



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

“SÍNTESIS DE 2-(2-BROMOFENIL)-N-(2-FENIL)ETILACETAMIDAS Y DERIVADOS 1-(2-BROMOFENIL) ISOQUINOLÍNICOS CON EFECTO TIPO ANTIDEPRESIVO”

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. Javier Porras Ramírez

Dr. Mariano Martínez Vázquez

Instituto de Química - UNAM

Ciudad de México, Abril 2021.



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

“SÍNTESIS DE 2-(2-BROMOFENIL)-N-(2-FENIL)ETILACETAMIDAS Y DERIVADOS 1-(2-BROMOFENIL) ISOQUINOLÍNICOS CON EFECTO TIPO ANTIDEPRESIVO”

T E S I S
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS

P R E S E N T A
M. en C. Javier Porras Ramírez

Dr. Mariano Martínez Vázquez
Instituto de Química - UNAM



Ciudad de México, Abril 2021.

Este proyecto se realizó en el Laboratorio 1-4 del departamento de Productos Naturales del Instituto de Química de la UNAM, bajo la dirección del Dr. Mariano Martínez Vázquez. En colaboración con la Dra. Rosa Estada Reyes a cargo del laboratorio de Fitofarmacología del Instituto Nacional de Psiquiatría “Dr. Ramón de la Fuente Muñiz”. Con el apoyo otorgado de CONACyT con el número de CVU 473047 (No. de becario 280272), como parte del Programa de Doctorado en Ciencias Químicas de la UNAM.

AGRADECIMIENTOS:

Al **Dr. Mariano Martínez Vázquez** por abrirme las puertas de su laboratorio e aceptarme como alumno de doctorado; así como su apoyo y orientación durante el desarrollo del proyecto experimental para mi tesis doctoral.

Al **Dr. Rafael Castillo Bocanegra** y al **Dr. Jose Alfredo Vázquez Martínez** por sus consejos, orientación y apoyo en general durante el desarrollo del proyecto experimental.

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS:

A mis **Padres**, por su amor y apoyo incondicional e inigualable que me han ofrecido en todo momento. Por los consejos, por creer y confiar en mí. También a **Mayi** y **Rafi**, por demostrarme siempre su apoyo en cada momento y motivarme a seguir adelante cada día. Y en conjunto acompañarme y formar parte de uno de los momentos más importantes en mi vida

A **Diana**, por apoyarme y aconsejarme incondicionalmente, por darme ánimos y motivación en los momentos difíciles que se presentan en la vida personal y académica. Por ser uno de los pilares más importantes de mi vida y siempre estar ahí en todo momento. Sin tí, este logro no sería lo mismo.

A mi tío, el **Q.I. Daniel Ramírez**, por transmitirme la pasión por la química y por orientarme a resolver muchas incógnitas de ésta área de la ciencia.

A las familias **Porras**, **Ramírez** y **Rios**, por siempre apoyarme y estar presentes en todo momento.

A mis amigos y compañeros, que se involucraron de manera directa o indirecta en este proceso: Víctor Castro, Noemí Silva, Mónica Herrera, Dr. Iván Patraca, Carmen Juárez, Gabriel Flores, Dra. Xochitl Ambriz, Lidia Díaz, etc.

Y a todos los que formaron parte de la realización de este proyecto.

REFERENCIA DEL ARTÍCULO PUBLICADO:

Mr. Javier Porras-Ramírez, Dr. Rosa Estrada-Reyes, Dr. José Salud Rodríguez-Zavala, Dr. Ana María Dorantes-Barrón, Mr. Noé Jurado-Hernández, and Dr. Mariano Martínez-Vázquez. “Antidepressant-like effects of a new dihydro isoquinoline and its chemical precursors in mice. Involvement of serotonin and dopaminergic systems”. *Canadian Journal of Chemistry*. **Just-IN**.

Can. J. Chem. 00: 1–10 (0000) [dx.doi.org/10.1139/cjc-2020-0291](https://doi.org/10.1139/cjc-2020-0291)

INDICE GENERAL

Índice general.....	i
Índice de figuras.....	iii
Índice de tablas.....	iv
Abreviaturas.....	v
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
1.INTRODUCCIÓN.....	3
2.DEPRESIÓN.....	4
2.1. Etiología de la depresión.....	5
2.2. Hipótesis de las monoaminas.....	6
2.3. Eje Hipotálamo – Pituitaria – Adrenal (HPA).....	7
2.4. Tratamiento.....	9
2.4.1. Fármacos antidepresivos.....	10
2.4.2. Antidepresivos tricíclicos.....	11
2.4.3. Inhibidores de la recaptura.....	12
2.4.3.1. Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS).....	13
2.4.3.2. Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina y noradrenalina (ISRSN).....	13
2.4.3.3. Otros inhibidores de la recaptura.....	14
2.4.4. Inhibidores enzimáticos.....	15
2.4.4.1. Inhibidores de la enzima monoamino oxidasa (IMAO).....	15
2.4.4.2. Inhibidores reversibles de la monoamino oxidasa (IRMAO).....	17
3. QUÍMICA DE LAS BENCILISOQUINOLINAS (BIQ).....	18
3.1. Síntesis de BIQ.....	19
3.2. Reacción Bischler-Napieralski.....	20
3.3. Importancia biológica de las BIQ.....	25
4. JUSTIFICACIÓN.....	28
5. HIPÓTESIS.....	29
6. OBJETIVO GENERAL.....	30
6.1. Objetivos Particulares.....	30
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
7.1. Síntesis química.....	31
7.1.1. Obtención del cloruro del ácido-2-bromofenil acético (42a) y del cloruro del ácido-2-bromo-4-nitro-fenil acético (41b).....	31
7.1.2. Síntesis de 2-(2-bromofenil)- <i>N</i> -fenetilacetamida (44a).....	32
7.1.3. Síntesis de 2-(2-bromofenil)- <i>N</i> -(4-hidroxifenetil) acetamida (44b).....	33
7.1.4. Síntesis de 2-(2-bromofenil)- <i>N</i> -(4-clorofenetil) acetamida (44c).....	33
7.1.5. Síntesis de 2-(2-bromo-6-nitrofenil)- <i>N</i> -fenetilacetamida (44d).....	33
7.1.6. Síntesis de 2-(2-bromo-6-nitrofenil)- <i>N</i> -(4-clorofenetil) acetamida (44e).....	34
7.1.7. Síntesis de 4-(2-(2-(2-bromofenil) acetamido) etil) fenilacetato (44f).....	34
7.1.8. Síntesis de 4-(2-(2-(2-bromofenil) acetamido) etil) fenil-4-bromobenzoato (44g).....	34

7.1.9. Síntesis de (2-bromofenil) (3,4-dihidroisoquinolin-1-il) metanona (45a).....	35
7.1.10. Síntesis de (2-bromofenil) (7-cloro-3,4-dihidroisoquinolin-1-il)metanona (45c).....	36
7.1.11 Síntesis de (2-bromo-6-nitrofenil)(3,4-dihidroisoquinolin-1-il)metanona (45d).....	36
7.1.12 Síntesis de (2-bromo-6-nitrofenil)(7-cloro-3,4-dihidroisoquinolin-1-il)metanona (45e).....	37
7.2. Ensayos biológicos.....	37
7.2.1. Animales.....	37
7.2.2.Fármacos y reactivos.....	38
7.2.3. Evaluación experimental del efecto tipo antidepresivo de compuestos sintetizados.....	38
7.2.4. Prueba de nado forzado (FST, por sus siglas en inglés).....	39
7.2.5. Prueba de campo abierto (“Hole-board”).....	39
7.2.6. Evaluación del posible mecanismo de acción de los compuestos más bioactivos.....	40
7.2.7. Acoplamiento molecular (“Docking”).....	41
7.2.8.Análisis estadístico.....	42
8. RESULTADOS.....	43
8.1. Síntesis química.....	43
8.1.1. Compuesto 2-(2-bromofenil)- <i>N</i> -fenetilacetamida (44a).....	43
8.1.2. Compuesto 2-(2-bromofenil)- <i>N</i> -(4-hidroxifenetil) acetamida (44b).....	48
8.1.3. Compuesto 2-(2-bromofenil)- <i>N</i> -(4-clorofenetil) acetamida (44c).....	48
8.1.4. Compuesto 2-(2-bromo-6-nitrofenil)- <i>N</i> -fenetilacetamida (44d).....	49
8.1.5. Compuesto 2-(2-bromo-6-nitrofenil)- <i>N</i> -(4-clorofenetil) acetamida (44e).....	49
8.1.6. Compuesto 4-(2-(2-(2-bromofenil) acetamido) etil) fenilacetato (44f).....	50
8.1.7. Compuesto 4-(2-(2-(2-bromofenil) acetamido) etil) fenil-4-bromobenzoato (44g).....	50
8.1.8 Compuesto (2-bromofenil) (3,4-dihidroisoquinolin-1-il) metanona (45a).....	52
8.1.9. Compuesto (2-bromofenil) (7-cloro-3,4-dihidroisoquinolin-1-il)metanona (45c).....	56
8.1.10. Compuesto (2-bromo-6-nitrofenil) (3,4-dihidroisoquinolin-1-il) metanona (45d).....	57
8.1.11. Compuesto (2-bromo-6-nitrofenil) (7-cloro-3,4-dihidroisoquinolin-1-il)metanona (45e).....	57
8.2. Evaluación de la actividad tipo antidepresiva.....	59
8.3. Docking	63
9.DISCUSIÓN.....	66
10.CONCLUSIONES.....	71
11. REFERENCIAS.....	72
12. ANEXOS.....	81

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Hipótesis de las monoaminas como etiología de la depresión.....	7
Figura 2. Cadena de activación del Eje HPA, como hipótesis de la etiología de la depresión.....	9
Figura 3. Representación de la actividad en la brecha sináptica.....	17
Figura 4. Estructura y numeración del núcleo estructural de las BIQ.....	18
Figura 5. Estructura química de algunos productos naturales derivados de BIQ.....	19
Figura 6. Ruta de biosíntesis de la BIQ (S)-Norcoclaurina.....	20
Figura 7. Reacción Bischler-Napieralski.....	21
Figura 8. Formación de dihidrobencil isoquinolinas mediante ataque electrofílico en condiciones de reacción Bischler-Napieralski.....	22
Figura 9. Influencia del grupo metoxilo en la formación de BIQ.....	22
Figura 10. Influencia de los sustituyentes en la síntesis de BIQ.....	23
Figura 11. Influencia de diversos sustituyentes en la síntesis de BIQ.....	23
Figura 12. Mecanismo de reacción Bischler-Napieralski mediante la formación de intermediario tipo imina.....	24
Figura 13. Mecanismo de reacción Bischler-Napieralski mediante la formación de un intermediario nitrilo.....	24
Figura 14. Mecanismo de reacción Bischler-Napieralski con AlCl ₃ como agente deshidratante.....	25
Figura 15. Estructura química de derivados de isoquinolinas con actividad en el Sistema Nervioso Central.....	26
Figura 16. Alcaloides aislados de la <i>Annona cherimola</i> Mill.....	26
Figura 17. Estructura química de derivados de isoquinolinas con actividad tipo antidepresiva.....	27
Figura 18. Estructura química de diversas BIQ con actividad antidepresiva.....	27
Figura 19. Reacción general de síntesis de las acetamidas 44a – 44c	33
Figura 20. Reacción general para la síntesis de las acetamidas 44d y 44e	34
Figura 21. Reacción de síntesis de las acetamidas 44f y 44g	35
Figura 22. Condiciones de reacción Bischler-Napieralski para la síntesis de 45a	36
Figura 23. Condiciones de reacción Bischler-Napieralski para la síntesis de 45c, 45d y 45e	37
Figura 24. Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, en CDCl ₃) del compuesto 44a	44
Figura 25. Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, en CDCl ₃) del compuesto 44a	45
Figura 26. Espectro DEPT 90 y DEPT 135 del compuesto 44a	45
Figura 27. Espectro bi-dimensional COSY del compuesto 44a	46
Figura 28. Espectro bi-dimensional HSQC del compuesto 44a	47
Figura 29. Espectro bi-dimensional HMBC del compuesto 44a	48
Figura 30. Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, en CDCl ₃) del compuesto 45a	52
Figura 31. Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, en CDCl ₃) del compuesto 45a	53
Figura 32. Espectro DEPT 135 del compuesto 45a	54
Figura 33. Espectro bi-dimensional COSY del compuesto 45a	55
Figura 34. Espectro bi-dimensional HSQC del compuesto 45a	55
Figura 35. Espectro bi-dimensional HMBC del compuesto 45a	56
Figura 36. Efecto tipo antidepresivo de la administración aguda de acetamidas 44a, 44b, 44f y 44g en FST.....	60
Figura 37. Efecto tipo antidepresivo de la administración aguda del compuesto 45a en FST.....	61
Figura 38. Efecto tipo antidepresivo de la administración aguda de fármacos de referencia en FST.....	61

Figura 39. Efecto de la co-administración de 45a con PCPA o reserpina (RESI) en FST.....	62
Figura 40. Efecto de la co-administración de 45a con sulpirida y SCH23390.....	62
Figura 41. Efecto de la co-administración de 45a con haloperidol en FST.....	63
Figura 42. Estructura del Receptor Dopaminérgico Humano D3 n complejo con Eticloprida (PDB: 3PLB) y la conformación del compuesto 45a obtenida mediante el análisis de "Docking".....	64
Figura 43. Unión de ligandos en el receptor dopaminérgico humano D3.....	65

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Fármacos utilizados en el tratamiento de la depresión.....	11
Tabla 2. Datos de ¹ H RMN de los compuestos 44a – 44g	51
Tabla 3. Datos de ¹³ C RMN de los compuestos 44a – 44g	51
Tabla 4. Datos de ¹ H RMN (en CDCl ₃) de los compuestos 45a – 45e	58
Tabla 5. Datos de ¹³ H RMN (en CDCl ₃) de los compuestos 45a – 45e	58
Tabla 6. Efecto de 45a , clorgilina y deprenyl sobre la actividad mitocondrial de MAO-A y MAO-B en preparados murinos.....	63
Tabla 7. Energía de enlace teórico y valores de <i>Kd</i> del compuestos 45a sobre el receptor dopaminérgico humano D ₃	64

ABREVIATURAS

°C	Grados centígrados	ISRS	Inhibidor Selectivo de la Recaptura de Serotonina
¹³ C	Carbono-13	ISRSN	Inhibidor Selectivo de Recaptura de Serotonina y Noradrenalina
¹ H	Protón	<i>J</i>	Constante de acoplamiento
AcOEt	Acetato de etilo	Kg	Kilogramo
ACTH	Hormona Adrenocorticotrópica	m	Señal multiple
APF	Ácido polifosfórico	MAO	Monoamino Oxidasa
BIQ	Bencil isoquinolina	MHz	Megahertz
CC	Cromatografía en columna	min	Minutos
CLIMI	Clomipramina	mL	Mililitro
cm	Centímetros	mm	Milimetro
COSY	Correlation Spectroscopy	mmol	Milimol
CRF	Factor liberador de Corticotropina	mp	Punto de fusión
d	Señal doble	N	Normalidad
DA	Dopamina	NA	Noradrenalina
dd	Señal doble de dobles	NIH	Instituto Nacional de Salud
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer	OFT	Prueba de campo abierto
DIM	Desipramina	OMS	Organización Mundial de la Salud
DMF	Dimetilformamida	PCPA	<i>p</i> -clorofenilalanina
DMSO	Dimetilsulfóxido	PEA	<i>b</i> -fenetilamina
EP	Epinefrina	ppm	Partes por millón
FST	Prueba de Nado Forzado	q	Señal cuádruple
g	Gramos	RESI	Reseprina
h	Horas	RMN	Resonancia Magnética Nuclear
HCl	Ácido clorhídrico	s	Señal simple
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation	s.e.m.	Error estándar
HPA	Hipotalamo/Hipocampo-Pituitaria-Adrenal	SNC	Sistema Nervioso Central
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy	t	Señal triple
IMI	Imipramina	TCAs	Tricyclic Antidepressants
IRMAO	Inhibidor Reversible de Monoamino Oxidasa	td	Señal triple de dobles
		TMS	Tetrametilsilano
		UV	Ultravioleta
		δ	Deslazamiento químico

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue sintetizar nuevos derivados de 2- (2-bromofenil-*N* fenetil-acetamidas y benzil-isoquinolinas (BIQ) como posibles agentes antidepresivos. Los derivados de fenetil-acetamidas se sintetizaron mediante el acoplamiento de amidas aromáticas con el cloruro de 2-bromofenilacetilo. La síntesis de BIQ se logró mediante la reacción entre fenil-acetamidas sintetizadas y 2-cloropiridina. Las estructuras de los compuestos se establecieron principalmente mediante el análisis de los espectros de RMN. Los compuestos obtenidos con rendimientos moderados a buenos se evaluaron como agentes antidepresivos en la prueba de nado forzado. El posible mecanismo de esos derivados activos se exploró mediante experimentos con antagonistas realizando la combinación con éster metílico de *p*-cloro-fenilalanina, reserpina, sulpirida y el antagonista de dopamina (DA) D1 SCH23390. Además, se realizaron ensayos de inhibición de las enzimas MAO A y B. Así como estudios de acoplamiento entre el receptor D3 de DA humano y el compuesto detectado como el más bioactivo como agente antidepresivo. Los resultados mostraron que la (2-bromofenil) (3,4 dihidroisoquinolin-1-il) metanona (**45a**) presentó los efectos antidepresivos más potentes sin modificar la actividad ambulatoria de los ratones.

Los experimentos con antagonistas mostraron que el compuesto **45a** actúa sobre los receptores serotoninérgicos y dopaminérgicos. Los estudios de acoplamiento indicaron una alta afinidad entre el receptor de DA D3 humano y **45a**. Nuestros resultados mostraron que la BIQ **45a** posiblemente su acción antidepresiva sea mediado por una interacción con los receptores presinápticos de serotonina (5-HT) y los receptores dopaminérgicos D1, D2 y D3. Este estudio destaca el potencial farmacológico de los BIQ halogenados en el tratamiento de trastornos depresivos.

Abstract

The aim of this study was to synthesize novel 2-(2-bromophenyl)-*N*-phenethylacetamides and benzyloquinoline (BIQ) derivatives to be evaluated as antidepressant-like agents in mice. The phenethylacetamide derivatives were synthesized by coupling aromatic amides to the backbone of 2-bromophenylacetyl chloride. The synthesis of BIQ was achieved by the reaction between synthesized phenylacetamides and 2-chloropyridine. The structures of compounds were established mainly by 1D and 2D NMR spectra. Those compounds obtained with moderate to good yields were evaluated as antidepressant-like agents in the forced swimming. The possible mechanism of those active derivatives was explored through antagonist experiments in combination with *p*-chloro-phenylalanine methyl ester, reserpine, sulpiride, and dopamine D1 antagonist SCH23390. Also, MAO A and B inhibition assay were performed.

Docking studies between human dopamine D3 receptor and the higher active compound detected was performed. The results showed that the (2-bromophenyl) (3,4-dihydroisoquinoline-1-yl)methanone (**45a**) presented the most potent antidepressant like effects without modifying the ambulatory activity of experimental mice.

Antagonist experiments showed that compound **45a** acts on the serotonergic and dopaminergic receptors. Docking studies indicated a high affinity between the human dopamine D3 receptor and **45a**. Our results showed that benzyloquinoline **45a** has an antidepressant-like effect that is possible mediated by an interaction with the presynaptic serotonin receptors, and dopaminergic D1, D2, and D3, receptors. This study highlights the pharmacological potential of halogenated BIQ's in the treatment of some depressive disorders.

1. INTRODUCCIÓN

La depresión es un desorden mental complejo que se caracteriza principalmente por cambios en los estados emocionales (Nestler *et al.*, 2002). En el mundo existen alrededor de 300 millones de personas de diversas edades que padecen de depresión. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) la depresión está considerada como una de las causas principales de discapacidad a nivel mundial y puede afectar a cualquier persona sin importar la edad. Actualmente se tienen identificados síntomas característicos de la depresión como son: anhedonia, irritabilidad, falta de energía, trastornos de sueño y/o alimenticios (Reddy, 2010).

La depresión también está asociada a diversos procesos patológicos como demencia, Parkinson, diabetes y procesos cancerosos, entre otros (Yang *et al.*, 2015). A pesar de que existen diversos fármacos efectivos para el tratamiento de la depresión. Alrededor del 40 % de los pacientes llegan a desarrollar resistencia al tratamiento farmacológico. Incluso muchos de los efectos adversos como somnolencia, sobrepeso y una baja respuesta son producidos frecuentemente por estos fármacos (Nash y Nutt, 2007).

Por otro lado, existen evidencias de que compuestos derivados de quinolonas o isoquinolinas presentan el potencial de actuar como agentes antidepresivos. Estos compuestos tienen la peculiaridad de presentar actividad al nivel del sistema nervioso central (SNC), la cual depende principalmente de los sustituyentes presentes en el esqueleto principal del fármaco. Algunos derivados de isoquinolina, como las bencil isoquinolinas (BIQ) pueden obtenerse a partir de fuentes naturales o bien por rutas sintéticas como la reacción Bischler-Napieralski, la cual es ampliamente utilizada para la obtención de compuestos de este tipo.

Existen diversos reportes acerca del potencial biológico de las bencil isoquinolinas, siendo uno de los más importantes, la actividad sobre el SNC, y por lo tanto relacionado con la etiología de la depresión (Berenguer *et al.*, 2009). El potencial biológico que poseen las BIQ ha sido ampliamente reportado (Berenguer *et al.*,

2009; Moreno *et al.*, 2013). Por lo tanto, la búsqueda de métodos sintéticos sencillos para la obtención de BIQ ha cobrado importancia. En este contexto, la reacción Bischler-Napieralski es ampliamente utilizada para obtener BIQ, y otros derivados. Los precursores principales para la obtención de BIQ mediante esta ruta sintética son acetamidas aromáticas (Lafrance *et al.* 2007).

Tomando en cuenta lo anterior, en este trabajo se presenta la síntesis de una serie de nuevas acetamidas aromáticas y sus respectivos derivados tipo BIQ, los cuales fueron evaluados como agentes antidepresivos en un modelo murino.

2. DEPRESIÓN

La depresión es una enfermedad que en los últimos años ha constituido un problema de salud pública. A nivel mundial, se presenta como la cuarta causa de discapacidad y pérdida de la calidad de vida. En México ocupa el cuarto lugar de las principales causas de discapacidad en mujeres, y el noveno para los hombres.

La depresión es una enfermedad que en muchas ocasiones se manifiesta en conjunto con alguna otra enfermedad. Por ejemplo, pacientes con cáncer en desarrollo, con traumatismos, o aquellos que sufrieron ataques cardíacos, así como los infectados con VIH, o que padecen enfermedad de Parkinson, así como aquellos que presentan desórdenes alimenticios (bulimia y/o anorexia), o son diabéticos, o drogadictos u otros síndromes, tienen un alto riesgo de desarrollar un cuadro crónico de depresión, lo cual en conjunto disminuye y deteriora la calidad de vida de quien lo padece (DBSA, 2020).

Actualmente, se estima que la depresión afecta alrededor de 300 millones de personas en el mundo, siendo un padecimiento frecuente y que puede presentarse a cualquier edad sin distinción significativa. Afecta mas a las mujeres que a los hombres y en el peor de los casos puede conducir al suicidio.(OMS, 2020)

2.1. Etiología de la depresión

Los factores detonantes de la depresión son muy variados, puede ser enfermedad colateral de alguna otra condición médica. Existen tanto factores psicosociales como fisiológicos, así como genéticos y ambientales, entre otros, que se conocen pueden desencadenar los síntomas que la depresión produce (Pérez *et al.*, 2017)

Gracias al estudio y tratamiento de pacientes con depresión se han identificado y caracterizado algunos síntomas principales como lo son: estado de ánimo depresivo o disminuido, anhedonia y falta de energía y/o fatiga. Además, también se han identificado otros síntomas secundarios, como alteraciones en el ciclo de sueño, afectación en funciones psicomotoras, pesimismo, sentimientos de culpa, baja autoestima, tendencias suicidas, alteraciones en la ingesta de alimentos, así como cambios y desregulaciones de peso corporal. Por la variedad de síntomas identificados, y que algunos son característicos de otros desordenes o enfermedades mentales, en ocasiones diagnosticar la depresión clínicamente, es complicado (NIMH, 2016).

El tratamiento farmacológico para la depresión fue descubierto por serendipia alrededor de los años 50's, esto ayudo a revolucionar y dar pauta al estudio y entendimiento del cómo funcionaba la enfermedad y su íntima relación con los neurotransmisores y sus receptores.

Fue el Premio Nobel Julius Axelrod en 1970, quien dio a conocer el descubrimiento sobre el mecanismo que regula la producción de noradrenalina (NA) en células nerviosas y como este mecanismo está involucrado en la inactivación de este neurotransmisor. A raíz de este conocimiento, comenzaron a generarse hipótesis sobre los orígenes de la depresión, los cuales, con el paso de los años y de la investigación se fueron perfeccionando y entendiendo de mejor manera (Wong y Licino, 2001).

2.2. Hipótesis de las monoaminas

Fue la primera hipótesis formulada para la explicación fisiológica de la depresión. Bajo esta hipótesis, se postuló que los síntomas de la depresión pueden ser originados por la deficiencia y disminución de DA (1), NA (2) y/o 5-HT (3). Lo anterior se basa en el hecho de que algunos fármacos antidepresivos incrementaban las concentraciones de estos neurotransmisores en la brecha sináptica (Wong y Licino, 2001).

Los neurotransmisores monoaminérgicos (5-HT), NA y DA (1), facilitan la transmisión de impulsos nerviosos a través de las neuronas, generando así el funcionamiento adecuado del sistema nervioso. En sus inicios, esta hipótesis menciona que la deficiencia de monoaminas era la causa de la depresión, debido a que algunos compuestos que aumentaban la liberación de monoaminas se consideraban como antidepresivos (tal es el caso de las anfetaminas), mientras que aquellos que interferían con su liberación causaban los síntomas similares a la depresión como la reserpina. (Nutt, 2002).

Sin embargo, la hipótesis de las monoaminas es más compleja de lo que parece. Los primeros argumentos establecen que la disminución de las monoaminas, provoca cambios neuroquímicos que se ven reflejados como síntomas de la depresión. Por lo tanto, el efecto ideal de un fármaco antidepresivo es incrementar o reestablecer la concentración del neurotransmisor disponible en la brecha sináptica. Sin embargo, en algunos casos este efecto alcanza su nivel eficaz después de 2 a 4 semanas de administración diaria (Figura 1) (Blier, 2003; Ushakova *et al.*, 2020).

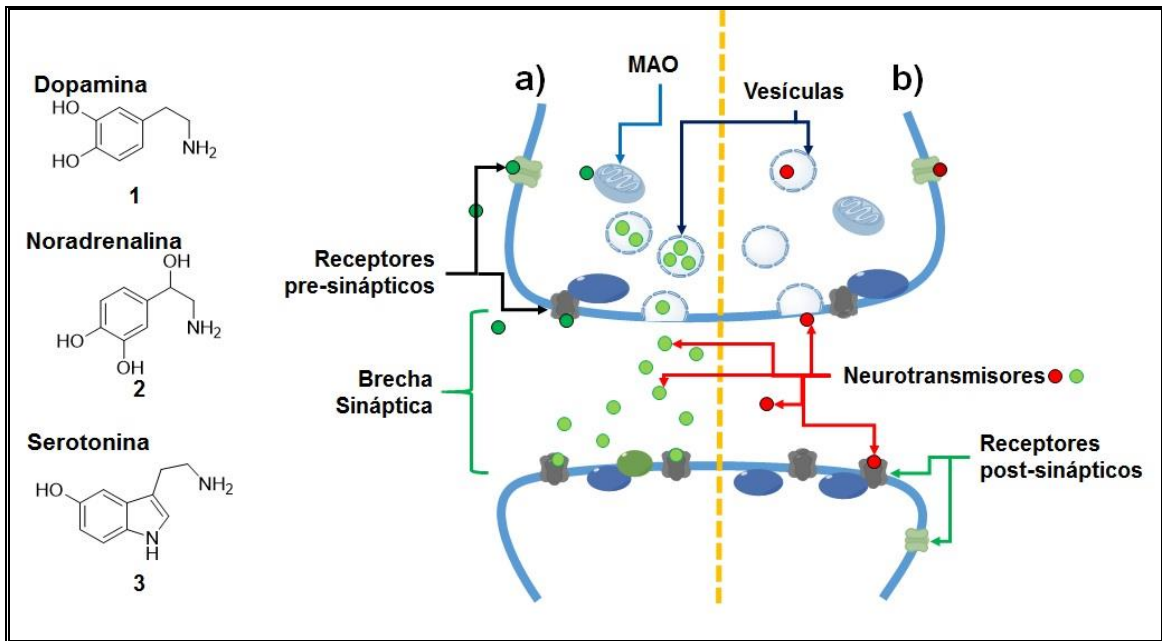


Figura 1. Hipótesis de las monoaminas como etiología de la depresión. **a)** se muestra el funcionamiento normal, los neurotransmisores almacenados en vesículas, los cuales son liberados a la brecha sináptica para unirse al receptor postsináptico, mientras otros son re-capturados por sus receptores presinápticos para continuar su metabolismo. **b)** Ejemplo de la desregulación del sistema monoaminérgico, menor concentración de neurotransmisores en las neuronas pre y postsinápticas, provocan una mala transmisión de impulsos y por ende manifestación de la sintomatología.

2.3. Eje Hipotálamo – Pituitaria – Adrenal (HPA)

Los factores externos que pueden contribuir a causar depresión son muy diversos, uno de ellos es el estrés. El estrés es una condición en la cual de manera fisiológica nos hace mantenernos en estado latente de alerta o a la expectativa para reaccionar rápidamente ante un estímulo.

A nivel sistémico es algo mucho más complejo que el simple hecho de “estar estresado”. La hipótesis que involucra el eje HPA propone que este sistema funciona como un mecanismo por el cual el cerebro reacciona de manera aguda y crónica ante un estímulo como el estrés.

La activación de este eje consiste en lo siguiente: las neuronas presentes en el hipotálamo secretan el factor liberador de corticotropina (CRF, por sus siglas en inglés). Este factor afecta la glándula pituitaria anterior, provocando que se sintetice y libere la hormona adrenocorticotropica (ACTH, por sus siglas en inglés).

Posteriormente esta hormona estimulará la síntesis y liberación de glucocorticoides, como el cortisol (4) (en el caso de los humanos) a partir de la corteza adrenal. Los niveles elevados de glucocorticoides ejercen un profundo efecto en el metabolismo general y también afectan dramáticamente diversas regiones del cerebro, provocando cambios en el comportamiento (Figura 2) (Willner et al, 2013).

La actividad del eje HPA es controlada por diversas vías cerebrales, incluyendo el hipocampo (éste ejerce una inhibición sobre las neuronas del hipotálamo que contienen CRF, mediante un circuito poli sináptico) y la amígdala (la cual ejerce una influencia excitadora). Los glucocorticoides son potencialmente reguladores del hipocampo y las neuronas paraventriculares, ejerciendo un efecto de retroalimentación sobre el eje HPA (Holsboer e Ising, 2010).

Los glucocorticoides regulan la función del hipocampo dentro del eje HPA, además promueven algunas habilidades cognitivas. La elevación considerable de los glucocorticoides por tiempo prolongado, pueden llegar a causar daño en las neuronas del hipocampo. La desregulación de los niveles de glucocorticoides puede provocar daños sobre las células dendríticas, por lo que se desencadenará una serie de alteraciones en el metabolismo de algunas partes del cerebro lo que puede generar efectos sobre el estado del ánimo entre otras funciones (Keller *et al.*, 2017).

Una activación excesiva del eje HPA, se ha logrado identificar en personas con depresión, y así mismo estas anomalías se han corregido con el uso de algunos antidepresivos (Nestler *et al.*, 2002).

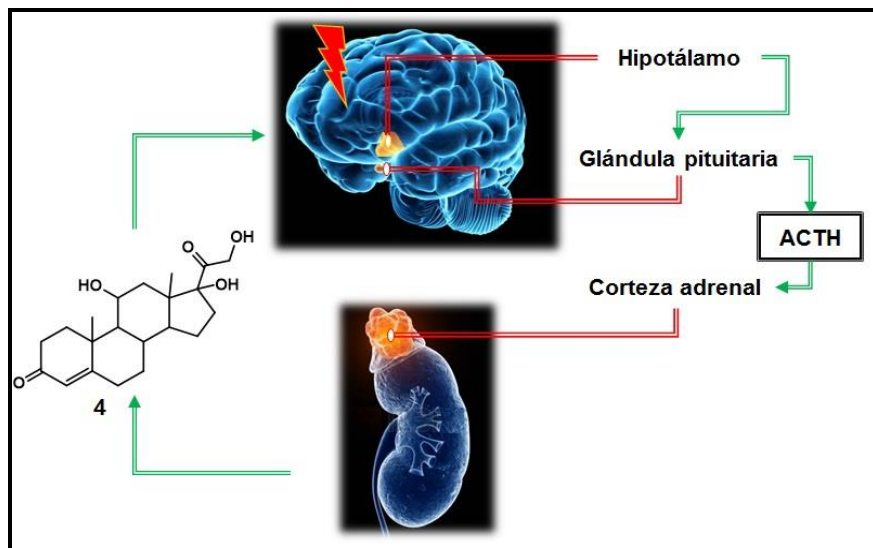


Figura 2. Cadena de activación del Eje HPA, como hipótesis de la etiología de la depresión.

2.4. Tratamiento.

Actualmente existen varias opciones de fármacos antidepresivos utilizados en la clínica; sin embargo, aún presentan diversos inconvenientes los tratamientos utilizados para esta enfermedad. Debido a que la depresión involucra muchos sistemas y factores para su desarrollo, es una enfermedad difícil de diagnosticar clínicamente que hace difícil la selección de un tratamiento adecuado y eficaz.

Los fármacos antidepresivos poseen algunas desventajas como, por ejemplo: se necesitan dosis altas y prolongadas. Comúnmente las dosis prescritas son graduales, comenzando con dosis bajas hasta alcanzar la dosis efectiva de acuerdo con las condiciones del paciente. En muchos casos, los antidepresivos tardan entre una y dos semanas para que se observen los efectos terapéuticos deseados (Willner *et al.*, 2013).

La explicación de la lenta acción de los antidepresivos se basa en que los fármacos generan efectos neurobiológicos, esto implica el aumento o disminución en la sensibilidad de poblaciones de neuro-receptores y/o procesos intrínsecamente lentos que dependen de otros patrones o factores como la neurogénesis y la remodelación sináptica. También se ha postulado que los antidepresivos si causan cambios

relativamente rápidos, pero las mejoras del estado de ánimo son lentas porque el organismo del paciente debe adaptarse a esa nueva condición, esto indica que debe volver a aprender primero las asociaciones emocionales (Roiser, *et al.*, 2012).

La mayoría de los antidepresivos deben tomarse entre 6 a 12 meses para que los efectos terapéuticos se mantengan y con esto se eviten recaídas. La duración total del tratamiento dependerá de la evolución de cada paciente, en algunos casos el tratamiento con antidepresivos puede durar hasta 2 años (Coryell, 2020).

Desafortunadamente los antidepresivos presentan efectos adversos que en muchas ocasiones se pueden confundir con los síntomas que la misma depresión produce. Van desde simples dolores de cabeza, hasta problemas más graves como cuadros agudos de ansiedad, alteraciones gastrointestinales y de sueño, confusión, desregulación cardiovascular (taquicardia, arritmia o bradicardia), hiponatremia, entre muchos otros. La gravedad o intensidad de los efectos adversos que se pueden llegar a presentar van influenciados por la condición del paciente y también por el antidepresivo que se esté administrando (NHS, 2018).

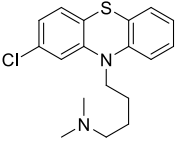
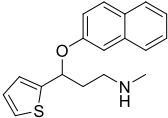
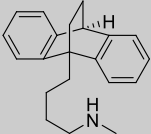
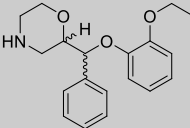
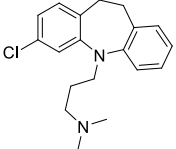
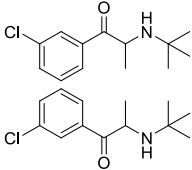
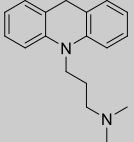
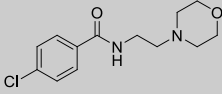
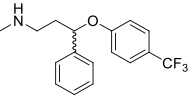
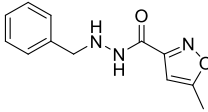
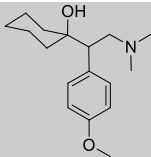
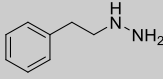
Entre el 30 y 40% de los pacientes bajo tratamiento con antidepresivos no responden al tratamiento, debido a que desarrollan resistencia al fármaco. Esto implica la necesidad de aumentar las dosis y/o cambiar por otro fármaco antidepresivo, lo que representa iniciar desde cero el tratamiento (Wong y Licino, 2001). Además el 50% de los pacientes que se recuperan recaen en un lapso de 6 a 12 meses (Holtzheimer y Mayberg, 2011).

2.4.1. Fármacos antidepresivos

Los primeros antidepresivos fueron creados por casualidad, debido a la idea de que el agonismo de neurotransmisores como la 5-HT o NA poducían efectos antidepresivos. (Prekson, 1996). Con el desarrollo y avances de la medicina, química y neurofisiología, se han producido una gama de fármacos que son utilizados como tratamiento de la depresión (Tabla 1). Cada nuevo fármaco tiene por objetivo ser mejor que su predecesor, más efectivo, potente y con menos efectos

adversos. Le elección de un fármaco puede depender de la respuesta a un tratamiento previo con otro antidepresivo o de la tolerancia del paciente (Coryell, 2020).

Tabla 1. Fármacos utilizados en el tratamiento de la depresión

Fármacos Antidepresivos			
Estructura	Nombre / Clasificación	Estructura	Nombre / Clasificación
	Clorpromazina TCA		Duloxetina ISRSN
	Maprotilina TCA		Reboxetina ISRN
	Clormipramina TCA		Bupoprión ISRDN
	Imipramina TCA		Moclobemida IRMAO
	Fluoxetina ISRS		Isocobaxazida IMAO
	Venlafaxina ISRSN		Fenzidida IMAO

2.4.2. Antidepresivos Tricíclicos

Los fármacos tricíclicos (TCAs, por sus siglas en inglés) reúnen un grupo heterogéneo de medicamentos comercializados y utilizados desde 1959 como farmacoterapia para la depresión (Moraczewski y Aedma, 2020). Estructuralmente son similares entre ellos, ya que comparten su esqueleto de 3 anillos fusionados con una amina terciaria o secundaria (Gilmman, 2007). Éstos fármacos están

aprobados por la FDA para utilizarlos en el tratamiento de otras enfermedades además de la depresión. Dentro de esta clasificación se encuentran amitriptilina, desipramina, imipramina, clorpromazina por mencionar algunos (Stokes *et al.*, 2020; Del Casale *et al.*, 2019).

Su mecanismo de acción es muy variado y pueden actuar en cinco diferentes sistemas de neurotransmisores para alcanzar sus efectos terapéuticos. Pueden bloquear la recaptura de 5-HT y NA, pero también pueden actuar como antagonistas competitivos de receptores colinérgicos, muscarínicos e histamínicos (Hillhouse y Porter, 2015).

Debido al diverso mecanismo de acción de este grupo de antidepresivo, los efectos adversos son inevitables. Uno de los efectos adversos más comunes son estreñimiento, mareos, xerostomía, visión borrosa, retención urinaria, taquicardia, hipotensión ortostática, aumento del apetito, ganancia de peso, sedación (David *et al.*, 2016).

2.4.3. Inhibidores de la recaptura

Se sabe que los neurotransmisores son liberados a la brecha sináptica y posteriormente se unen a receptores y transportadores específicos para cada uno, lo que facilita que se continúe su proceso, estos receptores se encuentran tanto en la neurona postsináptica como en la presináptica (Figura 3a).

El mecanismo de acción de muchos fármacos antidepresivos es inhibir el proceso de la recaptura, con el fin de incrementar la concentración de los neurotransmisores en la brecha sináptica. Estos antidepresivos se subdividen por la selectividad y la relativa afinidad que poseen para bloquear la recaptura de las diferentes monoaminas (Figura 3b) (Nash y Nutt, 2007).

2.4.3.1. *Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS)*

Los ISRS fueron creados con el fin de mejorar la eficacia y seguridad, aumentar la tolerancia y disminuir los efectos adversos de los antidepresivos diseñados y comercializados previamente. La Fluoxetina fue de los primeros ISRS utilizados e introducidos al mercado en 1987, desde entonces han sido los antidepresivos que más se prescriben a nivel mundial. Entre otros ISRS también se encuentran el citalopram, fluvoxamina y paroxetina (Lochmann y Richardson, 2018). Todos los ISRS poseen un mecanismo similar, el cual consiste en bloquear de manera selectiva las bombas de recaptura de la 5-HT (Preskom, 1999).

Además de poseer efecto antidepresivo, muchos ISRS se utilizan para tratar los trastornos de ansiedad. También cabe resaltar que éstos fármacos han demostrado eficacia en la respuesta aguda, así como el tratamiento a largo plazo; y son apropiados para pacientes con otras enfermedades. (Nutt, 2003; Lochmann y Richardson, 2018).

A pesar de que suelen ser bien tolerados y debido al mecanismo de acción que poseen, desafortunadamente los ISRS presentan un perfil de efectos adversos. Éstos dependen de la dosis administrada y son esperados debido a los niveles elevados de 5-HT. Pueden presentarse desde náuseas, cefaleas, mareos, somnolencia o insomnio, ansiedad, boca seca y algunos trastornos gastrointestinales (Janicak *et al.*, 2001). Los trastornos gastrointestinales han recibido mucha atención ya que se ha relacionado el consumo de ISRS con el incremento de acidez gástrica, sangrado, alteraciones en la actividad plaquetaria, reactividad endotelial y procesos inflamatorios. (Chittaranjan *et al.*, 2010).

2.4.3.2. *Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina y noradrenalina (ISRSN)*

Estos antidepresivos como su nombre lo indica, se unen al transportador de 5-HT y de NA para inhibir la recaptura por la neurona pre-sináptica. En consecuencia aumentará la concentración de ambos neurotransmisores en la brecha sináptica y

en la subsecuente neurotransmisión post-sináptica. La inhibición de esta recaptura es secuencial de acuerdo a la dosis utilizada, primero se inhibe la recaptación de 5-HT y posteriormente NA (Bymaster *et al.*, 2001).

Se utilizan tres fármacos de esta categoría para el tratamiento de la depresión, y también se les ha dado uso como tratamiento del dolor neuropático. La venlafaxina fue uno de los primeros ISRS autorizados para su uso clínico desde 1995, así como la desvenlafaxina (metabolito activo de la venlafaxina). Ambos antidepresivos tienen una afinidad mayor sobre la inhibición de la recaptura de 5-HT en comparación con la recaptura de NA (Shelton *et al.*, 2005). Por otro lado, la duloxetina también posee mayor afinidad sobre la inhibición de la recaptura de 5-HT sobre la NA. La eficacia de este tipo de antidepresivos se ve influenciada por la dualidad en su mecanismo de acción y la afinidad que poseen sobre los transportadores de los dos neurotransmisores involucrados. NA (Alcántara y González, 2020).

Los ISRS son ampliamente utilizados como antidepresivos, además de otras condiciones psiquiátricas y síndromes como el dolor neuropático, siendo agentes de primera elección (Finnerup *et al.*, 2015). Sin embargo, como todo fármaco posee efectos secundarios o adversos que en su mayoría son leves y desaparecen en poco tiempo. La mayoría de los efectos adversos son muy similares a los antidepresivos ISRS (Anderson *et al.*, 2000).

2.4.3.3. Otros Inhibidores de la recaptura

Existen otros fármacos que no actúan a través del sistema serotoninérgico, como todos los anteriormente mencionados. Estos fármacos forman parte de un grupo pequeño denominado Inhibidores Selectivos de la Recaptura de DA y NA (ISRDN).

Dentro de este grupo se encuentra el bupropión, el cual actúa selectivamente sobre neuronas noradrenérgicas y dopaminérgicas. Este antidepresivo es utilizado cuando la sintomatología parece depender de un déficit de DA como: retardo psicomotor, anhedonia, hipersomnia. También son utilizados para pacientes que no

responden o no toleran a los ISRS, o para quienes presentan episodios depresivos dentro del trastorno bipolar. Sin embargo, debido a su acción noradrenérgica puede producir efectos adversos como: hiperactividad, inquietud e insomnio (Stahl, 1998; Retamal, 2001).

La reboxetina es otro fármaco (de reciente aparición) y actúa mediante la inhibición de la recaptación de la NA, y se considera mas potente que la desipramina (Klass *et al.*, 2018). Este fármaco se emplea principalmente como antidepresivo, pero también se ha utilizado en otras afecciones psiquiátricas como los trastornos de pánico y trastornos de déficit de atención por hiperactividad. Los efectos adversos no están excentos en este antidepresivo, ya que puede producir sequedad de la boca, cefaleas, somnolencia, maeros, sudoración excesiva, incluso en casos muy extremos, convulsiones (Stolerman, 2010; Padilha *et al.*, 2018).

2.4.4. Inhibidores enzimáticos

Estos fármacos ofrecen una alternativa de mecanismo de acción que también incrementa la disponibilidad de neurotransmisores en la brecha sináptica. El metabolismo de neurotransmisores dentro del nervio presináptico terminal esta mediado por la enzima Monoamino oxidasa (MAO). La eficacia de estos antidepresivos es similar a los Inhibidores de la recaptura, pero con la diferencia del perfil de efectos adversos que presentan. El mecanismo por el cual actúan este tipo de fármacos ofrece una alternativa para quienes presentan depresión resistente al tratamiento (Nash y Nutt, 2007).

2.4.4.1. Inhibidores de la enzima monoamino oxidasa (IMAO)

Como muchos otros descubrimientos en el área de la psiquiatría, el uso de los IMAO fue en la década de los 50's cuando se les administraba iproniazida a pacientes enfermos de tuberculosis (Shulman *et al.*, 2013). Se reportó que aquellos pacientes tuberculosos presentaban síntomas característicos de depresión, los cuales se

veían modificados tras la administración de iproniazida. Fue a partir de estos hallazgos que comenzó a estudiarse el efecto antidepresivo de este fármaco y el inicio del desarrollo de muchos otros (Duarte et al, 2020). Con estudios posteriores, se determinó que las propiedades antidepresivas de iproniazida se debían a la capacidad de inhibir la actividad de la enzima MAO, la cual se encarga del catabolismo de 5-HT, NA y DA (Papakosta *et al.*, 2009).

Junto con el desarrollo de los antidepresivos TCAs y el estudio del mecanismo de acción de los IMAO, surgió la hipótesis de las monoaminas como etiología de la depresión. Posterior a la iproniazida, se produjeron otros antidepresivos de este tipo que con el paso del tiempo se retiraron del mercado por sus efectos adversos y toxicidad (Lopez-Munoz y Alamo, 2009).

Una sobre expresión de las enzima MAO puede causar algunas formas de depresión, mientras que una reducción de la actividad de la MAO está relacionada con comportamientos violentos (Alia-Kelin et al, 2008). Es por eso que los IMAO han sido comúnmente utilizados para el tratamiento de la depresión y otros desordenes relacionados con la actividad de la MAO y el SNC con el objetivo de incrementar los niveles de 5-HT, NA y DA, principalmente (Finberg y Rabey, 2016).

El objetivo específico de los IMAO es inhibir la desaminación o el metabolismo de los neurotransmisores monoaminérgicos, el problema de esta farmacoterapia es que esta inhibición es irreversible lo que produce los efectos adversos (Figura 3c). Además de que los fármacos de este tipo poseen diferente afinidad por una u otra isoforma de la MAO (isoforma A o B) y esto se ve reflejado tanto en el efecto terapéutico como en los efectos secundarios (Finberg y Gillman, 2011).

Actualmente el primer antidepresivo IMAO, la iproniazida esta retirado del mercado debido a su alta hepatotoxicidad. Sin embargo existen otros IMAO aprobados para uso clínico como la isocarboxacida, fenelzina, selegilina y tranilcipromina (Lee y Chen, 2007; Findberg y Robey, 2016; Edmondson y Binda, 2018).

2.4.4.2. Inhibidores reversibles de la monoamino oxidasa (IRMAO)

Otra clasificación mas de antidepresivos inhibidores de enzimas son los IRMAO, técnicamente el mecanismo de acción es igual a sus análogos irreversibles, con la diferencia de que el agente inhibitorio de la enzima llega un punto en el que se disocia de ésta y por consecuencia la actividad metabólica de la enzima se reestablece (Shulman *et al.*, 2013).

Debido a las desventajas mostradas por los IMAO fue que se desarrollaron nuevos inhibidores a partir de la década de los 80's, con la intención de mejorar su actividad, especificidad por alguna isoforma de la enzima así como contrarrestar los efectos adversos presentados (Finberg, 2014).

Moclobemida es el IRMAO mas importante, conocido y disponible para uso clínico aprobado en diversos países. Mientras que el pirindol es otro fármaco aprobado para tal fin. Existen muchos otros fármacos o compuestos con la "etiqueta" de IRMAO que aún se encuentran en fases experimentales (Lotufo-Neto *et al.*, 1999).

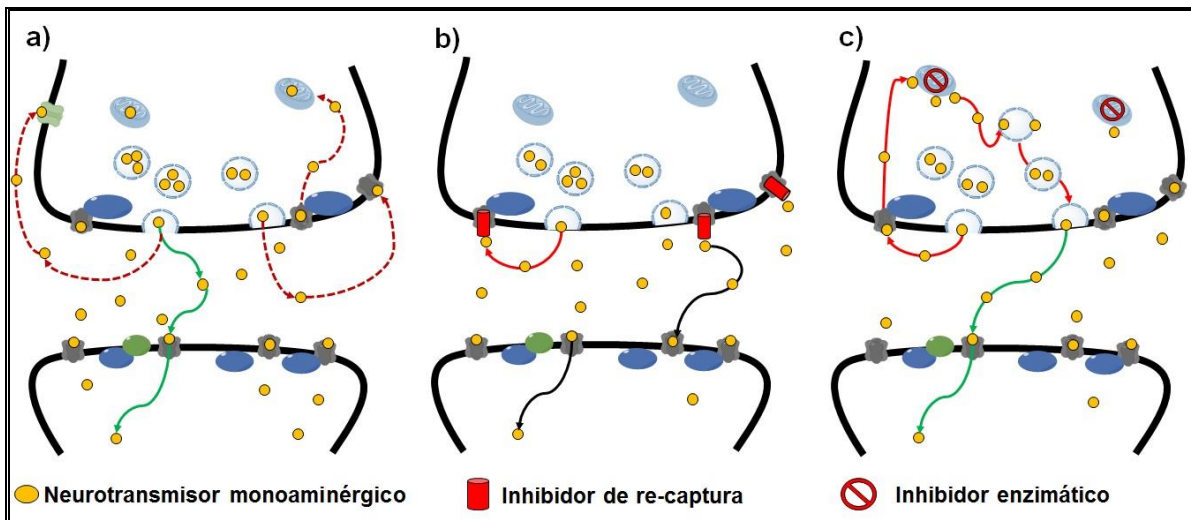


Figura 3. Representación de la actividad en la brecha sináptica: **a)** Fisiología de la sinapsis normal, los neurotransmisores almacenados en vesículas son liberados a la brecha sináptica, los cuales se unen con sus receptores postsinápticos para continuar la transmisión del impulso nervioso, mientras que otros son recaptados por receptores presinápticos y metabolizados por MAO; **b)** Mecanismo de acción de fármacos inhibidores de recaptura de neurotransmisores para que de esta forma aumente la concentración de éstos en la brecha sináptica; **c)** Sitio de acción de fármacos inhibidores enzimáticos, evitando el metabolismo y degradación de neurotransmisores.

3. QUÍMICA DE LAS BENCIL ISOQUINOLINAS (BIQ)

Se ha informado del aislamiento de aproximadamente 2,500 alcaloides, de diversas especies vegetales, con estructuras de BIQ. La versatilidad estructural de estos alcaloides naturales da pauta para estudios sintéticos para la síntesis total, o semi-síntesis así como la obtención de derivados (Hagel, *et al.*, 2015).

Para la nomenclatura de las BIQ (5) se identifican dos regiones: al anillo de isoquinolina se le denomina “cabeza”, que conforman los anillos A y B. El anillo B se une a la porción bencilo, anillo C o también denominada “cola”. La numeración inicia al igual que las isoquinolinas cubriendo cada posición de los anillos A y B, continúa en la porción bencilo hasta completar cada uno de los átomos del anillo C (Figura 4) (Cabedo, *et al.* 2009).

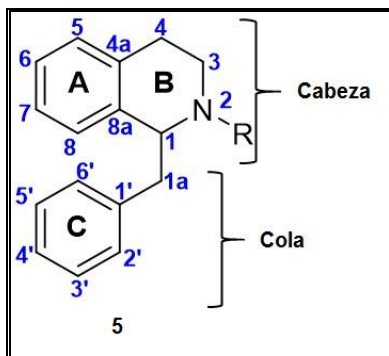


Figura 4. Estructura y numeración del núcleo estructural de las BIQ.

En la ruta biogenética de morfinanos (7), aporfinoideos (8), bis-bencil isoquinolinas (9), pavinas (10) y protoberberinas (11) se ha propuesto las bencil isoquinolinas como intermediarios (Figura 5). Esto se ha tomado como guía y base para extrapolarlo a estudios sintéticos para tratar de mejorar el rendimiento y lo más importante ampliar la gama de posibilidades estructurales que se pueden obtener (Hagel, *et al.* 2013).

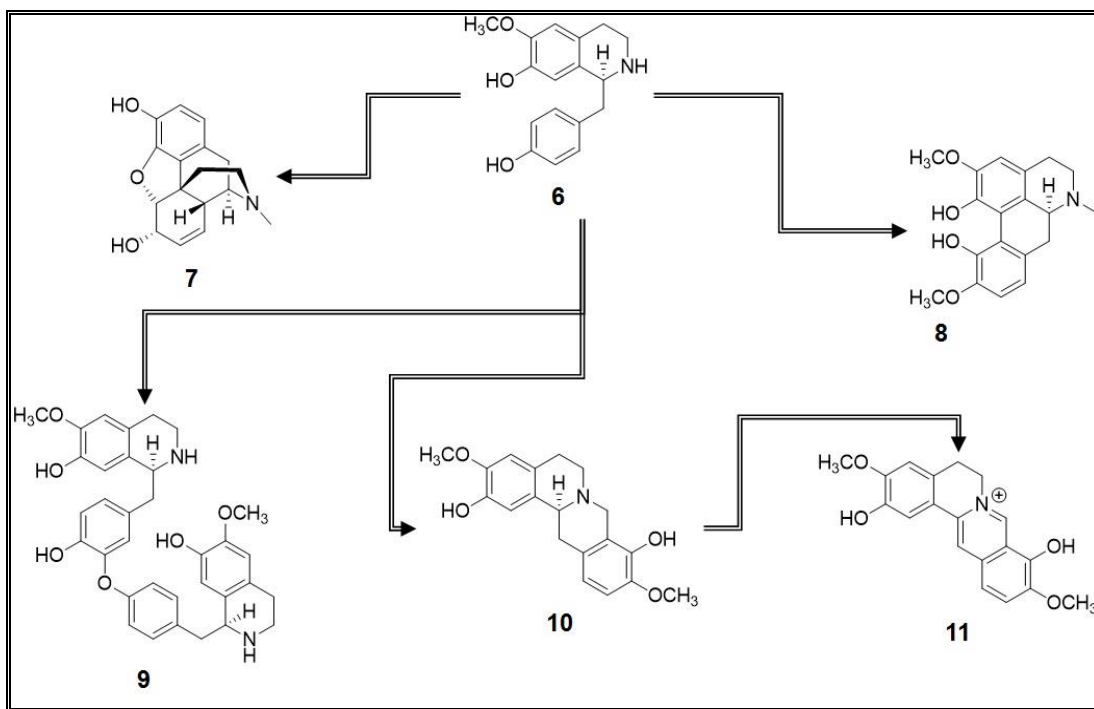


Figura 5. Estructura química de algunos productos naturales derivados de BIQ.

3.1. Síntesis de BIQ

Debido a la gran variedad estructural que presentan las BIQ y al potencial e importancia biológica de éstas, se han propuesto diferentes procesos sintéticos a partir de diversos precursores. La misma naturaleza nos muestra un camino factible para poder sintetizar este tipo de compuestos. Como se ha reportado en el estudio de la biosíntesis de alcaloides del tipo BIQ y algunos otros derivados, la ruta comienza con dos moléculas de L-tirosina las cuales, sufren cambios estructurales o de funcionalización mediante enzimas específicas. Como se puede observar en la Figura 6, las dos moléculas de L-tirosina (**12**) sufren cambios que convergen en la formación de dos precursores importantes, DA (**14**) y el 4-hidroxifenilacetaldehído (**17**). A partir de estas dos moléculas, y mediante la enzima denominada “Norcoclaurina-sintetasa”, se lleva a cabo la formación de la BIQ conocida como Norcoclaurina (**15**) (Hagel *et al.*, 2015).

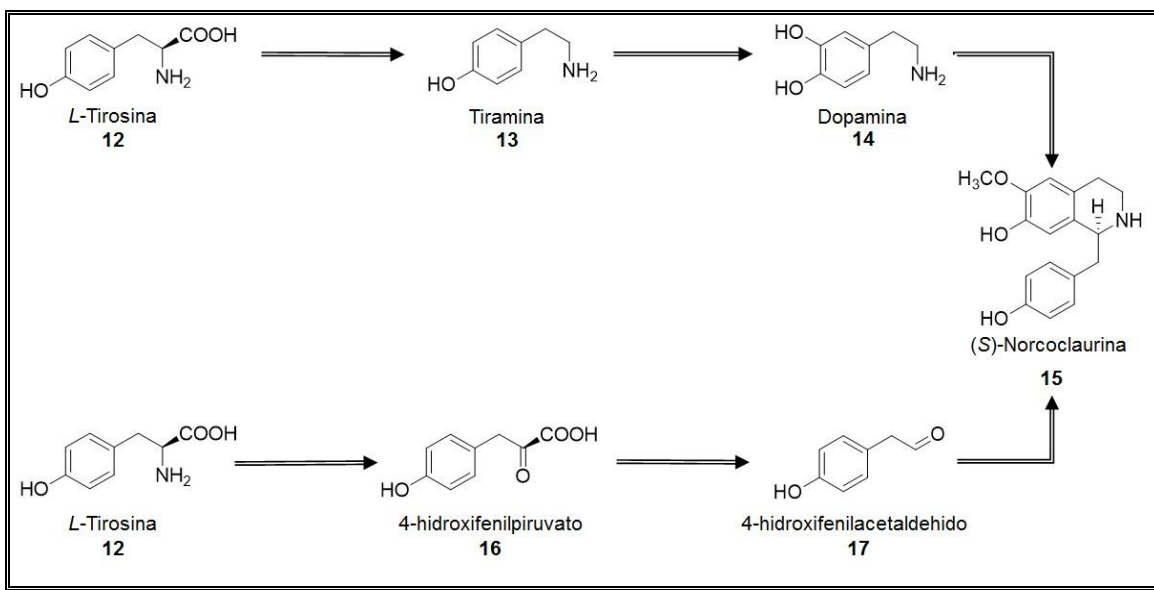


Figura 6. Ruta de biosíntesis de la BIQ (S)-Norcoclorina

A lo largo de los años de estudio se han logrado establecer diversas rutas sintéticas para la obtención de los compuestos del tipo BIQ en el laboratorio. Una de las reacciones más conocidas, es la Reacción de Bischler-Napieralski.

3.2. Reacción de Bischler-Napieralski

La reacción de Bischler-Napieralski es una metodología sintética que se desarrolló por Albert Bischler y Bernard Napieralski, en colaboración con la Universidad de Zurich en 1893. Esta reacción es de las primeras reportadas para la síntesis de heterociclos nitrogenados. Su hallazgo identificó la ciclación de ariletilamidas (o carbamatos) mediante un mecanismo de sustitución electrofílica aromática intramolecular, utilizando agentes que faciliten reacciones de condensación como POCl_3 , P_2O_5 , ZnCl_2 , por mencionar algunos, los cuales proporcionan las condiciones para formar derivados del tipo 3,4-dihidroisoquinolinas (**20**) (Heravi *et al.*, 2014) (Figura 7).

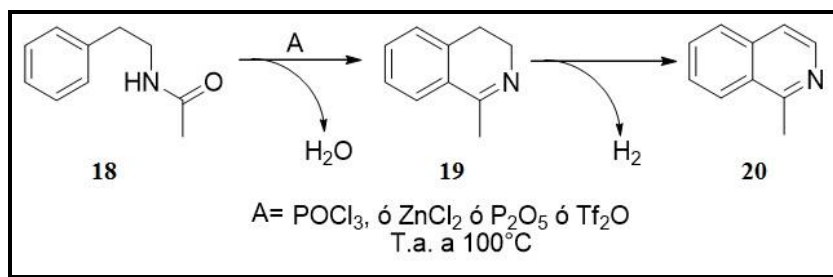


Figura 7. Reacción Bischler-Napieralski r.t..

A pesar de ser una metodología tan antigua, aún se continúa utilizando en nuestros días con algunas modificaciones como el uso de condiciones de reflujo en medio ácido, otros agentes deshidratantes o incluso el uso de microondas como fuente de calentamiento u otras tecnologías disponibles en nuestros días (Movassaghi y Hill, 2008)

La reacción Bischler-Napieralski, se ve beneficiada si existen grupos electro donadores en el anillo aromático de la porción amino. La reacción generalmente procede a temperatura ambiente, aunque también se ha informado a reflujo a 100°C (Kitson, 2007). Además de la reacción Bischler-Napieralski existen otras rutas y metodologías como la síntesis de Pictet-Spengler, Pomeranz-Fritsch, Schilttler-Müller, entre otras (Heravi, 2014).

El mecanismo de reacción está directamente influenciado por el tipo de precursores, reactivos y condiciones que sean utilizadas para cada caso. En la reacción Bischler-Napieralski, como se muestra en la Figura 8, se plantea que el cierre o formación del anillo heterocíclico (**19**) se da mediante un ataque electrofílico de un carbono aromático (en este caso es el átomo de carbono en posición *orto*- a la cadena del sustituyente etilamino) hacia el centro electrofílico el cual es el átomo carbonílico del grupo amida (Kametani y Fukumoto, 1981).

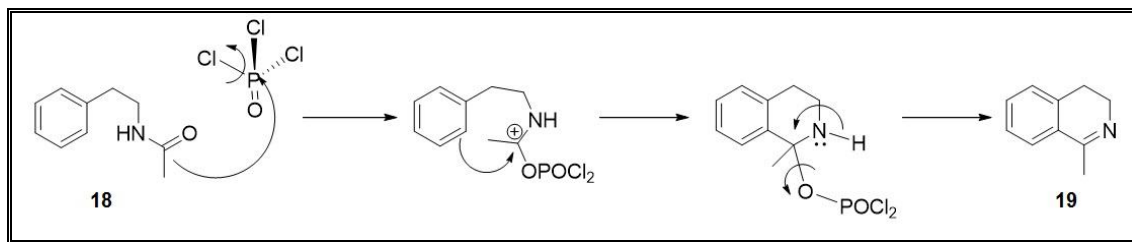


Figura 8. Formación de dihidrobencil isoquinolina mediante ataque electrofilico en condiciones de reacción Bischler-Napieralski.

La facilidad de ciclación depende de la activación que posea el anillo aromático que soporta el sustituyente etil amino, lo cual está directamente relacionado con la presencia de los sustituyentes en el anillo, así como la posición en la que se encuentren. Tal como se muestra en la Figura 9, una fenetilamina sustituida en posición *p*- con un grupo metoxilo (**21**), dificulta la ciclación, lo cual se ve reflejado en su bajo rendimiento del producto de la reacción (**22**) (Kametani, *et al.* 1972).

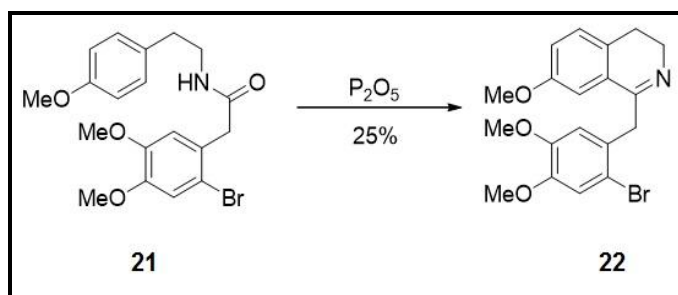


Figura 9. Influencia de grupo metoxilo en la formación de BIQ.

Por otro lado, la ubicación del sustituyente influye directamente sobre la activación y la facilidad con la que se forma el anillo heterocíclico para la formación de la isoquinolina. Esto quiere decir que, incluso tratándose del mismo sustituyente (un grupo alcoxido), si se encuentra en posición *meta*- (**23**) tiene un efecto benéfico para la ciclación (**24**), mientras que su ausencia disminuye el rendimiento aun utilizando las mismas condiciones de reacción, o bien se necesita utilizar condiciones más drásticas (Figura 10).

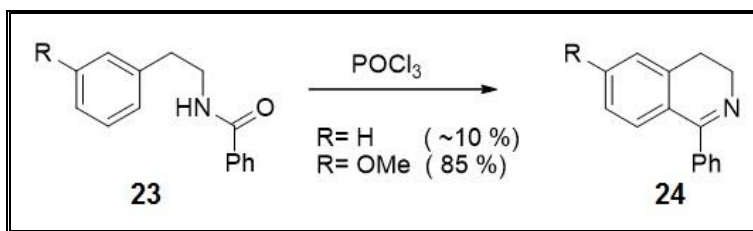


Figura 10. Influencia de los sustituyentes en la síntesis de BIQ.

La reactividad del anillo de fenetilamina, es muy susceptible a la presencia y localización de los sustituyente en el residuo alquilo de la fenetil amina (**25**) y cómo esto se ve reflejado en su producto (**26**) (Figura 11) (Heravi, *et al.*, 2014).

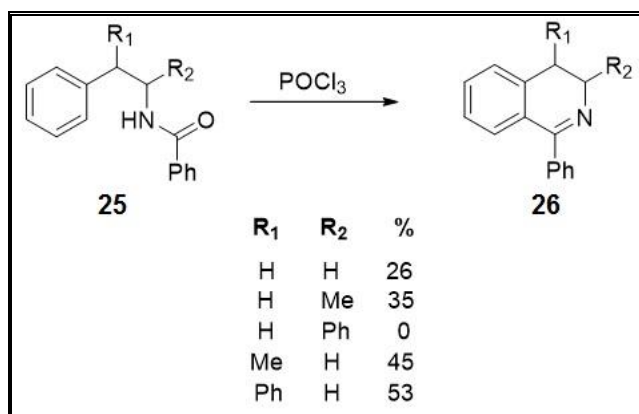


Figura 11. Influencia de diversos sustituyentes en la síntesis de BIQ.

En cuanto al mecanismo para la reacción Bischler-Napieralski, se proponen algunas diferencias entre los intermediarios formados, de acuerdo con el agente deshidratante utilizado. Para el caso del POCl₃, se sugieren dos alternativas, en las cuales uno involucra la formación de un intermediario de tipo diclorofosforil imino-ester el cual, al efectuarse la ciclación, conduce a la formación de una imina (Figura 12) (Rozwadowska, 1994).

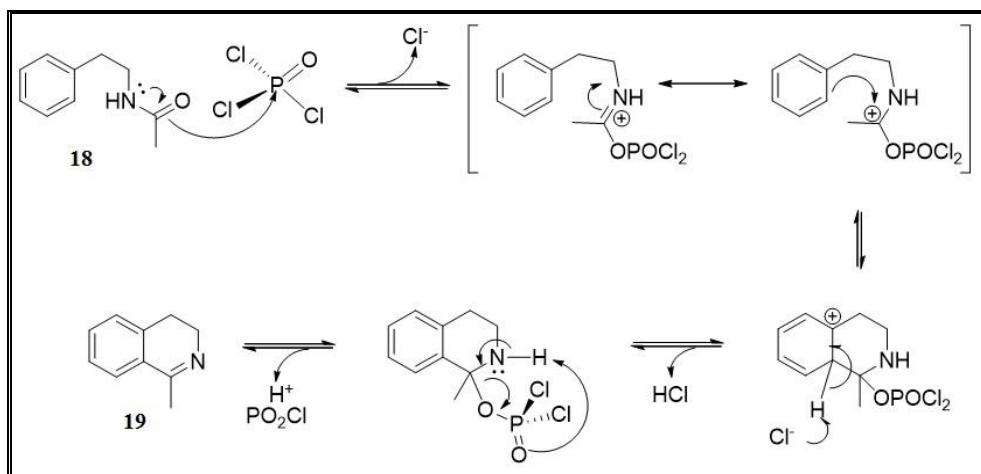


Figura 12. Mecanismo de reacción Bischler-Napieralski mediante la formación de intermediario tipo imina

Otra vía sugiere la formación de un intermediario iónico nitrilo, seguido por la ciclación y obtención de la dihidroisoquinolina (19) (Figura 13). Estas dos propuestas se han establecido debido a la ambigüedad que radica en la eliminación del oxígeno del carbonilo perteneciente al precursor de tipo amida (Kitson, 2007).

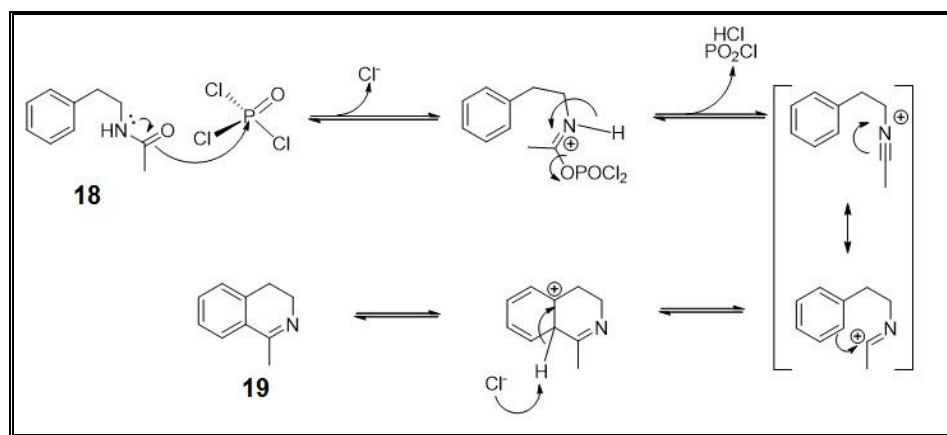


Figura 13. Mecanismo de reacción Bischler-Napieralski mediante la formación de un intermediario nitrilo

De acuerdo con lo reportado por Boruah y Konwar, el uso de $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ como agente deshidratante de amidas, en presencia de KI como co-catalizador, en medio acuoso conduce a la obtención de derivados de isoquinolina (20) de manera directa (Figura 14) (Heravi et al, 2014).

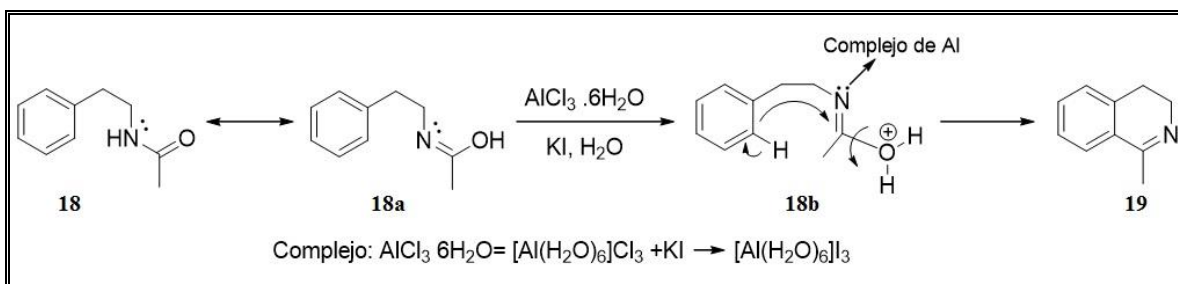


Figura 14. Mecanismo de reacción Bischler-Napieralski con AlCl_3 como agente deshidratante.

Estas condiciones de reacción implican la participación de un complejo que se forma entre el AlCl_3 y el KI, el cual puede coexistir de dos maneras iónicas: $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{OH})]^{2+}\text{H}^+3\text{I}^-$ ó $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_4(\text{OH})_2]^{+2}\text{H}^+3\text{I}^-$ en solución, seguido por la coordinación del nitrógeno de la amida con el complejo mencionado anteriormente. Esto hace susceptible a la molécula de sufrir una ciclo deshidratación intramolecular (**18b**), la cual posteriormente es oxidada originando la correspondiente isoquinolina, en una reacción de tipo *One-Pot*. (Boruah, 2002).

3.3. Importancia biológica de las BIQ

Del mismo modo que muchos otros compuestos orgánicos, sintéticos o aislados de fuentes naturales, presentan un potencial biológico amplio, las isoquinolinas y sus derivados no son la excepción. Existen muchos estudios biológicos sobre la actividad que pueden presentar estos compuestos y se ha comprobado que actúan como agentes antimicrobianos, anticancerígenos, entre otros (Paulo *et al.*, 1992; Al-ghazzawi, 2019).

Desde hace varias décadas, se demostró que compuestos derivados de isoquinolinas, como las BIQ (**27**), proteberberinas (**28**) y aporfinas (**29**) mostraron efectos al SNC (Figura 15) (Zadjel *et al.*, 2012). Por ejemplo, derivados de las tetrahydroisoquinolinas (**30**) y 1-metil-tetrahydroisoquinolinas (**31**) han demostrado tener actividad tipo antidepresiva en ratas (Ankiewicz, *et al.* 2014).

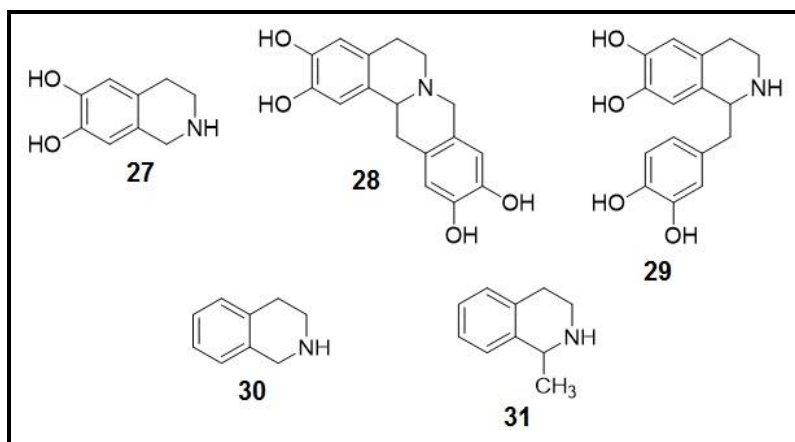


Figura 15. Estructura química de derivados de isoquinolinas con actividad en el Sistema Nervioso Central.

Por otro lado, a partir de las partes aéreas de la planta *Annona cherimolia*, se aisló una mezcla de alcaloides aporfínicos (**32-34**) (Figura 16), la cual fue evaluada en pruebas conductuales con modelos murinos y demostraron tener efectos tipo antidepresivos (Martínez-Vázquez, *et al.* 2012). Los efectos sobre el SNC y particularmente la actividad tipo antidepresiva, identifican el potencial biológico de las BIQ y varios de sus derivados.

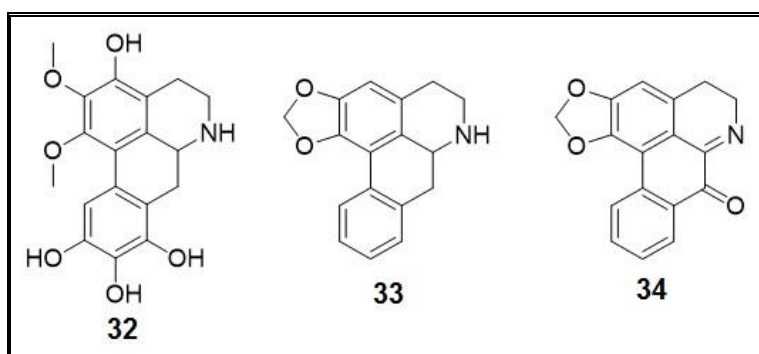


Figura 16. Alcaloides aislados de la *Annona cherimolia* Mill.

Se ha informado que algunas isoquinolinas y sus derivados presentan efectos tipo antidepresivos semejantes, incluso cuando existen grandes diferencias estructurales. Por ejemplo, las alquil- (**35**), fenil- (**36**) y bencil- (**37**) isoquinolinas,

demonstraron tener efectos tipo antidepresivos en modelos murinos (Figura 17) (Berenguer et al, 2009).

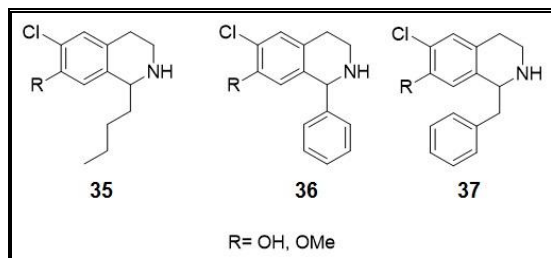


Figura 17. Estructura química de derivados de isoquinolinas con actividad tipo antidepresiva

Estos compuestos han presentado afinidad por algún sistema de neurotransmisor monoaminérgico específico (Figura 18). Por ejemplo, la reticulina (**38**) demostró tener afinidad hacia los receptores D1 y D2 del sistema dopaminérgico. Sin embargo, tanto la mezcla de enantiómeros de (**39**), así como éstos de manera separada, no demostraron tener una afinidad significativamente diferente sobre la de sistemas de receptores dopaminérgicos (Cabedo, *et al.*, 2001).

Por otro lado, otras BIQ que han sido evaluadas en diversos sistemas de neurotransmisores, principalmente dopaminérgicos y serotoninérgicos, comparten la característica de presentar sustituyentes oxigenados como **40** en su estructura base (Cabedo, *et al.*, 2009). Aunque existen poco informes acerca de la presencia de halógenos como sustituyente en el anillo de las BIQ activas. Sin embargo, los compuestos bromados como por ejemplo **41**, han presentado efectos considerables en comparación con análogos sin halógenos (Brossi, *et al.*, 1980).

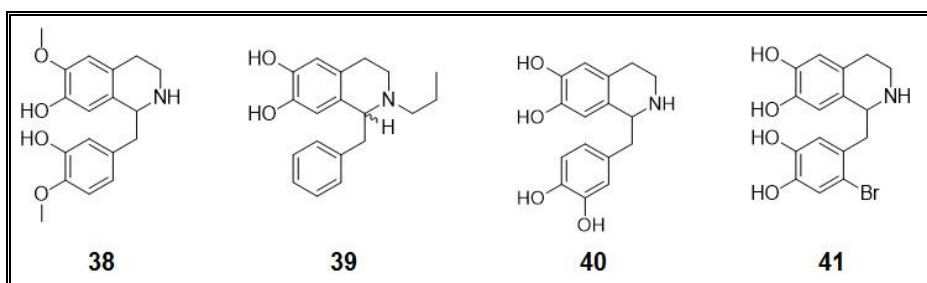


Figura 18. Estructura química de diversas BIQ con actividad antidepresiva.

4. JUSTIFICACIÓN

Debido a los efectos adversos y la resistencia farmacológica desarrollada hacia los medicamentos utilizados en el tratamiento de la depresión, es necesaria la búsqueda de nuevos fármacos antidepresivos. De acuerdo a los antecedentes reportados sobre el potencial bioactivo de compuestos de tipo bencil isoquinolina (BIQ) halogenadas, se plantea la síntesis de BIQ bromadas y su evaluación en modelo murino, como posibles agentes antidepresivos.

5. HIPÓTESIS

Algunas bencil isoquinolinas halogenadas presentan actividad antidepresiva, por lo que es factible que derivados de la (2-bromofenil) (3,4-dihidroisoquinolin-1-il) metanona y sus precursores presenten actividad antidepresiva.

6. OBJETIVO GENERAL

Sintetizar derivados de la (2-bromofenil) (3,4-dihidroisoquinolin-1-il) metanona a partir de fenil-*N*-bencil acetamidas, mediante la reacción de Bischler-Napieralski, y evaluar la actividad antidepresiva, tanto de las acetamidas precursoras como de la BIQ sintetizadas, en modelo murino.

6.1. Objetivos Particulares

- 6.1.1. Sintetizar una serie de 2-(2-bromofenil)-*N*-(fenetil)acetamidas.
- 6.1.2. Sintetizar derivados BIQ a partir de acetamidas, mediante condiciones de reacción de Bischler-Napieralski.
- 6.1.3. Evaluar la actividad tipo antidepresiva de los compuestos sintetizados, utilizando el modelo de nado forzado.
- 6.1.4. Elucidar un posible mecanismo de acción en el compuesto o compuestos con mejor perfil antidepresivo.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los reactivos utilizados fueron adquiridos de Sigma-Aldrich. Los puntos de fusión (no corregidos) están en °C y fueron determinados utilizando “Melting Point Apparatus Fisher-Johns”. Algunas de las reacciones fueron realizadas en un horno utilizando un reactor de síntesis de calentamiento convencional Anton Paar® Monowave 50 (potencia máxima 3150 W).

Los espectros de RMN (^1H , ^{13}C y bidimensionales) de los compuestos sintetizados, fueron adquiridos en diversos disolventes deuterados como: DMSO- d_6 , CDCl_3 , o MeOD- d_4 (Cambridge Isotope Laboratories, Inc.). Los espectrómetros utilizados fueron Bruker Fourier de 300 MHz, Bruker Avance III 400 MHz y Bruker Avance III HD 700 MHz. Los desplazamientos químicos (δ) están expresados en ppm con respecto al TMS (tetrametil silano), la multiplicidad fue asignada como señal: s, simple; d, doble; t, triple; q, cuádruple; m, múltiple. Las constantes de acoplamiento (J) están expresadas en Hertz. La masa exacta de los compuestos fue determinada mediante la técnica DART por el equipo AccuTOF JMS-T100LC.

Los espectros de IR fueron adquiridos por el equipo FT-IR Bruker Tensor 27. Todas las reacciones fueron monitoreadas por cromatofolios y visualizados bajo lámpara de UV y por calentamiento de los cromatofolios con $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2/\text{H}_2\text{SO}_4$. Algunos compuestos fueron purificados mediante cromatografía en columna (CC) utilizando sílica-gel Macherey-Nagel Kieselgel 60 (0.063 – 0.2 mm), o también mediante placas preparativas (PLC) de Sigma-Aldrich, de 20 x 20 cm, impregnadas con sílica gel No. 60, 2 mm de espesor, con indicador fluorescente. Todos los disolventes utilizados fueron destilados de manera convencional, y/o secados antes de ser utilizados. El proceso de secado

7.1. Síntesis química

7.1.1. Obtención del cloruro del ácido-2-bromofenil acético (**42a**) y del cloruro del ácido-2-bromo-4-nitro-fenil acético (**42c**).

La obtención del cloruro del ácido-2-bromofenil acético (**42a**) se logró mediante la reacción entre (**42**) el ácido-2-bromofenil acético (2.3 mmol, 0.500 g), cloruro de tionilo (6.9 mmol, 0.823 g) y cantidades catalíticas de DMF en diclorometano seco (80 mL) en atmósfera inerte. La reacción transcurrió durante 2.5 h, a temperatura ambiente y agitación constante. Finalmente se concentró la mezcla de reacción a presión reducida, obteniéndose **42a**. El cloruro **42c** se obtuvo mediante una reacción de nitración de **42**, utilizando H₂SO₄ (50.6 mmol, 4.8 g) y HNO₃ (4.6 mmol, 0.290 g) el cual fue adicionado gota a gota. Se dejó reaccionar en baño de hielo y atmósfera inerte por 1 h.

Posteriormente, la mezcla de reacción se vertió sobre hielo, formándose un precipitado que fue filtrado. El producto de reacción se purificó mediante CC eluyéndose con mezclas de Hexano/AcOEt, iniciando con hexano 100%, posteriormente aumentando 10% de AcOEt, hasta completar AcOEt 100%. El producto nitrado (**42b**) obtenido se sometió a las mismas condiciones utilizadas para la síntesis de **42a** (1.91 mmol, 0.500 g) obteniéndose el correspondiente cloruro de ácido (**42c**). Éste se colocó en baño de hielo, para su posterior uso (Figura 20).

7.1.2. Síntesis de 2-(2-bromofenil)-*N*-fenetilacetamida (**44a**)

La acetamida **44a** se obtuvo mediante la reacción de fenetilamina (**43a**) (2.3 mmol, 0.246 g) y trietil amina (2.53 mmol, 0.255 g) en 80 mL de diclorometano seco. El matraz con la mezcla se colocó en baño de hielo y gota a gota se le fue adicionando el cloruro del ácido **42a** preparado previamente. La mezcla de reacción se dejó reaccionar durante 15 h, en agitación constante y temperatura ambiente. Al finalizar el tiempo de reacción, una solución saturada de bicarbonato de sodio se adicionó. Posteriormente, ésta se extrajo con 50 mL de diclorometano (x3).

La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró a sequedad. El residuo se recristalizó con mezcla de hexano/AcOEt y posteriormente se filtró. Las condiciones de reacción se muestran en la figura 19.

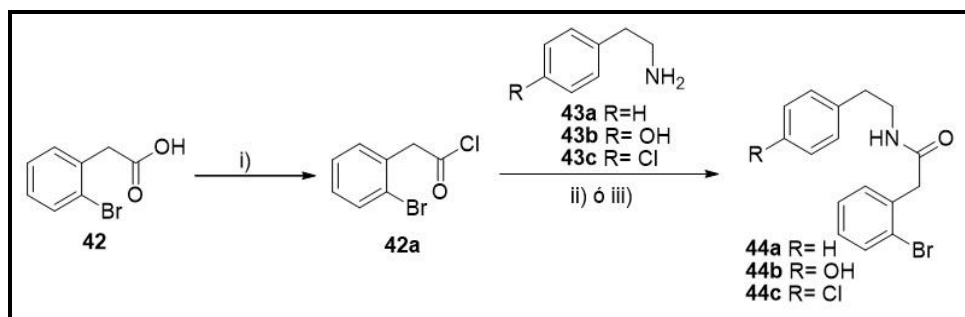


Figura 19. Reacción general de síntesis de las acetamidas **44a – 44c**; i) cloruro de tionilo, diclorometano seco, DMF (cat.), atmósfera inerte, 2.5 h; ii) diclorometano seco, atmósfera inerte, 15 h; iii) etanol seco, atmósfera inerte, 15 h.

7.1.3. Síntesis de 2-(2-bromofenil)-*N*-(4-hidroxifenetil) acetamida (**44b**)

De manera similar al compuesto **44a** (Figura 19), la obtención de **44b** se realizó utilizando 2.3 mmol, (0.232 g) de *p*-hidroxi fenetilamina (**43b**), trietilamina (2.53 mmol, 0.255 g) y se colocó en un matraz con 80 mL de etanol seco. Al igual que el procedimiento para **44a**, se colocó el matraz de reacción en baño de hielo y a éste se le adicionó por goteo, el cloruro del ácido-2-bromofnil acético. De igual forma se dejó reaccionar durante 15 h, agitación constante, temperatura ambiente. Al finalizar la reacción, se procesó al igual que el compuesto anterior. El residuo final se recrystalizó utilizando hexano y finalmente filtrando el precipitado formado.

7.1.4. Síntesis de 2-(2-bromofenil)-*N*-(4-clorofenetil) acetamida (**44c**)

Las condiciones de reacción son similares a la descrita para **44a**, en este caso se utilizó *p*-cloro fenetilamina (**43c**) (2.3 mmol, 0.360 g), trietilamina (2.3 mmol, 0.696 g), a esta mezcla se le adicionó el cloruro de ácido bromofenil acético. La reacción se llevó a cabo y se procesó de igual forma que el compuesto **44a** (Figura 19).

7.1.5. Síntesis de 2-(2-bromo-6-nitrofenil)-*N*-fenetilacetamida (**44d**)

La obtención de **44d** se realizó mediante la reacción la fenetilamina (**43a**) (1.91 mmol, 0.204 g), trietilamina (5.7 mmol, 0.575 g) y el cloruro del ácido (**42c**). La reacción se llevo a cabo en diclorometano seco (80 mL). El procesamiento de la reacción fue igual al resto de la serie de las acetamidas (Figura 20).

7.1.6. Síntesis de 2-(2-bromo-6-nitrofenil)-*N*-(4-clorofenil) acetamida (**44e**)
 De manera semejante al compuesto anterior, el compuesto **44e** se obtuvo adicionando el cloruro del ácido previamente formado (**42b**) a la mezcla de *p*-cloro fenetilamina (**43c**) (1.91 mmol, 0.296 g), trietilamina (5.7 mmol, 0.575 g) en diclorometano seco. El resto del procedimiento fue llevado a cabo igual que en los otros compuestos de esta misma serie (Figura 20).

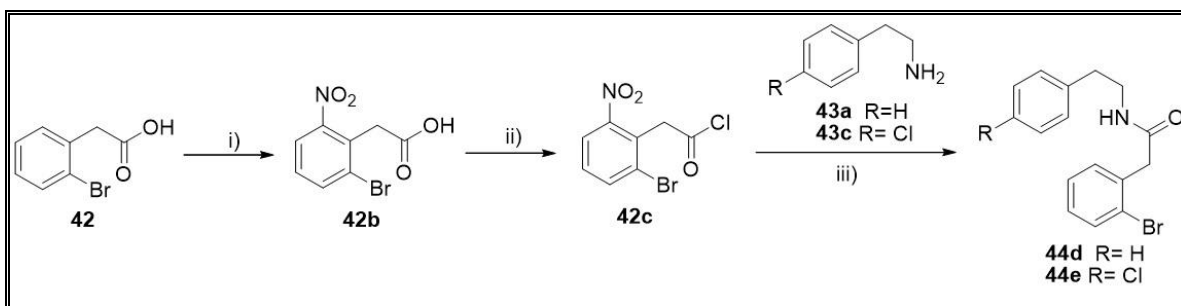


Figura 20. Reacción general para la síntesis de las acetamidas **44d** y **44e**; i) Nitración de **42** con HNO_3 y H_2SO_4 ; ii) cloruro de tionilo, diclorometano seco, DMF (cat) atmósfera inerte, 15 h; iii) diclorometano seco, atmósfera inerte, 15 h.

7.1.7. Síntesis de 4-(2-(2-(2-bromofenil) acetamido) etil) fenilacetato (**44f**).
 Una vez obtenido el compuesto **44f**, éste se sometió a condiciones de acetilación. Se utilizaron 0.500 g de la acetamida **44b** (1.4 mmol) y se pusieron a reaccionar con anhídrido acético / piridina 1:1, durante 20 h, a temperatura ambiente y agitación constante (Figura 21). Al finalizar el tiempo de reacción, se adicionó hielo y se realizaron extracciones con 40 mL de AcOEt (x2), a la fase orgánica se le hicieron lavados con 20 mL (x3) solución de HCl 10%. Finalmente, la fase orgánica, se secó con Na_2SO_4 , se filtró y se concentró a sequedad. El residuo se purificó con la adición de hexano y gotas de éter isopropílico, y finalmente se filtró.

7.1.8. Síntesis de 4-(2-(2-(2-bromofenil) acetamido) etil) fenil-4-bromobenzoato (**44g**)

De manera semejante a la obtención de **44f**, la acetamida **44g** fue sintetizada partiendo de **44b** (1.4 mmol, 0.500 g), que se hizo reaccionar con el cloruro de 4-*p*-bromobenzoilo (1.6 mmol, 0.350 g), en piridina (7 mL) y trietilamina (2.2 mmol, 0.222 g). La reacción procedió durante 24 h, a temperatura ambiente y agitación

constante. El procesamiento de la reacción fue igual a lo descrito para el compuesto **44f**. Una vez obtenido el residuo de reacción se purificó por CC, obteniéndose **44f** en las fracciones eluidas con la fase móvil de Hexano/AcOEt (7:3) (Figura 21).

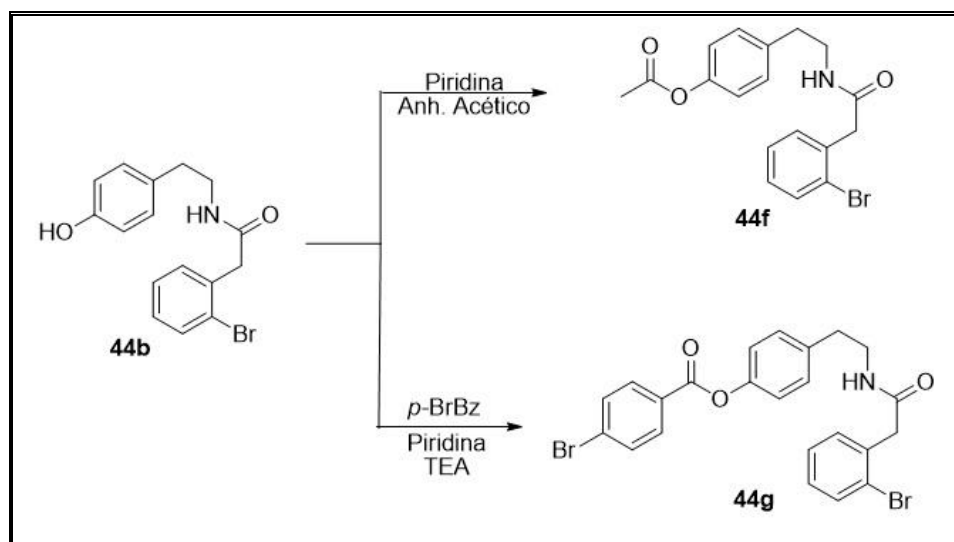


Figura 21. Reacción de síntesis de las acetamidas **44f** y **44g**.

7.1.9. Síntesis de (2-bromofenil) (3,4-dihidroisoquinolin-1-il) metanona (**45a**)
Mediante condiciones modificadas de la reacción Bischler-Napieralski (Movassaghi *et al.* 2008) en un matraz de 3 bocas, se colocó la materia prima **44a** (1.5 mmol, 0.500 g), la cual se disolvió en diclorometano seco (80 mL), se adicionó 2-cloropiridina (1.65 mmol, 0.186 g). Posteriormente se selló el sistema y se colocó bajo atmósfera inerte. El matraz contenedor de ésta mezcla se colocó en baño de hielo seco y acetona para alcanzar una temperatura aproximada de -75 °C, posteriormente se adicionó por goteo el Tf₂O (Figura 22) (1.65 mmol, 0.465 g).

Posteriormente, se dejó alcanzar temperatura ambiente y la reacción transcurrió durante 2 h. Al finalizar la reacción se adicionó solución 1N de NaOH y se hicieron extracciones con diclorometano (50 mL x2). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄, se filtró y se concentró a sequedad, para posteriormente purificarlo por CC.

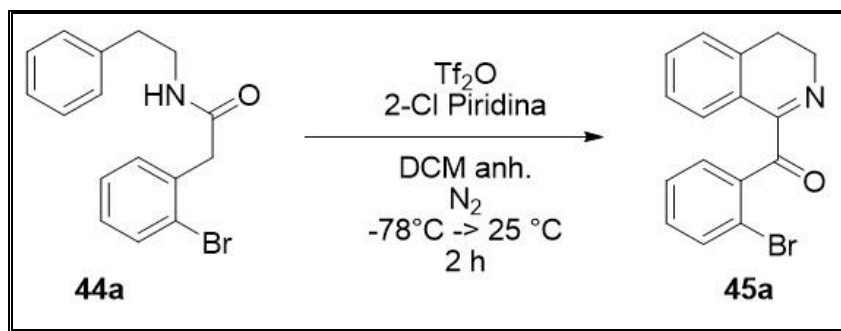


Figura 22. Condiciones de reacción Bischler-Napieralski para la síntesis de **45a**.

7.1.10. Síntesis de (2-bromofenil) (7-cloro-3,4-dihidroisoquinolin-1-il)metanona (**45c**).

Para la síntesis de esta isoquinolina **45c** – **45e**, se utilizó el horno de calentamiento convencional Anton Paar®. En el caso de la BIQ **45c**, se utilizó como materia prima, su correspondiente acetamida **44c** (0.59 mmol, 0.208 g), la cual se colocó en el reactor de vidrio, ahí se le adicionó ácido polifosfórico (APF) (~6 mL) (Figura 23). Se colocó en el horno de calentamiento y se sometió a reacción durante 10 minutos, a 150 °C.

Debido al residuo viscoso formado, se dejó alcanzar temperatura ambiente y el reactor de vidrio se sumergió en solución saturada de bicarbonato de sodio, para hidrolizar el exceso de APF. Al finalizar la hidrólisis se hicieron extracciones con diclorometano (50 mL x 3). Se secó con Na_2SO_4 , se filtró y se concentró a sequedad. Posteriormente se purificó por PLC.

7.1.11. Síntesis de (2-bromo-6-nitrofenil)(3,4-dihidroisoquinolin-1-il)metanona (**45d**)

En este caso la acetamida correspondiente **44d** (0.55 mmol, 0.200 g) se mezcló con el ácido polifosfórico, y se sometió a las condiciones de reacción, así mismo el procesamiento de la reacción así como el método de purificación fue el mismo que el descrito en el paso anterior (Figura 23).

7.1.12. Síntesis de (2-bromo-6-nitrofenil)(7-cloro-3,4-dihidroisoquinolin-1-il) metanona (**45e**).

La acetamida **44e** (0.50 mmol, 0.200 g), se sometió a condiciones de reacción y tratamiento igualmente al descrito en los puntos anteriores (Figura 23).

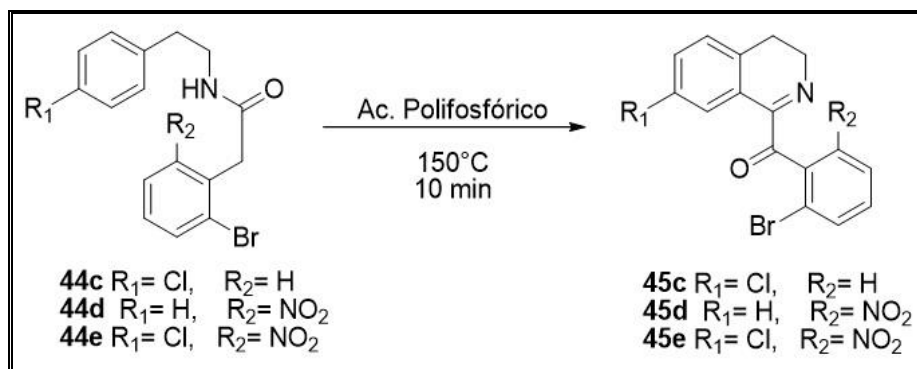


Figura 23. Condiciones de reacción Bischler-Napieralski para la síntesis de **45c**, **45d** y **45e**.

7.2. Ensayos biológicos

7.2.1. Animales

Se utilizaron ratones adultos Swiss Webster (25 – 35 g) que fueron obtenidos del bioterio del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz. Los ratones tuvieron libre acceso a agua y alimento durante todo el experimento y fueron manipulados de acuerdo a las especificaciones de la NOM-062-ZOO-1999, por los principios generales del cuidado de animales de laboratorio (NIH, publicación #85-23, 1985). El protocolo fue aprobado por el comité local de ética (NC16045.1). Los animales fueron almacenados en cajas de policarbonato, 8 individuos por caja de 27 x 17 x 15 cm de dimensiones, en condiciones de humedad y temperatura controlados (20-21 °C), luz invertida: condiciones oscuras (12:12 h, encendiendo luces a las 20:00 h), todos los experimentos conductuales fueron realizados entre las 10:00 y las 14:00 h.

De acuerdo con los lineamientos de los Informes de Experimentos *in vivo* para la Investigación Animal (ARRIVE, por sus siglas en inglés), se siguieron los principios

éticos (3R) con el fin de minimizar el sufrimiento de los animales y la cantidad de individuos necesarios para la obtención de datos confiables, estadísticamente.

7.2.2. Fármacos y reactivos

Imipramina (IMI), clomipramina (CLIMI), desipramina (DIM), los cuales son fármacos utilizados como tratamiento de la depresión. Estos actúan como inhibidores de recaptura de catecolaminas y 5-HT, neurotransmisores implicados en los desórdenes de depresión. Por otro lado, reserpina (RESI), sulpirida, *p*-clorofenilalanina (PCPA), SCH23390 y haloperidol fueron utilizados para la elucidación del mecanismo de acción. Todos los compuestos fueron obtenidos de Sigma-Aldrich (Co. St. Louis, MO, USA), los fármacos fueron preparados como soluciones o suspensiones fisiológicas salinas conteniendo 0.1 % Tween 80 y administrados vía intraperitoneal, sulpirida fue disuelta en solución salina acidificada 1% HCl (0.1N) y administrada por vía subcutánea.

Cada tratamiento tuvo su grupo control administrado con el correspondiente vehículo. Los fármacos IMI, DIM y CLIMI fueron usados como fármacos de referencia, los cuales también fueron elegidos con base en reportes previos de efectos anti inmovilidad en ratones (Martínez-Vázquez *et al.*, 2012; Estrada-Reyes *et al.*, 2018) Todos los fármacos fueron administrados en un volumen de 10 mL/kg de peso, los animales del grupo control recibieron solución fisiológica (0.9% de NaCl) como vehículo. Las dosis de los compuestos experimentales se administraron 30 minutos antes de la prueba de nado forzado y después de 7 días, los mismos animales recibieron otra dosis 30 minutos después de haber sido sometidos a la prueba de campo abierto.

7.2.3. Evaluación experimental del efecto tipo antidepresivo de compuestos sintetizados

La prueba de nado forzado (Forced Swimming Test-FST, por sus siglas en inglés) es quizá la prueba más ampliamente utilizada en modelos murinos para evaluar el potencial antidepresivo de compuestos. Para descartar que los compuestos

presenten efectos inespecíficos (por ejemplo, hiper o hipactividad) la actividad ambulatoria de los ratones se evaluó en la prueba de campo abierto.

7.2.4. Prueba de nado forzado (FST, por sus siglas en inglés)

Los ratones fueron colocados de manera individual en cilindros con las siguientes especificaciones: alto 20 cm, diámetro 14.5 cm; conteniendo 15 cm de agua a 23 ± 1°C. Todos los animales fueron forzados a nada durante un periodo de 15 minutos antes de la prueba, seguido una sesión de 3 minutos al día siguiente. Después de cada sesión de nado, los ratones fueron removidos del agua, secados cuidadosamente y devueltos de manera segura a sus cajas. En la sesión previa a la prueba, los ratones inicialmente tratan de escapar nadando, después de esto, asumen una posición de inmovilidad. A las 24 h, en la sesión de prueba el ratón inicialmente nada y progresivamente adopta un comportamiento de inmovilidad y comienza a flotar, el comportamiento de inmovilidad es medido durante la sesión de prueba, en segundos. Tanto los fármacos como los compuestos de prueba fueron administrados 30 minutos antes de cada sesión (Estrada-Reyes, *et al.*, 2018).

7.2.5. Prueba de campo abierto (“Hole-board”)

Esta prueba es usada para medir la capacidad motora y el comportamiento ambulatorio de los ratones (Belzung y Griebel, 2001). En nuestro caso tiene como objetivo excluir resultados falsos positivos o negativos del efecto tipo antidepresivo; por ejemplo, el estimulante central anfetamina (el cual no es un antidepresivo) incrementa el tiempo de inmovilidad en FST, pero también la actividad locomotora en campo abierto (Porsolt *et al.*, 1978). El aparato considerado es una caja de Plexiglas opaco (40 x 30 x 20 cm) con techo blanco dividido en 12 cuadrados iguales. Los animales fueron colocados en una esquina del aparato y su comportamiento fue videograbado durante una sesión de 5 minutos. Un observador, ciego al tratamiento farmacológico, registró el número de veces que el ratón entraba en cada cuadro (cuantas/5 min), así como el número de veces que el ratón se colocaba en sus patas traseras. La caja fue cuidadosamente limpiada entre cada

prueba. El número de cuentas fue expresado como la media \pm E.S.M. (Martínez-Vázquez *et al.*, 2012; Estrada-Reyes *et al.*, 2018).

7.2.6. Evaluación del posible mecanismo de acción de los compuestos más bioactivos

Para explorar algún posible mecanismo bioquímico mediante el cual el/los compuestos más activos actúan, se realizaron ensayos independientes de co-administración. En este caso, la dosis efectiva (DE₅₀) del compuesto **45a** (18.4 mg/kg) fue combinada con los siguientes fármacos: **1.** reserpina, el cual anula el almacenamiento de 5-HT, DA y NA en las vesículas secretoras; **2.** *p*-clorofenilalanina (PCPA), el cual inhibe la enzima triptófano hidroxilasa, por lo cual, reprime la síntesis de 5-HT sin inhibir la síntesis de NA o DA; **3.** SCH23390, es un antagonista de receptores dopaminérgicos D₁; **4.** Sulpirida, el cual actúa como antagonista selectivo de receptores dopaminérgicos D₂, D₃ y serotoninérgicos 5-HT_{1A}; **5.** Halopridol, el cual funciona como antagonista de receptores dopaminérgicos D₂. Las condiciones de administración se describen más adelante. (Castagné *et al.*, 2009), (Martínez-Vázquez *et al.*, 2012; Cassani *et al.* 2013 y 2015).

EXPERIMENTO I: Un grupo de ratones (n=8) fue administrado con reserpina a la dosis de 2 mg/kg, y 30 minutos después se administró vía intraperitoneal el compuesto experimental (**45a**, 18.44 mg/kg), y posterior a otros 30 minutos los ratones se sometieron a la prueba de nado forzado. Un segundo grupo se administró con solución salina que sirvió como control.

EXPERIMENTO II: Un grupo de 8 animales fueron pre-tratados con PCPA (100mg/kg) una única dosis por día, durante 4 días consecutivos. Después de 30 minutos de la última administración de PCPA se administró el compuesto activo (**45a**, 18.44 mg/kg), por vía intraperitoneal. Se dejaron pasar otros 30 minutos cuando se evaluaron nuevamente en FST. Un segundo grupo recibió el mismo tratamiento, pero únicamente se administró el vehículo.

EXPERIMENTO III: Un grupo de 8 ratones fue pre-tratado con SCH23390 en la dosis de 0.05 mg/kg (vía subcutánea), 30 minutos después se le administró el compuesto activo (**45a**, 18.44 mg/kg), y después de 30 minutos adicionales, se sometieron a la prueba de FST. Otro grupo fue administrado con solución salina.

EXPERIMENTO IV: Un grupo de 8 ratones fueron pre tratados con sulpirida a la dosis de 50 mg/kg, se dejaron pasar 30 minutos para administrarles el compuesto experimental (**45a**, 18.44 mg/kg). Finalmente, después de 30 minutos se sometieron a la prueba de nado forzado. Un grupo independiente se le administró solución salina como control.

EXPERIMENTO V: Dos grupos de 8 ratones fueron co-tratados con haloperidol a 0.2 mg/kg además de la correspondiente dosis del compuesto experimental (**45a**, 18.44 mg/kg). Después de 30 minutos fueron sometidos a FST. Un grupo se administró solución salina como control.

EXPERIMENTO VI: el posible efecto de **45a** sobre la actividad de MAO-A y MAO-B en el cerebro del ratón, fue medido mediante el uso de preparaciones mitocondriales. La actividad de las MAO's se midió mediante un método espectrométrico (Kitagawa, 1994; Yu et al, 2002). La mezcla de ensayo contiene 4 mM 5-HT o 2 nM de β -PEA como substrato específico para MAO-A y B, respectivamente. El experimento de inhibición de la actividad de MAO fue llevado a cabo mediante la adición de clorgilina (inhibidor selectivo de MAO-A) y deprenil (inhibidor selectivo de MAO-B) y los compuestos experimentales.

La concentración de la proteína fue ajustada a 1 mg/mL y fue medido mediante el método de Bradford, utilizando albumina sérica bovina como estándar. (Martínez-Vázquez, et al, 2012).

7.2.7. Acoplamiento molecular ("Docking")

Las aproximaciones teóricas ligando-receptor contribuyen al estudio y elucidación del posible mecanismo de acción, por lo que el receptor dopaminérgico D₃ se evaluó

con el compuesto que mostró mejor efecto tipo antidepresivo en las pruebas conductuales. La estructura del receptor dopaminérgico humano D₃ utilizado en los análisis de docking fue obtenido del Protein Data Bank (PDB: 3PBL). Las estructuras de **44a** (BIQ-**44a**) fueron generadas mediante el software Maestro, Ver. 11.9 (Shrodinger, LLC, New York, NY, USA). El agonista eticloprida fue removido de su sitio de unión del receptor dopaminérgico D₃, para su análisis de docking, utilizando el software UCSF Chimera Ver. 1,13,1 (desarrollado por: Reosource for Biocomputing Visualization and Informatics, University of California, San Francisco; NIH P41-GM103311.) (Pettersen, et al; 2004). La estructura del ligando y la proteína fueron preparados para el docking utilizando el software ADT 1.5.2 (Morris, et al; 2009). El análisis de docking fue llevado a cabo utilizando el software Autodock 4.2.5.1 disponible en <http://autodock.scripps.edu/> . Después en el docking, las 100 mejores conformaciones de cada ligando fueron seleccionadas y agrupadas para su análisis utilizando el software ADT 1.5.2. Las conformaciones seleccionadas fueron dentro de las agrupaciones, las más representativas las que corresponden a aquellas que muestran los valores mas bajos de la energía de enlace y el *K.d.* teórico. Los modelos de análisis y las figuras dibujadas fueron creadas con PYMOL 2.1.0 (Huey, et al; 2007).

7.2.8. Análisis estadístico

Todos los resultados fueron analizados con el programa SigmaPlot v12. Los datos se sometieron a una prueba de normalidad y una prueba de igualdad de varianza. El resultado de éstas pruebas nos indico que los datos debían considerarse no paramétricos. Las diferencias entre los grupos fueron analizados por la prueba de Kruskal-Wallis, seguido del la prueba de Dunn's o por Mann-Whitney-U, para comparaciones en pares cuando el ANADEVA-no paramétrico mostró significancia estadística ($p < 0.05$). Todos los análisis estadísticos fueron efectuados con Sigma Stat versión 12.

8. RESULTADOS

8.1. Síntesis química

8.1.1. Compuesto 2-(2-bromofenil)-*N*-fenetilacetamida (**44a**).

Se obtuvo un sólido amorfo de color blanco en 80% de rendimiento, Pf 105-107 °C. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.56 (d, *J*= 8 Hz 1H, H3'), 7.27 (m, 1H, H6'), 7.26 (m, 1H, H5'), 7.22 (m, 1H, H3, H5), 7.18 (m, 1H, H4), 7.14 (m, 1H, H4'), 7.06 (d, *J*= 7 Hz 2H, H2), 3.67 (s, 2H, CH₂), 3.48 q, *J*= 6.4 Hz 2H, H1a), 2.75 (t, *J*= 6.8 Hz 2H, H1b). RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ 169.4 (NHC=O), 138.6 (C1), 134.8 (C1'), 133.1 (C3'), 131.7 (C6'), 129.1 (C4'), 128.7 (C2, C6), 128.6 (C3, C5) 127.9 (C5'), 126.4 (C4), 124.9 (C2'), 44.1 (CH₂), 40.7 (C1a), 35.5 (C1b). Masa calculada 320.04731, para la fórmula C₁₆H₁₇BrNO, masa exacta [M+1]⁺ m/z: 320.04623. Los datos coinciden con el compuesto previamente reportado (Lafrance *et al.*, 2007) (anexos 1 y 2).

El compuesto **44a** se tomó como referencia para comparar el resto de los compuestos de esta serie, como se puede observar en los espectros de RMN, se pueden distinguir diferentes tipos de señales que corresponden a cada uno de los átomos que integran la molécula de este compuesto. En el espectro de RMN ¹H, se puede observar claramente la presencia de tres señales alifáticas, una de ellas sin mostrar acoplamiento, las cuales corresponden a los protones alifáticos H-1a, H-1b y CH₂ de la molécula. Por otro lado, en la región aromática se observa un grupo de señales sobrepuestas debido a la presencia de dos anillos aromáticos.

Sin embargo, una señal que se observa a campo bajo es la del protón H-3' (en 7.5 ppm), la cual se mantiene casi constante en el resto de los compuestos de la serie (Figura 24).

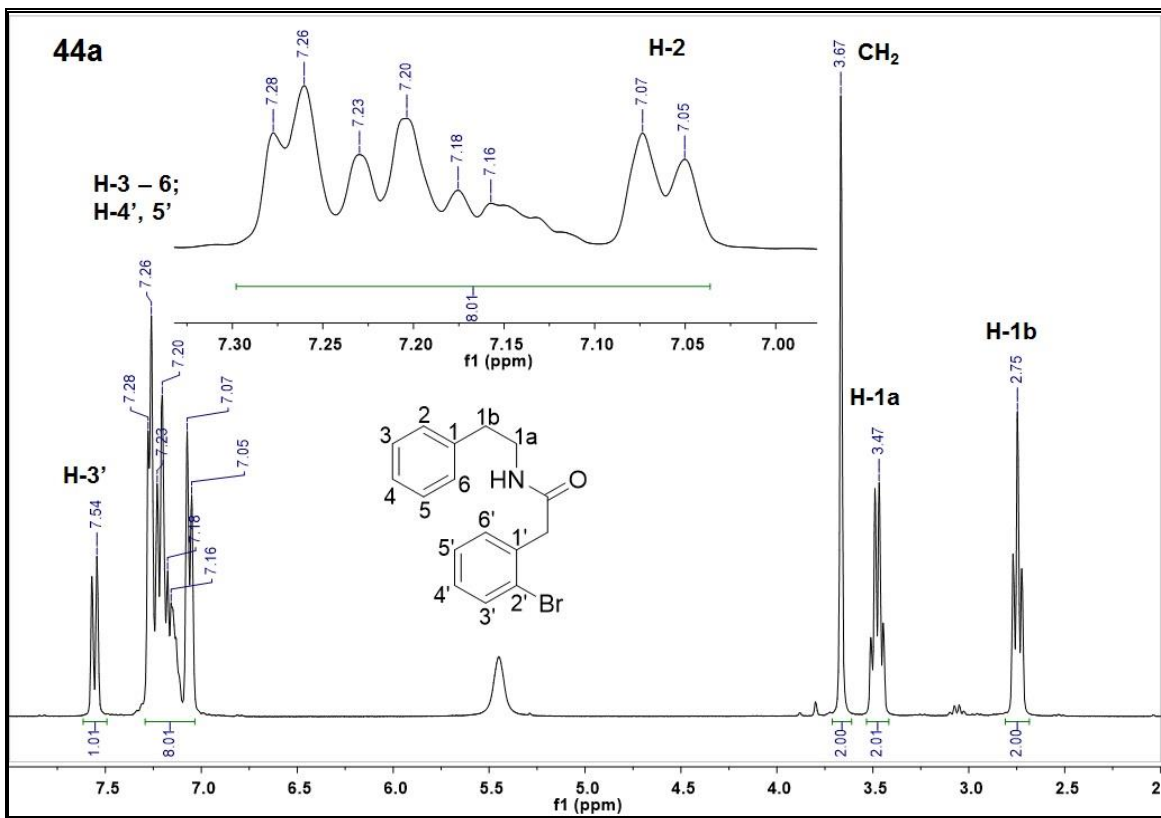


Figura 24. Espectro de RMN ^1H (300 MHz, en CDCl_3) del compuesto **44a**.

En el espectro de RMN ^{13}C se observan tres señales alifáticas correspondientes a carbonos sp^3 (C-1a, C-1b, CH_2), y el resto de las señales aromáticas (124 a 138 ppm), así como la señal del carbono carbonílico a campo bajo (en 169.4 ppm) (Figura 25).

Con la ayuda del espectro DEPT 90 y DEPT 135, se corrobora la presencia de los tres alifáticos negativos, correspondientes a C1a, C-1b y CH_2 , en la región aromática se aprecia menos complejidad de las señales debido a la ausencia de cuatro señales de carbonos que corresponden a los carbonos aromáticos completamente saturados y el carbono carbonílico (Figura 26).

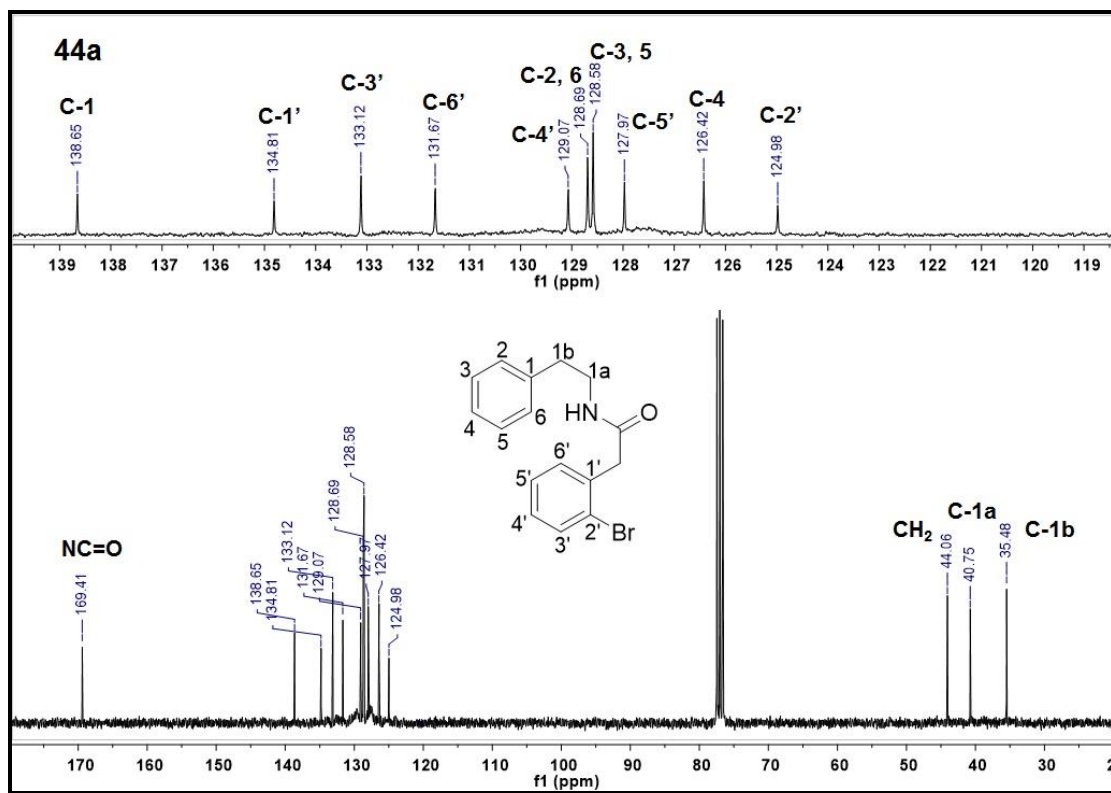


Figura 25. Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, en CDCl₃) del compuesto 44a.

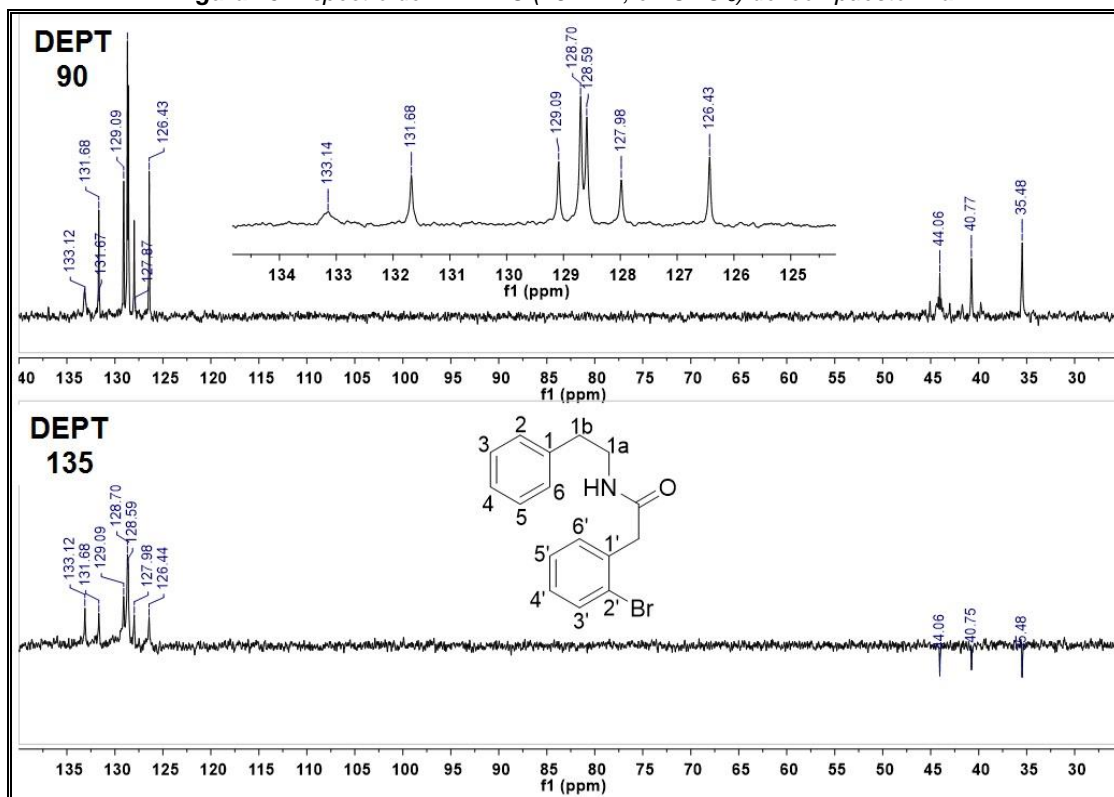


Figura 26. Espectro DEPT 90 y DEPT 135 del compuesto 44a.

En el espectro de COSY se puede observar algunos acoplamientos característicos entre protones. Por ejemplo los H-1a y H-1b muestran señal de acoplamiento, sin embargo el protón de CH₂ se encuentra a más de tres enlaces de otro protón, por lo tanto no muestra señal de acoplamiento. Esta característica se repite en el resto de los compuestos de la serie (Figura 27).

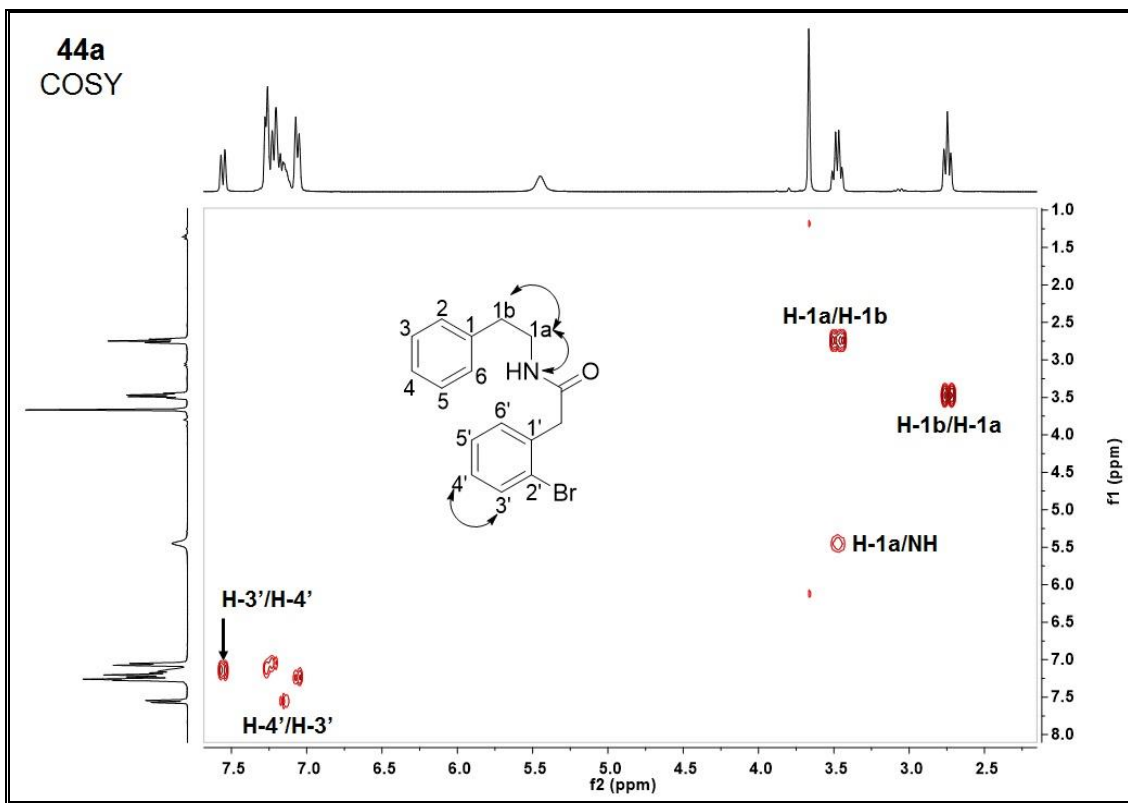


Figura 27. Espectro bi-dimensional COSY del compuesto 44a.

En el espectro bi-dimensional HSQC, se pueden identificar algunas señales de correlación de protones con su respectivo carbono (Figura 28).

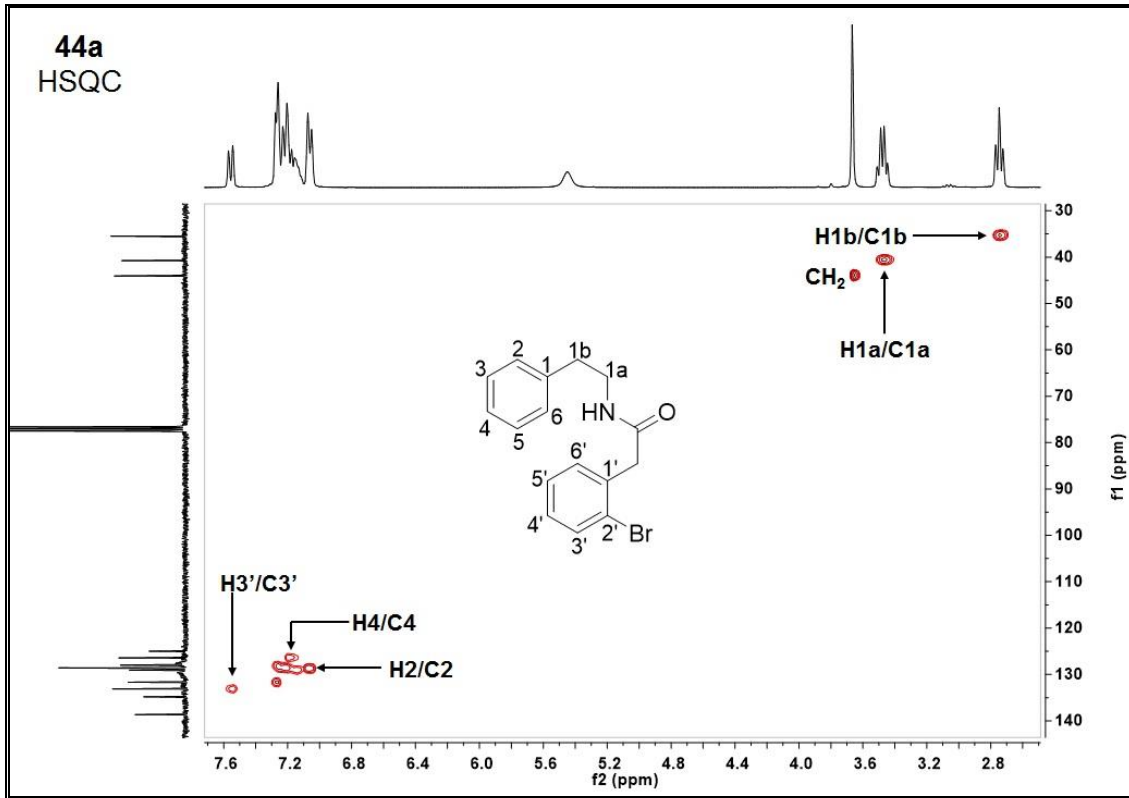


Figura 28. Espectro bi-dimensional HSQC del compuesto **44a**.

Por otro lado, en el espectro HMBC se pueden observar algunas señales de correlaciones entre carbonos e hidrógenos a 3 o 4 enlaces. Estas señales corroboran la estructura esperada para el compuesto **44a** (Figura 29).

Por ejemplo, unas señales muy fáciles de identificar son las que presenta el protón de CH₂ con el carbono carbonílico, así como con algunos carbonos aromáticos del anillo inferior (C1', C2'). De manera similar, la señal del protón H-1b, presenta correlación con carbonos aromáticos del anillo superior.

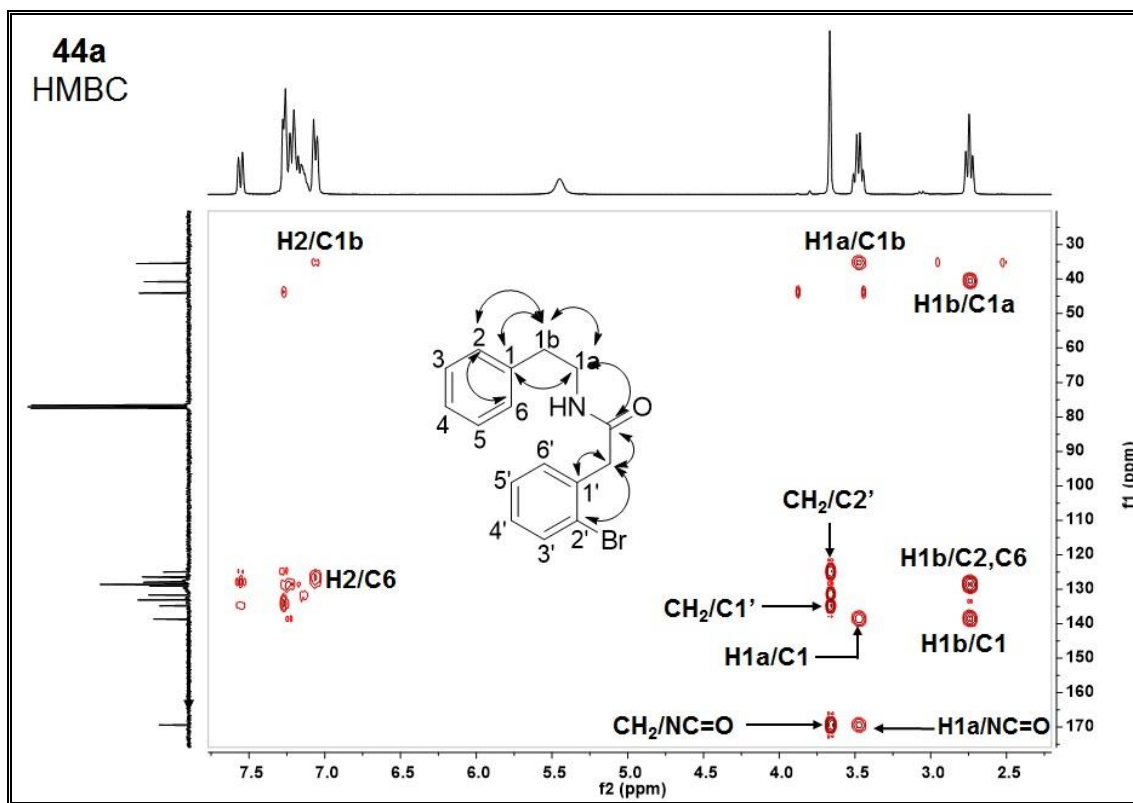


Figura 29. Espectro bi-dimensional HMBC del compuesto 44a.

8.1.2. Compuesto 2-(2-bromofenil)-*N*-(4-hidroxifenetil) acetamida (**44b**).

Sólido amorfo de color amarillo claro al 88% de rendimiento, Pf 126 – 128 °C. RMN ^1H (400 MHz, MeOD δ -4) δ (ppm) 7.55 (d, J = 8Hz 1H, H3'), 7.32-7.25 (m, 2H, H5', H6'), 7.15 (td, J = 1.3, 5.5 Hz 2H, H4'), 7.00 (d, J =8.4 Hz 2H, H2, H6), 6.69 (d, J =8.4 Hz 2H, H3, H5), 3.64 (s, CH₂), 3.38 (t, J = 6 Hz 2H, H1a), 2.69 (t, J = 6 Hz 2H, H1b). RMN ^{13}C (100 MHz, , MeOD δ -4) 172.6 (NHC=O), 157.0 (C4), 136.7 (C1'), 133.9 (C3'), 132.9 (C5'), 131.3 (C1), 130.9 (C2, C6), 130.0 (C4'), 128.9 (C6'), 126.1 (C2'), 116.4 (C3, C5), 44.1 (CH₂), 42.2 (C1a), 35.6 (C1b). Masa calculada: 334.04427, para la fórmula C₁₆H₁₇BrNO₂; masa exacta [M+1]⁺ m/z: 334.04405 (anexos 3-10).

8.1.3. Compuesto 2-(2-bromofenil)-*N*-(4-clorofenetil) acetamida (**44c**).

Se obtuvo un sólido amorfo de color amarillo claro, en un 85% de rendimiento, Pf: 96-98 °C. RMN ^1H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.55 (d, J = 9Hz, 1H, H3'), 7.28 (m, 1H, H5'), 7.27 (m, 1H, H6'), 7.20 (m, 1H, H4'), 7.18 (d, J = 12 Hz, 2H, H5, H3), 6.99

(d, $J = 9$ Hz, 2H, H6, H2), 3.66 (s, 2H, CH₂), 3.45 (q, $J = 6$ Hz, 2H, H1a), 2.72 (t, $J = 6$ Hz, 2H, H1b). RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 169.6 (NHC=O), 137.2 (C1), 134.9 (C1'), 133.3 (C3'), 132.4 (C4), 131.8 (C6'), 130.2 (C6, C2), 129.3 (C4'), 128.8 (C5, C3), 128.2 (C5'), 125.1 (C2'), 44.2 (CH₂), 40.7 (C1a), 34.9 (C1b). Masa calculada: 354.00833, para la fórmula C₁₆H₁₆ONBrCl, masa exacta [M+1]⁺ m/z: 354.00952 (anexos 11-17).

8.1.4. Compuesto 2-(2-bromo-6-nitrofenil)-*N*-fenetilacetamida (**44d**).

Se obtuvo un compuesto sólido de color blanco/beige en un 25% de rendimiento, Pf: 117 – 120 °C. RMN ¹H (300 MHz, , CDCl₃) δ (ppm) 8.16 (d, $J = 3$ Hz, 1H, H4'), 7.98 (dd, $J = 3$ Hz, 9Hz, 1H, H3'), 7.73 (d, $J = 6$ Hz, 1H, H5'), 7.27 (m, 1H, H4), 7.23 (m, 2H, H2, H6), 7.12 (m, 2H, H5, H3), 3.71, (s, 2H, CH₂), 3.54 (q, $J = 6$ Hz, 2Hz, 2H, H1a), 2.81 (t, $J = 6$ Hz, 2H, H1b). RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 167.9 (NHC=O), 147.4 (C6'), 138.5 (C1), 136.9 (C1'), 133.9 (C5'), 132.3 (C2'), 128.8 (C5, C4, C3), 126.7 (C6, C2), 126.3 (C4'), 123.6 (C3'), 43.7 (CH₂), 40.9 (C1a), 35.5 (C1b). Masa calculada: 363.03443, para a fórmula C₁₆H₁₆O₃N₂Br, masa exacta [M+1]⁺ m/z: 363.03324 (anexos 18-25).

8.1.5. Compuesto 2-(2-bromo-6-nitrofenil)-*N*-(4-clorofenetil) acetamida (**44e**).

Se obtuvo un sólido morfo color amarillo claro, rendimiento del 10%, Pf: 109 – 111 °C. RMN ¹H (300 MHz, , CDCl₃) δ (ppm): 7.63 (dd, $J = 3$ Hz, 9Hz, 1H, H5'), 7.49 (dd, $J = 3$ Hz, 9Hz, 1H, H3'), 7.41 (q, $J = 6$ Hz, 15 Hz, 1H, H4'), 7.23 (d, $J = 9$ Hz, 2H, H5, H3), 7.05 (d, $J = 9$ Hz, 2H, H6, H2), 3.74 (s, 2H, CH₂), 3.50 (q, $J = 9$ Hz, 15 Hz, 2H, H1a), 2.77 (t, $J = 12$ Hz, 2H, H1b). RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 168.3 (NHC=O), 151.2 (C6'), 138.2 (C2'), 137.0 (C1), 134.6 (C3'), 132.5 (C4), 130.2 (C6, C2), 128.9 (C5, C3), 128.4 (C4'), 124.0 (C5'), 116.1 (C1'), 44.2 (CH₂), 40.8 (C1a), 34.9 (C1b). Masa calculada :397.65309, para la fórmula C₁₆H₁₅O₃N₂BrCl masa exacta [M+1]⁺ m/z: 398.65621 (anexos 26-33).

8.1.6. Compuesto 4-(2-(2-(2-bromofenil) acetamido) etil) fenilacetato (**44f**)

Se obtuvo un sólido amorfo blanco con un 90% de rendimiento, Pf 133-135 °C. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.56 (d, *J*= 7.8 Hz 1H, H3'), 7.28 (s, 1H, H6'), 7.27 (s, 1H, H5'), 7.15 (m, 1H, H4'), 7.07 (d, *J*= 7.8 Hz 2H, H3, H5), 6.95 (d, *J*= 7.8 Hz 2H, H2, H6), 3.67 (s, CH₂), 3.45 (q, *J*= 6, 12 Hz 2H, H1a), 2.74 (t, *J*= 6 Hz 2H, H1b), 2.29 (s, CH₃). RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 169.5 (AcC=O), 169.5 (NHC=O), 149.2 (C4), 136.2 (C1), 134.8 (1'), 133.1 (C3'), 131.7 (C6'), 129.7 (C3, C5), 129.1 (C4'), 128.0 (C5'), 124.9 (C2'), 121.6 (C2, C6), 44.0 (CH₂), 40.7 (C1a), 34.9 (C1b), 21.1 (CH₃). Masa calculada: 376.05483, para la fórmula C₁₈H₁₈BrNO₃, masa exacta [M+1]⁺ m/z: 376.05351 (anexos 34-41).

8.1.7. Compuesto 4-(2-(2-(2-bromofenil) acetamido) etil) fenil-4-bromobenzoato (**44g**).

Se obtuvo un sólido amorfo en un 55% de rendimiento, Pf: 200 -203 °C. RMN ¹H (300 MHz, DMSO δ6) δ (ppm) 7.86 (d, *J*= 8.1 Hz 2H, H2'', H6''), 7.71 (d, *J*= 8.7 Hz 2H, H3'', H5''), 7.56 (d, *J*= 9 Hz 1H, H3'), 7.30 (s, 1H, H5'), 7.28 (m, 1H, H6'), 7.17 (m, 1H, H4'), 6.98 (d, *J*= 9Hz 2H, H3, H5), 6.67 (d, *J*= 9 Hz 2H, H2, H6), 3.55 (s, CH₂), 3.23 (q, *J*= 6.6, 12 Hz, H1a), 2.61 (t, *J*= 6.6 Hz 2H, H1b). RMN ¹³C (125 MHz, DMSO δ6) δ (ppm) 169.1 (NHC=O), 167.1 (BrBnC=O), 156.1 (C4), 136.5 (C1'), 132.6 (C3'), 132.3 (C6'), 132.2 (C3'', C5''), 131.7 (C2'', C6''), 130.5 (C1''), 129.9 (C3, C5), 129.9 (C1), 128.9 (C4'), 127.9 (C5'), 127.3 (C4''), 124.9 (C2'), 115.5 (C2, C6), 42.8 (CH₂), 41.2 (C1a), 34.8 (C1b). Masa calculada: 517.97895, para la fórmula C₂₃H₂₉Br₂NO₃, masa exacta [M+1]⁺ m/z: 517.97753 (anexos 42 – 49).

Tabla 1. Datos de ^1H RMN de los compuestos **44a** – **44g**

Compuesto							
#	44aⁱ	44bⁱⁱ	44cⁱ	44dⁱ	44eⁱ	44fⁱ	44gⁱⁱⁱ
1a	3.48 q (<i>J</i> = 6.4)	3.38 t (<i>J</i> = 6)	3.45 q (<i>J</i> = 6)	3.54 q (<i>J</i> = 6 , 12)	3.50 q (<i>J</i> = 9, 15)	3.45 d (<i>J</i> = 6, 12)	3.23 q (<i>J</i> = 6.6, 12)
1b	2.75 t (<i>J</i> = 6.8)	2.69 t (<i>J</i> = 6)	2.72 t (<i>J</i> = 6)	2.81 t (<i>J</i> = 12)	2.77 t (<i>J</i> = 12)	2.47 t (<i>J</i> = 6)	2.61 t (<i>J</i> = 6.6)
2	7.06 d (<i>J</i> = 7)	7.00 d (<i>J</i> = 8.4)	6.99 d (<i>J</i> = 9)	7.23 m	7.05 d (<i>J</i> = 9)	6.95 d (<i>J</i> = 7.8)	6.67 d (<i>J</i> = 9)
3	7.22 m	6.69 d (<i>J</i> = 8.4)	7.18 d (<i>J</i> = 12)	7.12 m	7.23 d (<i>J</i> = 9)	7.07 d (<i>J</i> = 7.8)	6.98 d (<i>J</i> = 9)
4	7.18 m	-----	-----	7.27 m	-----	-----	-----
5	7.22 m	6.69 d (<i>J</i> = 8.4)	7.18 d (<i>J</i> = 12)	7.12 m	7.23 d (<i>J</i> = 9)	7.07 d (<i>J</i> = 7.8)	6.98 d (<i>J</i> = 9)
6	7.06 d (<i>J</i> = 7)	7.00 d (<i>J</i> = 8.4)	6.99 d (<i>J</i> = 9)	7.23 m	7.05 d (<i>J</i> = 9)	6.95 d (<i>J</i> = 7.8)	6.67 d (<i>J</i> = 9)
3'	7.56 d (<i>J</i> = 8)	7.55 d (<i>J</i> = 8)	7.55 d (<i>J</i> = 9)	7.98 dd (<i>J</i> = 3, 9)	7.49 dd (<i>J</i> = 3, 9)	7.56 d (<i>J</i> = 7.8)	7.56 d (<i>J</i> = 9)
4'	7.14 m	7.15 td (<i>J</i> = 1.3, 5.5)	7.20 m	8.16 d (<i>J</i> = 3)	7.41 q (<i>J</i> = 6, 15)	7.15 m	7.17 m
5'	7.26 m	7.25-7.32 m	7.28 m	7.73 d (<i>J</i> = 6)	7.63 dd (<i>J</i> = 3, 9)	7.27 m	7.30 s
6'	7.27 m		7.27 m	-----	-----	7.28 m	7.28 m
CH₂	3.67 s	3.64 s	3.66 s	3.71 s	3.72 s	3.67 s	3.55 s
CH₃	-----	-----	-----	-----	-----	2.29 s	-----
44g	2'' 7.68 d <i>J</i> = 8.1; 3'' 7.71 d <i>J</i> = 8.7; 5'' 7.71 d <i>J</i> = 8.7; 6'' 7.68 d <i>J</i> = 8.1.						

Tabla 2. Datos de ^{13}C RMN de los compuestos **44a** – **44g**.

Compuesto							
#	44aⁱ	44bⁱⁱ	44cⁱ	44dⁱ	44eⁱ	44fⁱ	44gⁱⁱⁱ
1	138.6	131.3	137.2	138.5	137.0	136.2	129.9
1a	40.7	42.2	40.7	40.9	40.8	40.7	41.2
1b	35.5	35.6	34.9	35.5	34.9	34.9	34.8
2	128.7	130.9	130.2	126.7	130.2	121.6	115.5
3	128.6	116.4	128.8	128.8	128.9	129.7	129.9
4	126.4	157.0	132.4	128.8	132.5	149.2	156.1
5	128.6	116.4	128.8	128.8	128.9	129.7	129.9
6	128.7	130.9	130.2	126.7	130.2	121.6	115.5
1'	134.8	136.7	134.9	136.9	116.1	134.8	136.5
2'	124.9	126.1	125.1	132.3	138.2	124.9	124.9
3'	133.1	133.9	133.3	123.6	134.6	133.1	132.6
4'	129.1	130.0	129.3	126.3	128.4	129.1	128.9
5'	127.9	132.9	128.2	133.9	124.0	128.0	127.9
6'	131.7	128.9	131.8	147.4	151.2	131.7	132.3
CH₂	44.1	44.1	44.2	43.7	44.2	44.0	42.8
CH₃	-----	-----	-----	-----	-----	21.1	-----
NCO	169.4	172.6	169.6	167.9	168.3	169.5	169.1
C=O	-----	-----	-----	-----	-----	169.5	167.1
44g	1'' 130.5; 2'' 131.7; 3'' 132.2; 4'' 127.3; 5'' 132.2; 6'' 131.7						
	i) CDCl ₃ ; ii) MeOD-d ₄ ; iii) DMSO-d ₆						

8.1.8. Compuesto (2-bromofenil) (3,4-dihidroisoquinolin-1-il) metanona (**45a**). Se obtuvo un sólido amorfo de color amarillo claro con un rendimiento del 15%, Pf: 98 – 100 °C. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.73 (d, $J=7.4$ Hz 1H, H8), 7.64 (dd, $J=1.7, 7.5$ Hz 1H, H6'), 7.58 (dd, $J=0.9, 7.8$ Hz 1H, H3'), 7.48 – 7.31 (m, 4H, H4', H5', H6, H7), 7.23 (d, $J=6.8$ Hz 1H, H5), 3.89 (t, $J=6, 9$ Hz 2H, H3), 2.80 (t, $J=6, 9$ Hz 2H, H4). RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 196.4 (C1a), 164.4 (C1), 140.2 (C1'), 137.8 (C4a), 133.1 (C3'), 132.5 (C7), 131.4 (C4'), 131.1 (C6'), 127.6 (C5), 127.5 (C5'), 127.3 (C8), 127.0 (C6) 126.3 (C8a), 120.7 (C2'), 48.3 (C3), 25.4 (C4). Masa calculada: 314.01805, para la fórmula $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{BrNO}$, masa exacta $[\text{M}+1]^+$ m/z: 314.01894 (anexos 50 y 51).

En el espectro de RMN ^1H , se observan señales aromáticas y en este caso, únicamente dos señales alifáticas que corresponden a H-3 y H-4. A campo más bajo observamos las señales aromáticas que corresponden a los anillos A y C.

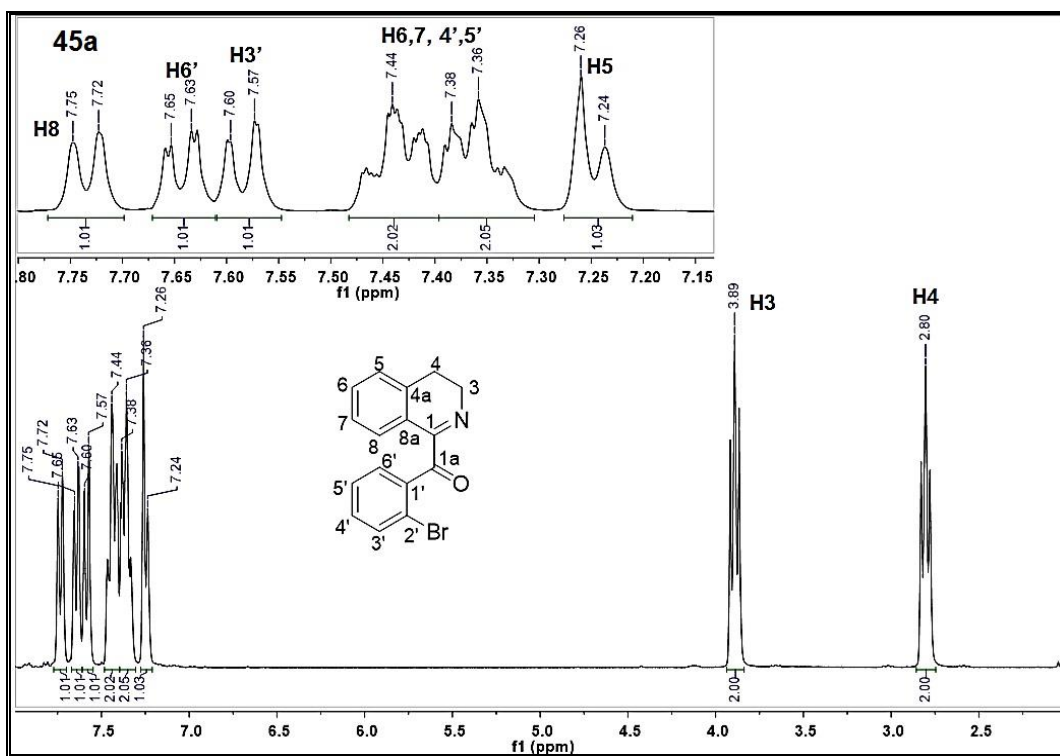


Figura 30. Espectro de RMN ^1H (300 MHz, en CDCl_3) del compuesto **45a**.

En el espectro de RMN ^{13}C se observan nuevamente dos señales alifáticas correspondientes a los metilenos de H-3 y H-4, esta asignación se corroboró con el espectro DEPT 135 (Figura 32). Además de lo anterior, en la sección de carbonos aromáticos y/o sp^2 se identifica una señal de C de imina, el cual corresponde al carbono del heterociclo que está unido al átomo de nitrógeno. Esta señal aparece casi constante en el resto de compuestos de esta serie (alrededor de 164 ppm) (Figura 31).

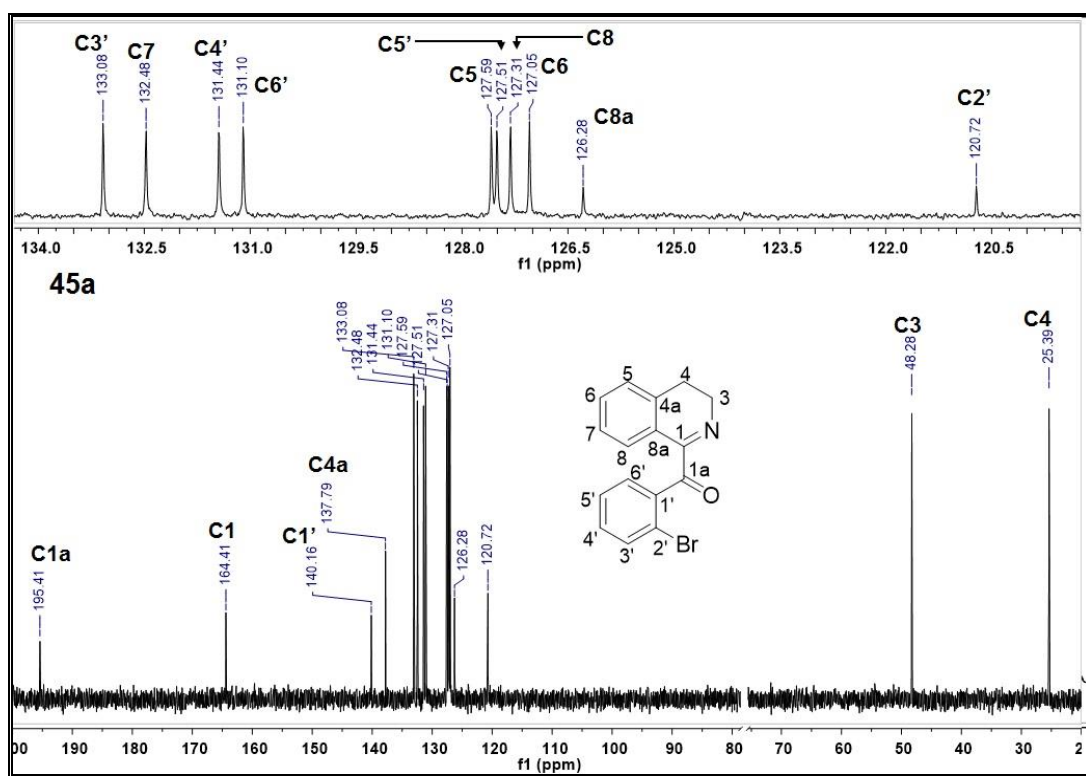


Figura 31. Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, en CDCl_3) del compuesto 45a.

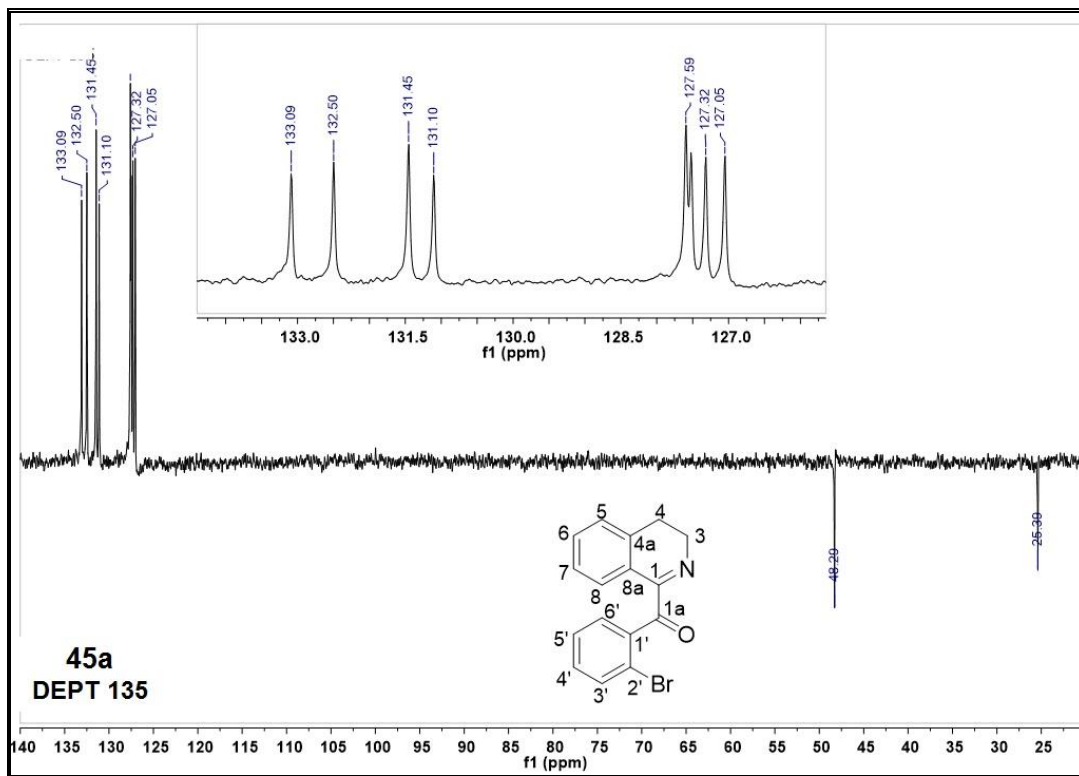


Figura 32. Espectro DEPT 135 del compuesto 45a.

En los espectros bi-dimensionales se observan señales de correlación entre protones a no mas de tres enlaces (para el espectro de COSY) así como señales de correlación de protones con sus respectivos carbonos (HSQC).

Con estos espectros se contribuyó a la asignación de cada átomo presente a la molécula de acuerdo a la señales observadas tomando en cuenta su ambiente químico y el desplazamiento químico que éstas mostraron (Figura 33 y 34).

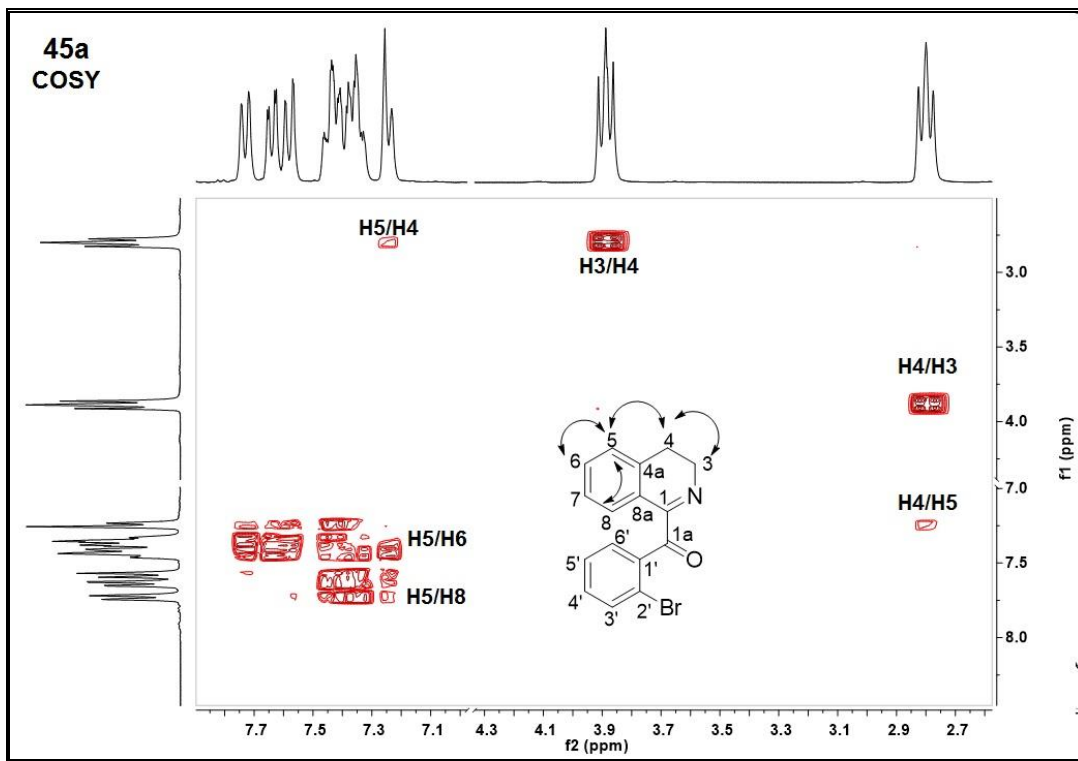


Figura 33. Espectro bi-dimensional COSY del compuesto **45a**.

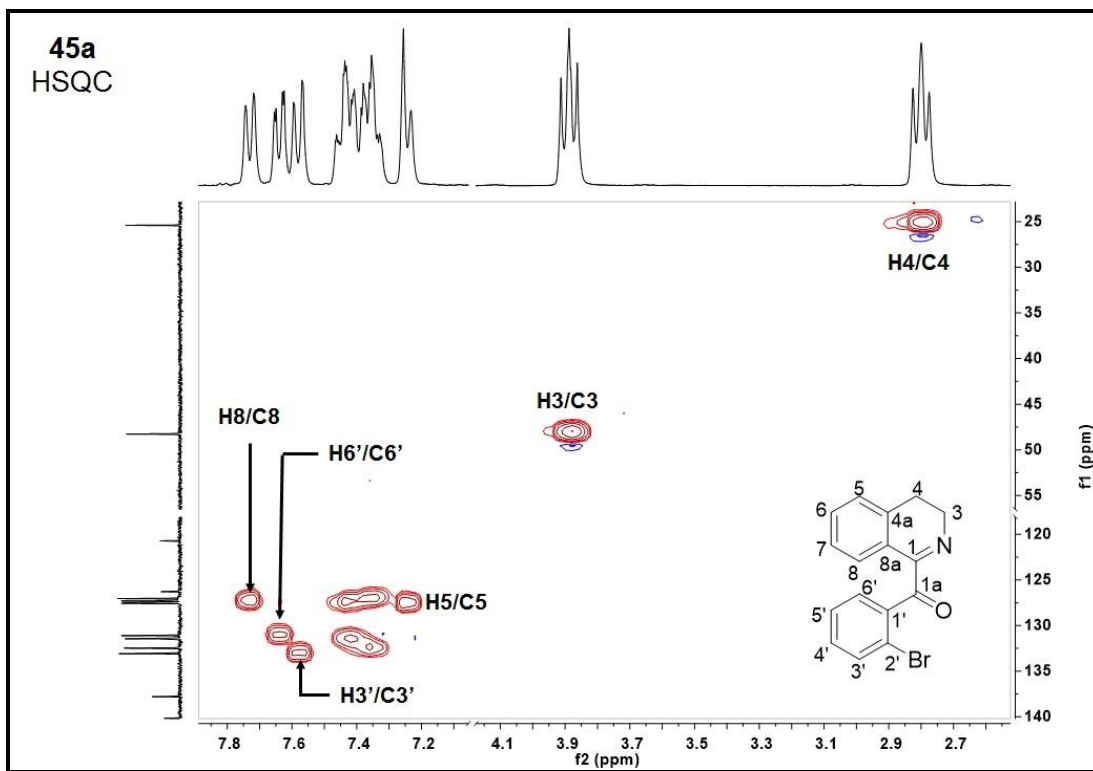


Figura 34. Espectro bi-dimensional HSQC del compuesto **45a**.

Finalmente, en el espectro HMBC se observan señales de correlación entre átomos de carbono con hidrógeno a 3 o 4 enlaces, con lo cual se corrobora la asignación de cada posición del compuesto **45a** (Figura 35).

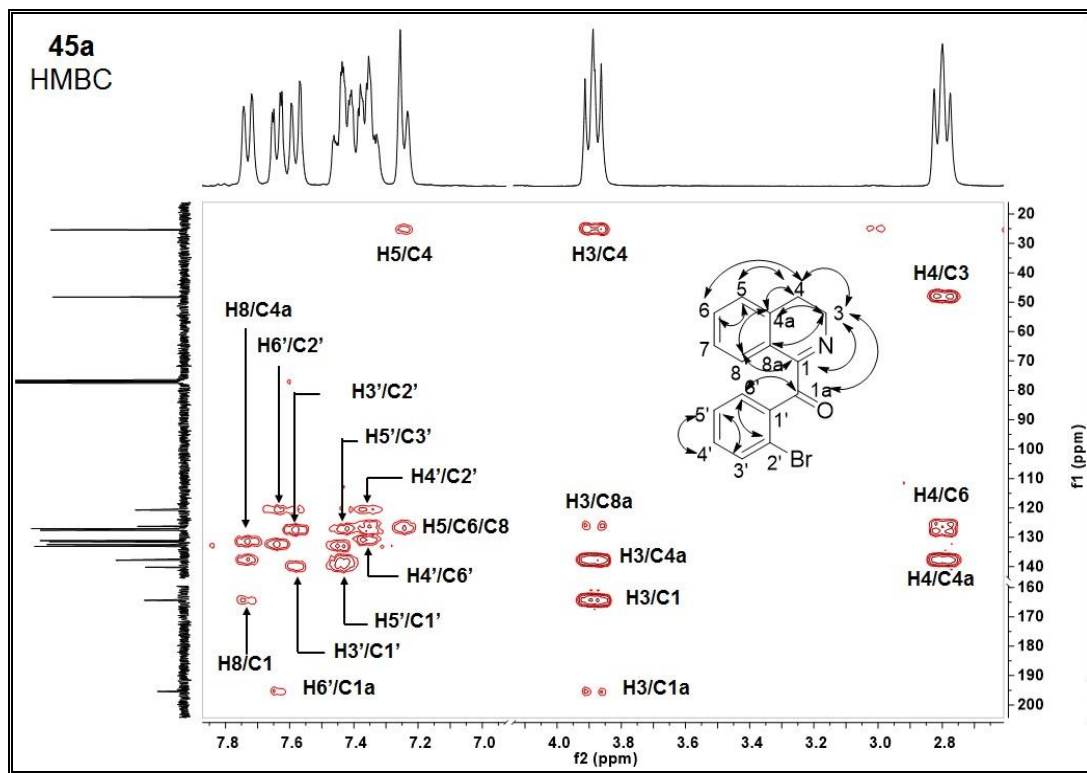


Figura 35. Espectro bi-dimensional HMBC del compuesto **45a**.

8.1.9. Compuesto (2-bromofenil) (7-cloro-3,4-dihidroisoquinolin-1-il)metanona (**45c**)

Se obtuvo un sólido amorfo de color blanco, con un rendimiento del 24%, Pf: 78-80. RMN ^1H (700 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.76 (d, $J = 7\text{Hz}$, 1H, H8), 7.63 (dd, $J = 6\text{Hz}$, 3Hz, 1H, H6'), 7.58 (dd, $J = 6\text{Hz}$, 3Hz, 1H, H6), 7.44 (dd, 6Hz, 3Hz, 1H, H5'), 7.40 (dt, 6Hz, 3Hz, 1H H4'), 7.36 (dd, $J = 6\text{Hz}$, 3Hz, 1H, H3'), 7.19 (d, 6Hz, 1H, H5), 3.88 (t, $J = 15\text{Hz}$, 9Hz, 2H, H3), 2.77 (t, $J = 15\text{Hz}$, 6Hz, 2H, H4). RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 194.9 (C1a), 163.2 (C1), 139.9 (C1'), 136.0 (C4a), 133.1 (C3'), 132.7 (C7), 132.6 (C6), 131.4 (C6'), 131.1 (C4'), 128.9 (C5), 127.6 (C5'), 127.3 (C8), 127.3

(C8a), 120.7 (C2'), 48.1 (C3), 24.8 (C4). Masa calculada 347.97908 para la fórmula molecular C₁₆H₁₁BrClNO, masa exacta [M+1]⁺ m/z: 347.98012 (anexos 52 – 57).

8.1.10. Compuesto (2-bromo-6-nitrofenil) (3,4-dihidroisoquinolin-1-il) metanona (**45d**).

Se obtuvo un sólido amorfo amarillo, con un rendimiento del 19%, Pf: 93-95 °C. RMN ¹H (300 MHz, , CDCl₃) δ (ppm) 7.74 (d, J= 6Hz, 1H, H8), 7.64 (dd, J= 6Hz, 3Hz, 1H, H4'), 7.58 (dd, J= 6Hz, 3Hz, 1H, H3'), 7.44 (m, 1H, H6), 7.41 (m, 1H, H5'), 7.36 (m, 1H, H7), 7.24 (s, 1H, H5), 3.98 (t, J= 15Hz, 2H, H3), 2.80 (t, J= 15 Hz, 2H, H4). RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 195.4 (C1a), 164.4 (C1), 147.2 (C6'), 140.1 (C1'), 137.8 (C4a), 133.0 (C7), 132.5 (C3'), 131.5 (C4'), 131.1 (C6), 127.6 (C5), 127.3 (C5'), 127.2 (C8a), 127.0 (C8), 120.7 (C2'), 48.2 (C3), 25.4 (C4). Masa calculada : 361.00108 para la fórmula molecular C₁₆H₁₂BrN₂O₃, masa exacta [M+1]⁺ m/z: 361.00076 (anexos 58 65).

8.1.11. Compuesto (2-bromo-6-nitrofenil) (7-cloro-3,4-dihidroisoquinolin-1-il)metanona (**45e**).

Se obtuvo un sólido amarillo oscuro, con un 7.6% de rendimiento. Pf: 69-71. RMN ¹H (700 MHz, , CDCl₃) δ (ppm): 7.77 (d, J= 7Hz, 1H, H8), 7.62 (td, J= 3Hz, 0.9Hz, 1H, H4'), 7.58 (d, J= 3Hz, 1H, H6), 7.45 (td, J= 2.7Hz, 0.6 Hz, 1H, H5'), 7.37 (td, J= 3Hz, 0.9Hz, 1H, H3'), 7.19 (d, J= 6Hz, 1H, H5), 3.89 (t, J= 14Hz, 2H, H3), 2.77 (t, J= 8Hz, 2H, H4). RMN ¹³C (175 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 194.9 (C1a) 163.2 (C1), 147.1 (C6'), 139.9 (C1'), 136.0 (C4a), 133.1 (C6), 132.7 (C7), 132.6 (C3'), 131.1 (C4'), 128.9 (C5), 127.5 (C5'), 127.4 (C8), 127.3 (C8a), 120.7 (C2'), 48.1 (C3), 24.8 (C4). Masa calculada: 394.96211, para la fórmula molecular C₁₆H₁₀BrClN₂O₃, masa exacta [M+1]⁺ m/z: 394.96304 (anexos 66 – 72).

Tabla 3. Datos de ^1H RMN (en CDCl_3) de los compuestos **45a** – **45e**

#	Compuesto			
	45a	45c	45d	45e
3	3.89 t ($J=6, 9$)	3.88 t ($J=9$)	3.89 t ($J=15$)	3.89 t ($J=14$)
4	2.80 t ($J=6, 9$)	2.77 t ($J=15, 6$)	2.80 t ($J=15$)	2.77 t ($J=8$)
4a	n/a	n/a	n/a	n/a
5	7.23 d ($J=6.8$)	7.19 d ($J=6$)	7.24 s	7.19 d ($J=6$)
6	7.35 m	7.58 dd ($J=6, 3$)	7.44 m	7.58 d ($J=3$)
7	7.36 m	n/a	7.36 m	n/a
8	7.73 d ($J=7.4$)	7.76 d ($J=7$)	7.74 d ($J=6$)	7.77 d ($J=7$)
3'	7.58 dd ($J=0.9, 7.8$)	7.36 dd ($J=6, 3$)	7.58 dd ($J=6, 3$)	7.37 td ($J=3, 0.9$)
4'	7.41 m	7.40 dt ($J=6, 3$)	7.64 dd ($J=6, 3$)	7.62 td ($J=3, 0.9$)
5'	7.43 m	7.44 dd ($J=6, 3$)	7.41 m	7.45 td ($J=2.7, 0.6$)
6'	7.64 dd ($J=1.7, 7.5$)	7.63 dd ($J=6, 3$)	-----	-----

Todos los experimentos fueron adquiridos en CDCl_3

Tabla 4. Datos de ^{13}C RMN (en CDCl_3) de los compuestos **45a** – **45e**.

#	Compuesto			
	45a	45c	45d	45e
1	164.4	163.2	164.4	163.2
1a	196.4	194.9	195.4	194.9
3	48.3	48.1	48.2	48.1
4	25.4	24.8	25.4	24.8
4a	137.8	136.0	137.8	136.0
5	127.6	128.9	127.6	128.9
6	127.0	132.6	131.1	133.1
7	132.5	132.7	133.0	132.7
8	127.3	127.3	127.0	127.4
8a	126.3	127.3	127.2	127.3
1'	140.2	139.9	140.1	139.9
2'	120.7	120.7	120.7	120.7
3'	133.1	133.1	132.5	132.6
4'	131.4	131.1	131.5	131.1
5'	127.5	127.6	127.3	127.5
6'	131.1	131.4	147.2	147.1

Todos los experimentos fueron adquiridos en CDCl_3

8.2. Evaluación de la actividad tipo antidepresiva

Los compuestos **44a**, **44b**, **44f** y **44g** y la BIQ **45a** se evaluaron para la actividad tipo antidepresiva que presentaron en la prueba de nado forzado según se muestran en las figuras 37 y 38, respectivamente. El tratamiento agudo con el compuesto **44a** indujo la disminución del tiempo de inmovilidad a la dosis de 20 y 40 mg/kg en comparación con el grupo control ($H= 18.88$, $fd= 4$, $p\leq 0.001$), sin afectar el comportamiento de exploración de los ratones (anexo 73).

Por otro lado, la acetamida **44b** indujo una disminución del tiempo de inmovilidad ($H= 26.34$, $fd= 4$, $p\leq 0.0001$), desde la dosis de 5 mg/kg y alcanzando su máxima respuesta a la dosis de 10 mg/kg, mientras que a dosis más elevadas no fue efectiva la disminución del tiempo de inmovilidad. Además, **44b** alteró la actividad ambulatoria de los ratones, produciendo una reducción significativa en ambas dosis, por lo cual, la reducción del tiempo de inmovilidad producida por **44b** no puede ser considerada como un efecto tipo antidepresivo (anexo 73).

La disminución significativa del tiempo de inmovilidad de la acetamida **44f** ($H= 19.55$, $fd= 4$, $p\leq 0.0001$) comenzó a la dosis de 5 mg/kg y alcanzó su efecto máximo a los 20 mg/kg. Sin embargo, a la dosis de 40 mg/kg demostró pérdida de la actividad. Esta disminución no fue asociada con cambios en ninguna cuenta del número de cruces en la prueba de campo abierto, y aunque no demuestra comportamiento dosis-dependiente, la reducción del tiempo de inmovilidad producido por **44f** es resultado de un efecto tipo antidepresivo.

La acetamida **44g**, indujo reducción del comportamiento de inmovilidad, el cual fue de tipo dosis-dependiente ($H= 21.56$ $fd= 4$, $p\leq 0.0001$) en comparación con el grupo tratado con el vehículo, su efecto máximo se alcanzó a los 40 mg/kg. Sin embargo, **44g**, de manera semejante a **44f**, disminuyó de manera significativa el número de cuentas desde 10 mg/kg, así como, el número de cruces en la prueba de campo abierto que también disminuyó desde 20 mg/kg, en la prueba de campo abierto en

comparación con el grupo control ($H= 5$, $fd= 4$, $p\leq 0.0001$). Por lo tanto, esta reducción del tiempo de inmovilidad afecta de manera significativa la actividad ambulatoria de los ratones. Por lo que **44g**, no puede ser considerado como un agente con un efecto tipo antidepresivo específico.

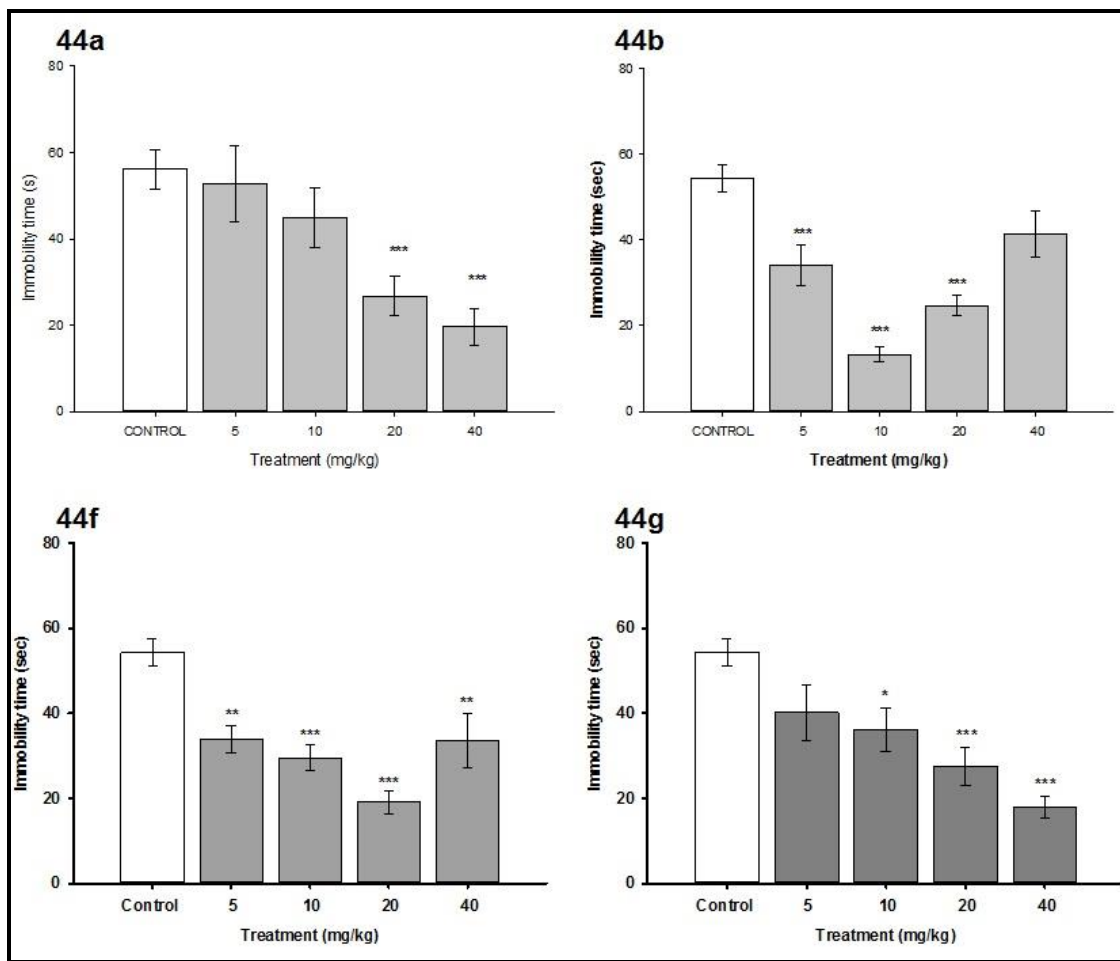


Figura 36. Efecto tipo antidepresivo de administración aguda de las acetamidas **44a**, **44b**, **44f**, **44g**, en FST.

Por otro lado, la BIQ **45a** demostró un marcado efecto tipo antidepresivo dosis dependiente desde los 5 mg/kg hasta 40 mg/kg en comparación con el grupo control ($H= 25.609$, $fd= 4$, $p\leq 0.0001$). Además de no afectar la actividad ambulatoria de los ratones.

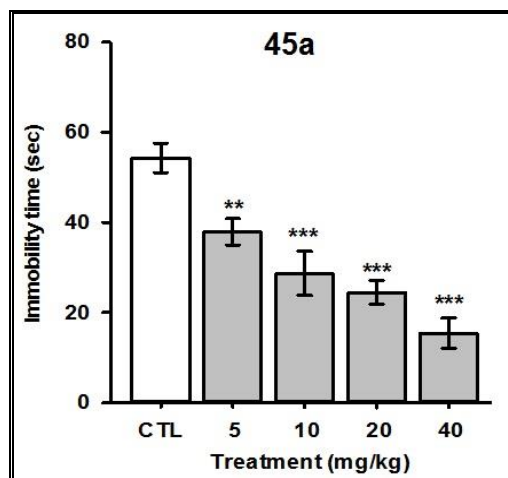


Figura 37. Efecto tipo antidepresivo de la administración aguda del compuesto **45a**, en FST.

El efecto tipo antidepresivo de los compuestos experimentales fue comparado con aquellos fármacos de uso clínico que también lo producen (Figura 38). Por lo que, como era de esperarse IMI y CLI produjeron una disminución significativa del tiempo de inmovilidad a 25 mg/kg y 50 mg/kg en comparación con el grupo tratado con solución salina ($H= 30.22$, $fd= 3$, $p\leq 0.001$ y $H=33.8$ $fd= 3$, $p\leq 0.001$, respectivamente), mientras que DIM disminuyó de manera significativa el comportamiento de inmovilidad desde la dosis de 6.25 mg/kg a 25 mg/kg ($H= 29.680$, $fd= 3$, $p\leq 0.001$). Estos fármacos no modificaron la actividad ambulatoria de los ratones (anexo 73).

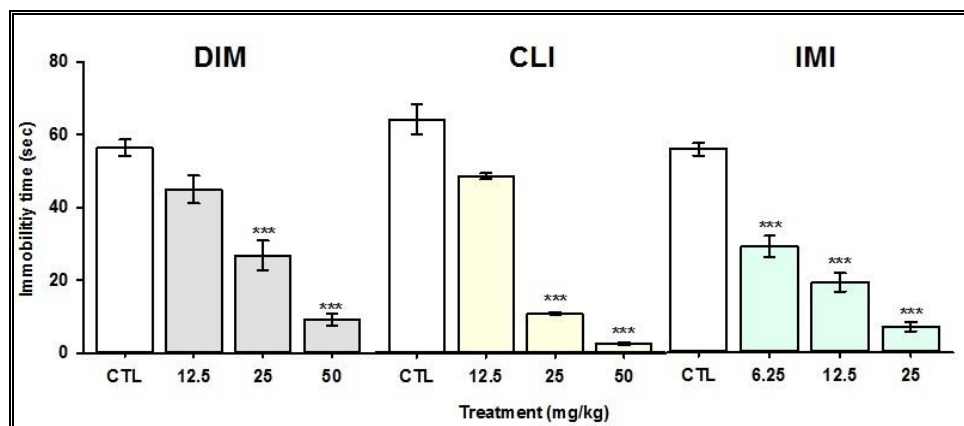


Figura 38. Efecto tipo antidepresivo de la administración aguda de fármacos de referencia, en FST. **DIM**, desipramina; **CLI**, clomipramina; **IMI**, imipramina

Debido a que el derivado BIQ mostró un mejor perfil de actividad tipo antidepresiva, se procedió a realizar ensayos para elucidar un posible mecanismo de acción. Cuando se comparó el efecto tipo antidepresivo de **45a** con RESI y con PCPA se vio abatida su actividad tipo antidepresiva (Figura 39).

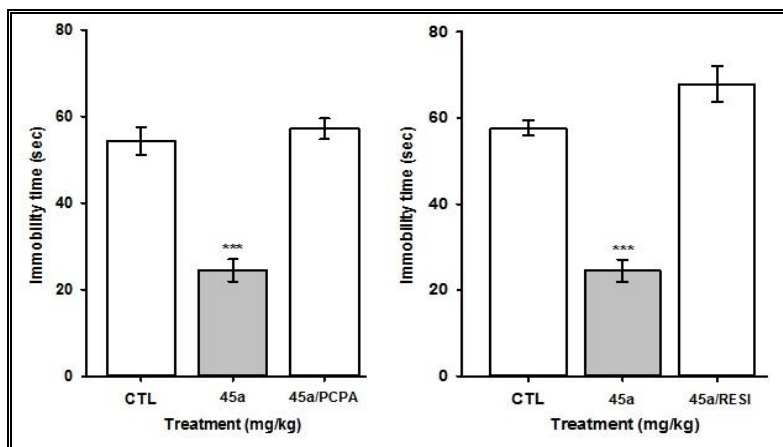


Figura 39. Efecto de la co-administración de 45a con pCPA o reserpina (RESI) en FST.

Sin embargo, la co-administración de **45a** con sulpirida, un antagonista de receptores DA-D₂; y con SCH23390, un antagonista de DA-D₁, anularon su actividad tipo antidepresiva (figura 40). Además, la actividad tipo antidepresiva de **45a** también se bloqueó por la co-administración con haloperidol, un antagonista no selectivo de receptores D₂ (Figura 41).

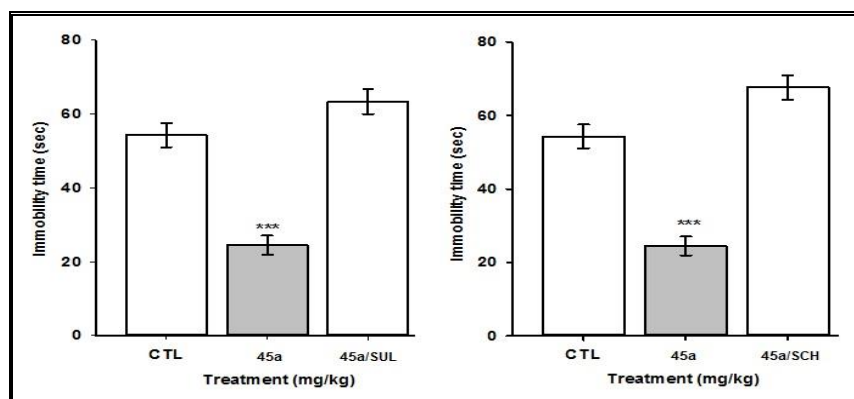


Figura 40. Efecto de la co-administración de 45a con sulpirida y SCH23390 en FST.

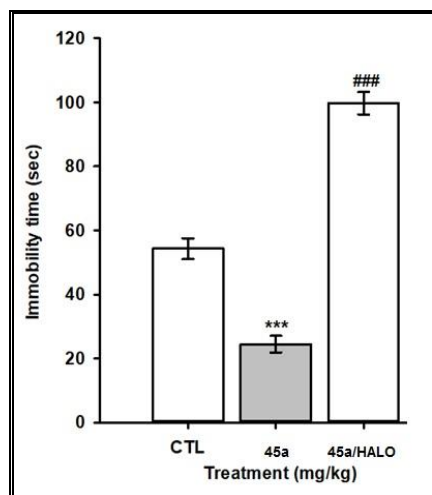


Figura 41. Efecto de la co-administración de **45a** con haloperidol en FST.

Por otro lado, las enzimas MAO-A y MAO-B (Tabla 6), mostraron actividad en el catabolismo oxidativo de importantes neurotransmisores de aminas incluyendo 5-HT, DA y epinefrina (EP) (Edmonson, et al, 2009). Nuestros resultados mostraron que **45a** inhibir la actividad de MAO-A; sin embargo, fue inactiva frente a MAO-B.

Tabla 6. Efecto de **45a**, clorgilina y deprenyl sobre la actividad mitocondrial de la MAO-A y MAO-B en preparados murinos.

Substrato	Inhibidor	MAO-A (iu/mg-proteína)	MAO-B (iu/mg-proteína)
5HT (4nm)	-----	55.39 ± 10.69	-----
5HT (4nm)	45a	26.1 ± 9.32 ***	-----
5HT (4nm)	Clorgilina	25.87 ± 6.31 ***	-----
β-pea	-----	-----	67.36 ± 6.75
β-pea	45a	-----	56.92 ± 14.96
β-pea	Deprenyl	-----	24.79 ± 6.20 ***

Resultados representaron la media ± sem de tres experimentos, *** p<0.0001 comparados con gpo. control

8.3 Docking

Los resultados del análisis de docking mostraron dos conformaciones de enlace, entre el sitio de unión con el receptor dopaminérgico humano D₃. Sin embargo, entre ellas mostraron diferente afinidad. Le energía de enlace teórica y los valores de *Kd* del conformero con mayor afinidad de ambos conformero se muestran en la tabla 7.

Tabla 7. Energía de enlace teórico y valores de *Kd* del compuesto **45a** sobre el receptor dopaminérgico humano D₃.

Molécula	Energía de enlace (kcal/mol)		Kd (mm)	
	Conf. 1	Conf. 2	Conf. 1	Conf. 2
Eticloprida	-7.73	-----	2.15	-----
45a	-9	-8.2	0.254	0..972

Se puede observar que **45a** posee una alta afinidad, el valor de *Kd* determinado fue 10 veces más bajo que el valor de *Kd* determinado para el agonista de este receptor, eticloprida (Figura 42).

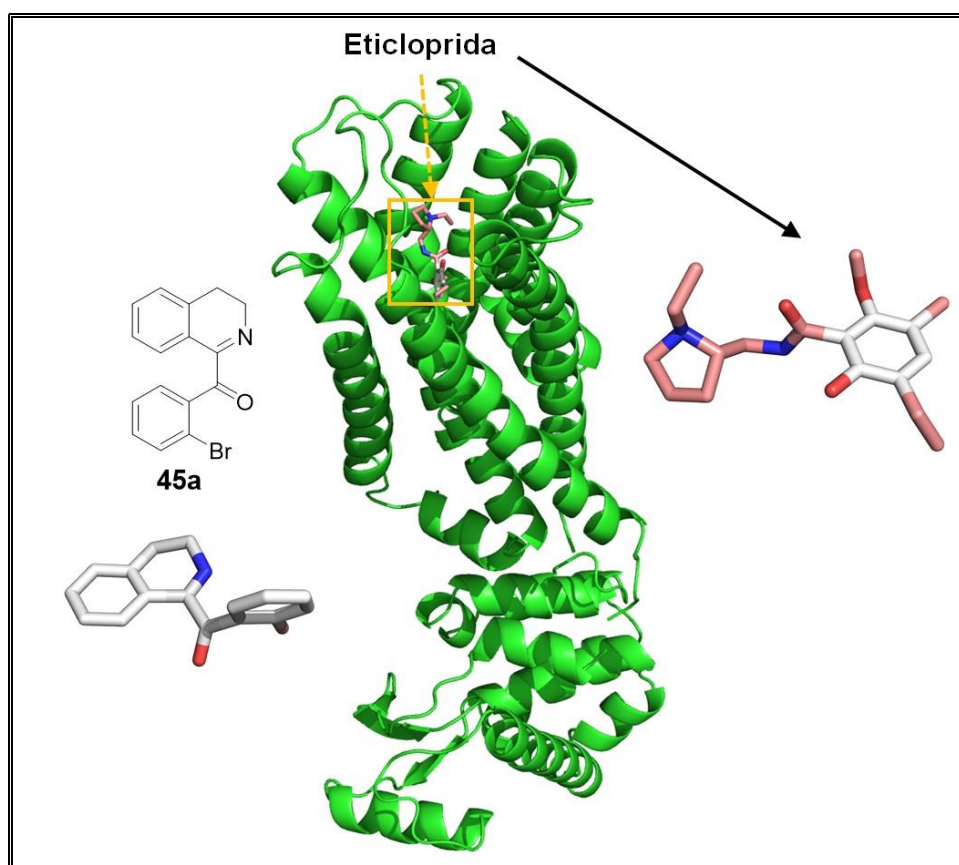


Figura 42. Estructura del Receptor Dopaminérgico Humano D₃ en complejo con Eticloprida (PDB: 3PBL) y la conformación del compuesto **45a** obtenida mediante el análisis de "Docking".

A pesar de la baja afinidad, la segunda conformación es la que más se aprecia la unión de la eticloprida en el cristal, lo que sugiere que esta puede ser la conformación que interactúa con el receptor (Figura 43). Estos resultados refuerzan la propuesta de interacción de esta molécula con los receptores de DA.

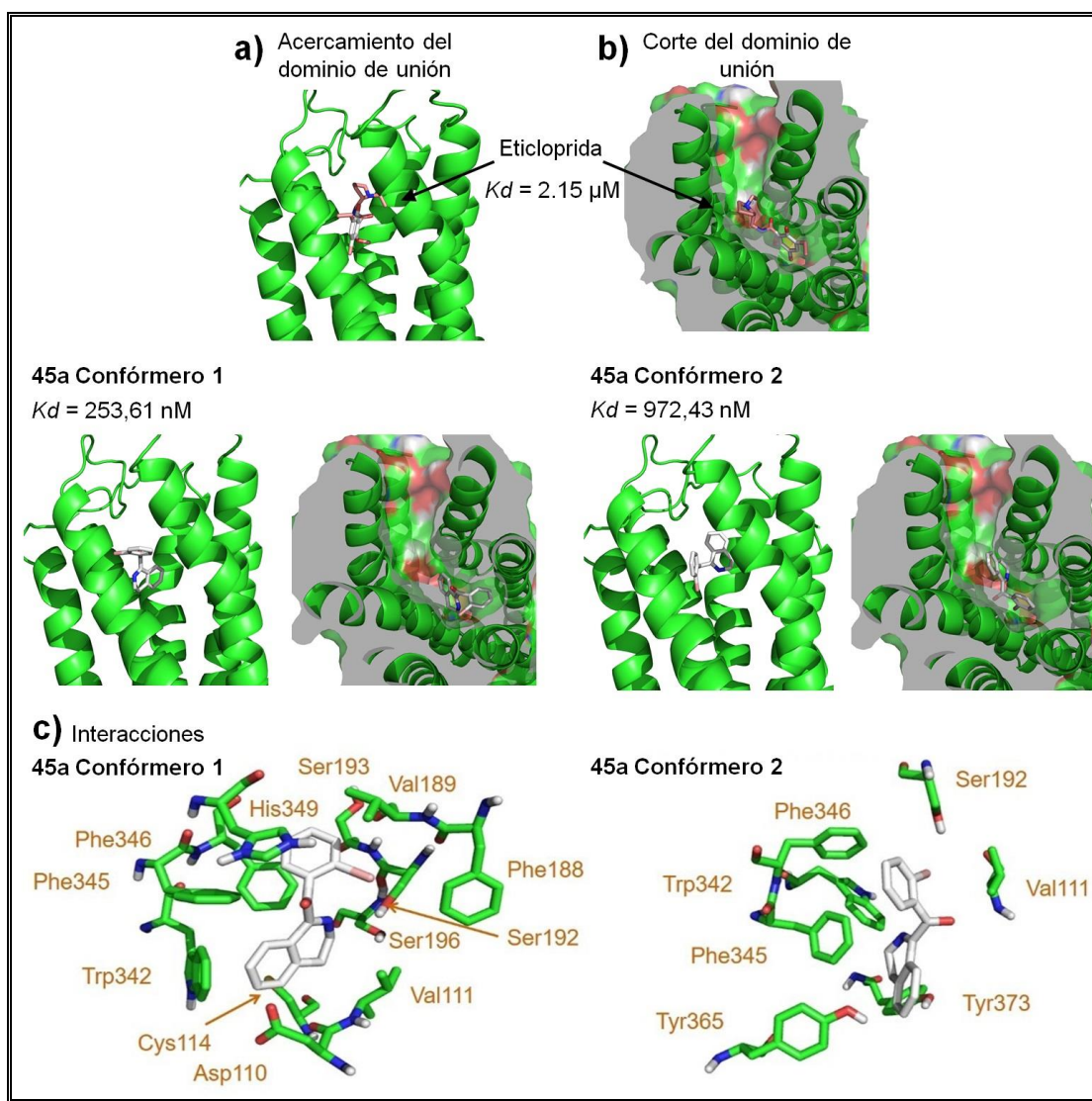


Figura 43. Unión de ligandos en el receptor dopaminérgico humano D3. a) Son acercamientos del enlazamiento con el dominio del receptor dopaminérgico humano D3 (mostrado como Carbono), con los respectivos ligandos en sus dos conformaciones. b) Corte del dominio de unión del receptor D3 (mostrado como superficie) con sus respectivos ligandos y conformaciones en el sitio de unión. c) Interacciones de ambos conformeros de **45a** con los aminoácidos en el sitio de unión del receptor D3. El compuesto **45a** coloreado y los aminoácidos cercanos a 4Å (coloreados en verde) se muestran con flechas.

9. DISCUSIÓN

De acuerdo a los datos espectroscópicos del compuesto **44a**, coinciden con lo reportado previamente (Lafrance *et al.*, 2007). Es por eso que **44a** se tomó como punto de comparación y referencia para analizar los demás compuestos de esta serie (**44b – 44g**). Se identificaron señales constantes en los espectros de RMN de los compuestos de esta serie. Las señales de los protones y carbonos correspondientes a las posiciones 1a y 1b, el CH₂ aislado, así como del protón H-3' y la señal de los carbonos carbonílicos.

Por otro lado, también se identificaron diferencias en los compuestos (**44b, 44c, 44e, 44f y 44g**) con sustitución en posición 4 (*para-* respecto a la cadena etilamino), cuya característica es un sistema de señales para protones aromáticos AA'BB'. En el caso del compuesto **44g**, éste presenta un segundo sistema AA'BB' debido a la sustitución de su segundo anillo aromático.

Los compuestos con grupo NO₂ (**44d y 44e**) en la posición 6, cuya sustitución estructural se corroboró con la pequeña señal en 150 ppm del espectro de RMN ¹³C. Además, en la espectrometría de masas, se observan dos picos que corresponden al [M+1] otro a la pérdida del NO₂ (anexos 23 y 31).

Debido al nulo rendimiento en la síntesis de los compuestos **45c, 45d y 45e** con la metodología de Movassaghi (2008), se utilizaron otras condiciones para lograr su obtención. La serie de los derivados BIQ (**45a – 45e**), se corrobora el cierre del anillo debido a que en la espectroscopia de RMN desaparece el sistema de señales AA'BB'. En los espectros de RMN ¹³C, todos los compuestos presentan señal de carbono carbonílico C-1a alrededor de 195 ppm. Esto se confirma que el producto de la reacción Bischler-Napieralski sufrió una oxidación bencílica, tal como ocurre en compuestos similares reportados por Al-Hiari y colaboradores en 2009.

Es bien conocido que la administración de fármacos antidepresivos en modelo murino disminuye el tiempo de inmovilidad en FST, ya que éste ha sido propuesto como una conducta representativa de depresión en animales (Porsolt, *et al*, 1978; Estrada-Reyes *et al*, 2018). Nuestros resultados mostraron que todos los

compuestos evaluados poseen un efecto tipo antidepresivo en FST. Sin embargo, no todos los compuestos presentaron el efecto esperado en la prueba de campo abierto para ser considerado como agente antidepresivo. El compuesto **44a** demostró un comportamiento dosis-respuesta en FST, similar al compuesto **44g**. Desafortunadamente, éste último afectaba las habilidades motoras de los ratones evaluado en la prueba de campo abierto, asociándolo con un posible efecto neurotóxico. Por otro lado, la actividad tipo antidepresiva de **44b** y **44f** no demostraron un comportamiento dosis-respuesta a pesar de no afectar las capacidades motoras en la prueba de campo abierto. Este hallazgo los descarta como agentes antidepresivos debido a que el tiempo de inmovilidad no disminuye conforme se aumenta la dosis, como se muestra en la figura 37, lo que se traduce en una estrecha ventana terapéutica de este compuesto.

Por otro lado, el derivado BIQ **45a** mostró un mejor efecto tipo antidepresivo que las acetamidas. Incluso a la dosis mas baja sin afectar la habilidad motriz en campo abierto sugiriendo su propiedad teraéutica no asociada al efecto adverso de sedación (Figura 38).

Exsiten muchas BIQ que poseen actividad sobre el SNC. Esto se ha determinado mediante experimentos para determinar la afinidad de enlace sobre diversos sistemas de neurotransmisores, principalmente monoaminérgicos (Kawai *et al.*, 2000; Cabedo *et al.*, 2009).

Para elucidar el posible mecanismo de acción responsable del efecto tipo antidepresivo del compuesto **45a**, se comparó el efecto de éste en la prueba de FST al ser co-administrado con compuestos de conocido mecanismo de acción. Esto sirvió para determinar si **45a** participa o en los sistemas de neurotransmisores involucrados. Los resultados muestran que los efectos de anti-inmovilidad de **45a** fueron revertidos por el pre-tratamiento con reserpina. Se sabe que la RESI interfiere en las vesículas de neuronas pre-sinápticas que almacenan neurotransmisores monoaminérgicos (5-HT, DA, NA, entre otros) (Yaffe *et al.*, 2018). Esto ocasiona una disminución de las reservas de aminas biogenicas,

reduciendo su disponibilidad. Nuestros resultados sugieren que **45a** sobre estos sistemas monoaminérgicos.

Cuando **45a** se evaluó en combinación con PCPA, un inhibidor de la enzima triptófano hidroxilasa y por consiguiente, inhibidor de la síntesis de 5-HT (Dringenber *et al.*, 1995). El efecto tipo antidepressivo de **45a** fue inhibido (Figura 39), en otras palabras el tiempo de inmovilidad disminuyó notablemente en este ensayo. Estos resultados indican que **45a** también la capacidad de actuar sobre el sistema serotoninérgico a las dosis administradas.

Por otro lado, se sabe que a etiología de la depresión no solo se limita a la participación de los sistemas serotoninérgicos y noradrenérgicos (Dailly *et al* 2014). Diversos estudios sugieren que la desregulación de las vías dopaminérgicas centrales puede ser una parte crítica de las bases neurobiológicas de la depresión (Dunlop y Nemeroff, 2007; Asencio *et al*, 2005). Este sistema se compone de receptores con 5 diferentes formas, clasificándose en dos familias D₁ (receptores D₁ y D₅) y D₂ (receptores D₂, D₃ y D₄) (Joyce y Millan, 2007). El compuesto SCH23390 (una halobenzasepina), actúa como antagonista selectivo de receptores D₁, los cuales son un sitio crítico donde la DA actúa para modificar el comportamiento relacionado con la depresión (Bourne 2001). Es por ello que se evaluó y comparó el efecto de **45a** en ratones pre-tratados con SCH23390. El hecho de que el tiempo de inmovilidad producido por **45a** en FST se vió disminuido considerablemente, sugiere que el mecanismo por el cual ejerce su efecto tipo antidepressivo es mediante la participación de los receptores D₁.

Debido a que el sistema dopaminérgico y sus receptores están ampliamente distribuidos, se han relacionado de manera directa o indirecta con trastornos severos del SNC como la depresión (Bahena *et al*, 2000). Es por esto que se evaluaron diversos compuestos (como SCH23390) que se conoce su farmacología para ayudarnos a elucidar el mecanismo de acción del compuesto mas bioactivo 45a. Sulpirida es un compuesto que posee afinidad a receptores dopaminérgicos post-sinápticos D₂ y D₃ (Stahl, 2013).

Por otro lado el haloperidol es un fármaco comúnmente utilizado como antipsicótico que actúa mediante el efecto antagonista de los receptores dopaminérgicos del tipo D₂ (Tyler et al, 2017).

El resultado observado tras la evaluación de **45a** en FST, el efecto tipo antidepresivo fue revertido en ambos casos (con sulpirida y haloperidol). Esto nos indica que el efecto tipo antidepresivo producido por el compuesto **45a** se debe a la afinidad sobre receptores dopaminérgicos D₂ y D₃, lo que sugiere que nuestro compuesto posee una afinidad no específica frente a los receptores del sistema de DA.

De los diversos subtipos de receptores dopaminérgicos, el subtipo D₃ es uno de los receptores que tiene un papel importante en funciones cognitivas y emocionales, además de estar relacionado con los trastornos de tipo emocional, esquizofrenia, enfermedad de Parkinson, entre otros. También se ha reportado que el receptor D₃ está localizado en regiones del SNC que se relacionan con la etiología de la depresión. (Joyce y Millan, 2007). Tomando en cuenta la importancia del receptor D₃ y su participación en trastornos como la depresión, nos dio la pauta para realizar el análisis de “dockin”. Estos resultados nos muestran y sugieren que la posible actividad tipo antidepresiva del compuesto **45a**, se deba al hecho de que este compuesto puede adoptar dos conformaciones. Una de ellas (conformación 2) con una mejor interacción con el receptor, mientras que la otra con mayor afinidad teórica de enlace. El porque se da esta diferencia marcada entre ambas conformaciones, son objeto de estudios teóricos posteriores.

De la amplia variedad de derivados de BIQ estudiadas bajo el enfoque de actividad en el SNC, un gran porcentaje ha demostrado tener afinidad por receptores del sistema dopaminérgico mediante experimentos *in vitro* (Cabedo et al, 2009; Pesarico et al, 2014). En menor proporción, pero no menos importantes, derivados de BIQ como la papaverina y *N*-norreticulina que presentaron actividad inespecífica sobre receptores de 5-HT pero también sobre otros receptores de sistemas DA y NA, en estudios *in vitro* (Mogilnicka et al, 1977; Catret et al, 1998). Con lo anterior comprendemos que nuestro compuesto BIQ **45a** presintió actividad tipo antidepresiva en la prueba de FST. De acuerdo a los experimentos enfocados en estudiar su

posible mecanismo de acción. demostró tener actividad sobre el sistema serotoninérgico y sobre el sistema de receptores dopaminérgicos.

Ha sido reportado que numerosos compuestos de tipo BIQ que poseen actividad al nivel del SNC poseen sustituyentes oxigenados en el esqueleto de la BIQ. También, poseen un centro estereogénico en el C-1 y un cabrono saturado en la posición (C-1a) (Berenguer et al, 2009; Cabedo et al, 2001; Cabedo et al, 2009). Sin embargo, nuestros compuestos evaluados no comparten estas características estructurales con los reportados. Por lo tanto, se sugiere que la presencia del átomo de bromo en **45a** es importante para la actividad en el SNC.

De acuerdo con los resultados obtenidos de los experimentos *ex vivo* al medir la actividad de **45a** en preparaciones mitocondriales de cerebro de ratón, sugiere que el mecanismo de acción de **45a** podría estar relacionado con el incremento de la actividad monoaminérgica mediante la inhibición de la enzima MAO-A. La MAO preferentemente degrada bencilamina y fetenilamina y se enfoca hacia un amplio conjunto de sustratos primarios de MAO en el cerebro, incluyendo EP, NA, DA, 5-HT y b-fenetilamina (PEA). Debido a que la MAO se encarga del metabolismo de diversos neurotransmisores lo cuales están asociados con varias enfermedades, incluyendo desórdenes de humor, depresión y ansiedad, esquizofrenia, enfermedades neurodegenerativas entre otras, por lo que colocan a esta enzima como blanco terapéutico (Cai et al, 2014; Edmonson, et al; 2009). Cabe señalar que **45a** no inhibe la actividad de MAO-B, sin embargo este punto se abordará en estudios posteriores (Tabla 6).

Por otro lado, también se ha reportado que algunos derivados de isoquinolinas y de BIQ con sustituyentes halógenados como F o Cl han mostrado actividad no solo en sistemas de receptores de monoaminas, sino también en receptores cannabinoides (Reux, et al 2009). Esto sugiere que son de importancia la presencia de los halógenos en la estructura de la BIQ para conferir la actividad biológica en el SNC.

10. CONCLUSIONES

Se lograron sintetizar una serie de nuevas acetamidas **44a – 44g** y una serie de BIQ (**45a – 45e**) obtenidas mediante condiciones de reacción Bsichler-Napieralski. El rendimiento de los compuestos bioactivos se ven directamente influenciados por la presencia o ausencia de sustituyentes en la posición 4 del anillo aromático de la porción de fenetilamina, y no tanto por las condiciones de reacción utilizadas. De los compuestos sintetizados, 10 son reportados por primera vez. Cabe resaltar que todas las BIQ obtenidas, poseen la posición C-1a funcionalizada por un sustituyente oxigenado.

La existencia de una gama de BIQ halogenadas que han sido reportadas con propiedades sobre el SNC, permitió decidir la síntesis de diversos derivados de este tipo y evaluar su potencial actividad tipo antidepresiva en modelos murinos.

Cuatro acetamidas y una BIQ fueron evaluadas en FST. Pero solo los compuestos **44a** y **44f** presentaron el mejor efecto tipo antidepresivo sin alterar la capacidad motora de los animales. Este comportamiento se mantuvo en la BIQ **45a**. Los experimentos con los antagonistas mostraron que, que la actividad de **45a** involucra la participación de receptores D₁, D₂ y D₃ dopaminérgicos.

Los estudios de “docking” reforzaron la posible interacción de **45a** con el receptor dopaminérgico D₃ humano y la BIQ evaluada. Por lo anterior **45a** puede ser sugerido como candidato con potencial actividad antidepresiva para el origen de nuevos fármacos.

11. REFERENCIAS

Al-ghazzawi, A. (2019). *BMC Chem.* 13 (13): 1.

Al-Hiari, Y.M., Sweileh, B.A., Shakya, A.K., Sheikha, G.A., Almuhtaseb, S.I. (2009). *Jordan J. Pharmaceutic. Sci.* 2(1): 1.

Alcántara, A., González, A. (2020) *Rev. Soc. Esp. Dolor.* 26(2): 1.

Alia-Klein. K. (2008) *J. Neurosci.* 28 (19): 5099.

Anderson, I.M., Nutt, D.J., Deakin, J.F. (2000). *J. Psychopharmacol.*14: 3.

Ankiewicz-Michaluk, L., Wasik, A., Mozdzen, E., Romanska, I., Michaluk, J. (2014). *Neurotox. Res.* 26: 85.

Asencio, M., Hurtádo-Guzmán, C., López, J.J., Cassels, B.K., Protais, P. and Chagraoui, A. *Bioorg. Med. Chem.* 2005, 13, 3699

Bahena-Trujillo, R., Flores, G., Arías-Montaño, J.A. (2000). *Rev. Biomed.* 11: 39.

Berenguer, I., El Aouad, N., Andujar, S., Romero, V., Svire, F., Freret, T., Bermejo, A., Dolores Ivorra, M., Enriz, R.D., Boulouard, M., Cabedo, N., Cortes, D. (2009). *Bioorg. Med. Chem.* 17: 4968.

Belzung, C., Griebel, G. (2001). *Behav. Brain Res.* 125: 141.

Blier, P. (2003). *Eur. Neuropsychopharmacol.* 13: 57-66.

Boruah, M., Konwar, D. (2002). *J. Org. Chem.* 67: 7138.

Bourne, J.A. (2001). *Cns Drug Rev.* 7 (4): 39.

Brossi, A., Rice, K., Mak, C. and Reden, J. *J. Med. Chem.* 1980, 23, 648-652.

Bymaster, F.P., Dreshfield-Ahman, L., Threlkeld, P.G., Shaw, J., Thompson, L., Nelson, D. (2001) *Neuropsychopharma.* 25 (6): 871.

Cabedo, N., Andreu, I., Ramírez de Arellano, MC., Chagraoui, A., Serrano, A., Bermejo, A.I., Protais, P., Cortes, D. (2001). *J. Med. Chem.* 44: 1749

Cabedo, N., Berenguer, I., Figadere, B., Cortes, D. (2009). *Curr. Med. Chem.* 16: 2441.

Cai, Z. (2014). *Mol.Med. Rep.* 9 (5): 1533.

Cassani J., Escalona-Araujo A., Martínez-Vázquez M., Manjarrez N., Moreno J. and Estrada-Reyes R. *Molecules.* 2013, 18, 7584-7599

Cassani J., Ferreyra-Cruz O., Dorantes-Barrón A.M., Viguera Villaseñor R.M., Arrieta-Baez D. and Estrada-Reyes R. *J. Ethnopharmacology.* 2015, 171, 295-306.

Castagné V., Moser P., and Porsolt R. *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience.* Chapter 6. 2nd edition Frontiers in Neuroscience Editor: Jerry J Buccafusco. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2009. ISBN-13: 978-1-4200-5234-3

Catret, M., Ivorra, M.D., O'Con, M.P., Anselmi, E. (1998). *J. Pharm. Pharmacol.* 50: 317.

Chittaranjan, A., Surya S., Kumar, B., Koregala, S. (2010). *J. Clin. Psychiatry.* 71 (12): 1565.

Coryell, (2020). Depresión, recuperado de: <https://www.msdmanuals.com/es-mx/hogar/trastornos-de-la-salud-mental/>.

Dailly, E., Chenu, F., Renard, C.E., Bourin, M. (2004). *Fundam. Clin. Pharmacol.* 18: 601.

David, D.J., Gourion, D. (2016). *Encephale.* 42(6): 553.

DBSA, Estadística de depresión. (2020) Recuperado de: <https://www.dbsalliance.org/education/depression/statistics/>

Del Casale, A., Sorice, S., Padovano, A., Simmaco, M., Ferracuti, S., Lamis, D.A., Rapinesi, C., Sani, G., Girardi, P., Kotzalidis, G.D., Pompili, M. (2019). *Curr Neuropsychopharmacol.* 17(8): 710.

Dringenber, H.C., Hargreaves, E.L., Baker, G.B., Cooley, R.K., Vanderwolf, C.H. (1995). *Behav. Brain Res.* 68 (2): 229.

Duarte, P., Cuadrado, A., León, R. (2020). *Handbook of Exp. Pharmacol.* 264: 229.

Dunlop, B.W., Nemeroff, C.B. (2007). *Arch. Gen. Psychiatry.* 64: 327.

Edmonson, D.E., Binda, C., Wang, J., Upadhyay, A.K., Mattevi, A. (2009). *Biochemistry.* 48 (20): 4220

Edmondson, D.E., Binda, C. (2018). *Subcell. Biochem.* 87: 117-139.

Estrada-Reyes, R., Valdés-Tovar, M., Arrieta-Baez, D., Dorantes-Barrón, A.M., Quero-Chávez, D., Soís-Chagoyán, H., Argueta, J., Dubocovich, M., Benítez-King, G. (2018). *Int. J. Mol. Sci.* 19: 2278.

Finberg, J.P., Gillman, K. (2011) *Int. Rev. Neurobiol* 100: 169.

Finberg, J.P., Rabey, J.M. (2016). *Front. Pharmacol.* 7: 340

Finnerup, N.B., Attal, N., Haroutounian, S., McNicol, E., Baron, R., Dworkin, R.H. (2015) *Lancet Neurol.* 14 (2): 162.

Gillman, P.K. (2007). *Br. J. Pharmacol.* 151 (6): 737.

Hagel, J.M., Facchini, P.J., (2013). *Plant Cell Physiol.*54: 647.

Hagel, J.M., Morris, J.S., Lee, E.J., Desgagné-Penix, I., Bross, C., Chang, L., Chen, X., Farrow, S.C., Zhang, Y., Soh, J., Sensen, C.W., Facchini., P. (2015). *BMC Plant Biology.*

Heravi, M.M., Khaghaninejad, S., Nazari, N. BischlerNapieralski Reaction in Synthesis of Isoquinolines (2014). In: *Advances in Heterocyclic Chemistry.* Katritzky, A. Elsevier. San Diego USA. 113: 183.

Hillhouse, T.M., Porter, J.H. (2015). *Exp Clin Psychopharmacol.* 23(1): 1.

Holsboer, F., Ising, M., (2010). *Annual Review of Psychology* 61: 81.

Holtzheimer, P.E., Mayberg, H.S. (2011). *Trends in Neurosci.* 34: 1.

Huey, R., Morris, G.M., Olson, A.J., Goodsell, D.S. (2007). *J. Comput. Chem.* 28: 1145.

Janicak, P.G., David, J.M., Preskom, S.H., Ayd, F.J. (2001). Principles and practice of psychopharmacotherapy. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.

Joyce, J.N., Millan, M.J. (2007). *Curr. Opinion in Pharmacol.* 7 (1): 100.

Kametani, T., Fukumoto, K., Fujihara, M. (1972). *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1.* 1394.

Kawai, H., Kotake, Y., Otha, S. (2000). *Chem. Res. Toxicol.* 13: 1294.

Keller, J., Gomez, R., Williams, G., Lembke, A., Lazzeoni, L., Murphy, G., Schatzber, A. (2017) *Mol Psychiatry.* 22(4): 527.

Kitagawa, Y. (1994). *J. Med. Sci.* 6 (1): 75

Kitson, S.L. J.(2007). *Labelled Compd. Radiopharm.* 50: 290.

Klass, M., Roelands, B., Meeusen, R., Duchateau, J. (2018). *Med & Sci in Sports Excers.* 50 88): 1579-1587

Lafrance, M., Blaquiere, N., Fagnou, K. (2007). *Eur. J. Org. Chem:* 811.

Lee, K.C., Chen, J.J. (2007). *Neuropsychiatr Dis Treat.* 3(5): 527.

Lochmann, D., Richardson, T. (2018) Handbook of Exp. Pharmacol. https://doi.org/10.1007/164_2018_172

Lopez-Munoz, F., Alamo, C. (2009). *Curr. Pharm. Des.* 15 (14): 1563.

Lotufo-Neto, F., Trivedi, M., Thase, M.E. (1999). *Neuropsychopharmacol.* 20 (3): 226- 247.

Martinez-Vazquez, M., Estrada-Reyes, R., Araujo Escalona, A.G., Ledesma Velázquez, I., Martínez-Mota, I., Moreno, J., Heinze, G. (2012). *J. Ethnopharmacol.* 139: 164.

Martínez-Vázquez M., Estrada-Reyes R., Martínez-Laurrabaquio A., López-Rubalcava C. and Heinze G. *J Ethnopharmacol.* 2012, 141, 908-17.

Mogilnicka, E., Klimek, V. Golembiowska-Nikitin, K. (1977). *J. Neural Transmission.* 40:195.

Moraczewski J, Aedma KK. (2020) Antidepresivo tricíclicos, recuperado de: StatPearls Publishing;: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557791/>

Moreno, L. Cabedo, N. Boulangé, A. Párraga, J. Galán, A. Leleu, S and Sanz, M.J. *Eur. J. Med. Chem.* 2013, 69, 69-76

Morris, G.M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanne, M.F., Belew, R.K., Goodsell, D.S., Olson, A.J. (2009). *J. Comput. Chem.* 30: 2785.

Movassaghi, M., Hill, M. (2008). *Org. Lett.* 10 (16): 3485.

Nash, J., Nutt, D. (2007). *Psychiatry.* 6: 7.

Nestler, E.R., Barrot, M., DiLeone, R.J., Eisch, A.J., Gold, S.J., Monteggia, L. (2002). *Neuron.* 34: 13.

NHS (2018). Efectos adversos de antidepresivos, recuperado de: <https://www.nhs.uk/conditions/antidepressants/side-effects/>.

NIMH (2016). Depresión, recuperado de: <https://www.nimh.nih.gov/health/publications/espanol/depression-sp/index.shtml>.

Nutt, D.J. (2002). *Int. Clin. Psychopharmacol.* 17 (1): 51.

Nutt, D.J., (2003). *J. Psychopharmacol.* 17: 355.

Nutt, D.J. (2005), *J. Psychopharmacol.* 19: 123.

OMS (2020). Depresión recuperado de: <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/depression>

Padilha, S., Virtuoso, S., Tonin, F., Borba, H., Pontarolo, R. (2018) *Eur. Child & Adolesc. Psychiatry.* 27: 1335.

Papakosta, G.I., Bech, P., Fava, M. Pharmacological treatment of major depressive disorder: a review in depressive disorders. (2009). In: Hermann H., Maj, M., Sartorius N., Wiley editores. Nueva York. 47-74

Paulo, M.Q., Barbosa-Filho, J.M., Lima, E.O., Maia, R.F., Barbosa, R.C., Kaplan, M.A. (1992). *J. Ethnopharmacol.* 36 (1): 39.

Pesarico, A.P., Bazanella Sampaio, T., Curte Stanghrin, E., Mantovani, A.C., Zeni, G., Wayne Nogueira, C. (2014). *Progress Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 54: 179.

Pérez-Padilla, E. A.;; Cervantes-Ramírez, V.; Hijuelos-García, N.; Pineda-Cortés, J.; Salgado-Burgos, H. (2017) *Rev. Biomed.* 28: 89.

Pettersen, E.F., Goddard, T.D., Huang, C.C., Couch, G.S., Greenblatt, D.M., Meng, E.C., Ferrin, T.E., (2004). *J. Comput. Chem.* 25 (13): 1605.

Porsolt, R.D., Anton, G., Blavet, N., Jalfre, M. (1978). *Eur. J. Pharmacol.* 47 (4): 379.

Preskorn, S.H (1996) Farmacología clínica de ISRS, recuperado de: *Professional Communications*, Caddo. www.preskorn.com

Preskom, S. H. (1999). *J. Pract. Psychiatry Behav Health* 5:224.

Reddy, M.S. (2010). *Indian J. Psychol. Med.* 32: 1.

Retamal, P. (2001). *Rev. Med. Chile* 129 (7): 813.

Reux, B., Nevalainen, T., Raitio, K.H., Koshinen, A.M. (2009). *Bioorg. Med. Chem.* 17: 4441.

Roiser, J.P., Elliot, R., Sahakian, B. (2012). *Neuropsychopharmacol.* 37: 117.

Rozwadowska, M.D. (1994). *Heterocycles.* 39: 903.

Shelton, C., Entsua, R., Padmanabban, S.K., Vinall, P.E., (2005). *Int. Clin. Psychopharmacol.* 20: 233.

Shulman, K., Herrmann, N., Walker S.E. (2013). *CNS Drugs.* 27: 789.

Stahl, S. (1998). *J. Clin. Psychiatry.* 59 (4): 5.

Stahl, S.M. (2013). Stahl's essential psychopharmacology: neuroscientific basis and practical applications (4th ed). Cambridge: *Cambridge University Press.* pp 133. [ISBN 9781107025981](https://doi.org/10.1017/9781107025981).

Stokes, P., Jokinen, T., Amawi, S., Qureshi, M., Husain, M.I., Yatham, L.N., Strang, J., Young, A.H. (2020). *Can J Psychiatry.* 65(11): 749.

Stolerman I. (2010) En: Encyclopedia of Psychopharmacology. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag. P: 1126.

Tyler, M.W., Zadivar-Diez, J., Haggarty, S. (2017). *Acs Chem. Neurosci.* 8: 444.

Ushakova, V.; Morozova, A.; Reznik, A.; Kostyuk, G.; Chekhonin, V. (2020) *Mol. Biol.* 54 (5): 639.

Yaffe, D., Forrest, L.R., Schuldiner, S. (2018). *J. Gen. Physiol.* 150 (5): 671.

Yang, S.N., Wang, Y.H., Tung, C.S., Ko, C.Y., Liu, Y.P. (2015). *Chin. J. Physiol.* 58 (6): 404-411.

Yu, Z.F., Kong, L.D., Chen, Y. (2002), *J. Ethnopharma.* 83: 161.

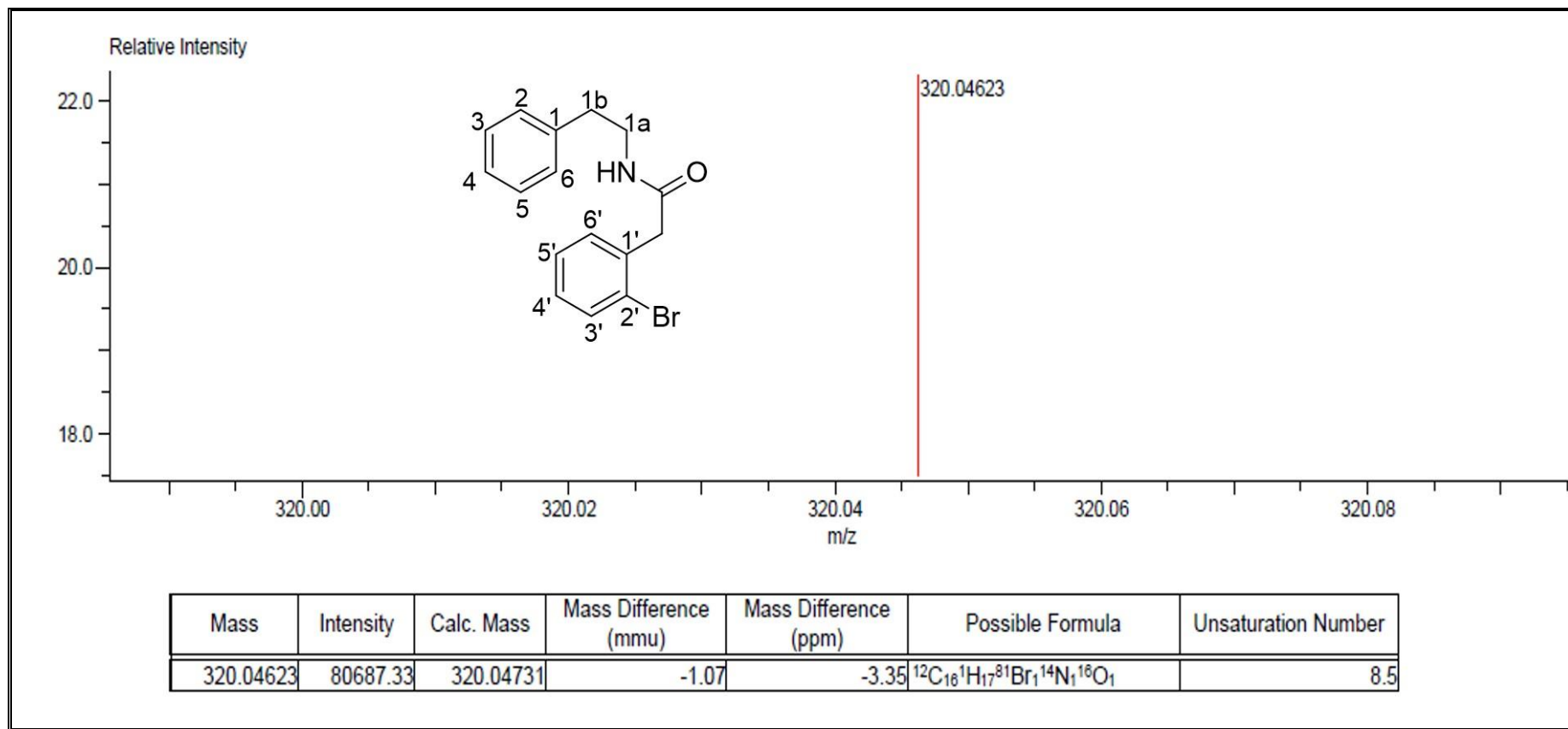
Willner, P., Scheel-Krüger, J., Belzung, C. (2013). *Neurosci. Behav. Rev.* 37: 2331.

Wong, M.L., y Licinio, J. (2001). *Nat. Rev. Neurosci.* 2: 343.

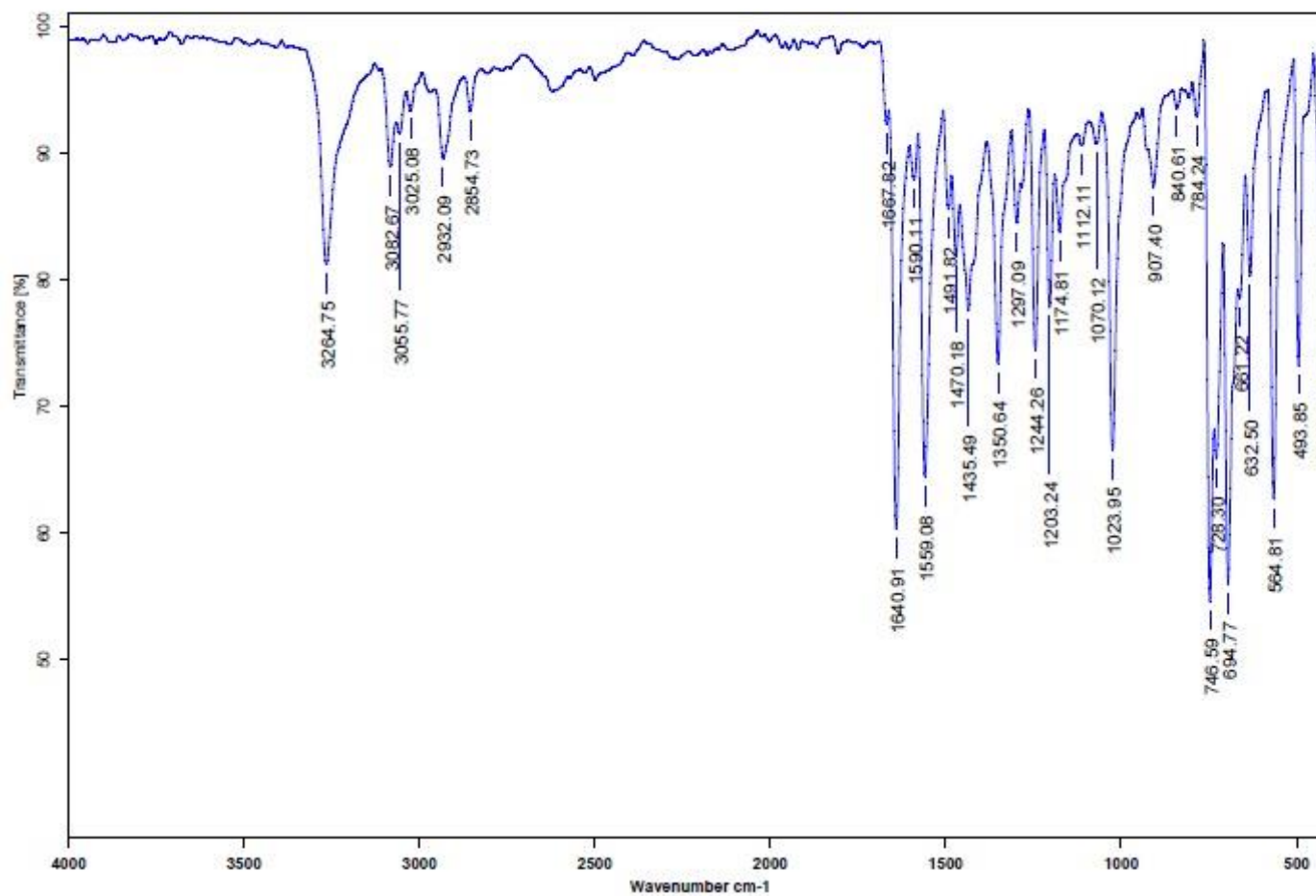
Zadjeł, P., Marciniak, K., Maslankiewicz, A., Satala, G., Duszynska, B., Bojarski, A.J., Partyka, A., Jastrzebska-Wiesek, M., Wróbel, D., Wesolowska, A., Pawlowski, M. (2012). *Bioorg. Med. Chem.* 20: 1545.

Zhang, L., Zhang, G., Li, Y., Wang, S., Lei, W. (2018). *Chem. Comm.* 54: 5744
12.

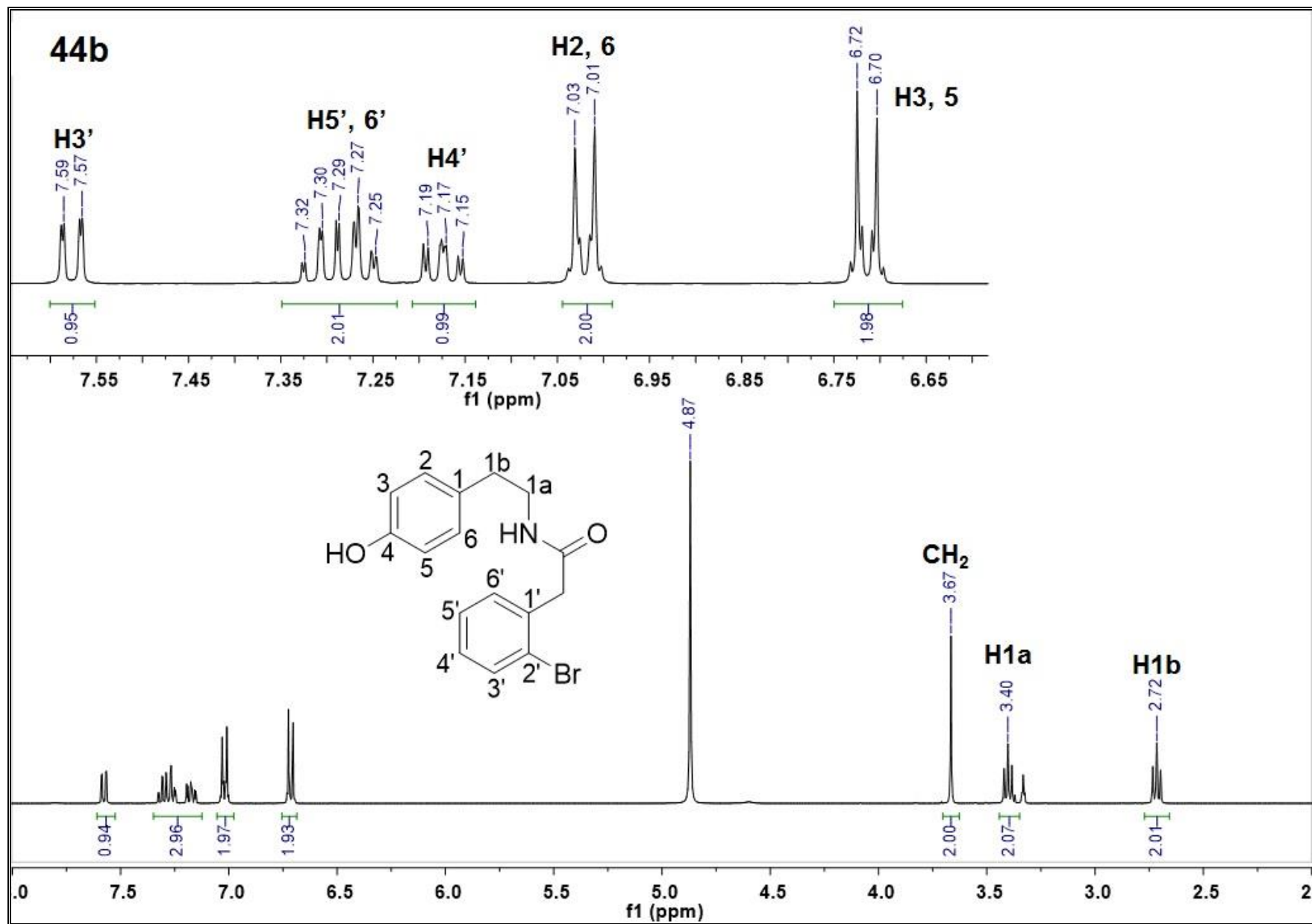
12. ANEXOS



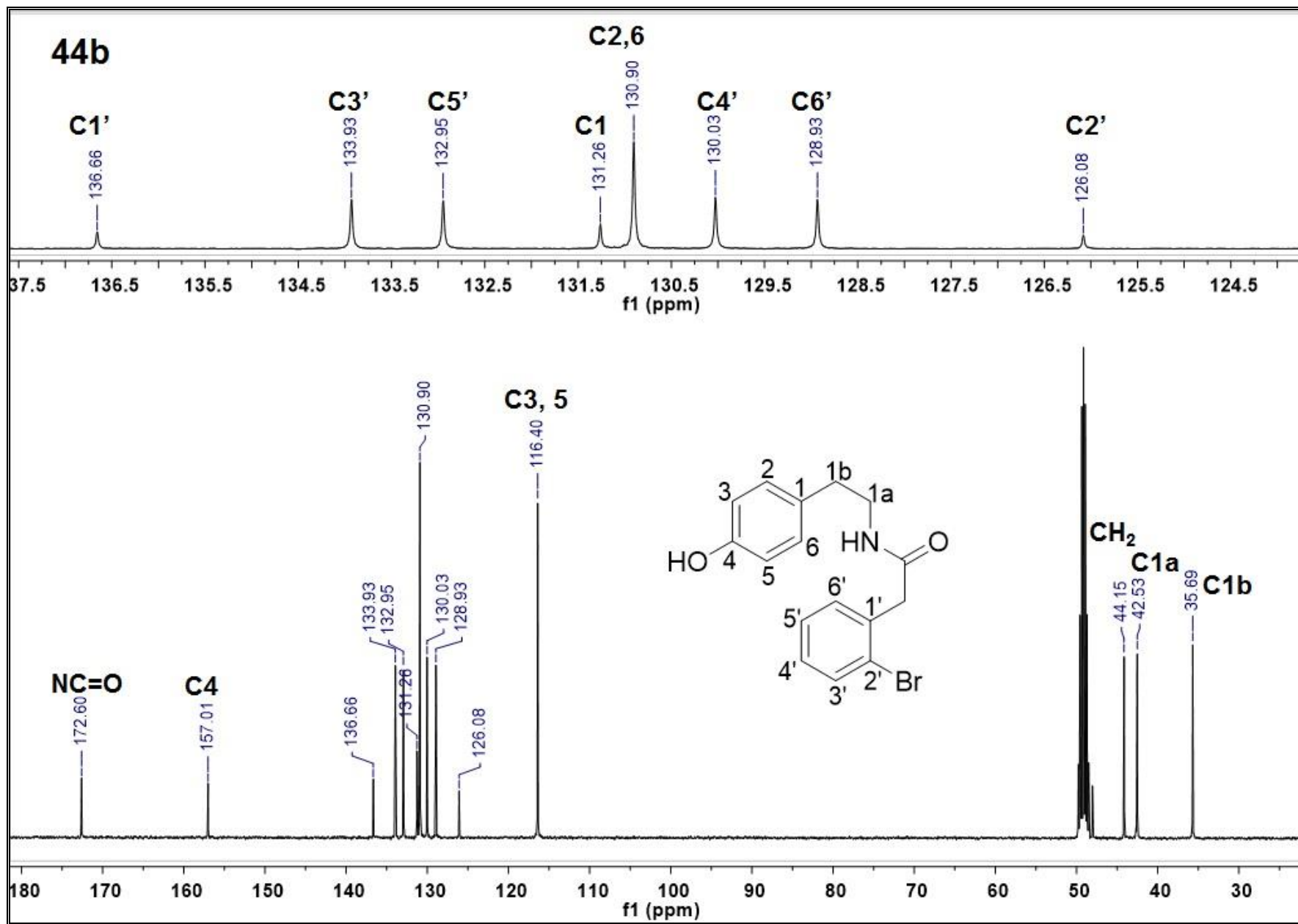
Anexo 1. Espectro de masa exacta del compuesto 44a.



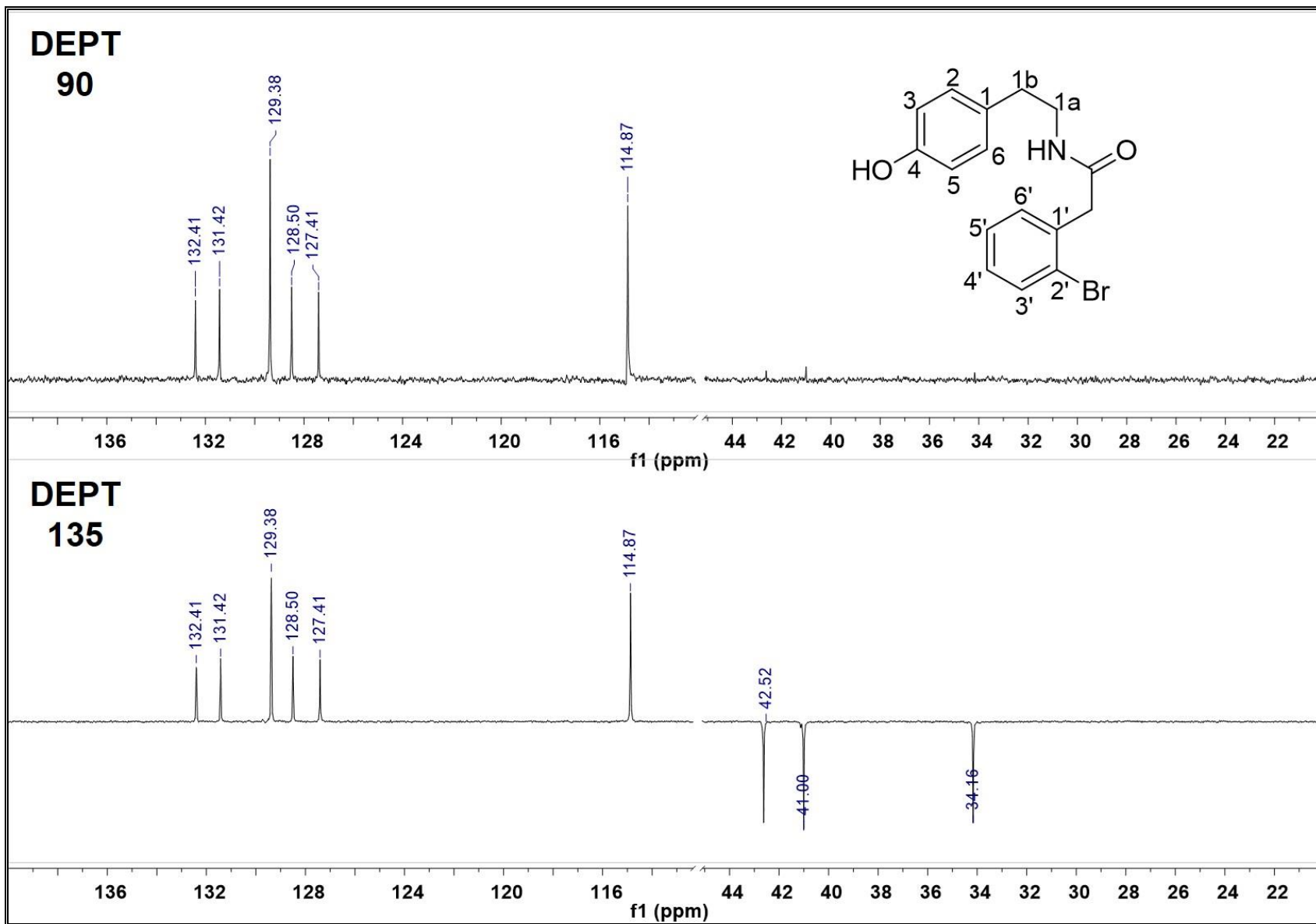
Anexo 2. Espectro de IR del compuesto 44a



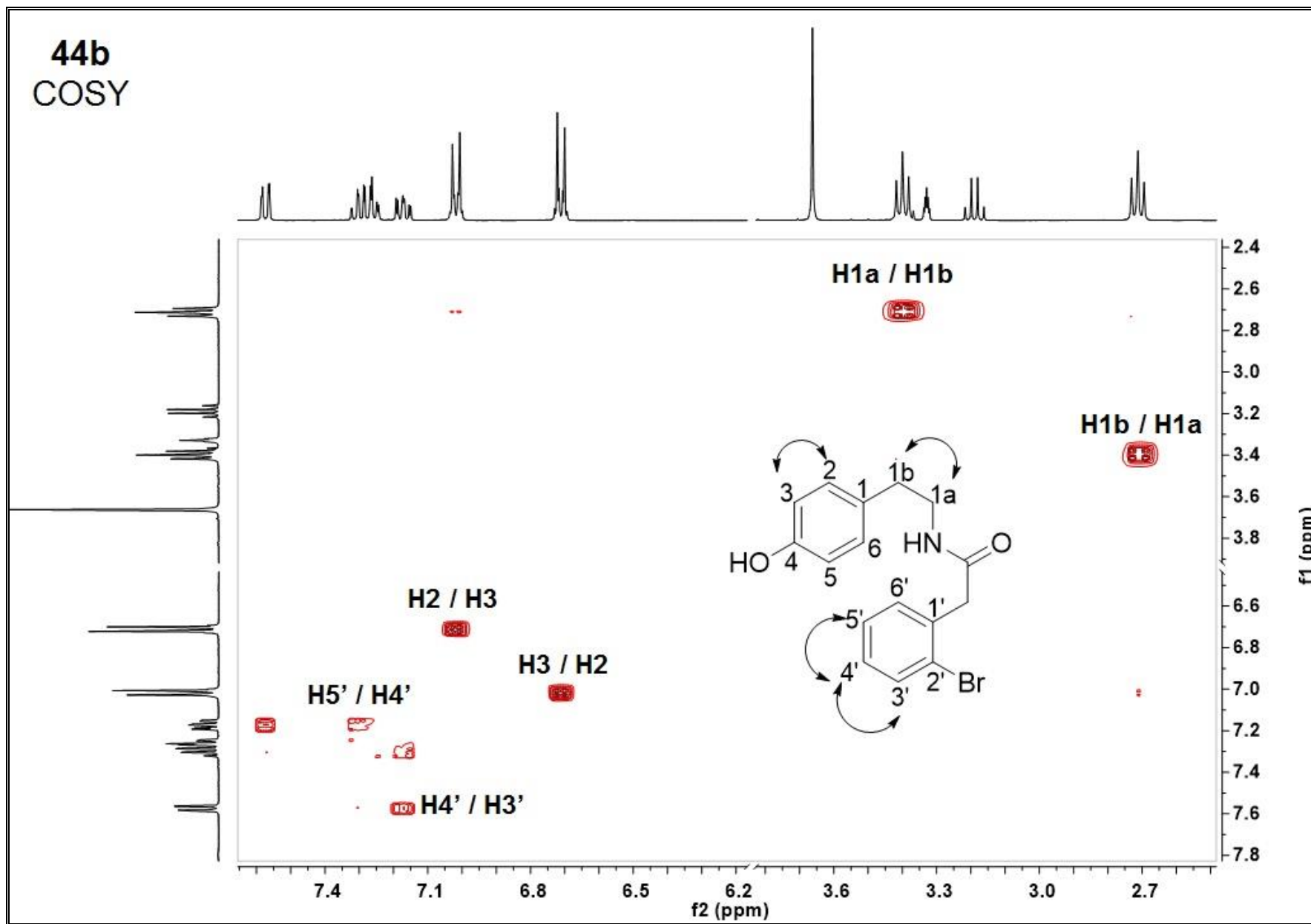
Anexo 3. Espectro de RMN ¹H (a 400 MHz, en MeOD d-4) del compuesto **44b**.



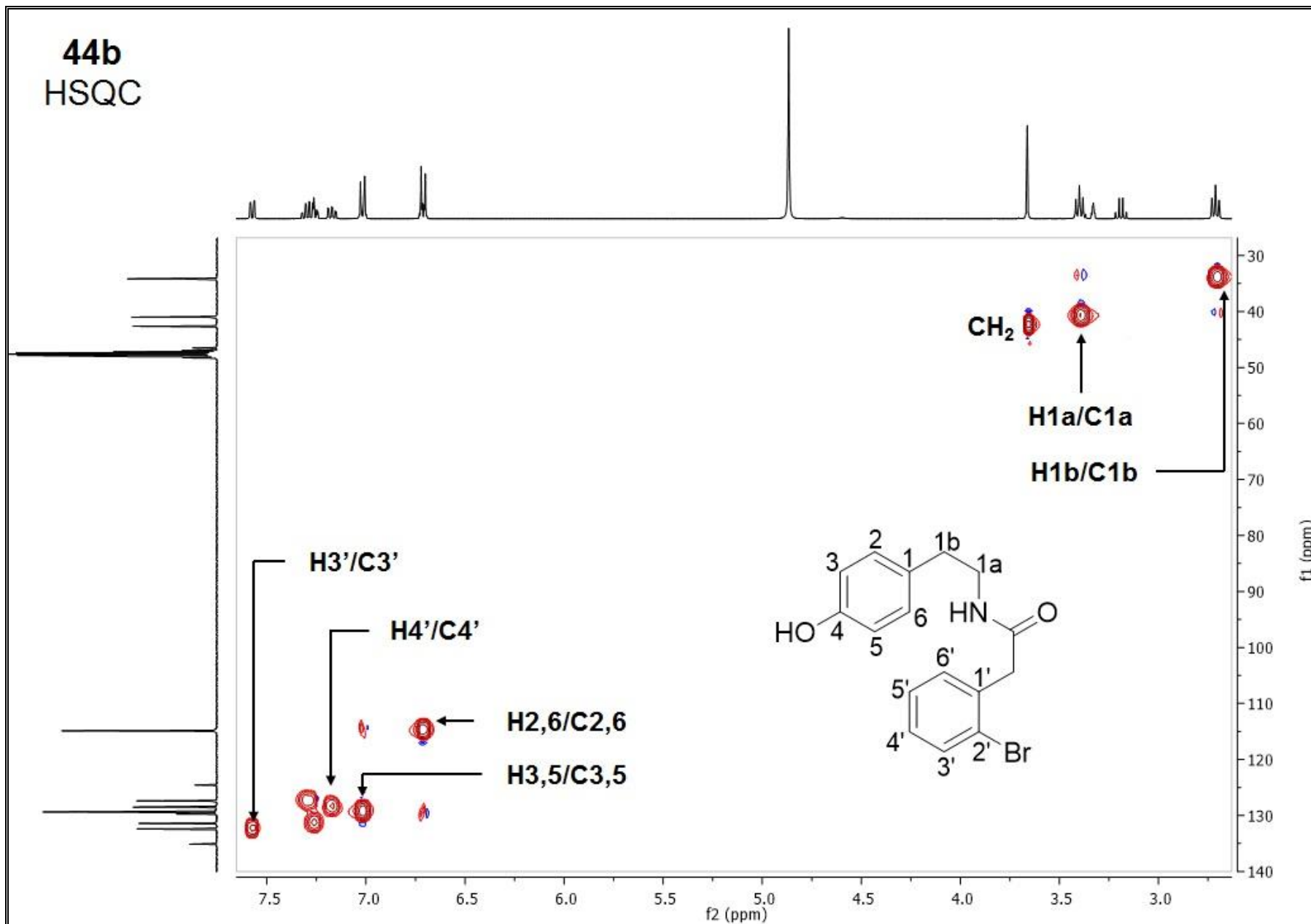
Anexo 4. Espectro de RMN ¹³C (a 100 MHz, en MeOD, d-4) de compuesto **44b**



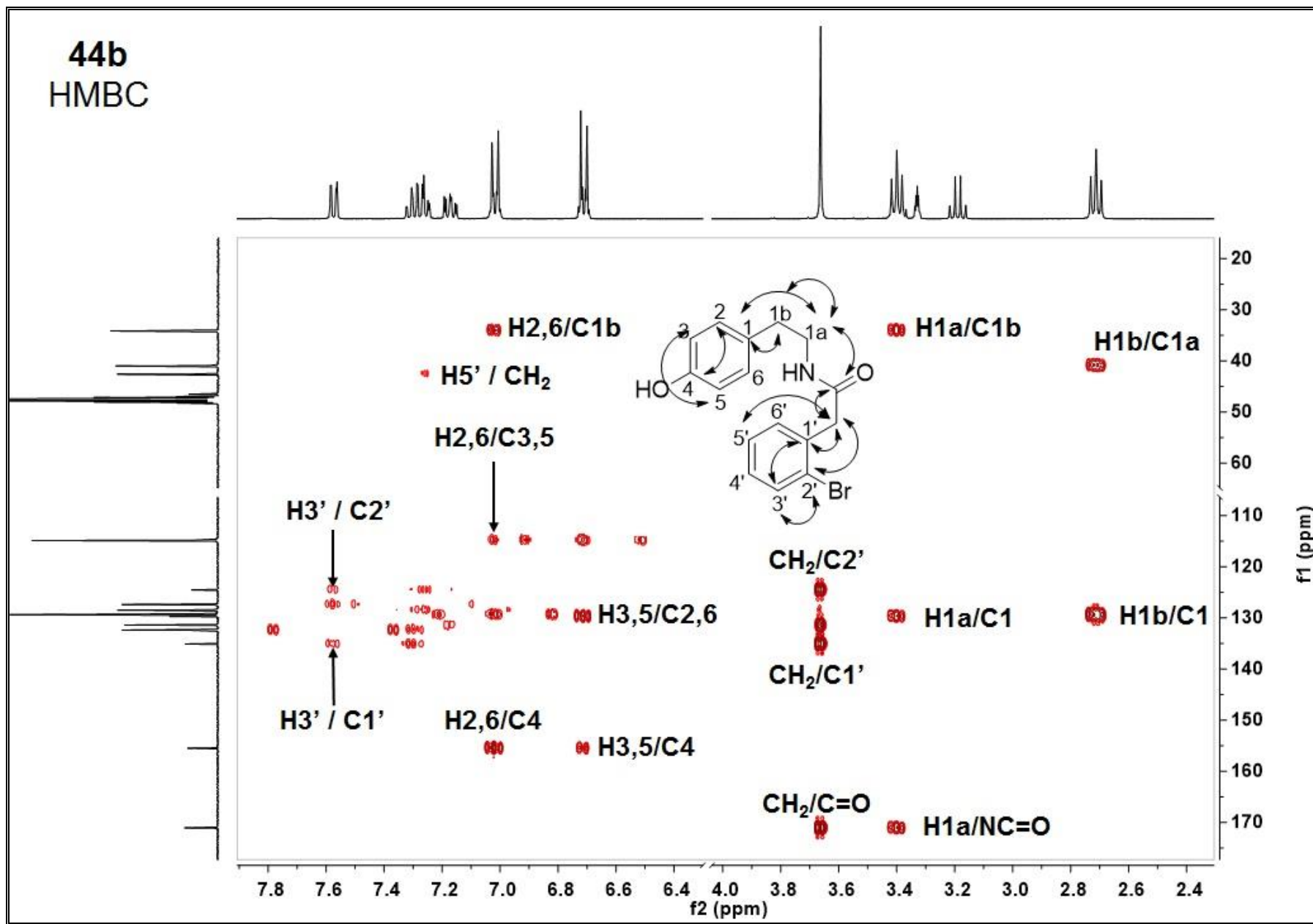
Anexo 5. Espectros DEPT 90 y DEPT 135 del compuesto **44b**.



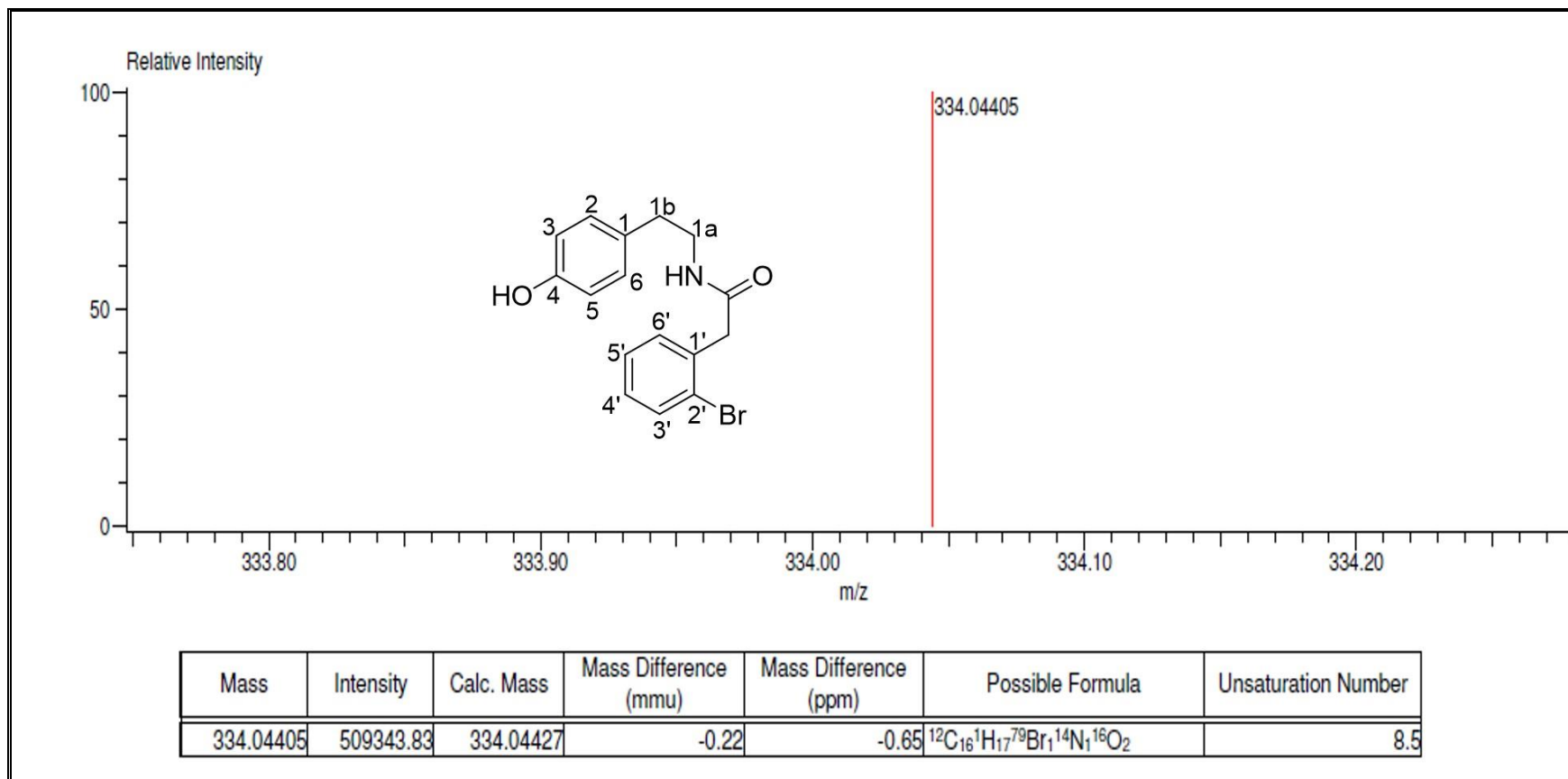
Anexo 6. Espectro de correlación bidimensional (COSY) del compuesto **44b**.



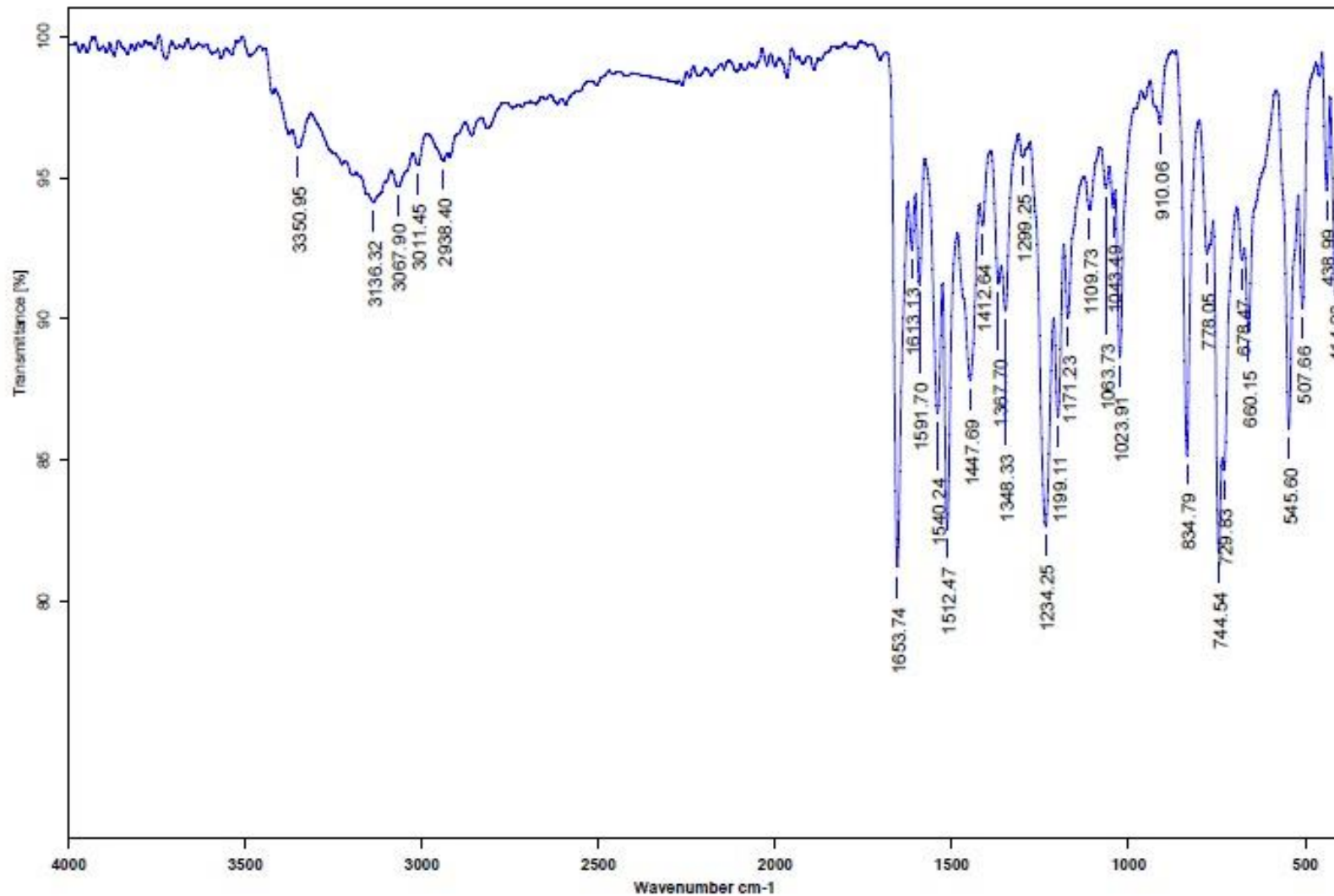
Anexo 7. Espectro de correlación bi-dimensional (HSQC) del compuesto **44b**.



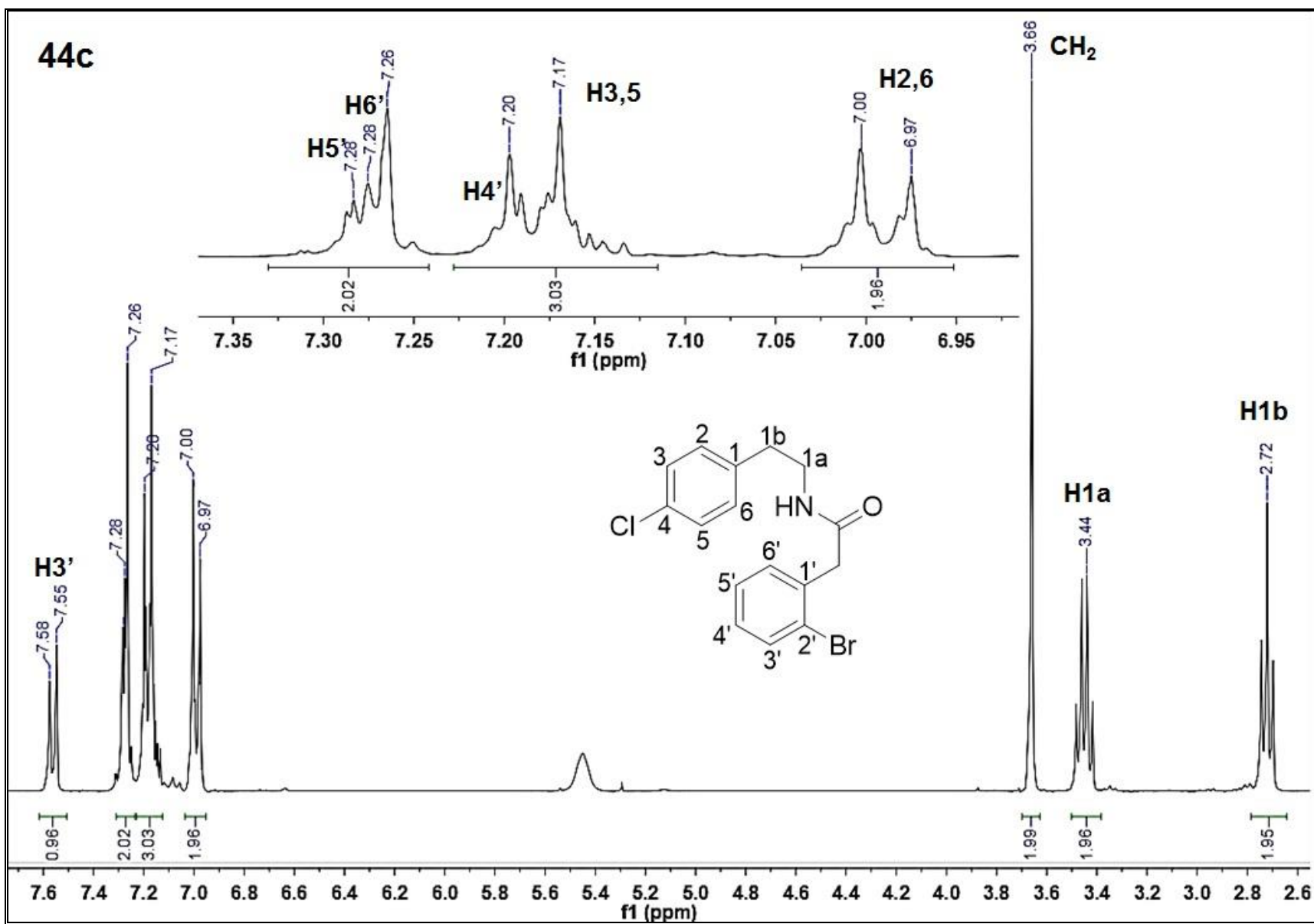
Anexo 8. Espectro de correlación bi-dimensional (HMBC) del compuesto **44b**.



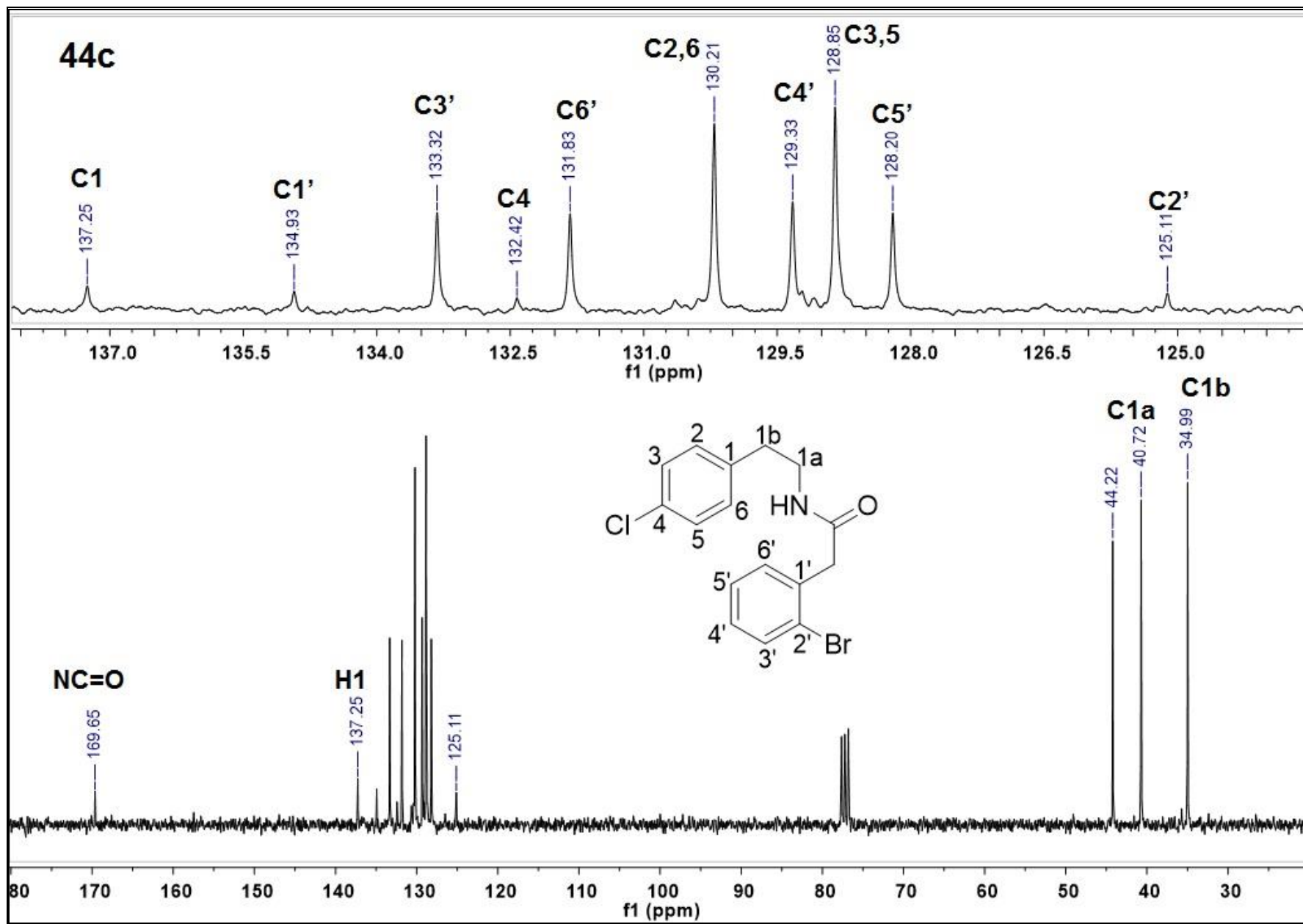
Anexo 9. Espectro de masa exacta del compuesto **44b**.



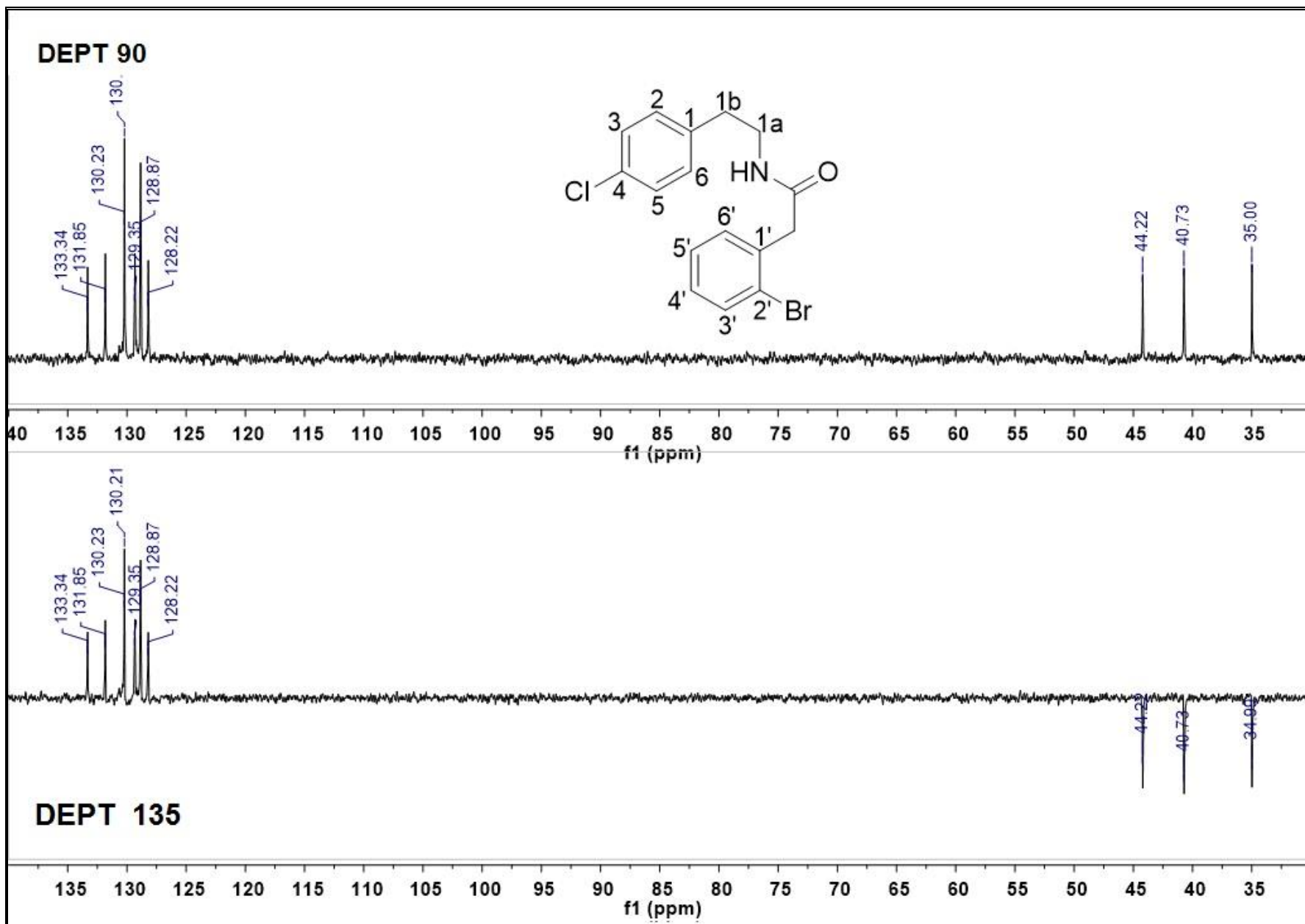
Anexo 10. Espectro de IR del compuesto 44b



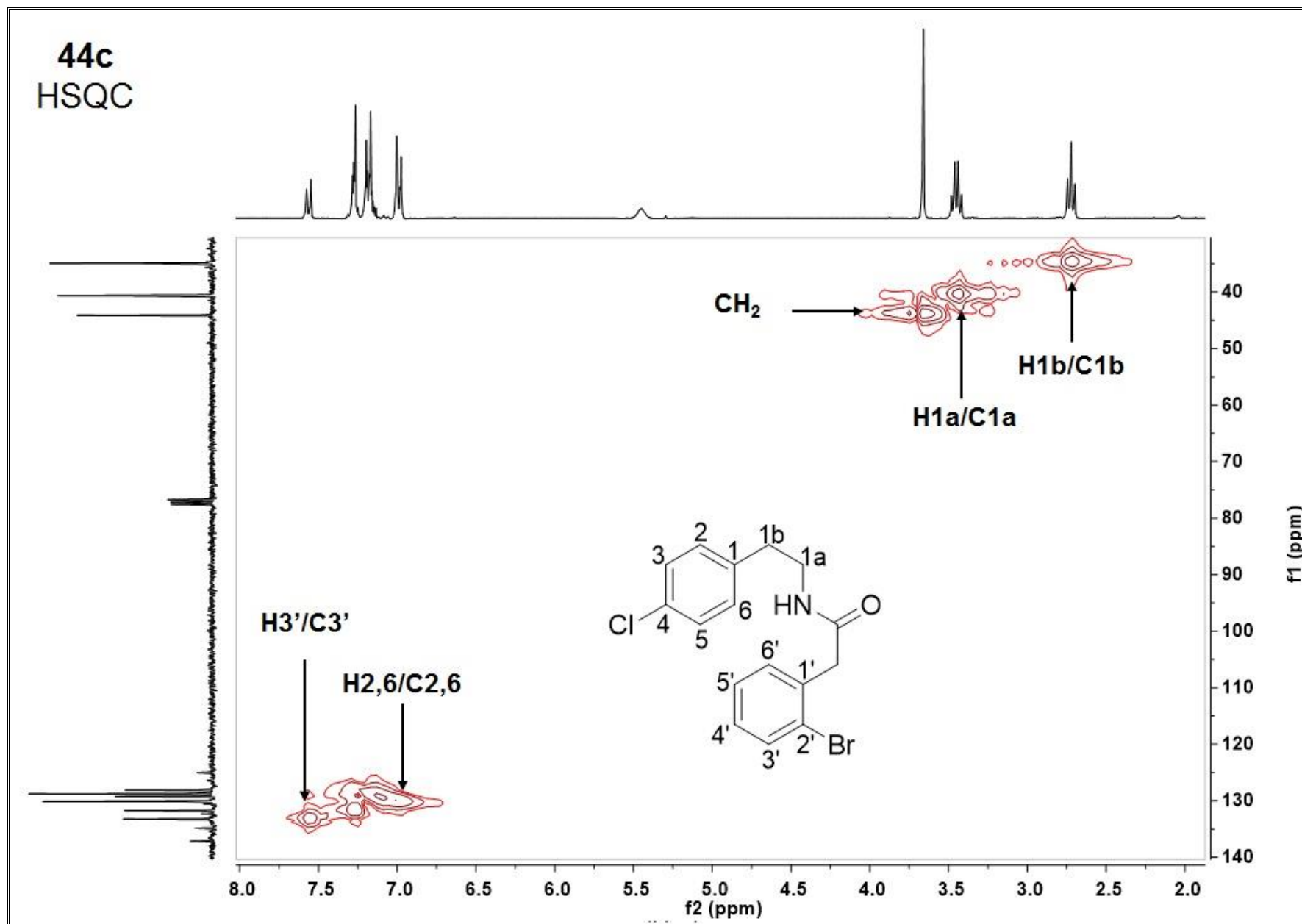
Anexo 11. Espectro de RMN ^1H (a 300 MHz, en CDCl_3) del compuesto **44c**.



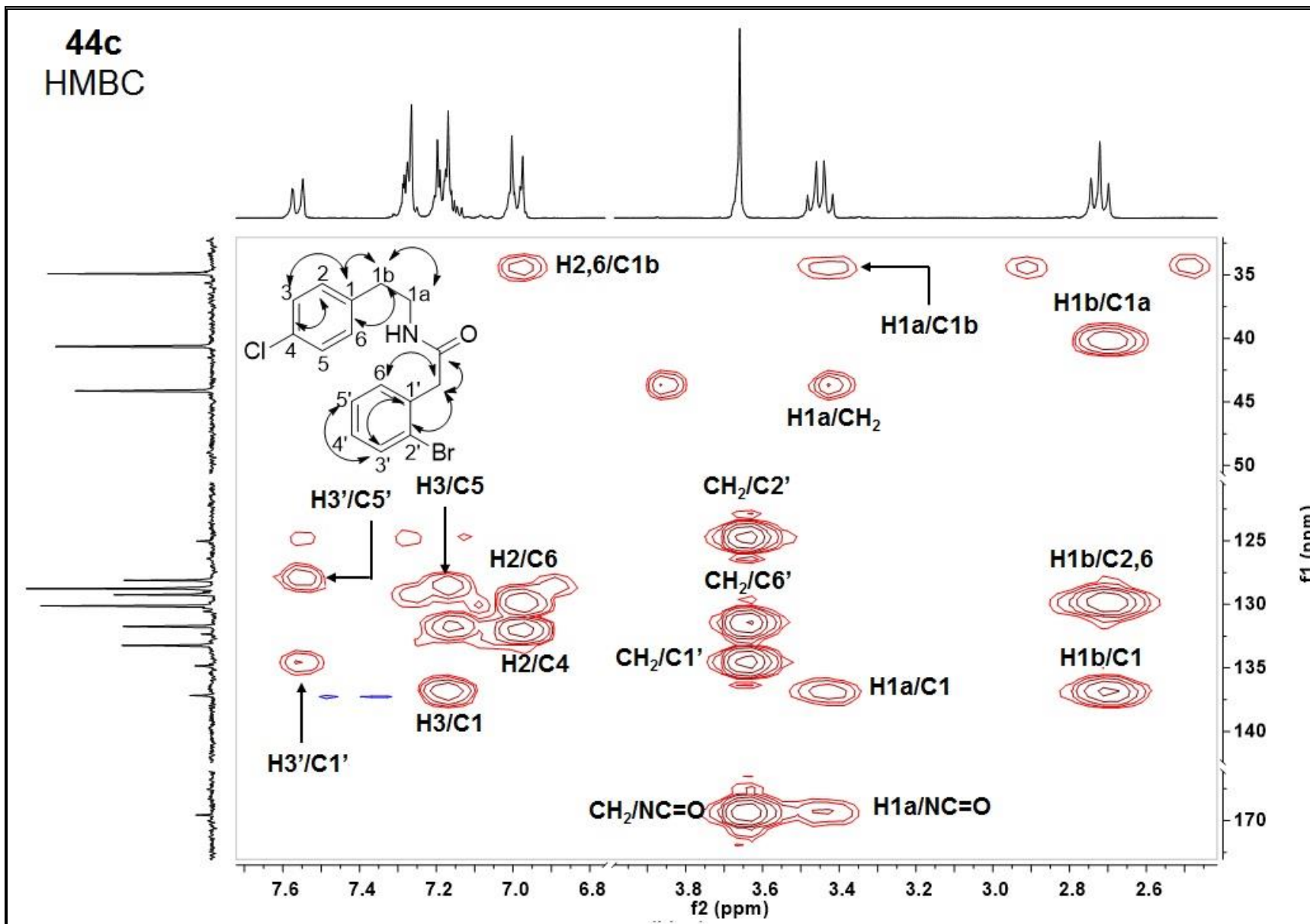
Anexo 12. Espectro de RMN ^{13}C (a 75 MHz, en CDCl_3) del compuesto **44c**



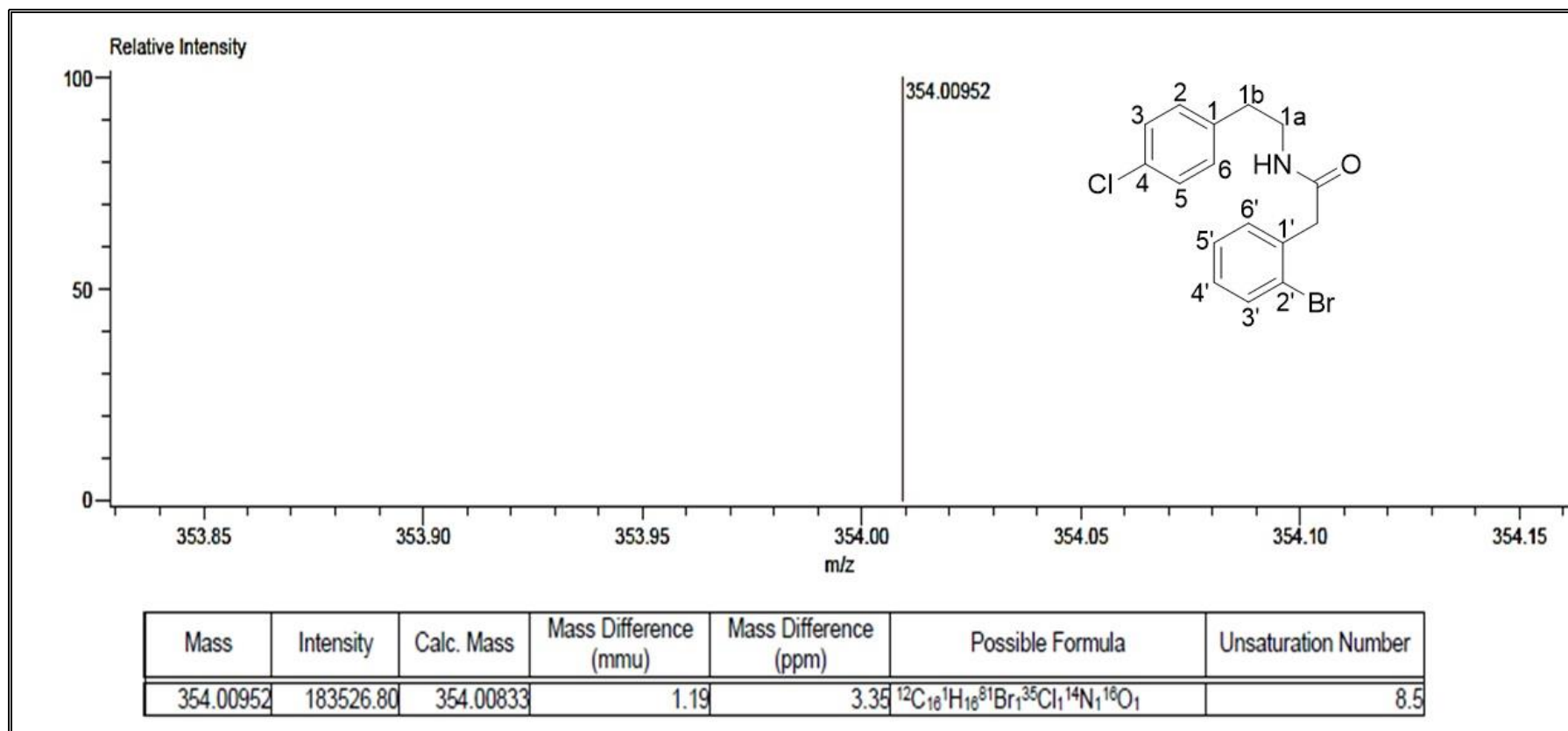
Anexo 13. Espectro DEPT 90 y DEPT 135 del compuesto **44c**.



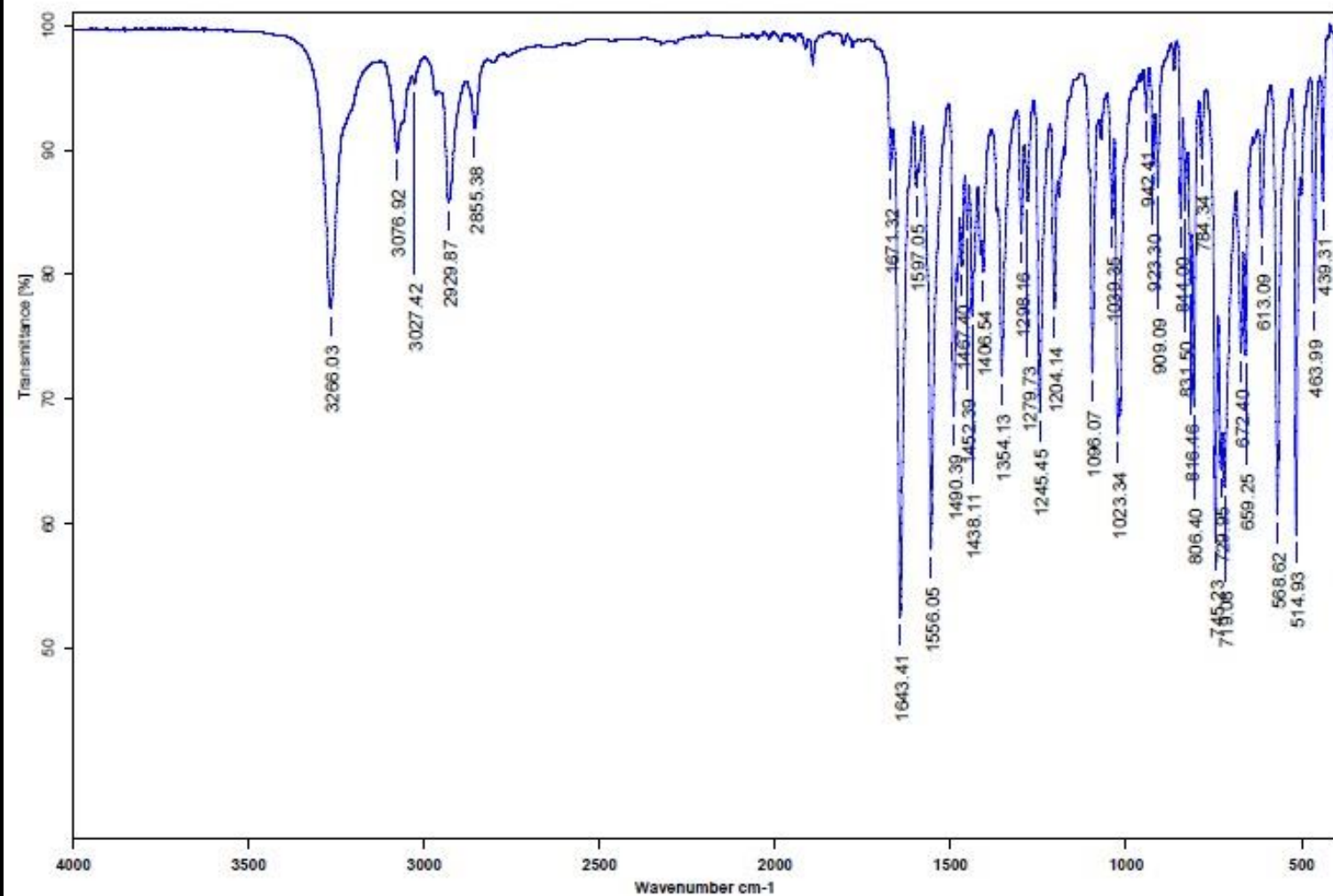
Anexo 14. Espectro de correlacion bi-dimensional HSQC del compuesto **44c**



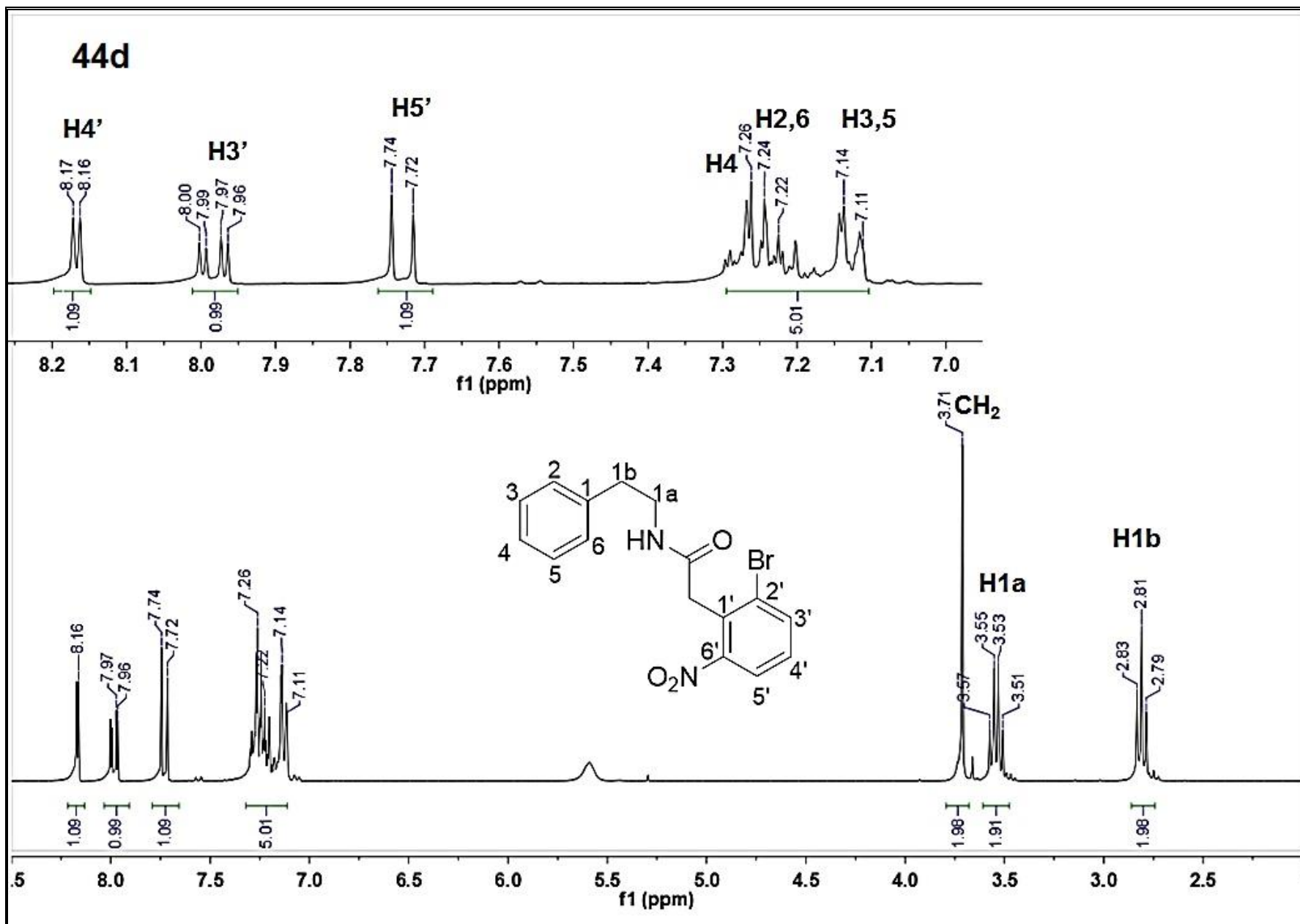
Anexo 15. Espectro de correlación bi-dimensional HMBC del compuesto **44c**.



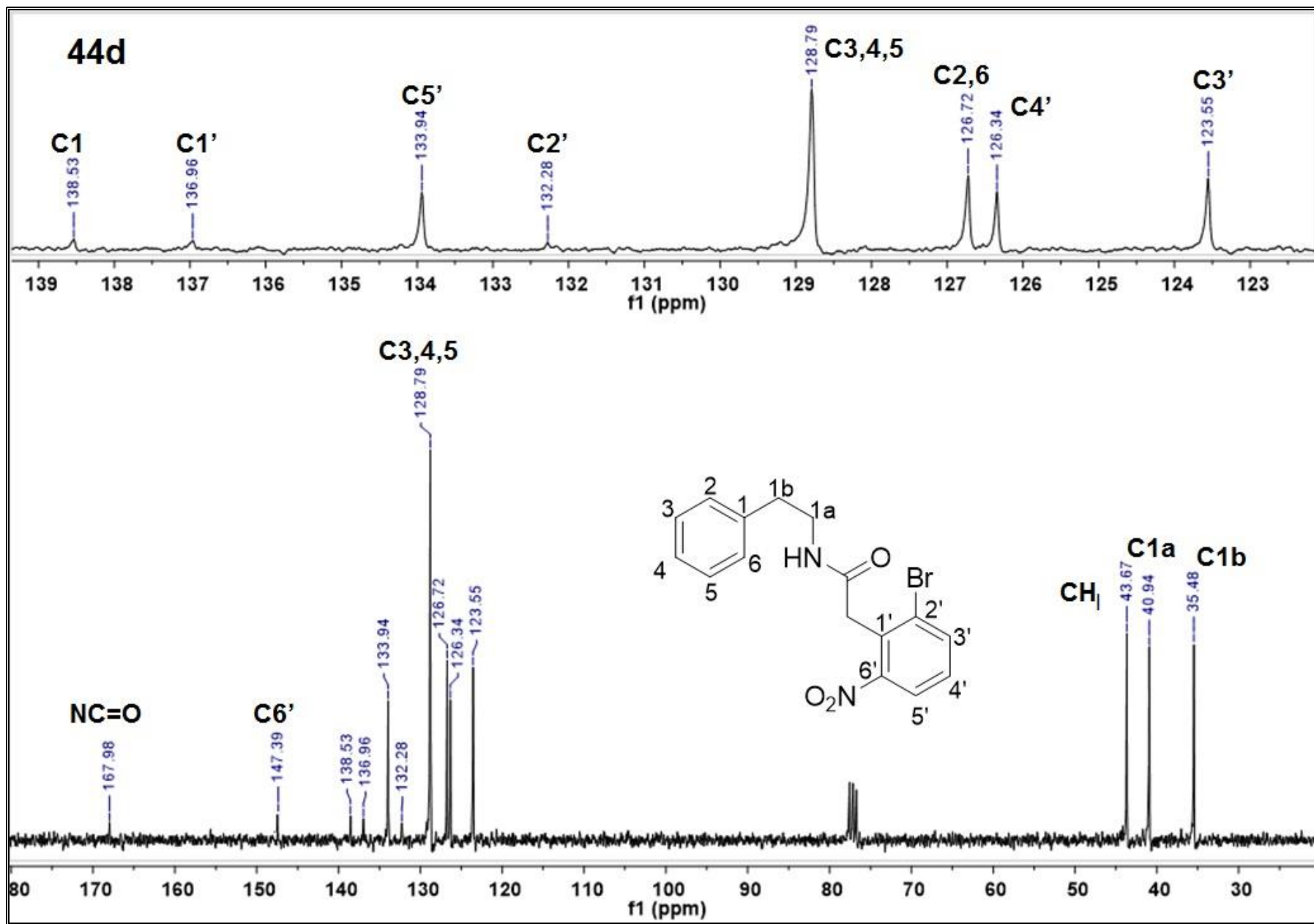
Anexo 16. Espectro de masa exacta del compuesto 44c.



Anexo 17. Espectro de IR del compuesto 44c

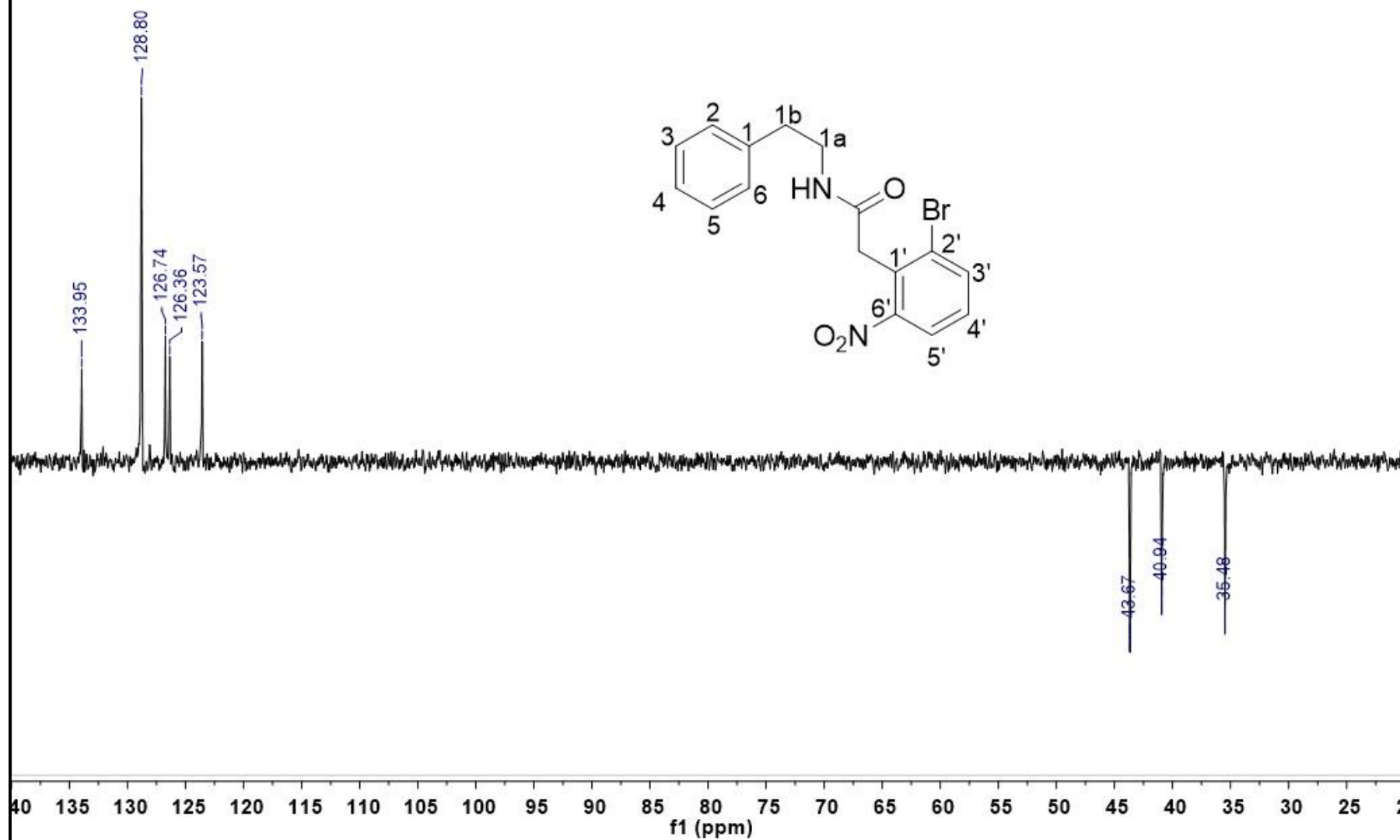


Anexo 18. Espectro de RMN ^1H (a 300 MHz, en CDCl_3) del compuesto **44d**.

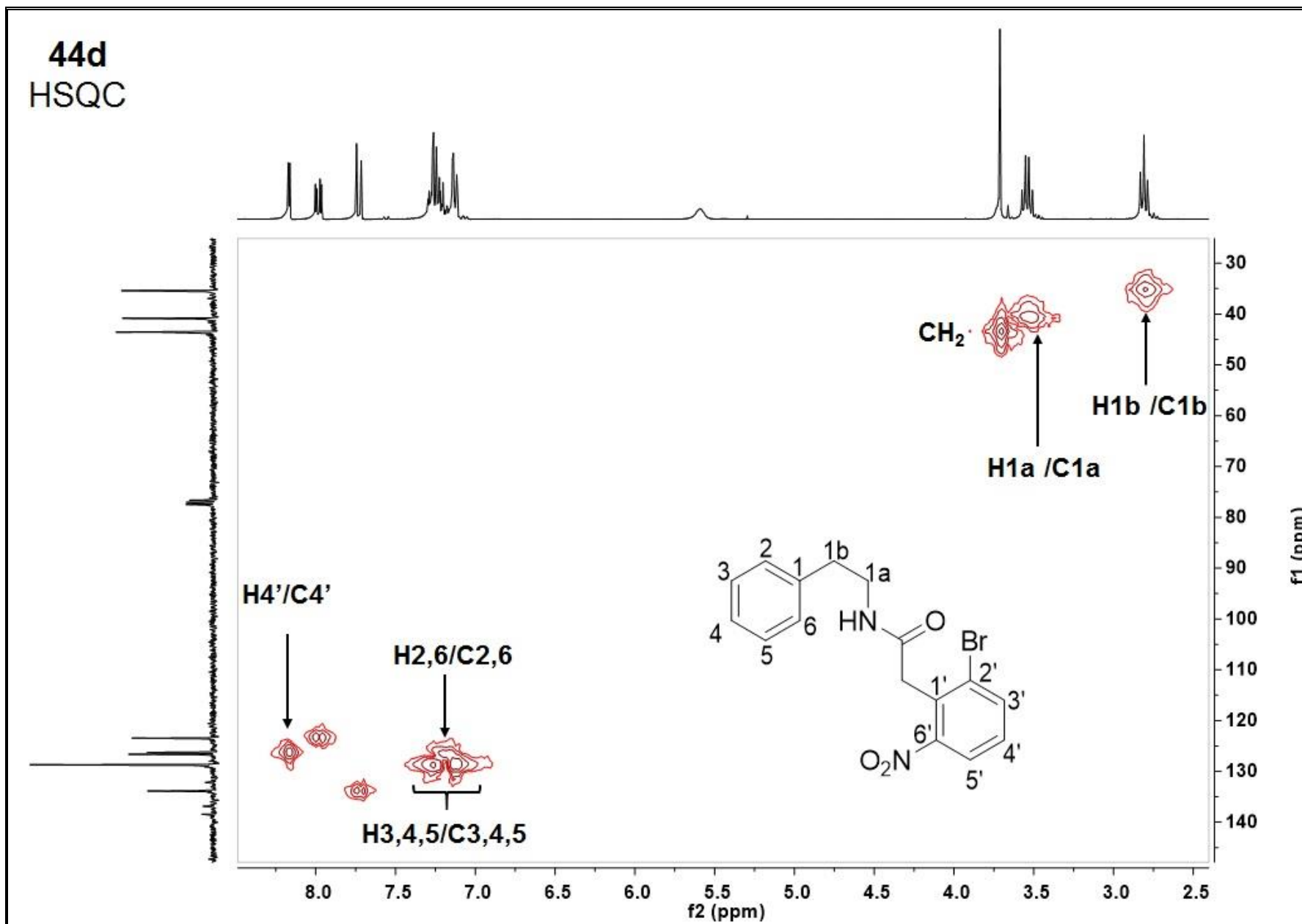


Anexo 19. Espectro de RMN ¹³C (a 75 MHz, en CDCl₃) del compuesto **44d**.

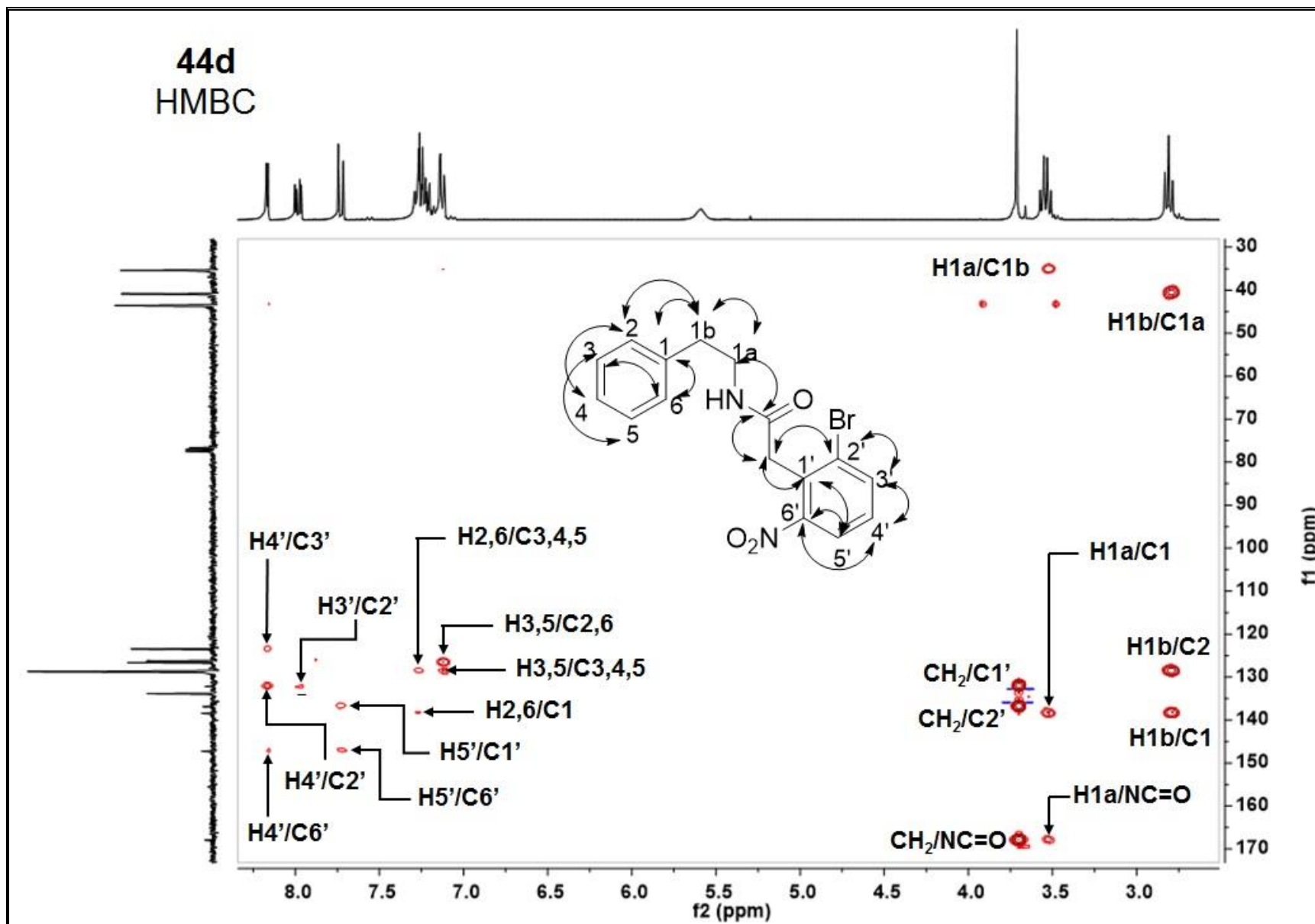
44d
DEPT 135



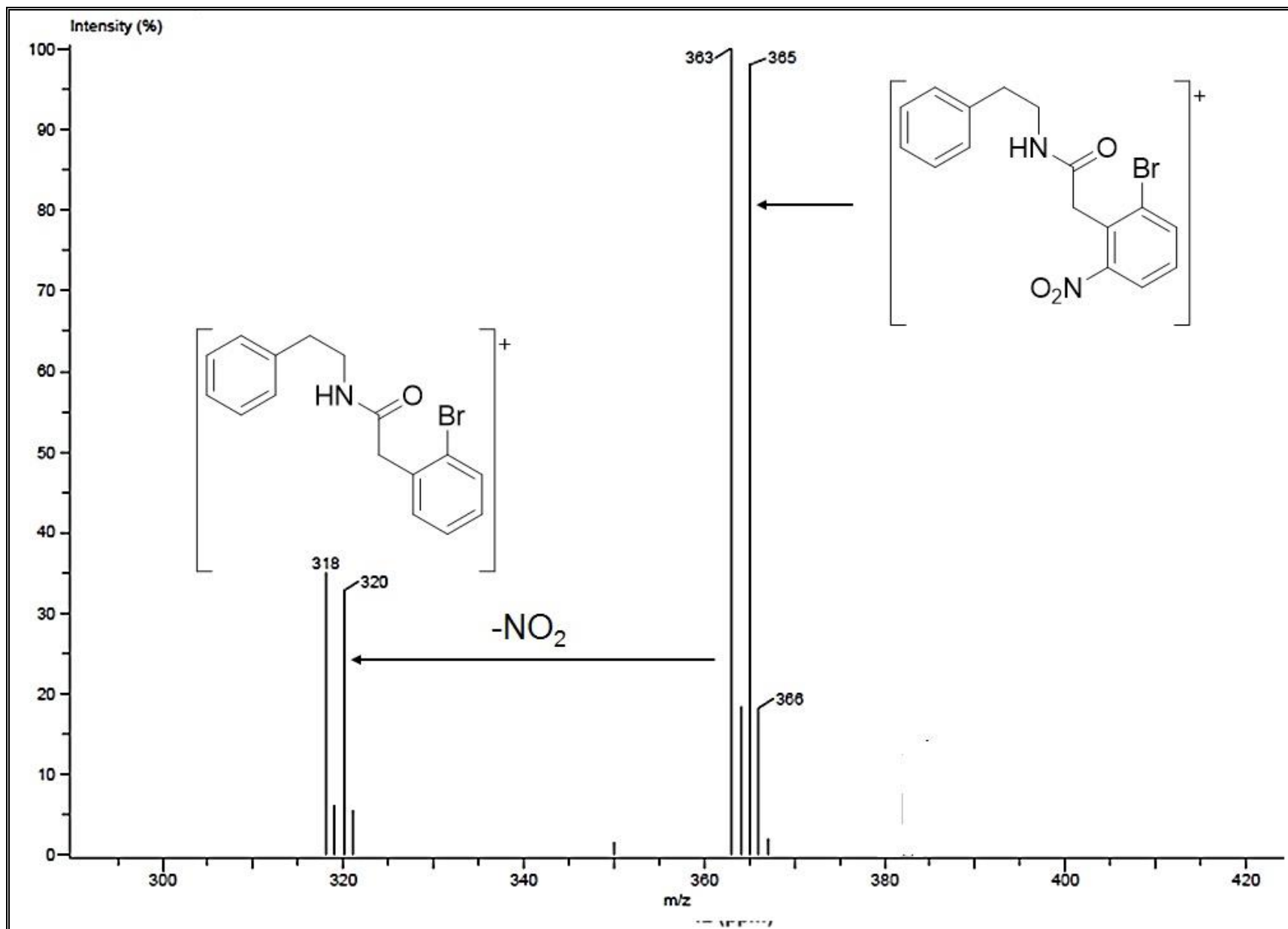
Anexo 20. Espectro DEPT 135 del compuesto 44d.



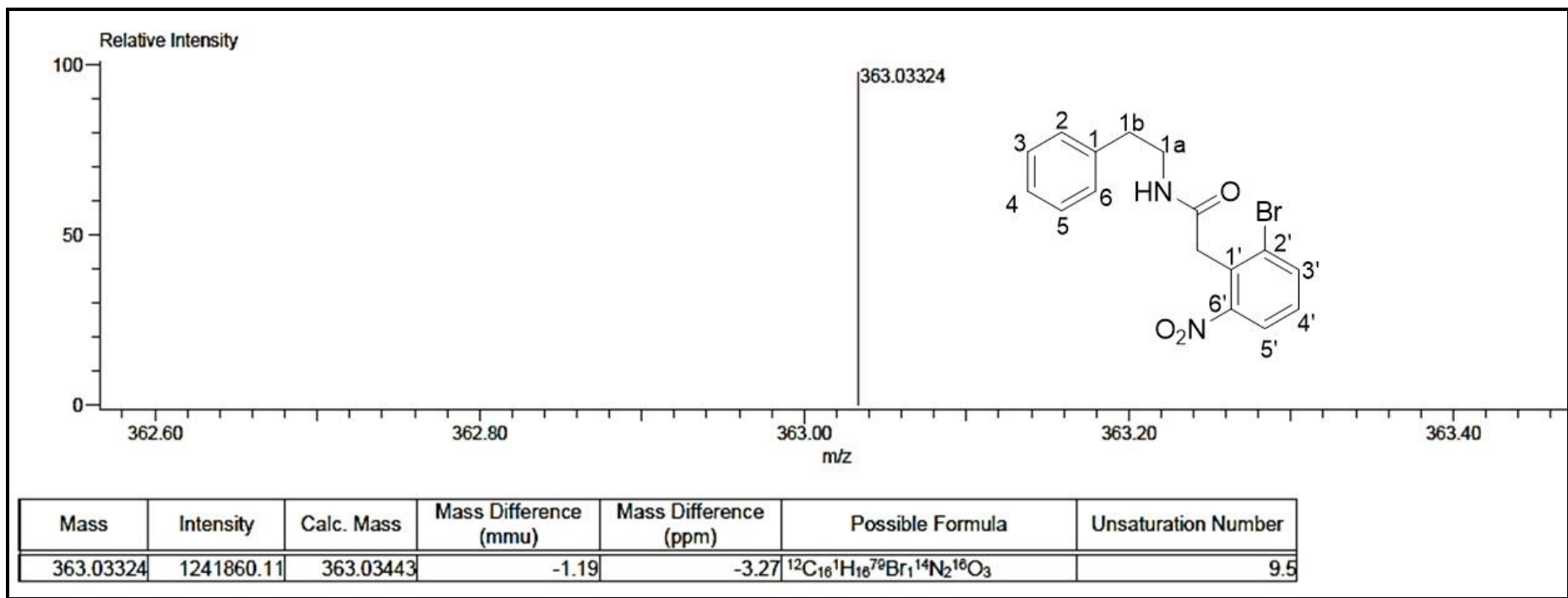
Anexo 21. Espectro de correlacion bi-dimensional HSQC del compuesto **44d**.



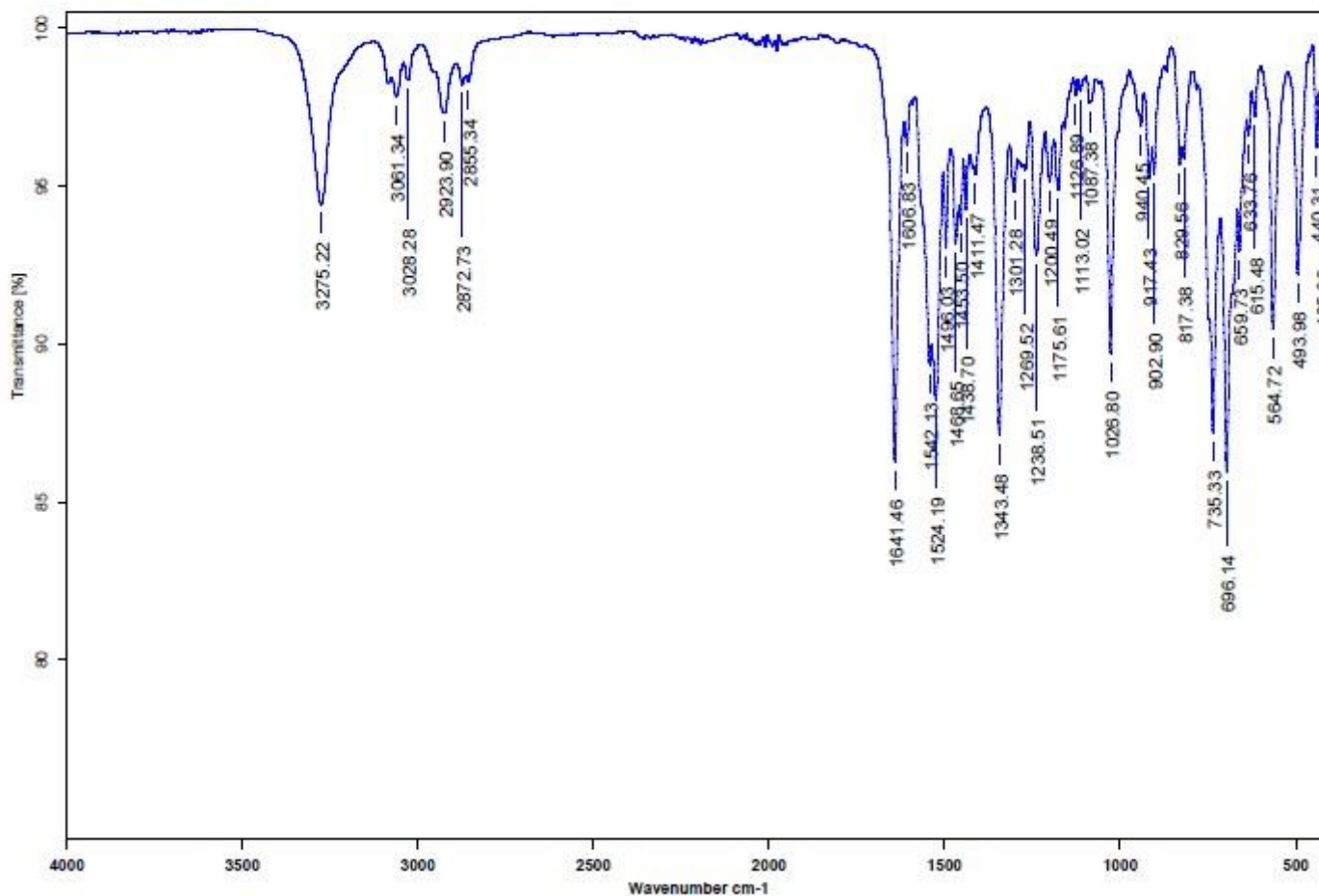
Anexo 22. Espectro de correlación bi-dimensional HMBC del compuesto 44d.



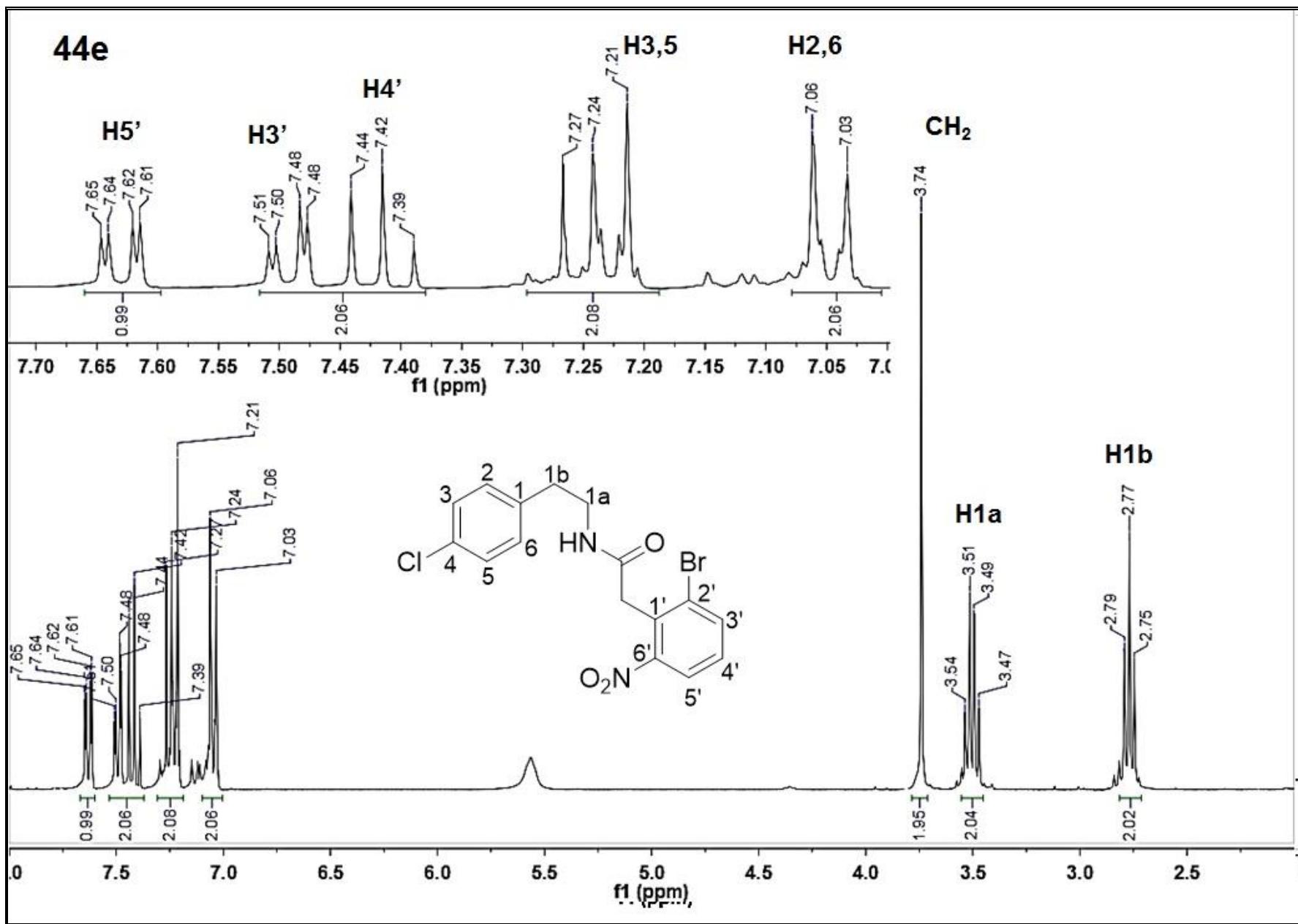
Anexo 23. Espectro de masas (DART) baja resolución del compuesto 44d.



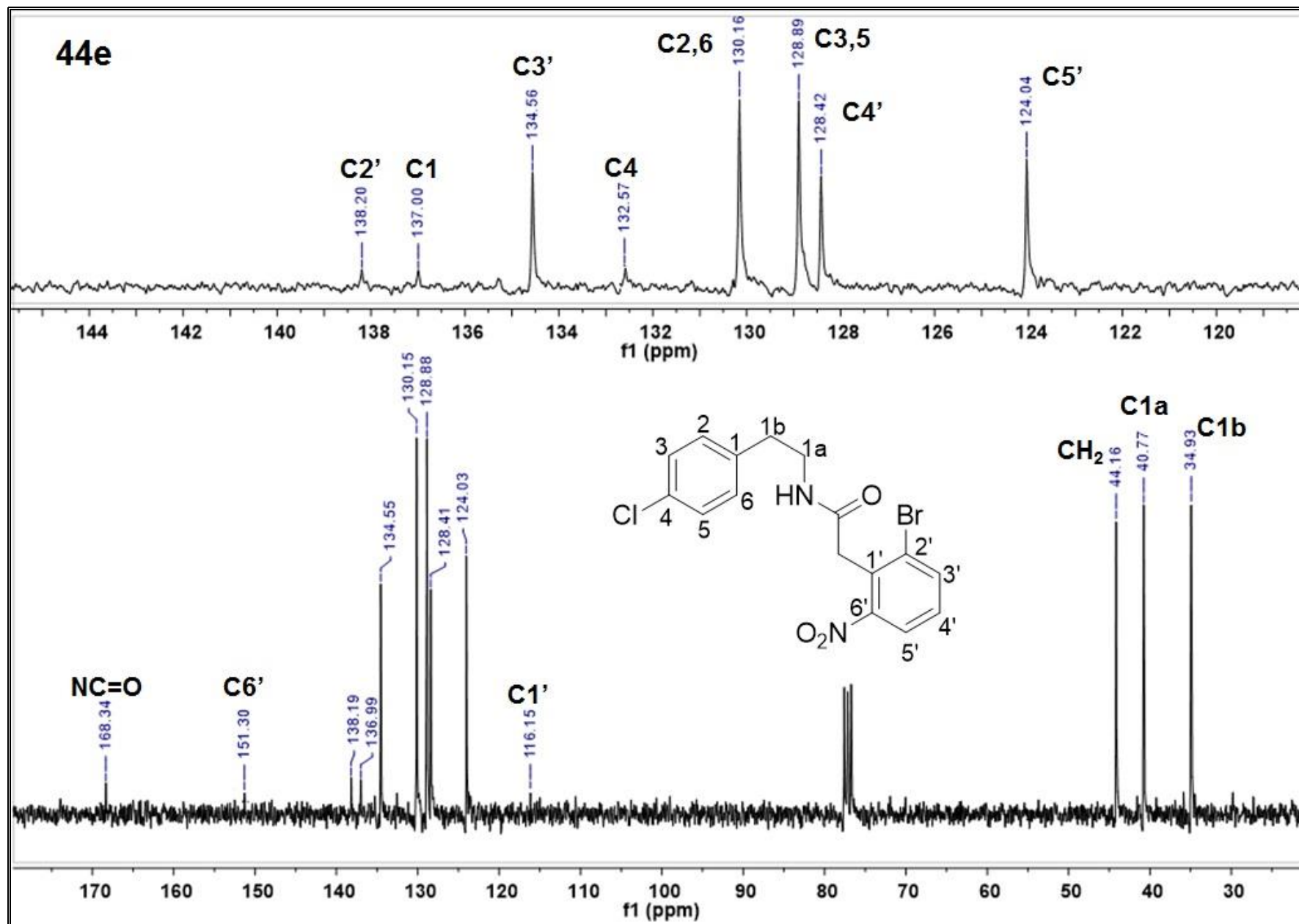
Anexo 24. Espectro de masa exacta del compuesto 44d.



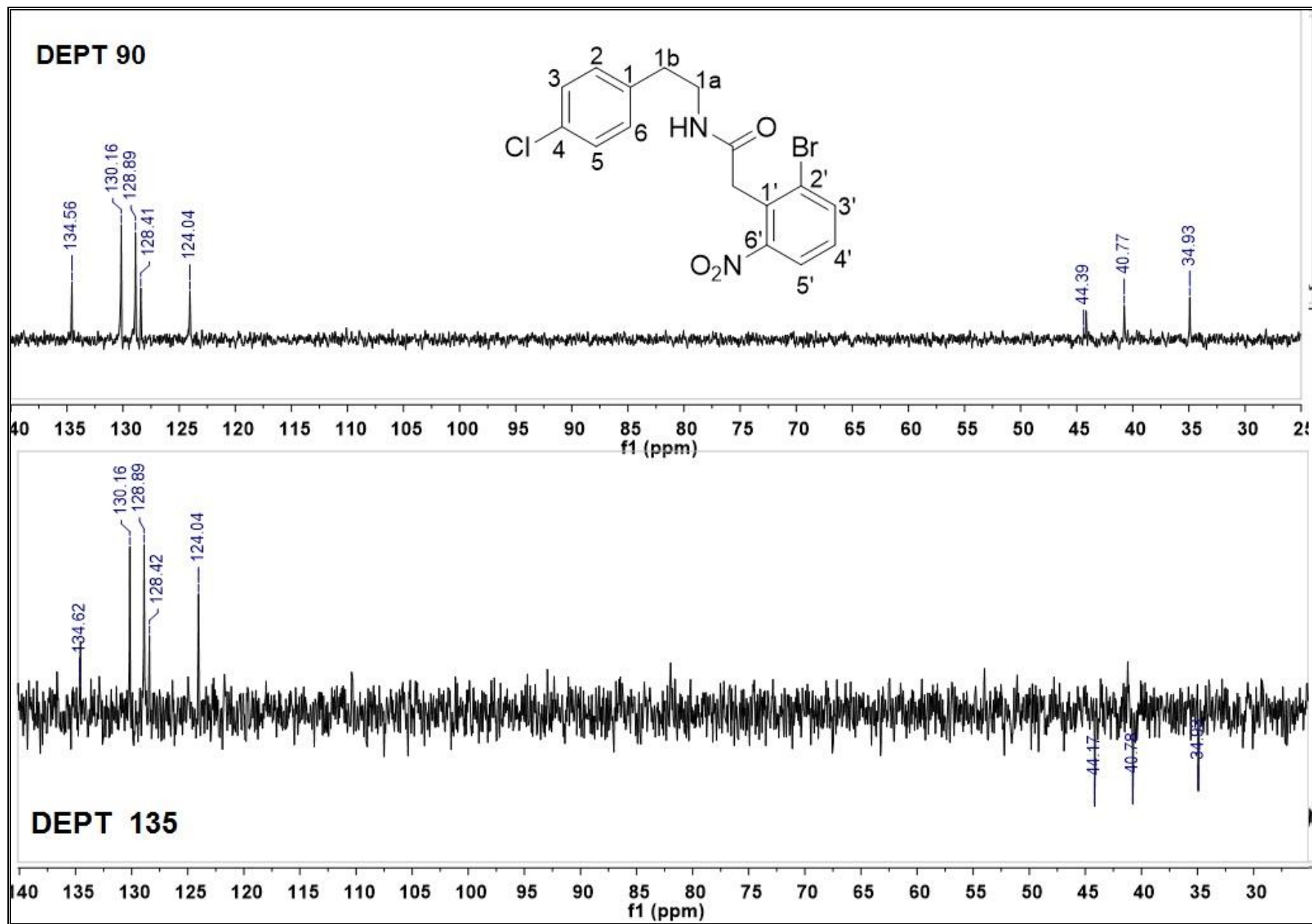
Anexo 25. Espectro de IR del compuesto 44d.



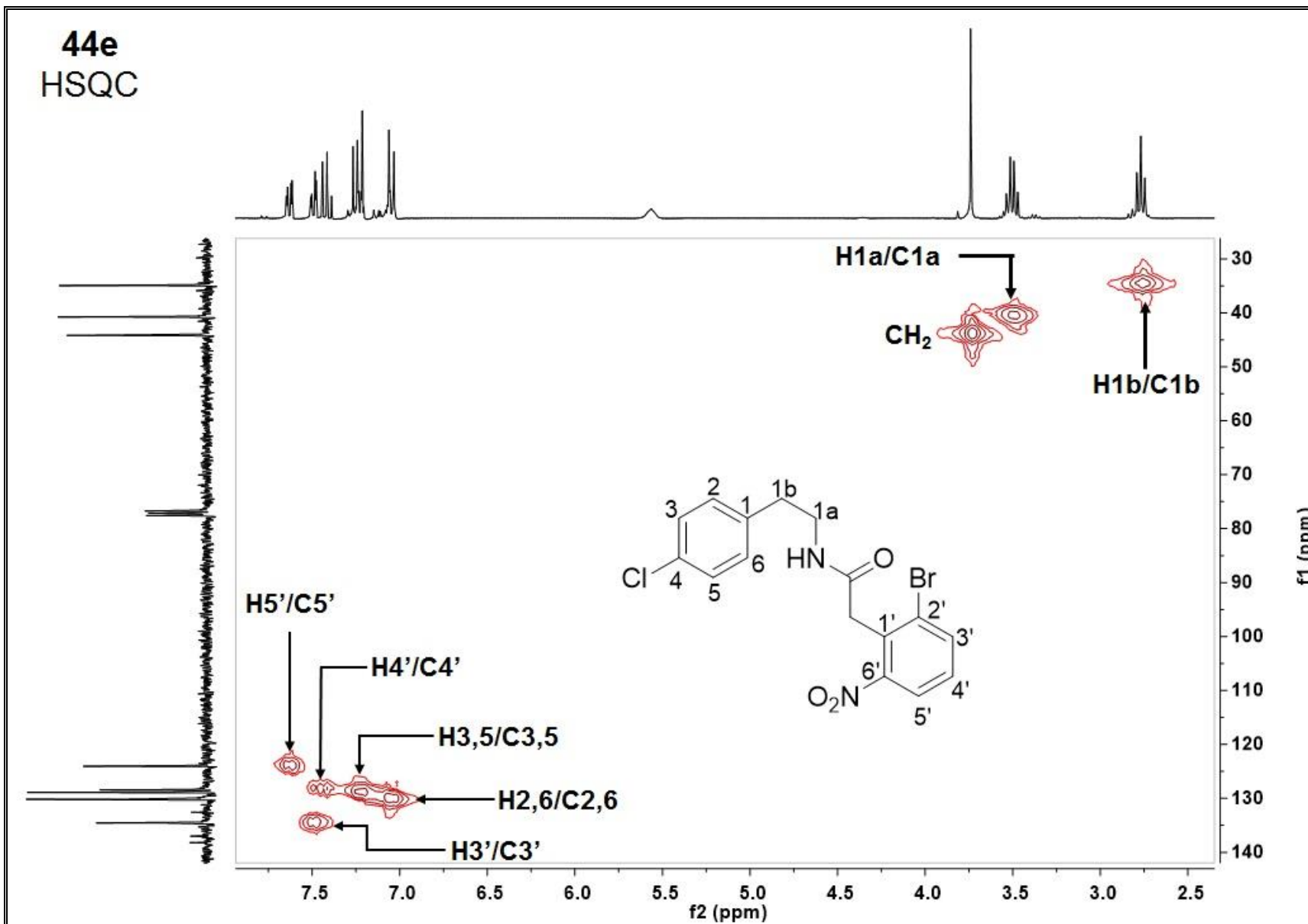
Anexo 26. Espectro de RMN ¹H (a 300 MHz, en CDCl₃) del compuesto **44e**.



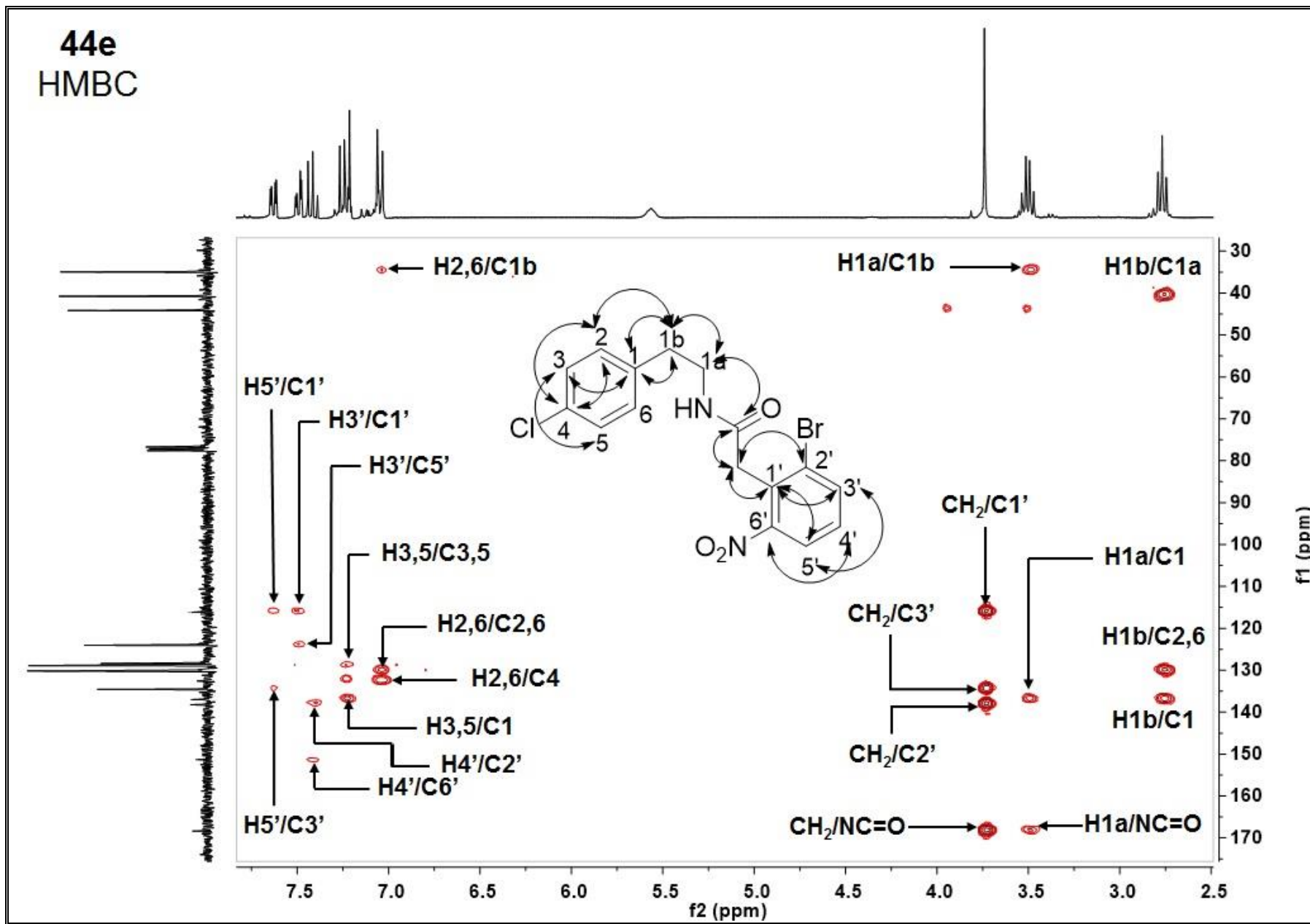
Anexo 27. Espectro de RMN ¹³C (a 75 MHz, en CDCl₃) del compuesto **44e**.



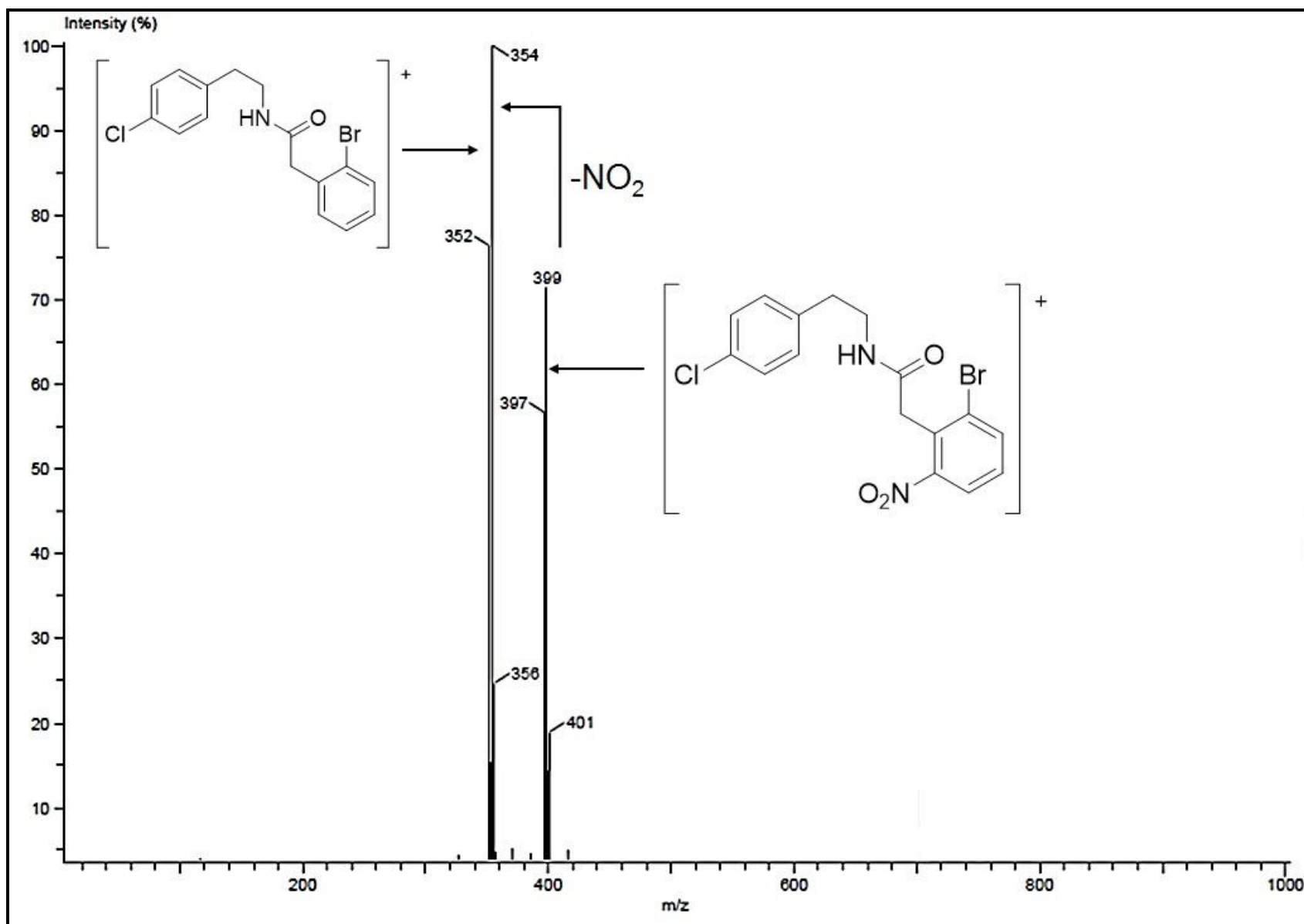
Anexo 28. Espectro DEPT 90 y DEPT 135 del compuesto **44e**.



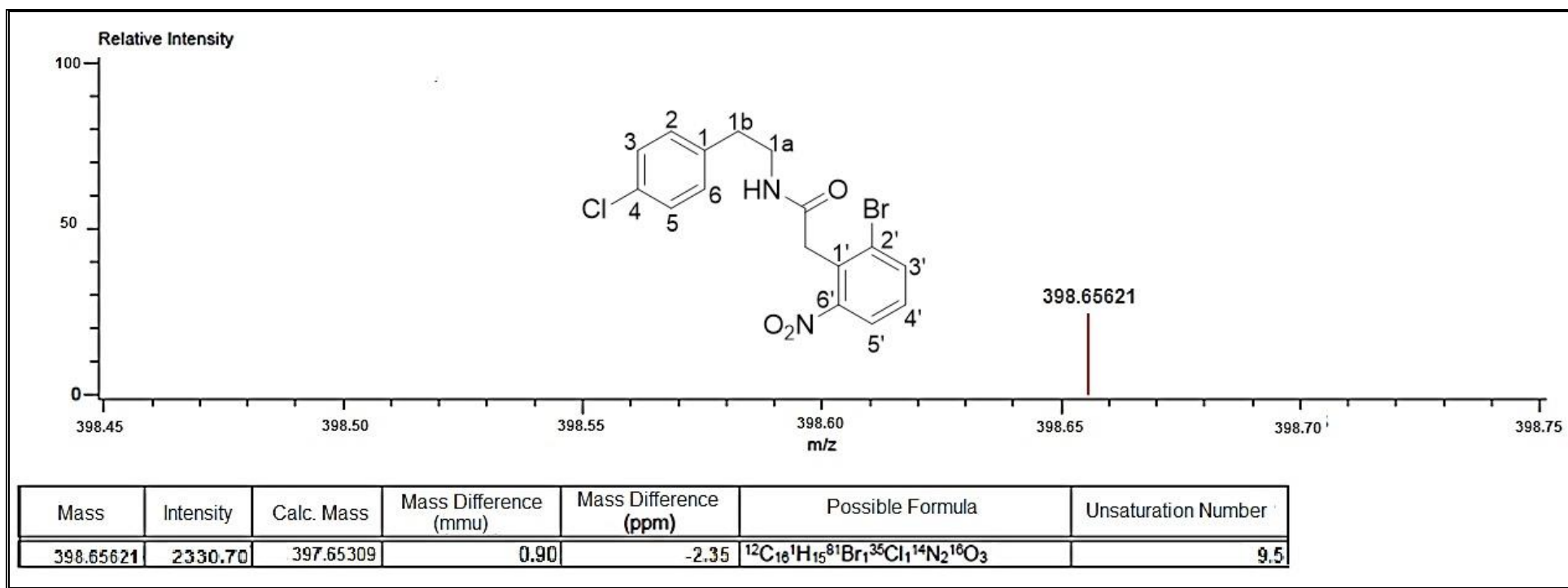
Anexo 29. Espectro de correlación bi-dimensional HSQC del compuesto 44e.



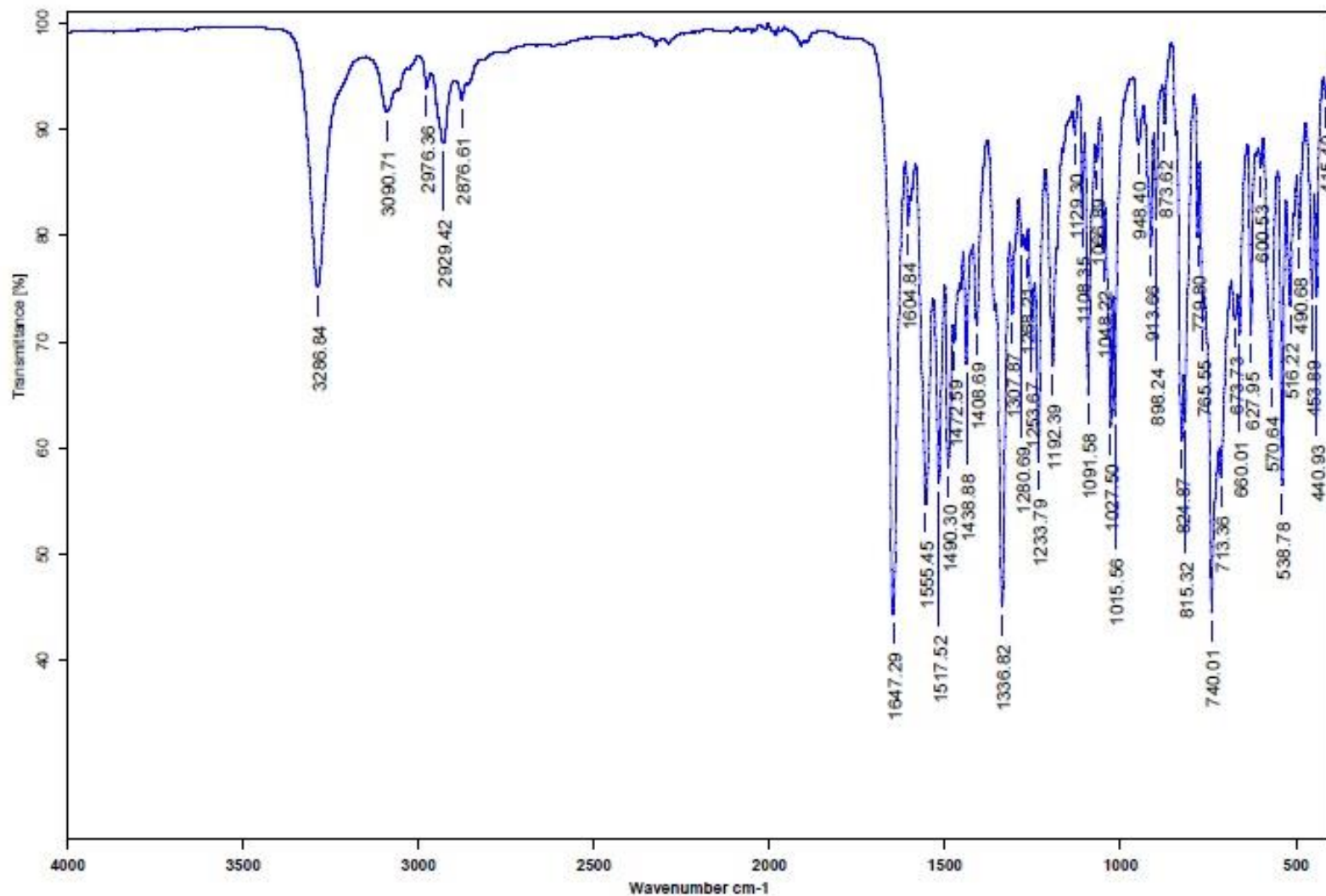
Anexo 30. Espectro de correlacion bi-dimensional HMBC del compuesto 44e.



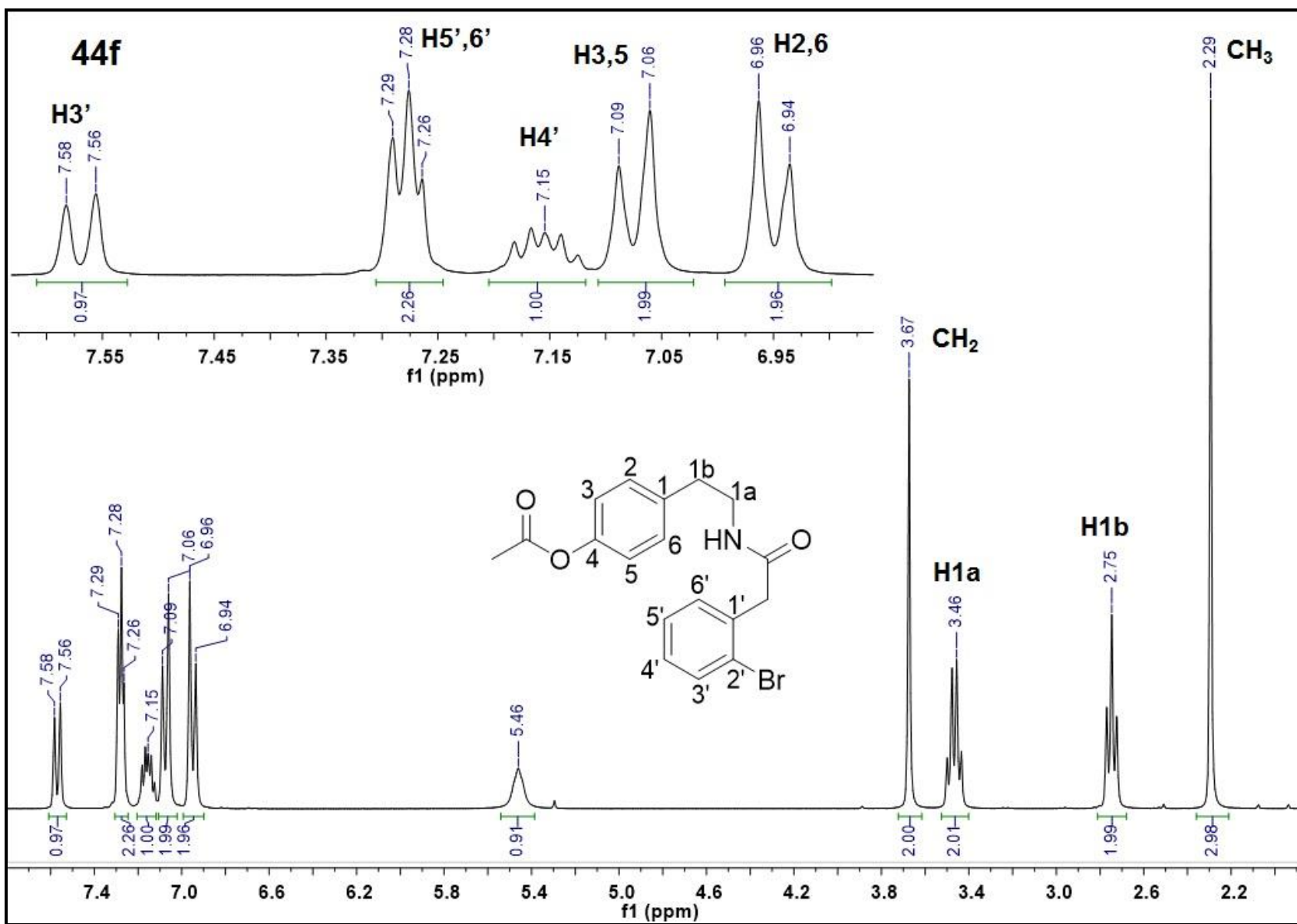
Anexo 31. Espectro de masas (DART) baja resolución del compuesto 44e.



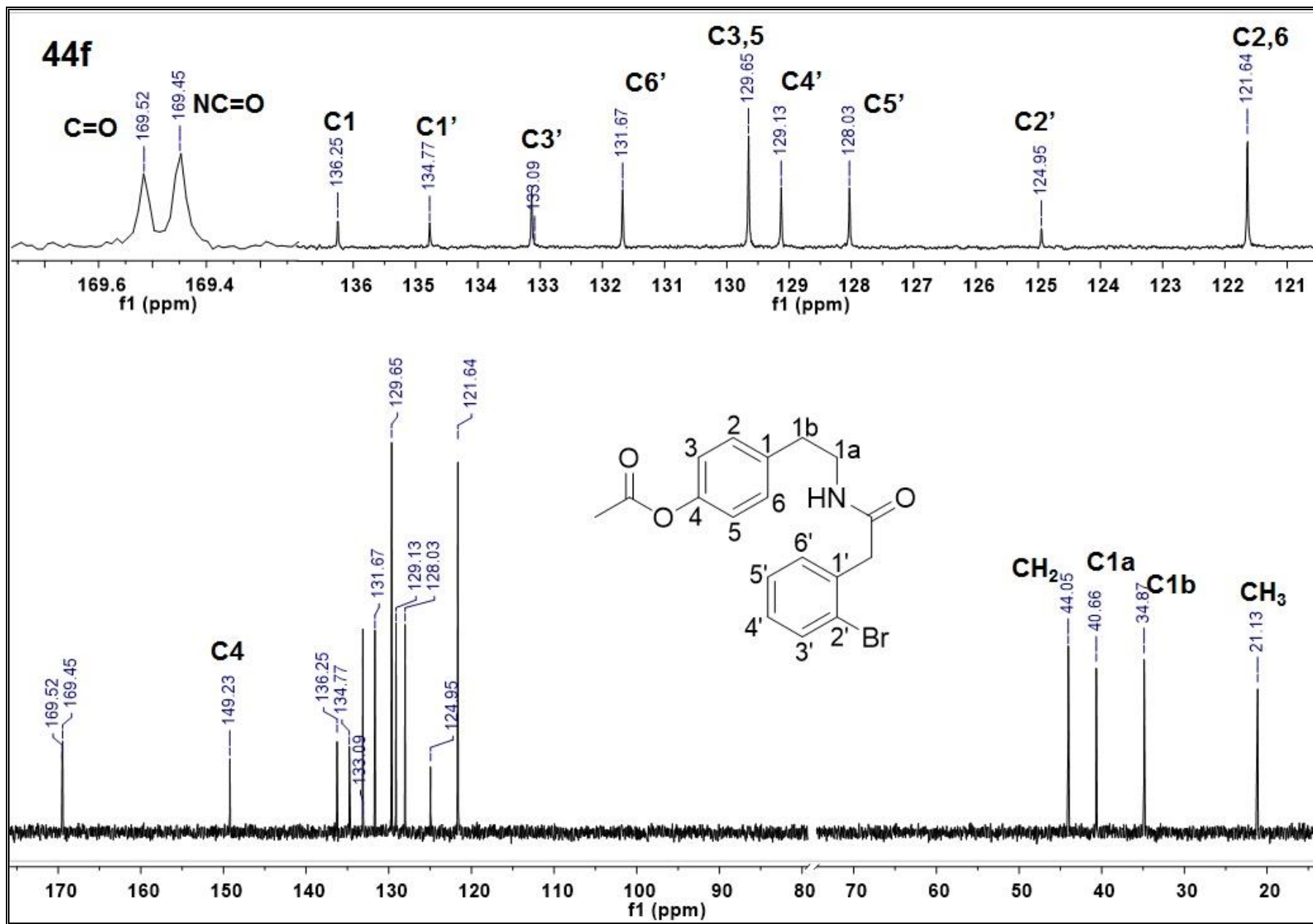
Anexo 32. Espectro de masa exacta del compuesto 44e



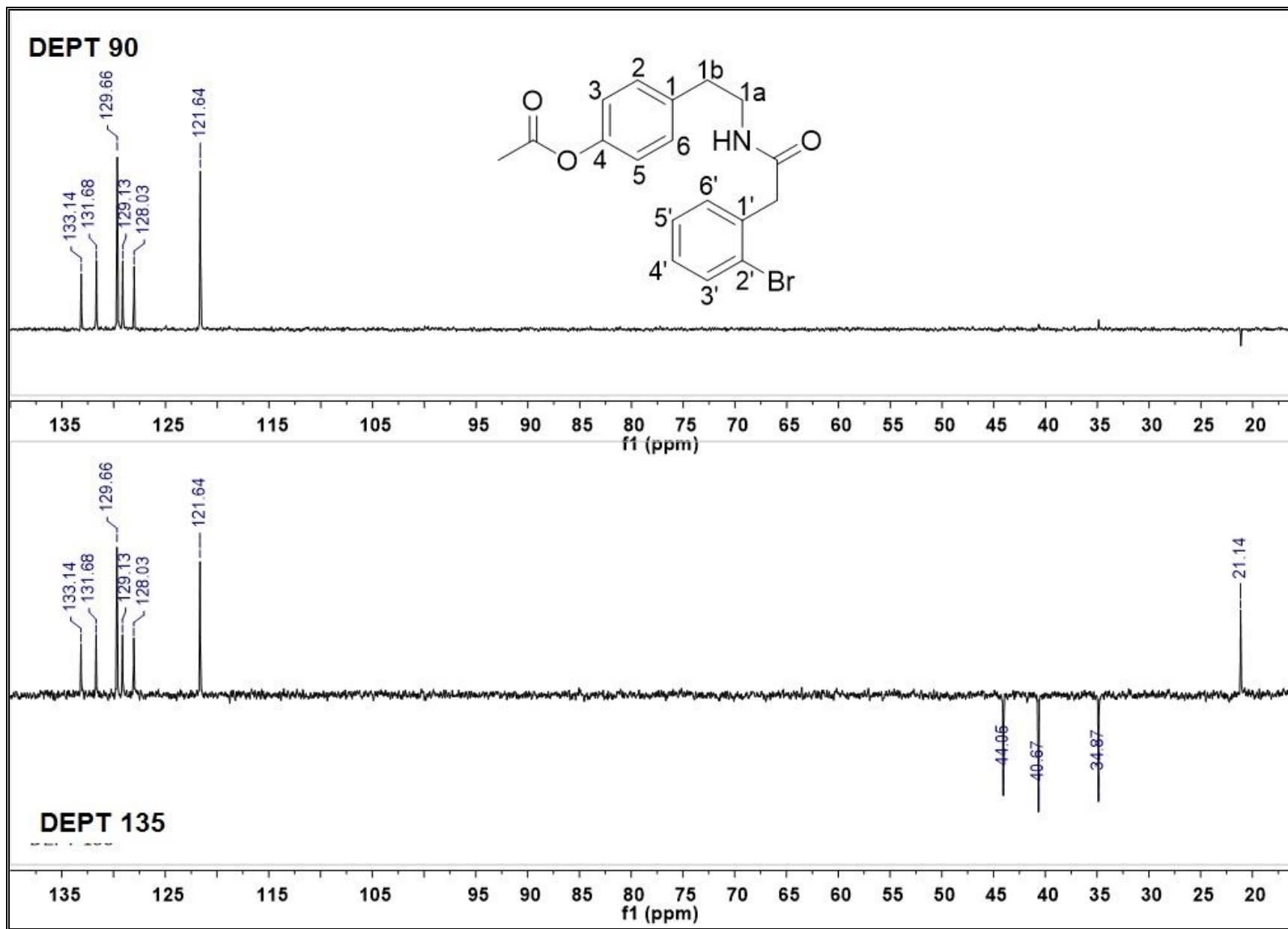
Anexo 33. Espectro de IR del compuesto 44e



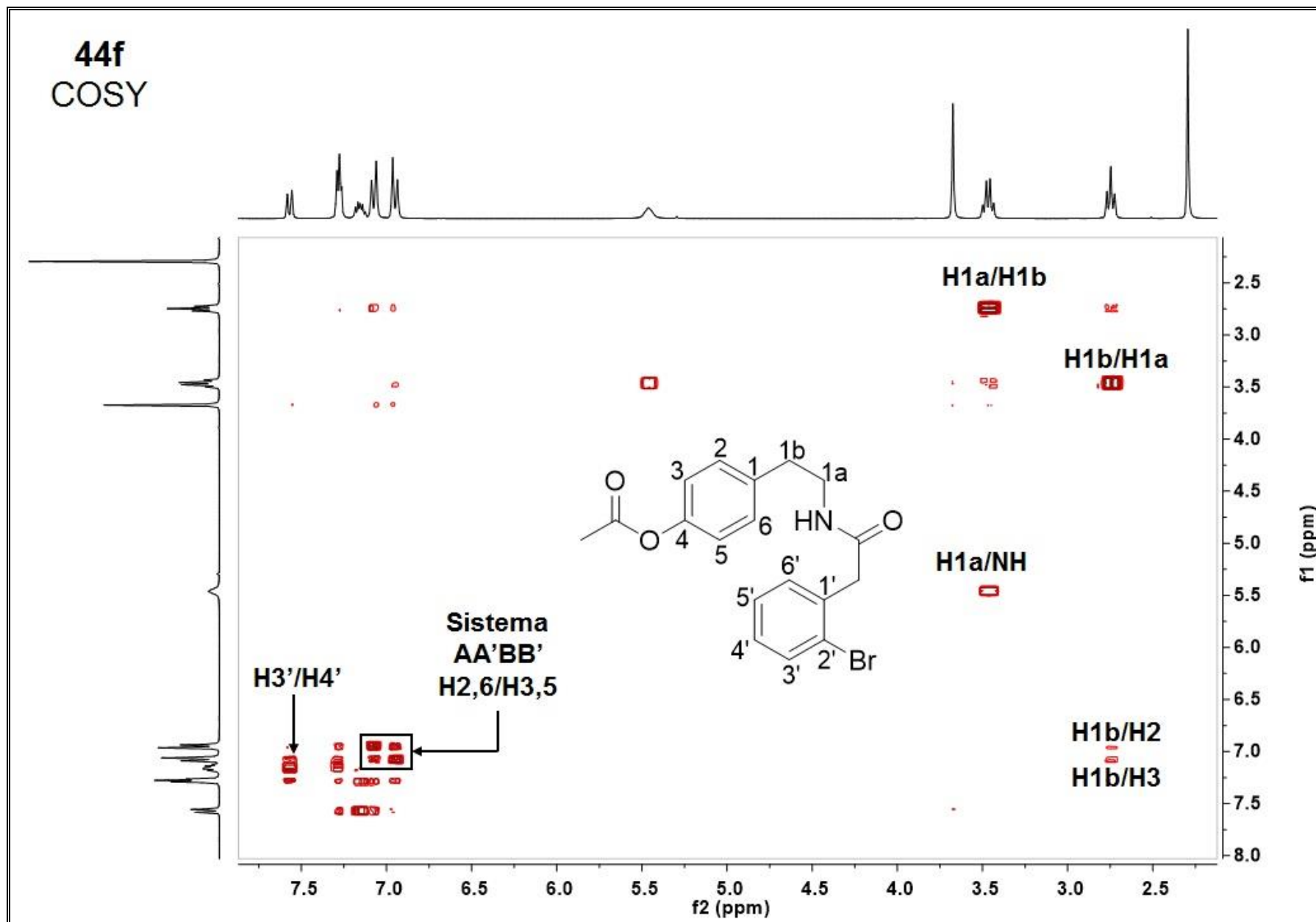
Anexo 34. Espectro de RMN ¹H (a 300 MHz, en CDCl₃) del compuesto 44f.



Anexo 35. Espectro de RMN ¹³C (a 75 MHz, en CDCl₃) del compuesto 44f.

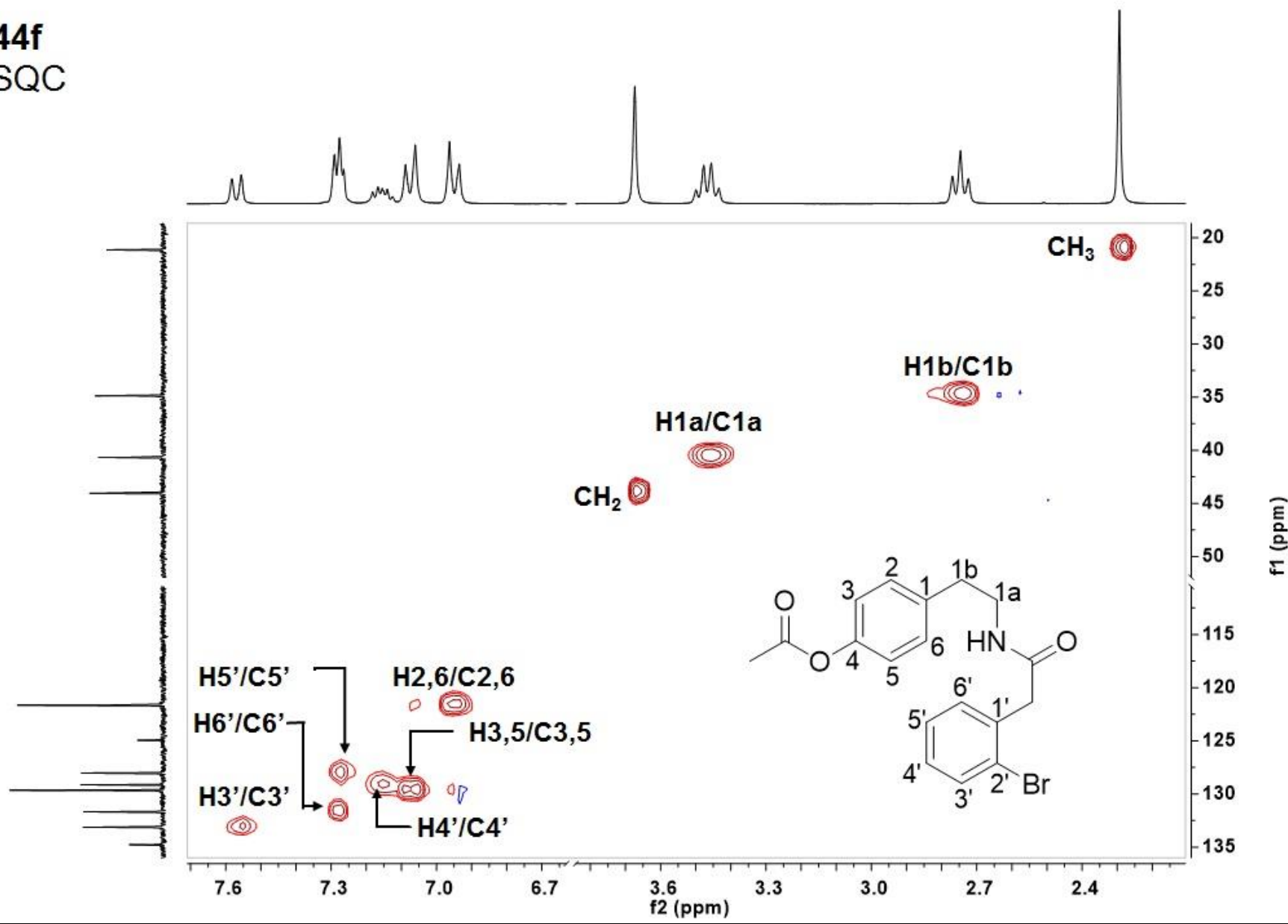


Anexo 36. Espectro DEPT 135 del compuesto 44f.



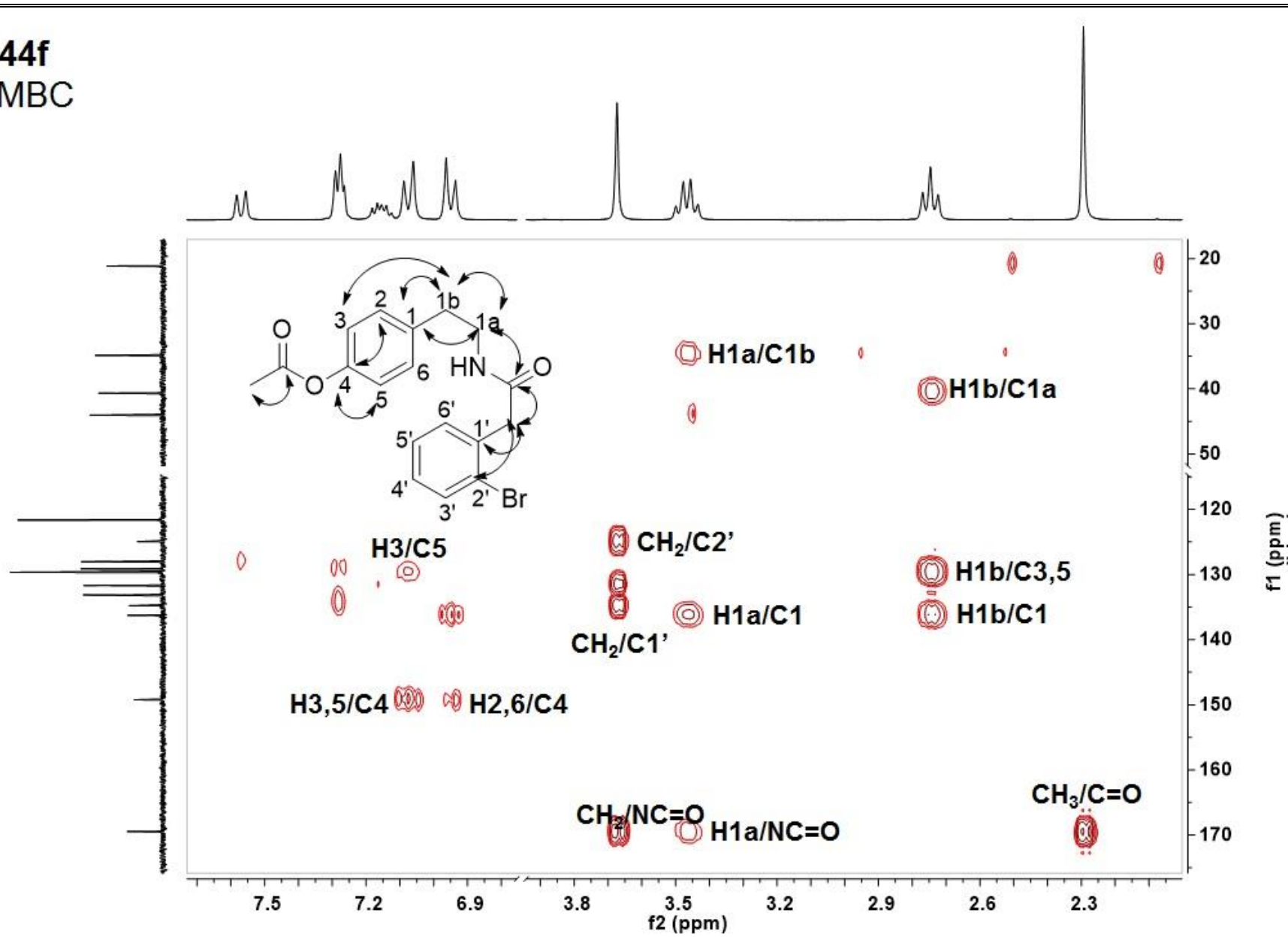
Anexo 37. Espectro de correlación bi-dimensional COSY del compuesto 44f.

44f
HSQC

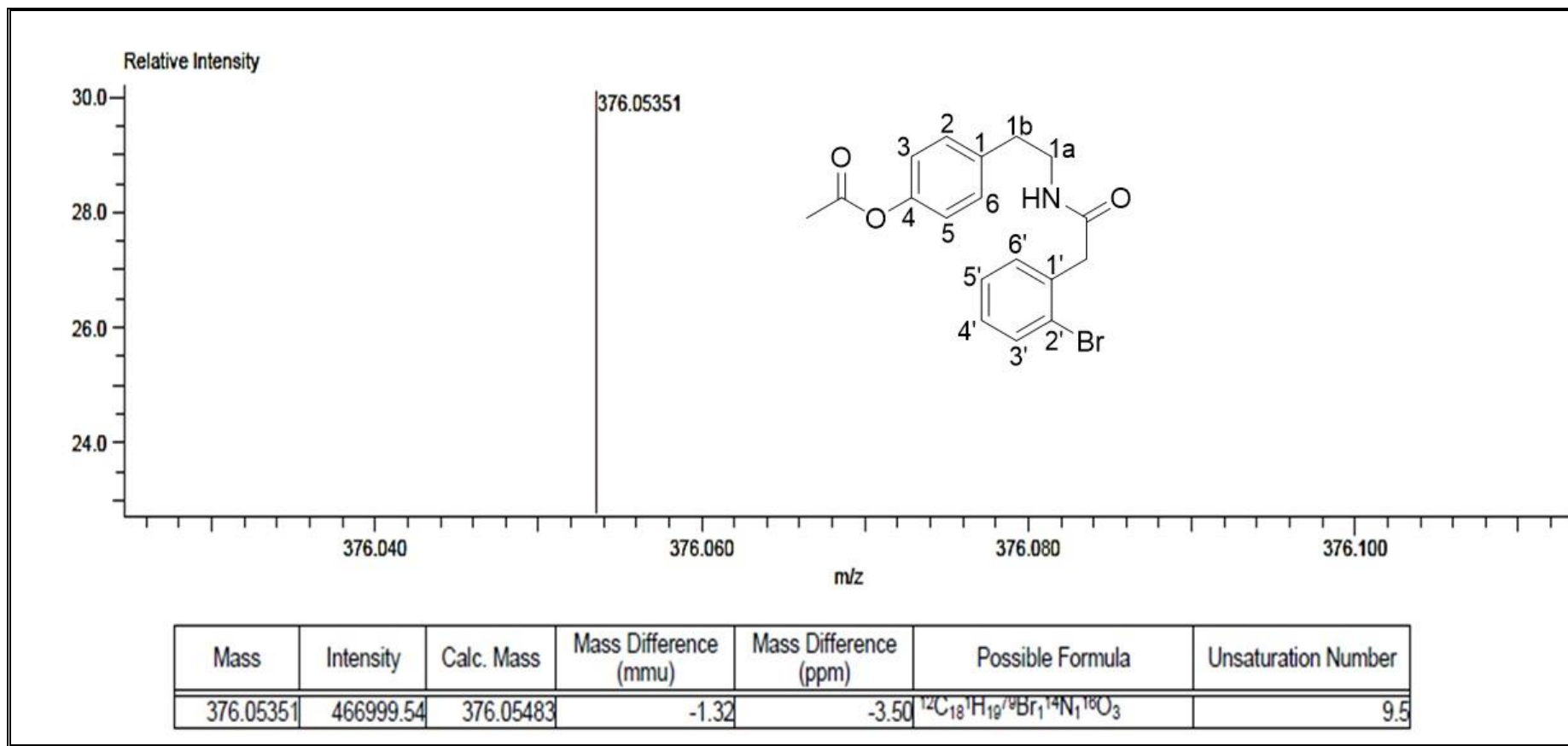


Anexo 38. Espectro de correlación bi-dimensional HSQC del compuesto 44f.

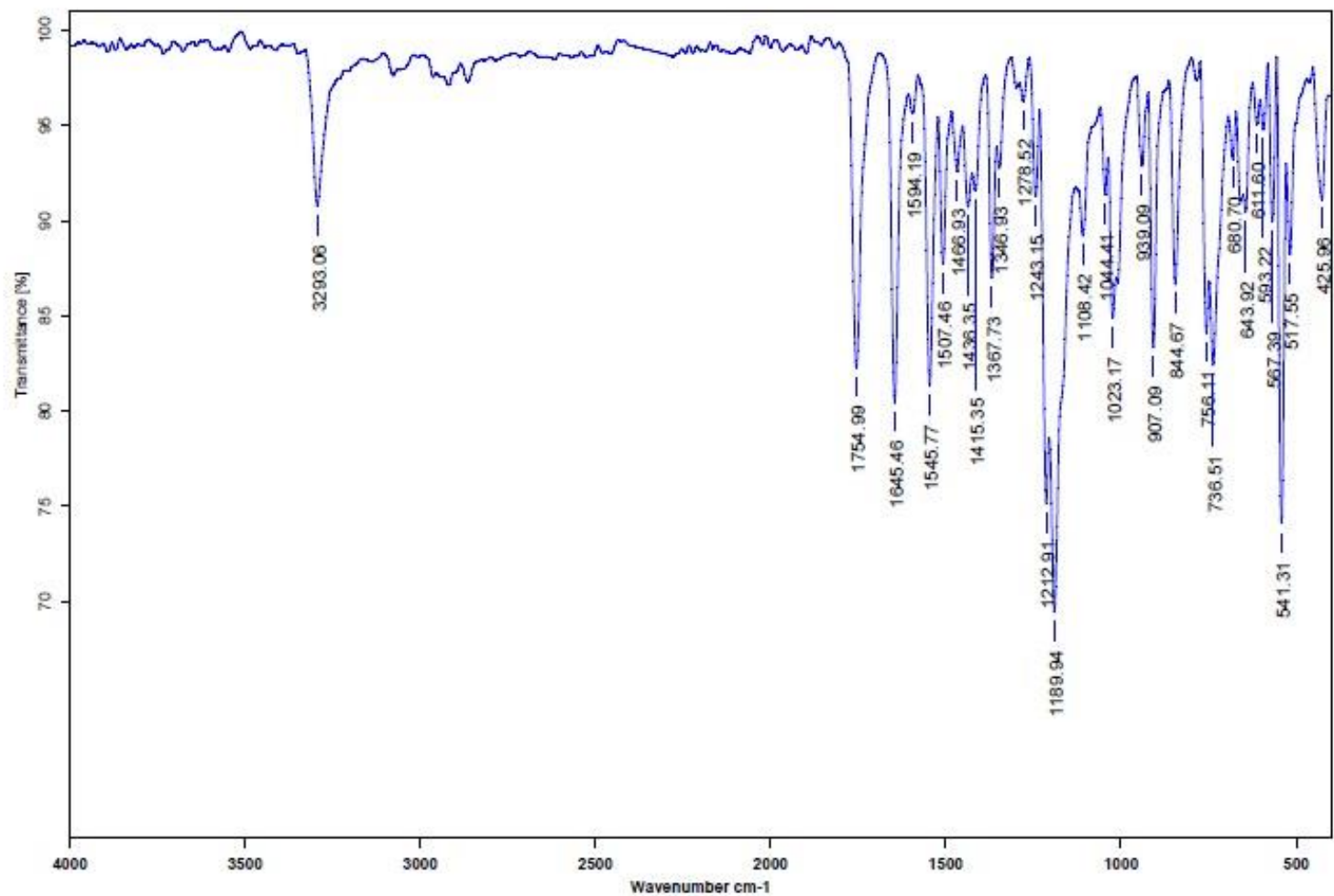
44f
HMBC



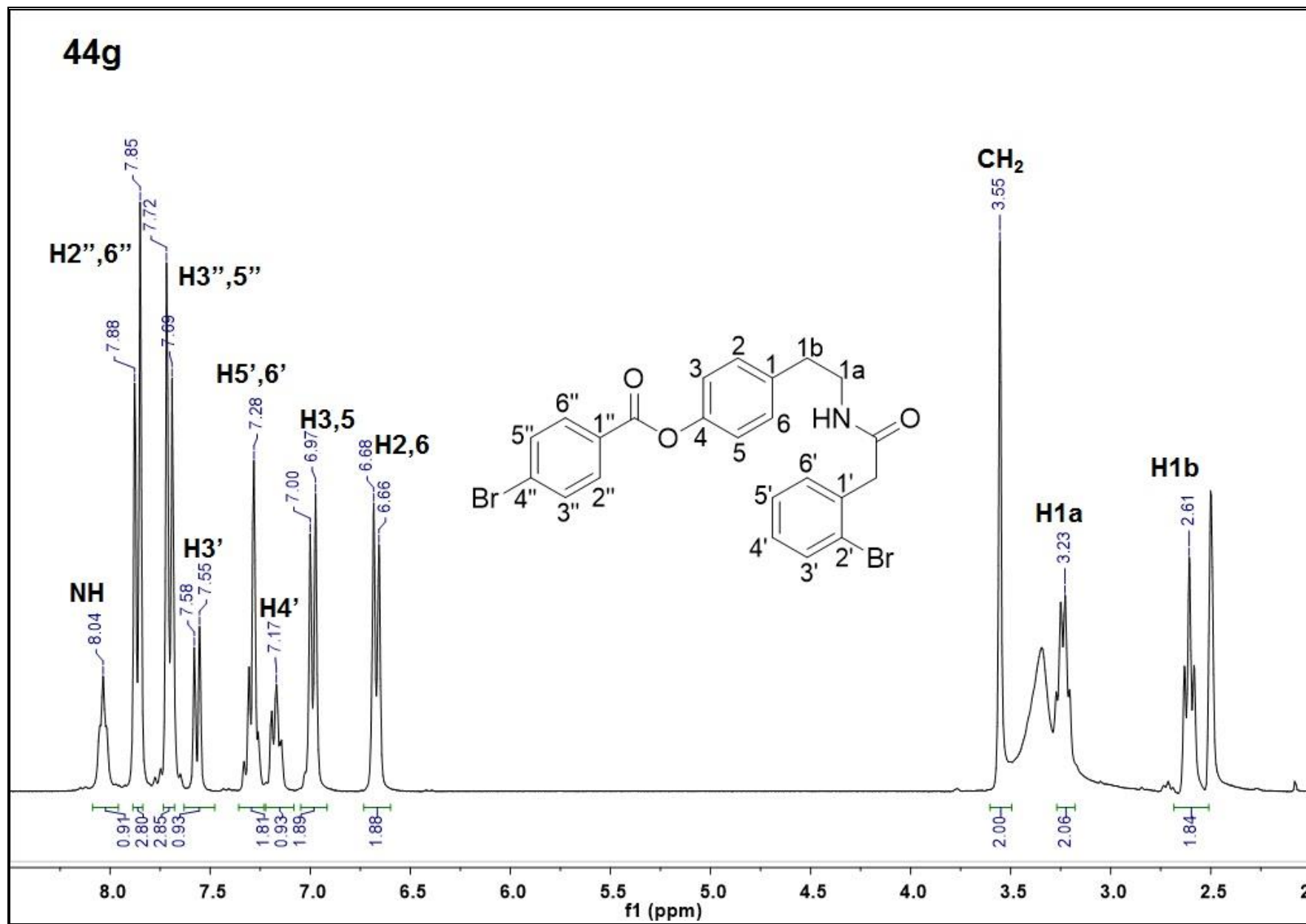
Anexo 39. Espectro de correlación bi-dimensional HMBC del compuesto 44f.



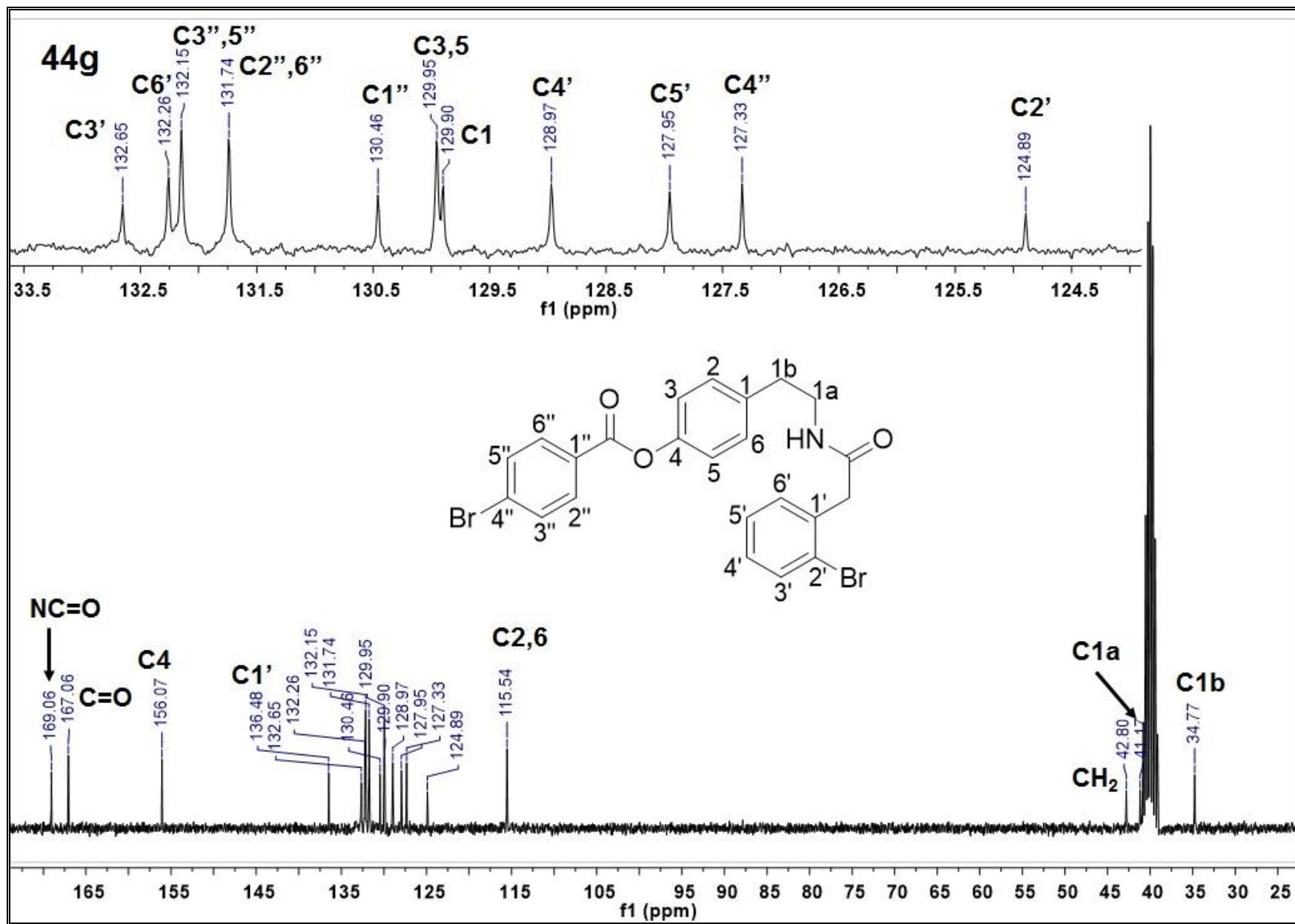
Anexo 40. Espectro de masa exacta del compuesto 44f.



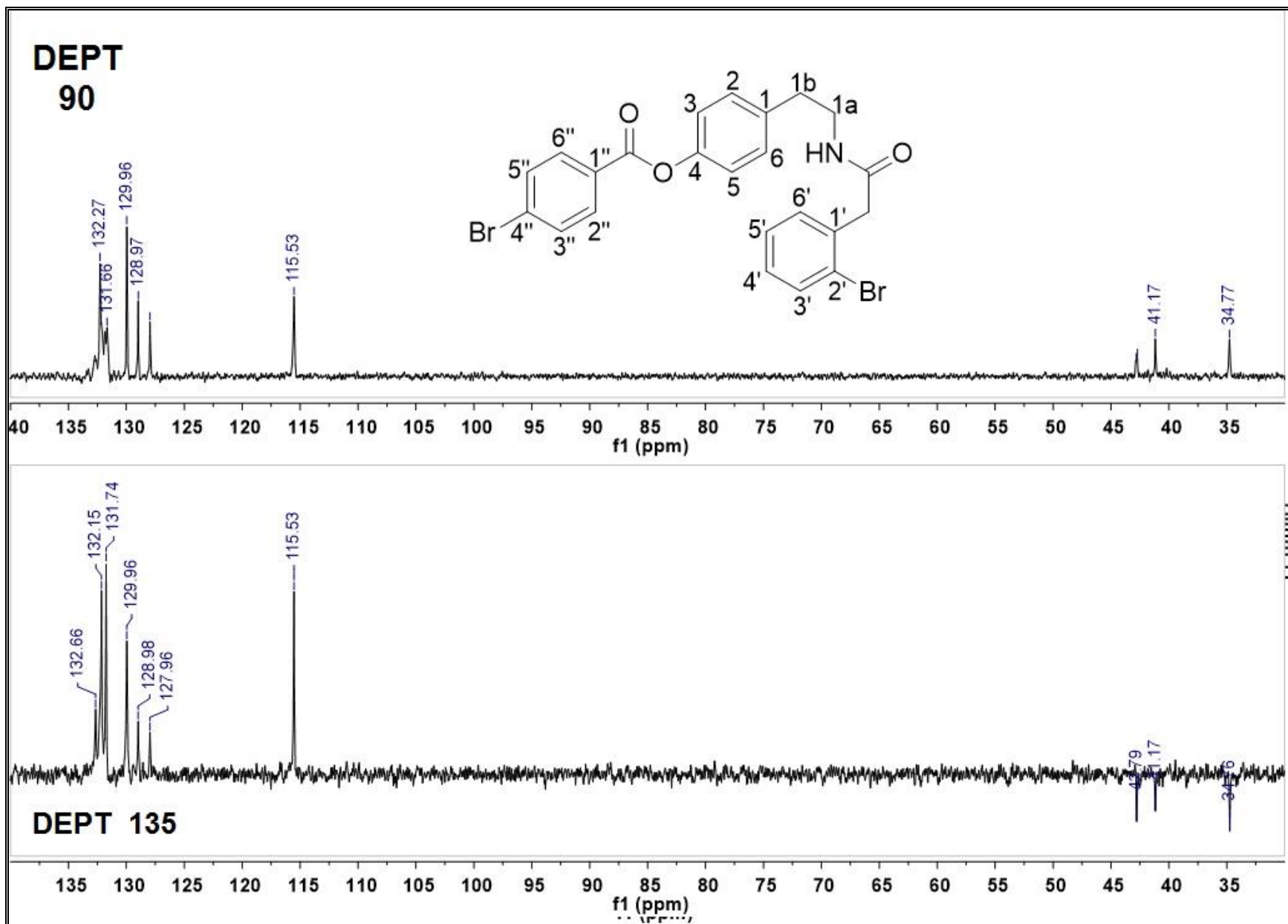
Anexo 41. Espectro de IR del compuesto 44f



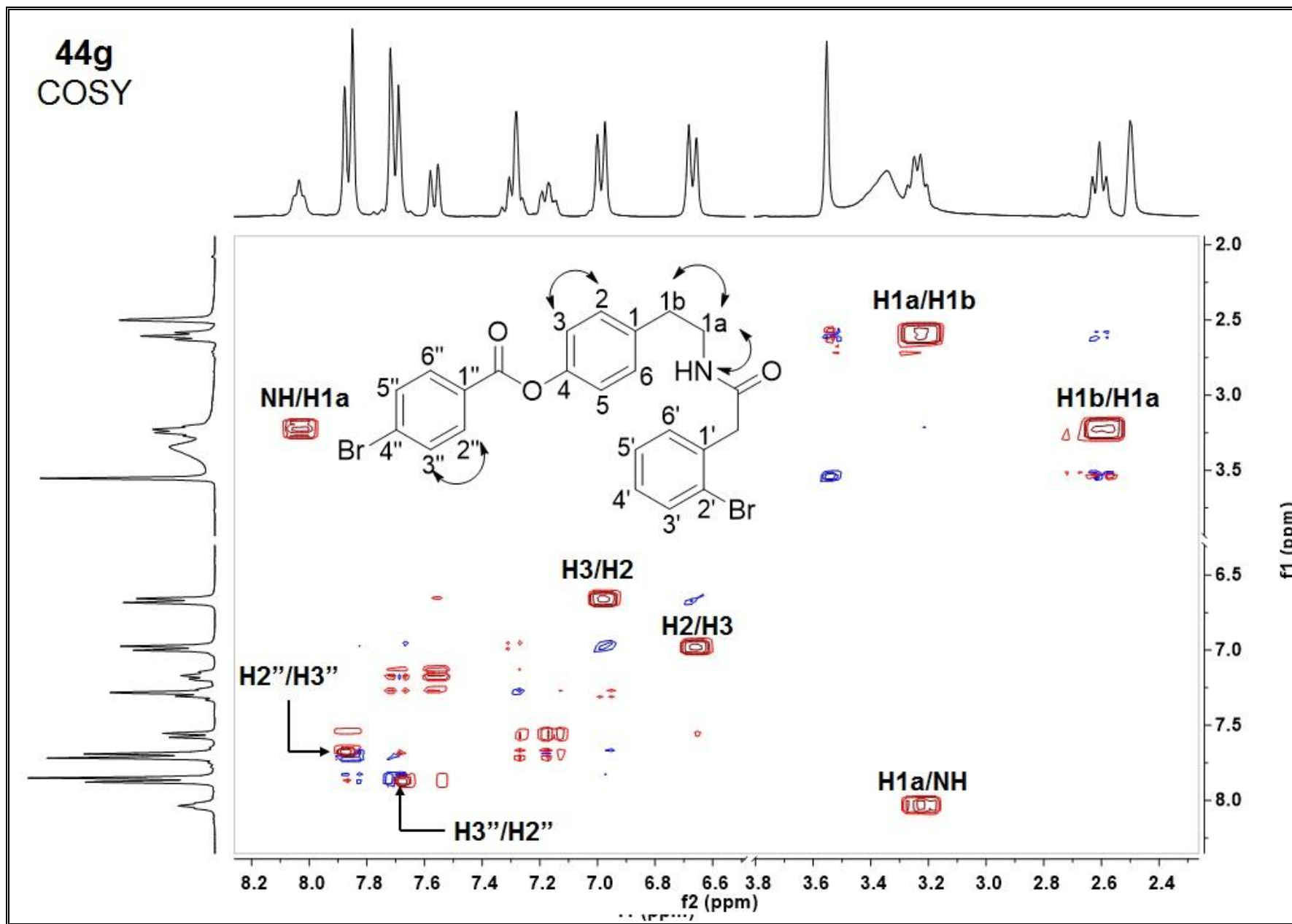
Anexo 42. Espectro de RMN ¹H (a 300 MHz, en CDCl₃) del compuesto **44g**.



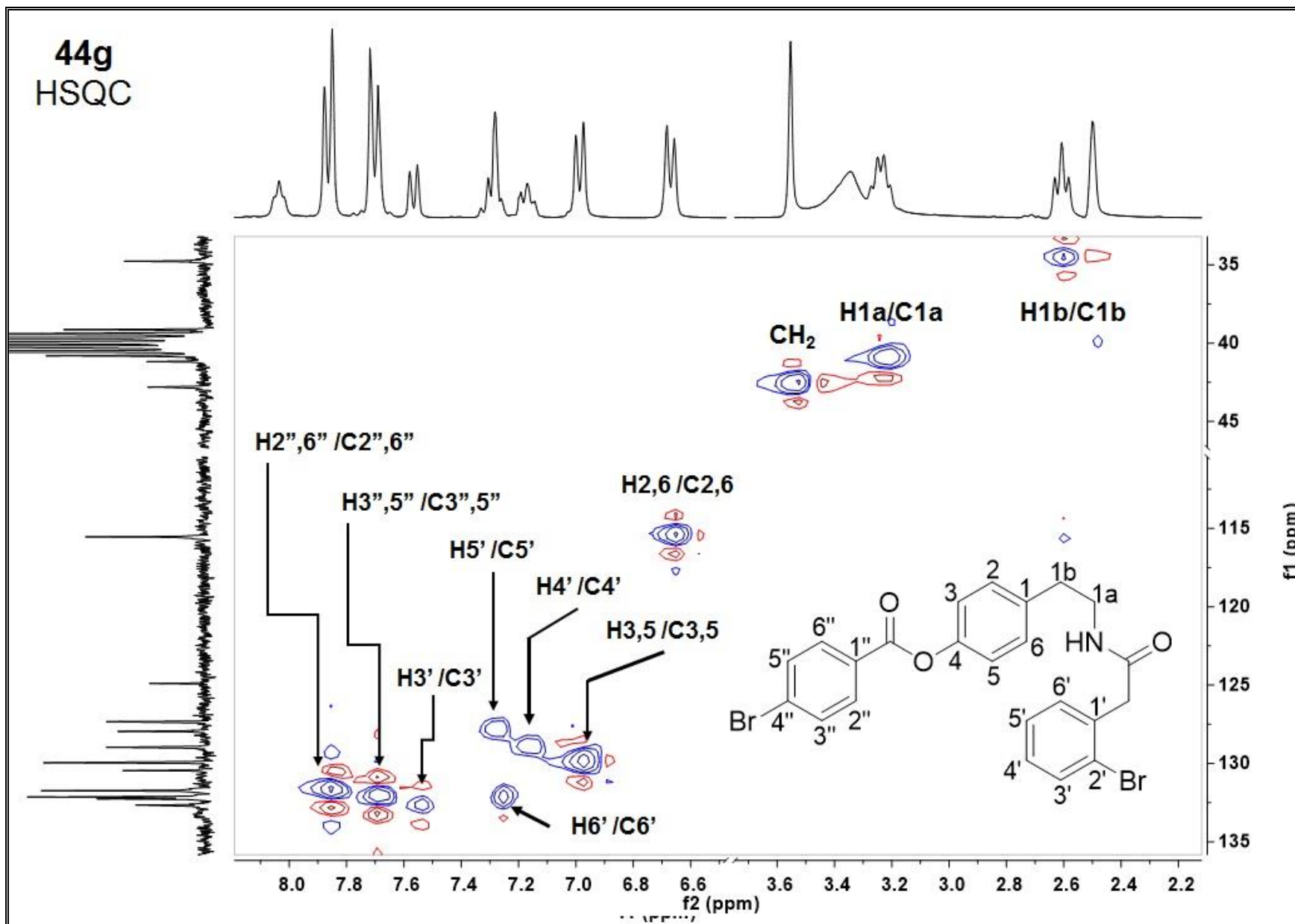
Anexo 43. Espectro de RMN ¹³C (a 75 MHz, en CDCl₃) de compuesto **44g**.



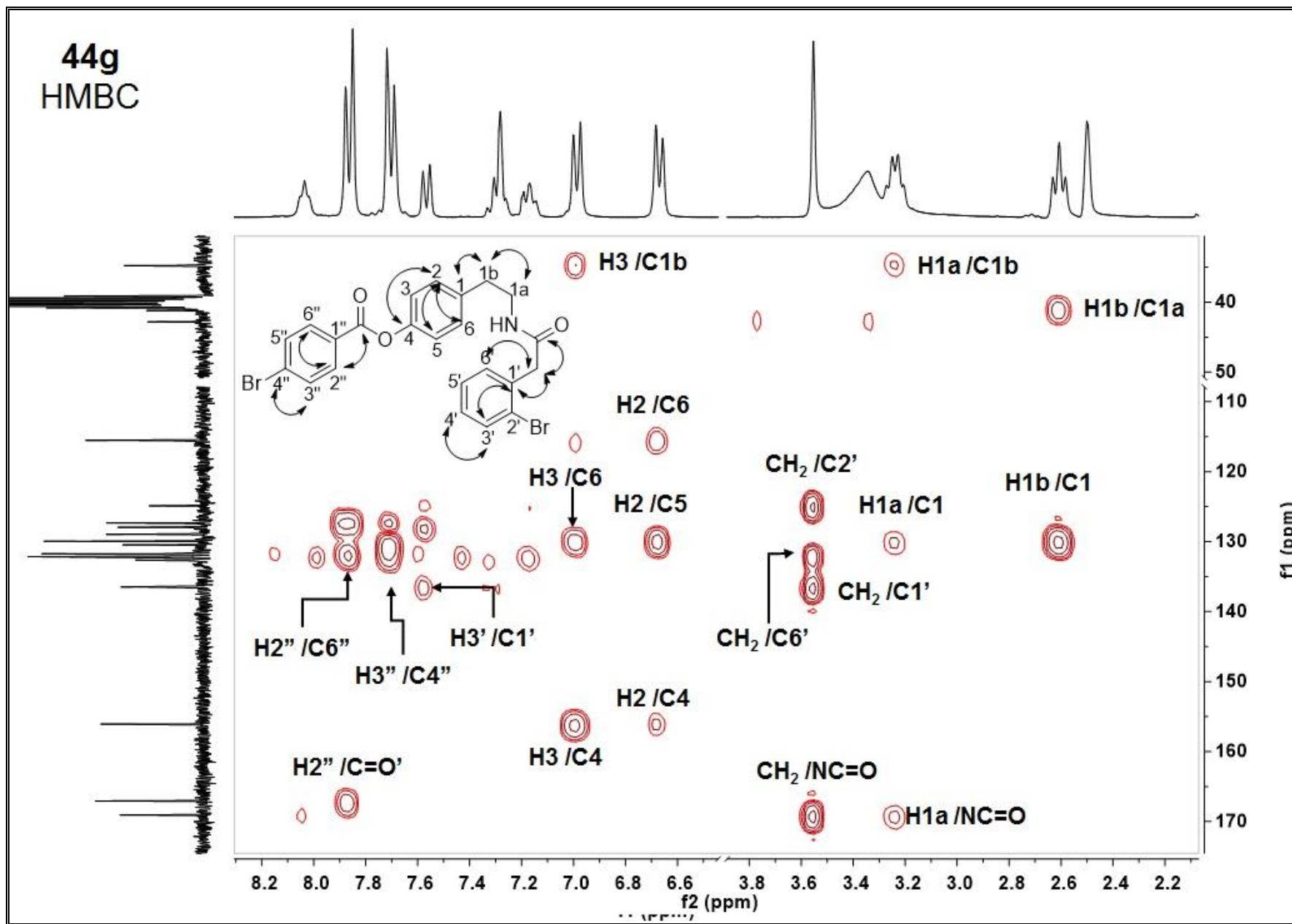
Anexo 44. Espectro DEP 90 y DEPT 135 del compuesto 44g.



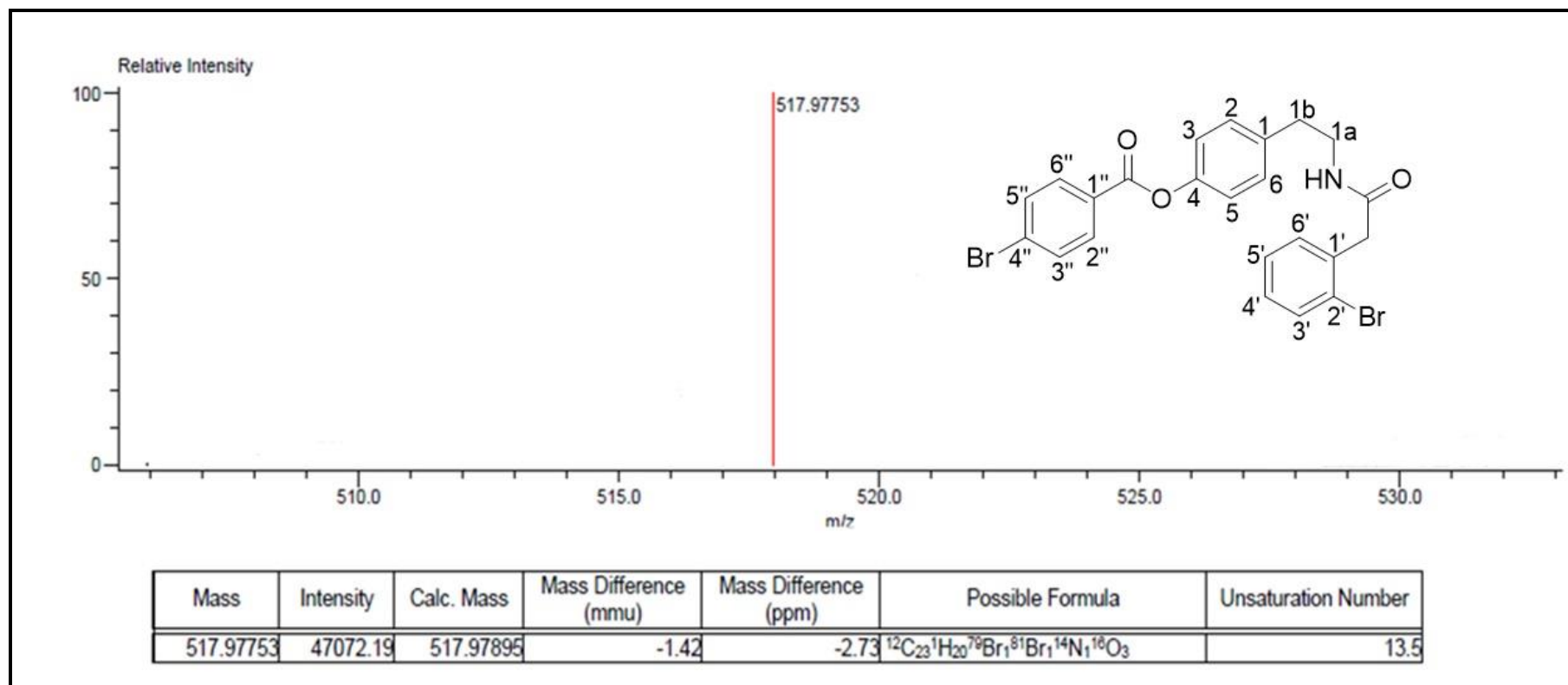
Anexo 45. Espectro de correlación bi-dimensional COSY del compuesto 44g.



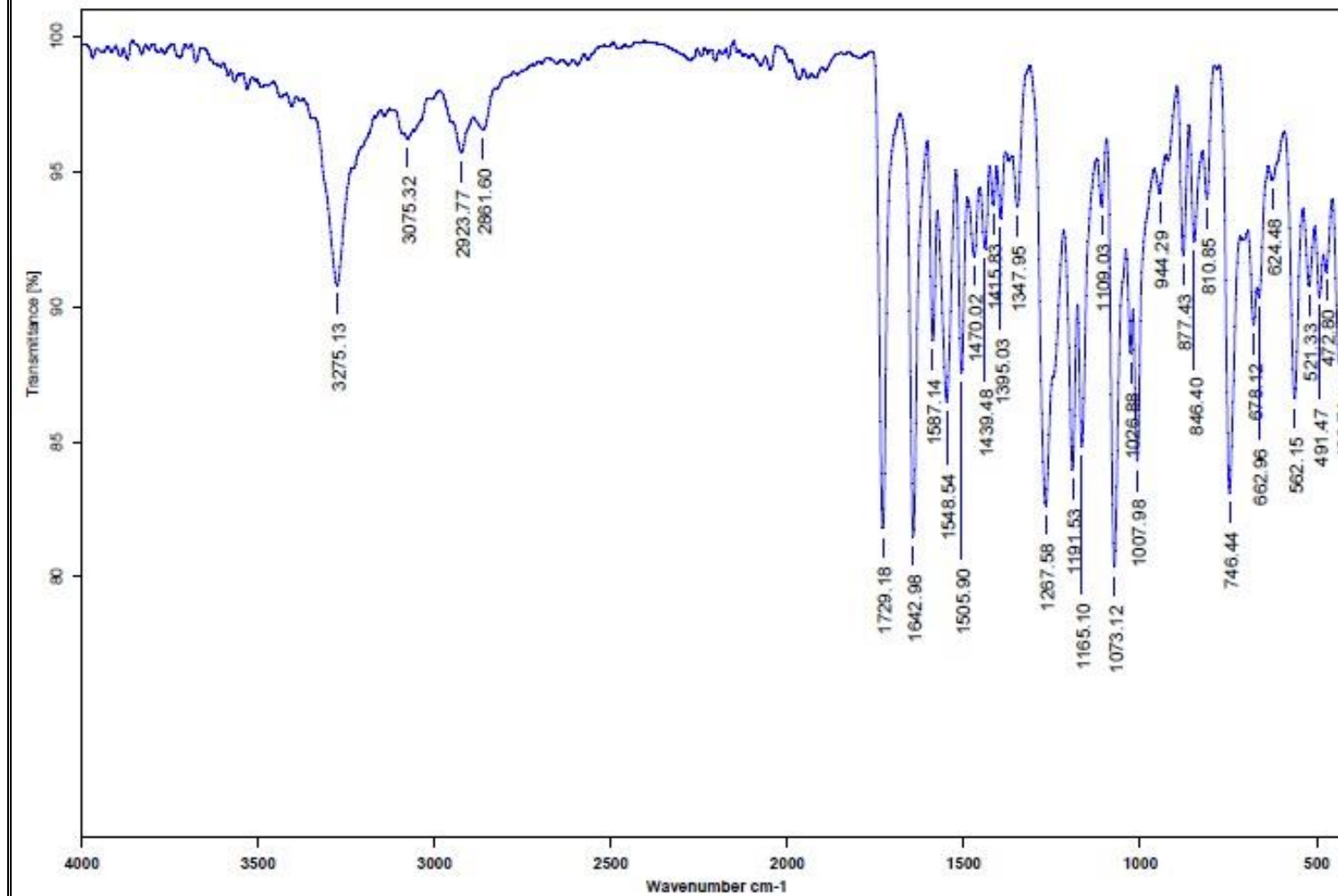
Anexo 46. Espectro de correlación bi-dimensional HSQC del compuesto 44g.



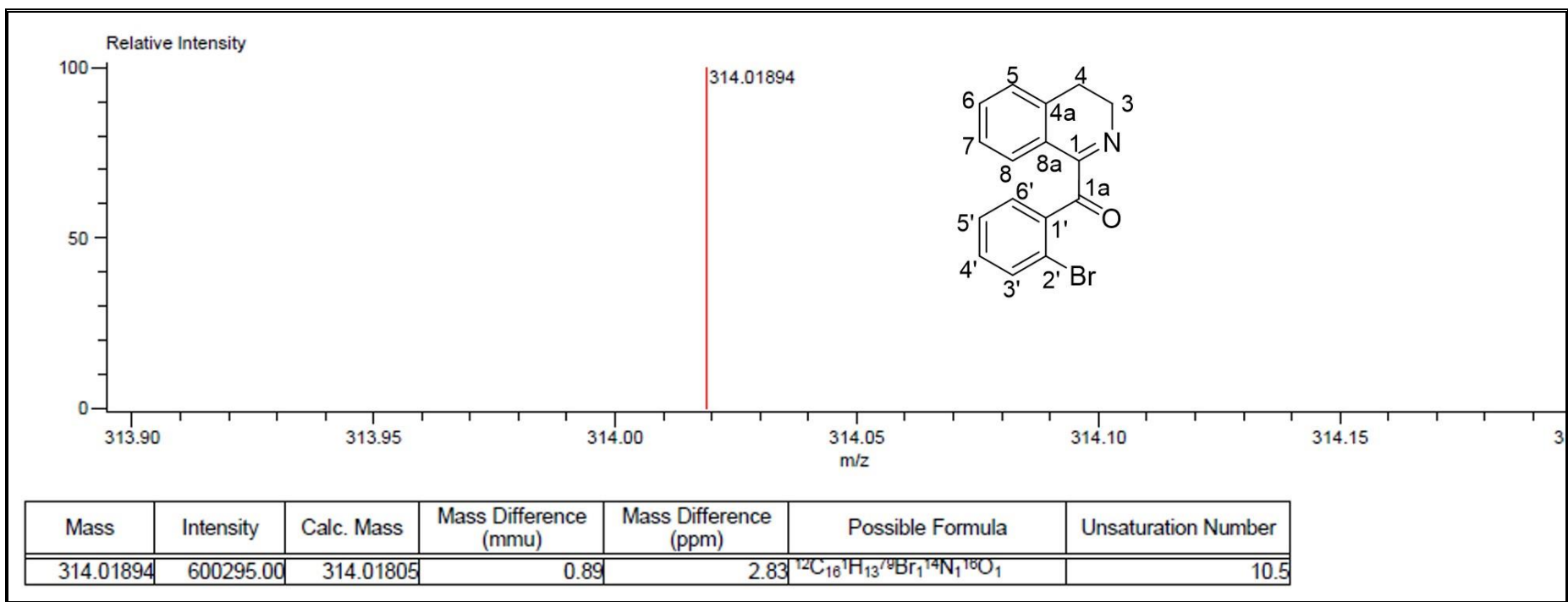
Anexo 47. Espectro de correlación bi-dimensional HSQC del compuesto 44g.



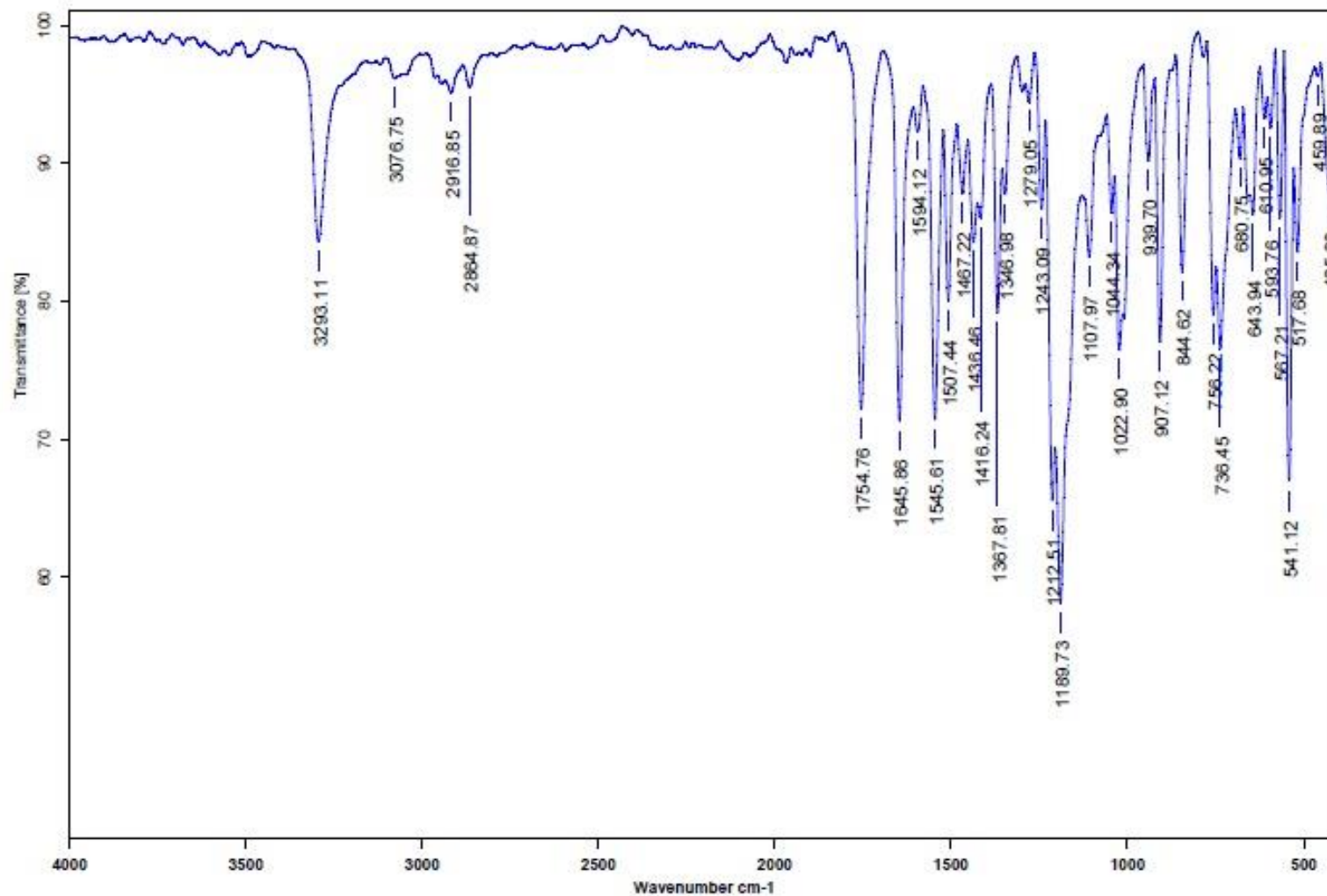
Anexo 48. Espectro de masa exacta del compuesto 44g.



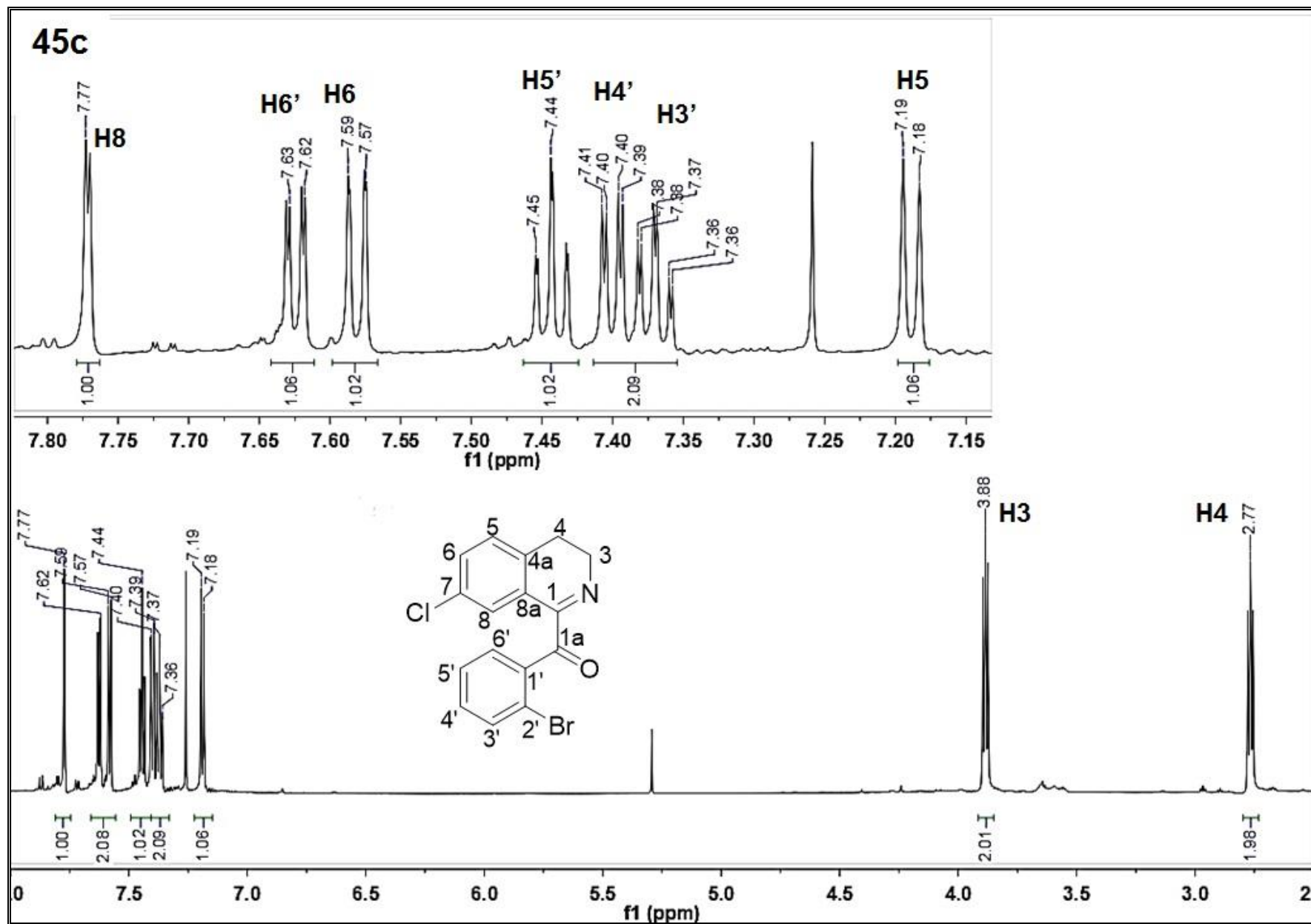
Anexo 49. Espectro de IR del compuesto 44g



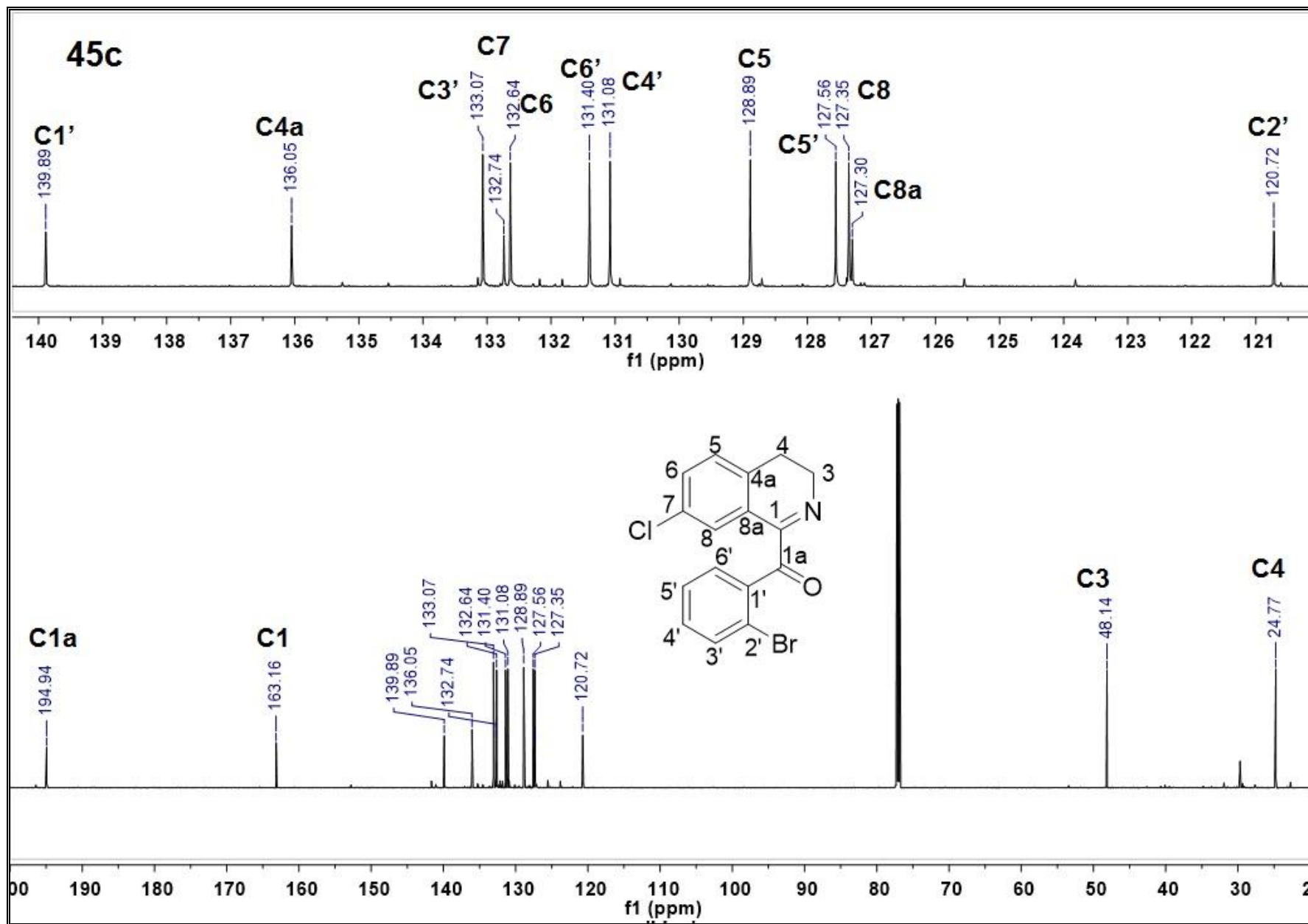
Anexo 50. Espectro de masa exacta del compuesto 45a.



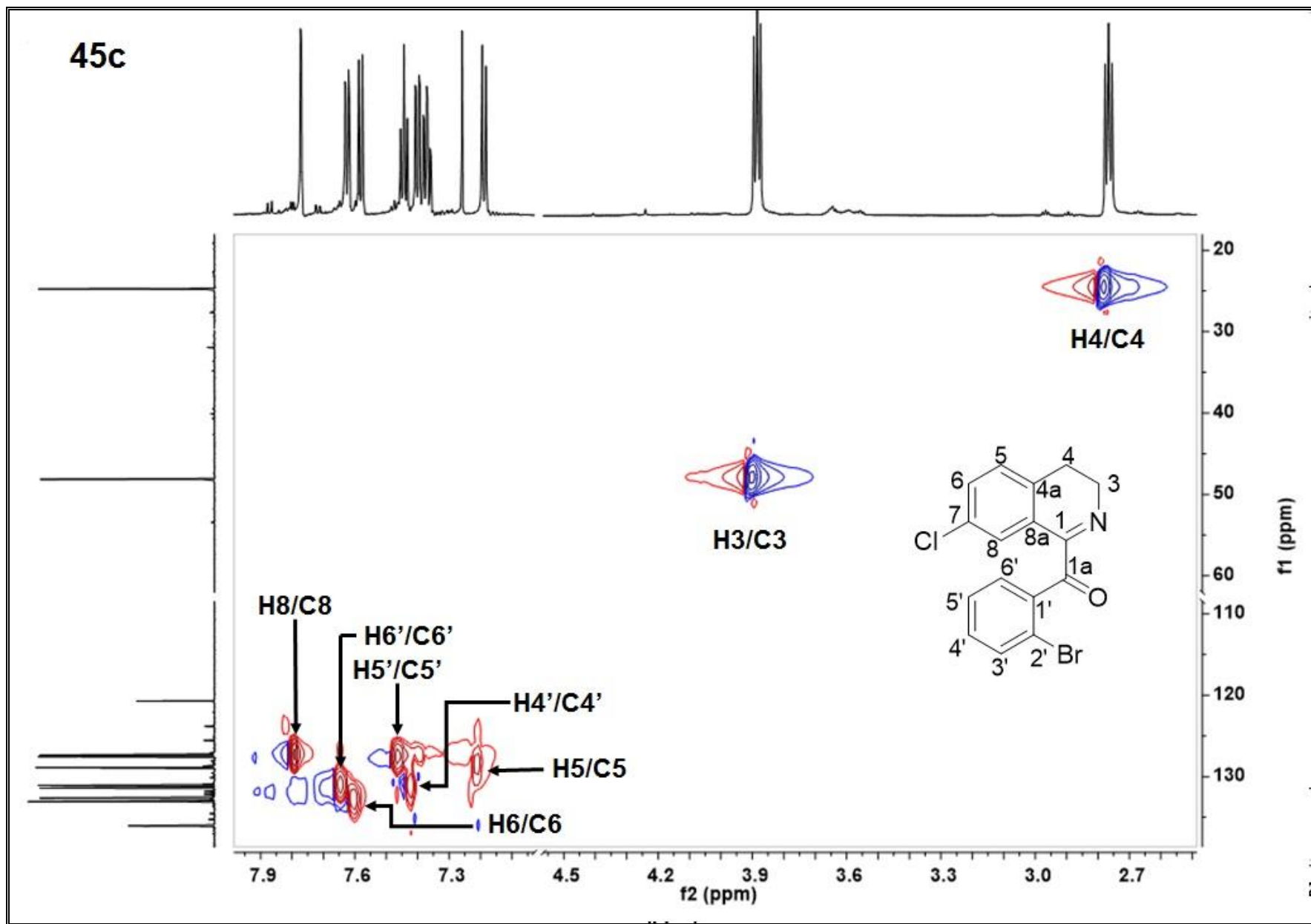
Anexo 51. Espectro de IR del compuesto 45a



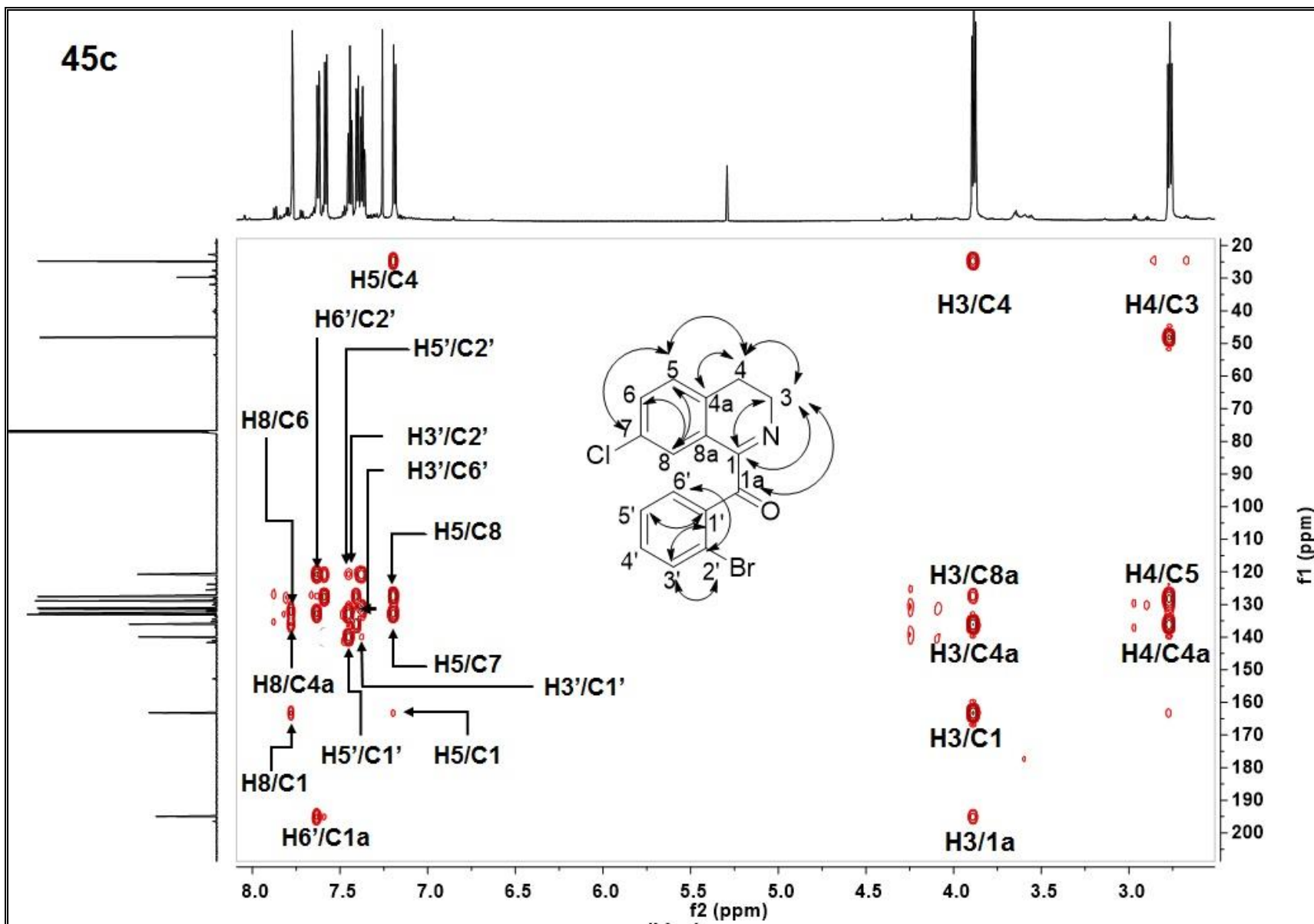
Anexo 52. Espectro de RMN ^1H (a 300 MHz, en CDCl_3) del compuesto **45c**.



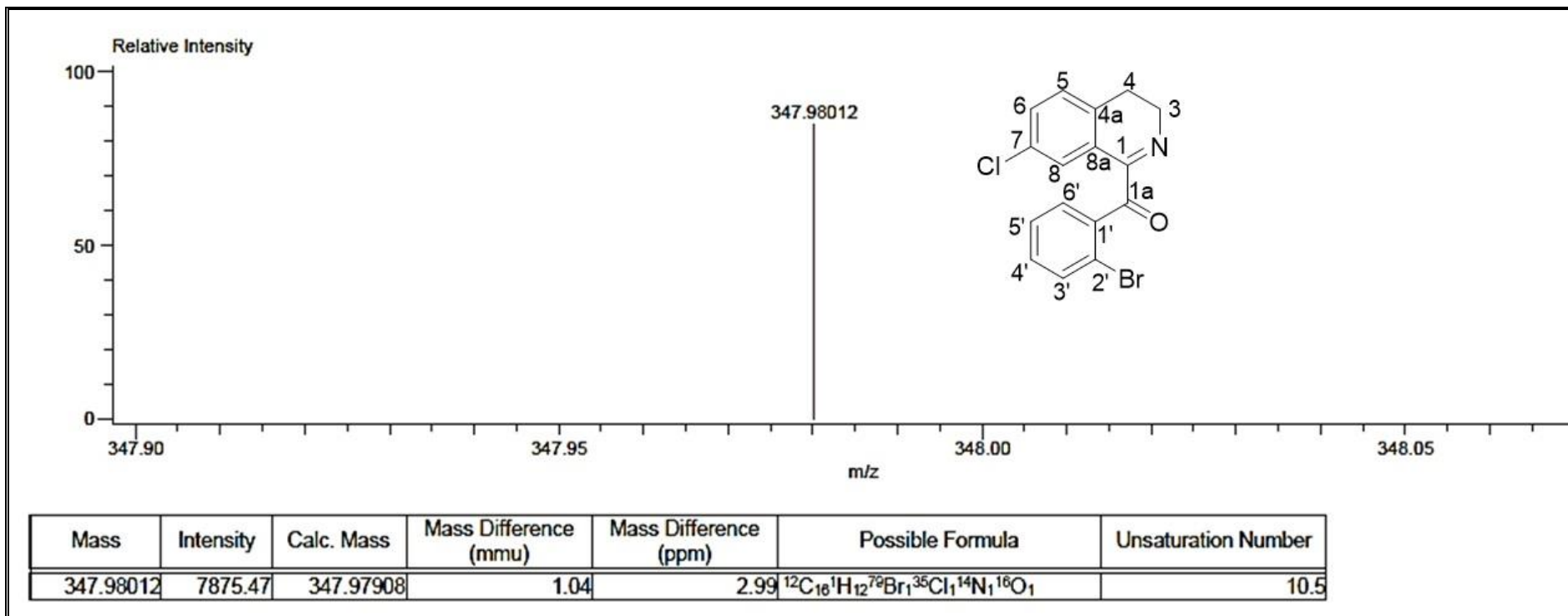
Anexo 53. Espectro de RMN ^{13}C (a 75 MHz, en CDCl_3) del compuesto **45c**.



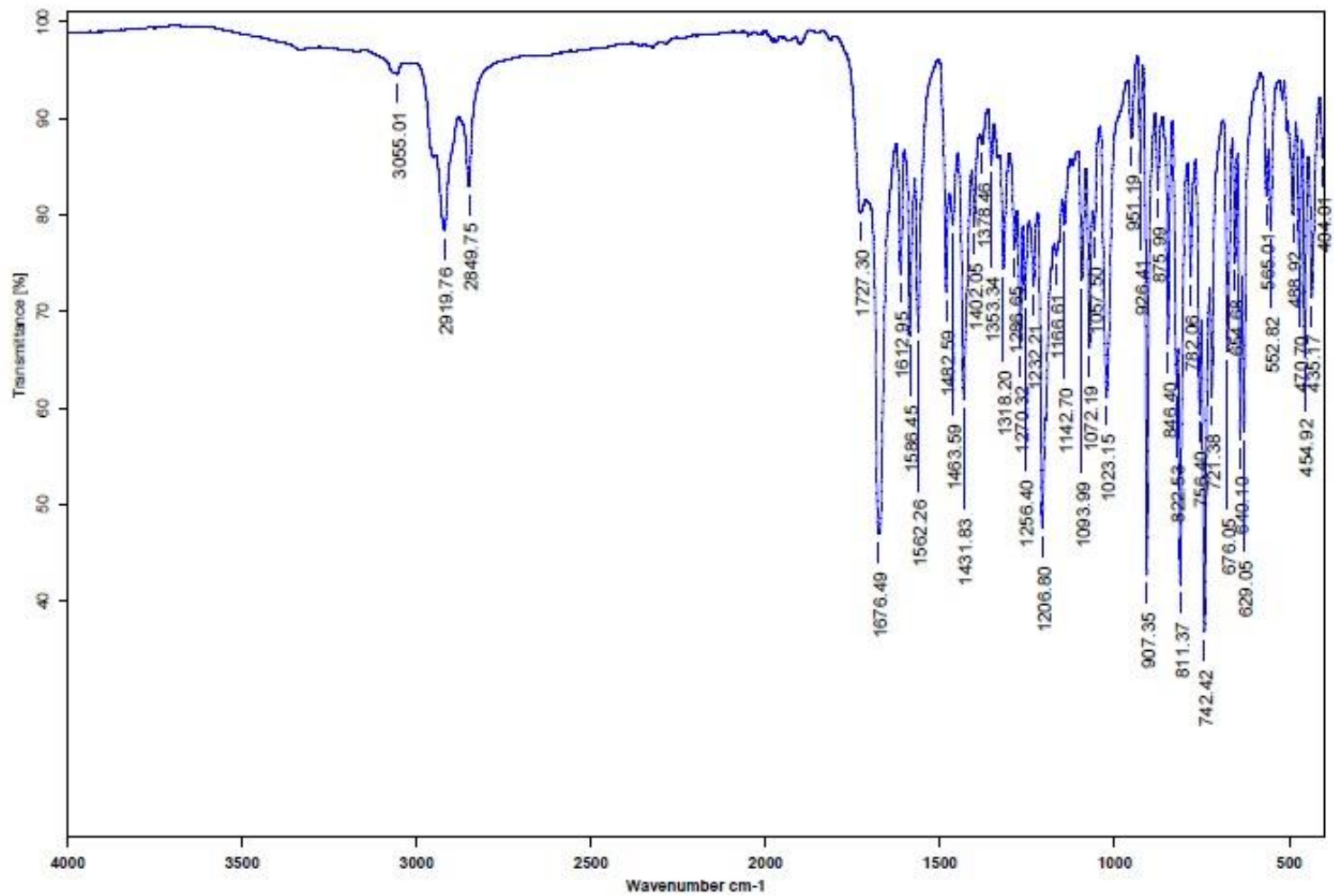
Anexo 54. Espectro de correlacion bi-dimensional HSQC del compuesto **45c**.



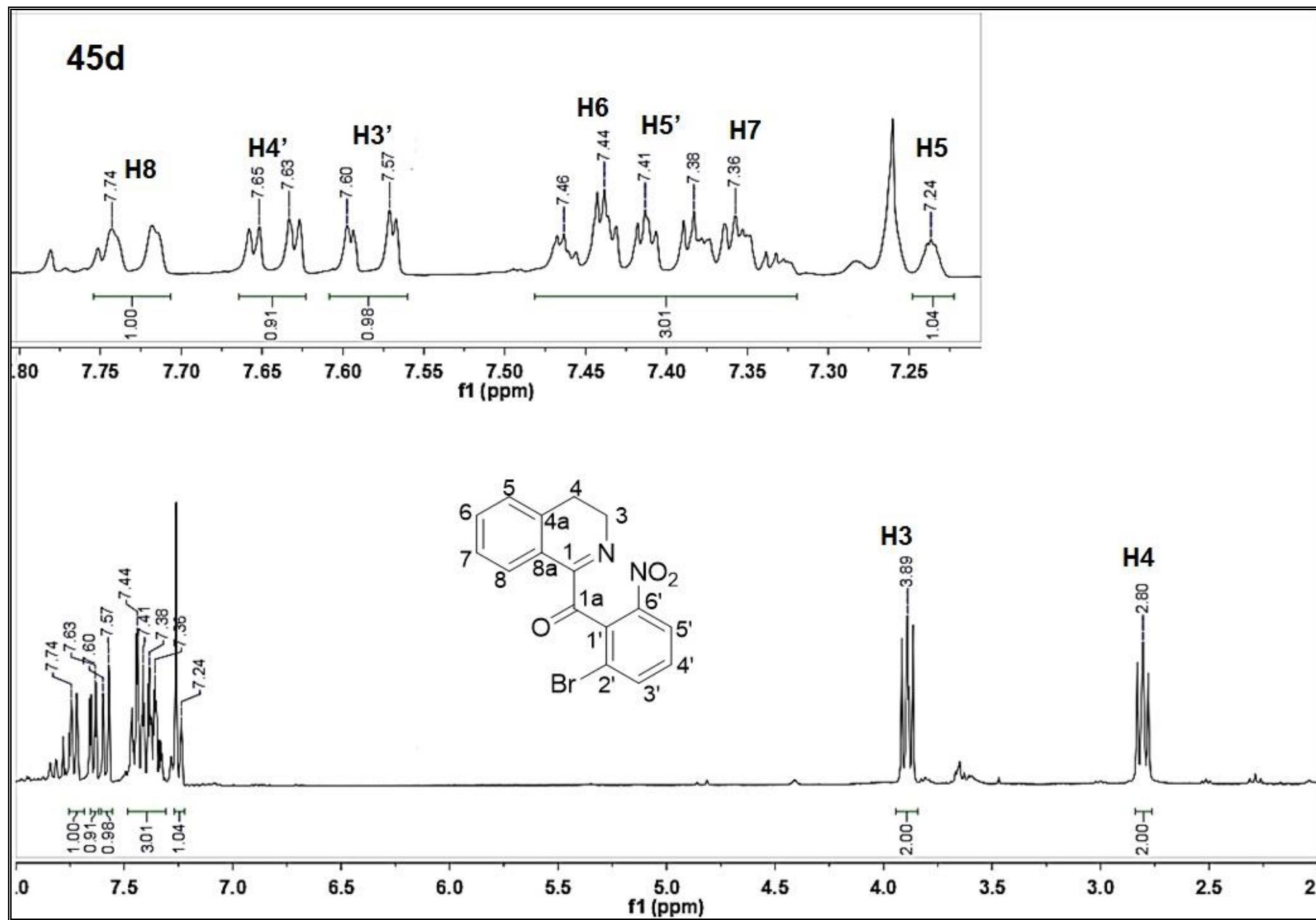
Anexo 55. Espectro de correlacion bi-dimensional HMBC del compuesto **45c**.



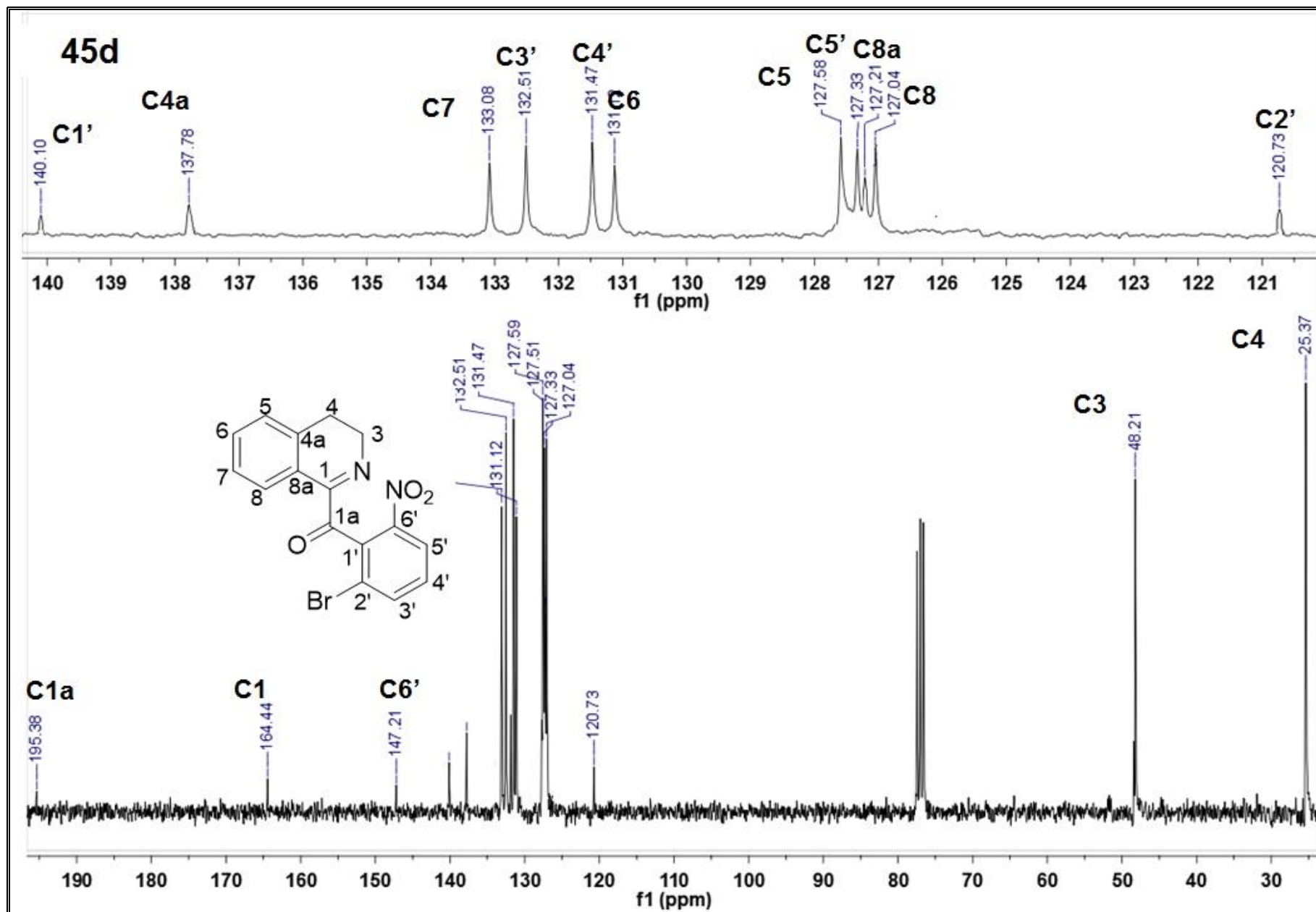
Anexo 56. Espectro de masa exacta del compuesto 45c.



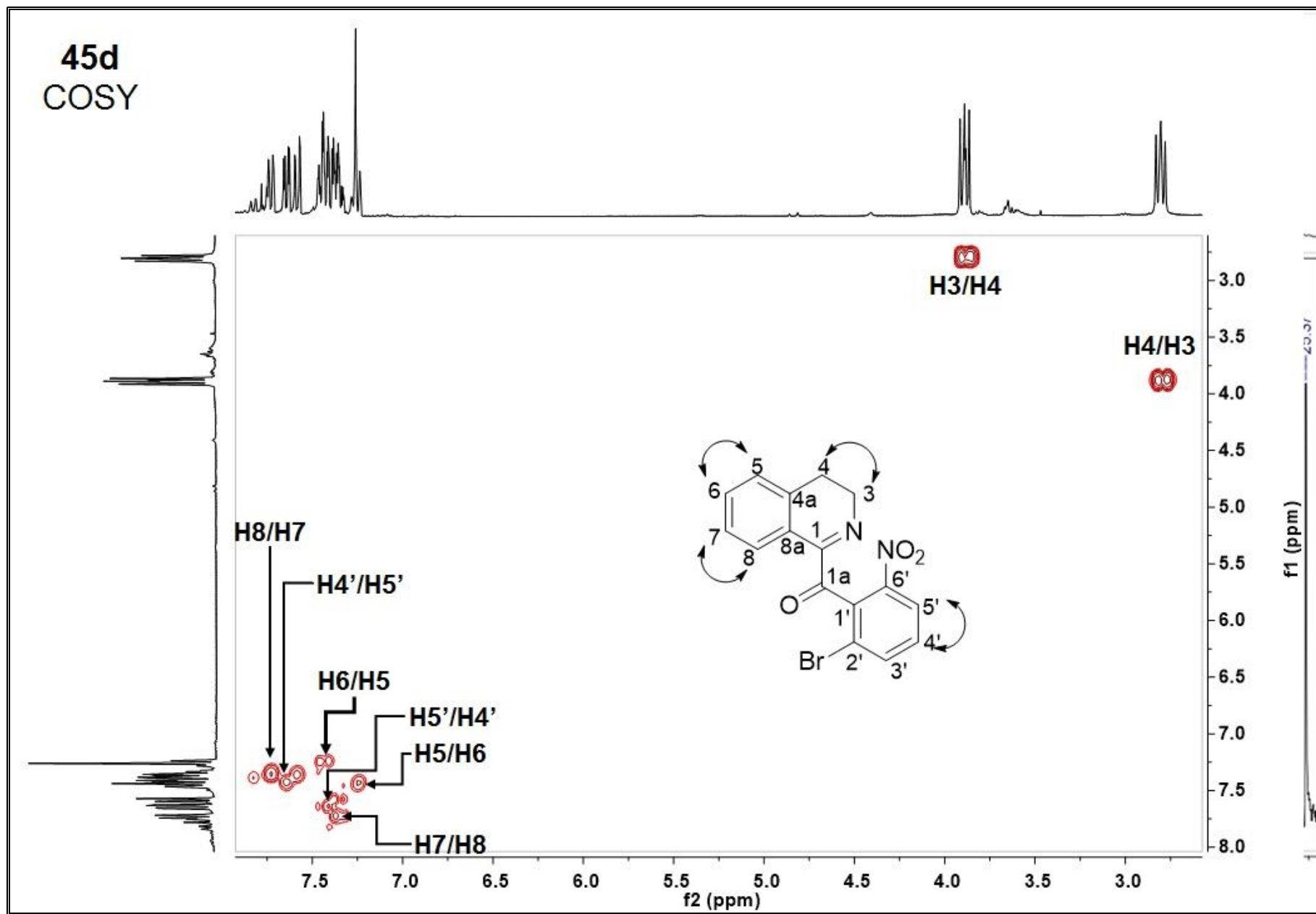
Anexo 57. Espectro de IR del compuesto 45c.



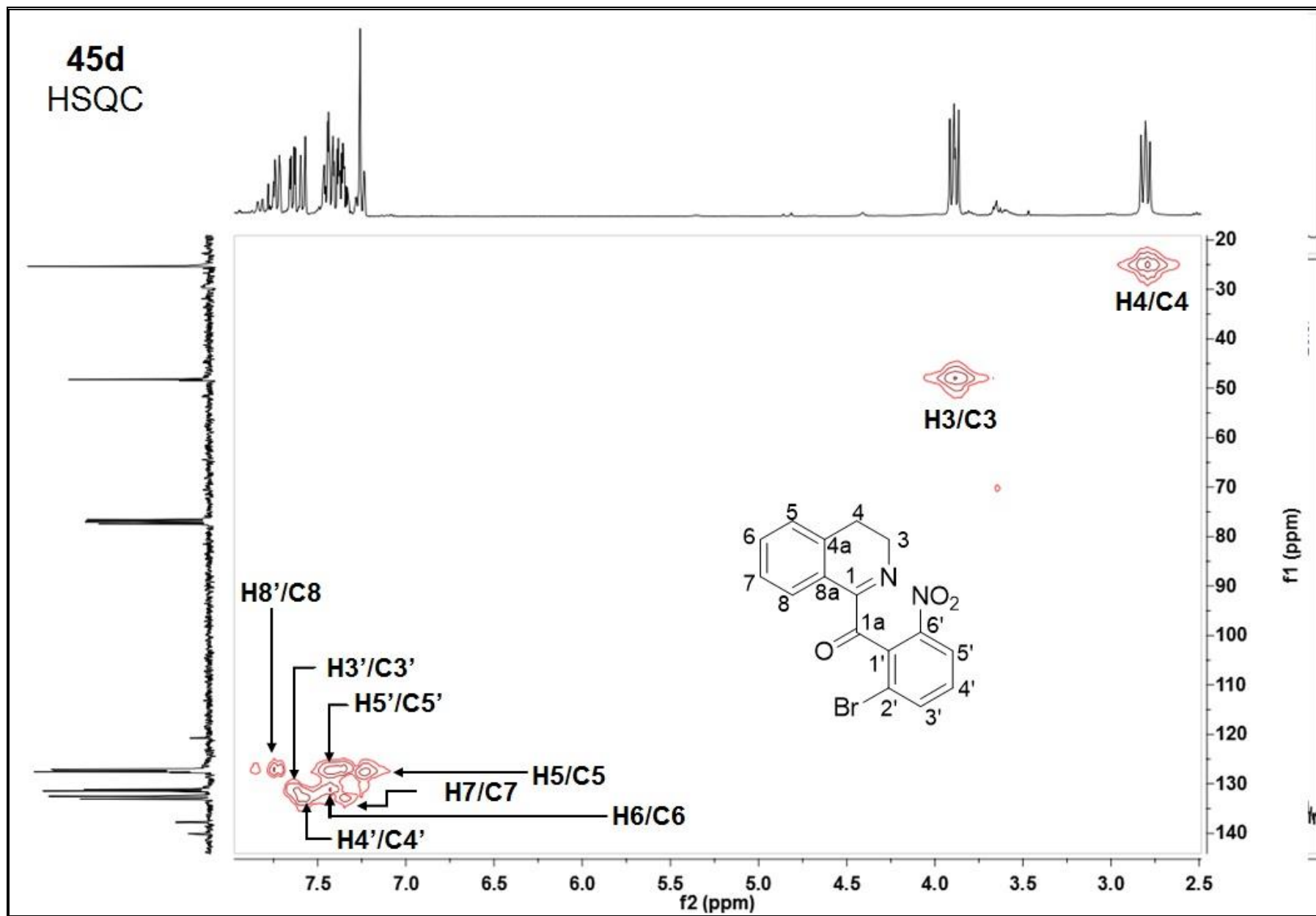
Anexo 58. Espectro de RMN ^1H (a 700 MHz, en CDCl_3) del compuesto 45d



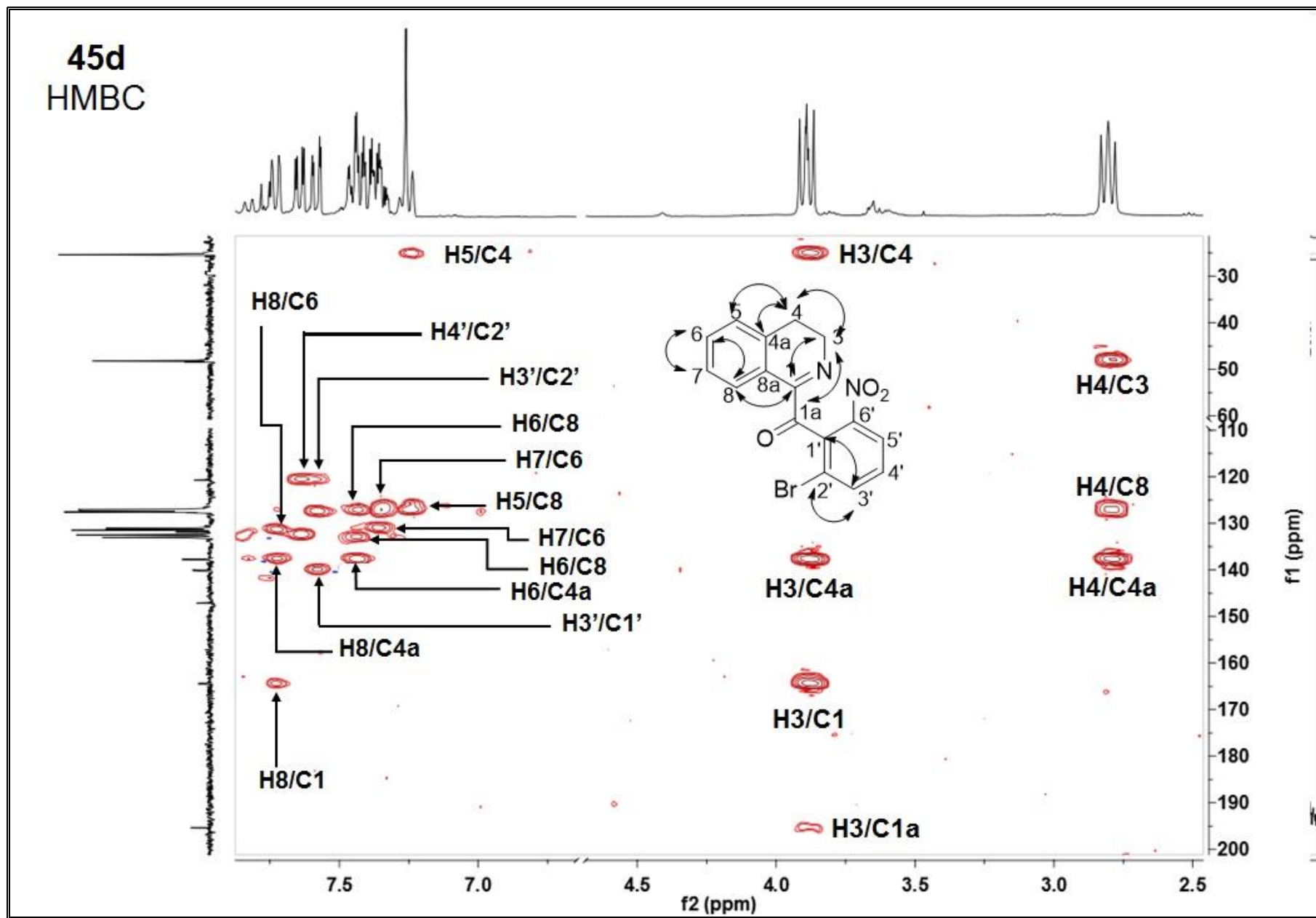
Anexo 59. Espectro de RMN ^{13}C (a 75 MHz, en CDCl_3) del compuesto **45d**



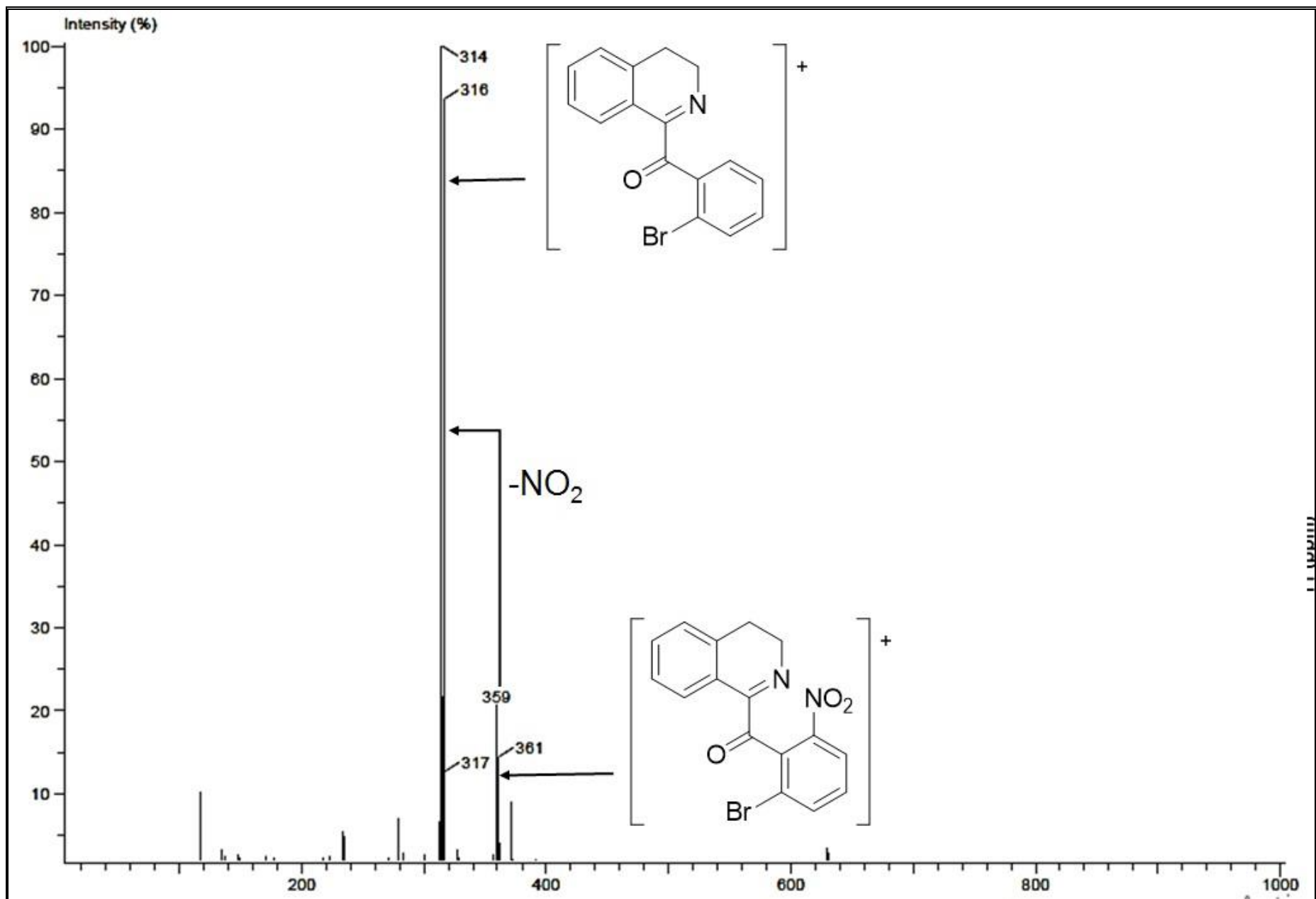
Anexo 60. Espectro de correlación bidimensional COSY del compuesto 45d.



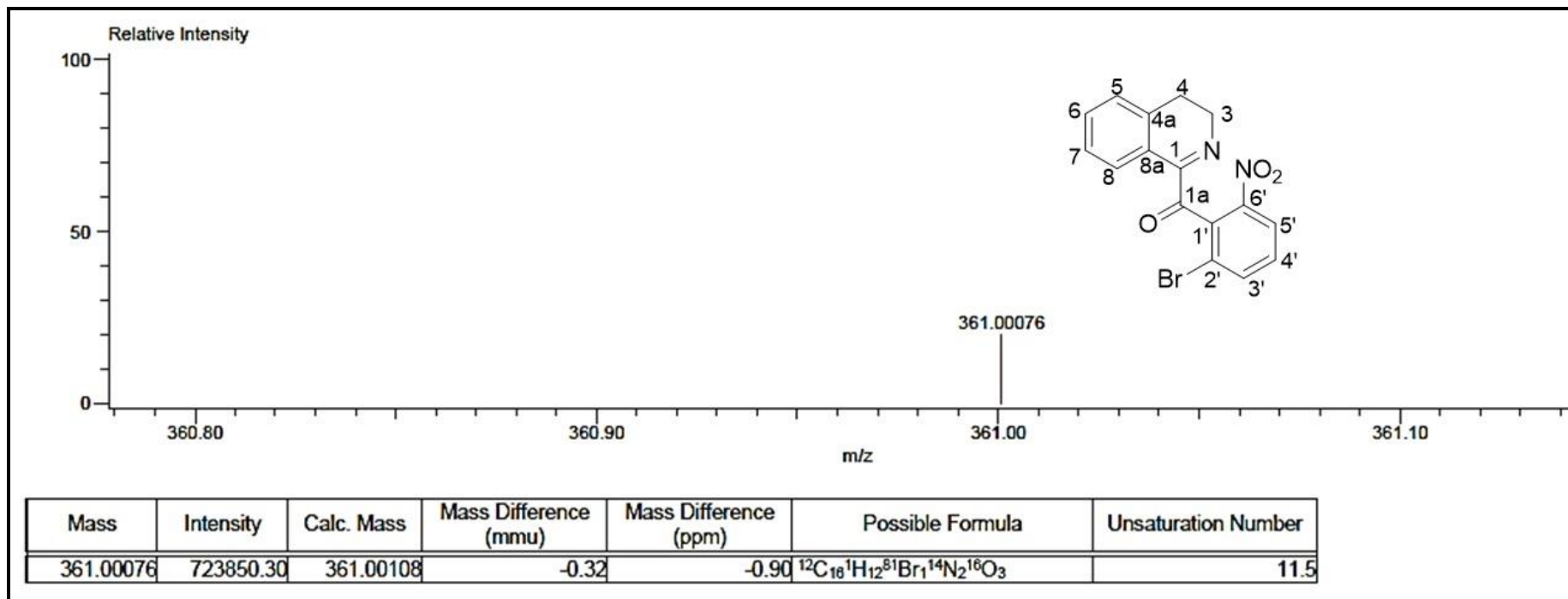
Anexo 61. Espectro de correlación bi-dimensional HSQC del compuesto 45d.



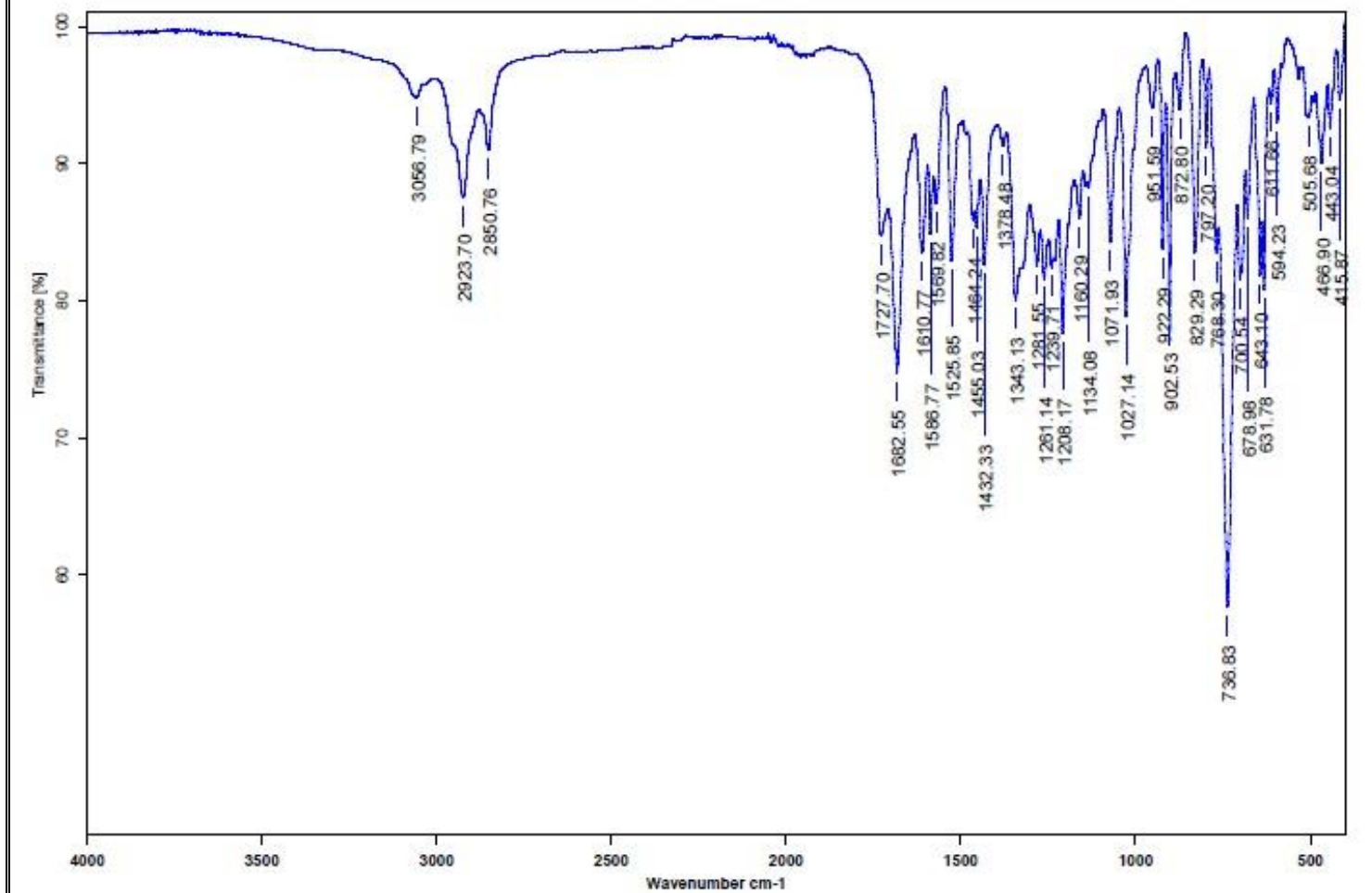
Anexo 62. Espectro de correlación bi-dimensional HMBC del compuesto 45d.



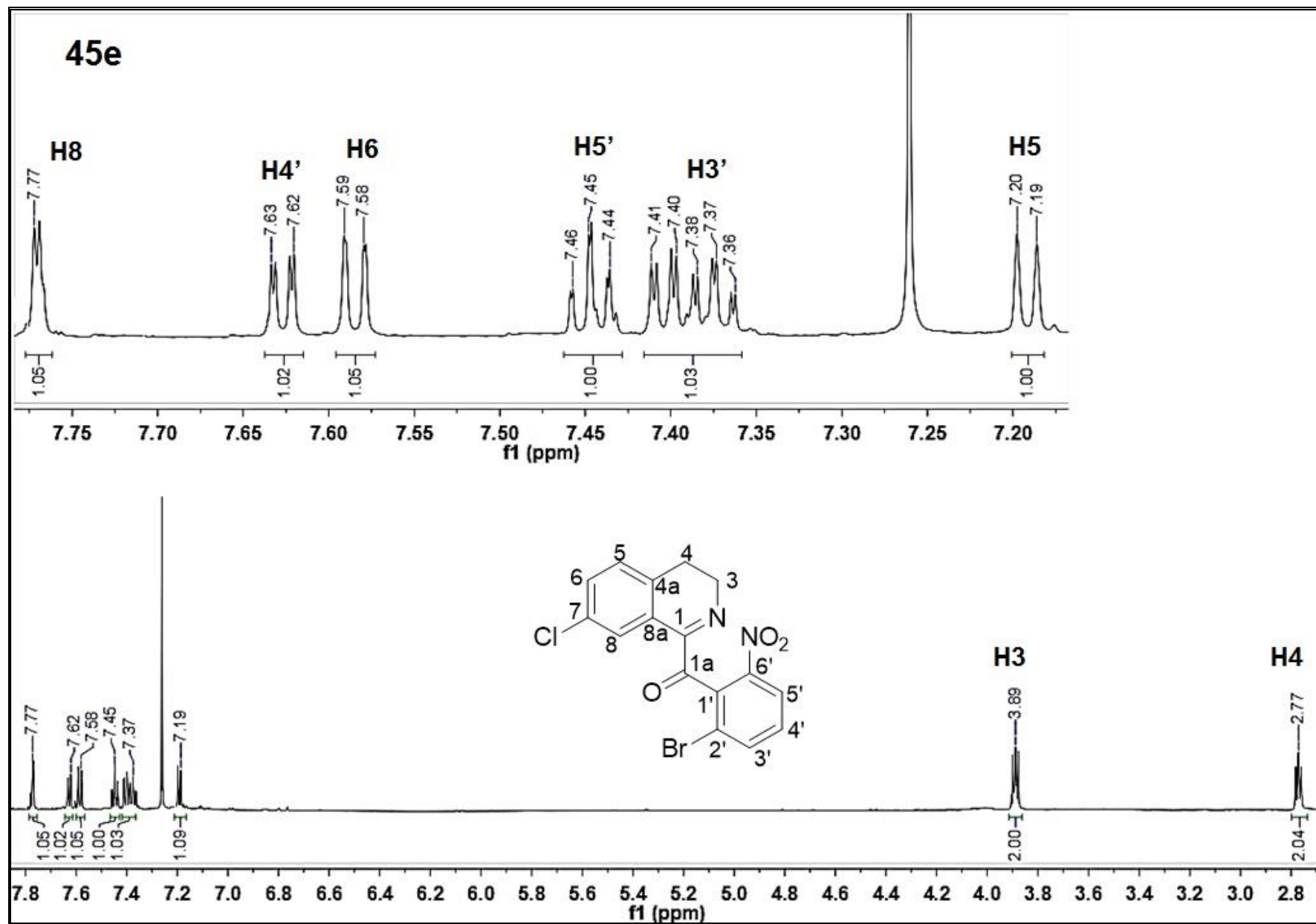
Anexo 63. Espectro de masa (DART) baja resolución del compuesto 45d.



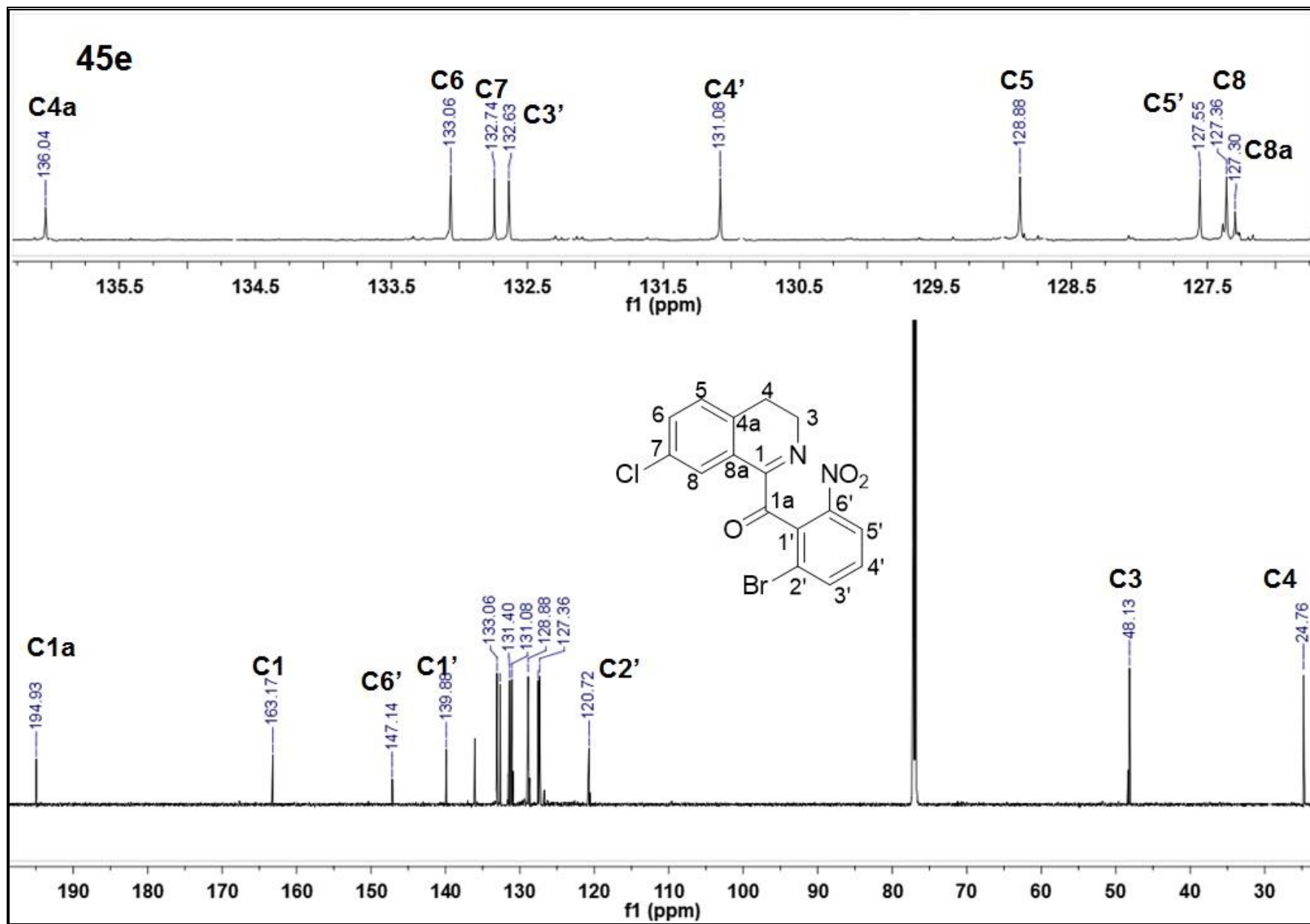
Anexo 64. Espectro de masa exacta del compuesto 45d.



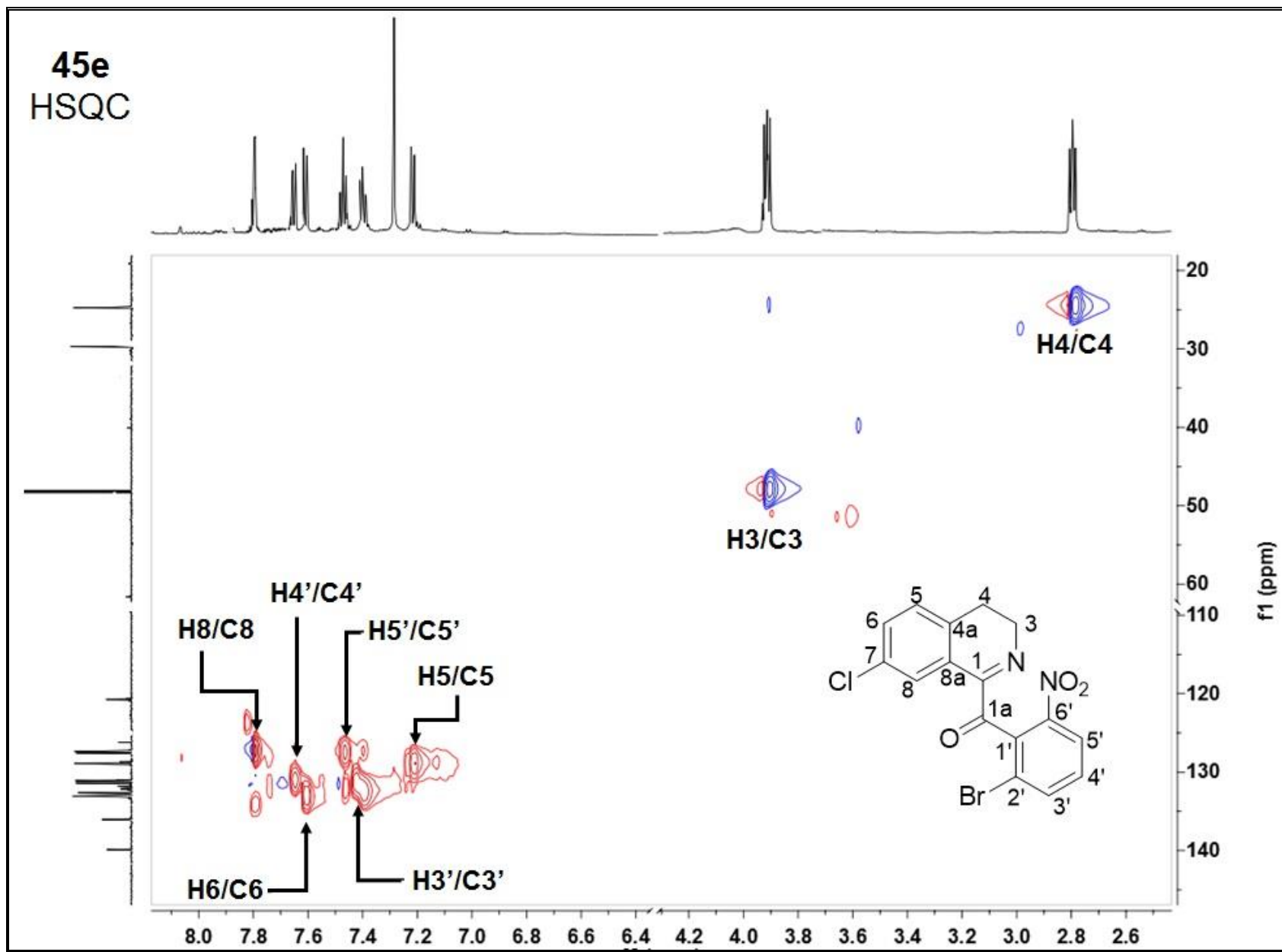
Anexo 65. Espectro de IR del compuesto 45d.



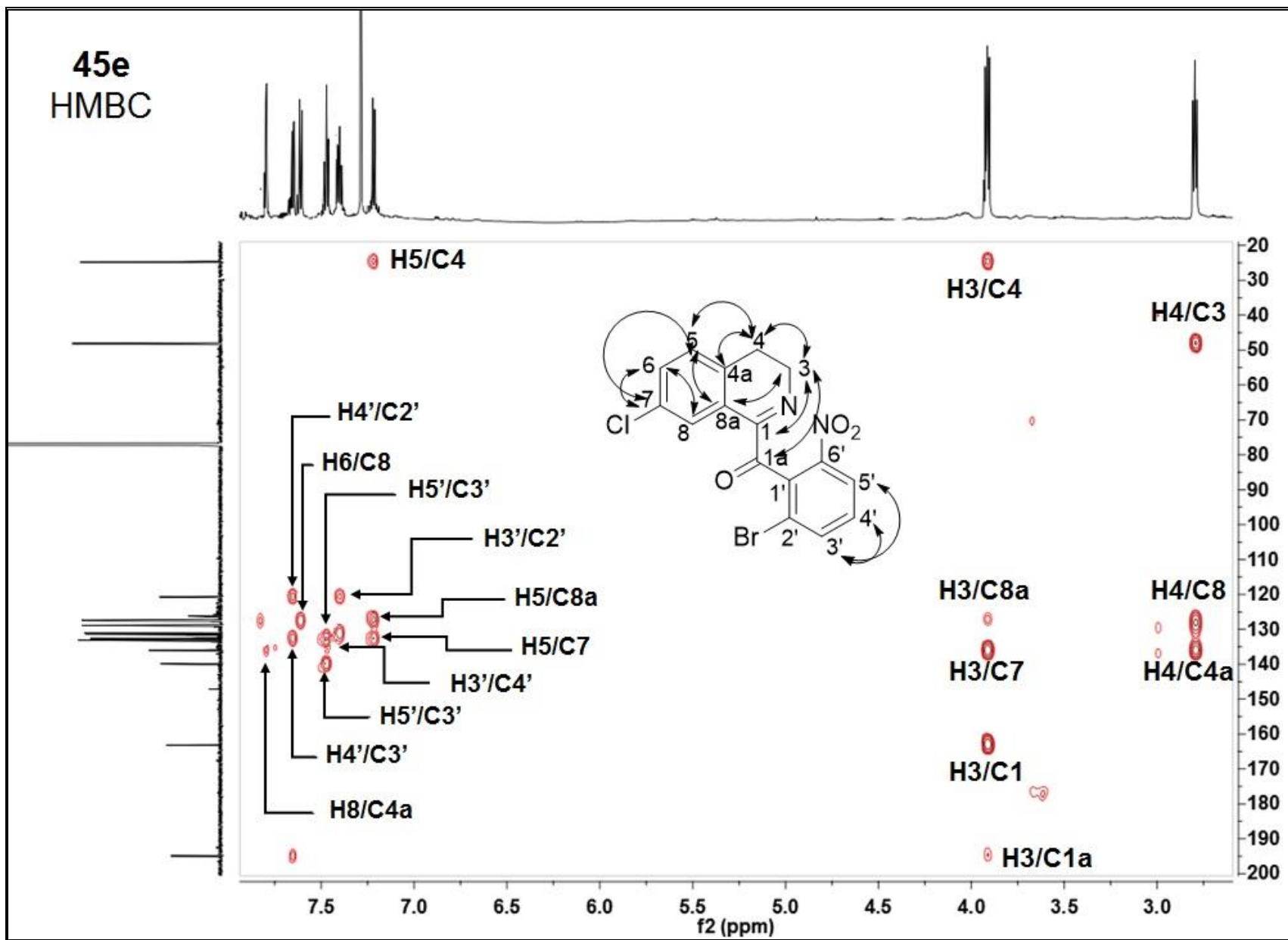
Anexo 66. Espectro de RMN ^1H (a 700 MHz, en CDCl_3) del compuesto **45e**.



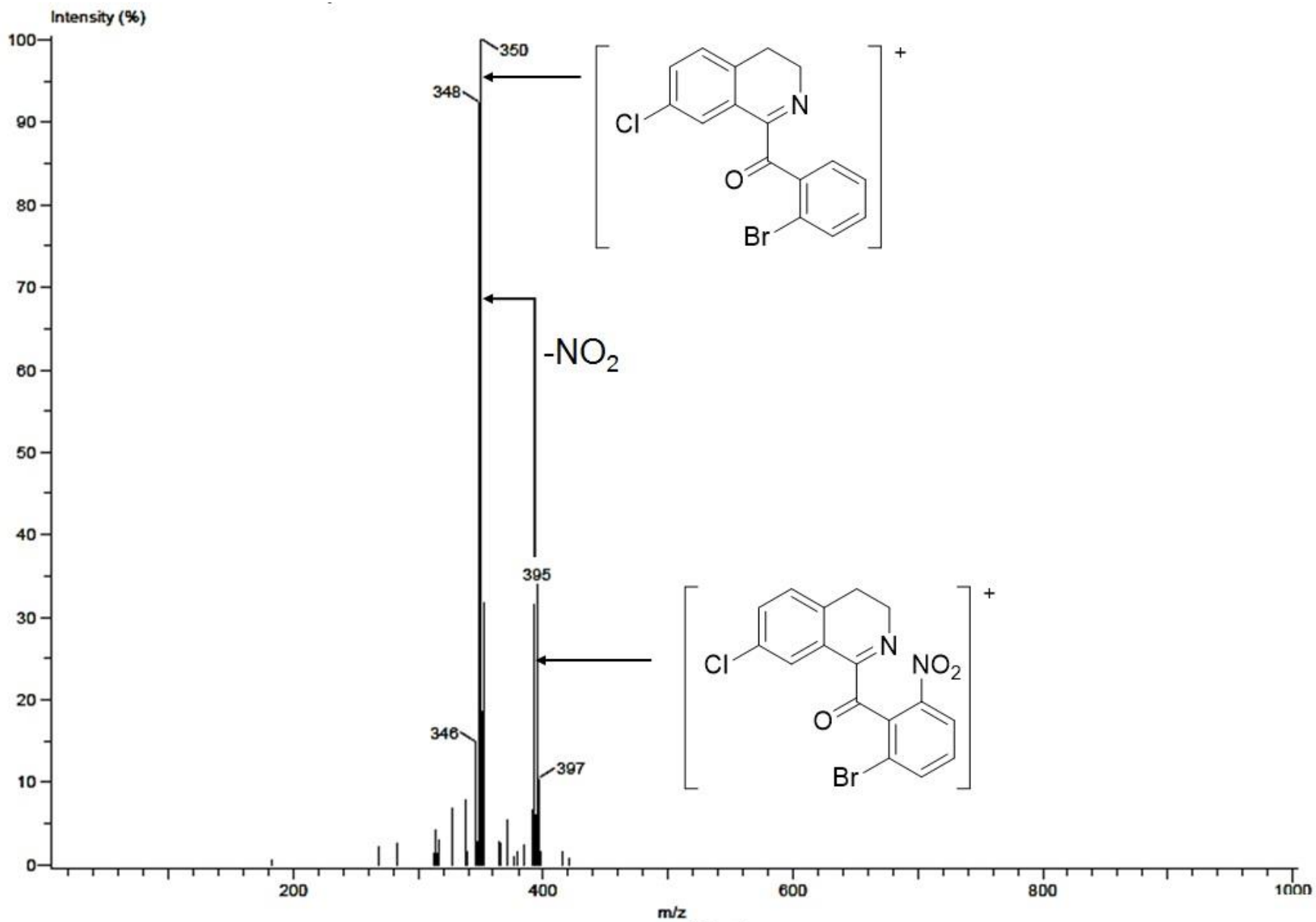
Anexo 67. Espectro de RMN ^{13}C (α 125 MHz, en CDCl_3) del compuesto **45e**.



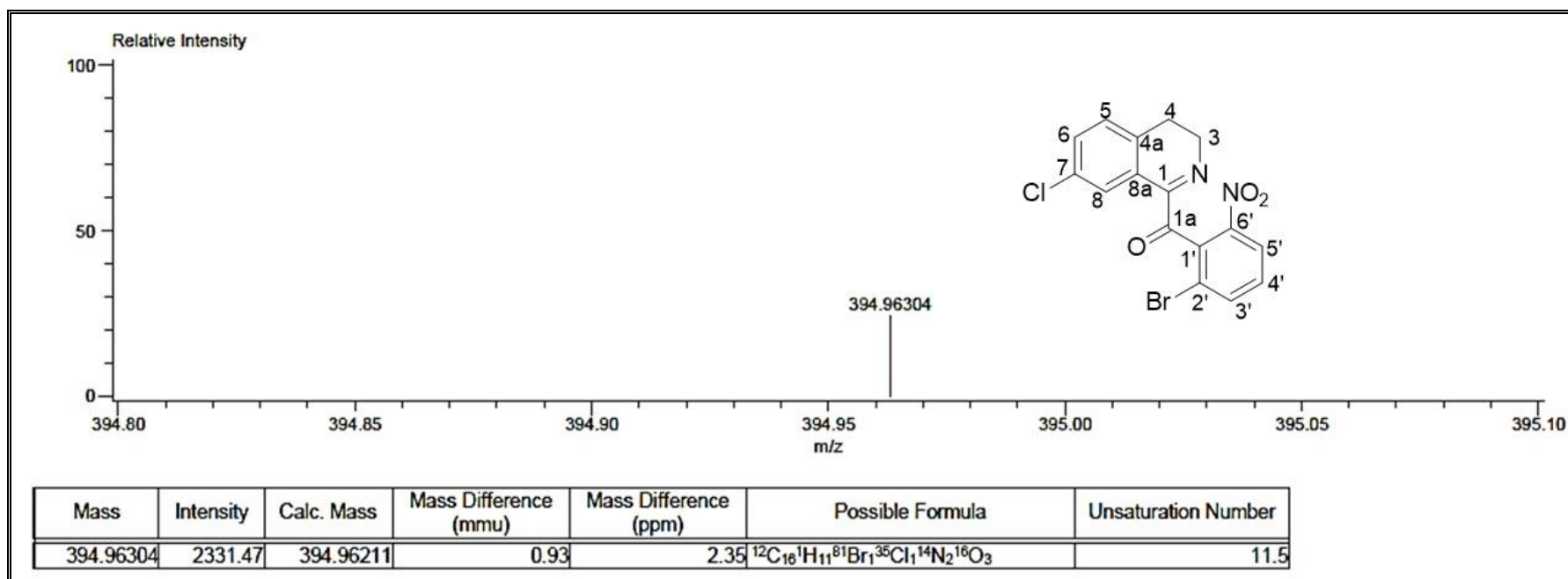
Anexo 68. Espectro de correlación bi-dimensional HSQC del compuesto 45e.



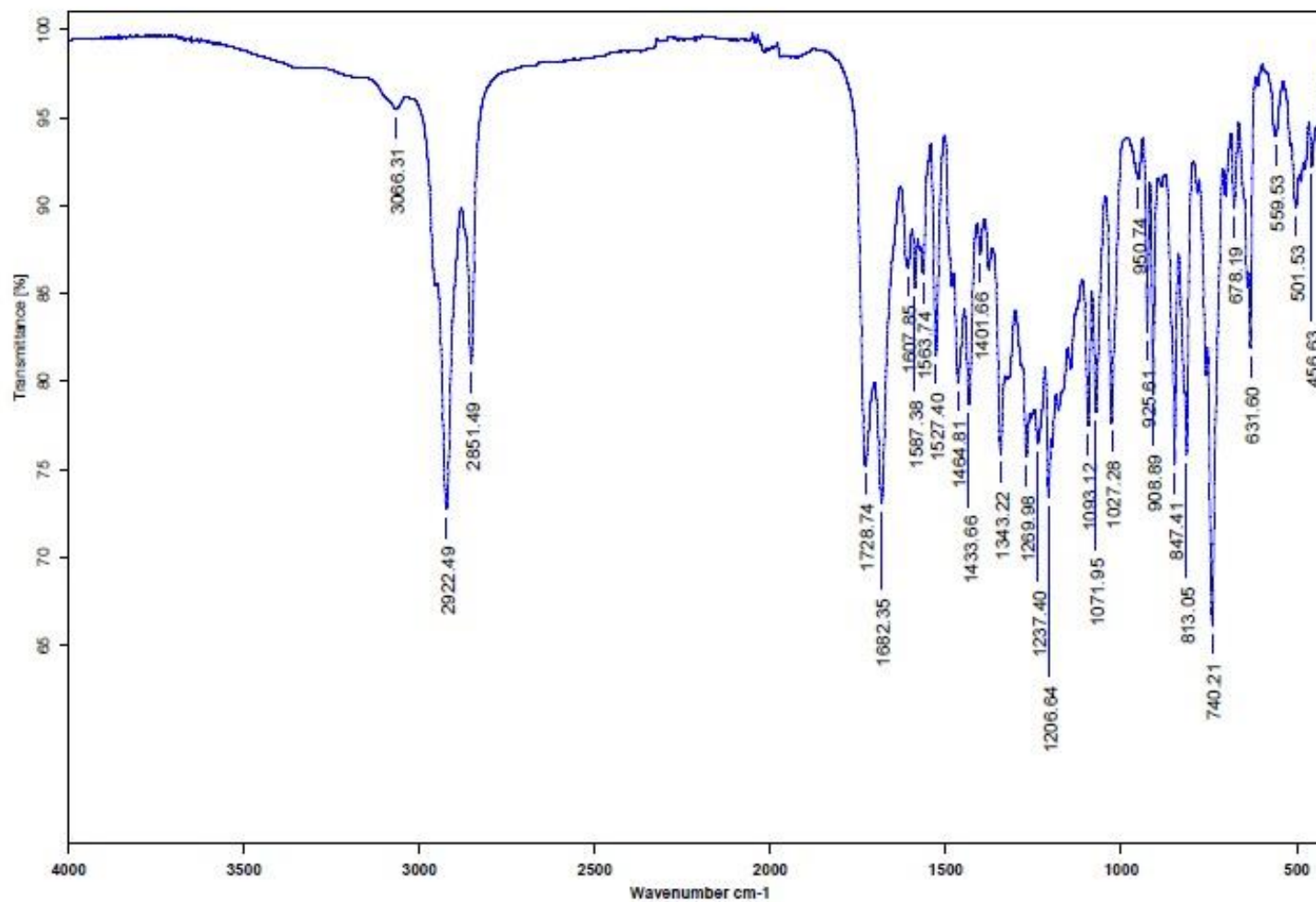
Anexo 69. Espectro de correlación bi-dimensional HMBC del compuesto 45e.



Anexo 70. Espectro de masas (DART) baja resolución del compuesto 45e.



Anexo 71. Espectro de masa exacta del compuesto 45e



Anexo 72. Espectro de IR del compuesto 45e..

Anexo 73. Estadística de la prueba de campo abierto de compuestos experimentales y fármacos de referencia en ratones.

Tratamiento / Dosis (mg/kg)	No. cuentas/5min	Rearing number
Control	43.87 ±4.42	34.50 ±3.95
44a/5	42.62 ±4.24	27.37 ±3.35
44a/10	32.66 ±3.37	25.75 ±3.35
44a/20	39.88±2.85	28.22±1.97
44a/40	39.77±2.29	27.44±2.08
	H = 5.79, fd=4, p=0.21	H = 3.79, fd= 4, p=0.43
Control	39.12±2.89	11.12±1.14
44b/5	29.62±4.01	8.75±2.34
44b/10	25.00±4.68	9.37±2.17
44b/20	27.62±4.59	13.87±1.10
44b/40	34.50±3.10	13.62±1.91
	H = 6.92, fd=4, p=0.14	H = 4.05, fd=4, p=0.39
Control	20.125±2.89	26.37±4.82
44f/5	17.625±6.75	28.57±4.83
44f/10	6.625±1.42***	15.42±6.57
44f/20	17.71±2.46*	4.14±0.82***
44f/40	9.37±1.75***	5.25±1.17***
	H=13.90, fd=4, p=0.00	H=19.736, fd=4, p≤0.001
Control	45.25±4.25	24.714±2.92
44g/5	34.00±3.10	23.429±3.03
44g/10	21.71±4.64**	25.571±2.84
44g/20	12.28±2.73***	4.571±0.75***
44g/40	7.28±1.91***	2.857±1.26***
	H=25.54, fd=4, p≤0.001	H=25.001, fd=4, p≤0.001
Control	45.25±4.25	26.37±4.82
45a/5	35.42±3.01	22.62±2.50
45a/10	39.00±6.88	25.0±4.34
45a/20	39.57±4.39	29.85±6.15
45a/40	38.00±5.79	22.57±1.77
	H=2.591, fd=4, p=0.628	H=0.90, fd=4, p=0.92
Control	61.25±6.38	34.37±2.90
DIM6.25	49.87±4.88	35.25±3.68
DIM 12.5	67.50±7.69	30.75±3.33
DIM 25	59.37±6.66	34.87±2.68
	H=8.05, fd=3, p=0.06	H=1.77, fd=3, p=0.621
Control	46.37±3.70	34.50±3.95
CLIMI 12.5	41.37±3.70	27.62±2.35
CLIMI 25	40.00±3.23	25.75±3.35
CLIMI 50	39.87±2.60	21.37±3.23
	H=2.88, fd=3, p=0.41	H=60.29, fd=3, p=0.11
control	41.62±4.47	33.00±3.47
IMI12.5	50.62±3.87	34.62±4.77
IMI25	44.00±1.82	35.50±4.33
IMI50	37.12±3.29	29.12±4.50
	H=5.30, fd=3, p=0.15	H=1.600, fd=3, p=0.65

Table of Contents

Home / Canadian Journal of Chemistry / Just-IN

Just-IN

Antidepressant-like effects of a new dihydro isoquinoline and its chemical precursors in mice. Involvement of serotonin and dopaminergic systems.

Javier Porras-Ramírez, Rosa Estrada-Reyes, José Salud Rodríguez-Zavala, Ana María Dorantes-BarrónQBP, Noé Jurado-HernándezQ.F.B., and Mariano Martínez-VázquezPh. D. [SHOW LESS](#)

Just-IN

Abstract This study was aimed to synthesize novel 2-(2-bromophenyl)-N-phenethylacetamides and benzylisoquinoline (BIQ) derivatives to be evaluated as antidepressant-like agents in mice. The N-phenethylacetamides derivatives were synthesized by coupling aromatic amides to the backbone of 2-bromophenylacetyl chloride. The synthesis of BIQ was achieved by the reaction between synthesized phenethylacetamides and 2-chloropyridine. The structures of the compounds were established mainly by 1D and 2D NMR spectra. Those compounds obtained with moderate to good yields were evaluated as antidepressant-like agents in the forced swimming test and the open field paradigms in mice. The possible mechanism of those active derivatives was explored by antagonist experiments in combination with p-chloro-phenylalanine methyl ester, reserpine, sulpiride, and dopamine D1 antagonist SCH23390. Also, MAO A and B inhibition assay were performed. Docking studies of the human dopamine D3 receptor with the most active compound was performed. The results showed that the (2-bromophenyl) (3,4-dihydroisoquinoline-1-yl)methanone (4a) presented the most potent antidepressant-like effects without modifying the ambulatory activity of experimental mice. Antagonist experiments showed that 4a acted on the serotonergic and dopaminergic receptors. Docking studies indicated a strong affinity of the human dopamine D3 receptor for 4a. Our results showed that benzylisoquinoline 4a has an antidepressant-like effect that is mediated at least in part by an interaction with the presynaptic serotonin receptors, and dopaminergic D1, D2, and D3, receptors. This study highlights the pharmacological potential of halogenated BIQ's in the treatment of some depressive disorders.



Antidepressant-like effects of a new dihydro isoquinoline and its chemical precursors in mice: involvement of serotonin and dopaminergic systems

Javier Porras-Ramírez, Rosa Estrada-Reyes, José Salud Rodríguez-Zavala, Ana Maria Dorantes-Barrón, Noé Jurado-Hernández, and Mariano Martínez-Vázquez

Abstract: This study was aimed to synthesize novel 2-(2-bromophenyl)-N-phenethylacetamides and benzyloisoquinoline (BIQ) derivatives to be evaluated as antidepressant-like agents in mice. The phenethylacetamides derivatives were synthesized by coupling aromatic amides to the backbone of 2-bromophenylacetyl chloride. The synthesis of BIQ was achieved by the reaction between synthesized phenethylacetamides and 2-chloropyridine. The structures of compounds were established mainly by 1D and 2D NMR spectra. Those compounds obtained with moderate to good yields were evaluated as antidepressant-like agents in the forced swim test and the open field paradigms in mice. The possible mechanism of those active derivatives was explored by antagonist experiments in combination with *p*-chloro-phenylalanine methyl ester, reserpine, sulpiride, and dopamine D1 antagonist SCH23390. Also, MAO A and B inhibition assays were performed. Docking studies between the human dopamine D3 receptor and the higher active compound were performed. The results showed that the (2-bromophenyl)-(3,4-dihydroisoquinoline-1-yl) methanone (4a) presented the most potent antidepressant-like effects without modifying the ambulatory activity of experimental mice. Antagonist experiments showed that 4a acted on the serotonergic and dopaminergic receptors. Docking studies indicated a strong affinity between the human dopamine D3 receptor and 4a. Our results showed that BIQ 4a has an antidepressant-like effect that is possibly mediated by an interaction with the presynaptic serotonin receptors and dopaminergic, D1, D2, and D3, receptors. This study highlights the pharmacological potential of halogenated BIQs in the treatment of some depressive disorders.

Key words: acetamide, antidepressant, benzyloisoquinoline, isoquinoline, synthesis.

Résumé : La présente étude visait à synthétiser de nouveaux dérivés 2-(2-bromophényl)-N-phénéthylacétamide et benzyloisoquinoline (BIQ) en vue de les évaluer comme agents pseudoantidépresseurs chez la souris. Nous avons synthétisé les dérivés phénéthylacétamide par couplage d'amides aromatiques au squelette du chlorure de 2-bromophénylacétyle. Nous avons obtenu les dérivés BIQ par réaction entre les dérivés phénéthylacétamide que nous avons synthétisés et la 2-chloropyridine. Les structures de ces composés ont été déterminées principalement à l'aide des spectres RMN 1D et 2D. Les composés obtenus avec des rendements modérés à bons ont été évalués comme agents pseudoantidépresseurs chez la souris dans le cadre du test de la nage forcée et du test de l'open field. Nous avons exploré le mécanisme d'action possible de ces dérivés actifs par des expériences sur des antagonistes administrés en association, dont l'ester méthylique de la *p*-chlorophénylalanine, la réserpine, le sulpiride et l'antagoniste dopaminergique D1 SCH23390. De plus, nous avons effectué des tests d'inhibition de la monoamine oxydase (MAO) A et B. Nous avons également réalisé des études d'amarrage entre le récepteur dopaminergique D3 humain et le composé le plus actif. Les résultats ont montré que la (2-bromophényl)-(3,4-dihydroisoquinoline-1-yl)méthanone (4a) présentait les effets pseudoantidépresseurs les plus puissants sans modifier l'activité locomotrice des souris de laboratoire. Les expériences sur les antagonistes ont montré que le composé 4a agissait sur les récepteurs sérotoninergiques et dopaminergiques. Les études d'amarrage ont quant à elles indiqué une forte affinité entre le récepteur dopaminergique D3 humain et le composé 4a. Nos résultats ont montré que le dérivé benzyloisoquinoline 4a a un effet pseudoantidépresseur qui repose possiblement sur une interaction avec les récepteurs présynaptiques de la sérotonine et les récepteurs dopaminergiques D1, D2 et D3. Cette étude souligne le potentiel pharmacologique des BIQ halogénées dans le traitement de certains troubles dépressifs. [Traduit par la Rédaction]

Mots-clés : acétamide, antidépresseur, benzyloisoquinoline, isoquinoline, synthèse.

Received 15 July 2020. Accepted 23 November 2020.

J. Porras-Ramírez and M. Martínez-Vázquez. Departamento de Productos Naturales, Instituto de Química, UNAM Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Ciudad de México, 04510, México.

R. Estrada-Reyes, A.M. Dorantes-Barrón, and N. Jurado-Hernández. Laboratorio de Fitofarmacología, Dirección de Investigaciones en Neurociencias, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz, Calzada México-Xochimilco 101, Col. San Lorenzo/Huipulco, Tlalpan, Ciudad de México, 14370, México.

J.S. Rodríguez-Zavala. Departamento de Bioquímica, Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, Juan Badiano No. 1, Col. Sección XVI, Delegación Tlalpan, Ciudad de México, C.P. 14080, México.

Corresponding author: Martínez-Vázquez Mariano (email: marvaz@unam.mx).

Copyright remains with the author(s) or their institution(s). Permission for reuse (free in most cases) can be obtained from copyright.com.

Introduction

Depression is a common complex mental disorder, characterized by changes in the emotional state.¹ Although it is well known that several causes can lead to a depressive state, one cause that plays a significant role is the cultural, social, and economic environment in which society develops.² However, in addition to social causes, other causes of individual nature induce symptoms of depression. Today, more than 300 million people of all ages suffer from depression. The World Health Organization (WHO) has indicated that depressive disorder is the leading cause of disability worldwide, as measured by Years Lived with Disability (YLDs), and the fourth leading contributor to the global burden of disease.³

Furthermore, it has been identified that besides the recognized significant major depression disorder (MDD) symptoms such as anhedonia, irritability, and anergia, depression is now closely associated with several ailments like dementia, Parkinson's, type 2 diabetes, and even cancerous processes.⁴ Although there is a wide range of effective drugs for the treatment of moderate and severe depression, around 40% of patients are resistant to pharmacological treatment,⁵ in addition to the fact that several available antidepressant drugs produce severe side effects such as weight gain, somnolence, and slow response.⁶ Depression is a complex disease whose aetiology is determined by several factors. Therefore, it is not feasible to have a single theory that explains its origin in humans. However, the theory of monoamine deficiency postulates that the underlying pathophysiological basis of depression is a depletion of the neurotransmitter serotonin, norepinephrine, or dopamine in the central nervous system.⁷ This theory has promoted the synthesis of drugs that inhibit the reuptake of serotonin or catecholamines or that improve the neurotransmission processes. Unfortunately, these drugs do not cover all clinical cases of depression. All the problems mentioned above highlight the need to find new antidepressant drugs. It is known that some natural and synthetic benzylisoquinoline (BIQ) derivatives have antidepressant activities due to their affinity for serotonin and dopamine receptors at low concentration.⁸ Moreover, it has been published that some halogenated BIQs (mainly with a bromine atom) have shown a more substantial antidepressant-like effect than those without halogen.^{9,10}

A widely used procedure for synthesizing dihydro isoquinolines is the Bischler-Napieralski reaction. Although this reaction initially used aromatic acetamide-type precursors,¹¹ currently, there are no reports about the evaluation of such acetamide-type precursors such as antidepressant-like agents.

Considering the above, the main aim of this work was to obtain and evaluate a series of bromine benzyl-phenethyl acetamides and their corresponding Br-isoquinoline derivatives as antidepressant agents in the behavioural paradigm of forced swim test (FST). Antagonism experiments with reserpine, *p*-chlorophenyl alanine methyl ester (PCPA), sulpiride, haloperidol, and SCH23390, a dopamine D1 antagonist, explored the possible action mechanisms of those active compounds. Also, the inhibition of MAOs A and B was quantified in mouse brain mitochondrial fraction. A docking study was also conducted with the human dopamine D3 receptor and those BIQ derivatives with the highest antidepressant activity.

Materials and methods

The chemicals used were obtained from Sigma-Aldrich. Melting points (°C) were determined with a Fisher-Johns melting point apparatus and are uncorrected. Some reactions were heated using an Anton Paar Monowave 50 reactor. The ¹H NMR and ¹³C NMR spectra of synthesized compounds were recorded in CDCl₃ (Cambridge Isotope Laboratories, Inc.) using a Bruker Fourier 300 MHz or Bruker Ascend 700 MHz apparatus. Chemical shifts (δ) are expressed in ppm using tetramethylsilane (TMS) as the reference

signal. The multiplicity was assigned as follows: s, single; d, double; t, triplet; q, quadruple; m, multiple; bs, broad single. Coupling constants (*J*) are expressed in Hertz. The exact masses were determined by DART using an AccuTOF JMS-T 100LC apparatus. IR spectra were acquired using FTIR Bruker Tensor 27 equipment. All of the reactions were monitored by TLC and visualized under a UV lamp and by heating the TLC plates coated with Ce(SO₄)₂/H₂SO₄. Some compounds were purified by column chromatography using silica gel Macherey-Nagel Kieselgel 60 (0.063–0.2 mm). The solvents were distilled and dried before their use.

Chemistry

The synthesis of 2-(2-bromophenyl)acetic acid chloride (**1a**) was achieved through the reaction of 2-(2-bromophenyl)acetic acid (**1**) (2.3 mmol, 0.500 g) with SOCl₂ (6.9 mmol, 0.823 g) in dry dichloromethane (80 mL) and DMF (cat.) under an inert atmosphere after 2.5 h at room temperature. Then, the reaction mixture was concentrated under vacuum, and **1a** was obtained as a yellow oil, which was used without further purification in the 3a–3d synthesis. Although different conditions for the temperature or reaction times were tested, the reactions described below were those with the highest yield (Schemes 1 and 2).

Synthesis of 2-(2-bromophenyl)-N-(2-phenyl) ethyl acetamide (**3a**)

To a solution of phenethylamine **2a** (2.3 mmol, 0.278 g) and TEA (2.53 mmol, 0.255 g) in dry dichloromethane (80 mL), **1a** (300 mg) was added very slowly. The reaction was ended by adding a saturated NaCl solution (brine) and extracted with dichloromethane. The solvent was vacuum distilled, and the resulting solid was purified by crystallization from hexane. The acetamide **3a** was obtained as a white amorphous solid (80% yield), mp 105–107 °C. DART-MS *m/z* 320.04623 [*M* + 1]⁺ (calcd. for C₁₆H₁₆BrNO 320.04731) (Supplementary Scheme S17). For ¹H and ¹³C NMR (CDCl₃ 300 MHz, 125 MHz) data, see Supplementary Tables S3 and S4. The spectroscopic data of **3a** correspond to 2-(2-bromophenyl)-N-phenethylacetamide, a compound previously synthesized.¹²

Synthesis of 2-(2-bromophenyl)-N-(4-chlorophenethyl) acetamide (**3b**)

To a solution of *p*-chloro phenethylamine **2b** (2.3 mmol, 0.360 g) and TEA (2.3 mmol, 0.696 g) in dry dichloromethane (80 mL), **1a** (300 mg) was added very slowly. The reaction was processed in the same way as that described to synthesize **3a**. Compound **3b** was obtained as light yellow amorphous solid (85% yield), mp: 96–98 °C. DART-MS *m/z* 354.00952 [*M* + 1]⁺ (calcd. for C₁₆H₁₆ONBrCl 354.00833) (Supplementary Scheme S23). For ¹H and ¹³C NMR (CDCl₃ 300 MHz, 125 MHz) data, see Supplementary Tables S3 and S4.

Synthesis of 2-(6-nitro-2-bromophenyl) acetic acid chloride (**1b**)

H₂SO₄ (50.6 mmol, 4.8 g) and HNO₃ (4.6 mmol, 0.290 g) were added dropwise for 1 h to **1** (4.6 mmol, 1.0 g) in an inert atmosphere and ice bath. Then, the reaction mixture was poured on ice, and the precipitate formed was filtered. The product was purified by SiO₂ column eluted with hexane–EtOAc. The product obtained was transformed into chloride acid with thionyl chloride using the same procedure described for **1a**. Finally, the nitro derivative **1b** (1.91 mmol, 0.500 g) was obtained.

Synthesis of 2-(2-bromo-6-nitrophenyl)-N-phenethylacetamide (**3c**)

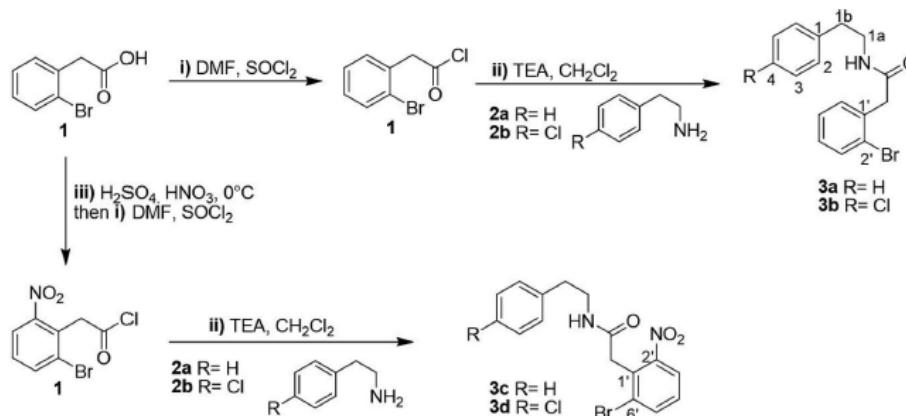
Phenethylamine **2a** (1.91 mmol, 0.204 g), TEA (5.7 mmol, 0.575 g), and chloride acid **1b** (1.91 mmol, 0.500 g) were dissolved in dry dichloromethane (80 mL). The reaction was processed in the same way as that described to synthesize **3a**. Then, **3c** was obtained as white solid (25% yield), mp 117–120 °C. DART-MS *m/z* 363.03324 [*M* + 1]⁺ (calcd. for C₁₆H₁₆O₃N₂Br 363.03443) (Supplementary Scheme S29). For ¹H and ¹³C NMR (CDCl₃ 300 MHz, 125 MHz) data, see Supplementary Tables S3 and S4.

Pagination not final (cite DOI) / Pagination provisoire (citer le DOI)

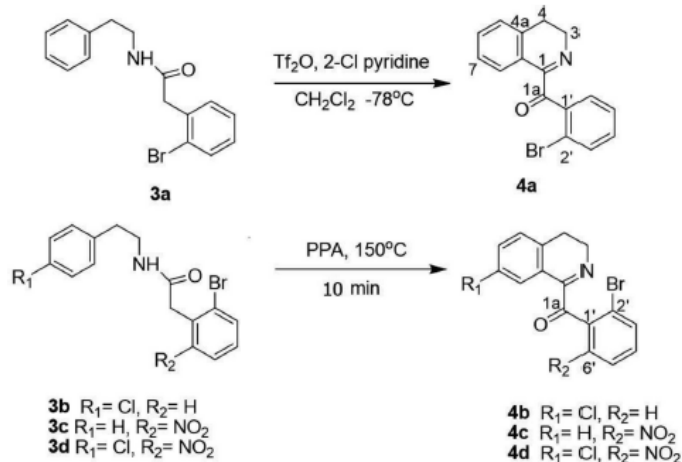
Porras-Ramírez et al.

3

Scheme 1. Reaction conditions for the synthesis of **3a–3d** amides: (i) SOCl_2 , DMF (cat.) in dichloromethane under inert atm.; (ii) phenethylamine **2a** (or **2b**) in dry dichloromethane, TEA, under inert atm., room temperature, 2.5 h; (iii) H_2SO_4 , ice bath, HNO_3 , under inert atm., 0°C , 1 h.



Scheme 2. Reaction conditions for the synthesis of benzyl isoquinoline series: 2-Cl pyridine in dry dichloromethane, triflyl anhydride (Tf_2O) dropwise, under inert atm. at -78°C , then room temperature for 2 h. PPA was placed in a heat synthesis reactor at 150°C for 10 min. Compounds **4a–4d** could have come from oxidation by air of the original products of the Bischler-Napieralski reaction.³⁵



Synthesis of 2-(2-bromo-6-nitrophenyl)-N-(4-chlorophenethyl)acetamide (**3d**)

p-Chloro phenethylamine **2b** (1.91 mmol, 0.204 g), TEA (5.7 mmol, 0.575 g) and chloride acid **1b** (1.91 mmol, 0.500 g) were dissolved in dry dichloromethane (80 mL). The reaction was processed in the same way as that described to synthesize **3a**. The acetamide **3d** was obtained as an amorphous light yellow solid (15% yield), mp 109–111 $^\circ\text{C}$. DART-MS m/z 398.65621 $[\text{M} + 1]^+$ (calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{O}_3\text{N}_2\text{BrCl}$ 397.65309) (Supplementary Scheme S35). For ^1H and ^{13}C NMR (CDCl_3 , 300 MHz, 125 MHz) data, see Supplementary Tables S3 and S4.

Synthesis of tetrahydroisoquinoline (**4**)

The acetamide **3a** was treated with POCl_3 in dry acetonitrile for 15 h at 50°C . Then, the mixture was reduced with NaBH_4 in dry EtOH for 2 h at room temperature. Usually, work up allowed to obtain the benzyl tetrahydroisoquinoline **4** (THIQ), a previously

isoquinoline synthesized¹² (Supplementary Table S1). For ^1H and ^{13}C NMR (CDCl_3 , 300 MHz, 125 MHz) data, see Supplementary Schemes S2–S6.

Synthesis of (2-bromophenyl)(3,4-dihydroisoquinolin-1-yl)methanone (**4a**)

The synthesis of **4a** was achieved by the Bischler-Napieralski reaction conditions from **3a**. The latter (1.5 mmol, 0.500 g) was mixed with 2-chloropyridine (1.65 mmol, 0.186 g), in dry dichloromethane (80 mL), and then Tf_2O (1.65 mmol, 0.465 g) at -78°C was added to the reaction mixture. After the reaction reached room temperature, it was stirred for another 2 h.¹³ Subsequently, 50 mL of a 1N NaOH solution was added, and it was extracted with dichloromethane. The crude product was subjected to a CC packed with SiO_2 and eluted with hexane–EtOAc mixtures of ascending polarity. **4a** was obtained as light yellow amorphous

solid (30% yield), mp: 98–100 °C. DART-MS m/z 314.01894 $[M + 1]^+$ (calcd. for $C_{16}H_{12}BrNO$ 314.01805) (Supplementary Scheme S42). For 1H and ^{13}C NMR ($CDCl_3$ 300 MHz, 125 MHz) data, see Supplementary Tables S5 and S6.

Synthesis of (2-bromophenyl)(7-chloro-3,4-dihydroisoquinolin-1-yl)methanone (4b)

The acetamide **3b** (0.59 mmol, 0.208 g) and PPA (6 mL) were put into a glass tube, and the mixture was heated with the Anton Paar Monowave 50 reactor for 10 min at 150 °C. Later, the reaction was quenched with $NaHCO_3$ saturated solution and extracted with dichloromethane (50 mL \times 3). Then, the solution was dried with anhydrous Na_2SO_4 , filtered, and concentrated to dryness. The purification of **4b** was achieved by preparative thin-layer chromatography (PTLC) eluted with hexane-EtOAc (8:2) three times. **4b** was obtained as white amorphous solid (24% yield), mp: 78–80 °C. DART-MS m/z 347.98012 $[M + 1]^+$ (calcd. for $C_{16}H_{11}BrClNO$ 347.97908) (Supplementary Scheme S47). For 1H and ^{13}C NMR ($CDCl_3$ 300 MHz, 125 MHz) data, see Supplementary Tables S5 and S6.

Synthesis of (2-bromo-6-nitrophenyl)(3,4-dihydroisoquinolin-1-yl)methanone (4c)

The synthesis of **4c** was achieved from **3c** (0.55 mmol, 0.200 g) and PPA (6 mL) treated in the same way described for the synthesis of **4b**. **4c** was obtained as yellow amorphous solid (19% yield), mp: 93–95 °C. DART-MS m/z 361.00076 $[M + 1]^+$ (calcd. for $C_{16}H_{12}BrN_2O_3$ 361.00108) (Supplementary Scheme S53). For 1H and ^{13}C NMR ($CDCl_3$ 300 MHz, 125 MHz) data, Supplementary Tables S5 and S6.

Synthesis of (2-bromo-6-nitrophenyl)(7-chloro-3,4-dihydroisoquinolin-1-yl)methanone (4d)

The synthesis of **4d** was done from **3d** (0.50 mmol, 0.200 g) and PPA (6 mL) treated in the same way described for the synthesis of **4b**. The final product **4d** was obtained after purification, as dark yellow solid (8% yield), mp: 69–71 °C. DART-MS m/z 394.96304 $[M + 1]^+$ (calcd. for $C_{16}H_{10}BrClN_2O_3$ 394.96211) (Supplementary Scheme S58). For 1H and ^{13}C NMR ($CDCl_3$ 700 MHz, 175 MHz) data, see Supplementary Tables S5 and S6.

Biological evaluations

Animals

Experimental adult male Swiss Webster mice (25–35 g) were obtained from the vivarium at the Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz. Mice had free access to water and food during all experiments and were managed following the specifications of the official Mexican norm (NOM-062-ZOO-1999) and the general principles of laboratory animal care (NIH publication # 85-23, revised in 1985). The local ethical committee approved the protocol (NC16045.1). Animals were housed in polycarbonate cages (27 cm \times 17 cm \times 15 cm), eight per cage, in a humidity- and temperature-controlled (20–21 °C) room, under inverted light–dark conditions (12–12 h, lights on at 22:00 h), with all behavioural experiments done in the 10:00 to 14:00 h period. In agreement to ARRIVE (Animal Research: Reporting of in vivo Experiments) guidelines and following 3R's ethical principles, we made our maximum efforts to minimize animal suffering and the number of animals necessary for the capture of reliable data.

Drugs and dosage

Imipramine, clomipramine, and desipramine are drugs used in the treatment of depression. These drugs act as reuptake inhibitors of catecholamines and serotonin, which are involved in depression disorders. On the other hand, reserpine sulphide, PCPA, haloperidol, and SCH23390 were used for action mechanism elucidation. All these compounds were obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). The drugs were prepared as solutions or suspensions in physiological saline containing 0.1% Tween 80 and

administered intraperitoneally at a constant volume of 10 mL/kg body weight. Sulpiride was dissolved in saline with 1% HCl (0.1N) and administered subcutaneously.

Each treatment had its control group treated with the corresponding vehicle. Doses are expressed as milligrams of experimental molecule per kilogram of the body weight of mice. Imipramine, desipramine, and clomipramine were used as reference drugs, and their doses were selected based on previous reports in mice of their anti-immobility effects.^{14,15} A single dose of different experimental molecules was administered 30 min before the test session of the FST. After seven days, the same animals were administered with a single dose of the drug and after 30 min were subjected to an open field test (OFT).¹⁴

Behavioural test

The FST is perhaps the most widely used animal protocol for investigating the antidepressant potential of current and novel molecules in experimental pharmacological studies. To discard the unspecific effect of experimental drugs (e.g., hyper- or hypoactivity), the ambulatory activity of the mice was evaluated in the OFT (Supplementary Table S2).

Forced swimming test (FST)

Mice were individually placed in glass cylinders (height: 21 cm, diameter: 14.5 cm) containing 15 cm of water at $23 \pm 1^\circ C$. All animals were forced to swim for a 15 min period (pre-test) and 24 hours later for a 3 min session (test). After each swimming session, mice were removed from the water, dried carefully, and returned to the safety of their cage. In the pre-test session, mice initially tried to escape by swimming, after a while though, they assumed a fixed position. During the test session, the mouse initially swims and progressively adopted an immobility behaviour and starts to float; the immobility behaviour accumulated during the test session is measured (seconds). Drugs and antidepressants used as control were administered 30 min before the test session.¹⁵

Open field test (OFT)

The OFT was used to exclude false positive or negative responses; for instance, the central stimulant amphetamine increases both locomotor activity and swimming but is not an antidepressant drug.¹⁶

The apparatus consisted of an opaque Plexiglas box (40 cm \times 30 cm \times 20 cm) with the floor divided in 12 equal squares. The animals were placed in a corner of the apparatus and their behaviour was videotaped during a 5 min session. An observer, blind to the pharmacological treatment, registered the number of times that mouse entered to each square (counts per 5 min), as well as the number of times that it stood on its hind legs (rearing number). The box was carefully cleaned between tests. Number of counts was expressed as mean \pm standard error of the mean.^{14,15}

Evaluation of the participation of the dopaminergic or serotonergic system in the antidepressant-like actions

To explore the possible biochemical mechanisms underlying **4a**, independent co-administration assays were done. The mean effective doses (ED_{50}) of **4a** (18.4 mg/kg) was combined with the following drugs: (1) reserpine, which depletes the storage of serotonin, dopamine, and noradrenaline in the secretory vesicles, (2) PCPA, which inhibit the tryptophan hydroxylase and therefore represses the synthesis of serotonin without inhibiting the noradrenaline or dopamine synthesis, (3) SCH23390, which is a D1 dopamine receptors antagonist, (4) sulpiride, which is a selective antagonist at dopamine D2, D3, and 5-HT1A receptors, and (5) haloperidol, which is a dopamine D2 receptor antagonist. The co-administration conditions are described below.

Although there are widely accepted protocols where groups of 10 mice are recommended for conducting these types of behavioural experiments,¹⁷ our own experience has indicated that with

groups of 8 mice, sufficient statistical strength is reached to validate our results.^{18–20}

Experiment I: A group of mice ($n = 8$) was administered reserpine 2 mg/kg intraperitoneally, and after 30 min, mice were treated with 4a. The FST was performed 30 min after isoquinoline administration. A second group administered with saline served as the control.

Experiment II: A group of mice ($n = 8$) was pre-treated with PCPA (100 mg/kg) once a day, for four consecutive days. After 30 min of the last administration of PCPA, 4a was administered intraperitoneally. The FST was performed 30 min after isoquinoline administration. A second group administered with vehicle served as the control.¹⁵

Experiment III: A group of mice ($n = 8$) were pre-treated with SCH23390 (0.05 mg/kg) subcutaneously. After 30 min of the administration of SCH23390, 4a was administered intraperitoneally. The FST was performed 30 min after isoquinoline administration. A group administered with saline served as the control.

Experiment IV: A group of mice ($n = 8$) was pre-treated with sulpiride (50 mg/kg). After 30 min of the dispensation of sulpiride, 4a was administered intraperitoneally. The FST was performed 30 min after isoquinoline dispensation. A group administered with saline served as the control.

Experiment V: A group of mice ($n = 8$) was co-treated with haloperidol at 0.2 mg/kg plus 4a and after 30 min were subjected to the FST. A group administered with saline served as the control.

Experiment VI: The possible effect of 4a on MAO A and B activities in whole-brain mouse was measured using mitochondrial preparations. The MAO activity was measured by a spectrometric method (Thermo Electron BioMate 3 UV-vis spectrophotometer).²¹ The assay mixture contained 4 mM 5HT or 2 nM β -PEA as specific substrates for MAO A and B, respectively. Inhibition experiment of MAO activities was performed by addition of clorgyline (MAO A selective inhibitor) or deprenyl (MAO B selective inhibitor) and the substrate 4a. Protein concentration was adjusted to 1 mg/mL, and it was measured by Bradford's method using bovine serum albumin as the standard.²²

Docking analysis

Considering that haloperidol and sulpiride inhibited the immobility time induced by 4a, these outcomes indicated that 4a also acts on the D2 and D3 dopamine receptors. Thus, docking analysis of 4a with human D3 dopamine receptor was conducted.

The human dopamine D3 receptor structure used for docking analysis was obtained from the Protein Data Bank (PDB: 3PBL). The three-dimensional structure of 4a (BIQ:4a) was generated with the software Maestro, ver. 11.9 (Schrodinger, LLC, New York, NY, USA). For docking analysis, the agonist eticlopride was removed from the binding site of D3 dopamine receptor using the software UCSF Chimera ver. 1.13.1 (developed by the Resource for Biocomputing, Visualization, and Informatics at the University of California, San Francisco, with support from NIH P41-GM103311).²³ The protein and ligand structures were prepared for docking using the software ADT 1.5.2.²⁴ Docking analysis was conducted using the software Autodock 4.2.5.1 available from <http://autodock.scripps.edu/>.²⁵ After docking, the 100 best conformations for each ligand were selected and then clustered for analysis using the software ADT 1.5.2. Conformations selected were within the most represented cluster and corresponded to those showing the lowest values of binding energy and theoretical binding affinity (K_d). Model analyses and figures drawing were carried out with PYMOL 2.1.0 (The PyMOL Molecular Graphics Systems, version 2.1.0 Schrödinger, LLC; available from <https://sourceforge.net/projects/pymol/>).²⁵

Statistical analysis

Differences between groups were analysed with a Kruskal-Wallis non-parametric test, followed by the Dunn's test or by Mann-Whitney U test for paired comparisons when the non-parametric ANOVA showed statistical significance ($p < 0.05$). All the statistical analyses were performed with SigmaStat version 12.

Results and discussion

Chemistry

To optimize the synthetic method for obtaining the acetamide series, it was decided to synthesize the acetamide 3a, a compound previously synthesized.¹² This reaction gave an excellent result, which allowed us to use the proper conditions for the synthesis of the acetamides 3b–3d.

The structural similarity of some acetamides was reflected in their chemical shifts in both the ¹H and ¹³C spectra. For example, in all acetamides, the methylene at position 1a, in the ¹H NMR spectrum, was between 3.23 and 3.54 ppm, whereas the methylene at position 1b was between 2.47 and 2.82 ppm. On the other hand, in the ¹³C NMR spectrum, the assigned displacement for position 1a was between 40.67 and 42.53 ppm, and for position 1b, it was between 34.77 and 35.69 ppm.

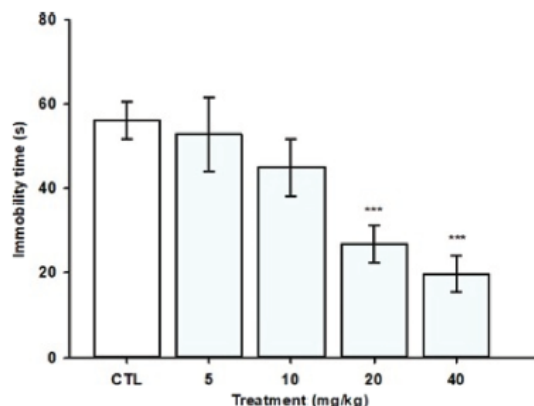
The chemical shift of the other signals will depend on the proper structure of the acetamide. However, the acetamides 3b–3d showed AA'BB' system (Supplementary Schemes S7 and S8).

As one of the first attempts to obtain BIQ compounds, 3a was subjected to Bischler-Napieralski reaction conditions with POCl₃. This reaction allowed us to obtain the benzyl tetrahydroisoquinoline 4 (THIQ), a BIQ previously synthesized¹² (Supplementary Table S1). THIQ was evaluated for antidepressant-like effects on FST and OFT and showed an excellent antidepressant activity in mice (Supplementary Scheme S1a). However, due to the low yield of this reaction and the poor reaction reproducibility, it was decided to use polyphosphoric acid (PPA) or triflic anhydride (Tf₂O) as an acid catalyst.

The structural similarity of synthesized BIQs is evidenced in their spectroscopic data; for example, the chemical shift of both hydrogen and carbon atoms at C3 and C4 position are similar (Supplementary Tables S5 and S6). Furthermore, it is noteworthy that the AA'BB' spin systems disappeared. This fact corroborates the closure of the heterocyclic ring. Another critical feature is the presence of a ketone function at position 1a in all BIQ synthesized. The ¹³C NMR spectra corroborated the presence of a carbonyl group at position 1a by the signal around 195 ppm for 4a–4d derivatives (Supplementary Table S6). Comparative NMR ¹³C spectra of 3a–3d are shown in Supplementary Scheme S8. It was previously reported that the reaction of 3a with PPA at 150 °C overnight produces an unstable product when exposed to silica gel. Hence, the reaction mixture was subjected to a reduction reaction with sodium borohydride without further purification, affording the corresponding tetrahydroisoquinoline derivative. This procedure led to the synthesis of 13 isoquinolines derivatives.¹² In our case, when 3a was treated in the same reaction conditions, it afforded the oxo isoquinoline 4a, after purification using a chromatography column packed with silica gel, eluting with a mixture of hexane–EtOAc. Because 4a was quite stable, it allowed us not only to identify it by spectroscopic methods, but also evaluate it in the biological test. It seems that the oxidized product of this reaction, previously reported as unstable, was now isolated. However, the yields are low, which would indicate a certain degree of decomposition. The bi-dimensional spectra of all BIQs synthesized are shown in the Supplementary data.

Compound 4a was obtained as a light-yellow amorphous powder. The molecular formula of C₁₆H₁₂BrNO was established by DART-MS with a [M + H]⁺ peak at $m/z = 314.01894$ (calcd. for C₁₆H₁₂BrNO: 314.01894), indicating 11 degrees of unsaturation (Supplementary Scheme S42). In the ¹H NMR spectrum of 4a, eight aromatic protons appeared in the downfield region between

Fig. 1. Antidepressant-like effects of a single intraperitoneally administration of the acetamide 3a. All results are expressed as mean \pm standard mean error of a group of eight mice. Comparisons were made using the Kruskal–Wallis analysis of variance based on ranks, followed by the Mann–Whitney U test. Experimental groups were significantly different from the control group (CTL): *, $p \leq 0.05$; **, $p \leq 0.005$; ***, $p \leq 0.001$. [Colour online.]



7.23 and 7.73 ppm, revealing the presence of two phenyl groups. Furthermore, two methylene groups, as triplet signals, were observed at 3.89 and 2.80 ppm (Supplementary Scheme S36). The ^{13}C NMR and DEPT spectra of 4a revealed the presence of 16 carbons, including eight aromatic sp^2 methines, five sp^2 quaternary carbons, and one carbonyl (Supplementary Schemes S37 and S38). The HSQC spectrum revealed all of the one bond H–C connectivities (Supplementary Scheme S40). The above data, together with the ^1H – ^1H COSY and HMBC correlation experiments (Supplementary Schemes S39 and S41), further established unequivocally the structure of 4a as (2-bromophenyl)(3,4-dihydroisoquinolin-1-yl) methanone. Similar spectroscopic analyses corroborated the structures for the 4c–4d compounds. Under Bischler–Napieralski reaction conditions, it is challenging to expect benzylic oxidation. However, obtaining (3,4-dihydroisoquinolin-1-yl)(phenyl)methanone derivatives from environment oxidation of its precursor 1-benzyl-3,4-dihydroisoquinoline derivatives has been reported.³⁹ Therefore, it is feasible to assume that compounds 4a–4d were obtained by oxidation of their precursor 1-benzyl-3,4-dihydroisoquinoline derivatives obtained as products of the Bischler–Napieralski reaction.

Antidepressant-like evaluation

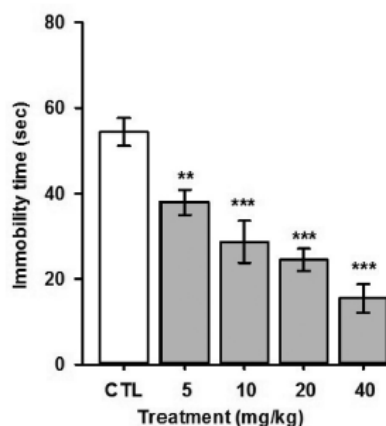
The versatility and ease of implementation have made the FST the most current method used to screen for new antidepressant-like drugs.^{15,16} It is well known that treatment with antidepressant drugs reduces the immobility time (IT) in the FST; thus, the IT has been proposed as an animal parameter of depression.

Acute treatment with 3a induced a decreased dose–response immobility behaviour on FST, being at 20 and 40 mg/kg doses statistically different in comparison with the control group ($H = 18.88$, degrees of freedom (df) = 4, $p \leq 0.001$) (Fig. 1), without affecting the exploratory behaviour of mice ($H = 5.79$, df = 4, $p = 0.21$) (Supplementary Table S2).

Taking antidepressant-like responses of 3a into account, the acetamide 3c and the benzyl-isoquinolines 4a synthesized from 3a were selected to be evaluated in FST. The results displayed that 4a showed a robust dose-dependent antidepressant-like

F1

Fig. 2. Antidepressant-like effects of a single intraperitoneally administration of 4a. All results are expressed as mean \pm standard mean error of groups of eight mice. Comparisons were made using the Kruskal–Wallis analysis of variance based on ranks, followed by the Mann–Whitney U test. Experimental groups were significantly different from the control group (CTL): *, $p \leq 0.05$; **, $p \leq 0.005$; ***, $p \leq 0.001$.



effect from 5 mg/kg until 40 mg/kg compared with the control group ($H = 25.609$, df = 4, $p \leq 0.001$) (Fig. 2). 4a showed better antidepressant-like behaviour than all acetamides evaluated, even at the lowest dose, with a significant decrease in IT compared with the control group. The 4a effects at ED₅₀ doses were comparable with that of clomipramine (the antidepressant used as reference). The isoquinolines 4a did not affect the ambulatory activity of mice (Supplementary Table S2). Although the acetamides 3b–3d did not show antidepressant activity, it was decided to synthesize their respective BIQ derivatives. However, none of these isoquinolines was active.

The antidepressant-like effects of the experimental drugs were contrasted with those produced by canonical antidepressant drugs of clinical use. Thus, as expected, the tricyclic antidepressant, imipramine, which acts preferentially blocking the mechanism of the re-uptake of biogenic amines such as noradrenaline,²⁷ and clomipramine, a serotonin re-uptake inhibitor,²⁸ produced a significant reduction of the immobility time at 25 and 50 mg/kg compared with the saline group treated ($H = 30.22$, df = 3, $p \leq 0.001$ and $H = 33.48$, df = 3, $p \leq 0.001$, respectively). At the same time, desipramine, the primary active metabolite of the imipramine,²⁹ is a relatively selective noradrenaline re-uptake inhibitor and produced a decreased significant the immobility behaviour from 6.25 to 25 mg/kg ($H = 29.680$, df = 3, $p \leq 0.001$) (Fig. 3). These drugs did not modify the ambulatory activity of mice (Supplementary Table S2).

A wide variety of BIQ derivatives that possess antidepressant properties are available. It has been reported that BIQ derivatives can act through different mechanisms or pathways that participate in the process of depression. The blockade of the receptor's target is a crucial parameter for understanding their pharmacological actions. Thus, to explore the possible mechanisms underlying the 4a antidepressant-like activities, it was administered in combination with specific ligands in the FST.

The results showed that the anti-immobility effect of 4a was blocked by its co-administration with reserpine, an antagonist presynaptic that depleted the storage of serotonin, dopamine, and noradrenaline in the secretory vesicles. This outcome suggested the participation of serotonin and noradrenaline, and

F2

F3

Fig. 3. Antidepressant-like effects of imipramine (IMI), clomipramine (CLI), and desipramine (DIM) in the FST. All results are expressed as mean ± standard mean error of groups of eight mice. Comparisons were made using the Kruskal-Wallis analysis of variance based on ranks, followed by the Mann-Whitney U test. Experimental groups were significantly different from the control group (CTL): $p \leq 0.001$. [Colour online.]

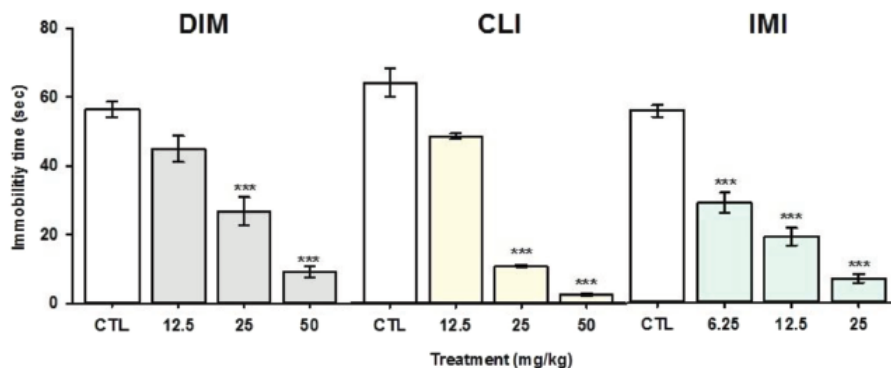
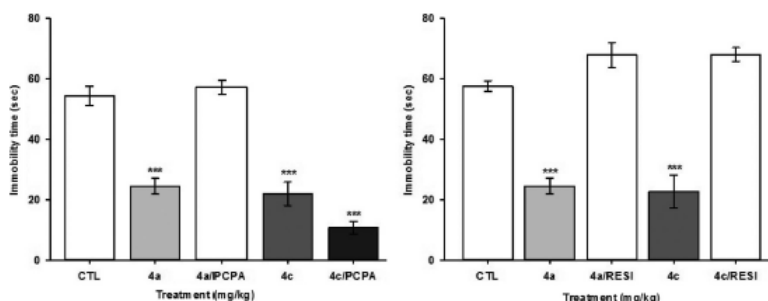


Fig. 4. Effect of the co-administration of 4a with p-chloro-phenylalanine methyl ester (PCPA) or reserpine (RESI) in the FST. All results are expressed as mean ± standard mean error of groups of mice. Comparisons were made using the Kruskal-Wallis analysis of variance based on ranks, followed by the Mann-Whitney U test. Experimental groups were significantly different from the control group (CTL): ***, $p \leq 0.001$. CTL vs 4c/RESI and $T = 74.00$, $p = 0.040$.



dopamine in the 4a antidepressant actions. Although the administration of 4a in animals pre-treated with PCPA, which inhibits the serotonin synthesis but not the noradrenaline or dopamine synthesis, was able to inhibit the antidepressant-like effect of 4a (Fig. 4). This finding indicated that 4a acts on the serotonergic system.

The central hypothesis about the pathophysiology of depression is based on prominent participation of the central serotonergic and noradrenergic systems. However, several studies suggest that the dysfunction of the central dopaminergic pathways may be a critical part of the neurobiological basis of depression.^{30,51} Initial pharmacological studies carried out on dopamine receptors allowed these to be classified into two major groups: D1 and D2. Today, a total of five different molecular forms of dopamine receptors have been described.

Nevertheless, classification into D1 (or D1-like) and D2 (or D2-like) receptors, positively or negatively coupled to AC, is still widely used in preliminary studies.³²

The co-administration of 4a with the dopamine D2 receptor antagonist sulpiride or the dopamine D1 antagonist SCH23390 blocked the antidepressant-like activity of these BIQ (Fig. 5). The fact that SCH23390 blocked the 4a antidepressant activities showed the involvement of subtype D1 dopamine receptors in the

activities of this isoquinoline. Furthermore, the antidepressant-like activity of 4a was also blocked by their co-administration with haloperidol, a non-selective D2 receptor antagonist (Fig. 6). The blocked 4a antimotility behaviour in the FST by haloperidol and sulpiride showed that this BIQ also act on the D2 and D3 dopamine receptors.

The enzymes monoamine oxidases A (MAO A) and B (MAO B) participate in the oxidative catabolism of important catecholamines neurotransmitters, including noradrenaline, dopamine, and serotonin. MAOs unique position in modulating the function of a different neurotransmitters associates with various diseases, including mood disorders, anxiety and depression disorders, schizophrenia, neurodegenerative diseases, and others has highlighted the enzymes as a therapeutic target.^{33,34} Our results showed that 4a inhibited MAO A activity. Therefore, the mechanism of action of 4a might be related to an increase in MAO B activity; this is a point that we will explore in future studies (Table 1).

Together, these results show that 4a interacts with the dopamine receptors to elicit their antidepressant-like effects. However, the serotonin at the presynaptic level also contributed to antidepressant actions of 4a and thus inhibited the MAO A, but not MAOB, activity, probably because 4a inhibits the re-uptake of

F4

F5

F6

T1

Fig. 5. Effect of the co-administration of 4a (12.36 mg/kg) with the dopamine D2 receptor antagonist sulpiride (50 mg/kg) or the dopamine D1 antagonist SCH23390 (0.05 mg/kg) in comparison with the control group (CTL) in the FST.

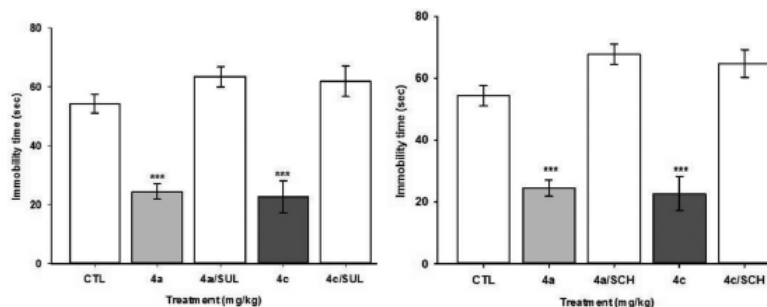
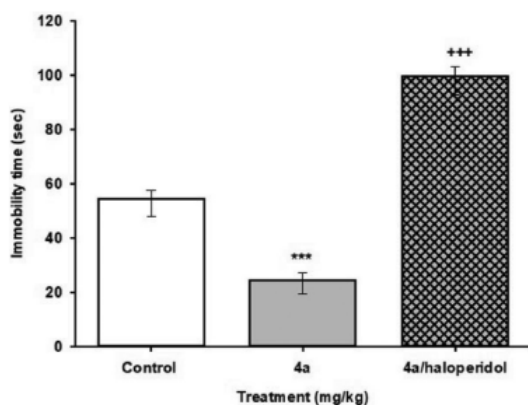


Fig. 6. Effect of the co-administration of 4a (18.4 mg/kg) with haloperidol (100 mg/kg) a non-selective D2 receptor antagonist in comparison to control group (saline solution) in the FST. All results are expressed as mean \pm standard mean error of groups of eight mice. Comparisons were made using the Kruskal-Wallis analysis of variance based on ranks, followed by the Mann-Whitney U test. Experimental groups were significantly different from the control group (CTL): ***, $p \leq 0.001$.



serotonin in the synaptic cleft. However, specific studies to address this proposal are necessary.

It is not frequent that BIQ acts on both receptors; however, some isoquinolines have been reported to act on both serotonergic and dopaminergic receptors.^{8,35-37} Our results agree with those reported for other BIQ-type compound derivatives.^{8,37} To our knowledge, this is the first time that the antidepressant activity of bromine BIQs with an oxygen function in C1a has been reported.

Since the end of the 1970s, the activity of isoquinoline benzyl-type compounds in dopamine receptor systems has been reported.^{9,40} In most cases, the BIQs presented oxygenated substituents on the aromatic rings.⁴¹ Active BIQs with halogen atoms were also reported.^{8,42} Furthermore, it has been reported that some BIQ derivatives with F or Cl substituent showed affinity properties for several receptors in CNS.³⁸ The activity over of the dopaminergic and serotonergic systems of this type of compounds was recently verified.⁸

Table 1. Effects of 4a, chlorgyline, and deprenyl on the MAO A and MAO B activity mouse mitochondrial preparations.

Substrate	Inhibitor	MAO A (iu/mg-protein)	MAO B (iu/mg-protein)
5HT (4 nm)	—	55.39 \pm 10.69	—
5HT (4 nm)	4a	26.1 \pm 9.32***	—
5HT (4 nm)	Chlorgyline	25.87 \pm 6.31***	—
β -pea	—	—	67.36 \pm 6.75
β -pea	4a	—	56.92 \pm 14.96
β -pea	Deprenyl	—	24.79 \pm 6.20***

Note: Results depicted the mean \pm standard error of the mean of three experiments. *** $p < 0.0001$ when compared with control groups.

However, as far as we know, this is the first report on the antidepressant activity of a BIQ with oxygen function at 1a position. It should be noted that this BIQ acts on the dopaminergic and serotonergic systems.

Docking results showed two leading families of conformations for the binding of 4a in the tying site of the human dopamine D3 receptor. However, they showed different affinities. The theoretical binding energy and K_d values of the conformer of higher affinity of both families is shown in Table 2. Human dopamine D3 receptor showed a very high affinity for 4a; the K_d value determined was about 10-fold lower than the theoretical K_d value determined for the agonist of this receptor eticlopride. Despite the lower affinity, conformation 2 of both compounds was the one that most closely resembled the binding of eticlopride in the crystal, suggesting that this one may be the interacting conformation with the receptor (Scheme 3). These results strengthen the proposal of interaction of these molecules with the dopamine receptors.

Conclusions

Considering that several halogenated BIQs have been reported to act on the CNS, it was decided to synthesize several of these derivatives and evaluate them as antidepressant agents in mice. The bromoacetamides 3a-3d were synthesized as precursors of their respective BIQs. Evaluation of these bromoacetamides as antidepressant agents indicated that 3a presented the best antidepressant-like activity without altering the motor apparatus of the animals. This behaviour was conserved in the synthesized BIQ 4a. It is worth noting that the synthesized BIQs in this work represent a new class of compounds with an oxygen function at C1a position.

Antagonist experiments showed that 4a acts on the serotonergic and dopamine systems. Docking studies indicated a strong

Page not final (cite DOI) / Page not final (cite DOI)

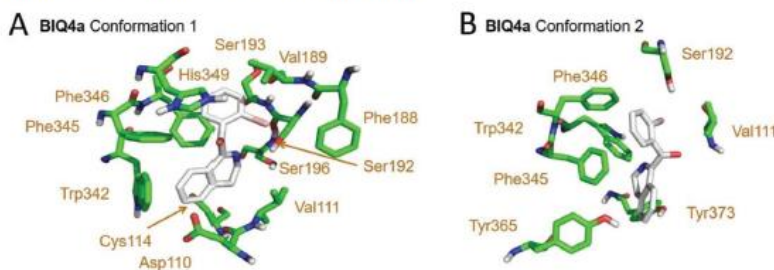
Porrás-Ramírez et al.

9

Table 2. Theoretical binding energy and K_d values of to the human dopamine D3 receptor.

Molecule	Binding energy (kcal/mol)		K_d (μ M)	
	Configuration 1	Configuration 2	Configuration 1	Configuration 2
Eticlopride	-7.73	—	2.15	—
4a	-9	-8.2	0.254	0.972

Scheme 3. Interactions of 4a with amino acids in the binding site of human dopamine D3 receptor. 4a (coloured as elements) and amino acids within 4 Å (coloured in green) are shown as sticks. [Colour online.]



affinity between the human dopamine D3 receptor and 4a. These findings indicate that 4a may be considered as a leading molecule for subsequent studies to obtain new potent antidepressant drugs.

Author contributions

JPR and MMV designed the study and conducted the synthesis work. RER, JHN, and AMDB performed the pharmacological evaluation. JSRZ conducted the docking analysis. MMV, JPR, and RER wrote the main text and approved the final edition of the manuscript.

Supplementary data

Supplementary data are available with the article at <https://doi.org/10.1139/cjc-2020-0291>.

Acknowledgments

Partial financial support came from Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz (NC 16045.1). Javier Porrás-Ramírez is PhD student at Programa de Doctorado en Ciencias Químicas de la Universidad Nacional Autónoma de México with CONACyT scholarship number 280272. The authors are indebted to Alvaro Zetina Cano and Zaira J. Ramírez Monroy for their technical assistance and animal handling.

References

- Nestler, E. J.; Barrot, M.; DiLeone, R. J.; Eisch, A. J.; Gold, S. J.; Monteggia, L. M. *Neuron*. **2002**, *34*, 13. doi:10.1016/s0896-6273(02)00653-0.
- Monroe, S. B. *Handbook of depression*. Gotlib, H., Hammen, H.L. (Eds). Guilford Press. New York 2002, The social environment and depression: Focusing on severe life stress, 314–334.
- Reddy, M. S. *Indian J. Psychol. Med.* **2010**, *32*, 1. doi:10.4103/0253-7176.70510.
- Yang, S. N.; Wang, Y. H.; Tung, C. S.; Ko, C. Y.; Liu, Y. P. *Chin. J. Physiol.* **2015**, *58*, 404. doi:10.4077/CJP.2015.BAD335.
- Tundo, A.; De Filippis, R.; Proietti, L. *World J Psychiatry*. **2015**, *5*, 330. doi:10.5498/wjp.v5.i3.330.
- Nash, J.; Nutt, D. *Psychiatry*. **2007**, *6*, 289. doi:10.1016/j.mppsy.2007.04.005.
- Hasler, G. *World Psychiatry*. **2010**, *9*, 155. doi:10.1002/j.2051-5545.2010.tb00298.x.
- Cabedo, N.; Berenguer, I.; Figadere, B.; Cortes, D. *CMC*. **2009**, *16*, 2441. doi:10.2174/092986709788862100.
- Brossi, A.; Rice, K. C.; Mak, C.-P.; Reden, J.; Jacobson, A. E.; Nimitkitpaisan, Y.; Skolnick, P.; Daly, J. J. *Med. Chem.* **1980**, *23*, 648. doi:10.1021/jm00180a013.
- Richter, D. *Addiction and Brain Damage*. Routledge. London: 1980. doi:10.4324/9781315454054.
- Moreno, L.; Cabedo, N.; Boulangé, A.; Párraga, J.; Galán, A.; Leleu, S.; Sanz, M.-J.; Cortes, D.; Franck, X. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *69*, 69. doi:10.1016/j.ejmech.2013.08.013.
- Lafrance, M.; Blaquiére, N.; Fagnou, K. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, *2007*, 811. doi:10.1002/ejoc.200600674.
- Movassaghi, M.; Hill, M. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3485. doi:10.1021/ol801264u.
- Martínez-Vázquez, M.; Estrada-Reyes, R.; Araujo Escalona, A. G.; Ledesma Vázquez, I.; Martínez-Mota, L.; Moreno, J.; Heinze, G. *J. Ethnopharmacol.* **2012**, *139*, 164. doi:10.1016/j.jep.2011.10.033.
- Estrada-Reyes, R.; Valdés-Iovar, M.; Arrieta-Baez, D.; Dorantes-Barrón, A. M.; Quero-Chávez, D.; Solís-Chagoyán, H.; Argueta, J.; Dubocovich, M.; Benítez-King, G. *IJMS*. **2018**, *19*, 2278. doi:10.3390/ijms19082278.
- Porsolt, R. D.; Anton, G.; Blavet, N.; Jalbre, M. *Eur. J. Pharmacol.* **1978**, *47*, 379. doi:10.1016/0014-2999(78)90118-8.
- Castagné, V.; Moser, P., and Porsolt, R. *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience*. Buccafusco, J.J. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis 2009, Chapter 6. 2nd edition. Frontiers in Neuroscience ISBN-13: 978-1-4200-5234-3.
- Martínez-Vázquez, M.; Estrada-Reyes, R.; Martínez-Laurrabaquio, A.; López-Rubalcava, C.; Heinze, G. *J. Ethnopharmacol.* **2012**, *141*, 908. doi:10.1016/j.jep.2012.03.028.
- Cassani, J.; Araujo, A.; Martínez-Vázquez, M.; Manjarrez, N.; Moreno, J.; Estrada-Reyes, R. *Molecules*. **2013**, *18*, 7584. doi:10.3390/molecules18077584.
- Cassani, J.; Ferreyra-Cruz, O.; Dorantes-Barrón, A. M.; Viguera Villaseñor, R. M.; Arrieta-Baez, D.; Estrada-Reyes, R. *J. Ethnopharmacology*. **2015**, *171*, 295. doi:10.1016/j.jep.2015.05.055.
- Kitagawa, Y. *J. Med. Sci.* **1994**, *6*, 75. doi:10.15369/sujms1989.6.75.
- Bradford, M. M. *Anal. Biochem.* **1976**, *72*, 248. doi:10.1016/0003-2697(76)90527-3.
- Pettersen, E. F.; Goddard, T. D.; Huang, C. C.; Couch, G. S.; Greenblatt, D. M.; Meng, E. C.; Ferrin, T. E. *J. Comput. Chem.* **2004**, *25*, 1605. doi:10.1002/jcc.20084.
- Morris, G. M.; Huey, R.; Lindstrom, W.; Sanner, M. F.; Belew, R. K.; Goodsell, D. S.; Olson, A. J. *J. Comput. Chem.* **2009**, *30*, 2785. doi:10.1002/jcc.21256.
- Huey, R.; Morris, G. M.; Olson, A. J.; Goodsell, D. S. *J. Comput. Chem.* **2007**, *28*, 1145–1152. doi:10.1002/jcc.20634.20. The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.1.0 Schrödinger, LLC. <https://sourceforge.net/projects/pymol>.
- Li, J.; Berger, M.; Zawodny, W.; Simaan, M.; Maulide, N. *Chem*. **2019**, *5*, 1883. doi:10.1016/j.chempr.2019.05.006.
- Vardanyan, I. R. S.; Hruby, V. J. *Synthesis of Essential Drugs*. **2007**, 103. doi:10.1016/B978-0-444-52166-8/50007-8.
- Stahl, S. *Cambridge University Press*. **2013**, 103–104, 106. ISBN 978-1-107-72992-6.
- Bylund, Desipramine. In Reference Module in Biomedical Sciences, 2018. xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference, 2007, Pages 1–5 2018. doi:10.1016/B978-0-12-801238-3.98209-6.

Published by NRC Research Press

Pagination not final (cite DOI) / Pagination provisoire (citer le DOI)

10

Can. J. Chem. Vol. 00, 0000

- (30) Dailly, E.; Chenu, F.; Renard, C. E.; Bourin, M. *Fundam. Clin. Pharmacol.* **2004**, *18*, 601. doi:10.1111/j.1472-8206.2004.00287.x.
- (31) Dunlop, B. W.; Nemeroff, C. B. *Arch. Gen. Psychiatry.* **2007**, *64*, 327. doi:10.1001/archpsyc.64.3.327-337.
- (32) Asencio, M.; Hurtado-Guzmán, C.; López, J. J.; Cassels, B. K.; Protais, P.; Chagraoui, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 3699. doi:10.1016/j.bmc.2005.03.022.
- (33) Cai, Z. *Mol. Med. Rep.* **2014**, *9*, 1533. doi:10.3892/mmr.2014.2040.
- (34) Edmondson, D. E.; Binda, C.; Wang, J.; Upadhyay, A. K.; Mattevi, A. *Biochemistry.* **2009**, *48*, 4220. doi:10.1021/bi900413g.
- (35) Moglnicka, E.; Klimek, V.; Golembiowska-Nikitin, K. *J. Neural Transmission.* **1977**, *40*, 195. doi:10.1007/BF01300134.
- (36) Pesarico, A. P.; Bazanella, T.; Curte, E.; Mantovani, A. C.; Zeni, G.; Wayne, C. *Progress in Neuro-Prusopharmacology & Biological Psychiatry.* **2014**, *54*, 179. doi:10.1016/j.pnpbp.2014.06.001.
- (37) Catret, M.; Ivorra, M. D.; D'ocón, M. P.; Anselmi, E. *J. Pharm. Pharmacol.* **1998**, *50*, 317. doi:10.1111/j.2042-7158.1998.tb06867.x.
- (38) Reux, B.; Nevalainen, T.; Raitio, K. H.; Koskinen, A. M. P. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 4441. doi:10.1016/j.bmc.2009.05.013.
- (39) Al-Hiari, Y. M.; Sweileh, B. A.; Shakya, A. K.; Sheikha, G. A.; Almuhtaseb, S. I. *Jordan J. Pharm. Sci.* **2009**, *2*, 1.
- (40) Neumeyer, J. L.; Dafeldecker, W. P.; Costall, B.; Naylor, R. J. *J. Med. Chem.* **1977**, *20*, 190. doi:10.1021/jm00212a002.
- (41) Protais, P.; Arbaoui, J.; Bakkali, E.-H.; Bermejo, A.; Cortes, D. *J. Nat. Prod.* **1995**, *58*, 1475. doi:10.1021/np50124a001.
- (42) Berenguer, I.; El Aouad, N.; Andujar, S.; Romero, V.; Suvire, F.; Freret, T.; Bermejo, A.; Ivorra, M. D.; Enriz, R. D.; Boulouard, M.; Cabedo, N.; Cortes, D. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 4968. doi:10.1016/j.bmc.2009.05.079.