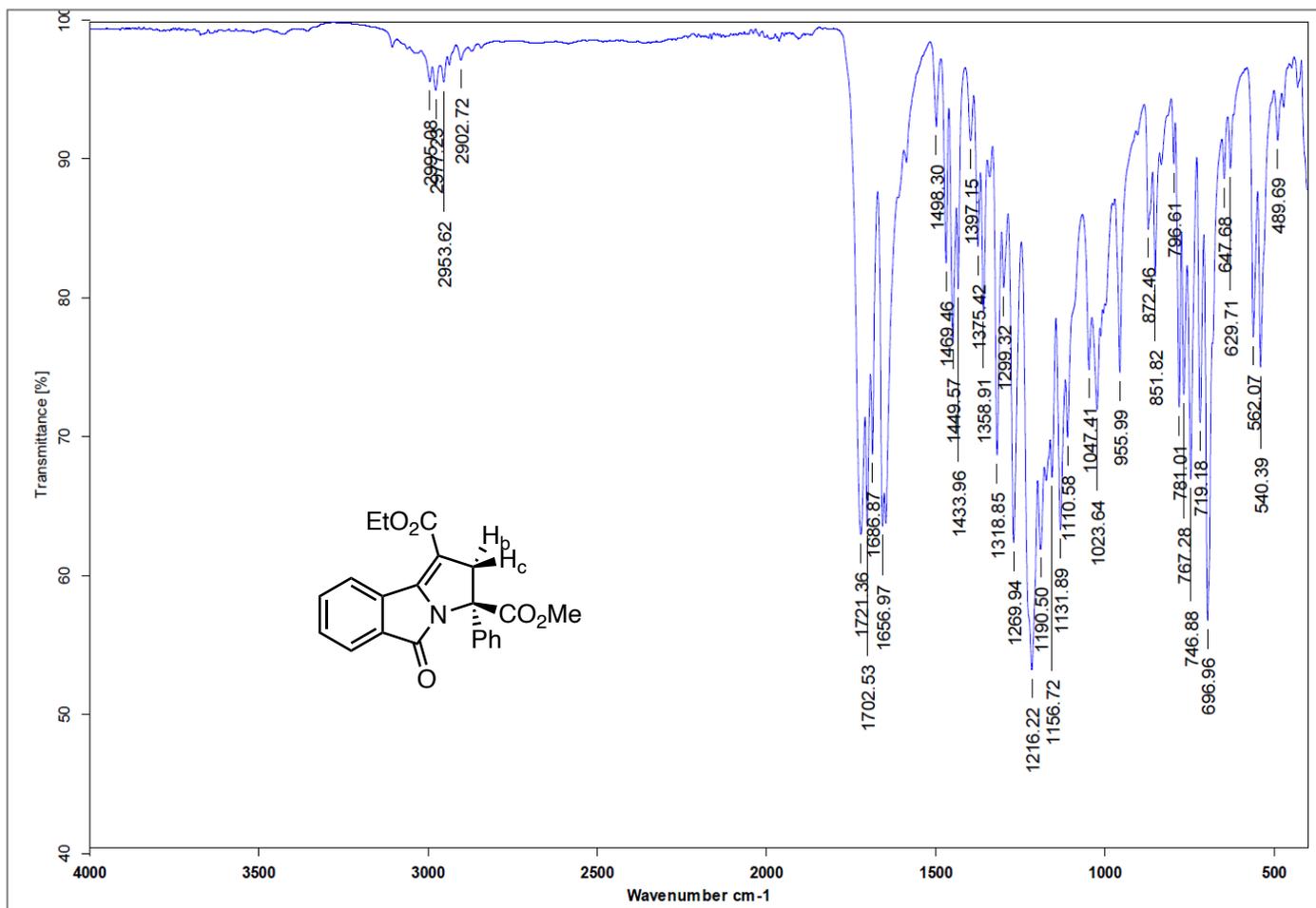
Espectro 21. FTIR- ATR del compuesto *rac-1*.



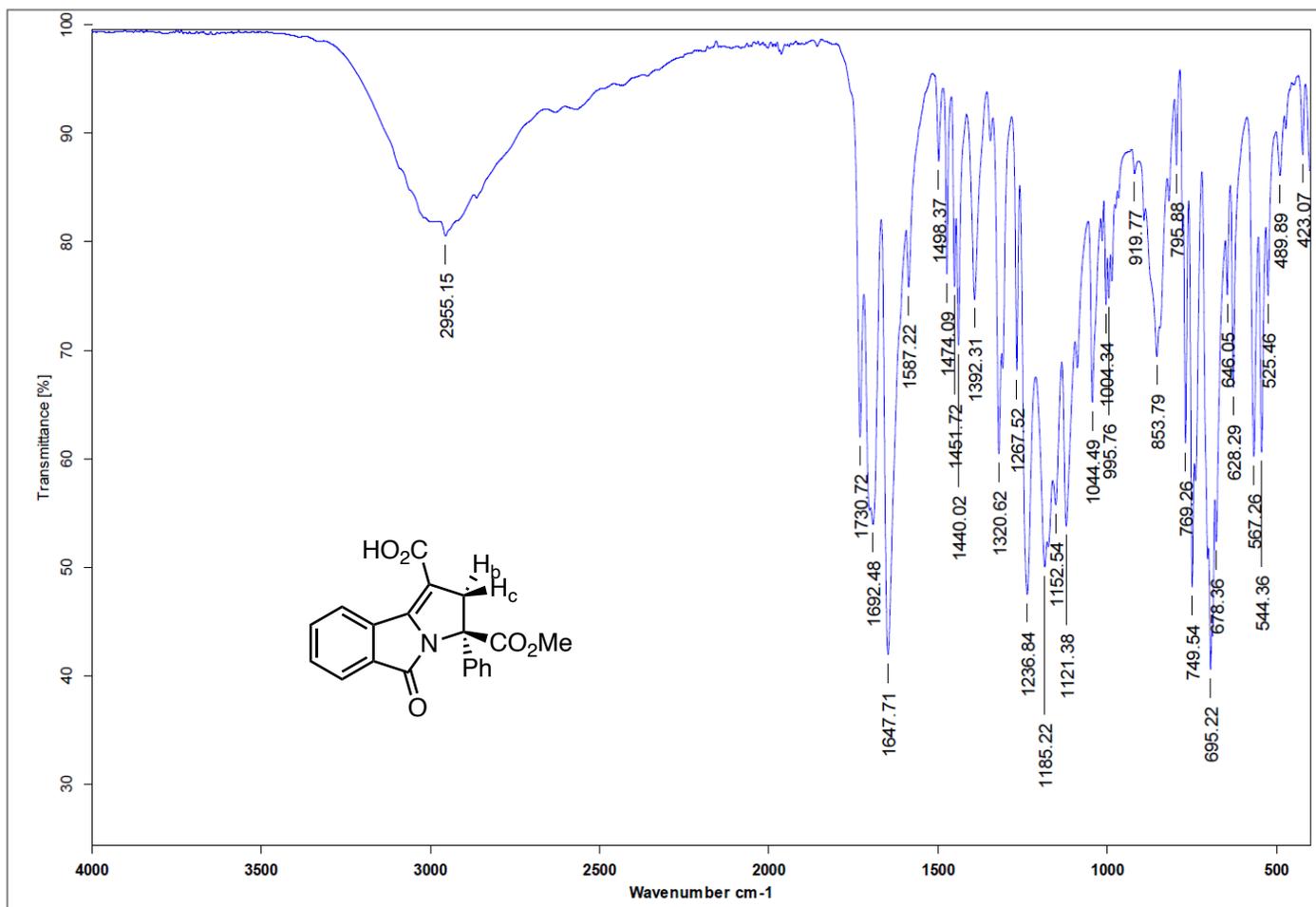
Espectro 22. FTIR- ATR del compuesto [rac-2](#).



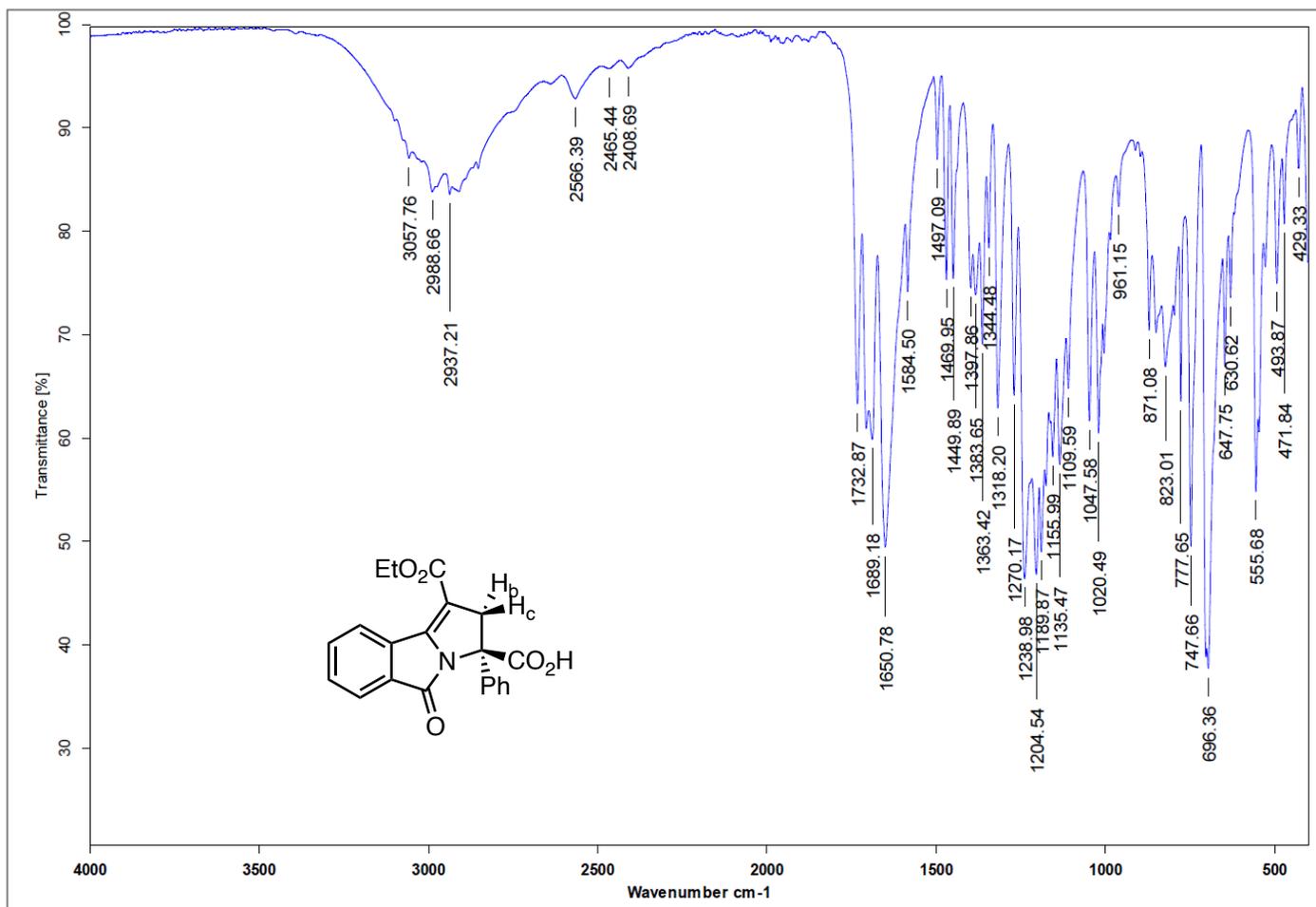
Spectro 23. FTIR- ATR del compuesto [rac-3](#).



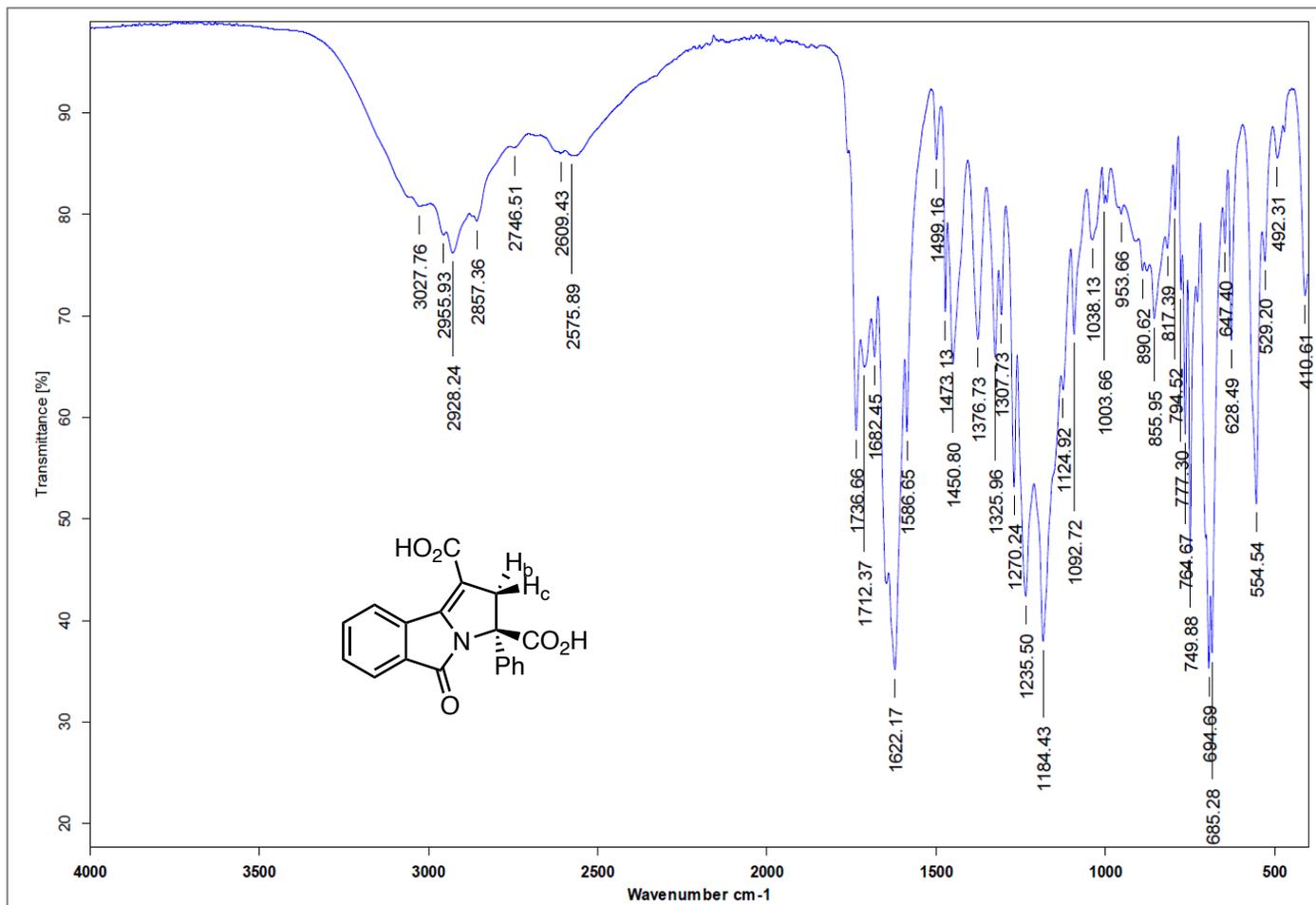
Espectro 24. FTIR- ATR del compuesto [rac-4](#).



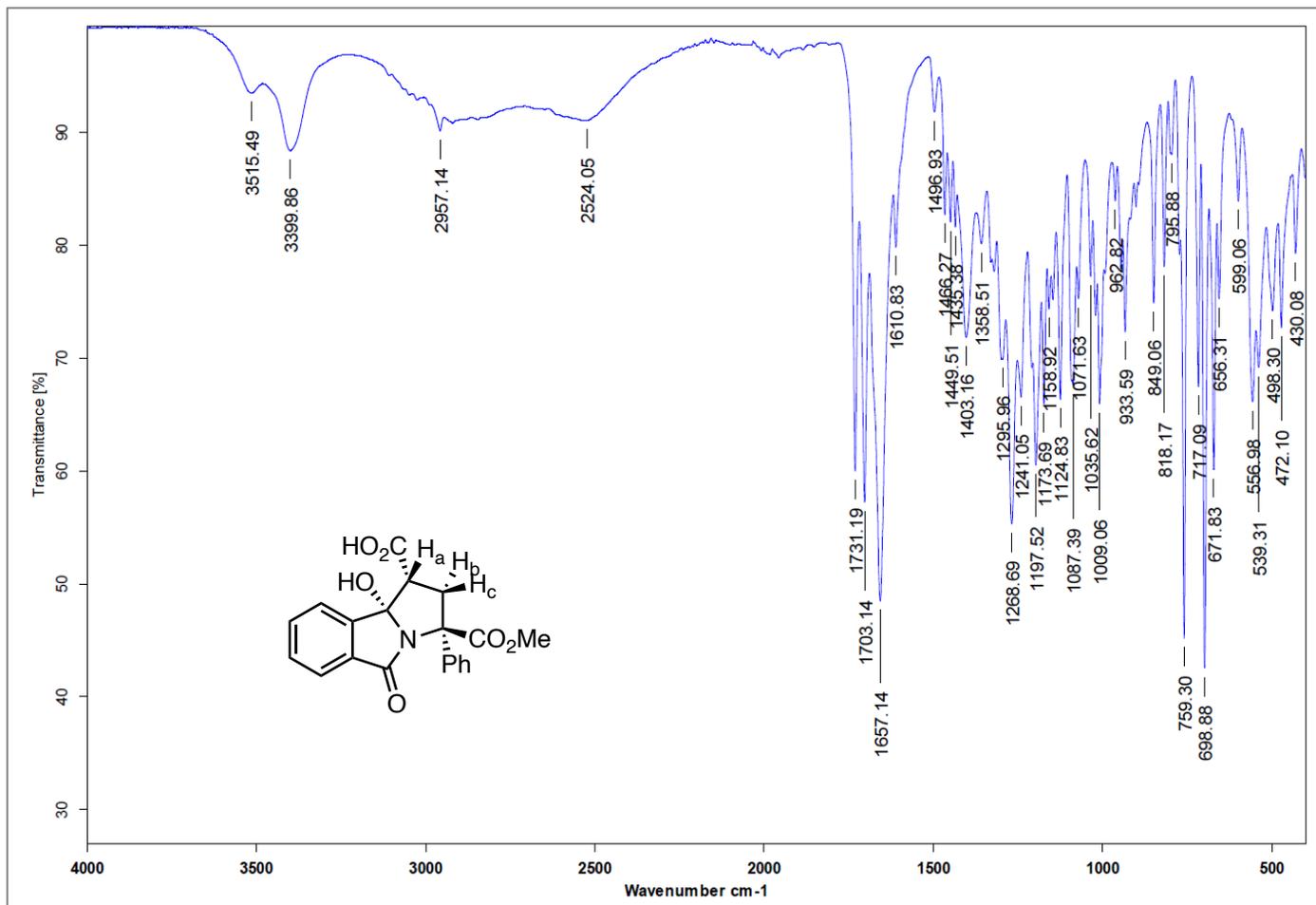
Espectro 25. FTIR- ATR del compuesto [rac-5](#).



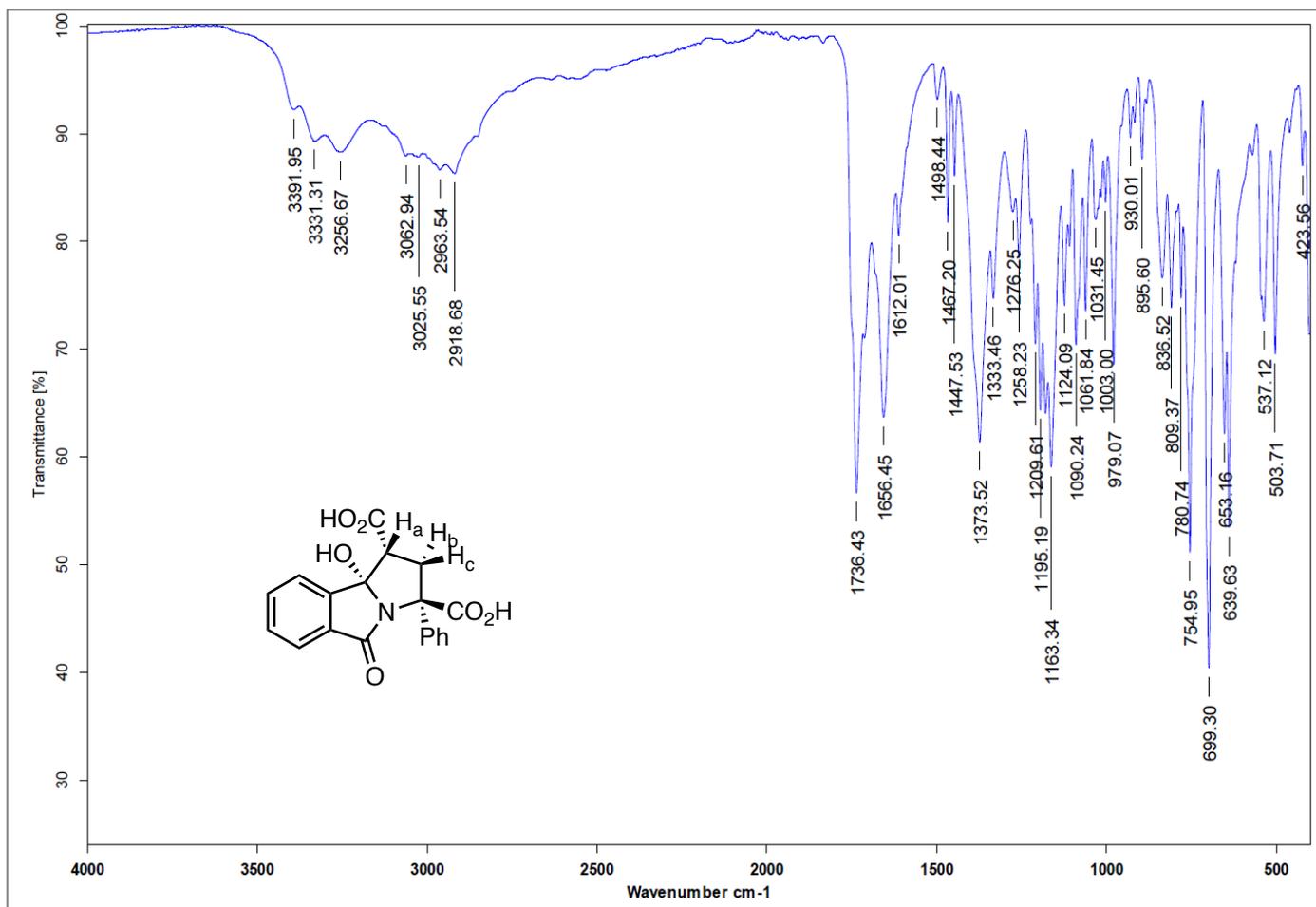
Espectro 26. FTIR- ATR del compuesto [rac-6](#).



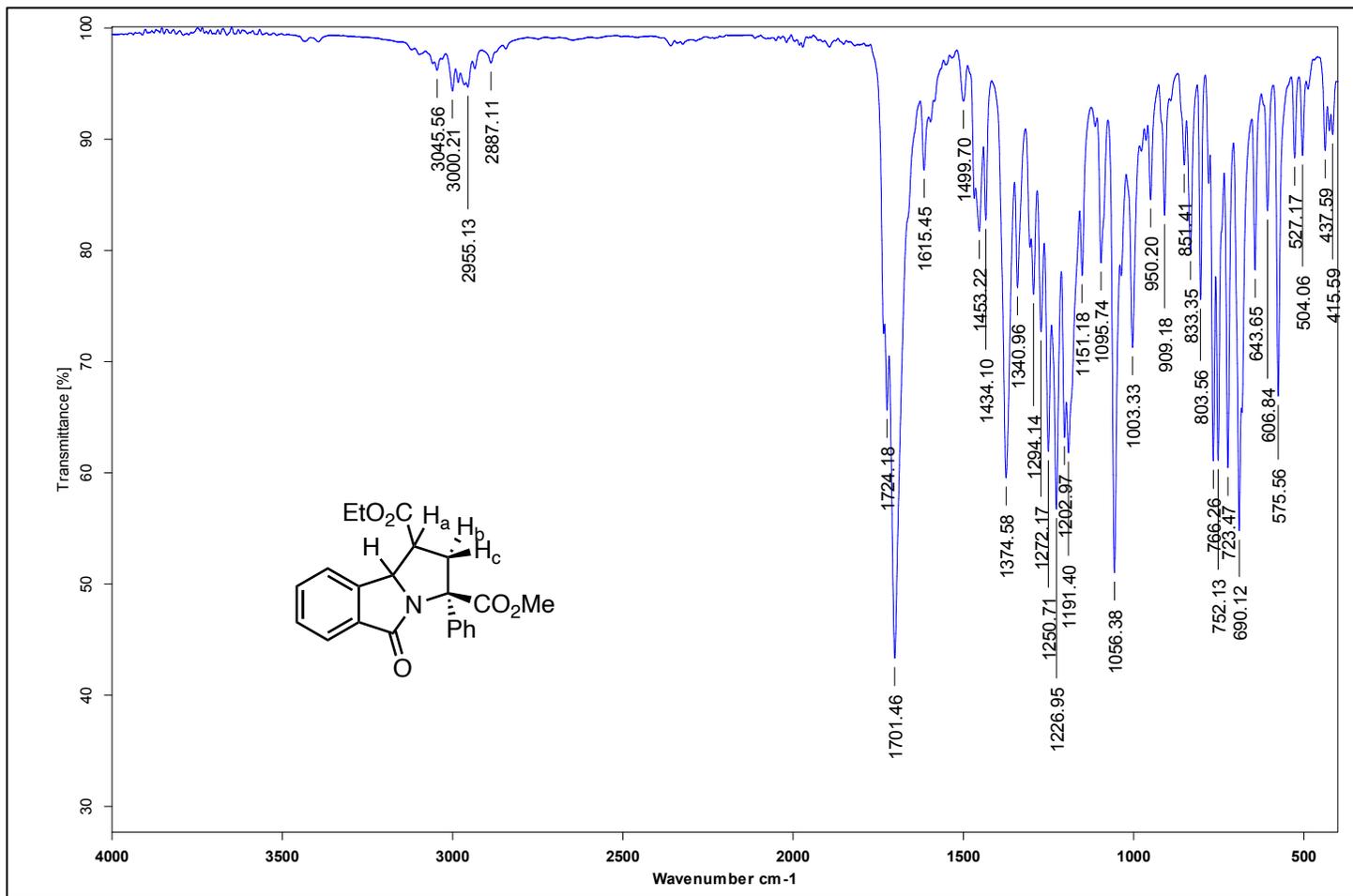
Espectro 27. FTIR- ATR del compuesto [rac-7](#).



Spectro 28. FTIR- ATR del compuesto [rac-8](#).

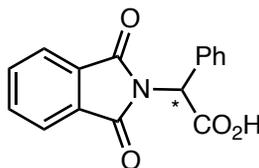
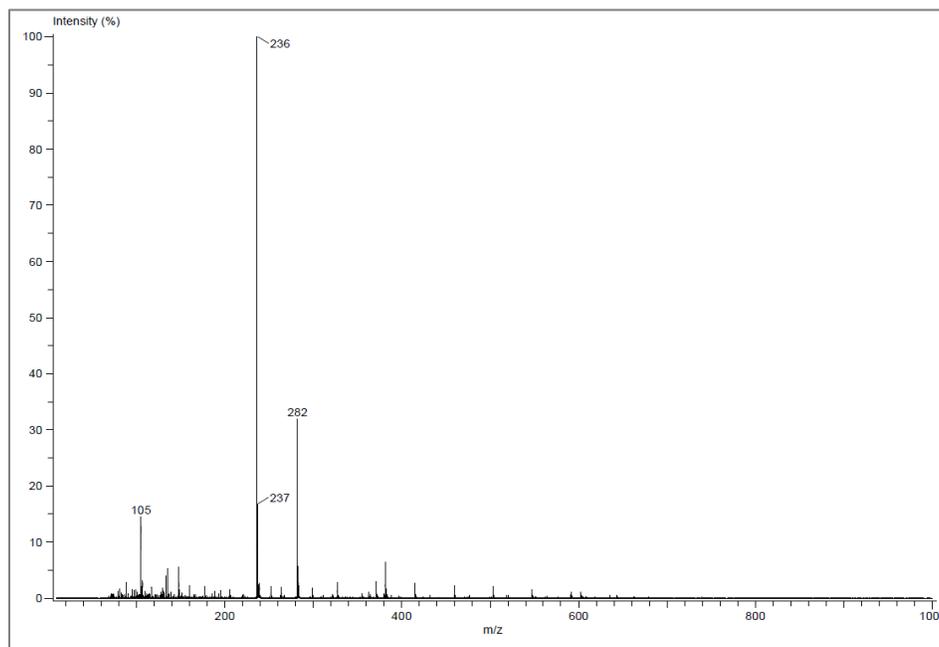


Espectro 29. FTIR- ATR del compuesto [rac-9](#).



Espectro 30. FTIR- ATR de la mezcla de los compuestos [rac-10](#) y [rac-11](#).

ANEXO 3. Espectros de Masas



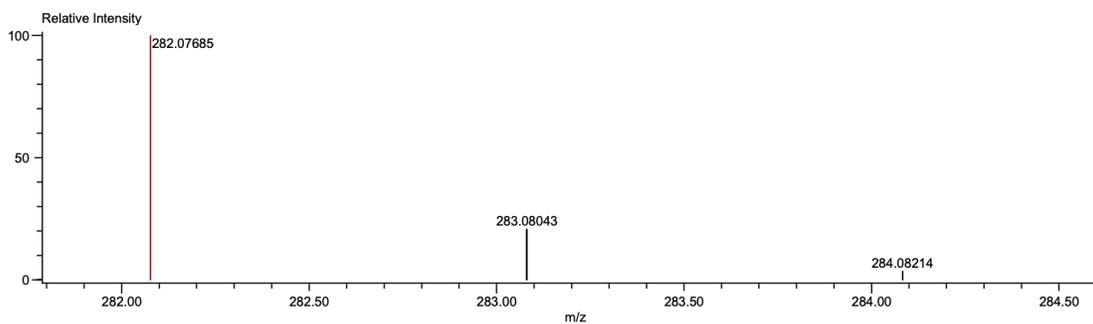
Data:1861 NRV-1
 Sample Name:Dr Cuevas Gabriel / Operador: Carmen Garcia
 Description:
 Ionization Mode:ESI+
 History:Determine m/z[Peak Detect[Centroid,30,Area];Correct Base[];Smooth[5]];Correct Base[5.0%];Average(MS[...

Acquired:11/26/2021 9:58:08 AM
 Operator:AccuTOF
 Mass Calibration data:Cal_PEG_600-nov-21
 Created:12/14/2021 11:17:24 AM
 Created by:AccuTOF

Charge number:1
 Element:¹²C:0 .. 30, ¹H:0 .. 60, ¹⁴N:0 .. 3, ¹⁶O:0 .. 5

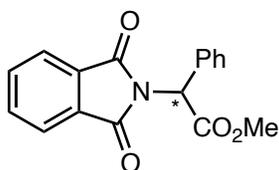
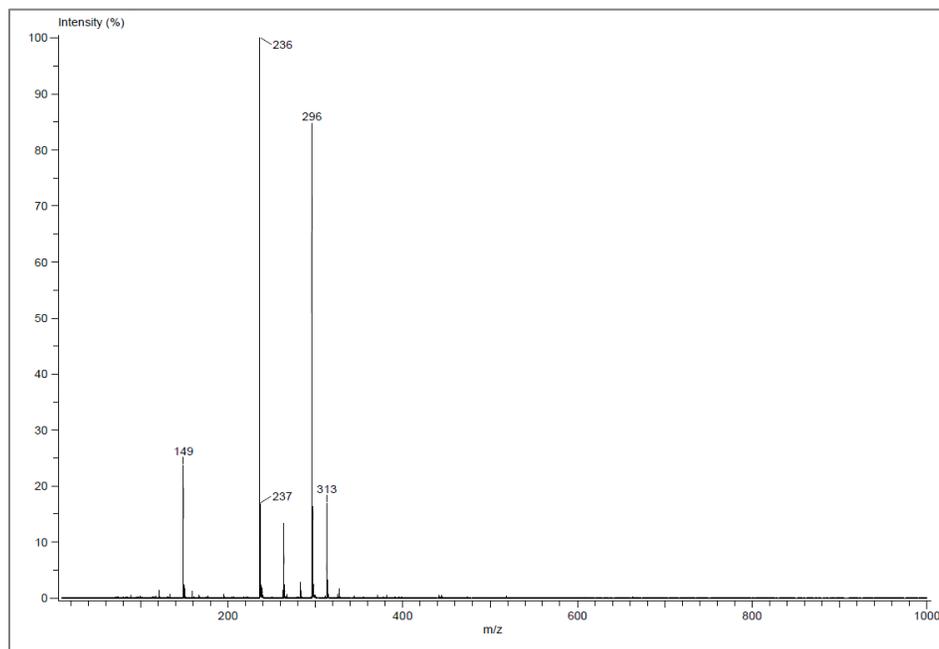
Tolerance:2.00(mmu)

Unsaturation Number:0.0 .. 30.0 (Fraction:Both)



Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
282.07685	162713.91	282.07663	0.22	0.77	¹² C ₁₆ ¹ H ₁₂ ¹⁴ N ₁ ¹⁶ O ₄	11.5

Espectro 31. SM (DART+) y HRMS (ESI⁺) del compuesto [rac-1](#).



Data:1862 NRV-2

Sample Name:Dr Cuevas Gabriel / Operador: Carmen Garcia

Description:

Ionization Mode:ESI+

History:Determine m/z[Peak Detect[Centroid,30,Area];Correct Base[];Smooth[5];Correct Base[5.0%];Average(MS[...

Acquired:11/26/2021 10:00:15 AM

Operator:AccuTOF

Mass Calibration data:Cal_PEG_600-nov-21

Created:12/14/2021 11:27:53 AM

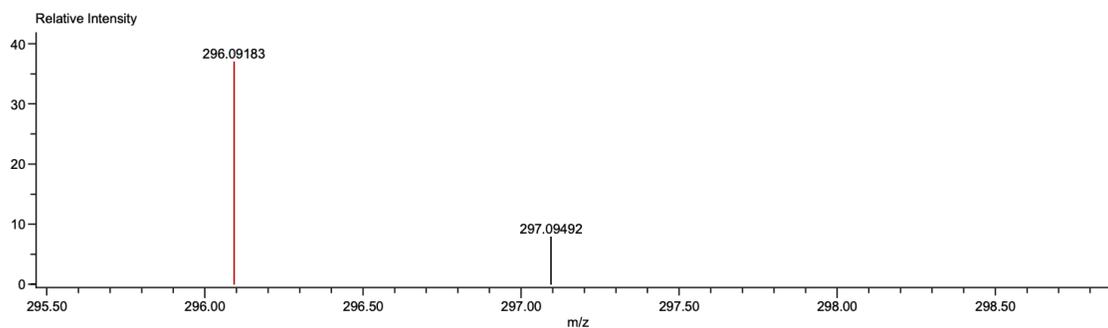
Created by:AccuTOF

Charge number:1

Tolerance:2.00(mmu)

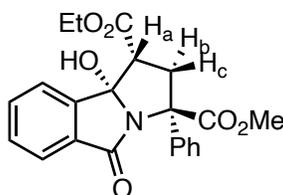
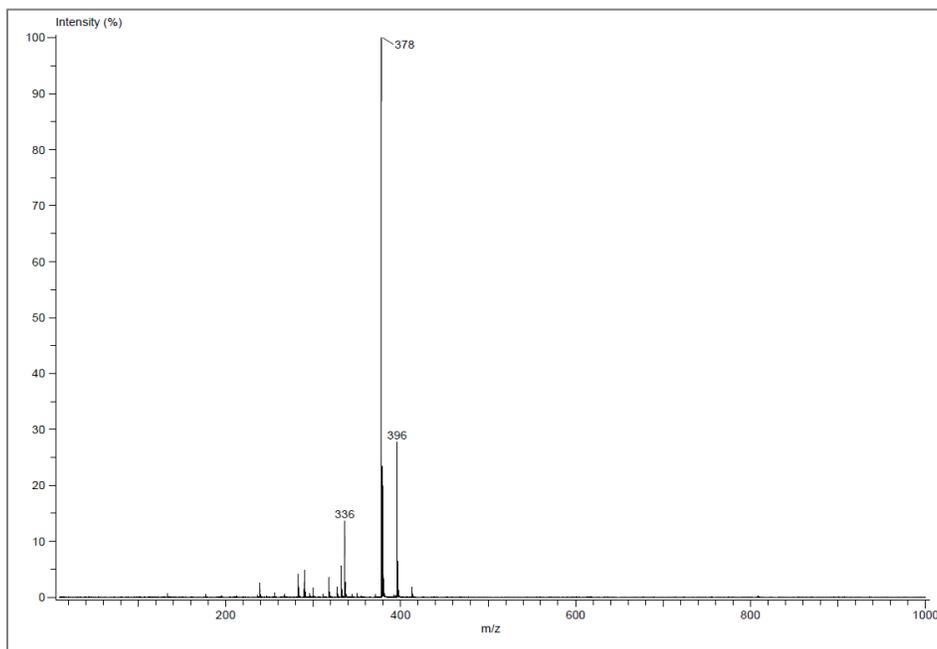
Unsaturation Number:0.0 .. 30.0 (Fraction:Both)

Element:¹²C:0 .. 30, ¹H:0 .. 60, ¹⁴N:0 .. 3, ¹⁶O:0 .. 5



Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
296.09183	22174.15	296.09228	-0.45	-1.52	¹² C ₁₇ ¹ H ₁₄ ¹⁴ N ₁ ¹⁶ O ₄	11.5

Espectro 32. SM (DART+) y HRMS (ESI⁺) del compuesto [rac-2](#).



Data:1863 NRV-3

Sample Name:Dr Cuevas Gabriel / Operador: Carmen Garcia

Description:

Ionization Mode:ESI+

History:Determine m/z[Peak Detect[Centroid,30,Area];Correct Base[];Smooth[5];Correct Base[5.0%];Average(MS[...

Acquired:11/26/2021 10:02:17 AM

Operator:AccuTOF

Mass Calibration data:Cal_PEG_600-nov-21

Created:12/14/2021 11:36:20 AM

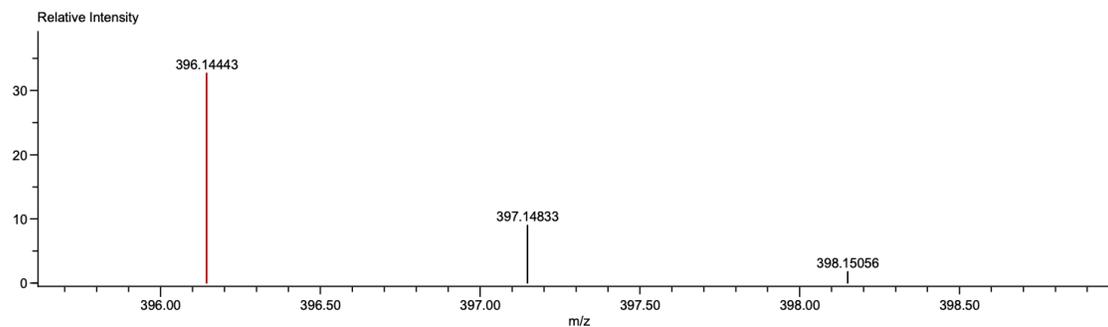
Created by:AccuTOF

Charge number:1

Tolerance:5.00(mmu)

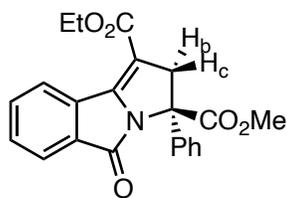
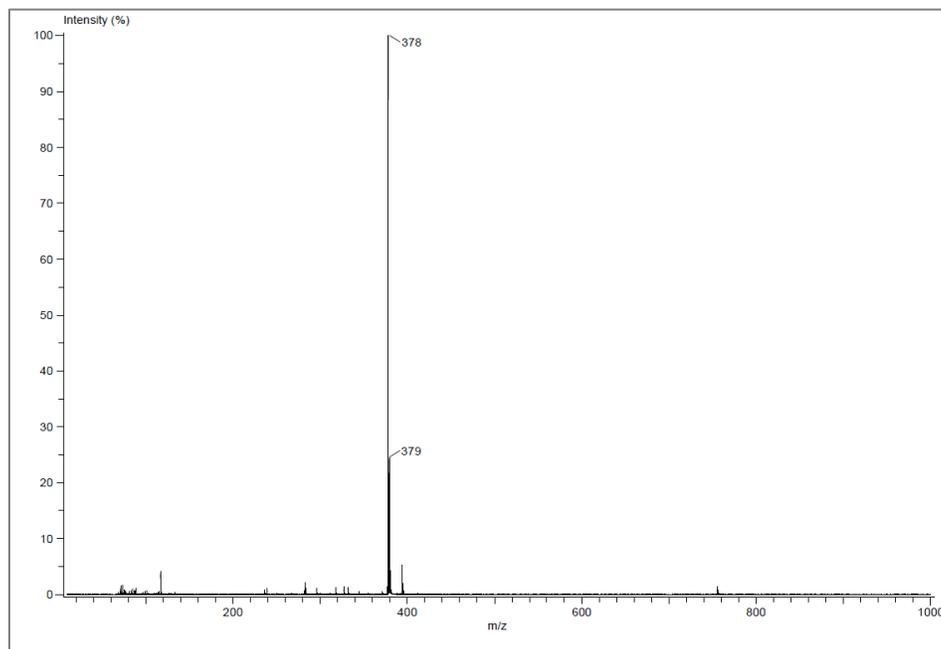
Unsaturation Number:0.0 .. 30.0 (Fraction:Both)

Element:¹²C:0 .. 30, ¹H:0 .. 60, ¹⁴N:0 .. 3, ¹⁶O:4 .. 7



Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
396.14443	44502.52	396.14471	-0.28	-0.70	¹² C ₂₂ ¹ H ₂₂ ¹⁴ N ₁ ¹⁶ O ₆	12.5

Espectro 33. SM (DART+) y HRMS (ESI⁺) del compuesto [rac-3](#).



Data:1864 NRV-4

Sample Name:Dr Cuevas Gabriel / Operador: Carmen Garcia

Description:

Ionization Mode:ESI+

History:Determine m/z[Peak Detect[Centroid,30,Area];Correct Base[];Smooth[5]];Correct Base[5.0%];Average(MS[...

Acquired:11/26/2021 10:04:28 AM

Operator:AccuTOF

Mass Calibration data:Cal_PEG_600-nov-21

Created:12/14/2021 11:44:43 AM

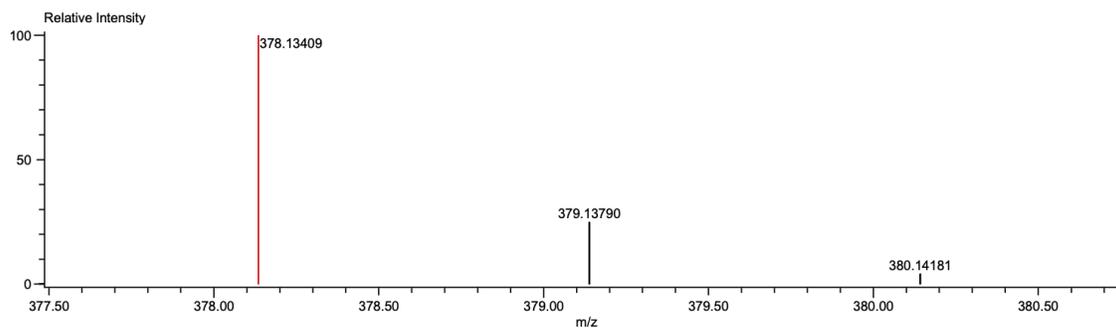
Created by:AccuTOF

Charge number:1

Tolerance:3.00(mmu)

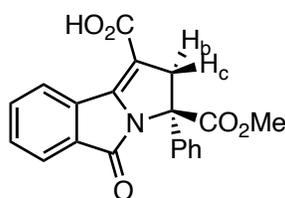
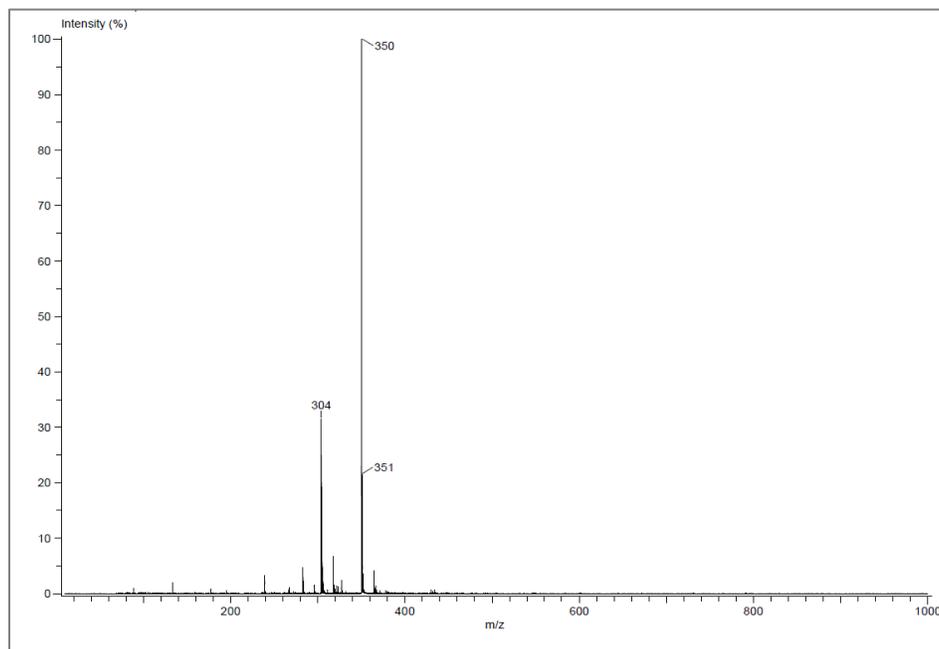
Unsaturation Number:0.0 .. 30.0 (Fraction:Both)

Element:¹²C:0 .. 30, ¹H:0 .. 60, ¹⁴N:0 .. 3, ¹⁶O:4 .. 7



Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
378.13409	196585.48	378.13415	-0.05	-0.14	¹² C ₂₂ ¹ H ₂₀ ¹⁴ N ₁ ¹⁶ O ₅	13.5

Espectro 34. SM (DART+) y HRMS (ESI⁺) del compuesto [rac-4](#).



INSTITUTO DE QUIMICA, UNAM
LABORATORIO DE ESPECTROMETRIA DE MASAS

Data:1865 NRV-5

Sample Name:Dr Cuevas Gabriel / Operador: Carmen Garcia

Description:

Ionization Mode:ESI+

History:Determine m/z[Peak Detect[Centroid,30,Area];Correct Base[];Smooth[5]];Correct Base[5.0%];Average[MS[...

Acquired:11/26/2021 10:06:30 AM

Operator:AccuTOF

Mass Calibration data:Cal_PEG_600-nov-21

Created:12/14/2021 12:33:30 PM

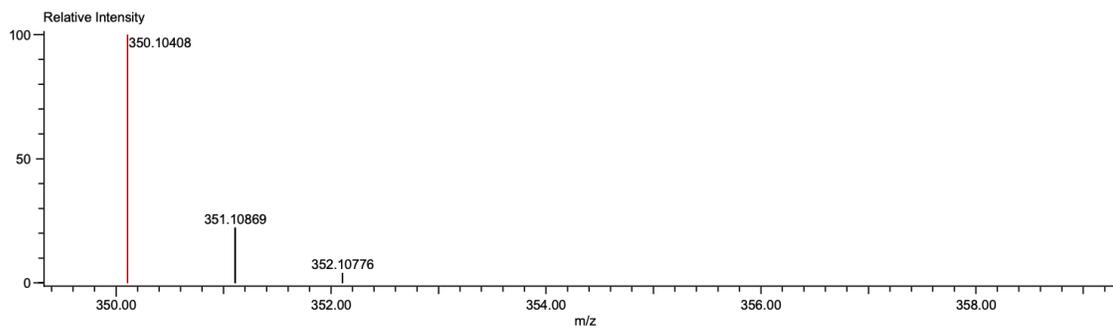
Created by:AccuTOF

Charge number:1

Tolerance:5.00(ppm), 5.00 .. 15.00(mmu)

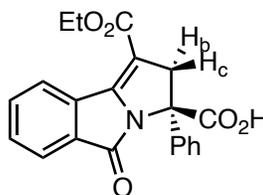
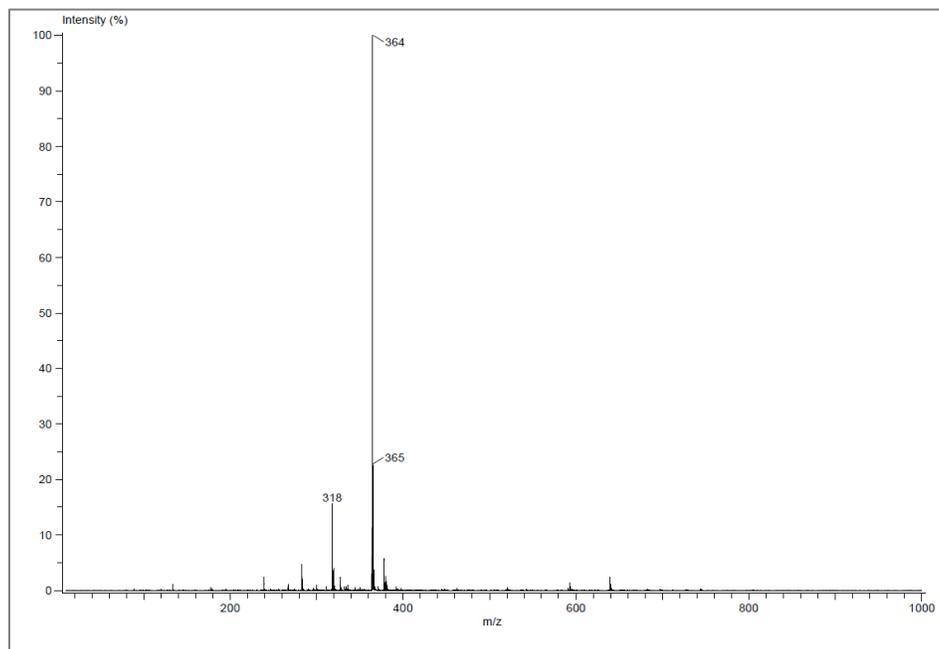
Unsaturation Number:0.0 .. 30.0 (Fraction:Both)

Element:¹²C:0 .. 20, ¹H:0 .. 60, ¹⁴N:0 .. 3, ¹⁶O:2 .. 5



Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
350.10408	289784.61	350.10285	1.23	3.53	¹² C ₂₀ ¹ H ₁₆ ¹⁴ N ₁ ¹⁶ O ₅	13.5

Espectro 35. SM (DART+) y HRMS (ESI⁺) del compuesto [rac-5](#).



Data:1866 NRV-6

Sample Name:Dr Cuevas Gabriel / Operador: Carmen Garcia

Description:

Ionization Mode:ESI+

History:Determine m/z[Peak Detect[Centroid,30,Area];Correct Base[];Smooth[5]];Correct Base[5.0%];Average(MS[...

Acquired:11/26/2021 10:08:43 AM

Operator:AccuTOF

Mass Calibration data:Cal_PEG_600-nov-21

Created:12/14/2021 12:01:11 PM

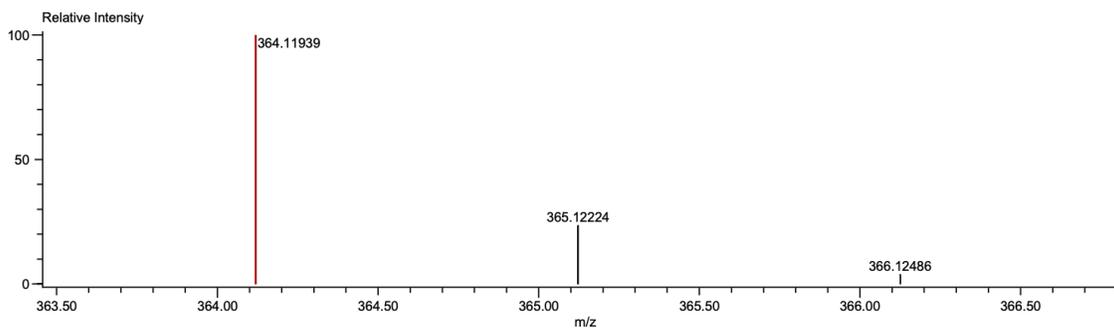
Created by:AccuTOF

Charge number:1

Tolerance:5.00(mmu)

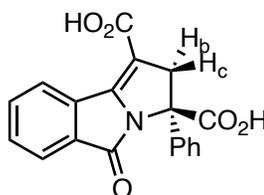
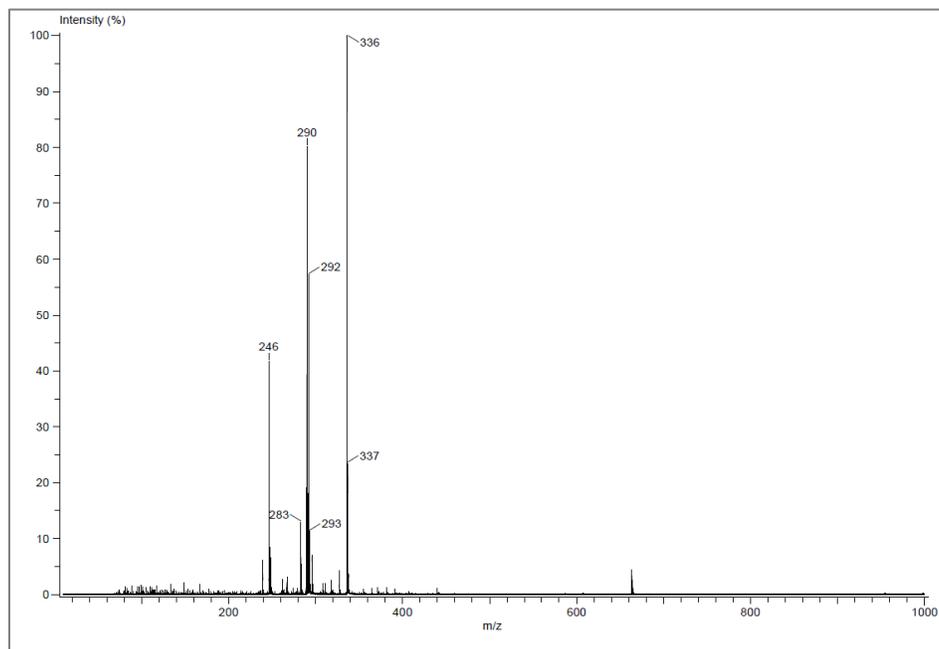
Unsaturation Number:0.0 .. 30.0 (Fraction:Both)

Element:¹²C:0 .. 30, ¹H:0 .. 60, ¹⁴N:0 .. 3, ¹⁶O:4 .. 6



Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
364.11939	309509.20	364.11850	0.90	2.46	¹² C ₂₁ ¹ H ₁₈ ¹⁴ N ₁ ¹⁶ O ₅	13.5

Espectro 36. SM (DART+) y HRMS (ESI⁺) del compuesto [rac-6](#).



Data:1867 NRV-7

Sample Name:Dr Cuevas Gabriel / Operador: Carmen Garcia

Description:

Ionization Mode:ESI+

History:Determine m/z[Peak Detect[Centroid,30,Area];Correct Base[];Smooth[5]];Correct Base[5.0%];Average(MS[...

Acquired:11/26/2021 10:11:29 AM

Operator:AccuTOF

Mass Calibration data:Cal_PEG_600-nov-21

Created:12/14/2021 12:06:45 PM

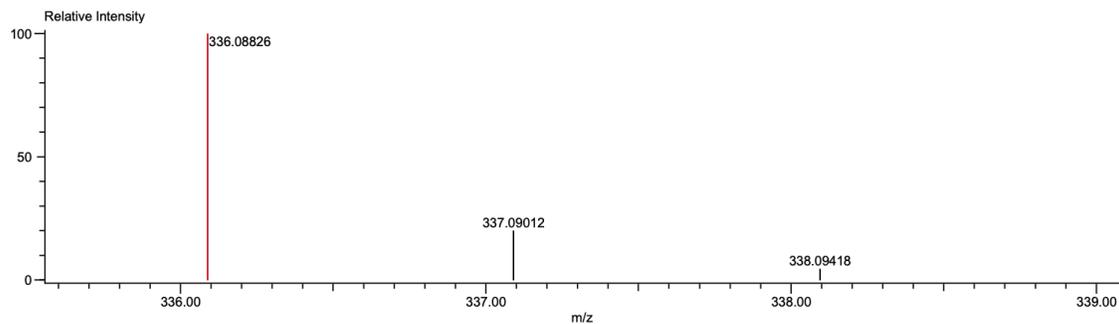
Created by:AccuTOF

Charge number:1

Tolerance:5.00(mmu)

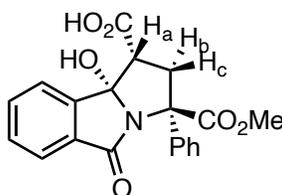
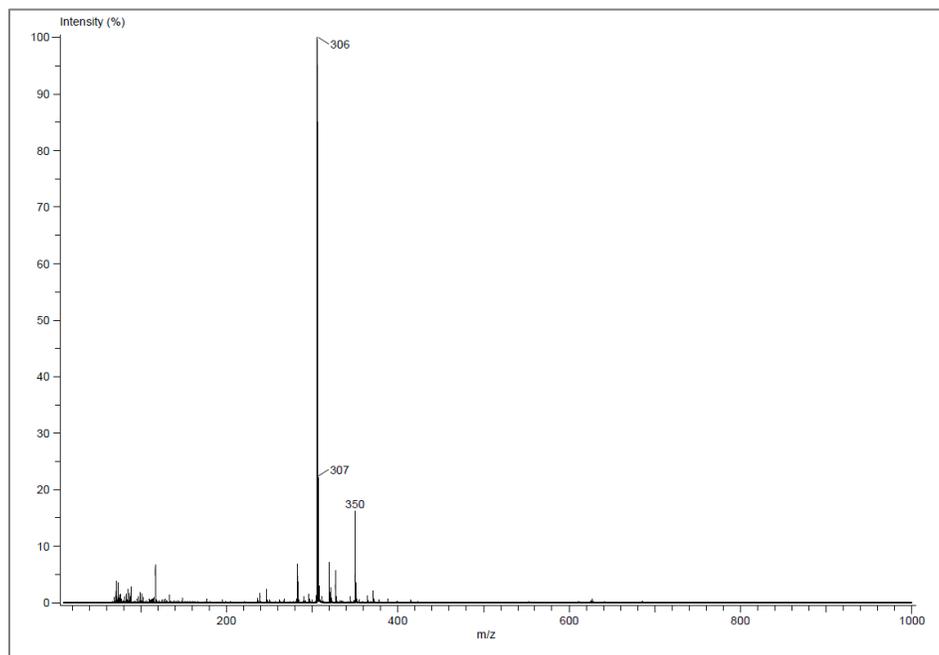
Unsaturation Number:0.0 .. 30.0 (Fraction:Both)

Element:¹²C:0 .. 30, ¹H:0 .. 60, ¹⁴N:0 .. 3, ¹⁶O:4 .. 6



Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
336.08826	45780.28	336.08720	1.06	3.16	¹² C ₁₉ ¹ H ₁₄ ¹⁴ N ₁ ¹⁶ O ₅	13.5

Espectro 37. SM (DART+) y HRMS (ESI⁺) del compuesto [rac-7](#).

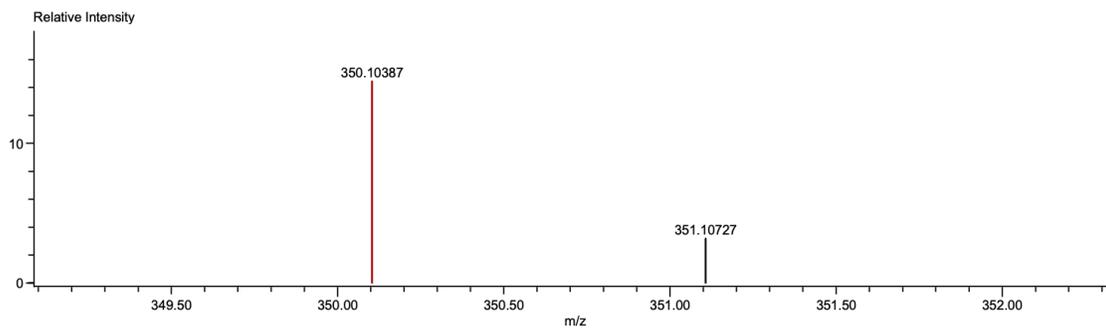


Data:1868 NRV-8
 Sample Name:Dr Cuevas Gabriel / Operador: Carmen Garcia
 Description:
 Ionization Mode:ESI+
 History:Determine m/z[Peak Detect[Centroid,30,Area];Correct Base];Smooth[5];Correct Base[5.0%];Average[MS...

Acquired:11/26/2021 10:13:38 AM
 Operator:AccuTOF
 Mass Calibration data:Cal_PEG_600-nov-21
 Created:12/14/2021 12:11:20 PM
 Created by:AccuTOF

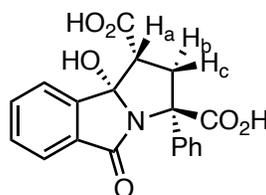
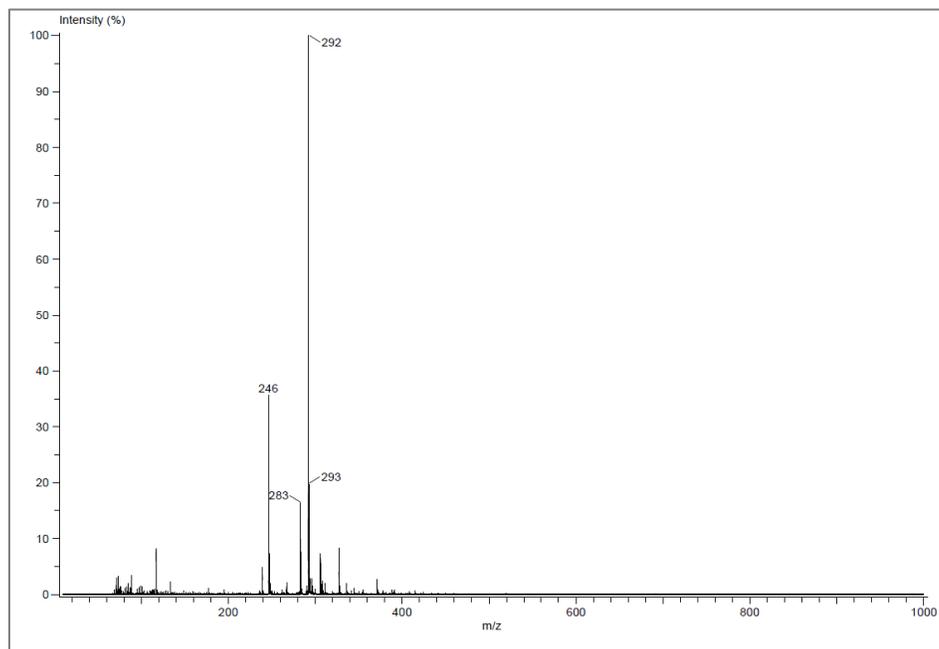
Charge number:1 Tolerance:5.00(mmu)
 Element:¹²C:0 .. 30, ¹H:0 .. 60, ¹⁴N:0 .. 3, ¹⁶O:4 .. 6

Unsaturation Number:0.0 .. 30.0 (Fraction:Both)



Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
350.10387	35355.57	350.10285	1.02	2.91	¹² C ₂₀ ¹ H ₁₆ ¹⁴ N ₁ ¹⁶ O ₅	13.5

Espectro 38. SM (DART+) y HRMS (ESI⁺) del compuesto [rac-8](#).



Data:1869 NRV-9

Sample Name:Dr Cuevas Gabriel / Operador: Carmen Garcia

Description:

Ionization Mode:ESI+

History:Determine m/z[Peak Detect[Centroid,30,Area];Correct Base[];Smooth[5]];Correct Base[5.0%];Average(MS[...

Acquired:11/26/2021 10:16:35 AM

Operator:AccuTOF

Mass Calibration data:Cal_PEG_600-nov-21

Created:12/14/2021 12:18:27 PM

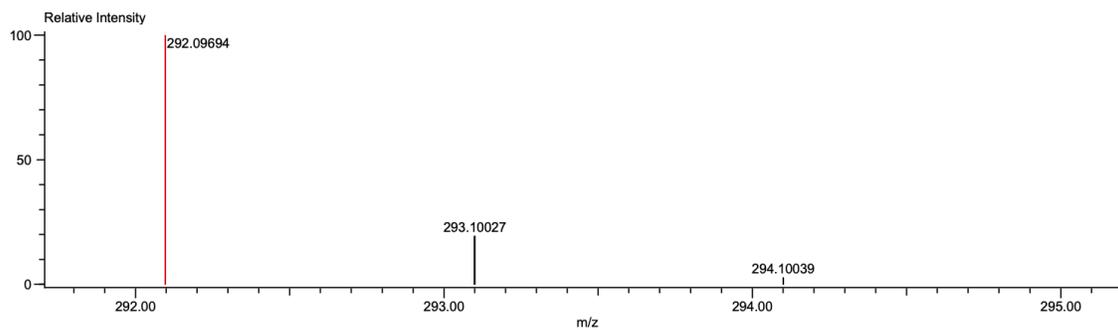
Created by:AccuTOF

Charge number:1

Tolerance:5.00(mmu)

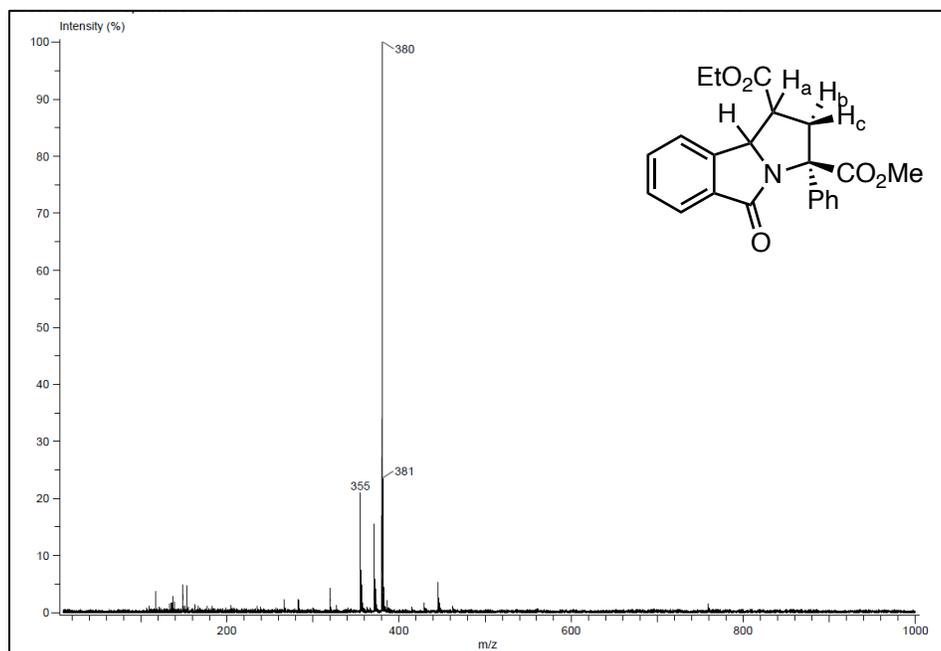
Unsaturation Number:0.0 .. 30.0 (Fraction:Both)

Element: ^{12}C :0 .. 30, ^1H :0 .. 60, ^{14}N :0 .. 3, ^{16}O :2 .. 4



Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
292.09694	81593.50	292.09737	-0.43	-1.48	$^{12}\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_1\text{O}_3$	12.5

Espectro 39. SM (DART+) y HRMS (ESI⁺) del compuesto [rac-9](#).



Espectro 40. SM (DART+) de la mezcla de los compuestos *rac*-10 y *rac*-11.

ANEXO 4. Principales interacciones entre ligandos y las enzimas AChE y BuChE.

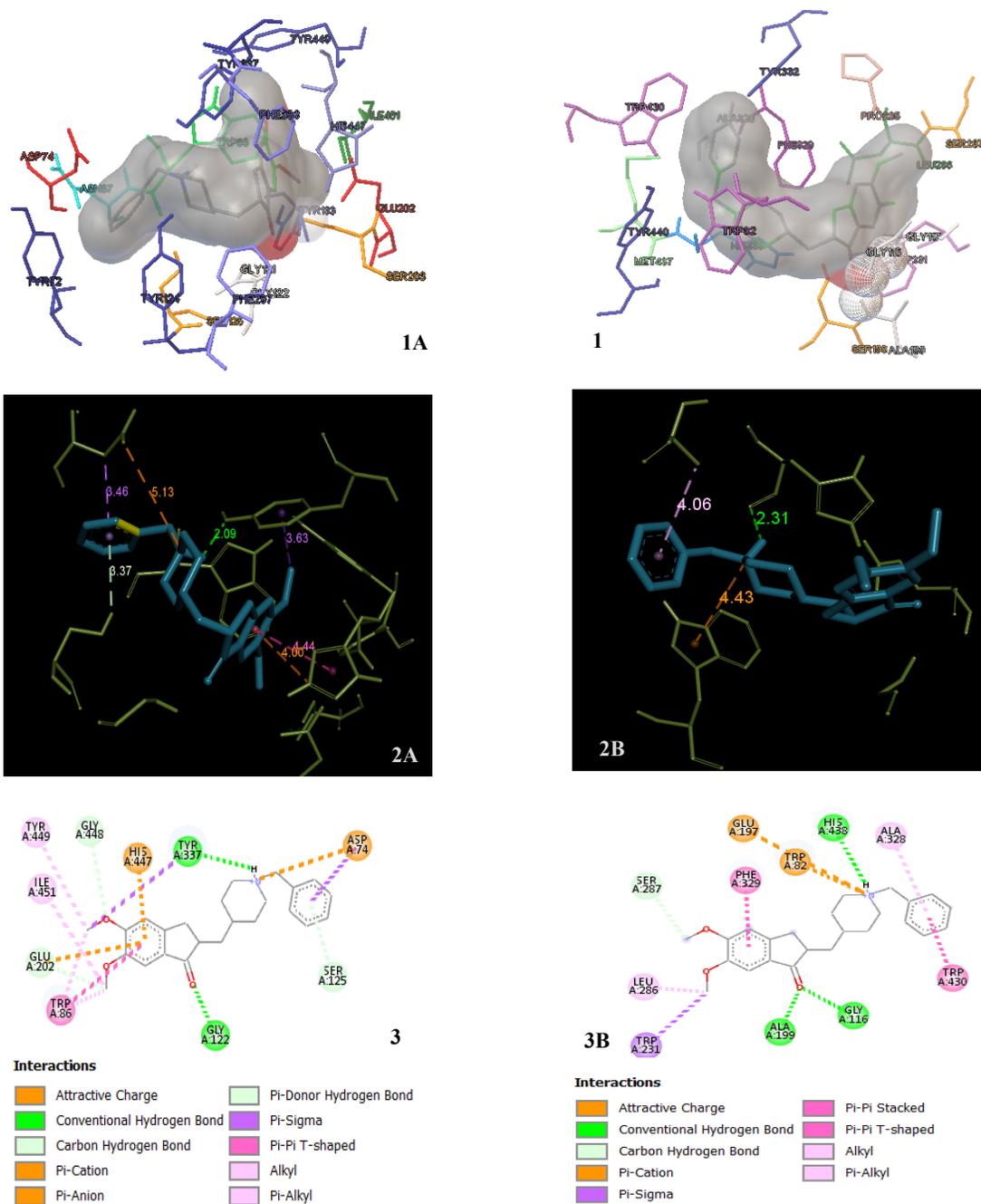


Ilustración 30. Interacciones encontradas entre el compuesto donepezilo y las colinesterasas: Imágenes obtenidas de AutodockTools de 1A) la Interacción de donepezilo y AChE y 1B) la Interacción de donepezilo y BuChE; Imágenes obtenidas Discovery Studio 2021 de 2A) la Interacción de donepezilo y los subsitios CAS y PAS de la AChE y de 2B) la Interacción de donepezilo y BuChE; Imágenes 2D obtenidas Discovery Studio 2021 de 3A) el tipo de Interacciones entre donepezilo y AChE y de 3B) el tipo de Interacciones entre donepezilo y BuChE.

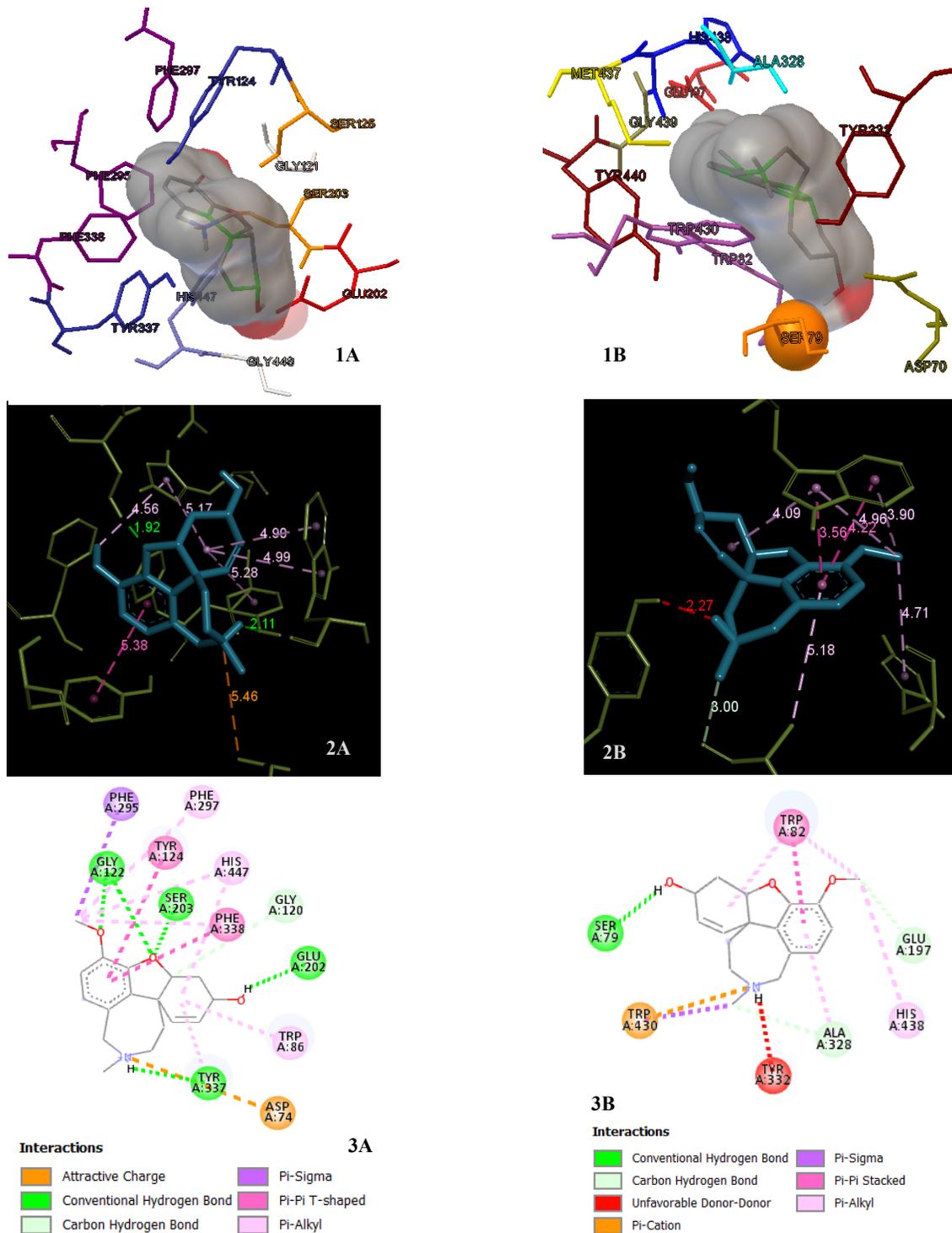
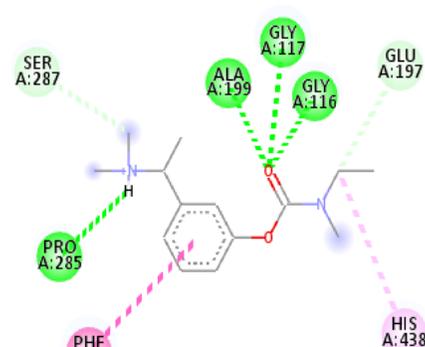
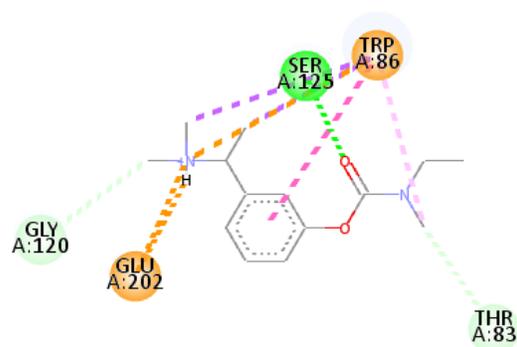
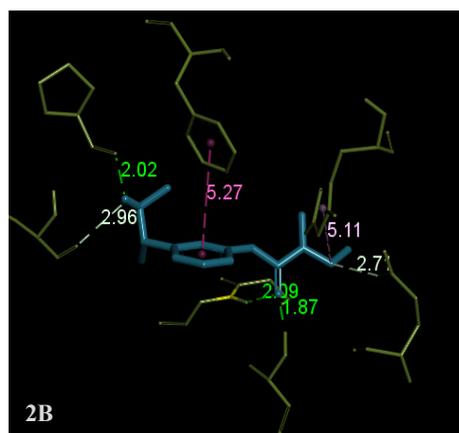
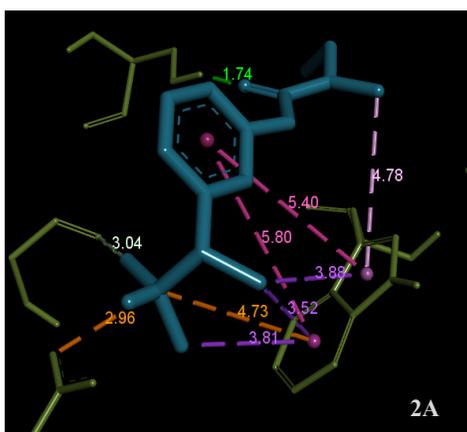
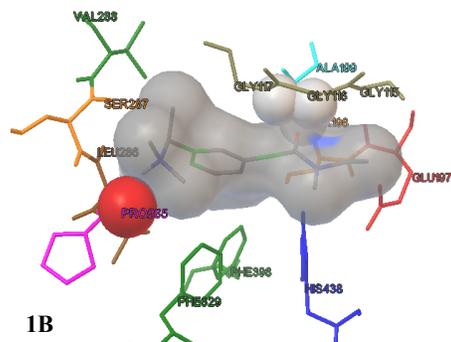
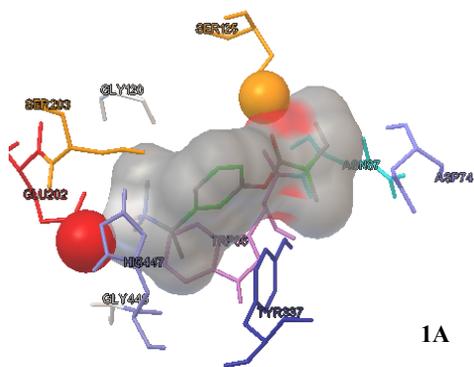


Ilustración 31. Interacciones encontradas entre el compuesto galantamina y las colinesterasas: Imágenes obtenidas de AutodockTools de 1A) la Interacción de galantamina y AChE y 1B) la Interacción de galantamina y BuChE; Imágenes obtenidas Discovery Studio 2021 de 2A) la Interacción de galantamina y los subsitios CAS y PAS de la AChE y de 2B) la Interacción de galantamina y BuChE; Imágenes 2D obtenidas Discovery Studio 2021 de 3A) el tipo de Interacciones entre galantamina y AChE y de 3B) el tipo de Interacciones entre galantamina y BuChE.



Interactions

- | | |
|----------------------------|----------------|
| Salt Bridge | Pi-Cation |
| Attractive Charge | Pi-Sigma |
| Conventional Hydrogen Bond | Pi-Pi T-shaped |
| Carbon Hydrogen Bond | Pi-Alkyl |

Interactions

- | | |
|----------------------------|----------------|
| Conventional Hydrogen Bond | Pi-Pi T-shaped |
| Carbon Hydrogen Bond | Pi-Alkyl |

Ilustración 32. Interacciones encontradas entre el compuesto rivastigmina y las colinesterasas: Imágenes obtenidas de AutodockTools de 1A) la Interacción de rivastigmina y AChE y 1B) la Interacción de rivastigmina y BuChE; Imágenes obtenidas Discovery Studio 2021 de 2A) la Interacción de rivastigmina y los subsitos CAS y PAS de la AChE y de 2B) la Interacción de rivastigmina y BuChE; Imágenes 2D obtenidas Discovery Studio 2021 de 3A) el tipo de Interacciones entre rivastigmina y AChE y de 3B) el tipo de Interacciones entre rivastigmina y BuChE.

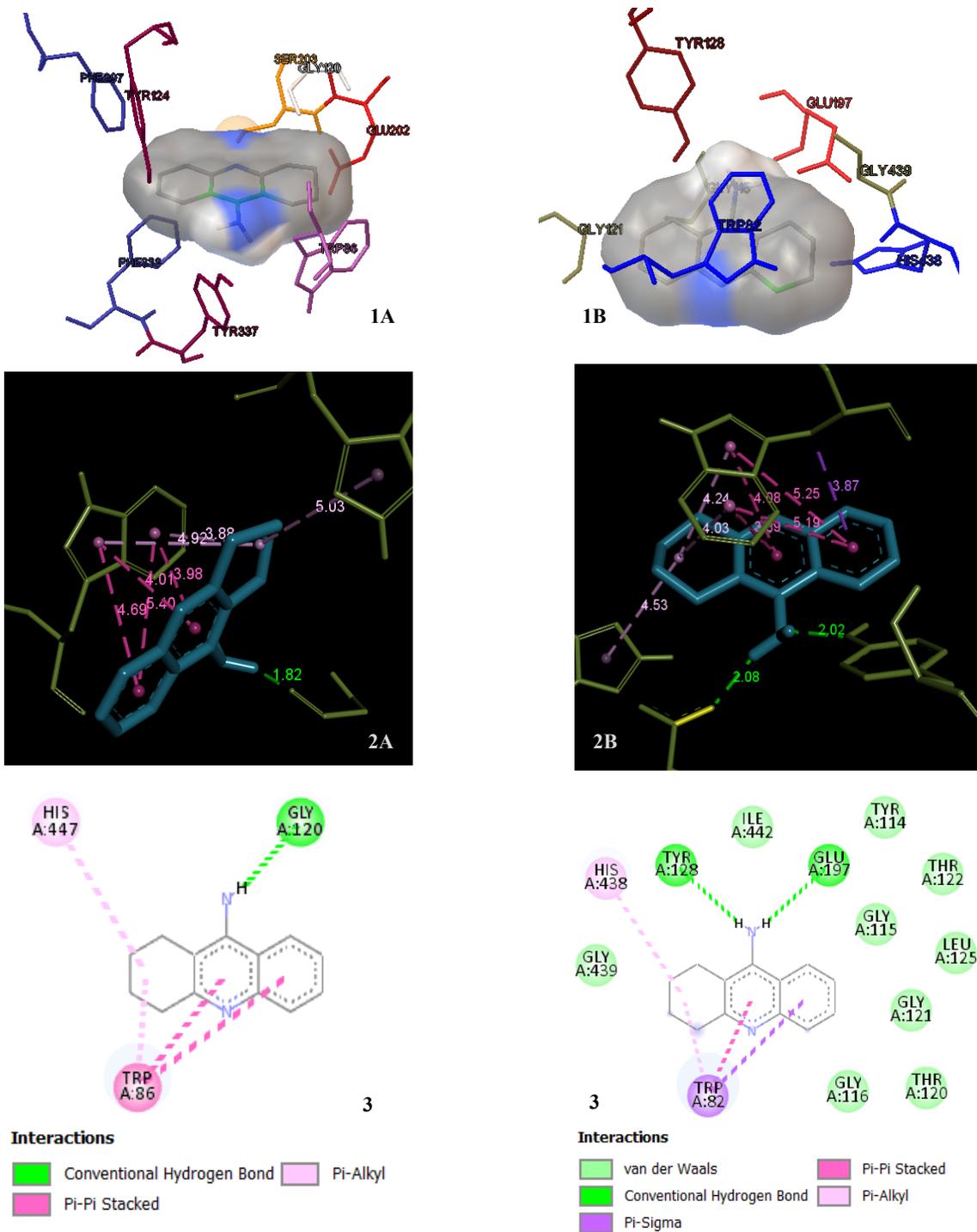


Ilustración 33. Interacciones encontradas entre el compuesto tacrina y las colinesterasas: Imágenes obtenidas de AutodockTools de 1A) la Interacción de tacrina y AChE y 1B) la Interacción de tacrina y BuChE; Imágenes obtenidas Discovery Studio 2021 de 2A) la Interacción de tacrina y los subsitios CAS y PAS de la AChE y de 2B) la Interacción de tacrina y BuChE; Imágenes 2D obtenidas Discovery Studio 2021 de 3A) el tipo de Interacciones entre tacrina y AChE y de 3B) el tipo de Interacciones entre tacrina y BuChE.

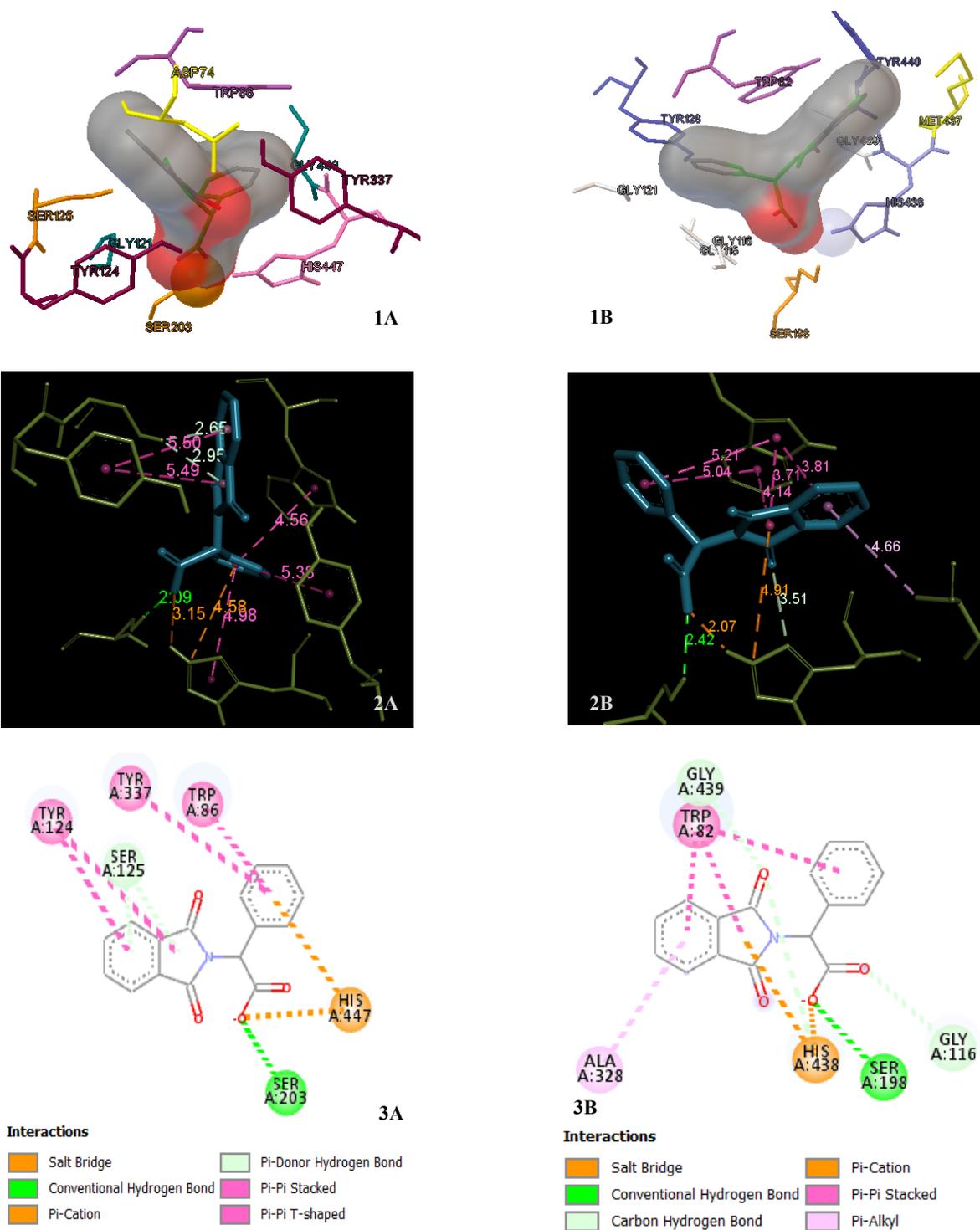


Ilustración 34. Interacciones encontradas entre el compuesto *rac-1* y las colinesterasas: Imágenes obtenidas de AutodockTools de 1A) la Interacción de *rac-1* y AChE y 1B) la Interacción de *rac-1* y BuChE; Imágenes obtenidas Discovery Studio 2021 de 2A) la Interacción de *rac-1* y los subsitos CAS y PAS de la AChE y de 2B) la Interacción de *rac-1* y BuChE; Imágenes 2D obtenidas Discovery Studio 2021 de 3A) el tipo de Interacciones entre *rac-1* y AChE y de 3B) el tipo de Interacciones entre *rac-1* y BuChE.

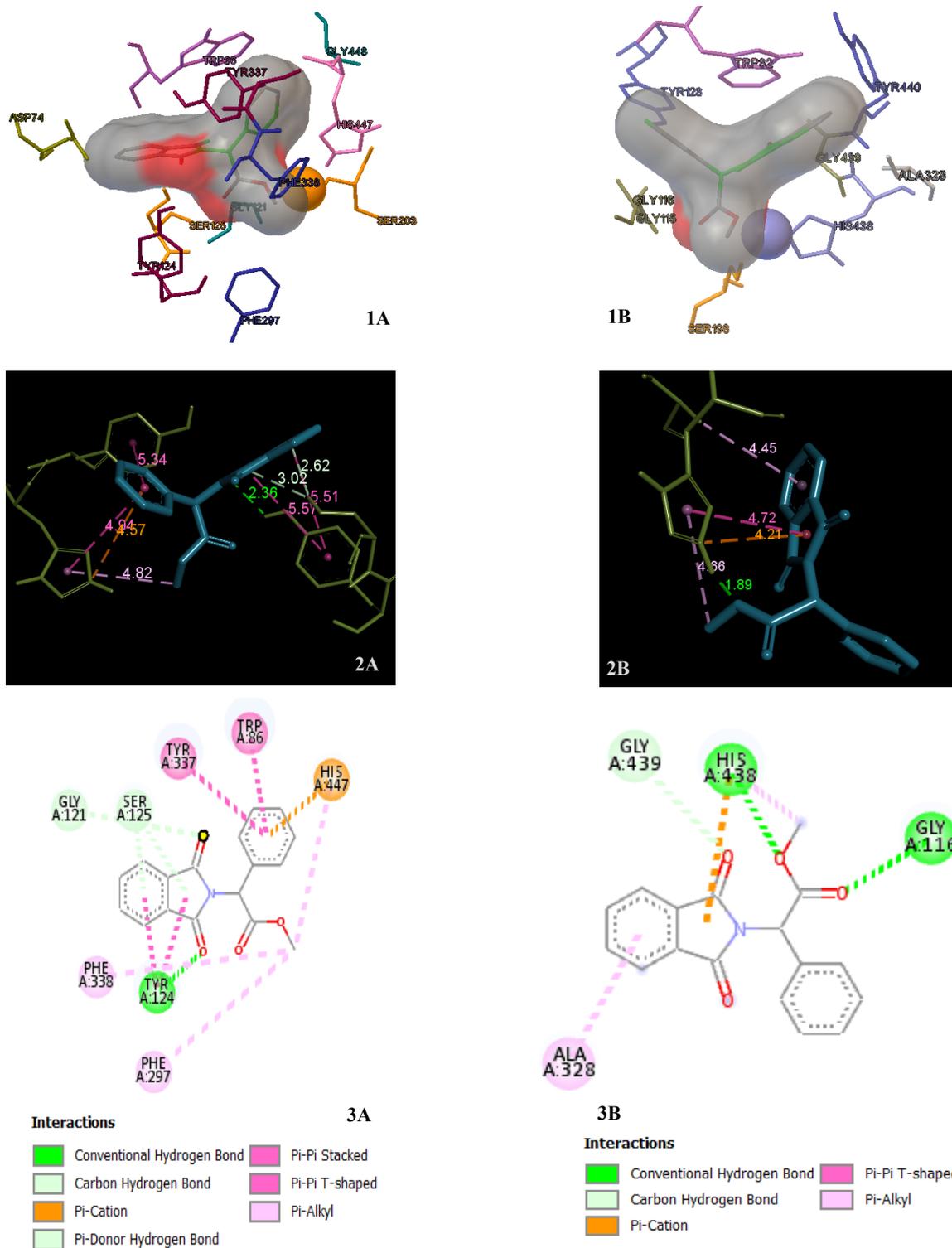


Ilustración 35. Interacciones encontradas entre el compuesto *rac-2* y las colinesterasas: Imágenes obtenidas de AutodockTools de 1A) la Interacción de *rac-2* y AChE y 1B) la Interacción de *rac-2* y BuChE; Imágenes obtenidas Discovery Studio 2021 de 2A) la Interacción de *rac-2* y los subsitos CAS y PAS de la AChE y de 2B) la Interacción de *rac-2* y BuChE; Imágenes 2D obtenidas Discovery Studio 2021 de 3A) el tipo de Interacciones entre *rac-2* y AChE y de 3B) el tipo de Interacciones entre *rac-2* y BuChE.

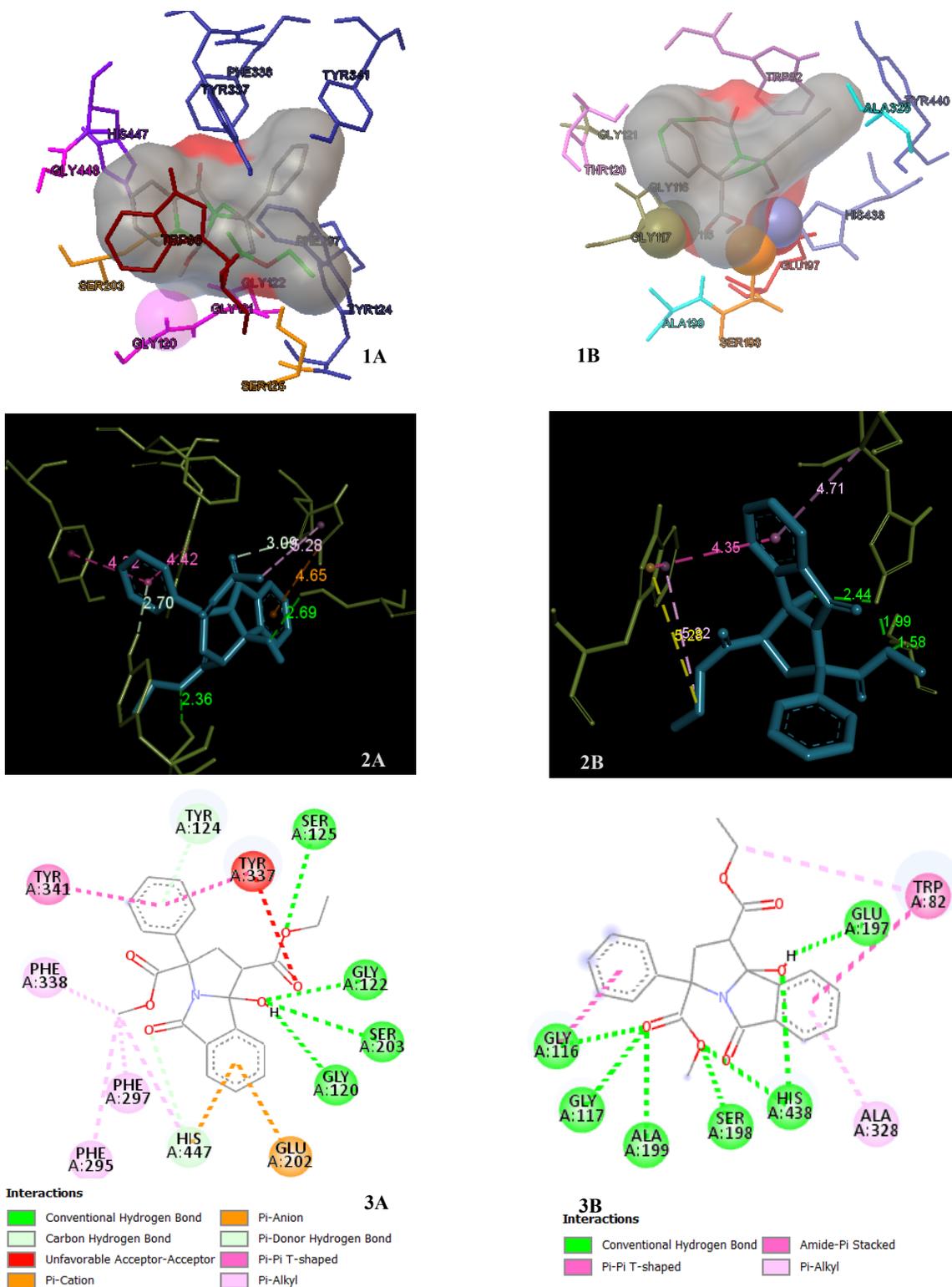


Ilustración 36. Interacciones encontradas entre el compuesto *rac-3* y las colinesterasas: Imágenes obtenidas de AutodockTools de 1A) la Interacción de *rac-3* y AChE y 1B) la Interacción de *rac-3* y BuChE; Imágenes obtenidas de Discovery Studio 2021 de 2A) la Interacción de *rac-3* y los subsitios CAS y PAS de la AChE y de 2B) la Interacción de *rac-3* y BuChE; Imágenes 2D obtenidas Discovery Studio 2021 de 3A) el tipo de Interacciones entre *rac-3* y AChE y de 3B) el tipo de Interacciones entre *rac-3* y BuChE.

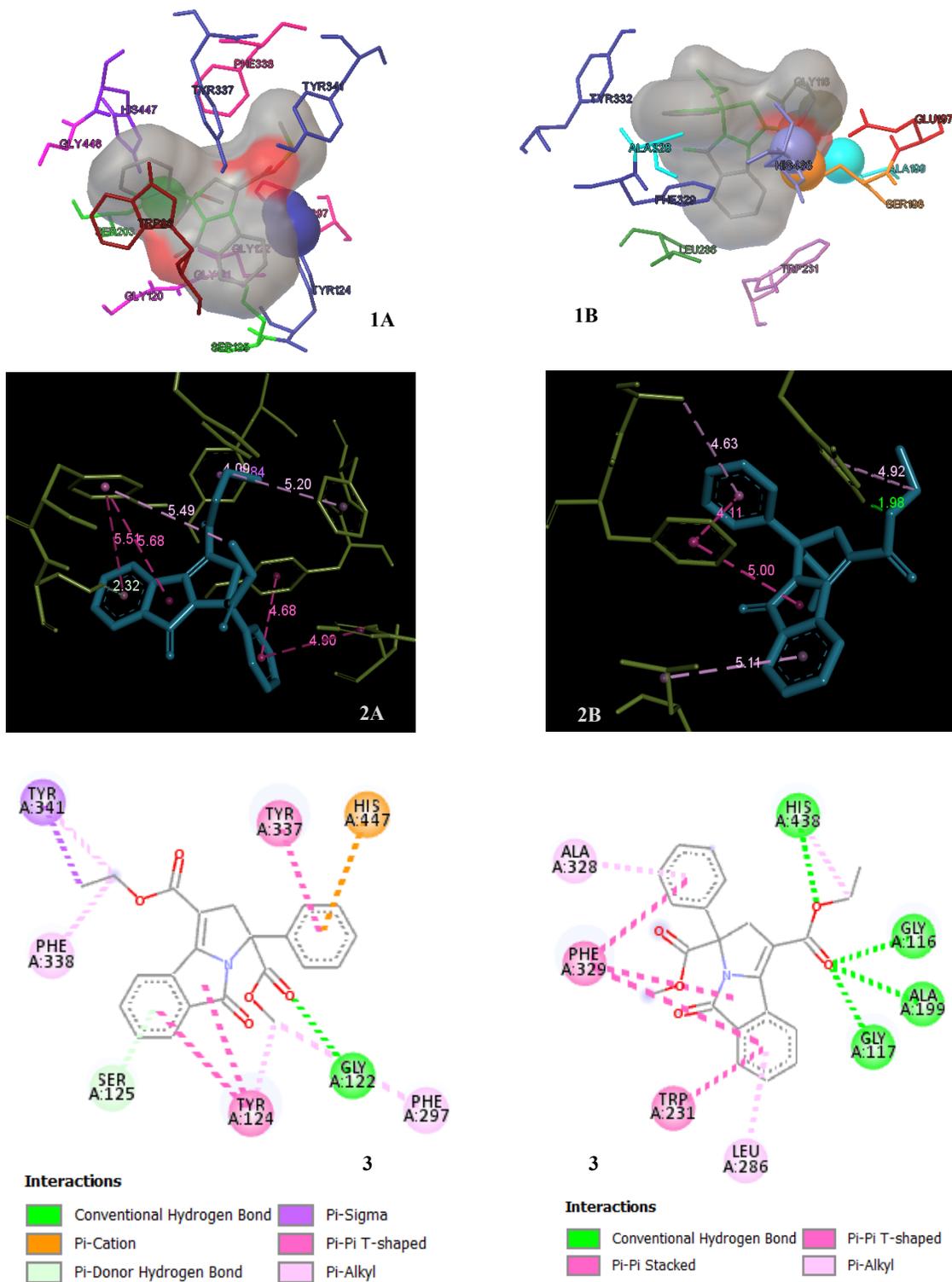


Ilustración 37. Interacciones encontradas entre el compuesto *rac-4* y las colinesterasas: Imágenes obtenidas de AutodockTools de 1A) la Interacción de *rac-4* y AChE y 1B) la Interacción de *rac-4* y BuChE; Imágenes obtenidas Discovery Studio 2021 de 2A) la Interacción de *rac-4* y los subsitos CAS y PAS de la AChE y de 2B) la Interacción de *rac-4* y BuChE; Imágenes 2D obtenidas Discovery Studio 2021 de 3A) el tipo de Interacciones entre *rac-4* y AChE y de 3B) el tipo de Interacciones entre *rac-4* y BuChE.

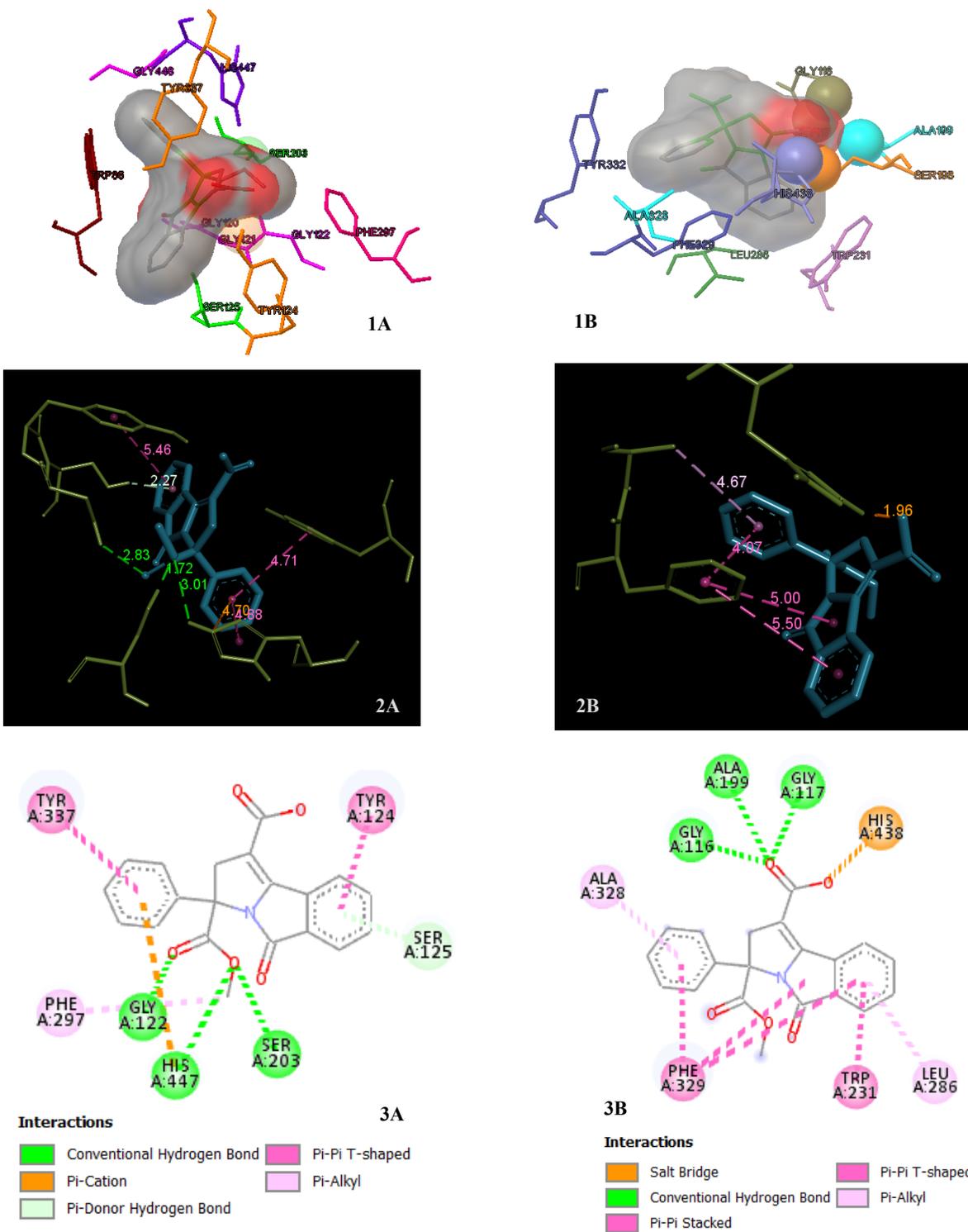


Ilustración 38. Interacciones encontradas entre el compuesto *rac-5* y las colinesterasas: Imágenes obtenidas de AutodockTools de 1A) la Interacción de *rac-5* y AChE y 1B) la Interacción de *rac-5* y BuChE; Imágenes obtenidas Discovery Studio 2021 de 2A) la Interacción de *rac-5* y los subsitos CAS y PAS de la AChE y de 2B) la Interacción de *rac-5* y BuChE; Imágenes 2D obtenidas Discovery Studio 2021 de 3A) el tipo de Interacciones entre *rac-5* y AChE y de 3B) el tipo de Interacciones entre *rac-5* y BuChE.

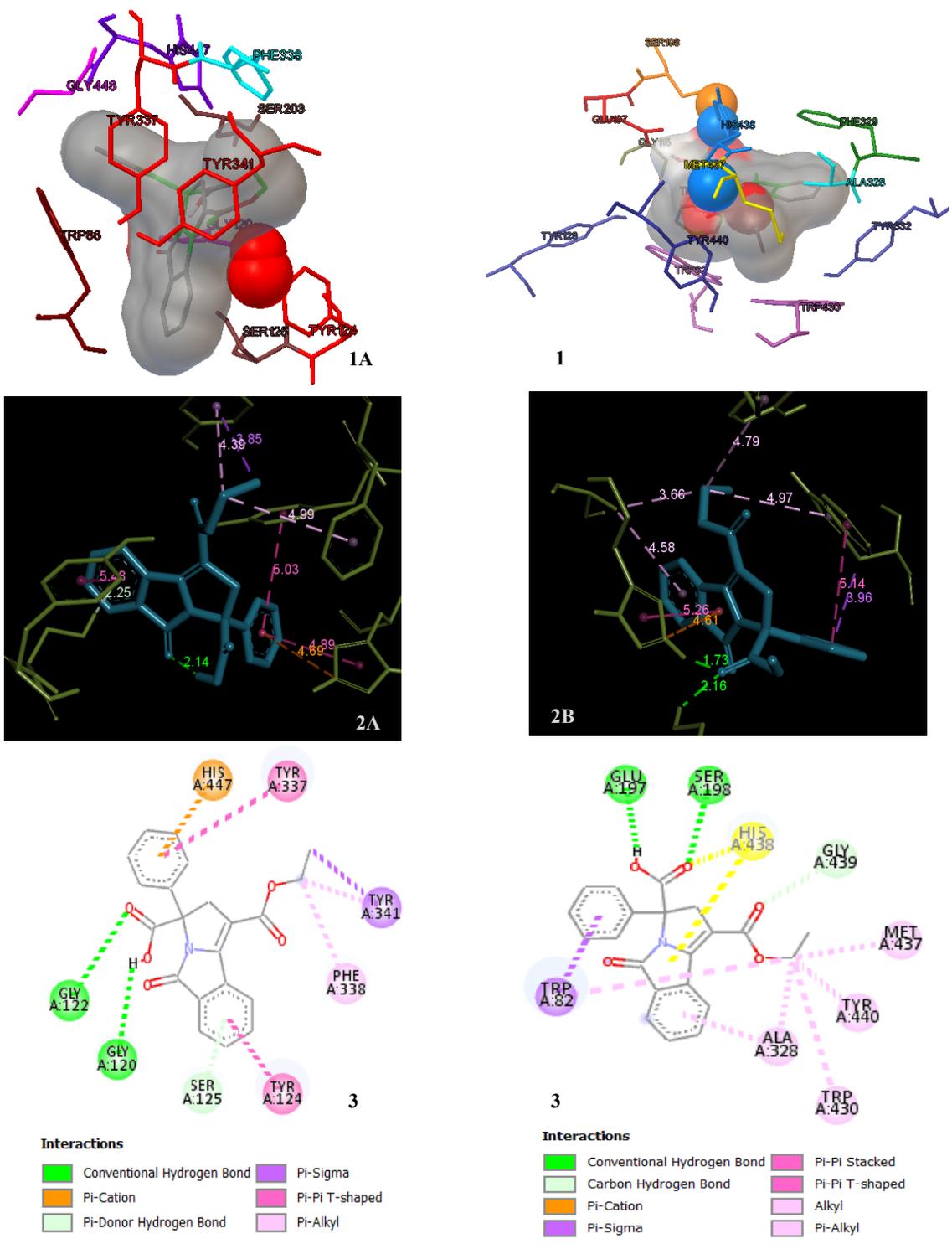


Ilustración 39. Interacciones encontradas entre el compuesto *rac-6* y las colinesterasas: Imágenes obtenidas de AutodockTools de 1A) la Interacción de *rac-6* y AChE y 1B) la Interacción de *rac-6* y BuChE; Imágenes obtenidas Discovery Studio 2021 de 2A) la Interacción de *rac-6* y los subsitos CAS y PAS de la AChE y de 2B) la Interacción de *rac-6* y BuChE; Imágenes 2D obtenidas Discovery Studio 2021 de 3A) el tipo de Interacciones entre *rac-6* y AChE y de 3B) el tipo de Interacciones entre *rac-6* y BuChE.

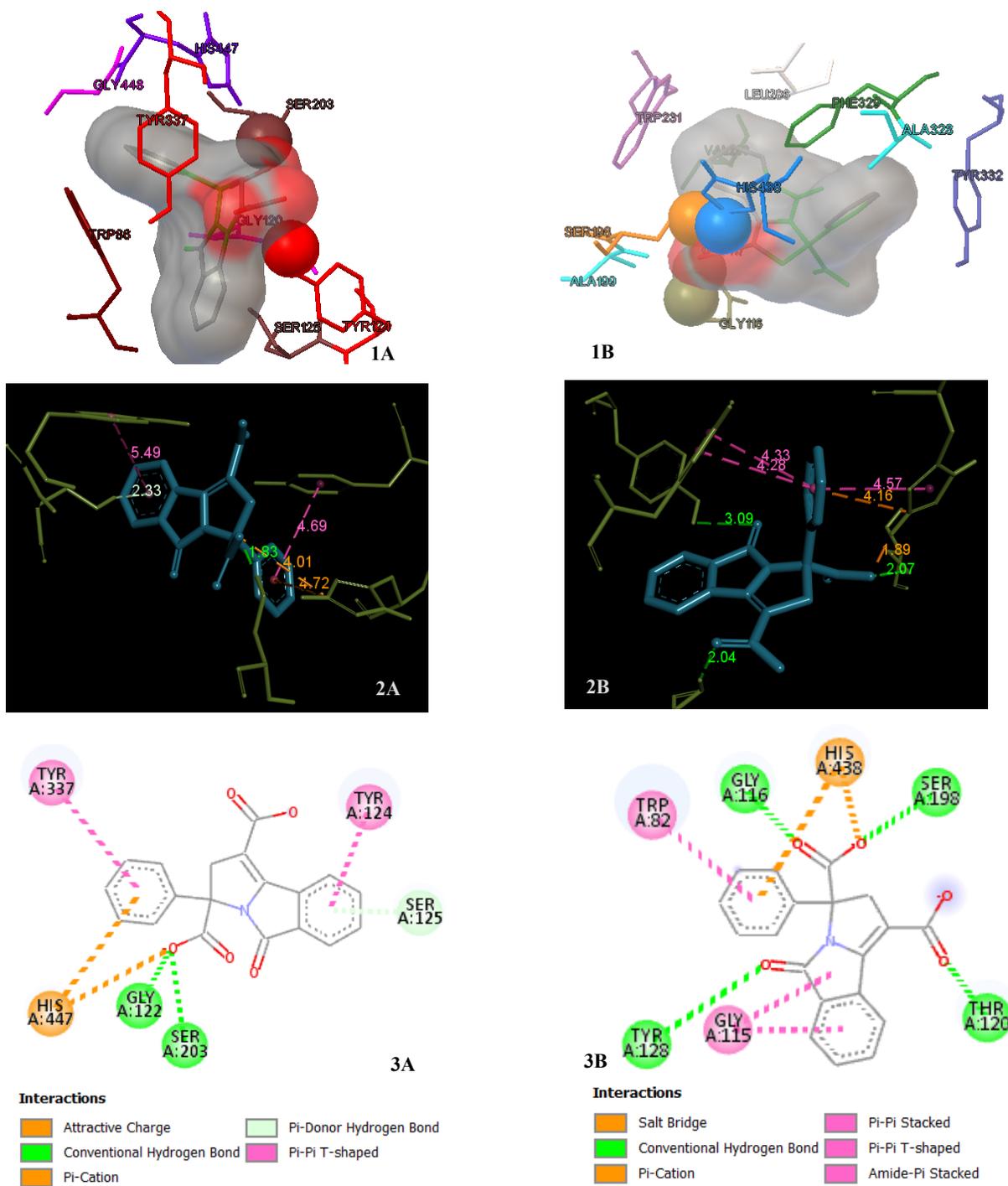
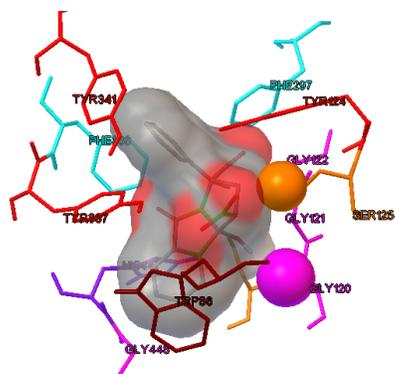
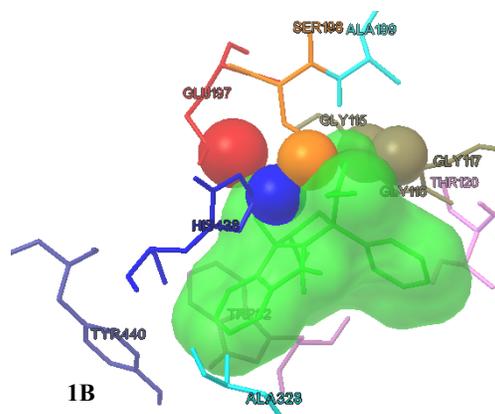


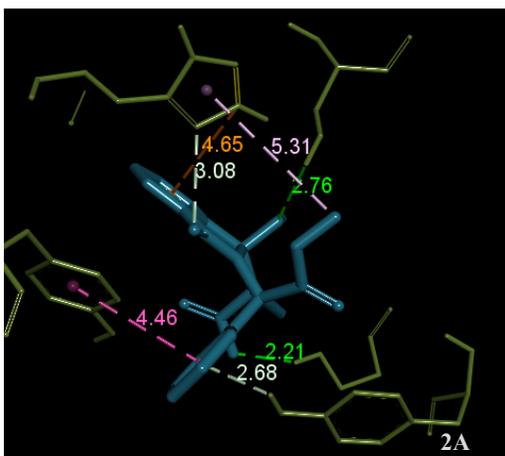
Ilustración 40. Interacciones encontradas entre el compuesto *rac-7* y las colinesterasas: Imágenes obtenidas de AutodockTools de 1A) la Interacción de *rac-7* y AChE y 1B) la Interacción de *rac-7* y BuChE; Imágenes obtenidas Discovery Studio 2021 de 2A) la Interacción de *rac-7* y los subsitos CAS y PAS de la AChE y de 2B) la Interacción de *rac-7* y BuChE; Imágenes 2D obtenidas Discovery Studio 2021 de 3A) el tipo de Interacciones entre *rac-7* y AChE y de 3B) el tipo de Interacciones entre *rac-7* y BuChE.



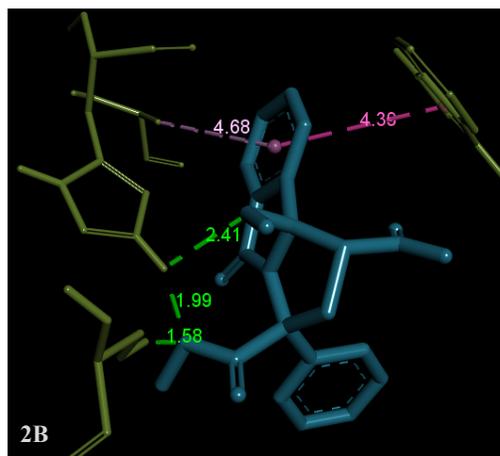
1A



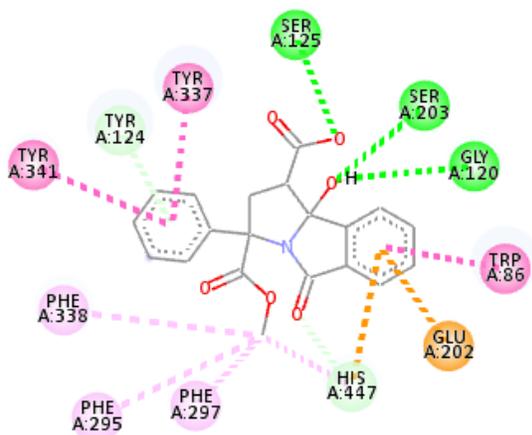
1B



2A



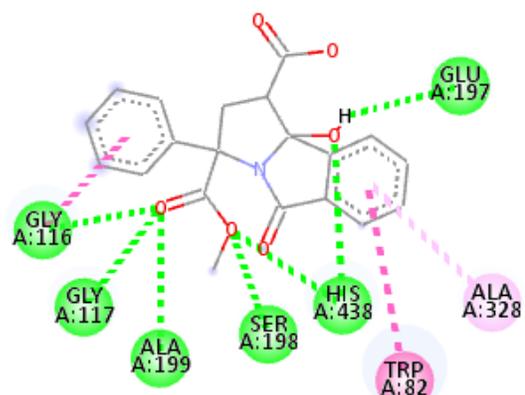
2B



3A

Interactions

- Conventional Hydrogen Bond
- Pi-Donor Hydrogen Bond
- Carbon Hydrogen Bond
- Pi-Pi T-shaped
- Pi-Cation
- Pi-Alkyl
- Pi-Anion



3B

Interactions

- Conventional Hydrogen Bond
- Amide-Pi Stacked
- Pi-Pi T-shaped
- Pi-Alkyl

Ilustración 41. Interacciones encontradas entre el compuesto *rac-8* y las colinesterasas: Imágenes obtenidas de AutodockTools de 1A) la Interacción de *rac-8* y AChE y 1B) la Interacción de *rac-8* y BuChE; Imágenes obtenidas Discovery Studio 2021 de 2A) la Interacción de *rac-8* y los subsitios CAS y PAS de la AChE y de 2B) la Interacción de *rac-8* y BuChE; Imágenes 2D obtenidas Discovery Studio 2021 de 3A) el tipo de Interacciones entre *rac-8* y AChE y de 3B) el tipo de Interacciones entre *rac-8* y BuChE.

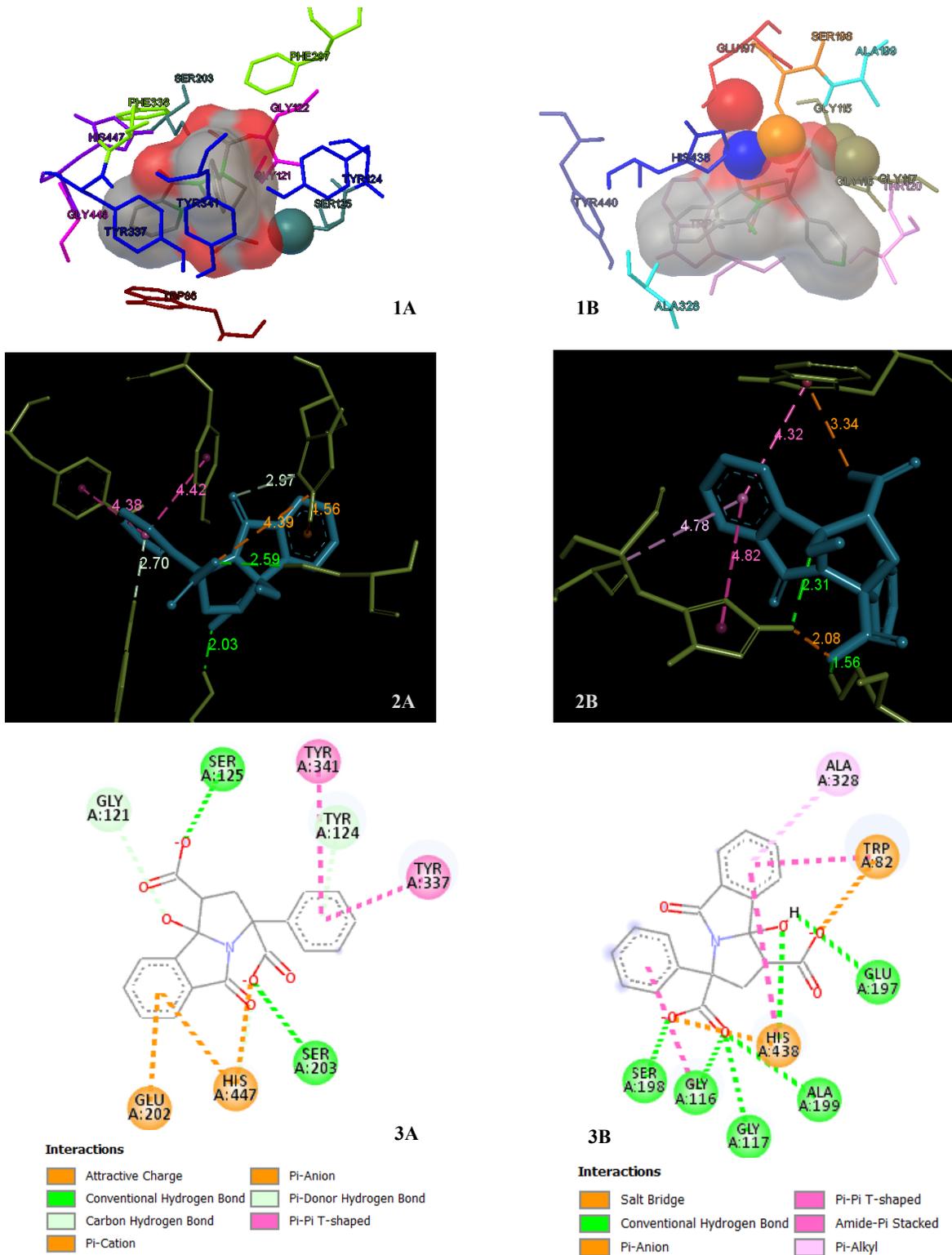
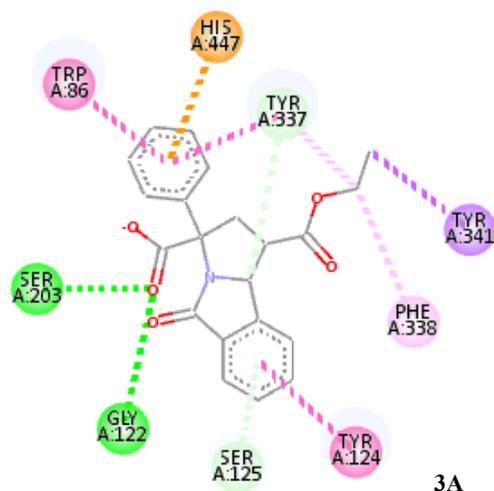
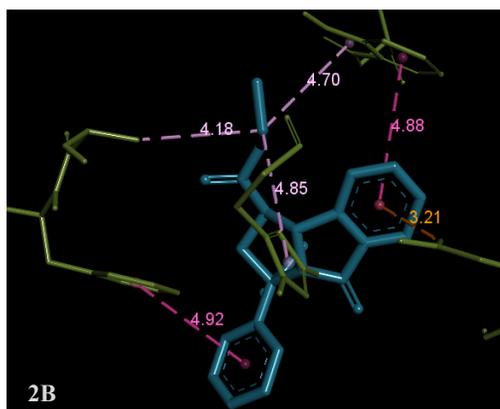
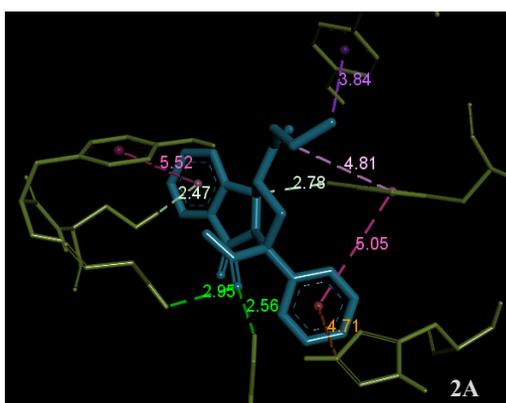
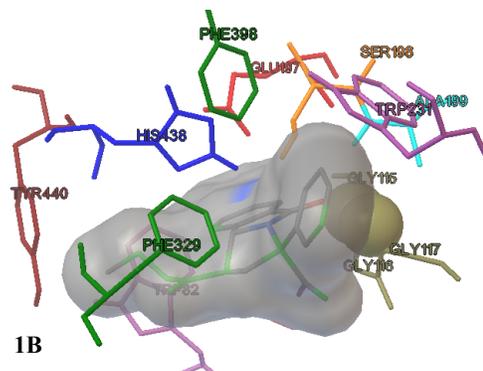
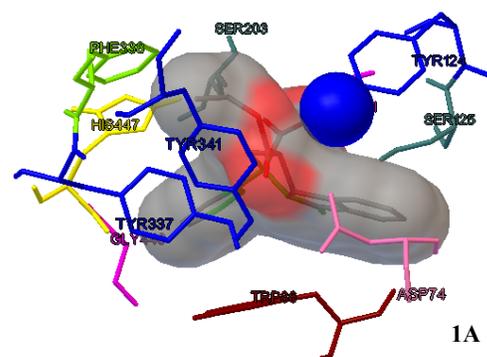
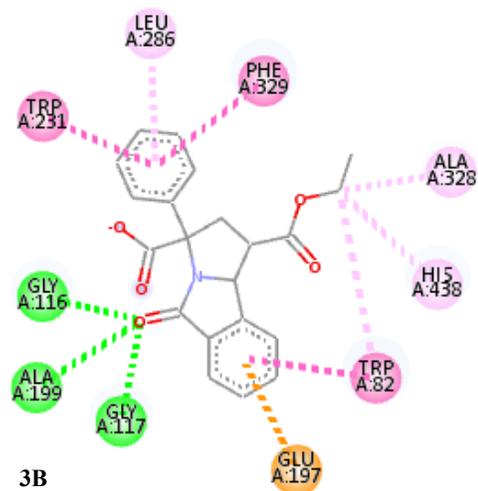


Ilustración 42. Interacciones encontradas entre el compuesto *rac-9* y las colinesterasas: Imágenes obtenidas de AutodockTools de 1A) la Interacción de *rac-9* y AChE y 1B) la Interacción de *rac-9* y BuChE; Imágenes obtenidas Discovery Studio 2021 de 2A) la Interacción de *rac-9* y los subsitos CAS y PAS de la AChE y de 2B) la Interacción de *rac-9* y BuChE; Imágenes 2D obtenidas Discovery Studio 2021 de 3A) el tipo de Interacciones entre *rac-9* y AChE y de 3B) el tipo de Interacciones entre *rac-9* y BuChE.



Interactions

Conventional Hydrogen Bond	Pi-Sigma
Carbon Hydrogen Bond	Pi-Pi Stacked
Pi-Cation	Pi-Pi T-shaped
Pi-Donor Hydrogen Bond	Pi-Alkyl



Interactions

Conventional Hydrogen Bond	Alkyl
Pi-Anion	Pi-Alkyl
Pi-Donor Hydrogen Bond	
Pi-Pi T-shaped	

Ilustración 43. Interacciones encontradas entre el compuesto *rac-10* y las colinesterasas:

Imágenes obtenidas de AutodockTools de 1A) la Interacción de *rac-10* y AChE y 1B) la Interacción de *rac-10* y BuChE; Imágenes obtenidas Discovery Studio 2021 de 2A) la Interacción de *rac-10* y los subsitos CAS y PAS de la AChE y de 2B) la Interacción de *rac-10* y BuChE; Imágenes 2D obtenidas Discovery Studio 2021 de 3A) el tipo de Interacciones entre *rac-10* y AChE y de 3B) el tipo de Interacciones entre *rac-10* y BuChE.