

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**

**Departamento de Química Orgánica I**



**DISEÑO Y SÍNTESIS DE NUEVOS ANTAGONISTAS  
SELECTIVOS DEL RECEPTOR  
SEROTONINÉRGICO 5-HT<sub>4</sub>**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR**

**PRESENTADA POR**

Marta Murcia Cremades

Bajo la dirección de las doctoras

M<sup>a</sup> Luz López Rodríguez  
Bellinda Benhamú Salama

**Madrid, 2001**

**ISBN: 84-669-1837-X**

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



DISEÑO Y SÍNTESIS DE NUEVOS ANTAGONISTAS  
SELECTIVOS DEL RECEPTOR  
SEROTONINÉRGICO 5-HT<sub>4</sub>

TESIS DOCTORAL

MARTA MURCIA CREMADES  
Madrid, 2001



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
Departamento de Química Orgánica I

**DISEÑO Y SÍNTESIS DE NUEVOS ANTAGONISTAS  
SELECTIVOS DEL RECEPTOR  
SEROTONINÉRGICO 5-HT<sub>4</sub>**

Memoria que para optar al grado de  
DOCTORA EN CIENCIAS QUÍMICAS

presenta

**Marta Murcia Cremades**

MADRID  
Marzo 2001



En la tierra nada se presta tanto  
para alegrar al melancólico,  
para entristecer al alegre,  
para infundir coraje a los que desesperan,  
para enorgullecer al humilde y debilitar la envidia y el odio,  
como la MÚSICA.

*Martín Lutero*



*A mi madre*  
*A mi hermana Mónica*





El presente trabajo ha sido realizado en el Departamento de Química Orgánica I de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Complutense, en el Departamento de Investigación del Hospital Ramón y Cajal de Madrid, y en el Laboratorio de Medicina Computacional de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona.

El tema ha sido propuesto por la **Profesora Dra. M<sup>a</sup> Luz López Rodríguez** y dirigido por dicha profesora y la **Dra. Bellinda Benhamú Salama**, a quienes quiero hacer una mención especial por sus enseñanzas e inestimable ayuda durante todos estos años.

Asimismo, quiero expresar mi agradecimiento:

Al Dr. Luis Orensanz del Departamento de Investigación del Hospital Ramón y Cajal, por su orientación en la realización de las pruebas biológicas.

Al Profesor Dr. Leonardo Pardo y a la Profesora Dra. Mercedes Campillo, del laboratorio de Medicina Computacional de la Unidad de Bioestadística de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona, por su acogida y sus valiosas enseñanzas en los estudios de relación estructura-actividad y simulación computacional.

A la Dra. Alma Viso y a Elsa Álvaro por sus respectivas aportaciones a la realización de este trabajo.

A las Profesoras Dra. M<sup>a</sup> Isabel Martín y Dra. M<sup>a</sup> José Alfaro del Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid, por la realización de los ensayos farmacológicos de agonismo/antagonismo.

A la Profesora Dra. M<sup>a</sup> José Morcillo por su interés en esta Tesis.

A los Profesores Dr. Antonio García Martínez y Dr. Diego Armesto Vilas por su admisión en el Departamento de Química Orgánica I de la UCM.

Y por último, a todos mis compañeros de laboratorio en Madrid, Esther P., Bruno, Nacho, Silvia, Luis, David A.B., David A.D., Fernando, Carlos, José Luis, Esther F., Lucas, Elsa O. y Maica, así como a Mireia, David B. y Xavi en Barcelona, de los que he recibido siempre apoyo y animo.

Madrid, Marzo 2001.



---

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>11</b>
<b>3. ANTECEDENTES</b> .....	<b>15</b>
<b>3.1. EL RECEPTOR SEROTONINÉRGICO 5-HT<sub>4</sub></b> .....	<b>17</b>
<b>3.1.1. Descubrimiento y caracterización molecular del receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub></b> .....	<b>17</b>
<b>3.1.2. Localización y distribución tisular</b> .....	<b>24</b>
<b>3.1.3. Caracterización farmacológica del receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub>: Agonistas y antagonistas 5-HT<sub>4</sub></b> .....	<b>25</b>
<b>3.1.4. Potencial terapéutico de los ligandos del receptor 5-HT<sub>4</sub></b> .....	<b>37</b>
<b>3.2. RELACIÓN ESTRUCTURA ACTIVIDAD</b> .....	<b>43</b>
<b>3.2.1. Introducción</b> .....	<b>43</b>
<b>3.2.2. QSAR-3D. Análisis comparativo del campo molecular (CoMFA)</b> .....	<b>44</b>
<b>3.3. SIMULACIÓN MOLECULAR</b> .....	<b>50</b>
<b>3.3.1. Métodos de la mecánica cuántica</b> .....	<b>52</b>
<b>3.3.2. Métodos clásicos</b> .....	<b>53</b>
<b>3.3.3. Aplicación de la simulación computacional al diseño de fármacos: Estudio de la interacción ligando-receptor</b> .....	<b>55</b>
<b>3.3.4. Modelos moleculares de receptores acoplados a proteínas G (GPCRs)</b> .....	<b>62</b>
<b>3.4. DISEÑO DE NUEVOS ANTAGONISTAS DEL RECEPTOR 5-HT<sub>4</sub></b> .....	<b>66</b>

<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>75</b>
4.1. SÍNTESIS DE DERIVADOS DE BENCIMIDAZOL I .....	77
4.1.1. Síntesis de bencimidazolcarboxamidas y carboxilatos .....	77
4.1.2. Síntesis de <i>N</i> -(bencimidazol-4-il)-(1-butil-4-piperidil)acetamida (25) .....	90
4.1.3. Síntesis de (bencimidazol-4-il) 2-(1-butil-4-piperidil)etil cetona (77) .....	104
4.2. AFINIDAD RECEPTORIAL: VALIDACIÓN DEL FARMACÓFORO PARA ANTAGONISTAS 5-HT <sub>4</sub> .....	117
4.3. ENSAYOS FUNCIONALES: ACTIVIDAD AGONISTA/ANTAGONISTA EN EL RECEPTOR 5-HT <sub>4</sub> .....	125
4.4. CONFORMACIÓN BIOACTIVA DE LOS NUEVOS LIGANDOS 5-HT <sub>4</sub> : ESTUDIO DEL EQUILIBRIO TAUTÓMERO E INFLUENCIA DEL ENLACE DE HIDRÓGENO INTRAMOLECULAR .....	129
4.5. RELACIÓN ESTRUCTURA-AFINIDAD: ANÁLISIS COMPARATIVO DEL CAMPO MOLECULAR (QSAR-3D/CoMFA).....	146
4.5.1. Criterios de superposición .....	146
4.5.2. Metodología CoMFA .....	147
4.5.3. Modelo CoMFA generado para los derivados de bencimidazol en el receptor 5-HT <sub>4</sub> .....	148
4.6. MODELOS DE INTERACCIÓN LIGANDO-RECEPTOR 5-HT <sub>4</sub> .....	155
4.7. DISEÑO Y SÍNTESIS DE NUEVOS COMPUESTOS A PARTIR DEL MODELO DE INTERACCIÓN LIGANDO-5HT <sub>4</sub> R PROPUESTO .....	162

<b>5. PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	<b>171</b>
5.1. QUÍMICA.....	173
5.1.1. Síntesis de ácidos 4-benzimidazolcarboxílicos .....	174
5.1.2. Síntesis de agentes alquilantes .....	182
5.1.3. Síntesis de diaminas .....	186
5.1.4. Síntesis de aminoalcoholes.....	202
5.1.5. Síntesis de benzimidazolcarboxamidas y benzimidazolcarboxilatos. Procedimiento general. 1-4, UCM-21195, 5-7, UCM-30593, 9, 11-16, UCM-23395, 18-20, 24, 26-33, 65, 107, 108.....	206
5.1.6. Síntesis de N-(4-piperidilmetil)-6-cloro-4-benzimidazolcarboxamida 10.....	239
5.1.7. Síntesis de 7-amino-4-benzimidazolcarboxamidas .....	240
5.1.8. Síntesis de derivados de (±)-1-butyl-1-azoniabicyclo[2.2.2]oct-3-ilo. Procedimiento general. 8,17 .....	243
5.1.9. Síntesis de benzimidazolcarboxamidas y carboxilatos N <sub>1</sub> o N <sub>3</sub> -alquilados .....	245
5.1.10. Síntesis de benzimidazolcarbotioamidas. Procedimiento general. 112, 113.....	248
5.1.11. Síntesis de N-(benzimidazol-4-il)-(1-butyl-4-piperidil)-acetamida 25 .....	250
5.1.12. Síntesis de N-metil-N-metoxi-4-benzimidazolcarboxamidas .....	257
5.1.13. Síntesis de 1-(benzimidazol-4-il)-1-butyl-1-pentanol 83 .....	260
5.1.14. Síntesis (benzimidazol-4-il) cetonas.....	261
5.1.15. Síntesis de 4-bromobenzimidazoles.....	267
5.1.16. Síntesis de (1-tritilbenzimidazol-4-il)-tri-butilestaño 98.....	273
5.1.17. Síntesis de 4-(2-Bromoetil)piperidinas.....	274
5.1.18. Síntesis de amidas de Weinreb alifáticas .....	277
5.2. AFINIDAD RECEPTORIAL.....	281
5.2.1. Ensayos de afinidad por el receptor serotoninérgico 5-HT <sub>4</sub> .....	281
5.2.2. Ensayos de afinidad por el receptor serotoninérgico 5-HT <sub>3</sub> .....	282
5.2.3. Ensayos de afinidad por el receptor serotoninérgico 5-HT <sub>2A</sub> .....	282
5.2.4. Ensayos de afinidad por el receptor serotoninérgico 5-HT <sub>1A</sub> .....	283

<b>6. MÉTODOS COMPUTACIONALES</b> .....	<b>285</b>
6.1. <b>METODOLOGÍA CoMFA</b> .....	287
6.1.1. <b>Obtención de parámetros</b> .....	287
6.1.2. <b>Tratamiento de los parámetros</b> .....	288
6.2. <b>MODELOS DE INTERACCIÓN LIGANDO-RECEPTOR 5-HT<sub>4</sub></b> .....	289
6.2.1. <b>Modelo 3D de los dominios transmembrana del receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub></b> .....	289
6.2.2. <b>Modelos moleculares de los complejos: UCM-21195-receptor 5-HT<sub>4</sub> y UCM-26995-receptor 5HT<sub>4</sub></b> .....	290
6.2.3. <b>Diseño de bencimidazolcarboxamidas 107, 108</b> .....	291
6.2.4. <b>Integración termodinámica</b> .....	292
<b>7. CONCLUSIONES</b> .....	<b>293</b>

## 1. INTRODUCCIÓN

---



## 1. INTRODUCCIÓN

La 5-hidroxitriptamina (5-HT) es una amina biogénica identificada por primera vez en las células enterocromafines del intestino<sup>1</sup>. Posteriormente, la elucidación de su estructura química demostró que la 5-HT correspondía a una sustancia vasotónica localizada en el suero, por lo que se denominó serotonina<sup>2</sup>. Además de su alta concentración en las plaquetas, se encuentra también presente en regiones específicas del cerebro<sup>3</sup> y juega un papel clave en la regulación de una amplia variedad de procesos fisiológicos, funciones cognitivas y de comportamiento tales como el sueño, el apetito, el dolor, la percepción, la locomoción, la termorregulación y la actividad sexual.

Al igual que otras monoaminas neurotransmisoras, la serotonina ejerce sus efectos a través de múltiples receptores lo que explica en parte su multifuncionalidad. Las disfunciones de los sistemas serotoninérgicos están involucradas en la etiología de una amplia variedad de estados patológicos<sup>4</sup>, siendo de particular importancia en enfermedades mentales, tales como la depresión, ansiedad, esquizofrenia, trastornos del apetito, conducta obsesiva compulsiva, migraña y pánico. En efecto, muchos de los tratamientos administrados en la actualidad para estos trastornos actúan modulando la neurotransmisión serotoninérgica, a través de su interacción específica con diferentes receptores.

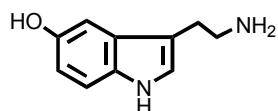
---

<sup>1</sup>Vialli, M.; Erspamer, V. Z. *Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, **1933**, *19*, 743.

<sup>2</sup>Rapport, M.M.; Green, A.A.; Page, I.H. *J. Biol. Chem.*, **1948**, *176*, 1243.

<sup>3</sup>Twarog, B.M.; Page, I.H. *J. Physiol.*, **1953**, *175*, 157.

<sup>4</sup>(a) Wilkinson, L.O.; Dourish, C.T. Serotonin and Animal Behavior. In *Serotonin Receptor Subtypes: Basic and Clinical Aspects*. Peroutka, S.J., Ed.; John Wiley & Sons: New York, 1991, pp 147-210. (b) Sleight, A.J.; Pierce, P.A.; Schmidt, A.W.; Hekmatpanah, C.R.; Peroutka, S.J. The Clinical Utility of Serotonin Receptor Active Agents in Neuropsychiatric Disease. In *Serotonin Receptor Subtypes: Basic and Clinical Aspects*. Peroutka, S.J., Ed.; John Wiley & Sons: New York, 1991, pp 211-227. (c) Dinan, T.G. *Int. Clin. Psychopharmacol.*, **1996**, *11* (Suppl 1), 19. (d) Buhot, M.C. *Curr. Opin. Neurobiol.*, **1997**, *7*, 243. (e) Duman, R.S. *Biol. Psychiatry*, **1998**, *44*, 324. (f) Kroeze, W.K.; Roth, B.L. *Biol. Psychiatry*, **1998**, *44*, 1128. (g) Baumgarten, H.G.; Grozdanovic, Z. *Br. J. Psychiatry*, **1998**, *173* (Suppl 35), 13. (h) Gershon, M.D. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, **1999**, *13* (Suppl 2), 15. (i) Hamel, E. *Can. J. Neurol. Sci.*, **1999**, *26* (Suppl 3), S2. (j) Jouvret, M. *Neuropsychopharmacology*, **1999**, *21*, 24S. (k) Meneses, A. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **1999**, *23*, 1111. (l) Frishman, W.H.; Grewall, P. *Ann. Med.*, **2000**, *32*, 195. (m) Buhot, M.C.; Martin, S.; Segu, L. *Ann. Med.*, **2000**, *32*, 210.



**5-HIDROXITRIPTAMINA  
(5-HT, SEROTONINA)**

Tradicionalmente, el estudio de la serotonina, conocida como la “enigmática hormona” de Irvin Page<sup>5</sup>, siempre fue a la zaga de otros neurotransmisores como la noradrenalina, la dopamina y la histamina. Sin embargo, en los últimos quince años, la investigación de los receptores para serotonina ha experimentado un progreso espectacular<sup>6</sup>. Desde que Gaddum y Picarelli<sup>7</sup> determinaran la existencia de dos sitios funcionales de unión (“D” y “M”), ha sido necesario el esfuerzo multidisciplinar de la química, la bioquímica y la farmacología para llegar, en la actualidad, a identificar quince subtipos de receptores 5-HT. Basándose en su acoplamiento con segundos mensajeros, en la afinidad y actividad funcional de diversos ligandos, y más recientemente, en su secuencia de aminoácidos, dichos receptores se han clasificado en siete familias (5-HT<sub>1-7</sub>)<sup>8</sup>. Todos los receptores 5-HT pertenecen a la superfamilia de receptores asociados a la proteína G, excepto el 5-HT<sub>3</sub>, que es un receptor de canal iónico estimulado directamente por la

<sup>5</sup>Véase nota 2.

<sup>6</sup>(a) Peroutka, S.J. The Molecular Pharmacology of 5-Hydroxytryptamine Receptor Subtypes. In *Serotonin Receptor Subtypes: Basic and Clinical Aspects*. Peroutka, S.J., Ed.; John Wiley & Sons: New York, 1991. (b) Zifa, E.G.; Fillion, G. *Pharmacol. Rev.*, **1992**, *44*, 401. (c) Humphrey, P.P.A. 5-Hydroxytryptamine Receptors and Drug Discovery. In *Serotonin Receptor Subtypes: Pharmacological Significance and Clinical Implications*. Langer, S.Z.; Brunello, N.; Racagni, G.; Mendlewicz, J., Eds.; Karger: Basel, 1992, Vol. 1, pp 129-139. (d) Herndon, J.L.; Glennon, R.A. Serotonin Receptors, Agents and Actions. In *Drug Design for Neuroscience*. Kozikowski, A.P., Ed.; Raven Press, Ltd.: New York, 1993, pp 167-212. (e) Saudou, F.; Hen, R. *Med. Chem. Res.*, **1994**, *4*, 16. (f) Boess, F.G.; Martin, I.L. *Neuropharmacology*, **1994**, *33*, 275. (g) Gerhardt, C.C.; van Heerikhuizen, H. *Eur. J. Pharmacol.*, **1997**, *334*, 1. (h) Baumgarten, H.G.; Göthert, M., Eds.; *Serotonergic Neurons and 5-HT Receptors in the CNS. Handb. Exp. Pharm.* Vol. 129. Springer-Verlag: Berlin, 1997.

<sup>7</sup>Gaddum, J.H.; Picarelli, Z.P. *Br. J. Pharmacol. Chemother.*, **1957**, *12*, 323.

<sup>8</sup>(a) Martin, G.R.; Humphrey, P.P.A. *Neuropharmacology*, **1994**, *33*, 261. (b) Hoyer, D.; Clarke, D.E.; Fozard, J.R.; Hartig, P.R.; Martin, G.R.; Mylecharane, E.J.; Saxena, P.R.; Humphrey, P.P.A. *Pharmacol. Rev.*, **1994**, *46*, 157. (c) Hoyer, D.; Martin, G. *Neuropharmacology*, **1997**, *36*, 419. (d) Uphouse, L. *Neurosci. Behav. Rev.*, **1997**, *21*, 679. (e) Murphy, D.L.; Andrews, A.M.; Wichems, C.H.; Li, Q.; Tohda, M.; Greenberg, B. *J. Clin. Psychiatry*, **1998**, *59* (Supp 15), 4. (f) Saxena, P.R.; Devries, P.; Villalón, C.M. *Trends Pharmacol. Sci.*, **1998**, *19*, 311.

serotonina<sup>9</sup>. Existe además un tercer sistema molecular de reconocimiento de serotonina con función transportadora constituido por los sitios implicados en la recaptación de la 5-HT.

La multiplicidad de los receptores para serotonina, tanto dentro de una misma especie como entre las distintas especies, ha superado con creces las previsiones que los datos farmacológicos hicieron suponer inicialmente. La gran diversidad de receptores serotoninérgicos caracterizados actualmente ha puesto de manifiesto la importancia del desarrollo de nuevos ligandos más selectivos, los cuales permitirán tratamientos más eficaces y con un menor número de efectos secundarios, así como el descubrimiento de nuevas aplicaciones terapéuticas.

Dentro de la heterogénea superfamilia de los receptores para serotonina, un gran foco de atención lo constituye el estudio del subtipo 5-HT<sub>4</sub>, ya que está involucrado en numerosos procesos fisiológicos y fisiopatológicos de los sistemas nerviosos central (SNC) y periférico<sup>10</sup>.

La definición, en 1988, del receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub> no surgió a partir del descubrimiento de un nuevo ligando, sino como consecuencia de un conjunto de evidencias procedentes de diversos ensayos farmacológicos realizados en diferentes preparaciones tisulares de distintas especies<sup>11</sup>. Fue caracterizado por primera vez en el SNC como un receptor 5-HT acoplado positivamente a la proteína G con un perfil farmacológico atípico. Además de los primeros sitios de unión descubiertos en el SNC, estos receptores han sido localizados en varios tejidos del sistema nervioso periférico, tales como el tracto gastrointestinal<sup>12</sup>, el

---

<sup>9</sup>Peroutka, S.J. *CNS Drugs*, **1995**, 4 Suppl., 18.

<sup>10</sup>(a) Ford, A.P.D.W.; Clarke, D.E. *Med. Res. Rev.*, **1993**, 13, 633. (b) Lucas, J.J.; Hen, R. *Trends Pharmacol. Sci.*, **1995**, 16, 246. (c) Eglen, R.M.; Wong, E.H.F.; Dumuis, A.; Bockaert, J. *Trends Pharmacol. Sci.*, **1995**, 16, 391. (d) Hedge, S.S.; Eglen, R.M. *FASEB J.*, **1996**, 10, 1398.

<sup>11</sup>(a) Dumuis, A.; Bouhelal, R.; Sebben, M.; Bockaert, J. *Eur. J. Pharmacol.*, **1988**, 146, 187. (b) Dumuis, A.; Bouhelal, R.; Sebben, M.; Cory, R.; Bockaert, J. *Mol. Pharmacol.*, **1988**, 34, 880.

<sup>12</sup>(a) Eglen, R.M.; Swank, S.R.; Walsh, L.K.M.; Whiting, R.L. *Br. J. Pharmacol.*, **1990**, 101, 513. (b) McLean, P.G.; Coupar, I.M.; Molenaar, P. *Br. J. Pharmacol.*, **1995**, 115, 47. (c) Matsuyama, S.; Sakiyama, H.; Nei, K.; Tanaka, C. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1996**, 276, 989.

corazón<sup>13</sup> y la vejiga<sup>14</sup>, donde son responsables de una gran variedad de respuestas farmacológicas.

La ausencia, durante muchos años, de ligandos potentes y selectivos convirtió el estudio del receptor 5-HT<sub>4</sub> en una ardua tarea. Sin embargo, tras un lento inicio, en 1992 el 5-HT<sub>4</sub> fue definitivamente reconocido como un nuevo subtipo de receptor serotoninérgico<sup>15</sup>, y en los últimos cinco años, el número de ligandos con afinidad y/o selectividad por dicho receptor ha crecido considerablemente<sup>16</sup>.

Durante mucho tiempo los receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>3</sub> y 5-HT<sub>4</sub> han estado estrechamente relacionados, debido a la afinidad por el receptor 5-HT<sub>3</sub> de los primeros ligandos del receptor 5-HT<sub>4</sub> descubiertos, a la similitud estructural de los ligandos de ambos receptores, así como a su co-localización en el tracto gastrointestinal<sup>17</sup>. Sin embargo, el posterior desarrollo de nuevos agentes selectivos de uno u otro receptor y la reciente clonación<sup>18</sup> del 5-HT<sub>4</sub> han impulsado definitivamente el conocimiento de este receptor.

Entre los ligandos del receptor 5-HT<sub>4</sub>, destaca especialmente el antagonista GR 113808, cuya afinidad y selectividad permitieron el desarrollo del primer

---

<sup>13</sup>Villalón, C.M.; den Boer, M.O.; Heiligers, J.P.C.; Saxena, P.R. *Br. J. Pharmacol.*, **1990**, *100*, 665.

<sup>14</sup>Candura, S.M.; Messori, E.; Franceschetti, G.P.; D'Agostino, G.; Vicini, D.; Tagliani, M.; Tonini, M. *Br. J. Pharmacol.*, **1996**, *118*, 1965.

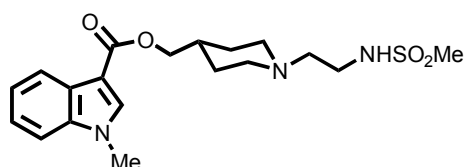
<sup>15</sup>Bockaert, J.; Fozard, J.R.; Dumuis, A.; Clarke, D.E. *Trends Pharmacol. Sci.*, **1992**, *13*, 141.

<sup>16</sup>(a) Gaster, L.M.; King, F.D. *Med. Res. Rev.*, **1997**, *17*, 163. (b) Dumuis, A.; Ansanay, H.; Waeber, C.; Sebben, M.; Fagni, L.; Bockaert, J. 5-HT<sub>4</sub> Receptors. In *Serotonin Receptors and Their Ligands*. Olivier, B.; van Wijngaarden, I.; Soudijn, W., Eds.; Elsevier: Amsterdam, 1997, pp 261-308.

<sup>17</sup>Sakurai-Yamashita, Y.; Yamashita, K.; Yoshimura, M.; Taniyama, K. *Life Sci.*, **1999**, *66*, 31.

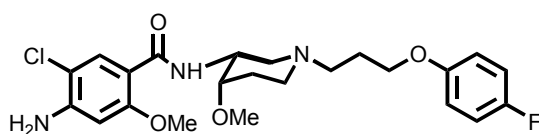
<sup>18</sup>(a) Gerald, C.; Adham, N.; Kao, H.-T.; Olsen, M.A.; Laz, T.M.; Schechter, L.E.; Bard, J.A.; Vaysse, P.J.-J.; Hartig, P.R.; Branchek, T.A.; Weinshank, R.L. *EMBO J.*, **1995**, *14*, 2806. (b) Blondel, O.; Gastineau, M.; Dahmoune, Y.; Langlois, M.; Fischmeister, R. *J. Neurochem.*, **1998**, *70*, 2252. (c) Claeysen, S.; Sebben, M.; Becamel, C.; Bockaert, J.; Dumuis, A. *Mol. Pharmacol.*, **1999**, *55*, 910. (d) Mialet, J.; Berque-Bestel, I.; Eftekhari, P.; Gastineau, M.; Giner, M.; Dahmoune, Y.; Donzeau-Gouge, P.; Hoebeke, J.; Langlois, M.; Sicsic, S.; Fischmeister, R.; Lezoualc'h, F. *Br. J. Pharmacol.*, **2000**, *129*, 771.

radioligando ( $[^3\text{H}]\text{GR 113808}$ )<sup>19</sup> para su utilización en ensayos de afinidad por dicho receptor.

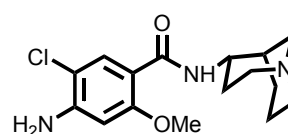


GR 113808

Desde el punto de vista terapéutico, el principal papel del receptor 5-HT<sub>4</sub> reside en la patología del tracto gastrointestinal<sup>20</sup>, donde su activación o inhibición induce una gran diversidad de respuestas. En efecto, los agonistas cisaprida y renzaprida comenzaron a ser utilizados clínicamente en el tratamiento del estreñimiento antes incluso de conocerse su mecanismo de acción. Asimismo, los antagonistas de este receptor podrían tener utilidad clínica en el tratamiento del síndrome de colon irritable (IBS)<sup>21</sup>.



Cisaprida

Renzaprida  
(BRL 24924)

Por otro lado, la identificación de receptores 5-HT<sub>4</sub> en el corazón humano y de cerdo, así como la taquicardia inducida por agonistas 5-HT<sub>4</sub> e inhibida por

<sup>19</sup>Grossman, C.J.; Gale, J.D.; Bunce, K.T.; Kilpatrick, G.J.; Whitehead, J.W.F.; Oxford, A.W.; Humphrey, P.P.A. *Br. J. Pharmacol.*, **1993**, *108*, 106P.

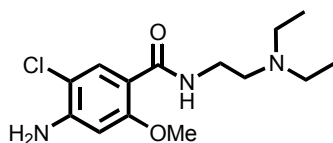
<sup>20</sup>(a) Briejer, M.R.; Akkermans, L.M.A.; Schuurkes, J.A.J. *Pharmacol. Rev.*, **1995**, *47*, 631. (b) Sarna, S.K.; Briejer, M.R.; Schuurkes, J.A.J. 5-HT<sub>3</sub>/5-HT<sub>4</sub> Receptors in Motility Disorders: New Therapeutic Agents. In *Drug Development: Molecular Targets for GI Diseases*. Gaginella, T.S.; Guglietta, A., Eds.; Humana Press Inc.: Totowa, 2000, pp 177-202.

<sup>21</sup>(a) Hedge, S.S.; Moy, T.M.; Perry, M.R.; Loeb, M.; Eglen, R.M. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1994**, *271*, 741. (b) Farthing, M.J.G. *Drugs*, **1998**, *56*, 11. (c) Farthing, M.J.G. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*, **1999**, *13*, 461.

antagonistas 5-HT<sub>4</sub> señalan el potencial clínico de los antagonistas de este receptor como fármacos alternativos en el tratamiento de la arritmia y el infarto<sup>22</sup>.

En el campo de las enfermedades neuropsiquiátricas, las respuestas funcionales descritas en el hipocampo tras la activación de los receptores 5-HT<sub>4</sub> sugieren que estos receptores centrales están implicados en la patogénesis de los procesos cognitivos, como la memoria y el aprendizaje<sup>23</sup>. La posible aplicabilidad de los agonistas 5-HT<sub>4</sub> en el tratamiento de desórdenes de la memoria está siendo en la actualidad ampliamente investigada con resultados hasta el momento muy prometedores<sup>24</sup>. Asimismo, estudios realizados en cerebros humanos *post-mortem* parecen apuntar una implicación de los receptores 5-HT<sub>4</sub> centrales en enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer y Huntington<sup>25</sup>.

Por último, la incontinencia urinaria que provoca el agonista metoclopramida (Mcp) como efecto secundario sugiere una posible aplicación terapéutica de los antagonistas 5-HT<sub>4</sub> en el tratamiento de este trastorno<sup>26</sup>.



**Metoclopramida  
(Mcp)**

De lo expuesto, se desprende el enorme interés que el estudio del receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub> suscita, tanto desde el punto de vista industrial como académico, lo que nos llevó hace unos años a iniciar un proyecto de investigación enfocado a la búsqueda de nuevos agentes selectivos de este receptor. En este

<sup>22</sup>Kaumann, A.J. *Trends Pharmacol. Sci.*, **1994**, 15, 451.

<sup>23</sup>Véase nota 10(c).

<sup>24</sup>Terry, A.V.; Buccafusco, J.J.; Jackson, W.J.; Prendergast, M.A.; Fontana, D.J.; Wong, E.H.F.; Bonhaus, D.W.; Weller, P.; Eglen, R.M. *Psychopharmacology*, **1998**, 135, 407.

<sup>25</sup>Reynolds, G.P.; Mason, S.L.; Meldrum, A.; De Keczer, S.; Parnes, H.; Eglen, R.M.; Wong, E.H.F. *Br. J. Pharmacol.*, **1995**, 114, 993.

<sup>26</sup>(a) Tonini, M.; Candura, S.M. *Trends Pharmacol. Sci.*, **1996**, 17, 314. (b) Ferguson, D.; Christopher, N. *Trends Pharmacol. Sci.*, **1996**, 17, 315.

sentido, en nuestro grupo de investigación se llevó a cabo un estudio comparativo de los modelos tridimensionales de las cavidades receptoriales 5-HT<sub>3</sub> y 5-HT<sub>4</sub>, con el fin de evaluar de forma precisa sus diferencias estéricas y diseñar ligandos con una mayor selectividad en el receptor 5-HT<sub>4</sub>. La realización del *mapping*\* de cada uno de estos receptores, mediante la técnica de aproximación al análogo activo (AAA), nos permitió postular en 1997 el primer modelo de farmacóforo conocido para el reconocimiento de antagonistas por el receptor 5-HT<sub>4</sub><sup>27</sup>. Este modelo consiste en una subunidad aromática, un grupo carbonilo coplanar y un nitrógeno básico con un sustituyente voluminoso. La distancia del anillo aromático al nitrógeno básico y la presencia de un grupo voluminoso en dicho nitrógeno constituyen los requerimientos estructurales diferenciales para la selectividad 5-HT<sub>4</sub>/5-HT<sub>3</sub>. Basándonos en estos resultados se diseñó y sintetizó el ligando UCM-21195 [ $K_i(5-HT_4)=13,7$  nM;  $K_i(5-HT_3)>10000$  nM]<sup>27,28</sup>, que representa un nuevo cabeza de serie en el diseño de nuevos agentes capaces de actuar de modo selectivo en este receptor.

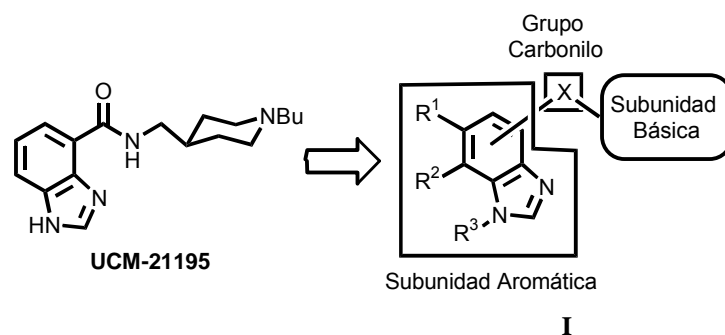
---

\**Receptor mapping*: técnica basada en la superposición de ligandos con objeto de calcular el volumen accesible del receptor.

<sup>27</sup>López-Rodríguez, M.L.; Morcillo, M.J.; Benhamú, B.; Rosado, M.L. *J. Comput.-Aided Mol. Des.*, **1997**, *11*, 589.

<sup>28</sup>López-Rodríguez, M.L.; Morcillo, M.J.; Benhamú, B. "Nuevos Derivados de Bencimidazol con Afinidad por los Receptores Serotoninérgicos 5-HT<sub>3</sub>/5-HT<sub>4</sub>", Patente PCT/ES97/00068, WO 97/35860, *Chem. Abst.* **1997**, *127*, 331485n.

Con objeto de validar nuestro modelo de farmacóforo y obtener ligandos 5-HT<sub>4</sub> más potentes y selectivos, se ha considerado un campo estructural más amplio para los tres elementos farmacofóricos presentes en dicho cabeza de serie: subunidad aromática, grupo carbonilo y subunidad básica. Estas consideraciones son las que nos han llevado a la realización del presente trabajo de investigación, basado fundamentalmente en la síntesis y evaluación farmacológica de los nuevos compuestos derivados de bencimidazol de estructura general **I**, con objeto de inferir los rasgos estructurales óptimos que puedan modular la afinidad y selectividad 5-HT<sub>4</sub>.





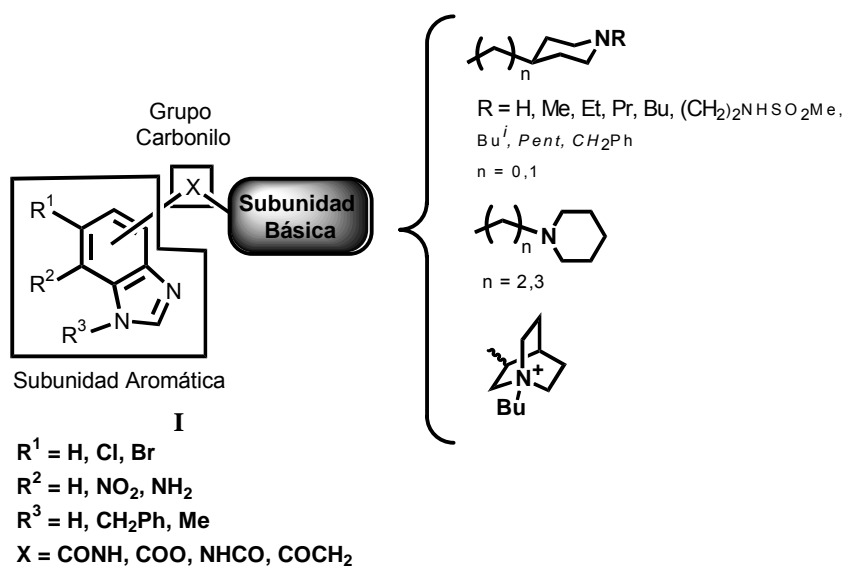
## 2. OBJETIVOS

---

## 2. OBJETIVOS

El objetivo fundamental del presente trabajo es la síntesis y desarrollo de nuevos antagonistas que presenten una elevada afinidad y selectividad por el receptor 5-HT<sub>4</sub>. La consecución final de este objetivo lleva implícitas las siguientes etapas:

1. Síntesis de los nuevos derivados de bencimidazol definidos por la estructura general **I**, con el fin de validar el modelo de farmacóforo propuesto por nosotros para el reconocimiento de antagonistas por el receptor 5-HT<sub>4</sub> y estudiar la influencia de los distintos elementos farmacofóricos en la afinidad y selectividad por dicho receptor.



2. Determinación de la afinidad y selectividad por el receptor 5-HT<sub>4</sub> de los compuestos sintetizados.
3. Evaluación de la actividad agonista o antagonista de los compuestos que exhiban una mayor afinidad y selectividad.
4. Aproximación a la conformación bioactiva de los ligandos 5-HT<sub>4</sub> de estructura general **I**.

5. Estudio cuantitativo de la relación estructura-afinidad (QSAR-3D).
6. Simulación computacional del reconocimiento de los nuevos ligandos por el sitio de unión del receptor 5-HT<sub>4</sub>.
7. Diseño y síntesis de nuevos compuestos con propiedades farmacológicas predeterminadas a partir del modelo de interacción propuesto.

### 3. ANTECEDENTES

---

### 3. ANTECEDENTES

#### 3.1. EL RECEPTOR SEROTONINÉRGICO 5-HT<sub>4</sub>

Desde su descubrimiento hasta nuestros días han sido muchos los avances realizados en el entendimiento del papel que juega el receptor 5-HT<sub>4</sub> en diversos procesos fisiológicos y patológicos, gracias tanto al desarrollo de antagonistas potentes y selectivos (siendo aún escasos los agonistas específicos) y de radioligandos, como a la información que muy recientemente ha proporcionado la biología molecular. Todo ello hace posible que el desarrollo de la atractiva aplicabilidad terapéutica de los ligandos de este receptor se sitúe ya en un futuro muy próximo.

##### 3.1.1. Descubrimiento y caracterización molecular del receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub>

A mediados de los años ochenta Shenker *et al.*<sup>29</sup> demostraron que la estimulación de la adenilato ciclasa (AC) en las membranas hipocámpales de cobayo involucraba a dos tipos de receptores: uno con alta afinidad por la serotonina al que denominaron receptor 5-HT(RH) y que fue caracterizado como receptor 5-HT<sub>1A</sub> like, hoy ya definitivamente reconocido como subtipo 5-HT<sub>7</sub><sup>30</sup>, y un segundo tipo de receptor que aún no había sido identificado que designaron como RL por su baja afinidad por la 5-HT.

Al mismo tiempo, Bockaert y Dumuis *et al.*<sup>31</sup> localizaron en neuronas de embriones de ratón un receptor para serotonina cuyas propiedades farmacológicas impedían su clasificación como alguno de los subtipos reconocidos hasta el momento (5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub> y 5-HT<sub>3</sub>)<sup>32</sup>: estimulaba la producción de 3',5'-monofosfato

---

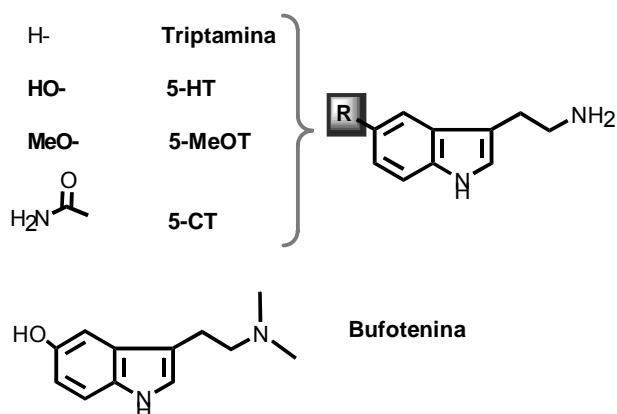
<sup>29</sup>(a) Shenker, A.; Maayani, S.; Weinstein, H.; Green, J.P. *Eur. J. Pharmacol.*, **1985**, *109*, 427. (b) Shenker, A.; Maayani, S.; Weinstein, H.; Green, J.P. *Mol. Pharmacol.*, **1987**, *31*, 357.

<sup>30</sup>Véase nota 8(b).

<sup>31</sup>(a) Weiss, S.; Sebben, M.; Kemp, D.E.; Bockaert, J. *Eur. J. Pharmacol.*, **1986**, *120*, 227. (b) Véase nota 11(b).

<sup>32</sup>Bradley, P.B.; Engel, G.; Feniuk, W.; Fozard, J.R.; Humphrey, P.P.A.; Middlemiss, D.N.; Mylecharane, E.J.; Richardson, B.P.; Saxena, P.R. *Neuropharmacology*, **1986**, *25*, 563.

de adenosina cíclico (AMPC), pero dicho efecto no era mimetizado por ningún agonista de los receptores 5-HT<sup>33</sup>. Asimismo, antagonistas potentes y específicos de los receptores 5-HT<sub>1,2,3</sub> eran incapaces de inhibir la respuesta producida por este nuevo receptor serotoninérgico<sup>34</sup>, para el cual propusieron el nombre de 5-HT<sub>4</sub><sup>35</sup>. Además, los estudios con este receptor revelaron que las potencias de los agonistas 5-HT = 5-metoxitriptamina (5-MeOT) > 5-hidroxi-*N,N*-dimetilriptamina (bufotenina) > 5-carboxamidotriptamina (5-CT) > triptamina eran similares a las presentadas por dicha serie en el receptor 5-HT(RL) de hipocampo de cobayo.



El tropisetron (ICS 205-930), conocido antagonista 5-HT<sub>3</sub>, fue el primer ligando que aunque con baja afinidad, inhibía competitivamente el receptor 5-HT<sub>4</sub><sup>34</sup>. El hecho de que dicho ligando ( $pK_i=6,1-6,5$ ) bloqueara también a concentraciones milimolares el receptor 5-HT(RL) de las membranas hipocámpales de cobayo confirmaba nuevamente la similitud entre ambos receptores<sup>36</sup>. Por otro lado, el agonismo 5-HT<sub>4</sub> de benzamidas como la Mcp, renzaprida, cisaprida y zacoprida<sup>37</sup>, conocidas como potentes antagonistas 5-HT<sub>3</sub>, relacionaba directamente al recién descrito receptor con el sitio de unión para serotonina que había sido postulado en el sistema nervioso entérico como mediador de la acción reguladora de la motilidad

<sup>33</sup>Véase nota 31(a).

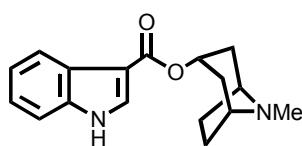
<sup>34</sup>Véase nota 11(a).

<sup>35</sup>Véase nota 11(b).

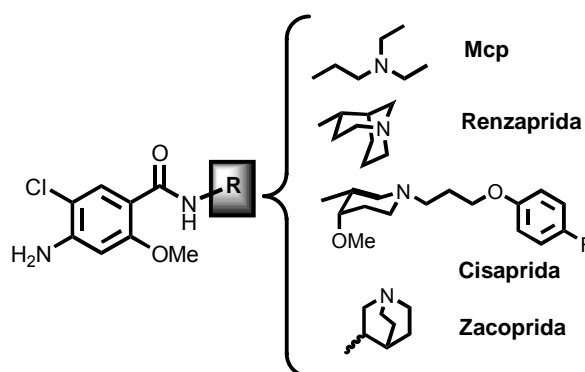
<sup>36</sup>Bockaert, J.; Sebben, M.; Dumuis, A. *Mol. Pharmacol.*, **1990**, 37, 408.

<sup>37</sup>(a) Dumuis, A.; Sebben, M.; Bockaert, J. *Eur. J. Pharmacol.*, **1989**, 162, 381. (b) Dumuis, A.; Sebben, M.; Bockaert, J. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **1989**, 340, 403.

gastrointestinal de estos compuestos<sup>38</sup>. Así, se demostró que en íleon de cobayo, el nuevo receptor serotoninérgico estaba localizado en neuronas, presentaba alta afinidad por la 5-MeOT y baja por la 5-CT, era estimulado por las benzamidas antes mencionadas, y exhibía afinidad milimolar por el tropisetron. En definitiva, todo parecía indicar que el receptor 5-HT de íleon de cobayo no sólo era similar, sino idéntico, al receptor 5-HT<sub>4</sub> presente en las neuronas de ratón o en el hipocampo de cobayo<sup>39</sup>.



**Tropisetron**  
(ICS 205-930)



<sup>38</sup>(a) Schuurkes, J.A.J.; van Nueten, J.M.; van Daele, P.G.H.; Reyntjens, A.J.; Janssen P.A.J. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1985**, 234, 775. (b) Sanger, G.J. *J. Pharm. Pharmacol.*, **1987**, 39, 449. (c) Craig, D.A.; Clarke, D.E. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1990**, 252, 1378.

<sup>39</sup>(a) Clarke, D.E.; Craig, D.A.; Fozard, J.R. *Trends Pharmacol. Sci.*, **1989**, 10, 385. (b) Tonini, M.; Rizzi, C.A.; Manzo, L.; Oniri, L. *Pharmacol. Res.*, **1991**, 24, 5. (c) Véase nota 15.

La proliferación de receptores serotoninérgicos acaecida en la década de los 80 dificultó en un principio la aceptación del nuevo sitio de unión. Se inició así un enorme esfuerzo científico enfocado a la búsqueda de argumentos adicionales que pudieran esclarecer definitivamente la legitimidad farmacológica de este nuevo subtipo dentro de la familia del receptor 5-HT, que culminó, tras un lento inicio, con su reconocimiento definitivo en 1993<sup>40</sup>.

En cuanto a los mecanismos de transducción implicados en la activación del receptor 5-HT<sub>4</sub>, se ha demostrado que su acoplamiento positivo a la AC induce un aumento en la producción de AMPc<sup>41</sup> y la activación de la proteína quinasa A<sup>42</sup>. Por tanto, al igual que todos los receptores serotoninérgicos, excepto el 5-HT<sub>3</sub>, el receptor 5-HT<sub>4</sub> pertenece a la familia de receptores acoplados a proteínas G (GPCRs) que activa la cascada de la AC.

Recientemente los estudios de biología molecular han proporcionado datos acerca tanto de la secuencia primaria de aminoácidos como del acoplamiento a diversas cascadas de transducción de señales, para un gran número de subtipos de receptores para serotonina. Sin embargo, quizás debido a la escasez de los mRNA correspondientes así como a la baja similitud de secuencia con otros subtipos 5-HT, la clonación del gen que expresa el receptor 5-HT<sub>4</sub> se retrasó hasta 1995 en que Gerald *et al.*<sup>43</sup> aislaron de cerebro de rata dos cDNA correspondientes a dos isoformas distintas para dicho receptor. Como es característico en todos los GPCRs, ambas isoformas, denominadas r5-HT<sub>4L</sub> y r5-HT<sub>4S</sub>, constan de un extremo carboxilo terminal, 7 dominios transmembrana hidrofóbicos, conectados entre sí por tres bucles intracelulares y tres extracelulares, y un extremo amino terminal susceptible de glicosilación. Las isoformas difieren únicamente en la secuencia y longitud del extremo carboxilo terminal citoplasmático. Así, la forma más larga (5-HT<sub>4L</sub>), clonada también a partir de neuronas de ratón<sup>44</sup>, consta de 406 aminoácidos mientras la isoforma corta

---

<sup>40</sup>Humphrey, P.P.A.; Hartig, P.; Hoyer, D. *Trends Pharmacol. Sci.*, **1993**, *14*, 233.

<sup>41</sup>Markstein, R.; Matsumoto, M.; Kohler, C.; Togashi, H.; Yoshioka, M.; Hoyer, D. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **1999**, *359*, 454.

<sup>42</sup>(a) Fagni, L.; Dumuis, A.; Sebben, M.; Bockaert, J. *Br. J. Pharmacol.*, **1992**, *105*, 973.  
(b) McLean, P.G.; Coupar, I.M. *Br. J. Pharmacol.*, **1996**, *118*, 1058.

<sup>43</sup>Véase nota 18(a).

<sup>44</sup>Claeysen, S.; Sebben, M.; Journot, L.; Bockaert, J.; Dumuis, A. *FEBS Lett.*, **1996**, *398*, 19.



(5-HT<sub>4S</sub>) posee una secuencia de 387, siendo ambas idénticas hasta la posición 359. Aunque existe una baja homología de secuencia de los dominios transmembrana de estas isoformas con relación a otros receptores 5-HT (60-70%), sí conservan cierta similitud secuencial con la familia 5-HT<sub>2</sub>. El extremo carboxilo terminal posee en ambas isoformas un sitio potencial de palmitoilación y tres puntos potenciales de fosforilación por la proteína quinasa C, y existe además en la isoforma r5-HT<sub>4L</sub> un punto adicional susceptible a la acción de dicha enzima en la posición 400 (Figura 1a). Este hecho puede contribuir a su diferenciación en el fenómeno de desensibilización o en su acoplamiento a las proteínas G.

Adicionalmente, los estudios llevados a cabo por Gerald *et al.* en rata revelan que mientras en los tejidos periféricos generalmente se expresan ambas isoformas, excepto en el atrio del corazón donde sólo se halla la más corta, sí existen ciertas diferencias en cuanto a su distribución sobre todo en el SNC: la forma 5-HT<sub>4L</sub> está ampliamente distribuida en el cuerpo estriado, tálamo, bulbo olfativo, hipocampo y cerebelo, mientras la 5-HT<sub>4S</sub> se localiza únicamente en el cuerpo estriado. Sin embargo, según los trabajos de Claeysen *et al.*<sup>44</sup> ambas isoformas se expresan en la totalidad del cerebro de rata o ratón.

En cuanto a sus propiedades farmacológicas, ambas isoformas expresadas en células COS-7 presentan perfiles de afinidad muy similares entre sí, y además muestran una buena correlación con los datos encontrados para receptores 5-HT<sub>4</sub> endógenos mediante la realización de ensayos funcionales y de desplazamiento de radioligandos. No obstante, sí existen diferencias entre las dos isoformas en la respuesta que una serie de agonistas y agonistas parciales inducen en la AC<sup>44,45</sup>.

En los últimos tres años se han identificado en diversos tejidos humanos varias isoformas del receptor h5-HT<sub>4</sub> (a-e)<sup>46</sup> con diferencias en la longitud y la secuencia del extremo carboxilo terminal, más concretamente a partir del residuo de Leu<sup>358</sup> (Figura 1b). En 1997, Blondel *et al.*<sup>47</sup> clonaron por primera vez el receptor 5-HT<sub>4</sub> humano del atrio cardíaco (h5-HT<sub>4a</sub>), encontrando una homología de secuencia del 93% respecto a la isoforma 5-HT<sub>4S</sub> clonada de cerebro de rata. El mRNA de dicho receptor humano se expresa en el atrio del corazón, no en el ventrículo, en el

---

<sup>45</sup>Véase nota 18(a).

<sup>46</sup>Véanse notas 18(b)-(d).

<sup>47</sup>Blondel, O.; Vandecasteele, G.; Gastineau, M.; Leclerc, S.; Dahmoune, Y.; Langlois, M.; Fischmeister, R. *FEBS Lett.*, **1997**, *412*, 465.

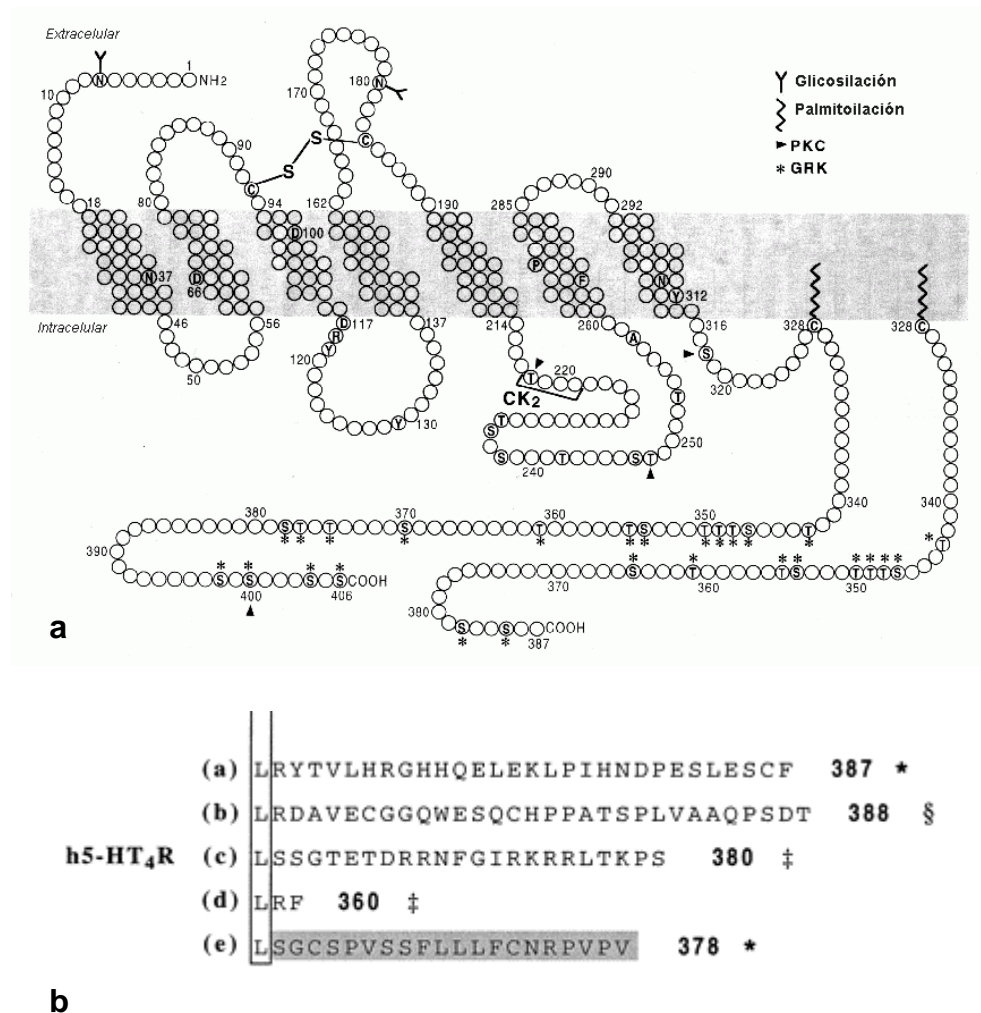
cerebro y en el tracto gastrointestinal. La expresión en las líneas celulares COS-7, CHO, C6 o LLC-PK1 de las isoformas h5-HT<sub>4</sub> clonadas ha mostrado que todas ellas poseen perfiles farmacológicos semejantes y clásicos de receptores 5-HT<sub>4</sub>, así como una capacidad similar para estimular la actividad de la AC<sup>48</sup>, si bien se encuentran algunas diferencias en la actividad de ligandos 5-HT<sub>4</sub> en función de la isoforma estudiada<sup>49</sup>. Asimismo, los estudios de distribución tisular de las distintas isoformas dentro del cuerpo humano revelan cierto grado de especificidad en su patrón de distribución, relacionado posiblemente con la mediación de respuestas funcionales distintas, pudiéndose hablar más en general de ciertas diferencias entre tejidos y/o especies. En la actualidad se sigue investigando tanto en la capacidad de activación de la AC como en la expresión tisular de estas isoformas del receptor 5-HT<sub>4</sub> de cara a esclarecer sus respectivos papeles fisiológicos<sup>50</sup>.

---

<sup>48</sup>(a) Claeyssen, S.; Faye, P.; Sebben, M.; Lemaire, S.; Bockaert, J.; Dumuis A. *Neuroreport*, **1997**, *8*, 3189. (b) Curtet, S.; Soulier, J.-L.; Zahradnik, I.; Giner, M.; Berque-Bestel, I.; Mialet, J.; Lezoualc'h, F.; Donzeau-Gouge, P.; Sicsic, S.; Fischmeister, R.; Langlois, M. *J. Med. Chem.*, **2000**, *43*, 3761. (c) Claeyssen, S.; Sebben, M.; Becamel, C.; Eglén, R.M.; Clark, R.D.; Bockaert, J.; Dumuis, A. *Mol. Pharmacol.*, **2000**, *58*, 136.

<sup>49</sup>Mialet, J.; Berque-Bestel, I.; Sicsic, S.; Langlois, M.; Fischmeister, R.; Lezoualc'h, F. *Br. J. Pharmacol.*, **2000**, *131*, 827.

<sup>50</sup>Bender, E.; Pindon, A.; van Oers, I.; Zhang, Y.B.; Gommeren, W.; Verhasselt, P.; Jurzak, M.; Leysen, J.; Luyten, W. *J. Neurochem.*, **2000**, *74*, 478.



**Figura 1.** (a) Esquema de la organización de las dos isoformas del receptor 5-HT<sub>4</sub> de rata (r5-HT<sub>4</sub>). Se indican los sitios potenciales de fosforilación por la proteína quinasa C (PKC), quisasas de receptores acoplados a proteínas G (GRKs) o caseína quinasa II (CK2), así como los sitios potenciales de palmitoilación y fosforilación. Se han señalado (\*) los aminoácidos presentes en todos los GPCRs; (b) secuencia de aminoácidos de las 5 isoformas del receptor 5-HT<sub>4</sub> humano (h5-HT<sub>4a-e</sub>) a partir del residuo de Leu<sup>358</sup>.

### 3.1.2. Localización y distribución tisular

La ausencia, durante muchos años, de un radioligando potente y selectivo del receptor 5-HT<sub>4</sub> obligó al estudio de su distribución en diversos tejidos mediante ensayos farmacológicos y funcionales. Así, además de los primeros sitios de unión descubiertos en el SNC<sup>51</sup> y en el íleon de cobayo<sup>52</sup>, estos receptores se han identificado también en varios tejidos del sistema nervioso periférico de varias especies incluida la humana, tales como el tracto gastrointestinal (íleon de rata<sup>53</sup> y humano<sup>54</sup>; colon de cobayo<sup>55</sup>, ratón<sup>56</sup> y humano<sup>57</sup>; esófago de rata<sup>58</sup>; estómago de rata<sup>59</sup>, perro<sup>60</sup> y humano<sup>61</sup>), corazón (de cerdo<sup>62</sup> y humano<sup>63</sup>), glándula adrenal (de rana<sup>64</sup> y humana<sup>65</sup>) y vejiga urinaria (de mono<sup>66</sup> y humana<sup>67</sup>), entre otros.

---

<sup>51</sup>Véase nota 36.

<sup>52</sup>Véase nota 38(c).

<sup>53</sup>Tuladhar, B.R.; Costall, B.; Naylor, R.J. *Br. J. Pharmacol.*, **1996**, 119, 303.

<sup>54</sup>Borman, R.A.; Burleigh, D.E. *Br. J. Pharmacol.*, **1993**, 110, 927.

<sup>55</sup>(a) Elswood, C.J.; Bunce, K.T.; Humphrey, P.P.A. *Eur. J. Pharmacol.*, **1991**, 196, 149.  
(b) Wardle, K.A.; Sanger, G.J. *Br. J. Pharmacol.*, **1993**, 110, 1593.

<sup>56</sup>Véase nota 21(a).

<sup>57</sup>(a) Véase nota 12(b). (b) McLean, P.G.; Coupar, I.M. *Br. J. Pharmacol.*, **1996**, 117, 238.

<sup>58</sup>(a) Reeves, J.J.; Bunce, K.T.; Humphrey, P.P.A. *Br. J. Pharmacol.*, **1991**, 103, 1067.  
(b) Rondé, P.; Ansanay, H.; Dumuis, A.; Miller, R.; Bockaert, J. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1995**, 272, 977.

<sup>59</sup>Véase nota 12(c).

<sup>60</sup>Bingham, S.; King, B.F.; Rushant, B.; Smith, M.I.; Gaster, L.M.; Sanger, G.J. *J. Pharm. Pharmacol.*, **1995**, 47, 219.

<sup>61</sup>Wiseman, L.R.; Faulds, D. *Drugs*, **1994**, 47, 116.

<sup>62</sup>(a) Véase nota 13. (b) Schoemaker, R.G.; Du, X.Y.; Bax, W.A.; Saxena, P.R. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **1992**, 346, 486.

<sup>63</sup>Kaumann, A.; Sanders, L. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **1994**, 349, 331.

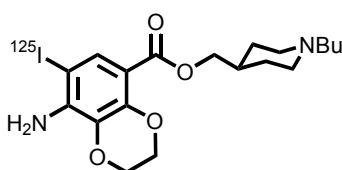
<sup>64</sup>Contesse, V.; Hamel, C.; Lefèbvre, H.; Dumuis, A.; Vaudry, H.; Delarue, C. *Mol. Pharmacol.*, **1996**, 49, 481.

<sup>65</sup>Lefèbvre, H.; Contesse, V.; Delarue, C.; Legrand, A.; Kuhn, J.M.; Vaudry, H.; Wolf, L. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, **1994**, 80, 504.

<sup>66</sup>Waikar, M.V.; Ford, A.P.D.W.; Clarke, D.E. *Br. J. Pharmacol.*, **1994**, 111, 213.

<sup>67</sup>Tonini, M.; Messori, E.; Franceschetti, G.P.; Rizzi, C.A.; Castoldi, A.F.; Coccini, T.; Candura, S.M. *Br. J. Pharmacol.*, **1994**, 113, 1.

El desarrollo, en 1993, de dos nuevos radioligandos específicos del receptor 5-HT<sub>4</sub>, el [<sup>3</sup>H]GR 113808<sup>68</sup> (página 7) y el [<sup>125</sup>I]SB 207710<sup>69</sup>, revolucionó el estudio de este receptor. Su utilización en ensayos bioquímicos y autorradiográficos ha permitido determinar con precisión la distribución regional de los receptores 5-HT<sub>4</sub> centrales en los cerebros de diversas especies<sup>70</sup>, incluida la humana<sup>71</sup>, encontrándose una mayor densidad de sitios de unión en áreas del sistema límbico, el cuerpo estriado y el hipocampo.



[<sup>125</sup>I]SB 207710

### 3.1.3. Caracterización farmacológica del receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub>: Agonistas y antagonistas 5-HT<sub>4</sub>

La mayoría de los ligandos del receptor 5-HT<sub>4</sub> se han descubierto usando modelos funcionales, debido a la tardía disponibilidad tanto de los ensayos de determinación de la afinidad como del cDNA que codifica dicho receptor. A continuación, se presenta una clasificación de los principales ligandos del receptor 5-HT<sub>4</sub>, junto con sus propiedades farmacológicas más destacadas.

<sup>68</sup>Véase nota 19.

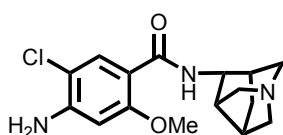
<sup>69</sup>Brown, A.M.; Young, T.J.; Patch, T.L.; Cheung, C.W.; Kaumann, A.; Gaster, L.M.; King, F.D. *Br. J. Pharmacol.*, **1993**, *110*, 10P.

<sup>70</sup>(a) Grossman, C.J.; Kilpatrick, G.J.; Bunce, K.T. *Br. J. Pharmacol.*, **1993**, *109*, 618. (b) Véase nota 10(c). (c) Uchiyama-Tsuyuki, Y.; Saitoh, M.; Maramatsu, M. *Life Sci.*, **1996**, *59*, 2129.

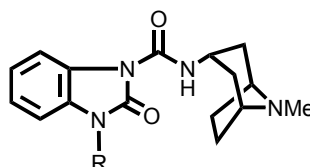
<sup>71</sup>(a) Waeber, C.; Sebben, M.; Grossman, C.; Javoy-Agid, F.; Bockaert, J.; Dumuis, A. *Neuroreport*, **1993**, *4*, 1239. (b) Véase nota 25.

3.1.3.1. Agonistas del receptor 5-HT<sub>4</sub>

La 5-HT y la Mcp (página 8) fueron los primeros compuestos estudiados como agonistas del receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub>, y basándose en sus estructuras químicas se sintetizaron nuevos indoles, como la 5-MeOT<sup>72</sup> (página 18), y nuevas benzamidas, como la cisaprida, la renzaprida (BRL 24924)<sup>73</sup> (página 7) ó el SC 52491<sup>74</sup>. El principal problema radica en su falta de selectividad, ya que estas benzamidas y determinadas bencimidazolonas, como el BIMU 1, el BIMU 8<sup>75</sup> o el itasetron (DAU 6215)<sup>76</sup>, muestran una afinidad igual o superior como antagonistas del receptor 5-HT<sub>3</sub>. La 5-MeOT, por el contrario, no es activa en el receptor 5-HT<sub>3</sub>, por lo que se utilizó durante mucho tiempo para diferenciar entre respuestas funcionales mediadas por uno u otro receptor<sup>77</sup>.



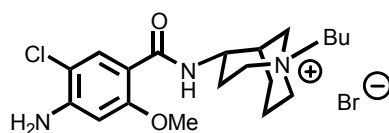
SC 52491

R = Et **BIMU 1**R = Pr<sup>i</sup> **BIMU 8**R = H **Itasetron (DAU 6215)**

Posteriormente, se han descubierto agonistas más selectivos del receptor 5-HT<sub>4</sub>, entre los que destacan una amplia familia constituida por amidas y ésteres del ácido 4-amino-5-cloro-2-metoxibenzoico, estructuralmente relacionada con la Mcp

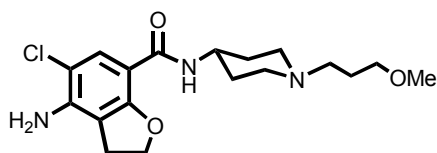
<sup>72</sup>Véase nota 15.<sup>73</sup>Véase nota 36.<sup>74</sup>(a) Flynn, D.L.; Becker, D.P.; Spangler, D.P.; Nosal, R.; Gullikson, G.W.; Moumami, C.; Yang, D.-C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1992**, 2, 1613. (b) Becker, D.P.; Nosal, R.; Villamil, C.I.; Gullikson, G.; Moumami, C.; Yang, D.-C.; Flynn, D.L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1997**, 17, 2149. (c) Becker, D.P.; Husa, R.K.; Moormann, A.E.; Villamil, C.I.; Flynn, D.L. *Tetrahedron*, **1999**, 55, 11787.<sup>75</sup>Baxter, G.S.; Clarke, D.E. *Eur. J. Pharmacol.*, **1992**, 212, 225.<sup>76</sup>(a) Turconi, M.; Nicola, M.; Quintero, M.G.; Maiocchi, L.; Micheletti, R.; Giraldo, E.; Donetti, A. *J. Med. Chem.*, **1990**, 33, 2101. (b) Dumuis, A.; Sebben, M.; Monferini, E.; Nicola, E.; Ladinsky, H.; Bockaert, J. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **1991**, 343, 245.<sup>77</sup>Craig, D.A.; Eglen, R.M.; Walsh, L.K.M.; Perkins, L.A.; Whiting, R.L.; Clarke, D.E. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **1990**, 342, 9.



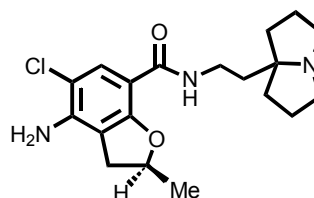


SB 205149

Dentro de la familia de benzamidas agonistas del receptor 5-HT<sub>4</sub> destacan también las derivadas del 2,3-dihidrobenzofurano como la prucaloprida (PR)<sup>84</sup>, o el SK 951<sup>85</sup>, agonista potente y selectivo de este receptor con una potencia dos veces superior a la de su enantiómero.



Prucaloprida (PR)



SK 951

Las 1,8-naftalimidias RS 56532 y RS 66331<sup>86</sup>, análogos conformacionalmente restringidos de las benzamidas, constituyen una nueva clase de agonistas 5-HT<sub>4</sub> potentes y activos tanto *in vitro* como *in vivo*. Destaca la clara enantioselectividad del ligando RS 56532 en cuanto a la afinidad 5-HT<sub>4</sub>/5-HT<sub>3</sub>, ya que es un agonista potente del receptor 5-HT<sub>4</sub> e inactivo en el 5-HT<sub>3</sub>, siendo su enantiómero *R* un potente ligando 5-HT<sub>3</sub><sup>87</sup>.

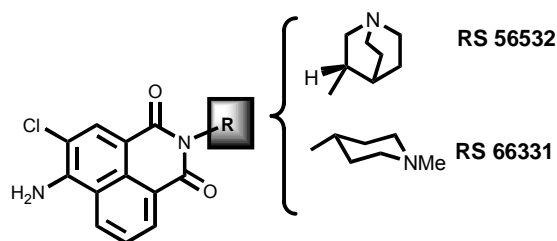
<sup>84</sup>Bouras, E.P.; Camilleri, M.; Burton, D.D.; MacKenzie, S. *Gut*, **1999**, *44*, 682.

<sup>85</sup>(a) Kakigami, T.; Usui, T.; Tsukamoto, K.; Kataoka, T. *Chem. Pharm. Bull.*, **1998**, *46*, 42. (b) Kakigami, T.; Usui, T.; Ikami, T.; Tsukamoto, K.; Miwa, Y.; Taga, T.; Kataoka, T. *Chem. Pharm. Bull.*, **1998**, *46*, 1039.

<sup>86</sup>Clark, R.D.; Weinhardt, K.K.; Berger, J.; Lee, C.-H.; Leung, E.; Wong, E.H.F.; Smith, W.L.; Eglen, R.M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1993**, *3*, 1375.

<sup>87</sup>Eglen, R.M.; Bonhaus, D.W.; Clark, R.D.; Johnson, L.G.; Lee, C.H.; Leung, E.; Smith, W.L.; Wong, E.H.F.; Whiting, R.L. *Neuropharmacology*, **1994**, *33*, 515.





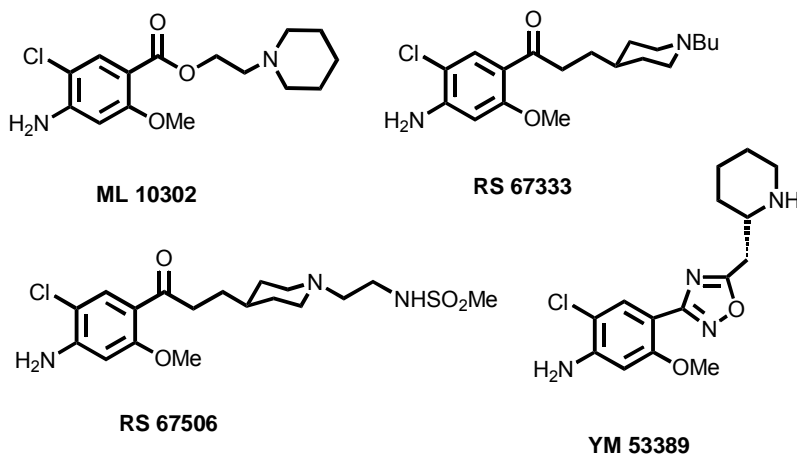
Entre los benzoatos que actúan como agonistas 5-HT<sub>4</sub>, la familia más importante está constituida por los 4-amino-5-cloro-2-metoxibenzoatos de 2-piperidinoetanol monosustituídos en el anillo de piperidina, siendo el cabeza de serie el ML 10302<sup>88</sup> que no presenta ningún sustituyente en dicho anillo básico. Estos ésteres son agonistas 5-HT<sub>4</sub> potentes en el SNC, íleon de cobayo y esófago de rata<sup>89</sup>. Asimismo, se han desarrollado una serie de arilcetonas como el RS 67333 y el RS 67506, que poseen una potencia similar al éster ML 10302 pero una duración de acción significativamente mayor<sup>90</sup>. Finalmente, la sustitución bioisómera del grupo amida o éster por un heterociclo ha conducido a una nueva serie de agonistas 5-HT<sub>4</sub>, entre los que destaca el YM 53389<sup>91</sup>, agonista potente y selectivo del receptor 5-HT<sub>4</sub> frente al 5-HT<sub>3</sub>, cuyo enantiómero (*R*) presenta una selectividad entre ambos receptores diametralmente opuesta.

<sup>88</sup>(a) Langlois, M.; Zhang, L.; Yang, D.; Brémont, B.; Shen, S.; Manara, L.; Croci, T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1994**, *4*, 1433. (b) Croci, T.; Langlois, M.; Mennini, T.; Landi, M.; Manara, L. *Br. J. Pharmacol.*, **1995**, *114*, 382P.

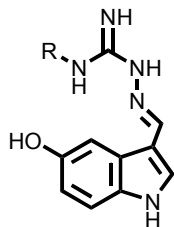
<sup>89</sup>Yang, D.; Soulier, J.-L.; Sicsic, S.; Mathé-Allainmat, M.; Brémont, B.; Croci, T.; Cardamone, R.; Aureggi, G.; Langlois, M. *J. Med. Chem.*, **1997**, *40*, 608.

<sup>90</sup>(a) Clark, R.D.; Jahangir, A.; Langston, J.A.; Weinhardt, K.K.; Miller, A.B.; Leung, E.; Eglen, R.M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1994**, *4*, 2477. (b) Eglen, R.M.; Bonhaus, D.W.; Johnson, L.G.; Leung, E.; Clark, R.D. *Br. J. Pharmacol.*, **1995**, *115*, 1387.

<sup>91</sup>Suzuki, T.; Iwaoka, K.; Imanishi, N.; Nagakura, Y.; Miyata, K.; Nakahara, H.; Ohta, M.; Mase, T. *Chem. Pharm. Bull.*, **1999**, *47*, 120.



Por último, tomando la serotonina como punto de partida, Buchheit *et al.*<sup>92</sup> han diseñado y sintetizado unas carbazimidamidas derivadas del indol como el tegaserod (HTF 919), las cuales representan una nueva clase estructural de agonistas 5-HT<sub>4</sub> potentes y selectivos.



**Tegaserod (HTF 919):** R =H  
R = Pent, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ph

Aunque en los últimos años el número de ligandos específicos del receptor 5-HT<sub>4</sub> ha aumentado considerablemente, quizás el problema más grave es que aún se requieren agonistas que sean capaces de atravesar la barrera hematoencefálica y por tanto acceder al SNC, lo que supone un requisito clave para determinados estudios *in vivo*.

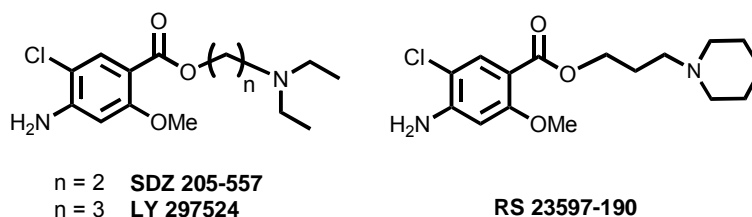
### 3.1.3.2. Antagonistas del receptor 5-HT<sub>4</sub>

<sup>92</sup>(a) Buchheit, K.-H.; Gamse, R.; Giger, R.; Hoyer, D.; Klein, F.; Klöppner, E.; Pfannkuche, H.-J.; Mattes, H. *J. Med. Chem.*, **1995**, *38*, 2326. (b) Buchheit, K.-H.; Gamse, R.; Giger, R.; Hoyer, D.; Klein, F.; Klöppner, E.; Pfannkuche, H.-J.; Mattes, H. *J. Med. Chem.*, **1995**, *38*, 2331.

Los antagonistas del receptor 5-HT<sub>4</sub> se pueden dividir en dos grupos, teniendo en cuenta su etiología estructural: compuestos derivados de benzamidas agonistas no selectivas, como la Mcp (página 8) que incluyen no sólo benzamidas sino también benzoatos y arilcetonas; y otra familia de ligandos fundamentalmente constituida por indoles y bencimidazolonas derivados del antagonista no selectivo tropisetron (página 19).

*\* Antagonistas derivados de benzamidas*

Los ésteres SDZ 205-557<sup>93</sup>, LY 297524<sup>94</sup> y RS 23597-190<sup>95</sup> fueron los primeros antagonistas moderadamente potentes y selectivos desarrollados a partir de la manipulación molecular de la Mcp (página 8).



Por otro lado, la introducción de dos grupos metilo en estereoquímica *cis* en las posiciones 3 y 5 del anillo de piperidina del agonista ML 10302 (página 30) se traduce en un aumento en la afinidad 5-HT<sub>4</sub> y en un cambio drástico en la actividad intrínseca del ligando resultante. Así, el ML 10375<sup>96</sup> actúa como antagonista 5-HT<sub>4</sub>. Esta diferencia de actividad en compuestos estructuralmente similares sugiere la existencia de dos sitios de unión: los agonistas se unirían inicialmente al sitio de

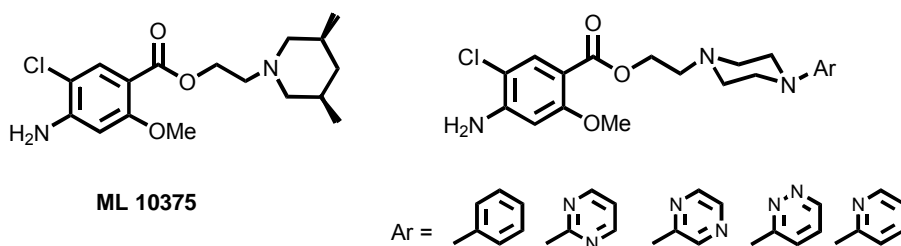
<sup>93</sup>(a) Buchheit, K.-H.; Gamse, R.; Pfannkuche, H.-J. *Eur. J. Pharmacol.*, **1991**, *200*, 373. (b) Buchheit, K.-H.; Gamse, R.; Pfannkuche, H.-J. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **1992**, *345*, 387. (c) Eglen, R.M.; Álvarez, R.; Johnson, L.G.; Leung, E.; Wong, E.H.F. *Br. J. Pharmacol.*, **1993**, *108*, 376.

<sup>94</sup>Cohen, M.L.; Susemichel, A.D.; Bloomquist, W.; Robertson, D.W. *Gen. Pharmacol.*, **1994**, *25*, 1143.

<sup>95</sup>Eglen, R.M.; Bley, K.; Bonhaus, D.W.; Clark, R.D.; Hegde, S.S.; Johnson, L.G.; Leung, E.; Wong, E.H.F. *Br. J. Pharmacol.*, **1993**, *110*, 119.

<sup>96</sup>Blondel, O.; Gastineau, M.; Langlois, M.; Fischmeister, R. *Br. J. Pharmacol.*, **1998**, *125*, 595.

reconocimiento del receptor en su forma inactiva, lo que provocaría un cambio conformacional de la macromolécula y del sitio de unión a su forma activa, y la consiguiente respuesta biológica. Los antagonistas del receptor se unirían al primer sitio, pero serían sin embargo incapaces de ocupar el segundo sitio de unión, es decir el del receptor en su forma activa, y conducir por tanto a una respuesta<sup>97</sup>. La presencia de los dos grupos metilo adicionales en el ligando ML 10375 impediría la ocupación del segundo sitio de unión, lo que justificaría su antagonismo respecto al análogo agonista ML 10302. En el mismo sentido, el antagonismo de una nueva serie de ligandos 5-HT<sub>4</sub> diseñada por Langlois *et al.*<sup>98</sup>, en la que el anillo de piperidina del ML 10302 se reemplaza por un sistema de aril o heteroarilpiperazina, apoya también dicha hipótesis.

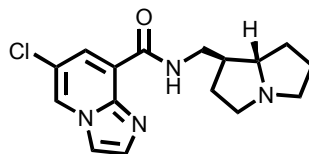


El ligando SC 53606<sup>99</sup>, que incorpora una subunidad básica de (1S,8S)-(hexahidropirrolizina-1-il)metilo, presenta una alta selectividad por el receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub> frente al 5-HT<sub>3</sub>. La sustitución del anillo bencénico de la benzamida agonista SC 53116 (página 27) por un sistema de imidazopiridina en este ligando le convierte en antagonista.

<sup>97</sup>Véase nota 89.

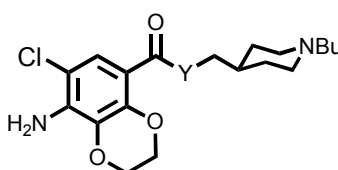
<sup>98</sup>Véase nota 48(b).

<sup>99</sup>Yang, D.; Goldstein, B.; Moormann, A.E.; Flynn, D.L.; Gullikson, G.W. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1993**, 266, 1339.



SC 53606

Un avance más significativo fue el desarrollo del benzodioxano SB 204070<sup>100</sup>, el antagonista más potente del receptor 5-HT<sub>4</sub> descubierto hasta el momento, si bien posee una corta duración de acción y una pobre biodisponibilidad. Sin embargo, la amida análoga SB 205800<sup>101</sup> ha demostrado actividad oral *in vivo*. El análogo yodado en posición 7 del anillo aromático del SB 204070, el SB 207710 (página 25), también antagonista 5-HT<sub>4</sub> potente y selectivo, se marcó isotópicamente<sup>102</sup> con <sup>125</sup>I, siendo este radioligando empleado en estudios tanto de determinación de la afinidad como de localización tisular de receptores 5-HT<sub>4</sub> mediante autorradiografía<sup>103</sup>.



Y = O SB 204070

Y = NH SB 205800

Con el fin de mejorar la biodisponibilidad de los antagonistas 5-HT<sub>4</sub>, se ha llevado a cabo la sustitución del grupo éster de varios antagonistas por un grupo metilcetona. Por ejemplo, las arilcetonas RS 39604 y RS 67532<sup>104</sup> tienen una vida

<sup>100</sup>(a) Wardle, K.A.; Ellis, E.S.; Gaster, L.M.; King, F.D.; Sanger, G.J. *Br. J. Pharmacol.*, **1993**, *110*, 15P. (b) Gaster, L.M.; Jennings, A.J.; Joiner, G.F.; King, F.D.; Mulholland, K.R.; Rahman, S.K.; Starr, S.; Wyman, P.A.; Wardle, K.A.; Ellis, E.S.; Sanger, G.J. *J. Med. Chem.*, **1993**, *36*, 4121.

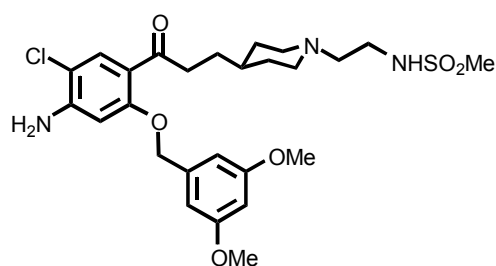
<sup>101</sup>Véase nota 16(a).

<sup>102</sup>Véase nota 69.

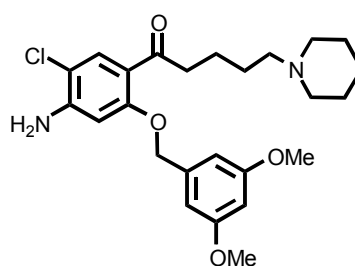
<sup>103</sup>Kaumann, A.J.; Lynham, J.A.; Brown, A.M. *Br. J. Pharmacol.*, **1995**, *115*, 933.

<sup>104</sup>Clark, R.D.; Jahangir, A.; Langston, J.A.; Weinhardt, K.K.; Miller, A.B.; Leung, E.; Bonhaus, D.W.; Wong, E.H.F.; Eglén, R.M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1994**, *4*, 2481.

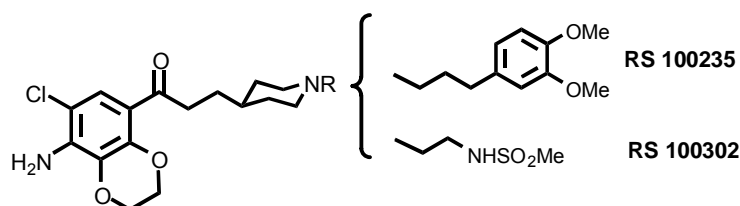
media relativamente larga y son activas por vía oral<sup>105</sup>, por lo que se presentan como antagonistas muy útiles para estudios *in vivo*. Las cetonas RS 100235 y RS 100302<sup>106</sup> también son antagonistas 5-HT<sub>4</sub> potentes y selectivos con actividad *in vivo*.



RS 39604



RS 67532



*\*Antagonistas derivados del tropisetron*

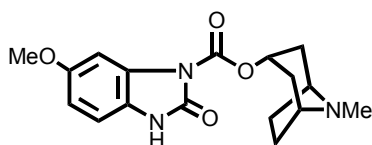
Durante mucho tiempo, el tropisetron<sup>107</sup> (página 19) fue el único antagonista 5-HT<sub>4</sub> conocido, pero, al igual que los primeros agonistas, mostraba una afinidad y selectividad muy bajas, debido a su elevada afinidad por el receptor 5-HT<sub>3</sub>.

<sup>105</sup>Hegde, S.S.; Bonhaus, D.W.; Johnson, L.G.; Leung, E.; Clark, R.D.; Eglen, R.M. *Br. J. Pharmacol.*, **1995**, 115, 1087.

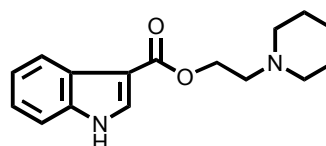
<sup>106</sup>Clark, R.D.; Jahangir, A.; Flippin, L.A.; Langston, J.A.; Leung, E. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1995**, 5, 2119.

<sup>107</sup>Véanse notas 11(b) y 38(c).

Posteriormente, surgieron el DAU 6285<sup>108</sup> y el SB 203186<sup>109</sup>, más potentes y algo más selectivos frente al receptor 5-HT<sub>3</sub>.

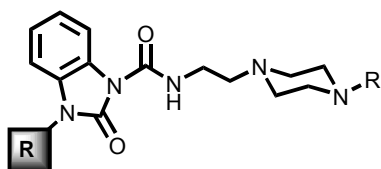


DAU 6285



SB 203186

Recientemente Orjales *et al.*<sup>110</sup> han descrito una nueva serie de bencimidazolonas como ligandos del receptor 5-HT<sub>4</sub> selectivos frente a los receptores serotoninérgico 5-HT<sub>3</sub> y dopaminérgico D<sub>2</sub>. En estas amidas el sustituyente en la posición 3 del anillo aromático es clave, no sólo para la afinidad 5-HT<sub>4</sub>, sino también para la actividad: un grupo etilo o ciclopropilo conduce a antagonistas moderados con alta afinidad 5-HT<sub>4</sub>, mientras un grupo isopropilo da lugar a una serie de agonistas parciales con moderada afinidad por el receptor 5-HT<sub>4</sub>. Asimismo, en los agonistas con R=isopropilo, la introducción de un sustituyente voluminoso en el nitrógeno de la piperazina (por ejemplo un grupo butilo) da lugar a antagonistas. Todo parece apoyar nuevamente la hipótesis de dos sitios de unión distintos para agonistas y antagonistas 5-HT<sub>4</sub>.



R = Et, Pr<sup>c</sup> alta afinidad, antagonistas moderados

R = Pr<sup>i</sup> moderada afinidad, agonistas parciales

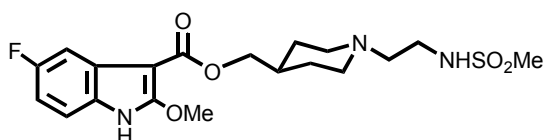
R' = Me, Et, Pr, Bu, Pr<sup>i</sup>....

<sup>108</sup>(a) Turconi, M.; Schiantarelli, P.; Borsini, F.; Rizzi, C.A.; Ladinsky, H.; Donetti, A. *Drugs Fut.*, **1991**, 16, 1011. (b) Dumuis, A.; Gozlan, H.; Sebben, M.; Ansanay, H.; Rizzi, C.A.; Turconi, M.; Monferini, E.; Giraldo, E.; Schiantarelli, P.; Ladinsky, H.; Bockaert, J. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **1992**, 345, 264.

<sup>109</sup>Parker, S.G.; Hamburger, S.; Taylor, E.M.; Kaumann, A.J. *Br. J. Pharmacol.*, **1993**, 108, 68P.

<sup>110</sup>Tapia, I.; Alonso-Cires, L.; López-Tudanca, P.L.; Mosquera, R.; Labeaga, L.; Innerarity, A.; Orjales, A. *J. Med. Chem.*, **1999**, 42, 2870.

El mayor avance en la búsqueda de antagonistas 5-HT<sub>4</sub> más potentes y selectivos lo constituyó el descubrimiento del GR 113808<sup>111</sup> (página 7). Su desarrollo como radioligando ha permitido el análisis de la distribución de los receptores 5-HT<sub>4</sub>, así como la evaluación de la afinidad de nuevos compuestos por dicho receptor. Sin embargo, a pesar de su elevada afinidad y selectividad, el GR 113808 se degrada rápidamente *in vivo*<sup>112</sup>. El análogo GR 125487 parece mejorar la potencia y la actividad en modelos *in vivo*<sup>113</sup>. En la actualidad, y tomando como cabeza de serie el GR 113808, se están desarrollando nuevas series de ligandos 5-HT<sub>4</sub> llevando a cabo sustituciones isósteras tanto del sistema aromático como del grupo éster de dicho ligando<sup>114</sup>.



GR 125487

Dentro de una nueva serie de indoles fusionados<sup>115</sup> relativos al SB 204070 (página 33), destaca la amida SB 207266<sup>116</sup> por ser un antagonista potente, selectivo, activo por vía oral y de larga duración de acción. Entre otros derivados amídicos destaca también el LY 353433<sup>117</sup>, antagonista potente y selectivo, de

<sup>111</sup>Véanse notas 19 y 70(a).

<sup>112</sup>Gale, J.D.; Grossman, C.J.; Whitehead, J.W.F.; Oxford, A.W.; Bunce, K.T.; Humphrey, P.P.A. *Br. J. Pharmacol.*, **1994**, *111*, 332.

<sup>113</sup>Gale, J.D.; Green, A.; Darton, J.; Sargent, R.S.; Clayton, N.M.; Bunce, K.T. *Br. J. Pharmacol.*, **1994**, *113*, 119P.

<sup>114</sup>Diouf, O.; Depreux, P.; Chavatte, P.; Poupaert, J.H. *Eur. J. Med. Chem.*, **2000**, *35*, 699.

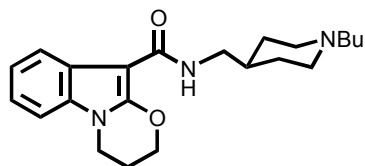
<sup>115</sup>Gaster, L.M.; Wyman, P.A.; Ellis, E.S.; Brown, A.M.; Young, T.J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1994**, *4*, 667.

<sup>116</sup>(a) Gaster, L.M.; Joiner, G.F.; King, F.D.; Wyman, P.A.; Sutton, J.M.; Bingham, S.; Ellis, E.S.; Sanger, G.J.; Wardle, K.A. *J. Med. Chem.*, **1995**, *38*, 4760. (b) Wardle, K.A.; Bingham, S.; Ellis, E.S.; Gaster, L.M.; Rushant, B.; Smith, M.I.; Sanger, G.J. *Br. J. Pharmacol.*, **1996**, *118*, 665.

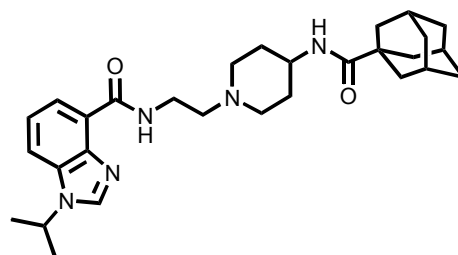
<sup>117</sup>Schaus, J.M.; Thompson, D.C.; Bloomquist, W.E.; Susemichel, A.D.; Calligaro, D.O.; Cohen, M.L. *J. Med. Chem.*, **1998**, *41*, 1943.



larga duración de acción y con propiedades farmacocinéticas muy interesantes para su posible aplicación clínica<sup>118</sup>.



SB 207266



LY 353433

Finalmente, señalar que aunque se ha observado que algunos ligandos 5-HT<sub>4</sub> se comportan como agonistas, agonistas parciales o incluso antagonistas en función de la preparación o la isoforma estudiada, estas diferencias no son suficientes para alentar la posible división del receptor 5-HT<sub>4</sub> en distintos subtipos, y pueden explicarse en términos de distinta eficacia en el acoplamiento a la proteína G. Los avances que en la actualidad se están experimentando en el conocimiento de la secuencia de aminoácidos de los receptores 5-HT<sub>4</sub> de los distintos tejidos y especies suponen sin duda el mejor camino a seguir para conocer la respuesta definitiva a la posible heterogeneidad de dicho receptor serotoninérgico, si bien en la actualidad no está generalmente aceptada<sup>119</sup>.

#### 3.1.4. Potencial terapéutico de los ligandos del receptor 5-HT<sub>4</sub>

Desde un punto de vista terapéutico, dos áreas recibieron inicialmente una particular atención: el tratamiento de alteraciones gastrointestinales y el papel que los ligandos de este receptor podrían desempeñar en las patologías cardíacas. Más recientemente, se ha sugerido también una posible implicación del receptor 5-

<sup>118</sup>(a) Cohen, M.L.; Bloomquist, W.; Schaus, J.M.; Thompson, D.C.; Susemichel, A.D.; Calligaro, D.O.; Cohen, I. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1996**, 277, 97. (b) Cohen, M.L.; Bloomquist, W.; Calligaro, D.O.; Swanson, S. *Drug Dev. Res.*, **1998**, 43, 193.

<sup>119</sup>Bockaert, J.; Fagni, L.; Dumuis, A. 5-HT<sub>4</sub> Receptors: An Update. In *Serotonergic Neurons and 5-HT Receptors in the CNS. Handb. Exp. Pharm.* Vol. 129. Baumgarten, H.G.; Göthert, M., Eds.; Springer-Verlag: Berlin, 1997, pp 439-474.

HT<sub>4</sub> en el proceso cognitivo, así como su posible aplicación en el tratamiento de trastornos de la vejiga urinaria.

#### 3.1.4.1. Tratamiento de alteraciones gastrointestinales

La primera y aún más estudiada aplicación terapéutica relacionada con el receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub> reside en la patología del tracto gastrointestinal<sup>120</sup>, donde su activación o inhibición induce una gran diversidad de respuestas. Así, la Mcp<sup>121</sup>, la renzaprida<sup>122</sup> y la cisaprida<sup>123</sup> (página 19) comenzaron a ser utilizadas en el tratamiento de enfermedades digestivas como la dispepsia, la esofagitis, la gastroparesia o el estreñimiento crónico, antes incluso de conocerse su mecanismo de acción. Posteriormente, se demostró que estos agentes favorecen la motilidad intestinal debido a su agonismo en el receptor 5-HT<sub>4</sub> y no a su antagonismo en el 5-HT<sub>3</sub><sup>124</sup>. En la actualidad, se está investigando la posible aplicación terapéutica, como fármacos alternativos a las benzamidas habituales, de nuevos agonistas selectivos 5-HT<sub>4</sub> como la PR<sup>125</sup> (página 28), ya en ensayos clínicos, la mosaprida<sup>126</sup> (página 27) o el YM 53389<sup>127</sup> (página 30). Estos nuevos agonistas 5-HT<sub>4</sub> no producen efectos colaterales adversos asociados con la actividad antagonista en el receptor dopaminérgico D<sub>2</sub>, lo que supondría una ventaja respecto a la tradicional administración de la cisaprida o la Mcp. Asimismo,

---

<sup>120</sup>(a) Véase nota 20. (b) Jin, J.G.; Foxx-Orenstein, A.E.; Grider, J.R. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1999**, *288*, 93. (c) Chovet, M. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2000**, *4*, 428. (d) Taniyama, K.; Makimoto, N.; Furuichi, A.; Sakurai-Yamashita, Y.; Nagase, Y.; Kaibara, M.; Kanematsu, T. *J. Gastroenterol.*, **2000**, *35*, 575.

<sup>121</sup>Sanger, G.J. *J. Pharm. Pharmacol.*, **1985**, *37*, 661.

<sup>122</sup>Cooper, S.M.; McClelland, C.M.; McRitchie, B.; Turner, D.H. *Br. J. Pharmacol.*, **1986**, *88*, 383P.

<sup>123</sup>McCallum, R.W.; Prakash, C.; Campoli-Richards, D.M.; Goa, K.L. *Drugs*, **1988**, *36*, 652.

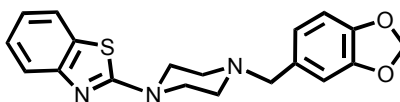
<sup>124</sup>(a) Schiavone, A.; Volonté, M.; Micheletti, R. *Eur. J. Pharmacol.*, **1990**, *187*, 323. (b) Prins, N.H.; Akkermans, L.M.A.; Lefebvre, R.A.; Schuurkes, J.A.J. *Br. J. Pharmacol.*, **2000**, *131*, 927.

<sup>125</sup>(a) Poen, A.C.; Felt-Bersma, R.J.F.; van Dongen, P.A.M.; Meuwissen, S.G.M. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, **1999**, *13*, 1493. (b) *Drugs Fut.*, **2000**, *25*, 761.

<sup>126</sup>Kato, S.; Fujiwara, I.; Yoshida, N. *Med. Res. Rev.*, **1999**, *19*, 25.

<sup>127</sup>Nagakura, Y.; Akuzawa, S.; Miyata, K.; Kamoto, T.; Suzuki, T.; Ito, H.; Yamaguchi, T. *Pharmacol. Res.*, **1999**, *39*, 375.

los ensayos con el agonista 5-HT<sub>4</sub> VB20B7 han resultado prometedores tanto por su perfil farmacológico<sup>128</sup> como en modelos animales<sup>129</sup>.



VB20B7

Por otro lado, los antagonistas del receptor 5-HT<sub>4</sub> han resultado ser efectivos en el control de la diarrea inducida por la 5-HT y el 5-hidroxitriptófano (5-HTP) en varios modelos animales, por lo que se ha propuesto su utilidad en el tratamiento del IBS<sup>130</sup>. En efecto, el antagonista SB 207266 (página 37) se encuentra en Fase Clínica II para su posible utilización como nuevo fármaco en el tratamiento de esta enfermedad, y son numerosos los ensayos clínicos que han puesto de manifiesto sus prometedoras propiedades para tal efecto<sup>131</sup>. Recientemente se ha comenzado también a investigar a nivel clínico la posible aplicabilidad del tegaserod (página 30), agonista parcial 5-HT<sub>4</sub>, en el tratamiento del IBS<sup>132</sup>.

#### 3.1.4.2. Tratamiento de patologías cardíacas

En 1994, Kaumann<sup>133</sup> sugirió que los receptores 5-HT<sub>4</sub> localizados en el corazón están implicados en la génesis de la fibrilación atrial que conduce al infarto tromboembólico. Experimentos realizados en corazón humano *in vitro* han demostrado que la serotonina induce arritmias, y que éstas son inhibidas por antagonistas selectivos del receptor 5-HT<sub>4</sub> tales como el GR 113808 (página 7) o el

<sup>128</sup>Ramirez, M.J.; García-Garayoa, E.; Romero, G.; Monge, A.; Roca, J.; del Río, J.; Lasheras, B. *J. Pharm. Pharmacol.*, **1997**, *49*, 58.

<sup>129</sup>García-Garayoa, E.; Monge, A.; Roca, J.; del Río, J.; Lasheras, B. *J. Pharm. Pharmacol.*, **1997**, *49*, 66.

<sup>130</sup>Véase nota 21.

<sup>131</sup>(a) Houghton, L.A.; Jackson, N.A.; Whorwell, P.J.; Cooper, S.M. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, **1999**, *13*, 1437. (b) Sanger, G.J.; Yoshida, M.; Yahyah, M.; Kitazumi, K. *Br. J. Pharmacol.*, **2000**, *130*, 706. (c) Bharucha, A.E.; Camilleri, M.; Haydock, S.; Ferber, I.; Burton, D.; Cooper, S.; Tompson, D.; Fitzpatrick, K.; Higgins, R.; Zinsmeister, A.R. *Gut*, **2000**, *47*, 667.

<sup>132</sup>Scott, L.J.; Perry, C.M. *Drugs*, **1999**, *58*, 491.

<sup>133</sup>Véase nota 22.

SB 203186 (página 35), indicando la mediación de este efecto a través de dicho receptor<sup>134</sup>. Asimismo, estudios recientes *in vivo* han demostrado el potencial terapéutico del antagonista RS 100302 (página 34) en el tratamiento de la arritmia<sup>135</sup>.

Estas consideraciones sitúan a los antagonistas selectivos de este receptor como agentes potencialmente útiles en la prevención de la arritmia y el infarto<sup>136</sup>.

Por otro lado, la administración del agonista 5-HT<sub>4</sub> cisaprida (página 7) en el tratamiento de enfermedades intestinales conlleva una respuesta taquicárdica como efecto secundario<sup>137</sup>, lo que en principio se relacionó con la implicación del receptor en la patología cardíaca. Sin embargo, estudios recientes sugieren que dicho efecto se produce a través de un mecanismo diferente<sup>138</sup> y no está relacionado con la activación de receptores 5-HT<sub>4</sub>, sino con las características del propio ligando. Así, agonistas que activan la motilidad gastrointestinal con una potencia similar a la cisaprida, como el ML 10302 (página 30), carecen de efectos taquicárdicos adversos<sup>139</sup>.

#### 3.1.4.3. Tratamiento de trastornos cognitivos

El potencial terapéutico de los ligandos selectivos del receptor 5-HT<sub>4</sub> en el tratamiento de trastornos cognitivos se presenta muy prometedor. De hecho, el número de resultados publicados al respecto ha crecido considerablemente en los últimos tres años. La amplia distribución de los receptores 5-HT<sub>4</sub> en las áreas

---

<sup>134</sup>(a) Kaumann, A. *Br. J. Pharmacol.*, **1993**, *110*, 1172. (b) Véase nota 63.

<sup>135</sup>Rahme, M.M.; Cotter, B.; Leistad, E.; Wadhwa, M.K.; Mohabir, R.; Ford, A.P.D.W.; Eglén, R.M.; Feld, G.K. *Circulation*, **1999**, *100*, 2010.

<sup>136</sup>(a) Workman, A.; Rankin, A.C. *Cardiovasc. Res.*, **1998**, *40*, 436. (b) Pino, R.; Cerbai, E.; Calamai, G.; Alajmo, F.; Borgioli, A.; Braconi, L.; Cassai, M.; Montesi, G.F.; Mugelli, A. *Cardiovasc. Res.*, **1998**, *40*, 516. (c) Rosen, M.R. *Circulation*, **1999**, *100*, 1942.

<sup>137</sup>Olsson, S.; Edwards, I.R. *Br. Med. J.*, **1992**, *305*, 748.

<sup>138</sup>Tonini, M.; De Ponti, F.; Di Nucci, A.; Crema, F. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, **1999**, *13*, 1585.

<sup>139</sup>Crema, F.; Modini, C.; Croci, T.; Langlois, M.; De Ponti, F. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1999**, *288*, 1045.

límbicas de los cerebros de diversas especies animales y humano<sup>140</sup>, así como las respuestas funcionales descritas en el SNC<sup>141</sup> apoyan firmemente la posibilidad de que estos receptores centrales estén implicados en el proceso cognitivo<sup>142</sup>.

En este sentido, estudios realizados en cerebros humanos *post-mortem* parecen sugerir la implicación de los receptores 5-HT<sub>4</sub> en enfermedades neurodegenerativas, como Alzheimer o Huntington<sup>143</sup>.

Se ha demostrado que los agonistas 5-HT<sub>4</sub> contribuyen tanto a mejorar la consolidación de conocimientos como a facilitar el aprendizaje de los mismos<sup>144</sup>. Así, ensayos farmacológicos *in vivo* realizados en rata, ratón y mono han demostrado que la administración de agonistas 5-HT<sub>4</sub> induce una mejora en el aprendizaje y el desarrollo de la memoria, siendo ese efecto bloqueado por antagonistas selectivos de dicho receptor<sup>145</sup>. En la observación de resultados positivos es crítica la polaridad del agonista estudiado<sup>146</sup> y sólo los de naturaleza hidrofóbica son capaces de atravesar la barrera hematoencefálica e inducir una respuesta observable. Asimismo, los agonistas potentes y selectivos del receptor 5-HT<sub>4</sub> previenen la pérdida de memoria inducida por antagonistas 5-HT<sub>4</sub> u otras drogas de efecto amnésico, así como los déficits de memoria asociados a procesos de hipoxia<sup>147</sup>. Estos resultados están de acuerdo con la hipótesis de un

---

<sup>140</sup>(a) Waeber, C.; Sebben, M.; Nieoullon, A.; Bockaert, J.; Dumuis, A. *Neuropharmacology*, **1994**, 33, 527. (b) Bonaventure, P.; Hall, H.; Gommeren, W.; Cras, P.; Langlois, X.; Jurzak, M.; Leysen, J.E. *Synapse*, **2000**, 36, 35.

<sup>141</sup>Véase nota 11(b).

<sup>142</sup>Véase nota 23.

<sup>143</sup>Véase nota 25.

<sup>144</sup>(a) Eglen, R.M.; Bonhaus, D.W.; Clark, R.D.; Daniels, S.; Leung, E.; Wong, E.H.F.; Fontana, D.J. *Br. J. Pharmacol.*, **1995**, 116, 235P. (b) Eglen, R.M.; Hegde, S.S. *Exp. Opin. Invest. Drugs*, **1996**, 5, 373. (c) Meneses, A.; Hong, E. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **1997**, 56, 347.

<sup>145</sup>Letty, S.; Child, R.; Dumuis, A.; Pantaloni, A.; Bockaert, J.; Rondouin, G. *Neuropharmacology*, **1997**, 36, 681.

<sup>146</sup>(a) Fontana, D.J.; Daniels, S.E.; Wong, E.H.F.; Clark, R.D.; Eglen, R.M. *Neuropharmacology*, **1997**, 36, 689. (b) Marchetti, E.; Dumuis, A.; Bockaert, J.; Soumireu-Mourat, B.; Roman, F.S. *Neuropharmacology*, **2000**, 39, 2017.

<sup>147</sup>Galeotti, N.; Ghelardini, C.; Bartolini, A. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1998**, 286, 1115.

importante papel de estos receptores en la regulación de procesos cognitivos, como la memoria y el aprendizaje<sup>148</sup>.

La posible aplicación clínica de agonistas potentes y selectivos del receptor 5-HT<sub>4</sub> en el tratamiento de disfunciones cognitivas presenta en la actualidad unas perspectivas muy esperanzadoras, no sólo en el campo de las enfermedades neurodegenerativas o asociadas con la edad, sino también de una forma más generalizada en cualquier desorden de la memoria no necesariamente asociado a una edad avanzada<sup>149</sup>. La limitación más importante a esta posible aplicación se encuentra en la taquicardia que algunos agonistas de este receptor inducen como efecto colateral.

#### 3.1.4.4. Tratamiento de trastornos de la vejiga urinaria

La localización de receptores 5-HT<sub>4</sub> en la vejiga humana<sup>150</sup> y la incontinencia urinaria que produce como efecto colateral la administración de Mcp (página 8) sugieren la posible aplicabilidad terapéutica de los antagonistas 5-HT<sub>4</sub> en el tratamiento de este tipo de trastornos<sup>151</sup>.

#### 3.1.4.5. Otras aplicaciones terapéuticas de los ligandos del receptor 5-HT<sub>4</sub>

Entre otras posibles aplicaciones terapéuticas de los ligandos del receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub>, estudios recientes sugieren un potencial papel ansiolítico<sup>152</sup> de los antagonistas selectivos de este receptor, así como su posible utilización en

---

<sup>148</sup>(a) Marchetti-Gauthier, E.; Roman, F.S.; Dumuis, A.; Bockaert, J.; Soumireu-Mourat, B. *Neuropharmacology*, **1997**, *36*, 697. (b) Siniscalchi, A.; Badini, I.; Beani, L.; Bianchi, C. *Neuroreport*, **1999**, *10*, 547.

<sup>149</sup>Véase nota 24.

<sup>150</sup>Véase nota 14.

<sup>151</sup>Véase nota 26.

<sup>152</sup>Kennett, G.A.; Bright, F.; Trail, B.; Blackburn, T.P.; Sanger, G.J. *Neuropharmacology*, **1997**, *36*, 707.

el tratamiento de problemas de adicción como el alcoholismo<sup>153</sup> y la drogodependencia<sup>154</sup>.

Asimismo, los ligandos que poseen propiedades antagonistas simultáneamente en los receptores 5-HT<sub>4</sub> y 5-HT<sub>3</sub> se presentan muy prometedores en el tratamiento de la emesis<sup>155</sup> inducida por quimioterapia en los pacientes con cáncer, y como fármacos antinociceptivos<sup>156</sup>.

## 3.2. RELACIÓN ESTRUCTURA-ACTIVIDAD

### 3.2.1. Introducción

El diseño de nuevos compuestos con un propósito determinado implica poder seleccionar aquellas estructuras que cumplan mejor los objetivos buscados. Inicialmente, la estrategia a seguir fue la síntesis al azar de nuevos compuestos, y ver si mostraban las propiedades deseadas. Sin embargo, pronto se comprobó que dicha técnica no era efectiva y, además, suponía un gasto excesivo de tiempo y dinero para la escasa información obtenida. Esto condujo al empleo de métodos teóricos, que contemplasen las relaciones de carácter cuantitativo entre la estructura química de los compuestos objeto de estudio y la propiedad biológica de interés. Esta filosofía permite tomar decisiones racionales para síntesis posteriores, incrementándose así la probabilidad de obtener compuestos que presenten las propiedades buscadas.

La respuesta biológica se debe a la interacción entre el compuesto químico (fármaco) y un sistema macromolecular (receptor), que da lugar a la formación de un complejo transitorio fármaco-receptor. En el curso de esta interacción, el

---

<sup>153</sup>Castro, L.; De Castro, E.; Silva, E.; Lima, A.K.S.; Souza, F.S.; Maldonado, I.; Macedo, D.F.; Ferreira, M.G.; Santamaría, G.F.; Bandeira, I.P.V.; Amor, A.L.M.; Carvalho, F.L.Q.; Rocha, M.A.; Oliveira, I.R.; Fregoneze, J.B. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **2000**, *66*, 443.

<sup>154</sup>(a) Ohuoha, D.C.; Schindler, C.W.; Rothman, R.B. *Life Sci.*, **1998**, *63*, 1673. (b) McMahon, L.R.; Cunningham, K.A. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1999**, *291*, 300.

<sup>155</sup>(a) Minami, M.; Endo, T.; Tamaki, H.; Ogawa, T.; Hamaue, N.; Hirafuji, M.; Monma, Y.; Yoshioka, M.; Hagihara, K. *Eur. J. Pharmacol.*, **1997**, *321*, 333. (b) Véase nota 126. (c) Yamakuni, H.; Sawai, H.; Maeda, Y.; Imazumi, K.; Sakuma, H.; Matsuo, M.; Mutoh, S.; Seki, J. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **2000**, *292*, 1002.

<sup>156</sup>Espejo, E.F.; Gil, E. *Brain Res.*, **1998**, *788*, 20.

receptor se modifica, química o físicamente, para desencadenar un proceso que induzca una respuesta biológica determinada. La formación de este complejo y, en consecuencia, la actividad del fármaco está condicionada por las propiedades moleculares tanto del fármaco como del receptor.

El conocimiento global de la interacción, y sus consecuencias, puede efectuarse por dos caminos diferentes: el estudio de los receptores celulares y el de las propiedades moleculares del fármaco. El establecimiento de correlación entre éstas y la actividad biológica se conoce como análisis cuantitativo de las relaciones estructura-actividad (*Quantitative Structure Activity Relationships*-QSAR clásico, QSAR-3D-)<sup>157</sup>.

Indudablemente, la aproximación más efectiva, y que proporciona un mejor entendimiento de la relación estructura-actividad, sería el estudio directo de las fuerzas y propiedades involucradas en la interacción fármaco-receptor, así como de los modelos estructurales y fisicoquímicos del complejo formado, y esto es lo que se pretende mediante la simulación o modelización molecular.

### 3.2.2. QSAR-3D. Análisis comparativo del campo molecular (CoMFA)

Uno de los problemas del QSAR clásico es su escasa capacidad para discernir, mediante parámetros adecuados, la estereoquímica molecular. Dada la importancia de los aspectos espaciales en la interacción fármaco-receptor, este inconveniente resulta decisivo a la hora de abordar con éxito un tratamiento QSAR para moléculas flexibles o estructuralmente diversas. En estos casos es deseable la aplicación del QSAR-3D<sup>158</sup>, que implica un estudio pormenorizado del espacio conformacional a partir del cual sea posible conocer la naturaleza tridimensional (3D) de las moléculas consideradas.

---

<sup>157</sup>(a) Kubinyi, H. QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches. In *Methods and Principles in Medicinal Chemistry*. Mannhold, R.; Krogsgaard-Larsen, P.; Timmerman, H., Eds.; VCH: Weinheim, 1993. (b) Kubinyi, H., Ed.; *3D QSAR in Drug Design. Theory, Methods, and Applications*. ESCOM Science Publishers: Leiden, 1993. (c) Hansch, C.; Leo, A. *Exploring QSAR. Fundamentals and Applications in Chemistry and Biology*. Chihara, H.; Dessy, R.; Jochum, C.; Maggiora, G.; Ridley, D.; Town, W.; Venkataraghavan, R.; Woodruff, H.; Zass, E.; Zefirov, N.; Cheng, C.; Zupan, J.; Heller, S.R., Eds.; American Chemical Society: Washington, 1995.

<sup>158</sup>(a) Véase nota 157(b). (b) Green, S.M.; Marshall, G.R. *Trends Pharmacol. Sci.*, **1995**, *16*, 285.



Como hipótesis de partida, ante el desconocimiento de la naturaleza 3D del receptor, se supone que la conformación de interacción del ligando (conformación bioactiva) es la de mínima energía o una próxima a ella energéticamente. Una vez determinada la conformación más estable se deducen los parámetros moleculares inherentes a dicha conformación y se lleva a cabo la correlación entre el espacio paramétrico obtenido, tal cual o previa reducción de su dimensionalidad aplicando el análisis de componentes principales (*Principal Component Analysis-PCA-*), y la actividad biológica.

El análisis comparativo del campo molecular (*Comparative Molecular Field Analysis-CoMFA*)<sup>159</sup> constituye el paradigma de la metodología QSAR-3D. Introducido por Cramer<sup>160</sup> en 1988, conjuga metodologías de modelización molecular con técnicas quimiométricas, como mínimos cuadrados parciales (*Partial Least Square-PLS-*). El método puede esquematizarse en la Figura 2, y comprende las siguientes etapas:

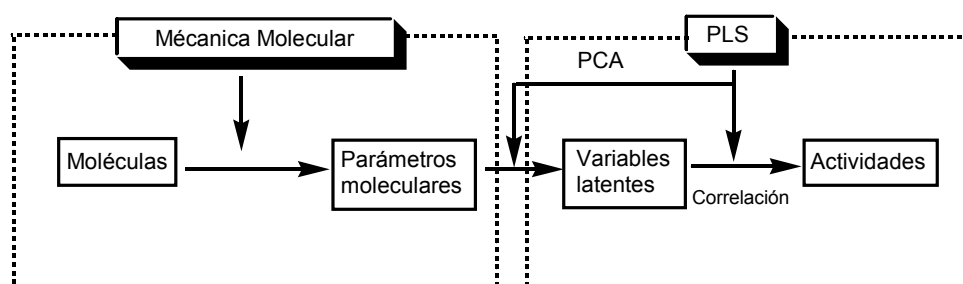


Figura 2. Diagrama de flujo del CoMFA.

<sup>159</sup>(a) Clark, M.; Cramer, R.D.; Jones, D.M.; Patterson, D.E.; Simeroth, P.E. *Tetrahedron Comput. Method*, **1990**, 3, 47. (b) Podlogar, B.L.; Ferguson, D.M. *Drug Des. Discov.*, **2000**, 17, 4.

<sup>160</sup>Cramer, R.D.; Patterson, D.E.; Bunce, J.D. *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110, 5959.

a) *Obtención de parámetros moleculares mediante técnicas de modelización molecular*

Los pasos determinantes de un estudio CoMFA son, sin duda, la selección de una determinada estructura 3D de entre los varios conformeros de una molécula determinada y la superposición de esta estructura seleccionada respecto al resto de la serie analizada, es decir, la orientación relativa entre todas ellas. Estos pasos deben realizarse siguiendo criterios clásicos de minimización, como los basados en las coordenadas cristalográficas, los mínimos cuadrados, el ajuste múltiple (*multiple fit*) o el ajuste de campo (*field fit*)<sup>161</sup>, siendo necesario tener en cuenta criterios de similaridad molecular y elementos farmacofóricos presentes en las estructuras moleculares, así como postular determinados criterios de orientación si es necesario. A continuación se realiza el cálculo puntual de la distribución de cargas para la conformación elegida, inscribiéndose cada molécula en una red 3D con celdilla de 1 ó 2 Å de lado. Esta red corta a cada molécula en n puntos, dependiendo de su disposición conformacional.

En cada uno de los n puntos de intersección con la red 3D que engloba a todas las moléculas, se calculan las energías de interacción estérica (Lennard-Jones) y electrostática (culómbica) respecto a un átomo de prueba, también llamado átomo sonda, normalmente un carbono  $sp^3$  con carga +1,0.

El proceso global de obtención de datos se ilustra en la Figura 3. Como en cualquier estudio QSAR, es la matriz de datos el centro del análisis. Arbitrariamente, la primera columna contiene los datos de la actividad biológica o cualquier otra propiedad determinada experimentalmente (variable dependiente). Estos son los valores que podrán ser predichos si el análisis tiene éxito. Las columnas restantes de la tabla son los parámetros estructurales (variables independientes). El número de parámetros moleculares estéricos y electrostáticos es muy elevado y, en consecuencia, el método continúa con una reducción de la dimensionalidad del hiperespacio paramétrico mediante la técnica PLS.

---

<sup>161</sup>Kearsley, S.K.; Smith, G.M. *Tetrahedron Comput. Method*, **1990**, 3, 615.

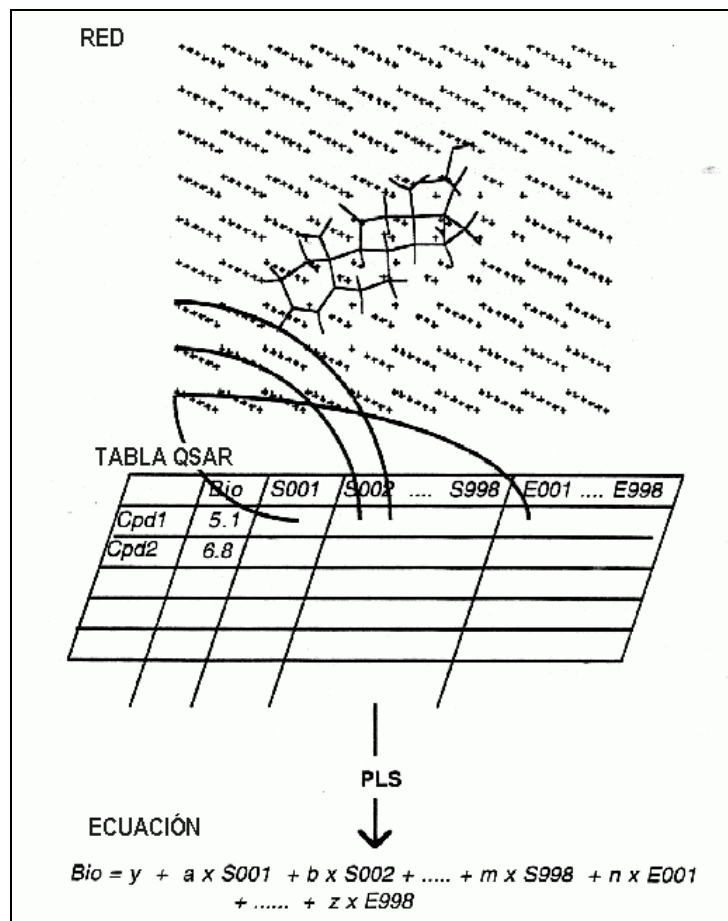


Figura 3. Proceso de obtención de datos en CoMFA.

b) Tratamiento de los parámetros

La dificultad matemática del CoMFA es resolver una ecuación que posee miles de coeficientes, mientras que dispone de pocas medidas biológicas. Los métodos clásicos, como la regresión lineal múltiple, que proporcionan una solución única, no pueden ser utilizados.

Mediante la aplicación de la técnica PLS<sup>162</sup> a la matriz de parámetros moleculares se reduce la dimensionalidad del hiperespacio paramétrico y se extrae el número óptimo de componentes principales. Hay que señalar que la matriz de parámetros moleculares puede ampliarse, cuanto se quiera, con cualquier variable. Puede obviarse, de esta forma, el mayor inconveniente del CoMFA, como es la ausencia de parámetros de lipofilia, que no pueden generarse por mecánica molecular.

La técnica usada en PLS para evaluar la capacidad predictiva de un análisis QSAR es la validación cruzada (*cross-validation* o *leave-one-out* -LOO-). Al aplicar dicha técnica se considera uno (o más) de los valores experimentales desconocido. El análisis se repite, pero en esta ocasión omitiendo los valores temporalmente desconocidos desde el principio. La ecuación resultante se usa para predecir los valores experimentales de los compuestos excluidos, y el cuadrado de los errores individuales de las predicciones se va acumulando. El proceso de validación se repite hasta que todos los miembros de la serie hayan sido excluidos y predichos exactamente una vez. El resultado de la validación es la suma de los cuadrados de los errores de la predicción, a veces denominada PRESS (*Predictive Residual Sum of Squares*).

$$\text{PRESS} = (Y_{\text{pred}} - Y_{\text{obs}})^2 \quad [1]$$

En PLS el proceso iterativo continúa hasta que el valor del PRESS no decrezca significativamente. La evaluación global del análisis se lleva a cabo examinando el valor del PRESS, expresado como  $r^2_{\text{cross}}$  o  $q^2$ :

$$r^2_{\text{cross}} = 1 - (Y_{\text{pred}} - Y_{\text{obs}})^2 / (Y_{\text{obs}} - Y_{\text{media}})^2 \quad [2]$$

$$r^2_{\text{cross}} = 1 - \text{PRESS} / \text{SD} \quad [3]$$

---

<sup>162</sup>(a) Dunn, W.J.I.; Wold, S.; Edlund, U.; Hellberg, S.; Gasteiger, J. *Quant. Struct.-Act. Relat.*, **1984**, *3*, 131. (b) Wold, S.; Ruhe, A.; Wold, H.; Dunn, W.J.I. *SIAM J. Sci. Stat. Comput.*, **1984**, *5*, 735. (c) Wold, S.; Albano, C.; Dunn, W.J.I.; Edlund, U.; Esbenson, K.; Geladi, P.; Hellberg, S.; Johansson, E.; Lindberg, W.; Sjöström, M. *Multivariate Data Analysis in Chemistry*. In *Chemometrics: Mathematics and Statistics in Chemistry*. Kowalsky, B.R., Ed.; Reidel: Dordrecht, The Netherlands, 1984, pp 17-95. (d) Hoskuldsson, A. *J. Chemometrics*, **1988**, *2*, 211. (e) Cramer, R.D.; Bunce, J.D.; Patterson, D.E. *Quant. Struct.-Act. Relat.*, **1988**, *7*, 18.

donde SD es la suma de los cuadrados de las desviaciones de cada uno de los valores de la propiedad biológica respecto al valor medio de ésta. El valor de  $r^2_{\text{cross}}$  puede oscilar entre 0 y 1, pudiendo incluso adoptar valores negativos. Un valor de  $r^2_{\text{cross}}$  igual a la unidad se corresponde, evidentemente, con una predicción perfecta. Cuando el valor del PRESS es igual al de la SD ( $r^2_{\text{cross}}=0$ ) la situación es equivalente a la que resultaría si no tuviésemos ningún modelo. Valores negativos de  $r^2_{\text{cross}}$  surgen de una acumulación de errores predictivos que es mayor que cuando nos encontramos en ausencia de modelo. Habitualmente se consideran modelos con una buena capacidad de predicción los que presentan  $r^2_{\text{cross}} \geq 0,6$ .

El método CoMFA proporciona, además de  $r^2_{\text{cross}}$ , el coeficiente de correlación convencional ( $r^2$ ), que es la medida de la bondad del modelo para reproducir los datos originales. Dicho valor se obtiene al derivar el modelo final mediante un análisis PLS no validado con un número de componentes igual al sugerido por el análisis PLS mediante validación cruzada.

### *c) Correlación con los datos de actividad: interpretación de los resultados*

La mayoría de los estudios QSAR finalizan con la obtención de una ecuación matemática que correlaciona la actividad biológica con los parámetros moleculares. Los miles de términos en un análisis CoMFA hacen que dicha expresión sea poco más o menos que intratable para usos posteriores. Sin embargo, el modelo CoMFA posee la virtud de que cada coeficiente se corresponde directamente con una localización en el espacio (Figura 3, página 47). Puesto que cada punto de la red posee un coeficiente, normalmente la ecuación QSAR resultante se visualiza gráficamente en forma de un mapa de contorno 3D. Resultan así poliedros de diferentes colores, que delinear volúmenes alrededor de los puntos de la red, cuyos coeficientes QSAR muestran asociaciones especialmente significativas entre diferencias en las intensidades de campo y la propiedad biológica. Para cada tipo de campo molecular se muestran dos niveles de contorno, que revelan las regiones de mayor asociación, las más favorables y las más desfavorables. Estos mapas de contorno son de gran utilidad a la hora de sugerir nuevos compuestos que posean elevada actividad.

### 3.3. SIMULACIÓN MOLECULAR

En la actualidad la química computacional<sup>163</sup> es un área multidisciplinar de la ciencia que traspasa las tradicionales barreras que separan la biología, la química, la física y las matemáticas. Puesto que su utilización puede ayudar a racionalizar observaciones experimentales, proporcionar información no accesible a la experimentación, e incluso hacer predicciones relativas al desarrollo de futuros experimentos, son cada vez más los científicos experimentales que la han aceptado e incorporado como un valioso complemento y guía para su investigación.

Uno de los aspectos de la teoría aplicada implica la simulación molecular a nivel atómico, lo que se conoce como modelización molecular. La expresión de modelización molecular está fuertemente asociada al término de química computacional. De hecho, una de las primeras definiciones que apareció en la literatura<sup>164</sup> considera la modelización molecular como la generación, manipulación y/o representación de las estructuras moleculares 3D y de sus propiedades fisicoquímicas mediante el empleo de técnicas computacionales.

Las técnicas de modelización molecular, introducidas gracias al rápido desarrollo producido en los últimos años en el *hardware* y *software* de gráficos moleculares, son cada vez más utilizadas como herramientas, tanto *a priori* con el fin de racionalizar el diseño de nuevos fármacos y poder predecir su actividad biológica, como *a posteriori* para profundizar en aspectos como afinidad, estereoespecificidad y eficacia<sup>165</sup>.

Las herramientas más utilizadas en la modelización molecular son:

a) Rayos X<sup>166</sup>: La información cristalográfica de moléculas orgánicas, disponible en bases de datos estructurales como la base de datos estructural de Cambridge

---

<sup>163</sup>Lipkowitz, K.B. *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 1829.

<sup>164</sup>Trost, B.M. *Science*, **1985**, 227, 908.

<sup>165</sup>Leach, A. *Molecular Modeling: Principles and Applications*. Longman: Edinburgh, 1996.

<sup>166</sup>Allen, F.H. *Acta Cryst.*, **1998**, Section A54, 758.

(*Cambridge Structural Database*)<sup>167</sup>, es muy valiosa ya que la conformación en estado sólido representa, al menos, una de las posibles conformaciones de mínima energía que una molécula puede adoptar.

b) *Geometrías estándar*<sup>168</sup>: El valor medio de datos obtenidos experimentalmente para las distancias geométricas es otro método para construir modelos moleculares.

c) *Distancias geométricas*<sup>169</sup>: El conocimiento de las distancias interatómicas de una estructura considerada puede ser muy útil en su modelización molecular. Esta información puede provenir de valores estándar de distancias y ángulos de enlace o de datos espectroscópicos de resonancia magnética nuclear (RMN), mediante la aplicación del efecto nuclear Overhauser (NOE).

d) *Métodos computacionales teóricos*<sup>170</sup>: La modelización molecular comprende dos tipos de métodos. Un primer grupo dirigido a racionalizar la relación entre la estructura molecular y las propiedades fisicoquímicas o la actividad biológica, en el que se incluirían los métodos QSAR antes mencionados, y un segundo tipo de métodos computacionales teóricos que engloban una amplia variedad de técnicas basadas en la teoría de la estructura electrónica o mecánica cuántica, y en la energía potencial clásica (minimización de energía-mecánica molecular-, método Monte Carlo y dinámica molecular). Ambos tipos de métodos, ya sean clásicos o

---

<sup>167</sup>(a) Maginn, S.J. *Scientific Data Management*, **1999**, 3, 24. (b) Allen, F.H.; Hoy, V.J. The Cambridge Structural Database System. In *International Tables for X-ray Crystallography*, Volumen F: Protein Crystallography, en prensa. (c) Allen, F.H.; Verdonk, M.L.; Cole, J.C. *Implications of Research Results from the Cambridge Structural Database for Macromolecular Crystallography and Biological Structure*. In *International Tables for X-ray Crystallography*, Volumen F: Protein Crystallography, en prensa.

<sup>168</sup>(a) Marriott, S.; Topsom, R.D. *J. Mol. Struct. (TEOCHEM)*, **1984**, 110, 337. (b) Allen, F.H.; Kennard, O.; Watson, D.G.; Brammer, L.; Orpen, A.G.; Taylor, R. *J. Chem. Soc., Perkin II*, S1, **1987**.

<sup>169</sup>(a) Braun, W. *Q. Rev. Biophys.*, **1987**, 19, 115. (b) Wüthrich, K. *Acc. Chem. Res.*, **1989**, 22, 36.

<sup>170</sup>(a) Schlick, T. Optimization Methods in Computational Chemistry. In *Reviews in Computational Chemistry*. Lipkowitz, K.B.; Boyd, D.B., Eds.; VCH Publishers, Inc.: New York, 1992, Vol. 3, pp 1-71. (b) van de Waterbeemd, H., Ed.; *Advances Computer-Assisted Techniques in Drug Discovery*. In *Methods and Principles in Medicinal Chemistry*. VCH: Weinheim, 1994. (b) van de Waterbeemd, H.; Testa, B; Folkers, G., Eds.; *Computer Assisted Lead Finding and Optimization*. VCH: Weinheim, 1997.

cuánticos, no son excluyentes y habitualmente se combinan para la resolución de problemas particulares.

### 3.3.1. Métodos de la mecánica cuántica

En la mecánica cuántica<sup>171</sup> la energía y otras propiedades moleculares relacionadas se obtienen resolviendo la ecuación de Schrödinger mediante distintas aproximaciones matemáticas, lo que da lugar a distintos métodos que se pueden agrupar en dos grandes grupos:

En primer lugar, y representando un mayor grado de simplificación matemática, los métodos semiempíricos emplean parámetros derivados de datos experimentales para la resolución aproximada de las funciones de onda. La disponibilidad de parámetros apropiados para el tipo de sistema químico en cuestión es por tanto de especial importancia para la bondad de los cálculos. Métodos de este tipo son la teoría extendida de Hückel (TEH) y los basados en despreciar total o parcialmente el solapamiento diatómico (CNDO, CNDO/2, INDO, NDDO, MINDO, MNDO, AM1 y PM3) implementados en programas como MOPAC, AMPAC, HYPERCHEM y GAUSSIAN.

En segundo lugar, los métodos *ab initio*, al contrario que la mecánica molecular y los métodos semiempíricos, no usan parámetros experimentales en el cálculo. Basándose en las leyes de la mecánica cuántica y en los valores de un pequeño número de constantes fisicoquímicas, calculan soluciones a la ecuación de Schrödinger mediante una serie de rigurosas aproximaciones matemáticas, a las que habitualmente se refiere como distintos niveles de teoría (HF, MP, QCISD, CIS, CC, BD). El nivel de aproximación teórica empleado en el cálculo va acompañado por una representación matemática de los orbitales moleculares en forma de un conjunto de las denominadas funciones de base (*basis set*), que pueden interpretarse como una restricción de cada electrón a una región particular del espacio, y por tanto, dan lugar a una aproximación distinta a la ecuación de Schrödinger dentro de un mismo nivel de aproximación teórica. Cuantas menos restricciones se impongan sobre los electrones la aproximación a los orbitales

---

<sup>171</sup>Foresman, J.B.; Frich, A.E. *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods: a Guide to using Gaussian*. Gaussian, Inc.: Pittsburgh, 1993.



moleculares exactos del sistema es más adecuada, pero requiere mayores recursos computacionales.

Los cálculos sempiempíricos son bastante asequibles en cuanto al tiempo de procesador que requieren y proporcionan descripciones cualitativas razonables de los sistemas moleculares y predicciones cuantitativas de energías y estructuras bastante adecuadas para sistemas en los que existe una buena parametrización. Por el contrario los métodos *ab initio*, más rigurosos, proporcionan predicciones cuantitativas de alta calidad para un amplio rango de sistemas, y si bien el tiempo de cálculo y consumo de la unidad central de procesamiento (*Central Processor Unit-CPU*-) es mayor, el desarrollo de programas modernos ha reducido bastante las limitaciones en cuanto al tamaño del sistema que pueden abordar. En este sentido, el GAUSSIAN es uno de los programas más potentes para el desarrollo de cálculos *ab initio*.

### 3.3.2. Métodos clásicos

La mecánica molecular usa las leyes de la física clásica para predecir la estructura y las propiedades moleculares. La filosofía del tratamiento clásico es la visualización de las moléculas como un conjunto de partículas (núcleos) sostenidas mediante la acción de cierto tipo de fuerzas elásticas o armónicas (electrones), que se definen mediante una función potencial de carácter empírico. Estos métodos requieren, por tanto, las coordenadas atómicas de la molécula y la descripción matemática de la energía de interacción entre todos los tipos de pares de átomos posibles, es decir un campo de fuerzas (*force field*), así como la definición de restricciones sobre el sistema usualmente en términos de tamaño, temperatura, volumen o presión. En los últimos 25 años se han desarrollado muchos campos de fuerzas, cada uno de los cuales se relaciona con un método diferente de la mecánica molecular y está habitualmente asociado con un paquete particular de *software*. Los componentes de un campo de fuerzas son:

- a) Un conjunto de ecuaciones que definen cómo varía la energía potencial de la molécula en cada una de las localizaciones de sus átomos.
- b) Una serie de átomos tipo (*atoms type*) que definen las características y comportamiento de cada uno de los elementos atómicos en un entorno químico específico. La descripción de un átomo tipo depende de su hibridación, su carga y el tipo de átomos a los que esté enlazado.

c) Una serie de parámetros que ajustan las ecuaciones y los átomos tipo a datos experimentales. Los valores usados en las ecuaciones para relacionar las características atómicas con las componentes de la energía y los datos estructurales como la distancia y ángulos de enlace se denominan constantes de fuerza.

La energía conformacional es computerizada mediante la suma de todas las interacciones de no-enlace sobre cada uno de los átomos de la molécula. Las contribuciones más importantes se deben a las repulsiones y atracciones de no-enlace, deformación de enlaces, formación de enlaces de hidrógeno, fuerzas de torsión e interacciones de carácter electrostático.

La mecánica molecular, especialmente adecuada para el tratamiento de macromoléculas, presenta como principal limitación el empleo no generalizable de un campo de fuerzas particular para cualquier sistema molecular, proporcionando su aplicación buenos resultados para un grupo limitado de moléculas con relación a aquéllas a partir de las cuales fue parametrizado. Por otro lado, el hecho de que no considere explícitamente los electrones implica que los métodos de la mecánica molecular no son útiles en el tratamiento de problemas químicos en los que los efectos electrónicos sean predominantes, como la ruptura y formación de un enlace o la predicción de propiedades moleculares dependientes de la interacción de orbitales moleculares. En este sentido, los métodos mecanocuánticos, a diferencia de los clásicos, presentan la ventaja de proporcionar, además de la conformación, información acerca de las propiedades electrónicas de la molécula considerada.

La dinámica molecular<sup>172</sup>, al simular el movimiento de los átomos de una molécula, ofrece una nueva posibilidad respecto a la mecánica cuántica y la mecánica molecular permitiendo el estudio de los cambios conformacionales de una molécula en un período de tiempo determinado en el rango de picosegundos a nanosegundos. Como método clásico, la energía potencial se describe también a través de campos de fuerzas como en la mecánica molecular, pero la descripción del movimiento de los átomos hace necesario considerar no sólo la energía potencial como en la mecánica cuántica o la mecánica clásica, sino también la energía cinética según las leyes de Newton. La ventaja principal de la dinámica

---

<sup>172</sup>Goodfellow, J.M., Ed.; *Molecular Dynamics. Applications in Molecular Biology. In Topics in Molecular and Structural Biology.* Macmillan Press Ltd.: London, 1991.

molecular es que aplicando suficiente energía cinética (a través del aumento de la temperatura del sistema) permite hacer un muestreo de un gran número de conformaciones, a lo largo de la superficie de energía potencial de la molécula. El mayor tiempo de CPU requerido por este tipo de métodos supone, sin embargo, su principal limitación.

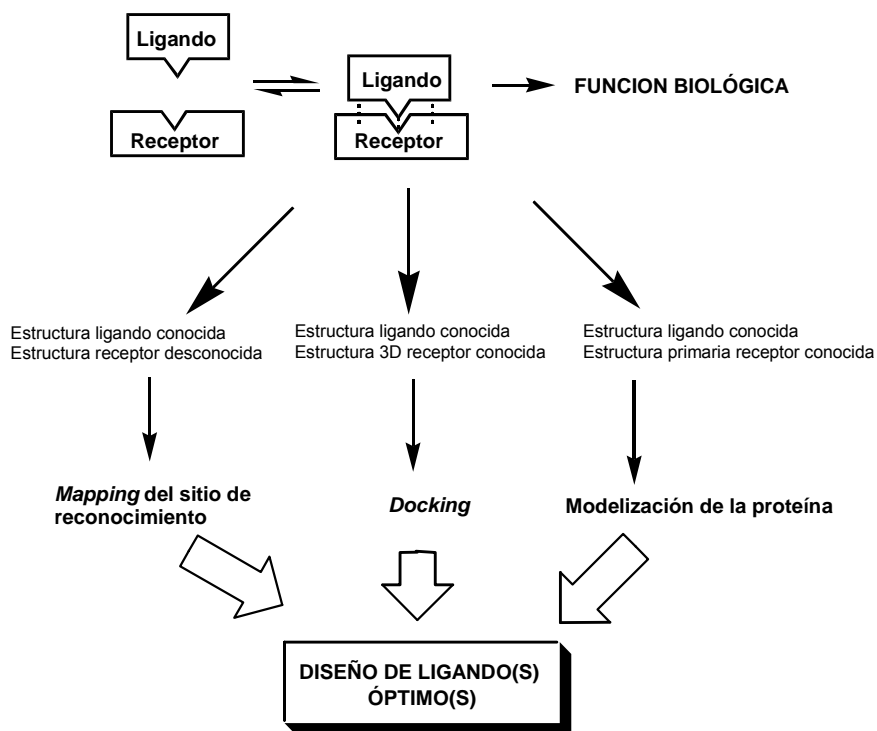
Los métodos de la mecánica y dinámica molecular están disponibles en programas como INSIGHT II, HYPERCHEM, QUANTA, SYBYL y ALCHEMY. Entre los programas de segunda generación para la realización de simulaciones moleculares destaca el AMBER (*Assisted Model Building and Energy Refinement*) especialmente adecuado para el estudio estructural de proteínas, ácidos nucleicos y moléculas orgánicas, que utiliza los potenciales desarrollados por Peter Kollman<sup>173</sup>.

### 3.3.3. Aplicación de la simulación computacional al diseño de fármacos: Estudio de la interacción ligando-receptor

La simulación computacional permite entender y predecir las propiedades conformacionales, dinámicas y termodinámicas de las macromoléculas, a partir del conocimiento de sus átomos constituyentes. En la actualidad, el continuo desarrollo de las técnicas computacionales y la comparación con datos experimentales han hecho posible un entendimiento más preciso y adecuado de los sistemas complejos. En este sentido, a la hora de aplicar la modelización molecular al diseño de fármacos, se deben considerar tres estrategias, dependiendo de la información estructural disponible (Figura 4).

---

<sup>173</sup>Cornell, W.D.; Cieplak, P.; Bayly, C.I.; Gould, I.R.; Merz Jr., K.M.; Ferguson, D.M.; Spellmeyer, D.C.; Fox, T.; Caldwell, J.W.; Kollman, P.A. *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 5179.



**Figura 4.** Estrategias a seguir en la modelización molecular aplicada al diseño de fármacos.

1. Si no se conoce la naturaleza del receptor, la aproximación más apropiada es el diseño indirecto a partir del estudio de ligandos conocidos siendo la técnica más empleada el *mapping*<sup>174</sup> del sitio de reconocimiento. La aplicación de esta técnica al diseño de nuevos antagonistas 5-HT<sub>4</sub> por nuestro grupo de investigación se detalla en el apartado 3.4 de esta memoria.

2. Si se conoce la estructura primaria o secuencia de aminoácidos del receptor, se puede llevar a cabo un estudio de modelización del receptor<sup>175</sup>. Como punto de partida se considera que la secuencia de aminoácidos determina la conformación 3D de la proteína. La predicción de dicha estructura 3D puede realizarse mediante métodos deductivos basados en

<sup>174</sup>Humblet, C.; Marshall, G.R. *Annu. Rep. Med. Chem.*, **1980**, 15, 267.

<sup>175</sup>Kolinski, A.; Skolnick, J. *Proteins: Struct., Funct. Gen.*, **1994**, 18, 338.

principios fisicoquímicos generales, o bien a través de aproximaciones inductivas basadas en el estudio de estructuras proteicas conocidas, incluyendo la modelización por homología. Efectivamente, se ha observado que secuencias de proteínas homólogas, relacionadas por un proceso de evolución natural, poseen estructuras 3D homólogas. Puesto que el plegamiento de una cadena extensa es un proceso dinámico, la aproximación física más realista al problema del plegamiento 3D de las proteínas es la simulación del movimiento de todos los átomos de la cadena proteica mediante técnicas de dinámica molecular. Así, a partir de la secuencia de aminoácidos, y utilizando reglas convencionales de plegamiento de proteínas y modelización por homología<sup>176</sup> respecto a otras proteínas de estructura 3D conocida, es posible derivar un modelo 3D del receptor. La superposición adecuada de los aminoácidos de las secuencias homólogas (sin una divergencia superior al 40%) es esencial para la utilidad de dicho modelo.

La aplicación de las técnicas de mecánica y dinámica molecular permite no sólo refinar este tipo de modelos, sino también llevar a cabo la simulación del reconocimiento de ligandos con afinidad por el modelo 3D del receptor, establecer una hipótesis de su interacción con el sitio de unión y diseñar nuevos ligandos con propiedades farmacológicas predeterminadas. Un análisis más detallado de la modelización de la familia de receptores acoplados a proteínas G, a la que pertenece el receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub>, se desarrolla en el apartado siguiente, 3.3.4.

3. Si se conoce la estructura 3D de la proteína-receptor o incluso del complejo ligando-receptor, se puede aplicar la aproximación de la adaptación al receptor (*docking*<sup>177</sup>). Esta consiste en introducir diferentes ligandos conocidos en el sitio de reconocimiento del receptor, y posteriormente diseñar “a medida” nuevos ligandos potenciales. Así, el refinamiento de las estructuras 3D de proteínas o DNA determinadas por difracción de rayos X (estructura cristalográfica) o RMN (estructura en disolución), la predicción de la conformación del complejo ligando-receptor a

---

<sup>176</sup>(a) Sali, A.; Overington, J.P.; Johnson, M.S.; Blundell, T. *Trends Biol. Sci.*, **1990**, *15*, 235. (b) Hubbard, T.J.P.; Lesk, A.M. Modelling Protein Structures. In *Computer Modelling in Molecular Biology*. Goodfellow, J.M. Ed.; VCH: Weinheim, 1995.

<sup>177</sup>(a) Beddell, C.R. *Chem. Soc. Rev.*, **1984**, *13*, 279. (b) Kollman, P.A. *Curr. Opt. Struct. Biol.*, **1994**, *4*, 240.

partir del conocimiento de la estructura de moléculas no complejadas, o la simulación de los efectos que una modificación química pueda tener en la estructura molecular son las principales aplicaciones de los algoritmos de la simulación molecular (minimización energética y dinámica molecular) en este campo.

La aplicación de técnicas de dinámica molecular para estimar entalpías y energías libres, así como propiedades promedio de sistemas en equilibrio, constituye una de las más excitantes aportaciones del campo de la simulación computacional<sup>178</sup>. En la actualidad, el cálculo de diferencias de energía libre entre sistemas estrechamente relacionados ha desplazado el interés inicial en la determinación del valor absoluto correspondiente a un sistema molecular concreto. Este hecho, asociado a la mejora de las herramientas y equipos informáticos para el cálculo, ha hecho posible la aplicación de este tipo de técnicas para el tratamiento teórico de aspectos relacionados con sistemas macromoleculares de relevancia<sup>179</sup> hasta entonces inexplorados, como el estudio de la estabilidad conformacional de proteínas y DNA<sup>180</sup>, o el diseño racional de experimentos de biología molecular e ingeniería de proteínas mediante la simulación del efecto de la mutación de un aminoácido en la estructura de proteínas y/o en el comportamiento catalítico de las enzimas. Asimismo, la aplicación de los principios de la termodinámica estadística a la simulación computacional del proceso de interacción fármaco-proteína o inhibidor-enzima ofrece la posibilidad de predecir la actividad biológica antes de llevar a cabo la síntesis de los nuevos análogos, lo que permite seleccionar de forma racional las nuevas moléculas a sintetizar<sup>181</sup>.

---

<sup>178</sup>(a) Beveridge, D.L.; Dicapua, F.M. Free Energy Via Molecular Simulation: a Primer. In *Computer Simulation of Biomolecular Systems*. van Gunsteren, W.F.; Weiner, P., Eds.; ESCOM: Leiden, 1989, pp 1-26. (b) Beveridge, D.L.; Dicapua, F.M. *Annu. Rev. Biophys. Chem.*, **1989**, *18*, 431. (c) van Gunsteren, W.F. Methods for Calculations of Free Energies and Binding Constants: Successes and Problems. In *Computer Simulation of Biomolecular Systems*. van Gunsteren, W.F.; Weiner, P., Eds.; ESCOM: Leiden, 1989, pp 27-59.

<sup>179</sup>Wong, C.F.; McCammon, J.A. *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, *108*, 3830.

<sup>180</sup>Williams, M.A.; Saqi, M.A.S.; Goodfellow, J.M. Applications of Free Energy Calculations. In *Molecular Dynamics. Applications in Molecular Biology. Topics in Molecular and Structural Biology*. Goodfellow, J.M., Ed.; Macmillan Press Ltd.: London, 1991, pp 179-195.

<sup>181</sup>(a) Hol, W.G.J. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1986**, *25*, 767. (b) McCammon, J.A. *Science*, **1987**, *238*, 486.

En el cálculo de energías libres basado en la aplicación de técnicas computacionales, el método de perturbación de la energía libre es el más utilizado y está implementado en la mayoría de paquetes para simulaciones de biología molecular, como AMBER, CHARMM, GROMOS o BOSS.

El método de perturbación de la energía libre se puede ilustrar considerando la diferencia en la energía libre de solvatación de dos solutos. Como sistema de referencia se escoge un soluto y el disolvente que le rodea, y se generan las configuraciones de equilibrio de dicho sistema. Se calcula la energía de cada una de estas configuraciones iniciales ( $E_0$ ). Posteriormente se sustituye en cada una de estas configuraciones el soluto de referencia por el que se quiere comparar, y se recalcula la energía ( $E_1$ ). La obtención de resultados adecuados exige que los dos solutos sean bastante parecidos. La diferencia de energía libre de solvatación entre ambos solutos vendrá dada por la ecuación:

$$\Delta G = -kT \ln \langle \exp[(E_0 - E_1)/kT] \rangle_0 \quad [4]$$

siendo  $k$  la constante de distribución de Boltzmann y  $T$  la temperatura. Con  $\langle \rangle_0$  se indica el promedio de todas las configuraciones del estado de referencia.

Si el estado de referencia y el estado '*mutado*' al que se quiere llegar difieren significativamente, el sistema se transforma progresivamente desde el estado inicial al final en una serie de pasos. Así, varios estados intermedios híbridos, no reales físicamente, se crean con la ayuda de un parámetro de acoplamiento  $\lambda$ , a través del cual se modifican longitudes de enlace, parámetros asociados con interacciones no enlazantes y cargas parciales en los átomos de soluto, desde el estado inicial al final. El cambio de energía libre total se calcula como la suma de todas las diferencias de energías libres ( $\Delta G_\lambda$ ) asociadas con cada una de estas ventanas termodinámicas entre los dos estados extremos:

$$\Delta G = \sum_{\lambda=0}^{\lambda=1} \Delta G_{\lambda} \quad [5]$$

Un método alternativo es la integración termodinámica, también habitualmente implementado en la mayoría de los programas de dinámica molecular. En este caso, el número de pasos se aumenta drásticamente de forma que se puede aproximar el cálculo de la diferencia de energía libre mediante la expresión:

$$\Delta G = \int_0^1 \langle \Delta E(q^N) \rangle_{\lambda} d\lambda \quad [6]$$

donde  $E(q^N)$  es la energía del sistema en una configuración específica  $q^N$ , y  $\Delta E(q^N)$  la diferencia de energía entre los sucesivos estados  $\lambda$ , realizándose el promedio respecto a la distribución de probabilidad del estado  $\lambda$ . La integración termodinámica puede llevarse a cabo en la propia simulación<sup>182</sup>, mediante la realización de cambios infinitesimales del parámetro de acoplamiento  $\lambda$  en cada paso.

La aplicación de estas técnicas computacionales es una estrategia cada vez más habitual en el diseño de nuevos fármacos. En el proceso de interacción ligando-receptor, la constante de afinidad receptoral de un ligando dado se puede expresar como:

$$K_f = \exp(-\Delta G/kT) \quad [7]$$

donde  $\Delta G$  es la diferencia de energía libre entre la proteína y el fármaco completamente separados y formando el complejo. El cambio en la energía libre asociado a la formación de dicho complejo podría estimarse como la suma de los cambios de energía libre a lo largo del proceso. Así, mediante integración termodinámica o el método de perturbación de la energía libre, se puede simular la aproximación de las dos moléculas muy lentamente y en pasos pequeños. Sin embargo, en estos cambios estructurales tan notables, para obtener resultados adecuados se necesita un gran número de pasos, que resulta prohibitivo desde el punto de vista del tiempo requerido para el cálculo. Además, necesitaríamos tener

<sup>182</sup>Berendsen, H.J.C.; Postma, J.P.M.; van Gunsteren, W.F. *Molecular Dynamics and Protein Structure*. Hermans, J. Ed.; Polycrystal Book Service: Illinois, 1985, pp 43-46.



un conocimiento más detallado de los cambios estructurales que tienen lugar en el receptor cuando se produce la unión del ligando.

En la práctica, en el diseño racional de nuevos fármacos no es necesario conocer la energía libre asociada con el proceso de interacción de cada fármaco con el receptor, sino que resulta mucho más cómodo poder estimar cuál de las posibles alternativas de síntesis puede conducir a una mayor afinidad biológica. En este sentido, tiene mucho más interés calcular la diferencia de energía libre asociada al proceso de formación del complejo ligando-receptor en términos relativos, es decir, comparando dos fármacos similares ( $\Delta\Delta G$ ). Esta diferencia entre las energías libres de interacción ligando-receptor de dos ligandos dados ( $\Delta G_2 - \Delta G_1$ ) está directamente relacionada con los valores de sus constantes de afinidad [ $\Delta\Delta G_{\text{exp}} = -RT \ln [K_i(\text{ligando}_1) / K_i(\text{ligando}_2)]$ ].

El valor de  $\Delta\Delta G$  puede ser calculado a través de un camino computacional que aunque no tiene sentido físico real, es mucho más sencillo: el conocido como ciclo de Tembe-McCammon (Figura 5)<sup>183</sup>. Podemos asumir además que, para ligandos parecidos, cualquier cambio conformacional en la proteína estará localizado en el centro activo, obviando así consideraciones a mayor escala. El cambio de energía buscado viene dado por  $\Delta G_2 - \Delta G_1$ , lo cual, teniendo en cuenta el ciclo termodinámico de la Figura 5, es equivalente a  $\Delta G_4 - \Delta G_3$ .

El cálculo según este ciclo consta de dos etapas. En la primera un fármaco aislado en disolución se transforma progresivamente en el otro, calculándose mediante integración termodinámica o perturbación de la energía libre la diferencia de energía libre de hidratación entre ambos ( $\Delta G_3$ ). En segundo lugar, se aplica la misma metodología al cálculo de la diferencia de energía libre correspondiente a la misma modificación pero con el fármaco unido al modelo de receptor ( $\Delta G_4$ ).  $\Delta\Delta G$  se puede inferir, por tanto, restando la diferencia de energía libre asociada con el proceso dinámico de pasar del ligando<sub>1</sub> al ligando<sub>2</sub> en una caja de agua ( $\Delta G_3$ ) a la diferencia de energía libre asociada a dicha transición en el modelo de receptor ( $\Delta G_4$ ), como se indica en la Figura 5.

<sup>183</sup>Tembe, B.L.; McCammon, A.J. *Comput. Chem.*, **1984**, 8, 281.

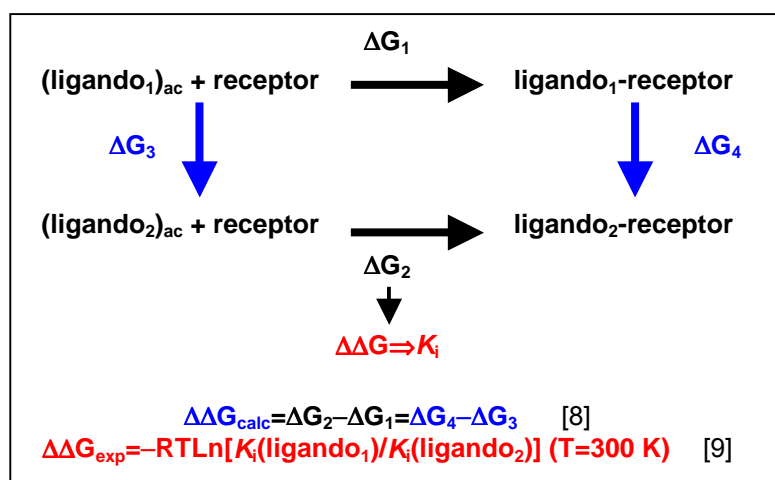


Figura 5. Ciclo termodinámico de Tembe-McCammon para el cálculo de  $\Delta\Delta G$ .

Como en todas las simulaciones biomoleculares, las técnicas que permiten la estimación de energías libres emplean un campo de fuerzas adecuado para describir el soluto y el disolvente. En este sentido, los campos de fuerzas más usados en proteínas y moléculas orgánicas son los parámetros OPLS<sup>184</sup> y los del programa AMBER<sup>185</sup>. Entre los modelos para disolventes acuosos destacan SPC, TIP3P<sup>186</sup> y TIP4P<sup>187</sup>.

### 3.3.4. Modelos moleculares de receptores acoplados a proteínas G (GPCRs)

Los receptores GPCRs pertenecen a una extensa familia de proteínas de membrana implicadas en la transmisión de señales extracelulares a través de neurotransmisores, péptidos o glicoproteínas con la mediación de la proteína G unida en el interior de la célula<sup>188</sup>.

<sup>184</sup>Jorgensen, W.L.; Tirado-Rives, J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, *110*, 1657.

<sup>185</sup>Véase nota 173.

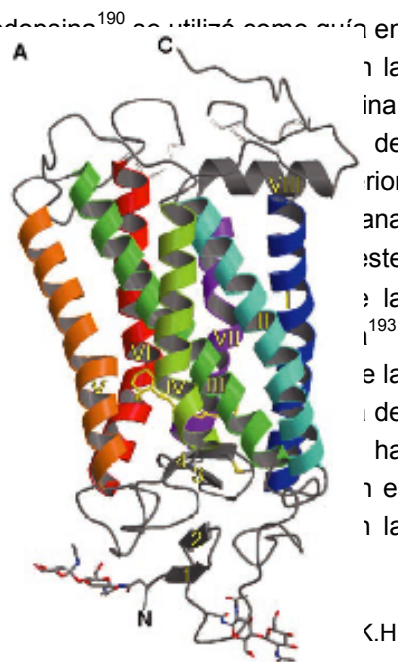
<sup>186</sup>Berendsen, H.J.C.; Postma, J.P.M.; van Gunsteren, W.F.; Hermans, J. Interaction Models for Water in Relation to Protein Hydration. In *Intermolecular Forces*. Pullman, B., Ed.; Reidel: Dordrecht, 1981, pp 331-342.

<sup>187</sup>Jorgensen, W.L.; Chandrasekhar, J.; Madura, J.D.; Impey, R.W.; Klein, M.L. *J. Chem. Phys.*, **1983**, *79*, 926.

<sup>188</sup>Ji, T.H.; Grossmann, M.; Ji, I. *J. Biol. Chem.*, **1998**, *273*, 17299.

La dificultad de obtener la estructura cristalina 3D de alta resolución de la familia de GPCRs, a la cual el receptor 5-HT<sub>4</sub> pertenece, explica el interés de la construcción de modelos computacionales de este sistema de receptores, a partir de los cuales sea posible inferir tanto la estructura como el mecanismo de acción del receptor<sup>189</sup>. Está aceptado que los GPCRs contienen un dominio amino terminal extracelular, un dominio carboxilo terminal citoplasmático y siete dominios transmembrana  $\alpha$ -helicoidales antiparalelos conectados por bucles hidrofílicos. El considerable número de patrones de secuencia de aminoácidos conservados en los segmentos transmembrana de la rodopsina (RHO) con relación a otros miembros de la familia de los GPCRs, incluyendo la familia de receptores de neurotransmisores, sugiere que también existe una estructura conservada en los dominios transmembrana.

Inicialmente, la estructura 3D de la bacteriorrodopsina<sup>190</sup> se utilizó como guía en la modelización de la estructura terciaria de la rodopsina<sup>191</sup>. Sin embargo, la proyección a una resolución de 9 Å, mostró que las hélices se sitúan en la bacteria de criomicroscopía electrónica en cristales bidimensionales, lo que permitió determinar por primera vez la inclinación y el sentido, las coordenadas de los carbonos alfa de la RHO<sup>194</sup>, publicadas de acuerdo con los modelos que representaban hasta hace poco la aproximación de la RHO. En Agosto de 2000 se ha publicado la estructura de la RHO bovina<sup>195</sup>, con 2,8 Å de resolución (lo que proporciona la disposición exacta de las hélices en el interior de la membrana celular, constituyendo



<sup>189</sup>Ballesteros, J.A.; Weinstein, H. *Methods Neuro.*

<sup>190</sup>Henderson, R.; Baldwin, J.M.; Ceska, T.A.; Zerlanger, K.; Downing, P.H. *J. Mol. Biol.*, **1990**, 213, 899.

<sup>191</sup>Hibert, M.F.; Trumpp-Kallmeyer, S.; Bruinvels, A.; Hoflack, J. *Mol. Pharmacol.*, **1991**, 40, 8.

<sup>192</sup>Schertler, G.F.X.; Villa, C.; Henderson, R. *Nature*, **1997**, 389, 203.

<sup>193</sup>Unger, V.M.; Hargrave, P.A.; Baldwin, J.M.; Schertler, G.F.X. *Nature*, **1997**, 389, 203.

<sup>194</sup>Baldwin, J.M.; Schertler, G.F.X.; Unger, V.M. *J. Mol. Biol.*, **1997**, 272, 144.

<sup>195</sup>Palczewski, K.; Kumasaka, T.; Hori, T.; Behnke, C.A.; Motoshima, H.; Fox, B.A.; Le Trong, I.; Teller, D.C.; Okada, T.; Stenkamp, R.E.; Yamamoto, M.; Miyano, M. *Science*, **2000**, 289, 739.

**Figura 6.** Estructura cristalográfica de la RHO bovina a una resolución de 2,8 Å.

modelización de la estructura 3D de la familia de GPCRs estructuralmente relacionados, si bien la homología estructural entre la RHO y otros GPCRs probablemente no se extiende al dominio extracelular.

Existen evidencias directas<sup>196</sup> de la existencia de los GPCRs en equilibrio entre un estado inactivo y otro activo. En ausencia de un ligando extracelular, el estado inactivo es el que predomina, mientras que los agonistas se unen a la forma activa del receptor con mayor afinidad que a la inactiva, desplazando el equilibrio hacia su estado activo. Se ha sugerido que la orientación de la Arg<sup>3.50</sup> (nomenclatura de Ballesteros y Weinstein<sup>197</sup>), situada en el motivo conservado denominado E/DRY de la transmembrana 3 (TMH 3), hacia la Asn<sup>1.50</sup>, Asp<sup>2.50</sup>, Asn<sup>7.49</sup> y Tyr<sup>7.53</sup>, o hacia el citosol, junto con la desprotonación o protonación del Asp<sup>3.49</sup> de la secuencia E/DRY, están relacionadas con la existencia del receptor en su forma activa o inactiva<sup>198</sup>. Sin embargo, la estructura 3D de la forma activa del receptor aún no se conoce ni siquiera a un nivel de baja resolución.

Las simulaciones de dinámica molecular, a partir de las secuencias de aminoácidos de los receptores endógenos y receptores mutados constitutivamente activos, permiten la construcción de modelos teóricos 3D de la estructura del receptor tanto en su forma inactiva como en la activa, respectivamente. Asimismo, la modificación de determinados aminoácidos de la secuencia de los GPCRs mediante métodos de biología molecular proporciona una interesante información acerca de los residuos claves para la unión, constituyendo a menudo un punto de partida ineludible para la construcción de los modelos moleculares de los complejos ligando-receptor<sup>199</sup>. Así, experimentos de mutagénesis llevados a cabo en GPCRs de aminas neurotransmisoras<sup>200</sup> han puesto de manifiesto la importancia del residuo conservado de Asp<sup>3.32</sup>, en la TMH 3, en la unión ligando-

---

<sup>196</sup>(a) Samama, P.; Cotecchia, S.; Costa, T.; Lefkowitz, R.J. *J. Biol. Chem.*, **1993**, *268*, 4625. (b) Bond, R.A.; Leff, P.; Johnson, T.D.; Milano, C.A.; Rockman, H.A.; Mcminn, T.R.; Apparsundaram, S.; Hyeck, M.F.; Kenakin, T.P.; Allen, L.F.; Lefkowitz, R.J. *Nature*, **1995**, *374*, 272.

<sup>197</sup>Véase nota 189.

<sup>198</sup>(a) Scheer, A.; Fanelli, F.; Costa, T.; De Benedetti, P.G.; Cotecchia, S. *EMBO J.*, **1996**, *15*, 3566. (b) Scheer, A.; Fanelli, F.; Costa, T.; De Benedetti, P.G.; Cotecchia, S. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1997**, *94*, 808.

<sup>199</sup>Savarese, T.; Fraser, C. *Biochem. J.*, **1992**, *283*, 1.

<sup>200</sup>van Rhee, A.M.; Jacobson, K.A. *Drug Dev. Res.*, **1996**, *37*, 1.

receptor mediante la formación de un par iónico<sup>201</sup> entre el carboxilato y el nitrógeno básico protonado del ligando. Asimismo, se han identificado series de residuos conservados de Ser o Thr (5.42, 5.43 y 5.46)<sup>200</sup>, en la TMH 5, que actúan como sitios de formación de enlace de hidrógeno en la unión de numerosos neurotransmisores que poseen grupos hidroxilo en su estructura química. Recientemente, se ha comprobado que estos residuos de Ser de la TMH 5 no sólo proporcionan un punto de interacción en la unión de agonistas al receptor, sino que están implicados también en el control del equilibrio conformacional del receptor entre la forma activa y la inactiva<sup>202</sup>. Adicionalmente, la estructura de rayos X de la RHO ha confirmado que, como en el modelo de Baldwin, la TMH 3 central está próxima a la TMH 5 en su extremo citoplasmático, estando bastante alejadas unas de otras en las proximidades de sus extremos extracelulares. Es en esta cara extracelular donde se esconde el sitio de unión de las pequeñas moléculas neurotransmisoras, entre el Asp<sup>3.32</sup> y los residuos de Ser/Thr<sup>5.42, 5.43, 5.46</sup> implicados en la unión.

---

<sup>201</sup>Almaula, N.; Ebersole, B.J.; Zhang, D.; Weinstein, H.; Sealfon, S.C. *J. Biol. Chem.*, **1996**, *271*, 14672.

<sup>202</sup>Ambrosio, C.; Molinari, P.; Cotecchia, S.; Costa, T. *Mol. Pharmacol.*, **2000**, *57*, 198.

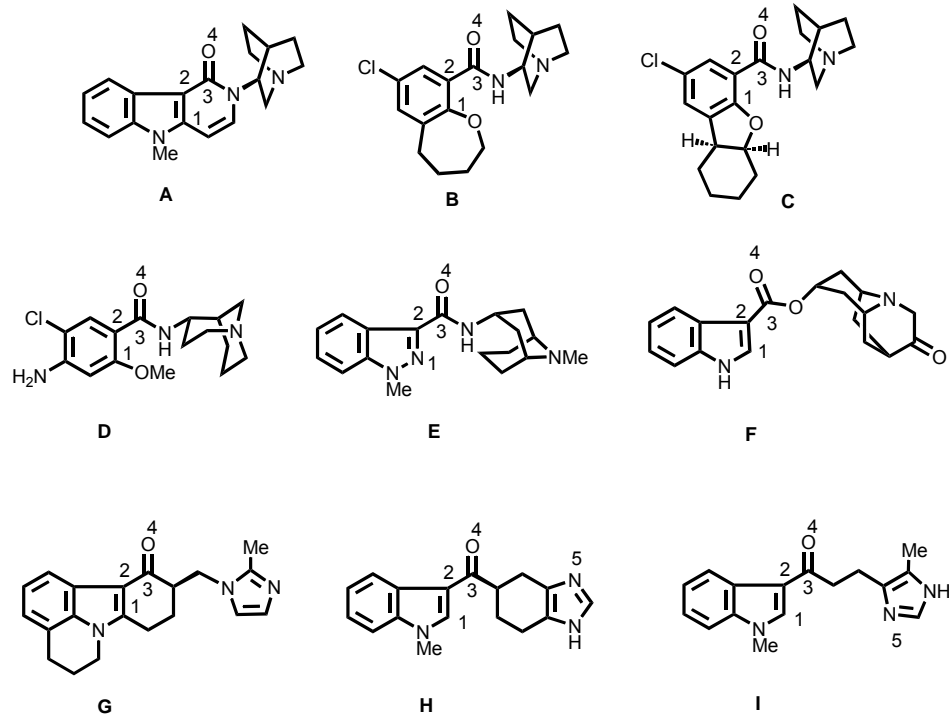
### 3.4. DISEÑO DE NUEVOS ANTAGONISTAS DEL RECEPTOR 5-HT<sub>4</sub>

Tradicionalmente, el diseño de ligandos selectivos del receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub> presentaba dos problemas fundamentales: por un lado, la inexistencia de un modelo de farmacóforo, y por otro la falta de selectividad debida principalmente a la afinidad por el subtipo 5-HT<sub>3</sub>. En este sentido, en nuestro grupo de investigación<sup>203</sup> se llevó a cabo un estudio comparativo de los modelos 3D de ambas cavidades receptoriales, realizando el *mapping* de cada uno de estos receptores mediante la técnica de aproximación al análogo activo (AAA), con el fin de evaluar de forma precisa las diferencias estéricas entre sus cavidades receptoriales y diseñar ligandos con una mayor selectividad 5-HT<sub>4</sub>/5-HT<sub>3</sub>.

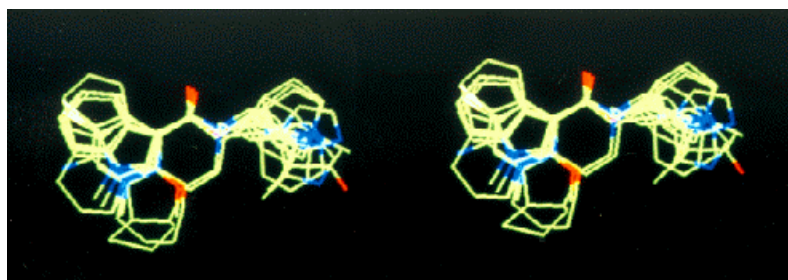
Para ello, se barrió un campo estructural lo más amplio posible, seleccionando de la literatura análogos activos e inactivos. Tras el análisis conformacional de nueve antagonistas 5-HT<sub>3</sub> ( $pK_i \geq 8,9$ ) (Figura 7), la superposición flexible de sus conformaciones de mínima energía permitió la determinación de la conformación farmacofórica 5-HT<sub>3</sub> para cada molécula. Para todas las moléculas estudiadas fue posible encontrar conformaciones estables ( $\Delta E \leq 8,7 \text{ Kcal.mol}^{-1}$ ) en las que los elementos estructurales comunes ocupan la misma región del espacio (Desviación Cuadrática Media-*Root Mean Square-RMS*  $\leq 0,4$ ) (Figura 8), y definir así un modelo de farmacóforo para los antagonistas 5-HT<sub>3</sub>, el cual consta de: una estructura aromática, un grupo carbonilo coplanar y un nitrógeno básico, situados a las distancias que se indican en la Figura 9. El nitrógeno se encontraría casi en el plano del anillo aromático a una altura de 0,3-1,9 Å.

---

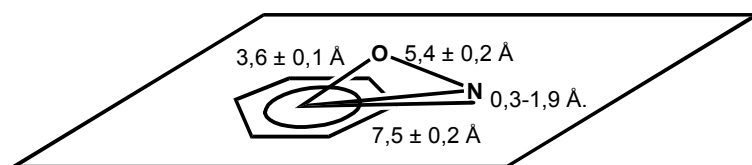
<sup>203</sup>Véase nota 27.



**Figura 7.** Antagonistas utilizados en la determinación del volumen excluido del receptor 5-HT<sub>3</sub>.

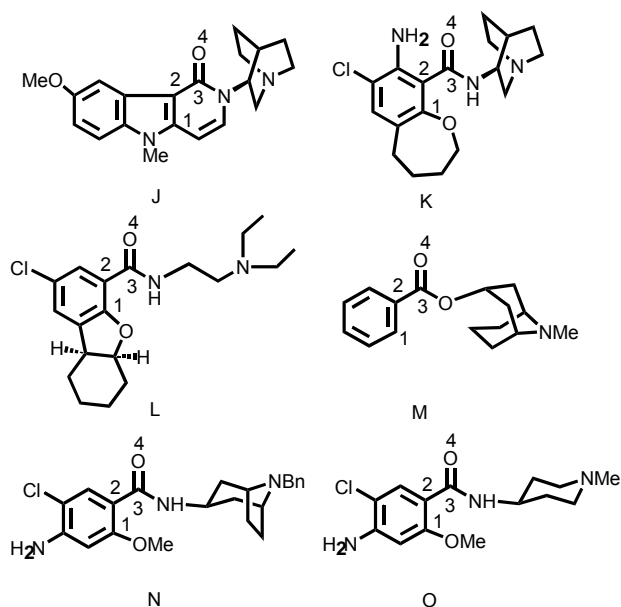


**Figura 8.** Estereorrepresentación de los antagonistas 5-HT<sub>3</sub> superpuestos en su conformación farmacofórica.



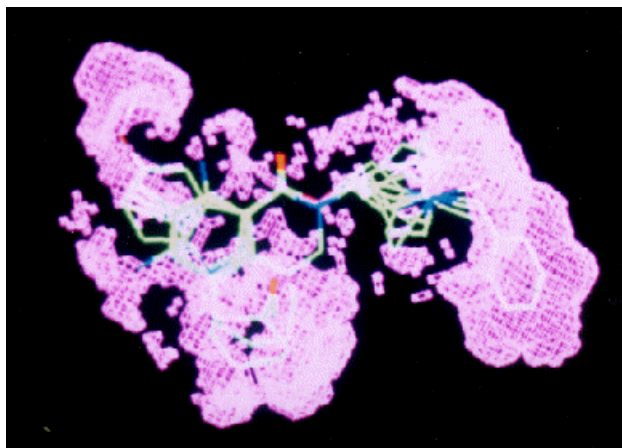
**Figura 9.** Modelo de farmacóforo propuesto para los antagonistas del receptor 5-HT<sub>3</sub>.

A continuación, a partir del volumen de van der Waals de la hipermolécula activa representada en la Figura 8, se calculó el volumen excluido, que representa la zona accesible del receptor para la interacción con sus ligandos. Tras la superposición de seis análogos inactivos en el receptor 5-HT<sub>3</sub> ( $pK_i < 7,0$ ) (Figura 10), se determinó el volumen incluido del receptor constituido tanto por zonas accesibles como no accesibles. El volumen esencial, que representa las regiones ocupadas por el receptor y por tanto inaccesibles a los ligandos, se obtuvo sustrayendo del volumen incluido el volumen común con el excluido. El volumen esencial del receptor (Figura 11) define las regiones no toleradas estéricamente por el receptor 5-HT<sub>3</sub>, determinadas en nuestro caso por los volúmenes de los grupos metoxilo y bencilo de los análogos J y N, respectivamente.



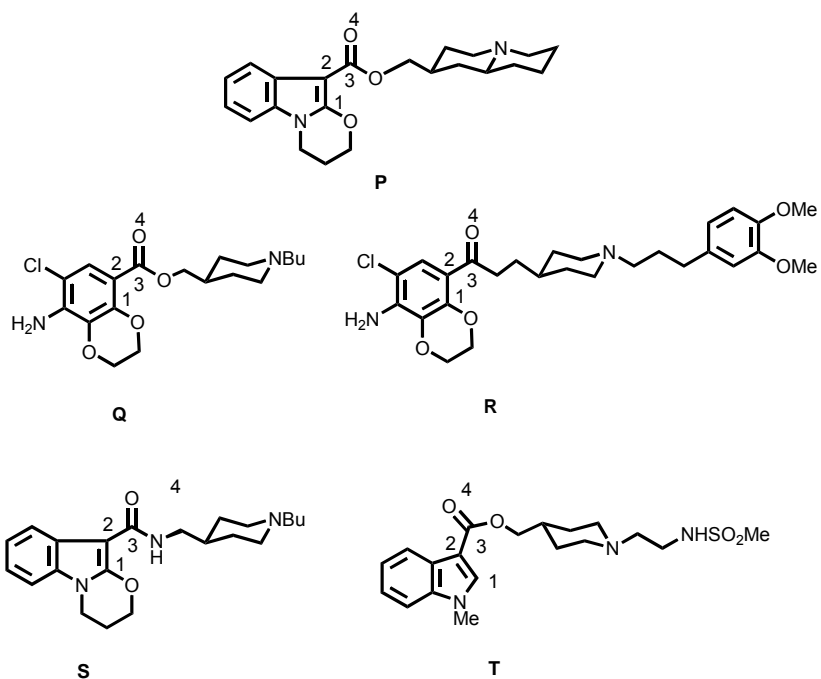
**Figura 10.** Análogos inactivos utilizados en la determinación del volumen incluido del receptor 5-HT<sub>3</sub>.





**Figura 11.** Volumen esencial del receptor 5-HT<sub>3</sub>. Superposición de análogos inactivos. Los volúmenes definidos por los grupos metoxilo y bencilo de los compuestos J y N, respectivamente, representan las principales regiones no accesibles para la interacción con el receptor.

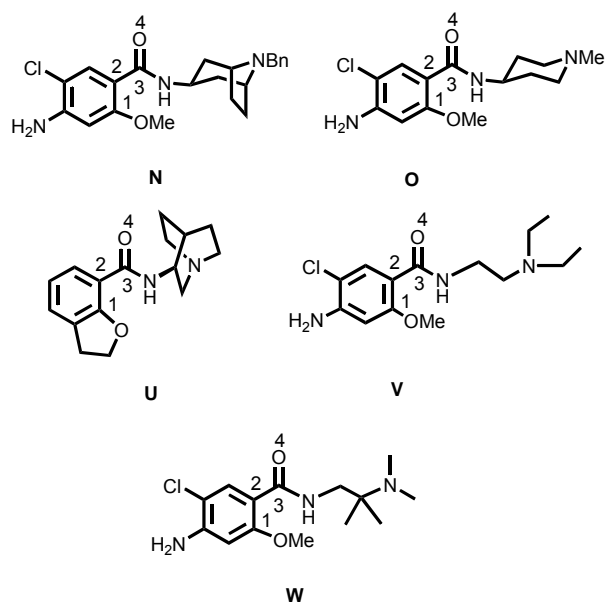
Siguiendo la misma metodología, la superposición flexible ( $\Delta E \leq 8,06 \text{ Kcal.mol}^{-1}$ ;  $\text{RMS} \leq 0,07$ ) de cinco antagonistas 5-HT<sub>4</sub> ( $pK_i \geq 9,3$ ) (Figura 12) nos ha llevado a la determinación de la conformación farmacofórica de los ligandos 5-HT<sub>4</sub>, cuya estereosuperposición se representa en la Figura 13. Sin embargo, el volumen definido por la hipermolécula resultante de la superposición de cinco análogos inactivos en el receptor 5-HT<sub>4</sub> ( $pK_i \leq 6,6$ ) (Figura 14) resultó ser inferior al volumen excluido de superposición de ligandos activos, como se observa en la Figura 15. En este caso, la inactividad podría provenir de la no ocupación de la parte básica de la molécula de un hipotético bolsillo hidrofóbico del receptor, el cual estaría ocupado por los sustituyentes voluminosos del nitrógeno básico de los ligandos activos.



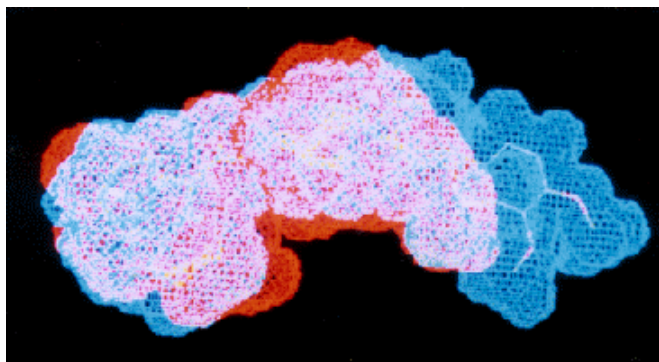
**Figura 12.** Antagonistas utilizados en la determinación del volumen excluido del receptor 5-HT<sub>4</sub>.



**Figura 13.** Estereorrepresentación de los antagonistas 5-HT<sub>4</sub> superpuestos en su conformación farmacofórica.



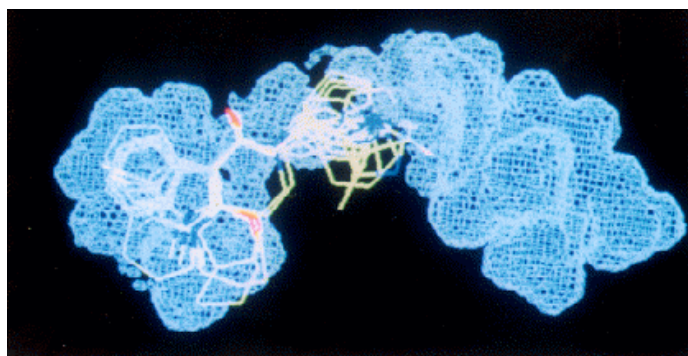
**Figura 14.** Compuestos utilizados en la determinación del volumen ocupado por los análogos inactivos del receptor 5-HT<sub>4</sub>.



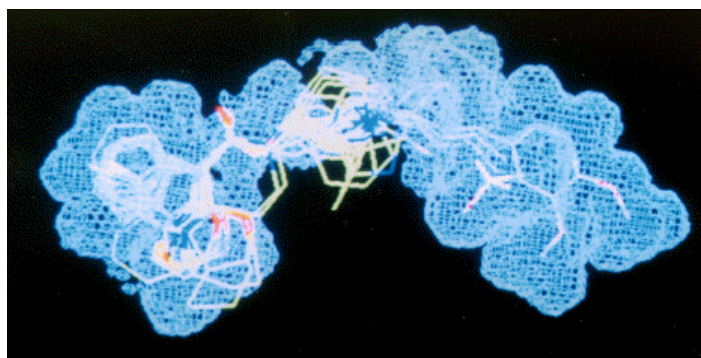
**Figura 15.** Volumen excluido (azul) y volumen de superposición de análogos inactivos (rojo) del receptor 5-HT<sub>4</sub>. Superposición de ligandos activos.

Por último, en la comparación de los volúmenes excluidos de ambos receptores serotoninérgicos, se observa que los requerimientos estéricos para la subunidad aromática son muy semejantes. Sin embargo, la sustracción de los elementos

comunes, denominada "volumen diferencia" (Figuras 16 y 17), muestra que el rasgo diferencial más importante se encuentra en la subunidad básica de la molécula, en particular, en la zona ocupada por el sustituyente del nitrógeno básico. Así, mientras el receptor 5-HT<sub>3</sub> tan sólo es capaz de alojar grupos de pequeño tamaño en el nitrógeno básico, el 5-HT<sub>4</sub>, por el contrario, requiere sustituyentes más voluminosos. Asimismo, el farmacóforo de este receptor parece situar dicho nitrógeno a una distancia de aproximadamente 8,0 Å respecto del centro del anillo aromático, siendo esta distancia de aproximadamente 7,5 Å en el modelo del 5-HT<sub>3</sub>.

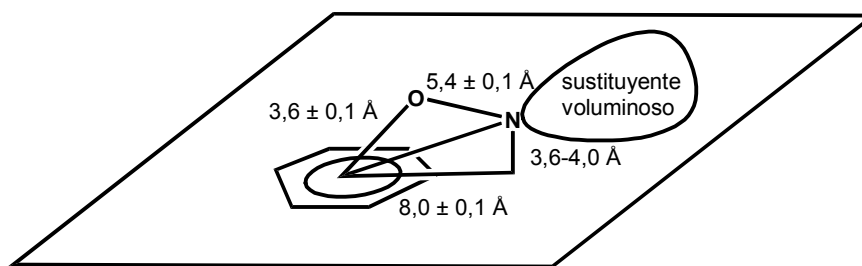


**Figura 16.** "Volumen diferencia" de los volúmenes excluidos de los receptores 5-HT<sub>3</sub> y 5-HT<sub>4</sub>. Superposición de ligandos activos del receptor 5-HT<sub>3</sub>.



**Figura 17.** "Volumen diferencia" de los volúmenes excluidos de los receptores 5-HT<sub>3</sub> y 5-HT<sub>4</sub>. Superposición de ligandos activos del receptor 5-HT<sub>4</sub>.

El estudio comparativo de las cavidades receptoriales 5-HT<sub>3</sub> y 5-HT<sub>4</sub> nos ha permitido corroborar los modelos de farmacóforo para antagonistas 5-HT<sub>3</sub> propuestos con anterioridad por Hibert<sup>204</sup> y Evans<sup>205</sup>, así como postular un modelo estérico para el receptor 5-HT<sub>4</sub>. El farmacóforo propuesto para antagonistas 5-HT<sub>4</sub> comprende una estructura aromática plana, un grupo carbonilo coplanar y un nitrógeno básico (situados a las distancias que se indican en la Figura 18) desviado a una altura de 3,6-4,0 Å respecto del plano del anillo aromático, así como un sustituyente voluminoso en dicho nitrógeno (Figura 18). La ocupación o no de este bolsillo hidrofóbico sería la responsable de la selectividad 5-HT<sub>4</sub>/5-HT<sub>3</sub> o 5-HT<sub>3</sub>/5-HT<sub>4</sub>, respectivamente.



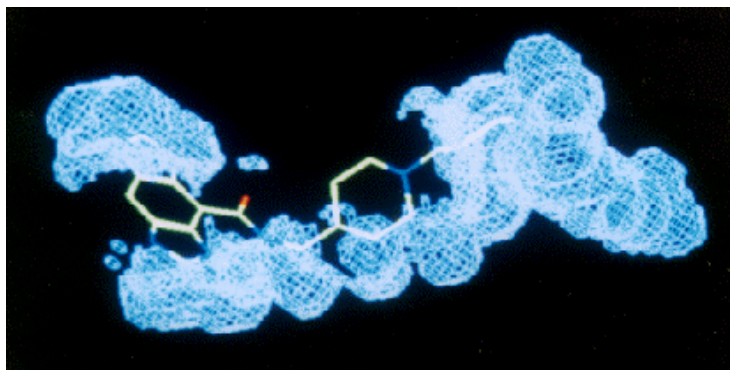
**Figura 18.** Modelo de farmacóforo propuesto para los antagonistas del receptor 5-HT<sub>4</sub>.

Con objeto de evaluar la validez del modelo propuesto para el receptor 5-HT<sub>4</sub>, se diseñó el compuesto UCM-21195<sup>206</sup> (página 10) y se llevó a cabo su análisis conformacional. En la Figura 19 se observa la ocupación del bolsillo hidrofóbico del “volumen diferencia” por el grupo butilo, mientras que en la Figura 20 puede observarse una interacción estérica desfavorable con el volumen esencial ocupado por el receptor 5-HT<sub>3</sub>. El compuesto UCM-21195 se sintetizó y se evaluó su afinidad por los receptores 5-HT<sub>3</sub> y 5-HT<sub>4</sub>:  $K_i > 10000$  nM y  $K_i = 13,7$  nM, respectivamente. Este análogo activo y selectivo del receptor 5-HT<sub>4</sub> representa un nuevo cabeza de serie en el diseño de ligandos más potentes y selectivos de este receptor. Estos prometedores resultados son los que nos han llevado a considerar un campo estructural más amplio en el trabajo de investigación objeto de esta memoria, con el fin de avanzar en el conocimiento del receptor 5-HT<sub>4</sub> y de obtener nuevos agentes con utilidad terapéutica.

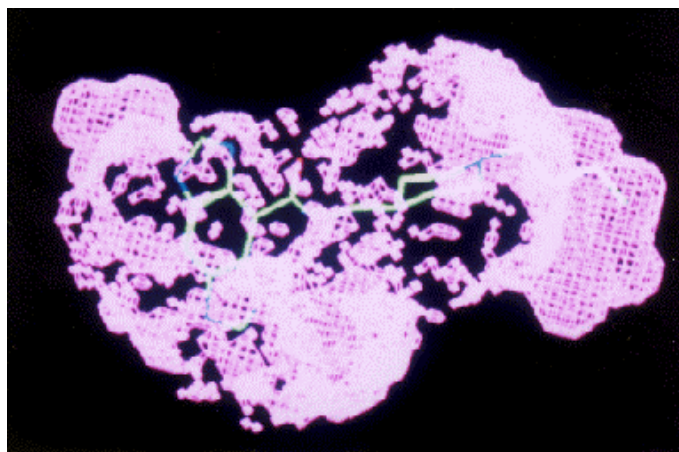
<sup>204</sup>Hibert, M.F.; Hoffmann, R.; Miller, R.C.; Carr, A.A. *J. Med. Chem.*, **1990**, 33, 1594.

<sup>205</sup>Evans, S.M.; Galdes, A.; Gall, M. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **1991**, 40, 1033.

<sup>206</sup>Véanse notas 27 y 28.



**Figura 19.** Ocupación del bolsillo hidrofóbico del “volumen diferencia” de los receptores 5-HT<sub>3</sub> y 5-HT<sub>4</sub> por el grupo butilo del compuesto UCM-21195.



**Figura 20.** Interacción estérica desfavorable del grupo butilo del compuesto UCM-21195 con el volumen esencial ocupado por el receptor 5-HT<sub>3</sub>.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

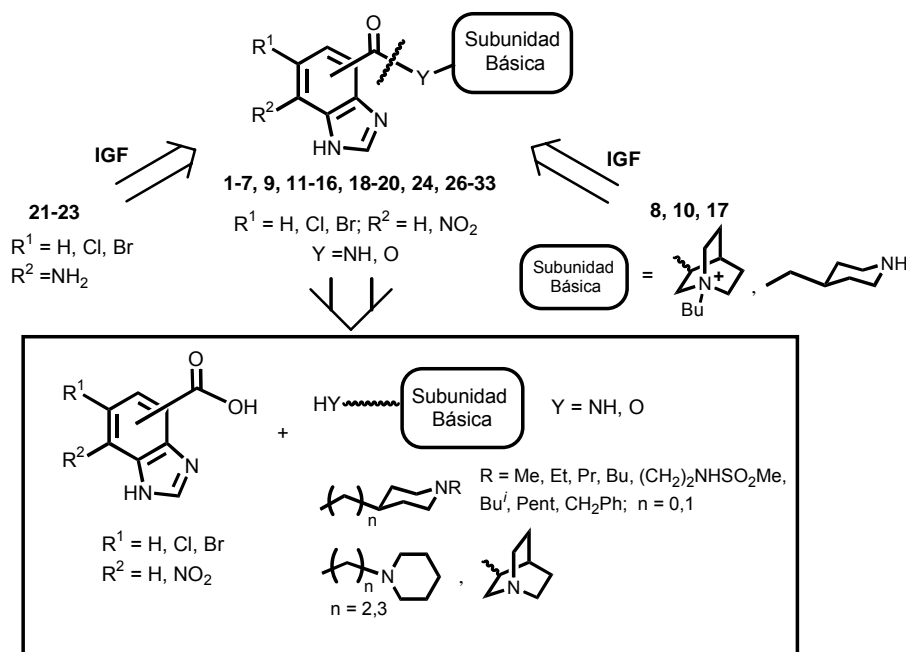
---

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. SÍNTESIS DE DERIVADOS DE BENCIMIDAZOL I

#### 4.1.1. Síntesis de bencimidazolcarboxamidas y carboxilatos

La ruta sintética general planteada para la obtención de las bencimidazolcarboxamidas y carboxilatos\* de estructura general I, según la desconexión retrosintética representada en el Esquema 1, hizo necesaria la obtención tanto de los ácidos 4-bencimidazolcarboxílicos como de las aminas y alcoholes intermedios para su posterior acoplamiento.



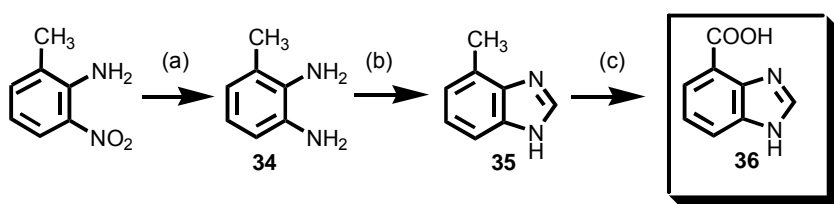
Esquema 1

#### 4.1.1.1. Síntesis de ácidos 4-bencimidazolcarboxílicos

\*Nota: Los compuestos objeto de estudio son derivados de ácidos bencimidazolcarboxílicos (para una revisión de la química y síntesis del bencimidazol y sus derivados: M. Ross Grimmett, "Imidazole and Benzimidazole Synthesis", 1997. Academic Press, San Diego). Para una mejor comprensión hemos fijado el grupo acilo en la posición 4 ó 5, representando las estructuras de bencimidazol con el hidrógeno en la posición 1, aun en los casos en que este convenio no se corresponda con el tautómero mayoritario.



El ácido 4-bencimidazolcarboxílico (**36**) se ha sintetizado por condensación de la 2-amino-3-metil-anilina (**34**) con ácido fórmico y posterior oxidación del 4-metilbencimidazol (**35**) con permanganato potásico (Esquema 2)<sup>207</sup>.



Reactivos: (a) Sn/HCl; (b) HCOOH, H<sub>2</sub>O; (c) KMnO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O

**Esquema 2**

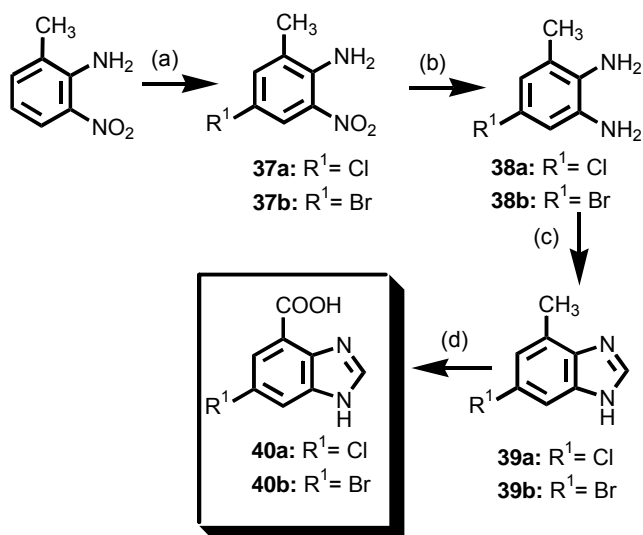
La síntesis de los ácidos 6-halo-4-benzimidazolcarboxílicos<sup>208</sup> (**40a,b**) se ha llevado a cabo por condensación de la 2-amino-5-halo-3-metil-anilina adecuada (**38a,b**) con ácido fórmico y oxidación del 6-halo-4-metilbencimidazol (**39a,b**) con permanganato potásico. Las anilinas **38a,b**<sup>209</sup> se prepararon por tratamiento de la 2-metil-6-nitroanilina con la *N*-halosuccinimida adecuada (NBS ó NCS) y posterior reducción con hidrazina y níquel-Raney de los derivados **37a,b**<sup>210</sup> (Esquema 3).

<sup>207</sup>Williams, A.; Salvadori, G. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. II*, **1972**, 7, 883.

<sup>208</sup>(a) López-Rodríguez, M.L.; Benhamú, B.; Viso, A.; Morcillo, M.J.; Murcia, M.; Orensanz, L.; Alfaro, M.J.; Martín, M.I. *Bioorg. Med. Chem.*, **1999**, 7, 1333. (b) López-Rodríguez, M.L.; Benhamú, B.; Morcillo, M.J.; Tejada, I.D.; Orensanz, L.; Alfaro, M.J.; Martín, M.I. *J. Med. Chem.*, **1999**, 42, 5020.

<sup>209</sup>(a) Reddy, K.V.; Mogilaiah, K.; Sreenivasulu, B. *Indian J. Chem., Sect. B*, **1984**, 23B, 866. (b) Nyhammar, T.; Grivas, S. *Acta Chem. Scand.*, **1986**, B40, 583.

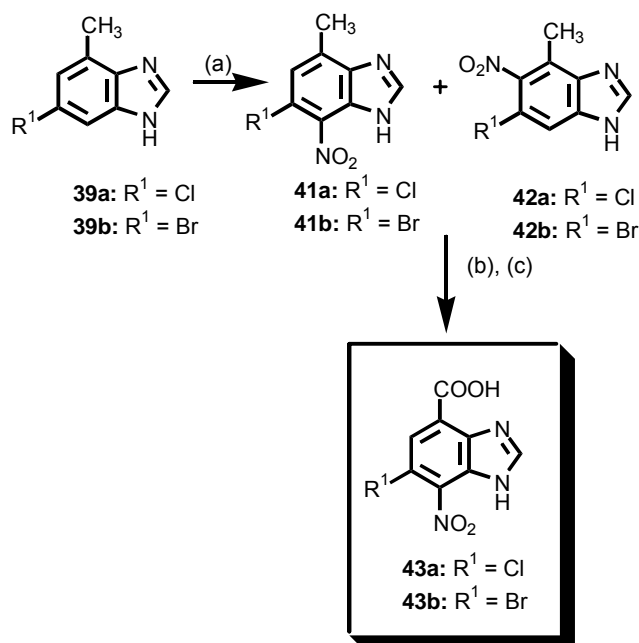
<sup>210</sup>Nickson, T.E.; Roche-Dolson, C.A. *Synthesis*, **1985**, 669.



Reactivos: (a) NCS ó NBS, acetonitrilo; (b) NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>/Ni-Ra, EtOH;  
 (c) HCOOH, H<sub>2</sub>O; (d) KMnO<sub>4</sub>, NaOH 0,5 N

**Esquema 3**

La obtención de los ácidos 6-halo-7-nitro-4-benzimidazolcarboxílicos (**43a,b**) se representa en el Esquema 4. La nitración de los 4-metilbencimidazoles **39a,b** da lugar a los 7-nitroderivados deseados **41a,b**, junto con una cantidad minoritaria (30%) del regioisómero nitrado en la posición 5 (**42a,b** respectivamente), los cuales se separan por cromatografía en columna de gel de sílice. La posición relativa del grupo nitro en el anillo de benzimidazol se ha determinado mediante el análisis del efecto NOE monodimensional aplicado al espectro de RMN de protón. Así, la irradiación de la señal correspondiente al grupo metilo dio lugar a un efecto NOE del 25% en la señal a  $\delta$  7,35 ppm para **41a**, no observándose efecto sobre ninguna señal al realizar la misma irradiación en **42a**, indicando que el primer isómero tiene un protón en posición *orto* respecto de dicho metilo, mientras **42a** presenta sustitución (el grupo nitro) en dicha posición. Asimismo, el efecto NOE opuesto observado en el grupo metilo al irradiar la señal a  $\delta$  7,35 ppm y el cálculo teórico de los desplazamientos químicos de los protones correspondientes a los dos isómeros confirman que el isómero mayoritario es el compuesto **41a** deseado. Resultados similares se obtuvieron para los bromoderivados **41b**, **42b**. Los metilbencimidazoles **41a,b** se transformaron en los correspondientes ácidos 4-benzimidazolcarboxílicos **43a,b** por oxidación con permanganato potásico.



Reactivos: (a) HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; (b) Separación cromatográfica; (c) KMnO<sub>4</sub>, NaOH 1 N

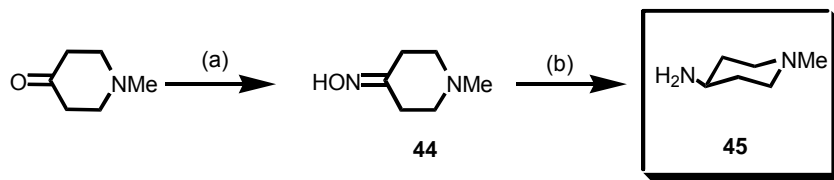
**Esquema 4**

#### 4.1.1.2. Síntesis de diaminas

La síntesis de las diaminas necesarias para la obtención de las 4-bencimidazolcarboxamidas de estructura general **I** se ha realizado bien siguiendo procedimientos descritos en la literatura, o mediante nuevas rutas sintéticas puestas a punto en este trabajo.

La 4-amino-1-metilpiperidina (**45**) se ha preparado a partir de la 1-metil-4-piperidona, vía reducción de su oxima **44** con sodio en etanol (Esquema 5)<sup>211</sup>.

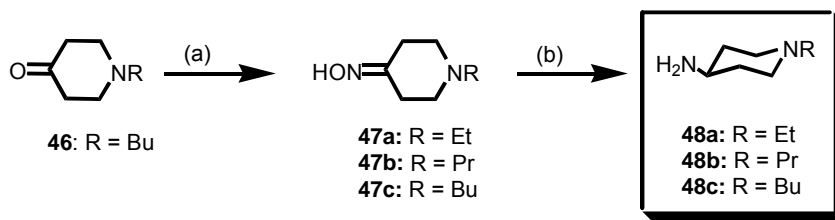
<sup>211</sup>(a) Dickerman, S.C.; Lindwall, H.G. *J. Org. Chem.*, **1949**, *14*, 530. (b) Brookes, P.; Terry, R.J.; Walker, J. *J. Chem. Soc.*, **1957**, *7*, 3165P.



Reactivos: (a)  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ ,  $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$ ; (b)  $\text{Na}/\text{EtOH}$

### Esquema 5

Por reducción de las oximas **47a-c** con hidruro de litio y aluminio se han obtenido las 1-alkil-4-aminopiperidinas **48a-c** (Esquema 6)<sup>212</sup>.



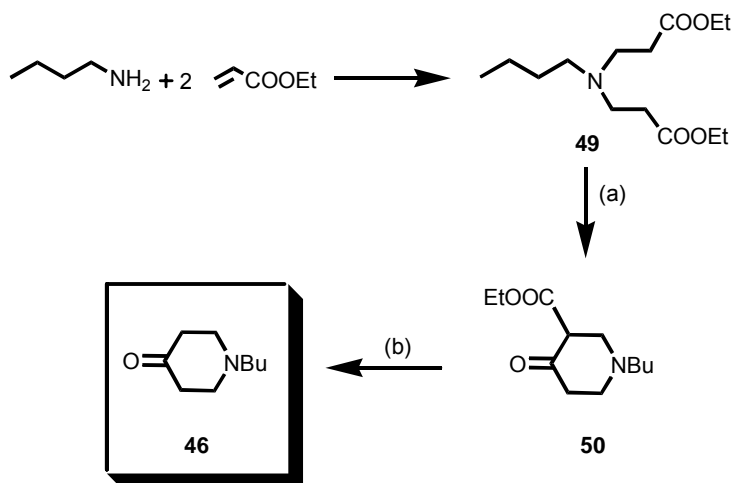
Reactivos: (a)  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}/\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$ ; (b)  $\text{LiAlH}_4$ , éter etílico

### Esquema 6

La síntesis de la 1-butil-4-piperidona (**46**) necesaria para la obtención de la oxima **47c** se ha llevado a cabo mediante adición de Michael de un mol de butilamina a dos moles de acrilato de etilo, seguida de condensación de Dieckman intramolecular de la butil-di-(2-etoxicarboniletil)amina (**49**) y posterior hidrólisis y descarboxilación del  $\beta$ -cetoéster **50** (Esquema 7)<sup>213</sup>.

<sup>212</sup>Harper, N.J.; Chignell, C.F. *J. Med. Chem.*, **1964**, 7, 729.

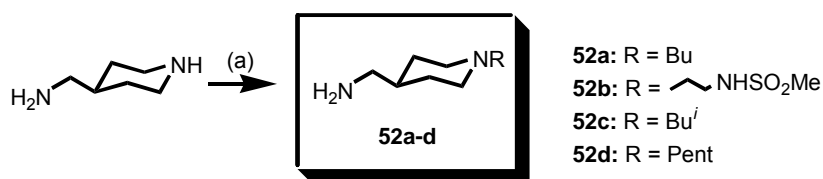
<sup>213</sup>(a) McElvain, S.M.; Rorig, K. *J. Am. Chem. Soc.*, **1948**, 70, 1826. (b) Brookes, P.; Walker, J. *J. Chem. Soc.*, **1957**, 3173.



Reactivos: (a) Na/EtOH, xileno; (b) HCl 20%

**Esquema 7**

Las (1-alkil-4-piperidil)metilaminas **52a-d** se han sintetizado en un sólo paso de reacción a partir de la 4-piperidilmetilamina, por reacción con el derivado halogenado adecuado en acetonitrilo seco a temperatura ambiente (Esquema 8)<sup>214</sup>. En todos los casos se observaron en los crudos de reacción producto de partida (5-10%) y de dialquilación (5-20%), que se separan de la amina monoalquilada deseada por cromatografía en columna de gel de sílice, con un rendimiento del 49-63%. La *N*-(2-cloroetil)metanosulfonamida (**51**), necesaria como agente alquilante, se obtuvo a partir de la 2-cloroetilamina por reacción con cloruro de mesilo empleando piridina como base.

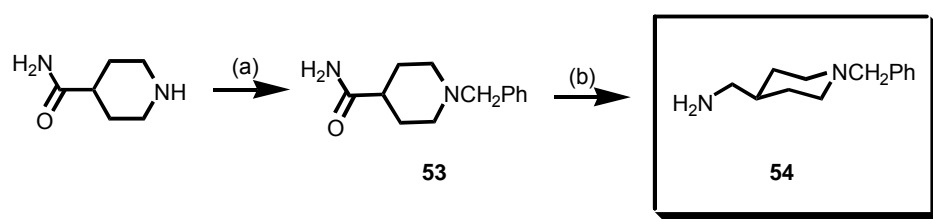


Reactivos: (a) BuBr, ClCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHSO<sub>2</sub>Me (**51**), Bu'Br o PentCl, acetonitrilo

**Esquema 8**

<sup>214</sup>Véase nota 208(a).

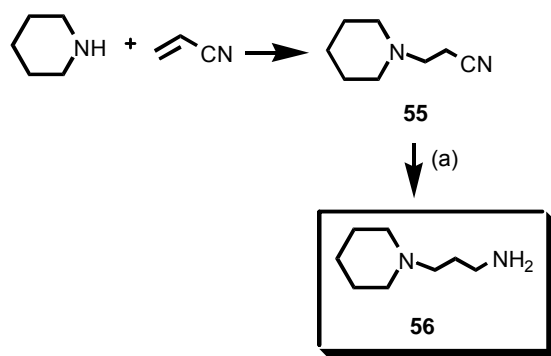
La (1-bencil-4-piperidil)metilamina (**54**) se obtuvo a partir de la isonipecotamida (4-piperidinacarboxamida) por alquilación con cloruro de bencilo y posterior reducción de la amida **53** con hidruro de litio y aluminio en tetrahidrofurano (THF) anhidro (Esquema 9)<sup>215</sup>.



Reactivos: (a) PhCH<sub>2</sub>Cl, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, EtOH; (b) LiAlH<sub>4</sub>, THF

**Esquema 9**

La 3-piperidinopropilamina (**56**) se ha sintetizado por adición de piperidina a acrilonitrilo, y posterior reducción de **55**, según el Esquema 10<sup>216</sup>.



Reactivos: (a) LiAlH<sub>4</sub>, éter etílico

**Esquema 10**

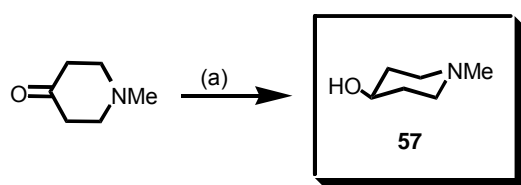
<sup>215</sup>Véase nota 78(b).

<sup>216</sup>(a) Corse, J.; Bryant, J.T.; Shonle, H.A. *J. Am. Chem. Soc.*, **1946**, 68, 1911. (b) Ueda, T.; Ishizaki, K. *Chem. Pharm. Bull.*, **1967**, 15, 228.

## 4.1.1.3. Síntesis de aminoalcoholes

Los aminoalcoholes intermedios necesarios para la síntesis de los 4-bencimidazolcarboxilatos **26-33** se han preparado según los métodos que se describen a continuación.

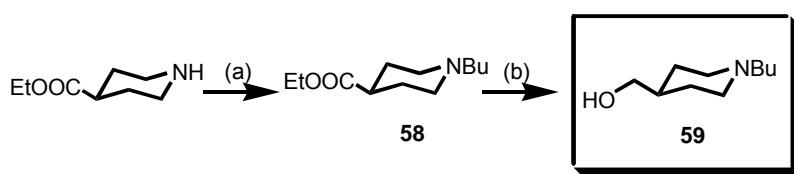
El 1-metil-4-piperidinol (**57**) se ha obtenido por reducción de la 1-metil-4-piperidona con hidruro de litio y aluminio (Esquema 11)<sup>217</sup>.



Reactivos: (a) LiAlH<sub>4</sub>, éter etílico

**Esquema 11**

El (1-butil-4-piperidil)metanol (**59**) se obtuvo a partir del isonipecotinato de etilo (4-piperidinacarboxilato de etilo) por *N*-alquilación con 1-bromobutano en presencia de carbonato potásico, y posterior reducción de **58** con hidruro de litio y aluminio (Esquema 12)<sup>218</sup>.



Reactivos: (a) BuBr/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, EtOH; (b) LiAlH<sub>4</sub>, THF

**Esquema 12**

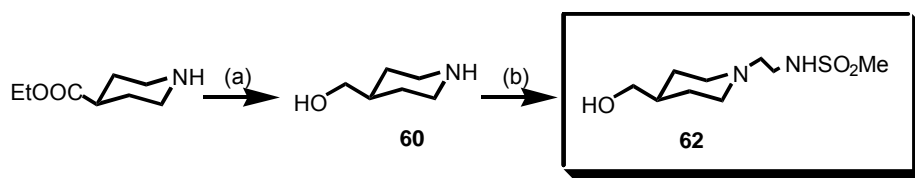
La síntesis de la *N*-[2-(4-hidroximetilpiperidino)etil]metanosulfonamida<sup>219</sup> (**62**) se llevó a cabo por *N*-alquilación del 4-piperidilmetanol (**60**) en presencia de *N,N*-

<sup>217</sup>Adlerova, E.; Seidlova, V.; Protiva, M. *Cesk. Farm.*, **1963**, 12, 122, *Chem. Abst.* **1963**, 37, 8702c.

<sup>218</sup>Véase nota 100(b).

<sup>219</sup>Oxford, A.W., Patente PCT/EP93/0079, WO 93/20071, **1993**.

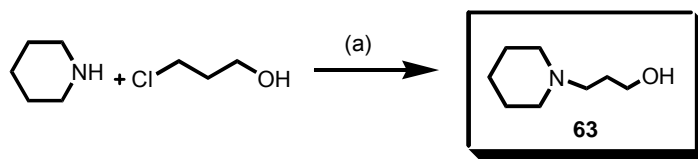
diisopropiletilamina como base. El aminoalcohol **60**<sup>220</sup> se preparó por reducción con hidruro de litio y aluminio del isonipecotinato de etilo (Esquema 13). La *N*-(2-bromoetil)metanosulfonamida (**61**), empleada en la alquilación de **60**, se obtuvo a partir de la 2-bromoetilamina por reacción con cloruro de mesilo y piridina como base.



Reactivos: (a) LiAlH<sub>4</sub>, THF; (b) BrCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHSO<sub>2</sub>Me (**61**), Pr<sup>i</sup><sub>2</sub>NEt, acetonitrilo

**Esquema 13**

La síntesis del 3-piperidinopropanol (**63**) se llevó a cabo por reacción de piperidina con 3-cloro-1-propanol, según el Esquema 14<sup>221</sup>.



Reactivos: (a) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, acetonitrilo

**Esquema 14**

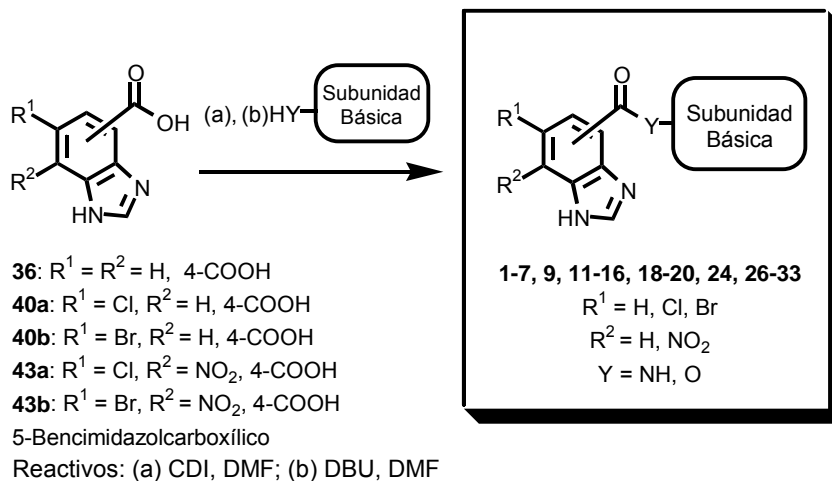
#### 4.1.1.4. Síntesis de bencimidazolcarboxamidas y carboxilatos I

Las amidas **1-7**, **9**, **11-16**, **18-20**, **24** y los ésteres **26-33** se han obtenido por tratamiento del ácido bencimidazolcarboxílico adecuado (**36**, **40a,b**, **43a,b**, ó 5-bencimidazolcarboxílico) con 1,1'-carbonildiimidazol (CDI), y posterior reacción con la correspondiente amina o alcohol, en presencia de 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU) y *N,N*-dimetilformamida (DMF) como disolvente de la reacción (Esquema 15).

<sup>220</sup>Petric, A.; Barrio, J.R. *J. Heterocyclic Chem.*, **1994**, 31, 545.

<sup>221</sup>Pandey, G.; Kumaraswamy, G.; Reddy, P.Y. *Tetrahedron*, **1992**, 48, 8295.

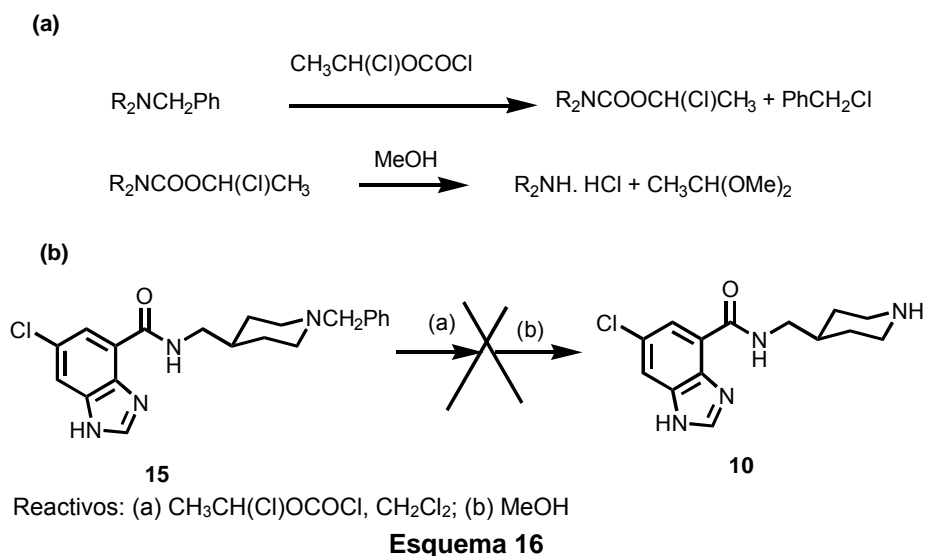




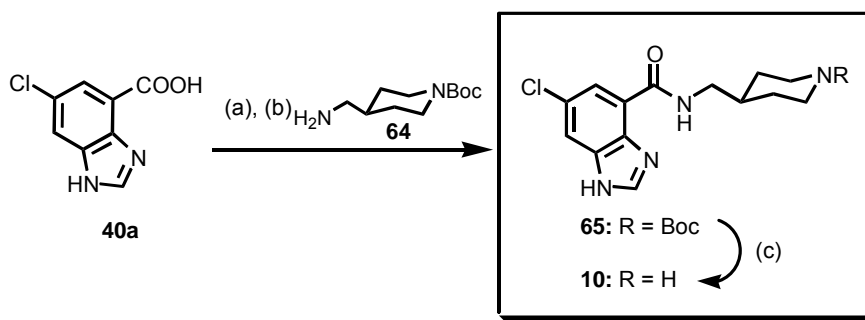
Esquema 15

La obtención de la *N*-(4-piperidilmetil)-6-cloro-4-benzimidazolcarboxamida (**10**) se abordó inicialmente mediante desbencilación del nitrógeno piperidínico en la amida **15**, por tratamiento con cloroformiato de 1-cloroetilo seguido de metanolisis, método descrito específicamente para la *N*-desbencilación de aminas terciarias<sup>222</sup>, según el mecanismo indicado en el Esquema 16a. Sin embargo, a pesar de que el tratamiento con dicho cloroformiato sí conduce a un intermedio diferente al producto de partida (c.c.f.), el tratamiento posterior con metanol da lugar a la recuperación de prácticamente la totalidad de la masa de la amida inicial **15**. Muy probablemente los nitrógenos del anillo de benzimidazol están interfiriendo en la reacción con el cloroformiato, y ni siquiera empleando un exceso de 4 equivalentes del reactivo se consiguió la desbencilación deseada (Esquema 16b).

<sup>222</sup>Olofson, R.A.; Abbot, D.E. *J. Org. Chem.*, **1984**, *49*, 2795.



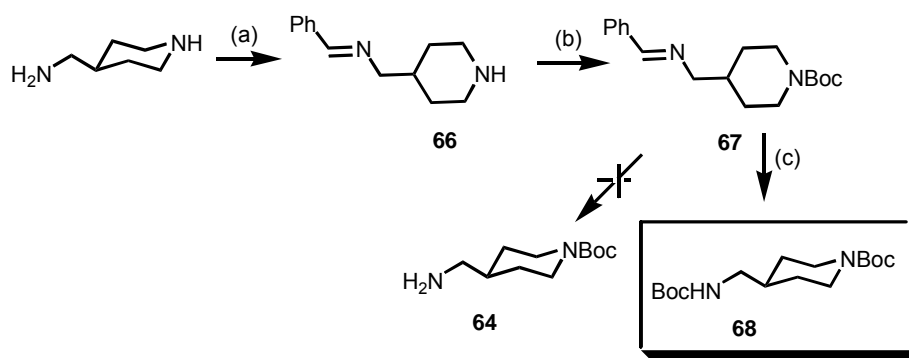
La amida **10** se sintetizó finalmente por desprotección del nitrógeno bencimidazólico de la *N*-[(1-*tert*-butoxicarbonil-4-piperidil)metil]-6-cloro-4-bencimidazolcarboxamida (**65**). Así, el acoplamiento del ácido bencimidazolcarboxílico **40a**, activado como imidazolida, y la (1-*tert*-butoxicarbonil-4-piperidil)metilamina (**64**) dio lugar a la amida **65**, que por tratamiento con un exceso de ácido fórmico a temperatura ambiente evoluciona a la *N*-(4-piperidilmetil)-6-cloro-4-bencimidazolcarboxamida (**10**) (Esquema 17).



Reactivos: (a) CDI, DMF; (b) DBU, DMF; (c) HCOOH

**Esquema 17**

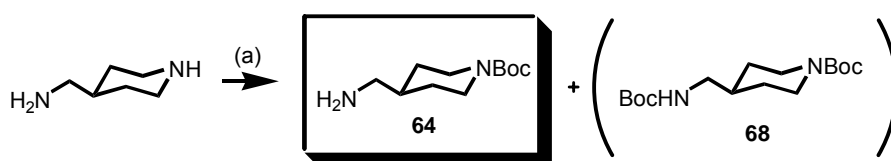
La síntesis de la (1-*tert*-butoxicarbonil-4-piperidil)metilamina (**64**) se planteó a partir de la 4-piperidilmetilamina mediante protección de la amina primaria en forma de imina por reacción con benzaldehído, tratamiento con dicarbonato de di-*tert*-butilo para formar el carbamato del nitrógeno piperidínico, y posterior hidrólisis de la base de Schiff **67** (Esquema 18). Sin embargo, en este último paso no se aislaba la amina **64** deseada, sino la piperidina **68** con dos grupos *tert*-butoxicarbonilo, uno en cada uno de los nitrógenos básicos, posiblemente por un proceso de transamidación en el medio ácido de la reacción (Esquema 18).



Reactivos: (a) PhCHO, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, benceno; (b) (Boc)<sub>2</sub>O, dioxano, H<sub>2</sub>O, NaOH 1 M; (c) KHSO<sub>4</sub> (ac)

**Esquema 18**

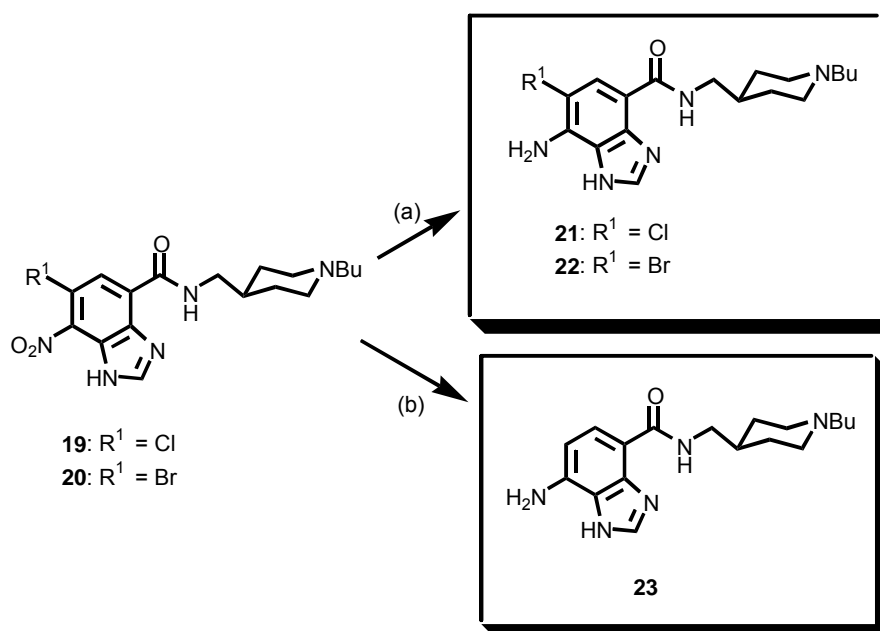
La piperidina **64** se obtuvo finalmente en un único paso de reacción por tratamiento de la 4-piperidilmetilamina con dicarbonato de di-*tert*-butilo, junto con el dicarbamato **68**, en relación molar 6:4, respectivamente. Ambos productos se separaron por cromatografía en columna de gel de sílice (Esquema 19).



Reactivos: (a) (Boc)<sub>2</sub>O, dioxano, H<sub>2</sub>O, NaOH 1 M

**Esquema 19**

Las 7-aminocarboxamidas **21-23** se han sintetizado por reducción de los correspondientes 7-nitroderivados **19, 20**. Así, el tratamiento de la amida **19** con hidrazina y níquel-Raney como catalizador conduce al derivado **21**. La reducción de **20** en las mismas condiciones permite obtener el compuesto **22**, mientras que el uso de paladio sobre carbono como catalizador da lugar, además de a la reducción del grupo nitro, a la ruptura heterolítica del enlace C-Br, resultando el 7-amino derivado **23** (Esquema 20).

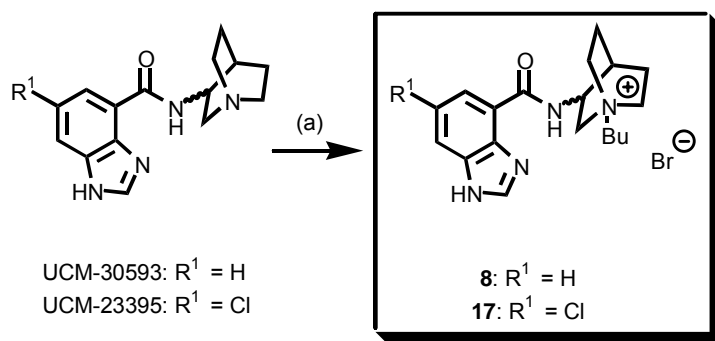


Reactivos: (a)  $\text{NH}_2\text{NH}_2/\text{Ni-Ra}$ , EtOH; (b)  $\text{NH}_2\text{NH}_2/\text{Pd(C)}$ , EtOH

**Esquema 20**

Las amidas **8** y **17** se han obtenido a partir de los ligandos UCM-30593 y UCM-23395<sup>223</sup>, por cuaternización del nitrógeno del sistema de quinuclidina con 1-bromobutano a reflujo de etanol (Esquema 21).

<sup>223</sup>(a) López-Rodríguez, M.L.; Morcillo, M.J.; Benhamú, B.; Riaguas, M.D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1996**, 6, 1195. (b) Véase nota 208(b).

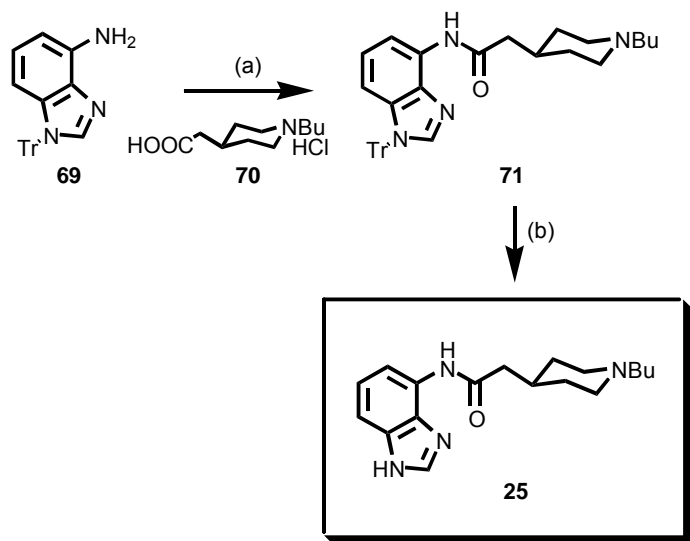


Reactivos: (a) BuBr, EtOH

**Esquema 21**

#### 4.1.2. Síntesis de *N*-(benzimidazol-4-il)-(1-butil-4-piperidil)acetamida (**25**)

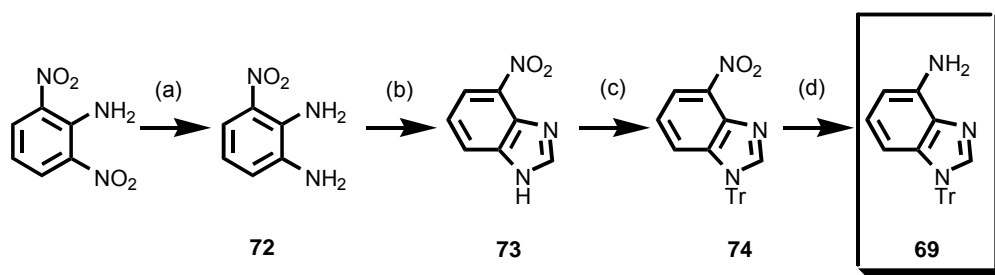
Como en el caso de las benzimidazolcarboxamidas y carboxilatos, también se ha considerado como desconexión clave en la síntesis del derivado **25** la formación del enlace amídico, lo cual hizo necesaria la síntesis del 4-aminobenzimidazol protegido en el nitrógeno benzimidazólico con un grupo tritilo, **69**. Por reacción a presión reducida del 4-amino-1-tritilbenzimidazol (**69**) con el ácido (1-butil-4-piperidil)acético (**70**) en presencia de 2-etoxi-1-etoxicarbonil-1,2-dihidroquinolina (EEDQ), y posterior hidrólisis del grupo tritilo en medio ácido, se accede al compuesto **25** (Esquema 22).



Reactivos: (a) EEDQ, DMF, 30 mm Hg; (b) AcOH, H<sub>2</sub>O, THF

Esquema 22

El 4-amino-1-tritilbencimidazol (**69**) se ha obtenido a partir de la 2,6-dinitroanilina por reducción, ciclación con ácido fórmico al 4-nitrobencimidazol (**73**)<sup>224</sup>, seguida de protección en *anti* al grupo nitro y reducción de **74** con hidrazina y níquel-Raney (Esquema 23).

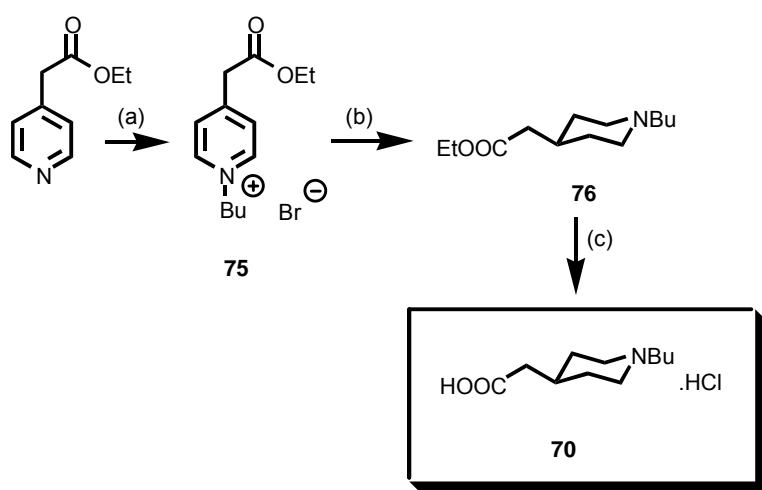


Reactivos: (a) NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>/Pd(C), EtOH; (b) HCOOH, H<sub>2</sub>O; (c) NaH, TrCl, THF; (d) NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>/Ni-Ra, EtOH

Esquema 23

<sup>224</sup>(a) van der Want., G.M. *Rec. Trav. Chim.*, **1948**, 67, 45. (b) Rabinowitz, J.L.; Wagner, E.C. *J. Am. Chem. Soc.*, **1951**, 73, 3030. (c) Fisher, E.C.; Joullié, M.M. *J. Org. Chem.*, **1958**, 23, 1944.

El ácido (1-butil-4-piperidil)acético (**70**)<sup>225</sup> necesario para la reacción de acoplamiento con **69** se obtuvo a partir del 4-piridilacetato de etilo mediante alquilación con 1-bromobutano, hidrogenación empleando paladio sobre carbono como catalizador, e hidrólisis en medio ácido del éster etílico (Esquema 24).



Reactivos: (a) BuBr, EtOH; (b) H<sub>2</sub>/Pd(C), EtOH; (c) HCl 20%

**Esquema 24**

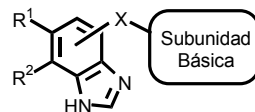
<sup>225</sup>King, F.D.; Gaster, L.M. Patente PCT/GB93/3340, WO 94/19334, 1993.

Todos los compuestos sintetizados, tanto los intermedios de reacción como los productos finales, han sido aislados, purificados y caracterizados por sus datos espectroscópicos de infrarrojo (IR) y RMN de protón y carbono ( $^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -RMN). Adicionalmente, la pureza de los compuestos finales se ha determinado por su análisis elemental cuantitativo (C, H, N).

La asignación de los protones y carbonos se ha realizado mediante el análisis conjunto de los espectros monodimensionales (1D) de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  y DEPT 135, así como de los espectros bidimensionales (2D) de correlación  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (COSY) y  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HETCOR, HMBC, HMQC) de algunos compuestos representativos. Las Tablas I y II recogen las señales correspondientes a la parte alifática de los derivados de bencimidazol **1-4**, **6-8**, **10-15**, **24-26**, **29-32** y UCM-30593 como compuestos representativos.



**Tabla I.** Desplazamientos de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\delta$ /ppm) de las señales alifáticas de los derivados de bencimidazol **1-4**, **6-8**, **10-15**, **24-26**, **29-32** y UCM-30593 ( $\text{R}^2=\text{H}$ ).



Comp.	R <sup>1</sup>	X	Subunidad Básica	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	NCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	H <sub>3'</sub> ax, H <sub>5'</sub> ax	H <sub>3'</sub> ec, H <sub>5'</sub> ec	H <sub>2'</sub> ax, H <sub>6'</sub> ax	NCH <sub>2</sub> / NCH <sub>3</sub>	H <sub>2'</sub> ec, H <sub>6'</sub> ec	H <sub>4'</sub>
<b>1<sup>a</sup></b>	H	4-CONH		-	-	-	1,51- 1,61 (m)	1,91 (d)	2,09 (t)	2,17 (s)	2,69 (d)	3,85- 3,88 (m)
<b>2<sup>a</sup></b>	H	4-CONH		1,01 (t)	-	-	1,57 (qd)	1,94- 198 (m)	2,11 (t)	2,34 (q)	2,79 (d)	3,91- 3,94 (m)
<b>3<sup>a</sup></b>	H	4-CONH		0,86 (t)	-	1,44 (sx)	1,58 (q)	1,95 (d)	2,14 (ta)	2,26 (t)	2,79 (d)	3,92- 3,94 (m)
<b>4<sup>a</sup></b>	H	4-COO		0,88 (t)	1,28 (sx)	1,41 (qt)	1,56 (q)	1,94 (d)	2,11 (t)	2,27 (t)	2,77 (d)	3,91- 3,93 (m)
<b>26<sup>a</sup></b>	H	4-COO		-	-	-	1,86-1,96 (m)		2,21-2,25 (m)		2,65- 2,68 (m)	5,04 (tt)

Tabla I. (Continuación).

Comp.	R <sup>1</sup>	X	Subunidad Básica	CH <sub>3</sub> /2 CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> /CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	H <sub>3'</sub> ax, H <sub>5'</sub> ax	NCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> /NCH <sub>2</sub> CH	H <sub>4'</sub>	H <sub>3'</sub> ec, H <sub>5'</sub> ec	H <sub>2'</sub> ax, H <sub>6'</sub> ax	NCH <sub>2</sub>	H <sub>2'</sub> ec, H <sub>6'</sub> ec	XCH <sub>2</sub>
10 <sup>a</sup>	Cl	4-CONH		-	-	1,19 (qa)	-	1,64-1,70 (m)		2,49 (ta)	-	2,98 (da)	3,30 (ta)
11 <sup>b</sup>	Cl	4-CONH		0,87 (t)	1,29 (sx)	1,64 (qm)	1,49-1,59 (m)	1,78- 1,89 (m)	1,87 (dm)	2,18 (t)	2,48- 2,53 (m)	3,16 (dm)	3,54 (t)
13 <sup>b</sup>	Cl	4-CONH		0,86 (d)	-	1,42- 1,58 (m)	1,73-1,87 (m)			1,98 (tm)	2,14 (d)	2,99 (dm)	3,52 (t)
14 <sup>b</sup>	Cl	4-CONH		0,86 (t)	1,24-1,31 (m)	1,50-1,68 (m)		1,77- 1,89 (m)	1,87 (d)	2,16 (t)	2,45- 2,50 (m)	3,15 (d)	3,57 (t)
15 <sup>a</sup>	Cl	4-CONH		-	-	1,32 (qa)	-	1,60 (m)	1,72 (d)	1,95 (t)	3,44 (m)	2,84 (d)	3,44 (m)
24 <sup>b</sup>	H	5-CONH		0,86 (t)		1,22-1,48 (m)		1,64- 1,66 (m)	1,72 (d)	1,88 (t)	2,29 (dd)	2,93 (d)	3,33 (t)

Tabla I. (Continuación).

Comp.	R <sup>1</sup>	X	Subunidad Básica	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	H <sub>3'</sub> ax, H <sub>5'</sub> ax	NCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	H <sub>4'</sub>	H <sub>3'</sub> ec, H <sub>5'</sub> ec	H <sub>2'</sub> ax, H <sub>6'</sub> ax	NCH <sub>2</sub>	H <sub>2'</sub> ec, H <sub>6'</sub> ec	XCH <sub>2</sub>
25 <sup>b</sup>	H	4-NHCO		0,91 (t)	1,25-1,53 (m)			1,94- 2,00 (m)	1,81 (da)	1,94- 2,00 (m)	2,33 (dd)	2,95 (da)	2,38 (d)
31 <sup>b</sup>	Cl	4-COO		0,90 (t)	1,30 (sx)	1,45-1,59 (m)		1,79- 1,88 (m)	1,81 (d)	1,99 (t)	2,34- 2,39 (m)	3,03 (d)	4,26 (d)

Comp.	R <sup>1</sup>	X	Subunidad Básica	H <sub>3'</sub> ax, H <sub>5'</sub> ax	H <sub>4'</sub>	H <sub>3'</sub> ec, H <sub>5'</sub> ec	H <sub>2'</sub> ax, H <sub>6'</sub> ax	NCH <sub>2</sub>	H <sub>2'</sub> ec, H <sub>6'</sub> ec	CH <sub>3</sub>	NCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	XCH <sub>2</sub>
12 <sup>b</sup>	Cl	4-CONH		1,39 (qm)	1,71- 1,82 (m)	1,80 (d)	2,03 (t)	2,52 (t)	2,87 (d)	2,97 (s)	3,18 (t)	3,48 (t)
32 <sup>b</sup>	Cl	4-COO		1,40 (qd)	1,73-1,92 (m)		2,09 (td)	2,56 (t)	2,93 (dm)	2,99 (s)	3,22 (t)	4,28 (d)

Tabla I. (Continuación).

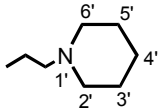
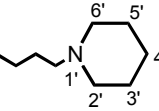
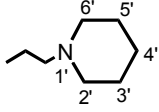
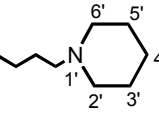
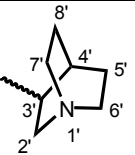
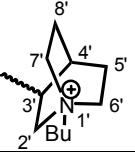
Comp.	R <sup>1</sup>	X	Subunidad Básica	2H <sub>4'</sub>	2H <sub>3'</sub> , 2H <sub>5'</sub>	XCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	2H <sub>2'</sub> , 2H <sub>6'</sub>	CH <sub>2</sub> N-pip	XCH <sub>2</sub>
6 <sup>a</sup>	H	4-CONH		1,38-1,41 (m)	1,53 (qt)	-	2,42 (ta)	2,50 (t)	3,53 (q)
7 <sup>a</sup>	H	4-CONH		1,35-1,37 (m)	1,46-1,48 (m)	1,73 (qt)	2,31-2,36 (m)		3,45 (q)
29 <sup>b</sup>	H	4-COO		1,50-1,52 (m)	1,63 (qt)	-	2,51 (m)	2,68 (t)	4,43 (t)
30 <sup>b</sup>	H	4-COO		1,43-1,49 (m)	1,59 (qt)	1,99 (qt)	2,41 (ta)	2,49 (t)	4,42 (t)

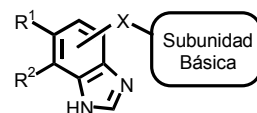
Tabla I. (Continuación).

Comp.	R <sup>1</sup>	X	Subunidad Básica	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	N <sup>+</sup> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	2H <sub>5</sub> , 2H <sub>8</sub>	H <sub>4</sub>	N <sup>+</sup> CH <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> ' <sub>b</sub>	2H <sub>6</sub> ', 2H <sub>7</sub> '	H <sub>2</sub> ' <sub>a</sub>	H <sub>3</sub> '
UCM-30593 <sup>a</sup>	H	4-CONH		-	-	-	1,39-1,46 (m) 1,58-1,63 (m) 1,85, 1,92 (m)		-	2,54-2,56 (m)	2,70 (t) 2,75-2,83 (m)	3,26 (dd)	4,03-4,05 (m)
8 <sup>a</sup>	H	4-CONH		0,95 (t)	1,31 (sx)	1,68 (qt)	2,07 (m) 2,27 (m)	2,35 (m)	3,21-3,26 (m)	3,41-3,52 (m)		3,99 (dd)	4,49 (m)

<sup>a</sup> Me<sub>2</sub>SO-*d*<sub>6</sub>

<sup>b</sup> CDCl<sub>3</sub>

**Tabla II.** Desplazamientos de  $^{13}\text{C}$ -RMN ( $\delta/\text{ppm}$ ) de las señales alifáticas de los derivados de bencimidazol **1-4**, **6-8**, **10-15**, **24-26**, **29-32** y UCM-30593 ( $\text{R}^2=\text{H}$ ).



Comp.	R <sup>1</sup>	X	Subunidad Básica	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	NCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	C <sub>3'</sub> , C <sub>5'</sub>	C <sub>4'</sub>	C <sub>2'</sub> , C <sub>6'</sub>	NCH <sub>2</sub> /NCH <sub>3</sub>
1 <sup>a</sup>	H	4-CONH		-	-	-	31,9	46,0	53,9	46,2
2 <sup>a</sup>	H	4-CONH		12,2	-	-	31,8	46,0	51,2	51,6
3 <sup>a</sup>	H	4-CONH		11,8	-	19,6	31,7	45,9	51,6	59,8
4 <sup>a</sup>	H	4-COO		13,9	20,1	28,7	31,8	46,0	51,7	57,6
26 <sup>a</sup>	H	4-COO		-	-	-	30,6	70,6	52,6	46,0

Tabla II. (Continuación).

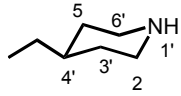
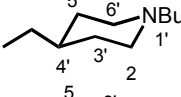
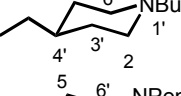
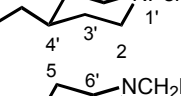
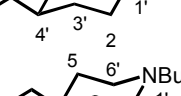
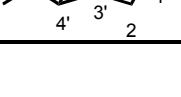
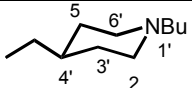
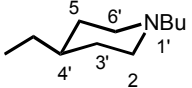
Comp.	R <sup>1</sup>	X	Subunidad Básica	CH <sub>3</sub> /2CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	NCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> /NCH <sub>2</sub> CH	C <sub>3'</sub> , C <sub>5'</sub>	C <sub>4'</sub>	XCH <sub>2</sub>	C <sub>2'</sub> , C <sub>6'</sub>	NCH <sub>2</sub>
10 <sup>a</sup>	Cl	4-CONH		-	-	-	-	29,9	36,2	44,9; 45,2	-	
11 <sup>b</sup>	Cl	4-CONH		13,8	20,7	-	28,0	28,9	35,7	44,4	53,2	58,4
13 <sup>b</sup>	Cl	4-CONH		21,1	-	-	25,4	29,5	36,2	44,9	53,8	67,1
14 <sup>b</sup>	Cl	4-CONH		13,9	22,4	25,8; 29,1; 29,7			35,8	44,4	53,3	58,8
15 <sup>a</sup>	Cl	4-CONH		-	-	-	-	29,7	35,9	44,5	52,9	62,4
24 <sup>b</sup>	H	5-CONH		14,0	20,8	-	28,8	29,8	36,1	45,6	53,3	58,6

Tabla II. (Continuación).

Comp.	R <sup>1</sup>	X	Subunidad Básica	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	NCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	C <sub>3'</sub> , C <sub>5'</sub>	C <sub>4'</sub>	XCH <sub>2</sub>	C <sub>2'</sub> , C <sub>6'</sub>	NCH <sub>2</sub>
25 <sup>b</sup>	H	4-NHCO		14,0	20,9	29,0	32,0	33,5	44,6	53,6	58,8
31 <sup>b</sup>	Cl	4-COO		14,0	20,8	29,0	28,8	35,4	69,8	53,3	58,7

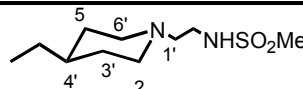
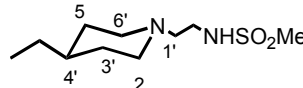
Comp.	R <sup>1</sup>	X	Subunidad Básica	C <sub>3'</sub> , C <sub>5'</sub>	C <sub>4'</sub>	NCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	XCH <sub>2</sub>	C <sub>2'</sub> , C <sub>6'</sub>	NCH <sub>2</sub>
12 <sup>b</sup>	Cl	4-CONH		29,9	36,1	39,7	40,0	45,1	53,1	56,7
32 <sup>b</sup>	Cl	4-COO		29,0	35,4	39,9	40,2	69,7	53,4	57,1



Tabla II. (Continuación).

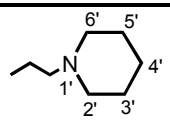
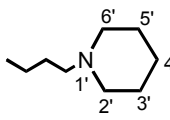
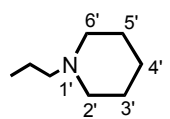
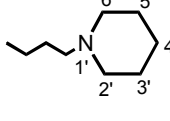
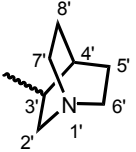
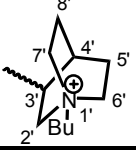
Comp.	R <sup>1</sup>	X	Subunidad Básica	C <sub>4'</sub>	C <sub>3', C<sub>5'</sub></sub>	XCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	XCH <sub>2</sub>	C <sub>2', C<sub>6'</sub></sub>	CH <sub>2</sub> N-pip
6 <sup>b</sup>	H	4-CONH		24,2	25,7	-	36,7	54,1	57,7
7 <sup>b</sup>	H	4-CONH		24,3	25,7	26,7	37,4	54,2	56,3
29 <sup>a</sup>	H	4-COO		24,2	26,2	-	59,9	54,1	57,1
30 <sup>a</sup>	H	4-COO		24,1	25,4	25,7	64,2	54,6	56,4

Tabla II. (Continuación).

Comp.	R <sup>1</sup>	X	Subunidad Básica	CH <sub>3</sub>	<u>CH</u> <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	C <sub>5'</sub> , C <sub>8'</sub>	N <sup>+</sup> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	C <sub>4'</sub>	C <sub>3'</sub>	C <sub>6'</sub> , C <sub>7'</sub>	C <sub>2'</sub>	N <sup>+</sup> CH <sub>2</sub>
UCM-30593 <sup>a</sup>	H	4-CONH		-	-	20,2; 25,4	-	25,7	46,3	46,1; 46,9	56,1	-
8 <sup>a</sup>	H	4-CONH		13,7	19,0; 19,5		22,5; 23,5	24,5	45,0	52,9; 53,6	60,9	63,0

<sup>a</sup> Me<sub>2</sub>SO-*d*<sub>6</sub>

<sup>b</sup> CDCl<sub>3</sub>

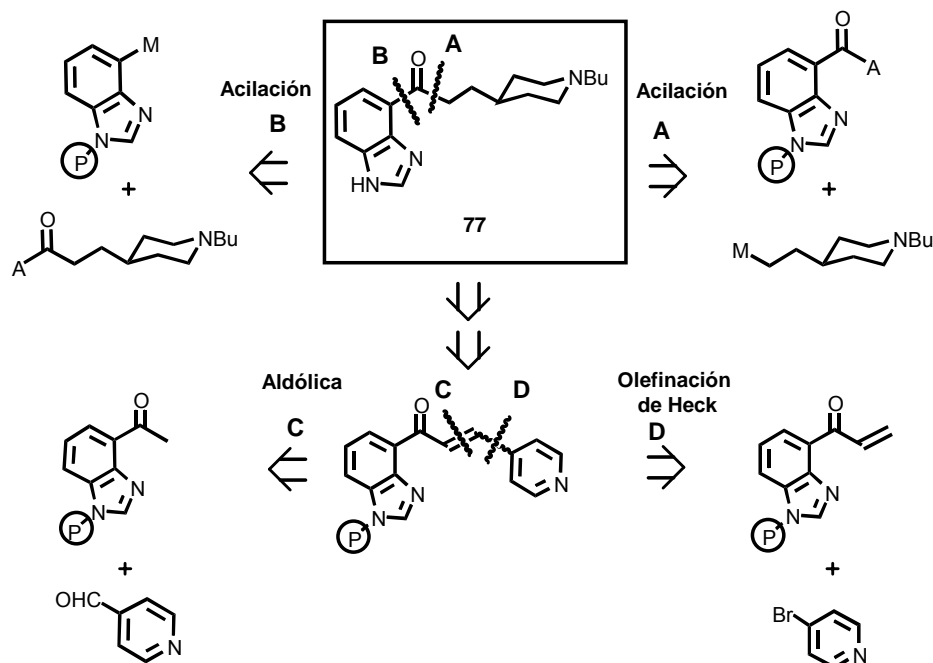
#### 4.1.3. Síntesis de (bencimidazol-4-il) 2-(1-butil-4-piperidil)etil cetona (**77**)

##### 4.1.3.1. Análisis retrosintético

Al abordar el análisis retrosintético de la (bencimidazol-4-il) 2-(1-butil-4-piperidil)etil cetona (**77**) es posible considerar varias desconexiones, como se representa en el Esquema 25, siendo las desconexiones A y B las alternativas más convergentes de dicho análisis. La dificultad de funcionalización de la posición 4 del anillo de bencimidazol y, en particular, la ausencia de acilación de tipo Friedel-Crafts<sup>226</sup> en dicha posición, nos llevaron a considerar la formación del enlace carbono-carbono carbonílico a través de otras condiciones de acilación electrófila, bien del fragmento que incorpora la subunidad básica (desconexión A) o del anillo de bencimidazol (desconexión B). Por otro lado, tanto la condensación aldólica de la bencimidazolil metil cetona *N*-protegida con 4-piridinacarboxaldehído (desconexión C), como el acoplamiento de la cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada derivada del bencimidazol, convenientemente protegida, con 4-bromopiridina mediante una reacción de olefinación de Heck (desconexión D) son alternativas razonables para la síntesis de la enona precursora de la molécula objeto **77** (Esquema 25).

---

<sup>226</sup>Grimmett, M.R. *Imidazole and Benzimidazole Synthesis*. Meth-Cohn, O., Ed.; Academic Press: San Diego, 1997.



Esquema 25

En las desconexiones A y B planteadas, la obtención de la molécula objeto implica el ataque de una especie metalada a un derivado de ácido. La clave del éxito para la síntesis de cetonas mediante esta estrategia reside, además de en una cuidadosa selección de las condiciones de reacción (concentración y orden de adición de reactivos, temperatura, hidrólisis...), en la elección de un derivado de ácido que tras el ataque al carbono carbonílico conduzca a un intermedio tetraédrico estable en el medio de reacción, que no evolucione a la cetona antes del proceso de hidrólisis. En este sentido, se han descrito en la bibliografía varios derivados de ácido para la síntesis de cetonas por reacción con compuestos organometálicos, entre los que destacan los cloruros de ácido<sup>227</sup>, amidas como las *N*-metil-*N*-metoxicarboxamidas (conocidas como amidas de Weinreb<sup>228</sup>), las derivadas de isoxazolidina<sup>229</sup> o morfolina<sup>230</sup> y las imidazolidas<sup>231</sup>, así como los

<sup>227</sup>Dieter, R.K. *Tetrahedron*, **1999**, 55, 4177.

<sup>228</sup>Nahm, S.; Weinreb, S.M. *Tetrahedron Lett.*, **1981**, 22, 3815.

<sup>229</sup>Boutin, R.H.; Rapoport, H. *J. Org. Chem.*, **1986**, 51, 5320.

<sup>230</sup>Martin, R.; Romea, P.; Tey, C.; Urpi, F.; Vilarrasa, J. *Synlett*, **1997**, 1414.

<sup>231</sup>Staab, H.A. *Angew. Chem. Int., Ed. Engl.*, **1962**, 1, 351.

ésteres del 2-piridiltio<sup>232</sup>, en los que la presencia de un heteroátomo contribuye a la estabilización de dicho intermedio. Asimismo, las sales de sodio o litio de los ácidos carboxílicos<sup>233</sup> se han empleado con éxito en la síntesis de cetonas.

#### 4.1.3.2. Desconexión A

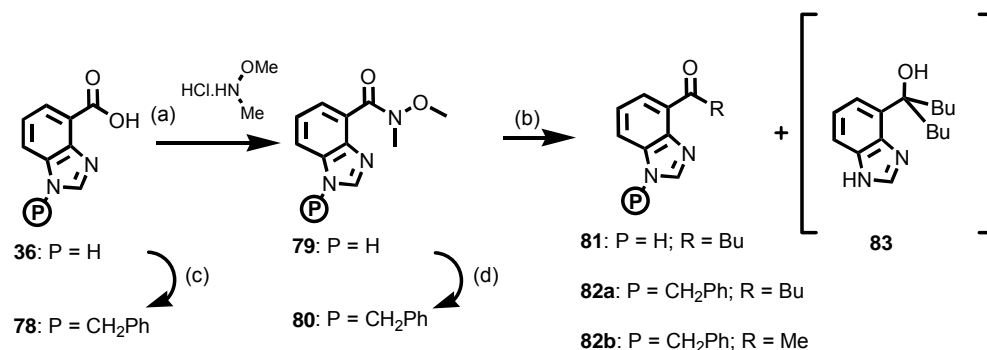
La optimización del derivado de ácido más adecuado para la obtención de (bencimidazol-4-il) cetonas se llevó a cabo realizando reacciones con derivados organometálicos comerciales. De los distintos derivados ensayados (imidazolidas, carboxilatos de litio), sólo las amidas de Weinreb **79**, **80** dieron lugar a las correspondientes cetonas heterocíclicas con buenos rendimientos (Esquema 26). La síntesis de la carboxamida **80** se llevó a cabo por *N*-bencilación<sup>234</sup> regioselectiva (exclusivamente *anti*) del ácido **36**, seguida de tratamiento con cloroformiato de isobutilo y *N,O*-dimetilhidroxilamina. En estas mismas condiciones, el ácido **36** dio lugar a un rendimiento bajo de la amida **79**, siendo necesaria llevar a cabo su síntesis mediante formación del cloruro de ácido intermedio utilizando cloruro de tionilo. A partir del derivado **79** también se puede realizar la *N*-bencilación regioselectiva como ruta alternativa para obtener la amida de Weinreb protegida **80** (Esquema 26).

Una vez puesta a punto la obtención de las amidas de Weinreb, se ensayó su reactividad con organometálicos de origen comercial. El tratamiento de las carboxamidas de Weinreb derivadas de bencimidazol, protegida **80** (P=CH<sub>2</sub>Ph) o sin proteger **79** (P=H), con reactivos de Grignard (cloruro de butilmagnesio o yoduro de metilmagnesio) o con organolíticos (butilitio), condujo a la cetonas heterocíclicas **81**, **82**, si bien cuando se utiliza butilitio como agente alquilante de **79** también se observa una proporción molar de 22% del alcohol terciario **83** en el espectro de <sup>1</sup>H-RMN del crudo de reacción (Esquema 26). Por otra parte, el carbinol **83** es el único producto que se pudo identificar tras la reacción del ácido **36** con CDI, seguida de tratamiento con cloruro de butilmagnesio.

<sup>232</sup>Mukaiyama, T.; Araki, M.; Takei, H. *J. Am. Chem. Soc.*, **1973**, *95*, 4763.

<sup>233</sup>(a) Jorgeson, M.J. *Org. React.*, **1970**, *18*, 1. (b) Levine, R.; Karten, M.J.; Kadunce, W.H. *J. Org. Chem.*, **1975**, *40*, 1770. (c) Levine, R.; Karten, M.J. *J. Org. Chem.*, **1976**, *41*, 1176.

<sup>234</sup>Howell, J.R.; Rasmussen, M. *Aust. J. Chem.*, **1993**, *46*, 1177.



Reactivos: (a) (**36**) 1) SOCl<sub>2</sub>, Δ; 2) pyr, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0 °C→t.a. (Rto. 65%) ó (**36** y **78**) 1) ClCOOBu<sup>t</sup>, THF, -15 °C; 2) NEt<sub>3</sub>, DMF, -15 °C→0 °C (Rto. 20% y 60%, respectivamente); (b) RMgCl o RLi (2-3 eq), THF, 0 °C→t.a. (Rto. 60-90%); (c) NaH, PhCH<sub>2</sub>Cl, DMF, t.a. (Rto. 97%); (d) NaH, PhCH<sub>2</sub>Cl, NBu<sub>4</sub>I, THF, 50 °C (Rto. 61%)

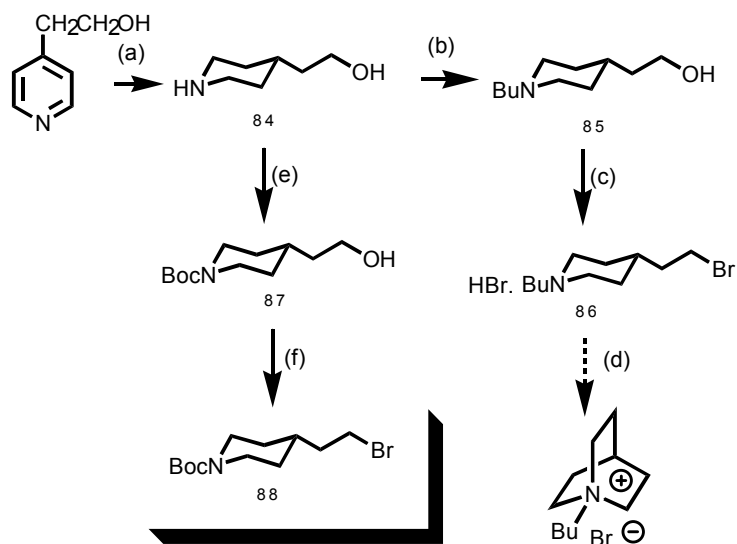
**Esquema 26**

La piperidina **86**, precursora del magnesiano que incorpora en su estructura la subunidad básica, se sintetizó, en forma de hidrobromuro, a partir del 2-(4-piridil)etanol por hidrogenación catalítica<sup>235</sup>, alquilación y posterior calefacción con ácido bromhídrico, según se indica en el Esquema 27. Sin embargo, la liberación de dicha sal de piperidinio en medio básico (disolución acuosa de carbonato potásico/éter etílico) condujo a un producto mayoritario cuya estructura se asignó tentativamente como la sal de quinuclidinio. Esta tendencia a la ciclación por alquilación intramolecular del nitrógeno básico de (2-haloetil)piperidinas ya ha sido observada previamente<sup>236</sup>. Otras condiciones más suaves para la obtención del bromuro a partir del alcohol (trifenilfosfina, tetrabromuro de carbono y acetonitrilo como disolvente, a 0 °C) no condujeron a la piperidina **86** deseada. Como alternativa, se sintetizó el derivado bromado **88**, en el que el nitrógeno de la piperidina pierde su carácter nucleófilo/básico al estar protegido en forma de carbamato con el grupo *tert*-butoxicarbonilo. La protección del nitrógeno piperidínico en el aminoalcohol **87**<sup>237</sup> sí permite obtener el derivado bromado **88** por tratamiento con trifenilfosfina y tetrabromuro de carbono (Esquema 27).

<sup>235</sup>Wawzonek, S.; Wilkinson, T.C. *J. Org. Chem.*, **1966**, 31, 1732.

<sup>236</sup>(a) Prelog, V.; Sostaric, N.; Gustak, E. *Ann.*, **1940**, 545, 247. (b) Lukes, R.; Ferles, M. *Chem. Listy*, **1953**, 47, 689. (c) Lukes, R.; Palecek, J. *Coll. Czech. Chem. Commun.*, **1964**, 29, 1582. (d) Nelson, N.A.; Yasumitsu, T. *Can. J. Chem.*, **1965**, 43, 1321.

<sup>237</sup>Orlek, B.S. *Synlett*, **1993**, 758.



Reactivos: (a) 1)  $\text{H}_2/\text{PtO}_2$ , AcOH, t.a.; 2)  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (ac)/éter etílico; (b) BuBr,  $\text{Pr}_2\text{NEt}$ , acetonitrilo,  $\Delta$ ; (c) HBr,  $\Delta$ ; (d)  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (ac)/éter etílico; (e)  $(\text{Boc})_2\text{O}$ , acetonitrilo,  $0^\circ\text{C}$ ; (f)  $\text{CBr}_4$ ,  $\text{PPh}_3$ , acetonitrilo,  $0^\circ\text{C}$

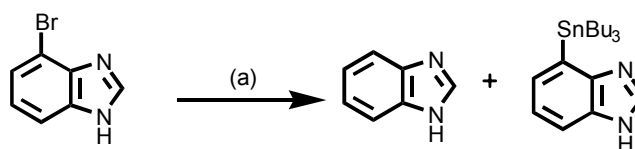
Esquema 27

En la reacción de **88** con magnesio a temperatura ambiente y THF como disolvente, y posterior adición de la mezcla de reacción sobre una disolución en THF de **79** u **80**, no se obtuvieron las cetonas precursoras de **77**, sino mezclas complejas de reacción. Este resultado, teniendo en cuenta los buenos resultados obtenidos en las reacciones de las amidas de Weinreb **79** y **80** con reactivos de Grignard comerciales, sugiere un problema de reactividad del magnesiano formado que podría justificarse por un proceso de quelación intramolecular<sup>238</sup>, favorecido especialmente por la tendencia de estos sustratos a adoptar una disposición bicíclica.

<sup>238</sup>Schumann, H.; Seuß, T.D.; Just, O.; Weimann, R.; Hemling, H.; Görlitz, F. H. *J. Organometallic Chem.*, **1994**, 479, 171.

## 4.1.3.3. Desconexión B

Inicialmente, para evitar posibles problemas de metalación en la posición 2 del anillo bencimidazólico, se ensayaron varias reacciones de intercambio halógeno-metal sobre el 4-bromobencimidazol (**89**), sintetizado a partir de la 2-bromoanilina a través de la secuencia conocida de 5 pasos (**90-93**)<sup>239</sup>. Las condiciones que se detallan en el Esquema 28 para la desprotonación inicial del NH del bencimidazol con hidruro sódico seguida de adición de *tert*-butilitio resultaron las óptimas para el intercambio. La adición de cloruro de tributilestaño para atrapar el organolítico condujo a la formación del (bencimidazol-4-il)tributilestaño con bajo rendimiento (39% como máximo), obteniéndose siempre una proporción variable del producto de reducción, es decir, el bencimidazol (Esquema 28). Este resultado indicaba que al menos en cierta extensión se estaba produciendo la metalación en la posición 4 del anillo aromático.

**89**

Reactivos: (a) 1) NaH (1,1, eq), THF, 0 °C, 30 min; 2) Bu<sup>t</sup>Li (2,2 eq), -78 °C→0 °C, 2 h; 3) Bu<sub>3</sub>SnCl (1,5 eq), 0 °C→t.a., 2-4 h

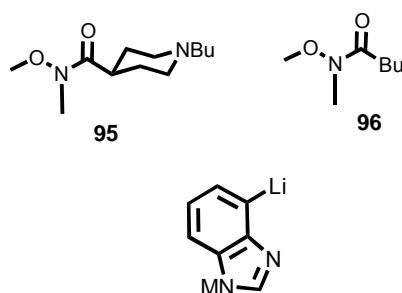
**Esquema 28**

Tras una inspección bibliográfica, el agente acilante más adecuado para la obtención de **77**, parecía de nuevo la amida de Weinreb que incorporaba en su estructura la subunidad básica de 2-(1-alkil-4-piperidil)etilo. Por este motivo, para poner a punto las condiciones de reacción con la especie metalada derivada de bencimidazol, se eligieron amidas asequibles de estructura similar (**94**, **95**). Sin embargo, manteniendo las condiciones de intercambio mencionadas en el Esquema 28, ni estas amidas, ni otras especies más electrófilas como el butiraldehído permitieron detectar en el crudo de reacción cantidades apreciables de la cetona o el alcohol esperados. Los resultados obtenidos, y el hecho de que las reacciones de intercambio halógeno-litio sí se hayan descrito con éxito en el

<sup>239</sup>(a) Montanari, F.; Mangini, A. *Boll. Fac. Chim. Ind. Bolog.*, **1953**, *11*, 42. (b) Dandegaonker, S.H.; Revankar, G.R. *J. Karnatak Univ.*, **1961**, *6*, 25. (c) Tallec, A. *Ann. Chim. (Paris)*, **1968**, *3*, 164.



caso de bromoindoles<sup>240</sup>, sugieren que debido a la presencia adicional del nitrógeno básico en el anillo de bencimidazol, el litiobencimidazol intermedio generado tiene una reactividad más baja de la supuesta en un principio, por estabilización de la especie metalada a través de complejación intra o intermolecular con los nitrógenos bencimidazólicos. Desafortunadamente el empleo de un codisolvente coordinante (20% tetrametiletilendiamina –TMEDA-) tampoco produjo la acilación esperada.



Con objeto de simplificar el procedimiento experimental en el paso de metalación, se examinó el comportamiento de 4-halobencimidazoles protegidos. En contraste con los resultados observados para el ácido **36** y la amida **79**, en el tratamiento del 4-bromobencimidazol (**89**) con cloruro de bencilo e hidruro sódico en THF, se obtuvo una proporción 80:20 de los regioisómeros bencilados *anti* y *sin*, respectivamente, **96a,b** (Esquema 29). Estos isómeros fueron separados por cromatografía y la posición del grupo bencilo se determinó por RMN de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C y experimentos NOE. La señal correspondiente al protón en *para* al bromo está mucho más apantallada en el isómero mayoritario *anti* **96a**, debido al efecto del grupo bencilo ( $\delta_{anti}=7,12$  ppm y  $\delta_{sin}=7,72$  ppm). Análogamente, la señal correspondiente a los protones del grupo metileno del bencilo se encuentra a 5,23 ppm en el regioisómero **96a**, mientras en **96b** se desplaza a campo más bajo ( $\delta_{sin}=5,72$  ppm). Asimismo, se observa un efecto NOE de 2,5% entre los protones del metileno bencilico y H<sub>7</sub> en el isómero mayoritario (*anti*), mientras que la irradiación de la señal correspondiente a los protones metilénicos en el isómero **96b** no afecta a ninguna señal de los protones del homociclo. La regioselectividad en la *N*-alquilación de bencimidazoles sustituidos ha sido estudiada por otros

<sup>240</sup>Moyer, M.P.; Shiurba, J.F.; Rapoport, H. *J. Org. Chem.*, **1986**, *51*, 5106.

autores<sup>241</sup>, siendo una función tanto de la naturaleza del sustituyente presente en el anillo aromático como de las características y tamaño del grupo alquilo que se introduce. Por ello, nos planteamos introducir un grupo tritilo como grupo protector de **89**, cuyo tamaño hacía prever una mayor selectividad en la obtención del isómero *anti*. Efectivamente, el tratamiento de **89** con hidruro sódico y cloruro de tritilo en THF, empleando una cantidad catalítica de yoduro de tetrabutilamonio, dio lugar con buen rendimiento a un único producto de alquilación, cuya estructura se asignó al 4-bromo-1-tritilbencimidazol (**97**) ( $H_7: \delta_{anti}=6,42$  ppm) (Esquema 29).

La formación del bencimidazol metalado en posición 4 a partir de 1-tritil-4-bromobencimidazol (**97**) se intentó en distintas condiciones descritas para sustratos análogos *N*-sustituidos (yodoimidazoles<sup>242</sup>, bromoindoles<sup>243</sup> y halopirazoles<sup>244</sup>). Así, el tratamiento de **97** con butilitio a baja temperatura seguido de adición de cloruro de tributilestano conducía a mezclas de 1-tritilbencimidazol y el estannano correspondiente **98**, que indicaban la formación del litiobencimidazol en el medio de reacción (Esquema 29). Sin embargo, usando otras condiciones como el tratamiento con bromuro de etilmagnesio a temperatura ambiente, que proporciona buenos resultados con yodobencimidazoles *N*<sub>1</sub>-sustituidos<sup>245</sup>, se recuperó prácticamente toda la masa del bromoderivado **97** inalterado.

---

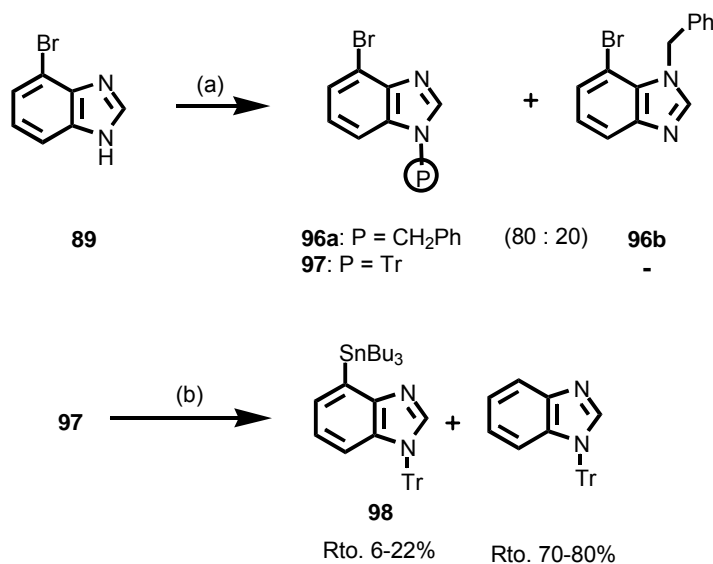
<sup>241</sup>(a) Véase nota 234. (b) Hagna, M.R.; Rasmussen, M. *Aust. J. Chem.*, **1994**, *47*, 1523. (c) Seela, F.; Bourgeois, W.; Rosemeyer, H.; Wenzel, T. *Helv. Chim. Acta*, **1996**, *79*, 488. (d) Hagna, M.R.; Rasmussen, M. *Tetrahedron*, **1997**, *53*, 6937. (e) Edlin, C.D.; Parker, D. *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 2797.

<sup>242</sup>Kirk, K.L. *J. Heterocyclic Chem.*, **1985**, *22*, 57.

<sup>243</sup>Kelly, T.A.; McNeil, D.W.; Rose, J.M.; David, E.; Shih, C.-K.; Grob, P.M. *J. Med. Chem.*, **1997**, *40*, 2430.

<sup>244</sup>Elguero, J.; Jaramillo, C.; Pardo, C. *Synthesis*, **1997**, 563.

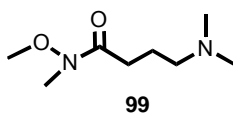
<sup>245</sup>(a) Turner, R.M.; Lindell, S.D. *J. Org. Chem.*, **1991**, *56*, 5739. (b) Jetter, M.C.; Reitz, A.B. *Synthesis*, **1998**, 829.



Reactivos : (a) NaH, PhCH<sub>2</sub>Cl, NBu<sub>4</sub>I, THF, 0 °C→t.a. ó NaH, TrCl, NBu<sub>4</sub>I, THF, Δ; (b) 1) BuLi (2-2,5 eq), THF, -78 °C, 15 min; 2) Bu<sub>3</sub>SnCl (1-3 eq), -78 °C→t.a., 4-20 h

#### Esquema 29

Desafortunadamente el litiobenzimidazol generado en las condiciones indicadas en el Esquema 29, de nuevo presentaba una baja reactividad, obteniéndose tritilbenzimidazol mayoritariamente (Rto. 43-88%) tras el tratamiento con la amida de Weinreb **99** o con pentanal.



## 4.1.3.4. Desconexiones C y D

La ausencia de resultados positivos en los procesos ensayados para la síntesis de la cetona **77**, nos hicieron contemplar las desconexiones C y D (véase Esquema 25, página 105) que, si bien no parecían tan convergentes en un principio como A y B, tenían el atractivo de poseer como productos intermedios bencimidazolil cetonas simples, cuya síntesis ya habíamos puesto a punto por condensación de la amida de Weinreb **80** con reactivos de Grignard (véase Esquema 26, página 107).

Sin embargo, la condensación aldólica<sup>246</sup> de la metil cetona **82b** con 4-piridinacarboxaldehído (desconexión C) no dio buenos resultados ni a través de la enamina por reacción con pirrolidina y etanol como disolvente, ni en condiciones termodinámicas por calefacción en sosa metanólica, ni mediante la formación previa del enolato en condiciones cinéticas empleando el diisopropilamido de litio (LDA) como base, llegándose a mezclas complejas de reacción con un gran número de manchas en la cromatografía analítica en capa fina de difícil separación.

En segundo lugar se consideró la ruta D, que implicaba la obtención de la vinil cetona **100** seguida de una reacción de Heck<sup>247</sup> con 4-bromopiridina (véase Esquema 25, página 105). Sin embargo, esta nueva aproximación tuvo que ser descartada debido a la imposibilidad de obtener la vinil cetona deseada con buen rendimiento a partir de la amida de Weinreb bencilada **80**. Así, por reacción de bromuro de vinilmagnesio con dicha amida de Weinreb, en diferentes condiciones tanto de temperatura como de hidrólisis (Esquema 30), se obtuvo en todos los casos la  $\beta$ -aminocetona **101** como producto claramente mayoritario, entre otros productos minoritarios, presumiblemente por adición de Michael del *N*-metil-*N*-metoxiamido de magnesio resultante en el proceso de hidrólisis sobre la vinil cetona **100**, que se aísla del crudo como componente minoritario (Rto. 4%)

---

<sup>246</sup>Trost, B.M.; Fleming, I., Ed.; Additions to C-X  $\pi$ -Bonds, Part 2. In *Comprehensive Organic Synthesis. Selectivity, Strategy and Efficiency in Modern Organic Chemistry*. Vol. 2. Pergamon Press: Oxford, 1991.

<sup>247</sup>(a) Dieck, H.A.; Heck, R.F. *J. Am. Chem. Soc.*, **1974**, *96*, 1133. (b) Hassner, A.; Birnbaum, D.; Loew, L.M. *J. Org. Chem.*, **1984**, *49*, 2546. (c) Deeth, R.J.; Smith, A.; Hii, K.K.; Brown, J.M. *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 3229. (d) Schmidt, B.; Ehlert, D.K. *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 3999.



Los resultados observados en nuestros intentos de síntesis de la cetona **77** ponen de manifiesto el peculiar comportamiento de los sustratos que contienen anillos de bencimidazol, haciendo necesario el diseño de nuevos estudios sobre su reactividad que permitan un mayor aprovechamiento sintético de este tipo de heterociclos. Hasta el momento, la mayoría de los métodos sintéticos conocidos para la síntesis de derivados de bencimidazol están dirigidos a la funcionalización del carbono de la posición 2 y de los nitrógenos N<sub>1</sub>, N<sub>3</sub><sup>249</sup>. En este sentido, habría que hacer especial énfasis en los anillos con sustitución en el homociclo, con el fin de encontrar alternativas a la habitual, y a menudo tediosa, obtención de 1,2-fenilendiaminas sustituidas como precursores inmediatos del anillo aromático.

Existen otras rutas sintéticas que se podrían plantear para la obtención de la cetona deseada<sup>250</sup> como el acoplamiento de Stille<sup>251</sup> catalizado por paladio, del cloruro de ácido adecuado y el estannano (M=SnBu<sub>3</sub>) derivado de bencimidazol convenientemente protegido, el acoplamiento catalizado por paladio del cloruro del ácido 4-bencimidazolcarboxílico protegido en N<sub>1</sub> con la 4-vinilpiridina en un medio básico tipo trietilamina, o la alquilación del enolato de la metil cetona **82b** con un derivado halogenado que incorporara en su estructura del anillo de piperidina, entre otros. Sin embargo, se ha considerado que la exploración de nuevas rutas sintéticas estaba ya fuera del ámbito de esta Tesis Doctoral.

Por otra parte, en el trabajo aquí expuesto las amidas de Weinreb derivadas de bencimidazol **79**, **80** han demostrado ser precursores muy adecuados para la síntesis de (bencimidazol-4-il) cetonas sencillas con buenos rendimientos, por reacción con derivados organometálicos comerciales como alquilitios o haluros de alquilmagnesio (véase Esquema 26, página 107). Como caso particular, el tratamiento de la amida **80** con bromuro de vinilmagnesio permite aislar la β-

<sup>249</sup>(a) Véase nota 226. (b) Edlin, C.D.; Parker, D. *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 2797. (c) Konstantinova, L.S.; Rakitin, O.A.; Rees, C.W.; Sivadasan, S.; Torroba, T. *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 9639. (d) Mayer, J.P.; Lewis, G.S.; McGee, C.; Bankaitis-Davis, D. *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 6655. (e) Esser, F.; Ehrengart, P.; Ignatow, H.P. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1999**, 1153. (f) Blettner, C.G.; König, W.A.; Rühler, G.; Stenzel, W.; Schotten, T., *Synlett*, **1999**, 307. (g) Smith, J.M.; Krchnak, V. *Tetrahedron Lett.*, **1999**, *40*, 7633. (h) Mazurov, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2000**, *10*, 67.

<sup>250</sup>(a) Carruthers, W., Ed.; *Some Modern Methods of Organic Synthesis*. Cambridge University Press: Cambridge, 1986. (b) Trost, B.M.; Fleming, I., Ed.; *Comprehensive Organic Synthesis. Selectivity, Strategy and Efficiency in Modern Organic Chemistry*. Pergamon Press: Oxford, 1991.

<sup>251</sup>Labadie, J.W.; Tueting, D.; Stille, J.K. *J. Org. Chem.*, **1983**, *48*, 4634.

aminocetona resultante de la adición de Michael del amiduro generado en la hidrólisis del intermedio tetraédrico que resulta del ataque del magnesiano al carbono amídico (véase Esquema 30, página 114). Por tanto, aunque no aplicable a la obtención de vinil cetonas derivadas de bencimidazol, este procedimiento podría extenderse a otro tipo de bencimidazolcarboxamidas para la obtención de nuevas  $\beta$ -aminocetonas derivadas de bencimidazol.

Por otro lado, la posibilidad de obtener derivados organometálicos en la posición 4 del sistema de bencimidazol a partir del correspondiente haloderivado ofrece un gran atractivo como estrategia sintética para la obtención de bencimidazoles 4-sustituidos, de difícil asequibilidad, por funcionalización directa del sistema aromático mediante reacción con distintos electrófilos. En este sentido, a pesar de los desalentadores resultados en cuanto a la síntesis de la cetona **77**, debe mencionarse el éxito conseguido en nuestro grupo de investigación en la síntesis de nuevas bencimidazolpiperazinas mediante la aminación catalizada por paladio(0) de halobencimidazoles N<sub>1</sub>-tritolados<sup>252</sup>.

---

<sup>252</sup>(a) López-Rodríguez, M.L.; Viso, A.; Benhamú, B.; Rominguera, J.L.; Murcia, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1999**, 9, 2339. (b) López-Rodríguez, M.L.; Benhamú, B.; Ayala, D.; Rominguera, J.L.; Murcia, M.; Ramos, J.A.; Viso, A. *Tetrahedron*, **2000**, 56, 3245.

#### 4.2. AFINIDAD RECEPTORIAL: VALIDACIÓN DEL FARMACÓFORO PARA ANTAGONISTAS 5-HT<sub>4</sub>

Los estudios bioquímicos de determinación de la afinidad y selectividad de los compuestos **1-33** sintetizados se han realizado mediante experimentos de desplazamiento de radioligandos *in vitro*. En todos los casos se utilizó tejido de cerebro de rata, cuerpo estriado para el receptor 5-HT<sub>4</sub> y corteza cerebral para el resto de los receptores serotoninérgicos. Las condiciones utilizadas para los receptores estudiados se resumen en la Tabla III.

Los ensayos de inhibición competitiva han consistido en incubar la preparación subcelular (previamente tratada para aislar los receptores objeto de estudio) con el radioligando tritiado selectivo de dicho receptor y con el compuesto investigado, con el fin de medir el desplazamiento de éste respecto del radioligando en su unión al receptor. Este desplazamiento se expresa mediante el porcentaje de unión específica del compuesto respecto de la unión total de radioligando. La unión específica se calcula por sustracción de la unión inespecífica, definida por la unión de 5-HT al receptor (o de cinanserina en el caso del receptor 5-HT<sub>2A</sub>), a la unión total del radioligando. En todos los casos, la incubación se finaliza por filtración a vacío y la radiactividad presente en los filtros se cuantifica mediante técnicas espectrométricas de centelleo líquido.

En el caso de compuestos activos, aquéllos cuyo desplazamiento a la concentración de 1 µM es mayor del 55%, se ha determinado su concentración inhibitoria cincuenta (CI<sub>50</sub>) mediante regresión no lineal de la curva de desplazamiento obtenida para seis concentraciones diferentes del compuesto, utilizando el programa Prism (Graphpad). En la Tabla IV se indican los datos de la afinidad receptorial de los compuestos **1-33** en los receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>4</sub> y 5-HT<sub>3</sub>, expresados mediante la constante de afinidad  $K_i$  (nM), calculada a partir de la CI<sub>50</sub> según la ecuación de Cheng y Prusoff<sup>253</sup> [ $K_i = CI_{50} / (1 + L/K_D)$ ]. Asimismo, se han determinado los valores de  $K_i$  de los siguientes ligandos 5-HT<sub>4</sub> de referencia: GR 113808, RS 39604 y SDZ 205,557 (páginas 7, 34 y 31 respectivamente) (Tabla IV).

<sup>253</sup>Cheng, Y.C.; Prusoff, W.H. *Biochem. Pharmacol.*, **1973**, 22, 3099.



**Tabla III.** Condiciones utilizadas para la determinación de la afinidad receptorial.

Receptor	Radioligando	Preparación subcelular <sup>a</sup>	Unión inespecífica <sup>b</sup>	Condiciones de incubación		
				Medio <sup>c</sup>	Temperatura	Tiempo
5-HT <sub>4</sub>	[ <sup>3</sup> H]GR 113808	A	5-HT 30 μM	1	37 °C	30 min
5-HT <sub>3</sub>	[ <sup>3</sup> H]LY 278584	B	5-HT 10 μM	2	25 °C	30 min
5-HT <sub>2A</sub>	[ <sup>3</sup> H]ketanserina	C	cinanserina 1 μM	3	37 °C	15 min
5-HT <sub>1A</sub>	[ <sup>3</sup> H]-8-OH-DPAT	D	5-HT 10 μM	4	37 °C	15 min

<sup>a</sup> Preparaciones subcelulares:

A. Homogeneizados de cuerpo estriado de rata, obtenidos en tampón HEPES 50 mM, pH 7,4 a 4 °C.

B. Homogeneizados de corteza cerebral de rata, obtenidos en tampón Tris-HCl 50 mM, pH 7,4 a 25 °C.

C. Homogeneizados de corteza cerebral de rata, obtenidos en tampón Tris-HCl 50 mM con MgSO<sub>4</sub> 10 mM y EDTA 0,5 mM, pH 7,4 a 37 °C.

D. Homogeneizados de corteza cerebral de rata, obtenidos en tampón Tris-HCl 50 mM, pH 7,7 a 25 °C.

<sup>b</sup> Compuestos y concentración utilizados para definir la unión inespecífica.

<sup>c</sup> Medios de incubación:

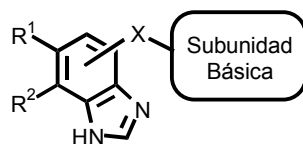
1. HEPES 50 mM, pH 7,4 a 4 °C.

2. CaCl<sub>2</sub> 5mM, ácido ascórbico 0,6 mM y pargilina 10 μM en Tris-HCl 50 mM, pH 7,4 a 25 °C.

3. MgSO<sub>4</sub> 10 mM, EDTA 0,5 mM, ácido ascórbico 0,1% y pargilina 10 μM en Tris-HCl 50 mM, pH 7,4 a 37 °C.

4. MgSO<sub>4</sub> 5 mM, EDTA 0,5 mM en Tris-HCl 50 mM, pH 7,4 a 25 °C.

**Tabla IV.** Datos de afinidad receptorial *in vitro*<sup>a</sup> de los compuestos 1-33.



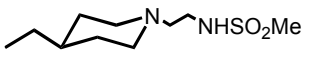
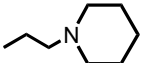
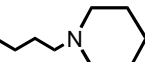

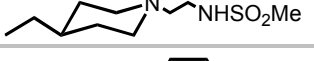
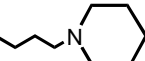
1-33

Comp.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	X	Subunidad Básica	K <sub>i</sub> ±E.E. (nM) <sup>a</sup>	
					5-HT <sub>4</sub>	5-HT <sub>3</sub>
UCM-21195	H	H	4-CONH		13,7±0,9	>10000
1	H	H	4-CONH		719±58	145±10
2	H	H	4-CONH		>1000	>1000
3	H	H	4-CONH		>1000	>10000
4	H	H	4-CONH		290±54	198±16
5	H	H	4-CONH		11,4±3,0	>1000
6	H	H	4-CONH		157±28	290±54
7	H	H	4-CONH		499±95	>10000
8	H	H	4-CONH		430±12	>1000
9	Cl	H	4-CONH		54,0±2,8	29,5±4,4
10	Cl	H	4-CONH		16,0±3,7	6,5±1,9
11	Cl	H	4-CONH		0,32±0,07	>1000

Tabla IV. (Continuación).

Comp.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	X	Subunidad Básica	K <sub>i</sub> ±E.E. (nM) <sup>a</sup>	
					5-HT <sub>4</sub>	5-HT <sub>3</sub>
12	Cl	H	4-CONH		0,11±0,03	>1000
13	Cl	H	4-CONH		0,29±0,04	>1000
14	Cl	H	4-CONH		0,54±0,10	>1000
15	Cl	H	4-CONH		1,9±0,1	358±31
16	Cl	H	4-CONH		9,1±1,3	>1000
17	Cl	H	4-CONH		45,1±5,4	27,1±2,4
18	Br	H	4-CONH		0,64±0,04	>1000
19	Cl	NO <sub>2</sub>	4-CONH		44,6±2,0	>1000
20	Br	NO <sub>2</sub>	4-CONH		48,2±6,5	>1000
21	Cl	NH <sub>2</sub>	4-CONH		22,4±0,6	>1000
22	Br	NH <sub>2</sub>	4-CONH		27,8±3,3	>1000
23	H	NH <sub>2</sub>	4-CONH		115±15	>1000
24	H	H	5-CONH		>10000	>1000
25	H	H	4-NHCO		1594 <sup>b</sup>	>10000
26	H	H	4-COO		>10000	>1000
27	H	H	4-COO		24,6±0,5	>1000

Tabla IV. (Continuación).

Comp.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	X	Subunidad Básica	K <sub>i</sub> ±E.E. (nM) <sup>a</sup>	
					5-HT <sub>4</sub>	5-HT <sub>3</sub>
28	H	H	4-COO		26,1±0,3	>1000
29	H	H	4-COO		>1000	>1000
30	H	H	4-COO		470±35	>10000
31	Cl	H	4-COO		2,9±0,4	>10000
32	Cl	H	4-COO		2,3±1,1	>1000
33	Cl	H	4-COO		15,1±0,3	>10000
<b>GR 113808</b>					1,0±0,3	>1000
<b>RS 39604</b>					3,9±0,2	>1000
<b>SDZ 205,557</b>					10,7±1,2	155 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Los datos representan el valor medio de K<sub>i</sub> (nM) y su error estándar de dos a cuatro experimentos individuales realizados por triplicado.

<sup>b</sup> Este dato es el resultado de un experimento realizado por triplicado.

En el modelo de farmacóforo para antagonistas del receptor 5-HT<sub>4</sub> propuesto en nuestro grupo de investigación<sup>254</sup> cabe destacar, como elementos estructurales claves para una alta afinidad 5-HT<sub>4</sub> y selectividad frente al receptor 5-HT<sub>3</sub>, tanto la distancia al nitrógeno básico desde el centroide del anillo aromático como la presencia de un sustituyente voluminoso en dicho nitrógeno (véase Figura 18, página 73).

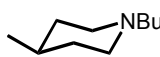
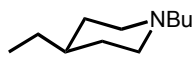
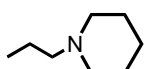
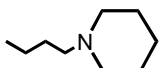
<sup>254</sup>Véase nota 27.

Los resultados expresados en la Tabla IV muestran que la presencia de al menos una unidad metilénica entre el grupo acilo y el anillo de 1-alkil-4-piperidilo es necesaria para la unión selectiva al receptor 5-HT<sub>4</sub>. Así, las 4-bencimidazolcarboxamidas y carboxilatos **1-4**, **9** y **26**, en los que la piperidina está directamente unida al grupo acilo, son inactivos o no selectivos en el receptor 5-HT<sub>4</sub>, mientras que los derivados de (1-alkil-4-piperidil)metilo presentan una elevada afinidad y selectividad en este receptor [e.g., **4**:  $K_i(5\text{-HT}_4)=290$  nM,  $K_i(5\text{-HT}_3)=198$  nM vs UCM-21195:  $K_i(5\text{-HT}_4)=13,7$  nM,  $K_i(5\text{-HT}_3)>10000$  nM]. Asimismo, en el caso de los derivados de piperidinoalkilo, se observa que sólo la cadena de piperidinopropilo conduce a compuestos con afinidad y selectividad por el receptor 5-HT<sub>4</sub> [e.g., **6**:  $K_i(5\text{-HT}_4)=157$  nM,  $K_i(5\text{-HT}_3)=290$  nM vs **16**:  $K_i(5\text{-HT}_4)=9,1$  nM,  $K_i(5\text{-HT}_3)>1000$  nM].

Con el fin de entender la influencia de la longitud de la cadena metilénica en la afinidad y selectividad 5-HT<sub>4</sub>, se llevó a cabo el análisis estructural de los compuestos **4**, UCM-21195, **6** y **7** en su forma protonada, mediante la utilización de los módulos *Builder*, *Discover* y *Analysis* del paquete de programas INSIGHT II<sup>255</sup>. Los parámetros estructurales de la conformación de mínima energía para estos ligandos se recogen en la Tabla V. La distancia entre el anillo aromático y el nitrógeno básico (Ar-N) es el parámetro estructural clave. Así, en los compuestos no selectivos **4** [ $K_i(5\text{-HT}_4)=290$  nM,  $K_i(5\text{-HT}_3)=198$  nM] y **6** [ $K_i(5\text{-HT}_4)=157$  nM,  $K_i(5\text{-HT}_3)=290$  nM] esta distancia es de 7,82 Å y 7,49 Å respectivamente, mientras en los ligandos selectivos UCM-21195 [ $K_i(5\text{-HT}_4)=13,7$  nM,  $K_i(5\text{-HT}_3)>10000$  nM] y **7** [ $K_i(5\text{-HT}_4)=499$  nM,  $K_i(5\text{-HT}_3)>10000$  nM] el átomo de nitrógeno está situado a una distancia mayor respecto del anillo aromático (8,48 Å y 8,34 Å respectivamente). Estos resultados confirman la importancia para la afinidad y selectividad por el receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub> de la distancia al nitrógeno básico, de aproximadamente 8,0 Å ó 7,5 Å, en los modelos de farmacóforo propuestos para antagonistas 5-HT<sub>4</sub> y 5-HT<sub>3</sub>, respectivamente.

<sup>255</sup>INSIGHT II, v. 95.0, Biosym Technologies, San Diego, CA, U.S.A.

**Tabla V.** Energía y parámetros estructurales correspondientes a la conformación de mínima energía de las 4-bencimidazolcarboxamidas **4**, UCM-21195, **6** y **7** (X=4-CO<sub>2</sub>H, R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=H).

Comp.	Subunidad Básica	Energía (Kcal.mol <sup>-1</sup> )	Ar-O <sup>a</sup> (Å)	Ar-N <sup>b</sup> (Å)	O-N <sup>c</sup> (Å)	h <sup>d</sup> (Å)
<b>4</b>		97,88	3,74	7,82	4,38	0,07
UCM-21195		135,34	3,74	8,48	5,62	3,55
<b>6</b>		150,11	3,75	7,49	4,48	1,42
<b>7</b>		128,04	3,74	8,34	5,20	2,56

<sup>a</sup> Distancia entre el centroide del anillo aromático y el oxígeno del grupo carbonilo.

<sup>b</sup> Distancia entre el centroide del anillo aromático y el nitrógeno de la subunidad básica.

<sup>c</sup> Distancia entre el oxígeno del grupo carbonilo y el nitrógeno de la subunidad básica.

<sup>d</sup> Desviación del nitrógeno básico respecto del plano del anillo aromático.

En el mismo sentido, la sustitución del grupo (1-butil-4-piperidil)metilo en las amidas UCM-21195 y **11** por el sistema de 1-butilquinuclidinio induce una disminución en la afinidad por el receptor 5-HT<sub>4</sub> [ $K_i$ (UCM-21195)=13,7 nM vs  $K_i$ (**8**)=430 nM;  $K_i$ (**11**)=0,32 nM vs  $K_i$ (**17**)=45,1 nM]. Este resultado podría justificarse nuevamente por la menor distancia del centro del anillo aromático al nitrógeno de la quinuclidina en los análogos **8** y **17**, en comparación con la del nitrógeno de la piperidina en los derivados UCM-21195 y **11**.

Por otro lado, si se comparan los compuestos **8** y **17** con los correspondientes análogos no cuaternizados UCM-30593 y UCM-23395<sup>256</sup> (véase Esquema 21, página 90), se observa que la introducción de un sustituyente voluminoso en el nitrógeno de la subunidad básica da lugar a un incremento en la afinidad por el receptor 5-HT<sub>4</sub> [ $K_i$ (UCM-30593)>1000 nM vs  $K_i$ (**8**)=430 nM;  $K_i$ (UCM-23395)=168 nM vs  $K_i$ (**17**)=45,1 nM]. Además, los análogos en los que la cadena básica es un grupo 1-alkil-4-piperidilo con un sustituyente en el nitrógeno básico menos voluminoso que un grupo butilo son inactivos en el receptor 5-HT<sub>4</sub>, excepto el

<sup>256</sup>Véase nota 223.

compuesto **9** ( $K_i=54,0$  nM), debido probablemente a la presencia de un átomo de cloro en la posición 6 del anillo de bencimidazol, ya que el compuesto no sustituido **1** tiene muy baja afinidad 5-HT<sub>4</sub> ( $K_i=719$  nM). En el mismo sentido, la ausencia de sustituyente en el nitrógeno piperidínico de la amida **10** (subunidad básica=4-piperidilmetilo) supone no sólo una disminución de la afinidad 5-HT<sub>4</sub> con respecto a las correspondientes bencimidazolcarboxamidas análogas derivadas de (1-alquil-4-piperidil)metilamina, sino también un drástico aumento de la afinidad por el receptor 5-HT<sub>3</sub> desde la inactividad a valores nanomolares [e.g., **10**:  $K_i(5-HT_4)=16,0$  nM,  $K_i(5-HT_3)=6,5$  nM vs **11**:  $K_i(5-HT_4)=0,32$  nM,  $K_i(5-HT_3)>1000$  nM].

Estos resultados corroboran por tanto nuestro modelo de farmacóforo para antagonistas 5-HT<sub>4</sub><sup>257</sup>, en el que la distancia al nitrógeno básico y la presencia de un sustituyente voluminoso en dicho nitrógeno constituyen dos requerimientos estructurales fundamentales para la afinidad y selectividad por el receptor 5-HT<sub>4</sub>. Cuando ambos requerimientos se verifican, la naturaleza de dicho sustituyente no parece influir en la afinidad 5-HT<sub>4</sub>, ya que las amidas **11** ( $K_i=0,32$  nM), **12** ( $K_i=0,11$  nM), **13** ( $K_i=0,29$  nM) y **14** ( $K_i=0,54$  nM), así como los ésteres  $K_i(\mathbf{31})=2,9$  nM y  $K_i(\mathbf{32})=2,3$  nM son equipotentes entre sí.

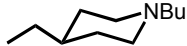
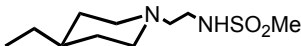
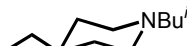
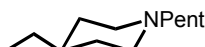

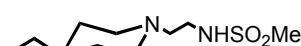
Finalmente, la sustitución del grupo CONH en UCM-21195 por un grupo NHCO en el compuesto **25** supone un cambio en las distancias desde el oxígeno carbonílico al anillo aromático y al nitrógeno básico. La inactividad en el receptor 5-HT<sub>4</sub> de la amida **25** confirma también la importancia de que se verifiquen las distancias farmacofóricas. Asimismo, la 5-bencimidazolcarboxamida **24**, regioisómera de la amida UCM-21195, resulta inactiva, con lo que no sólo la distancia sino también la posición del grupo carbonilo en el sistema aromático de bencimidazol tiene una gran influencia en la afinidad 5-HT<sub>4</sub>.

Los nuevos derivados de bencimidazol sintetizados han resultado ser ligandos muy interesantes del receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub>, por su elevada afinidad, en muchos casos subnanomolar, y su excelente selectividad frente al receptor 5-HT<sub>3</sub>. De especial interés han resultado los análogos **11-14**, **31** y **32**, por su añadida selectividad frente a los receptores 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>2A</sub> (Tabla VI).

---

<sup>257</sup>Véase nota 27.

**Tabla VI.** Datos de la afinidad receptorial *in vitro*<sup>a</sup> de las amidas **11-14** (X=4-CONH, R<sup>1</sup>=Cl, R<sup>2</sup>=H) y los ésteres **31, 32** (X=4-COO, R<sup>1</sup>=Cl, R<sup>2</sup>=H).

Comp.	Subunidad Básica	K <sub>i</sub> ±E.E. (nM)			
		5-HT <sub>4</sub>	5-HT <sub>3</sub>	5-HT <sub>2A</sub>	5-HT <sub>1A</sub>
11		0,32±0,07	>1000	>10000	>10000
12		0,11±0,03	>1000	>10000	>1000
13		0,29±0,04	>1000	>10000	>1000
14		0,54±0,10	>1000	>10000	>10000
31		2,9±0,4	>10000	>10000	>1000
32		2,3±1,1	>1000	>10000	>10000

<sup>a</sup> Los datos representan el valor medio de K<sub>i</sub> (nM) y su error estándar de dos a cuatro experimentos realizados por triplicado.

#### 4.3. ENSAYOS FUNCIONALES: ACTIVIDAD AGONISTA/ANTAGONISTA EN EL RECEPTOR 5-HT<sub>4</sub>

Las amidas **11-14** fueron seleccionadas para la evaluación de su actividad funcional 5-HT<sub>4</sub> en íleon aislado de cobayo, por su elevada afinidad y selectividad en dicho receptor.

La preparación de íleon aislado de cobayo ha demostrado ser útil en el estudio de agonistas y antagonistas de los receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>3</sub> y 5-HT<sub>4</sub><sup>258</sup>. Es bien conocido que la 5-HT actúa en esta preparación provocando contracciones que a bajas concentraciones (<10<sup>-6</sup> M) son mediadas por la

<sup>258</sup>Véase nota 12(a).



activación de los receptores 5-HT<sub>4</sub><sup>259</sup>, mientras que las concentraciones superiores activan los receptores 5-HT<sub>3</sub><sup>260</sup>. Este efecto es claramente demostrable porque las contracciones inducidas son bloqueadas por antagonistas selectivos de cada receptor. Adicionalmente, se añade metisergida (1 μM) para excluir cualquier posible efecto debido a los receptores 5-HT<sub>1</sub> y 5-HT<sub>2</sub>.

Inicialmente, con el fin de determinar el posible carácter agonista de los compuestos seleccionados se analizó su efecto en preparaciones de íleon de cobayo no estimuladas. En un intervalo de concentraciones de 10<sup>-8</sup> M a 10<sup>-5</sup> M no se produjo contracción, lo que demuestra su inactividad como agonistas de los receptores 5-HT<sub>3</sub> y 5-HT<sub>4</sub>. Para evaluar la actividad antagonista, se analizó la capacidad de los compuestos para inhibir las contracciones inducidas por diferentes concentraciones de 5-HT en preparaciones de íleon aislado de cobayo, encontrándose que los ligandos estudiados producen una inhibición selectiva de la contracción inducida por 5-HT mediada por receptores 5-HT<sub>4</sub> ([5-HT]<10<sup>-6</sup>M), sin modificación de las contracciones mediadas por receptores 5-HT<sub>3</sub> ([5-HT]>10<sup>-6</sup>M) (Figura 21). Incluso cuando se bloquean totalmente las contracciones correspondientes a bajas dosis de 5-HT, ninguno de los compuestos estudiados modifica las contracciones que involucran receptores 5-HT<sub>3</sub>.

Las curvas concentración-respuesta se construyeron considerando las contracciones inducidas por diferentes concentraciones de 5-HT (10<sup>-8</sup> M a 3x10<sup>-6</sup> M), en presencia o ausencia de los compuestos estudiados (10<sup>-7</sup> M y 10<sup>-6</sup> M). La dosis eficaz 50 (DE<sub>50</sub>) de la 5-HT en presencia y ausencia del antagonista se calculó posteriormente como la concentración necesaria para producir el 50% de la máxima contracción inducida por la 5-HT a través de receptores 5-HT<sub>4</sub>. La respuesta máxima (100%) se acepta como la correspondiente a una concentración 3x10<sup>-7</sup> M de 5-HT<sup>261</sup>. Los valores de pA<sub>2</sub> se determinaron mediante la ecuación de Furchgott<sup>262</sup>, utilizando una concentración apropiada de antagonista (Tabla VII). El

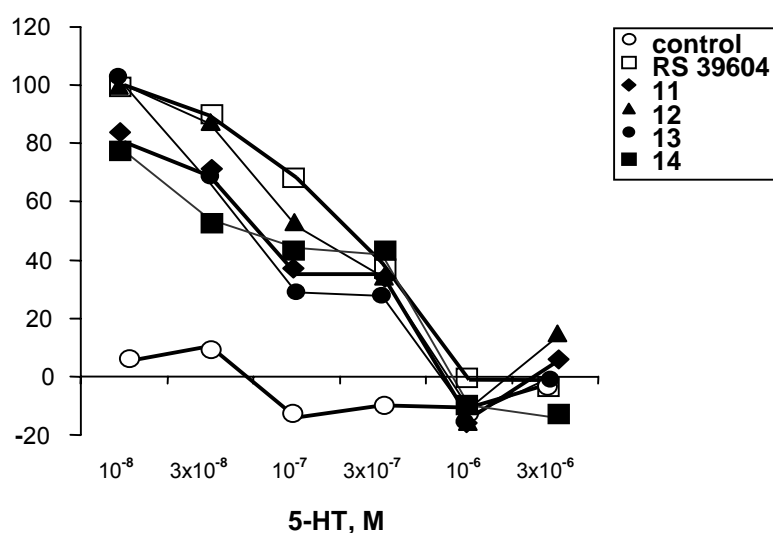
<sup>259</sup>(a) Véanse notas 38(c), 93(b), 105 y 116(a) (b) Buchheit, K.-H.; Engel, G.; Mutschler, E.; Richardson, B. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **1985**, *329*, 36. (c) Soulier, J.-L.; Yang, D.; Brémont, B.; Croci, T.; Guzzi, U.; Langlois, M. *J. Med. Chem.*, **1997**, *40*, 1755.

<sup>260</sup>Heidempergher, F.; Pillan, A.; Pinciroli, V.; Vaghi, F.; Arrigoni, C.; Bolis, G.; Caccia, C.; Dho, L.; McArthur, R.; Varasi, M. *J. Med. Chem.*, **1997**, *40*, 3369.

<sup>261</sup>Véase nota 12(a).

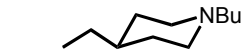
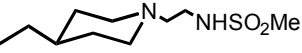

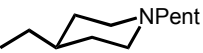
<sup>262</sup>Furchgott, R.F. The Classification of Adrenoceptors (Adrenergic Receptors). An Evaluation from the Standpoint of Receptor Theory. In *Handbook of Experimental Pharmacology*. Vol. 33. Springer: Berlin, Heidelberg, New York, 1972, pp 283-335.

antagonista 5-HT<sub>4</sub> RS 39604 (página 34) se utilizó como compuesto de referencia. Las contracciones inducidas por concentraciones superiores de 5-HT ( $10^{-6}$  M a  $3 \times 10^{-6}$  M), correspondientes a la activación de los receptores 5-HT<sub>3</sub>, permanecen inalteradas tras la aplicación de los ligandos, lo que descarta la actividad en este receptor.



**Figura 21.** Cada punto representa el valor medio (el error estándar se ha omitido para mayor claridad) del porcentaje de inhibición de las respuestas de contracción inducidas por una segunda administración de 5-HT vs la primera administración en ausencia de compuesto (control), o en presencia de una concentración  $10^{-7}$  M de los derivados 11-14 o del RS 39604 como antagonista 5-HT<sub>4</sub> de referencia ( $n \geq 5$ ).

**Tabla VII.** Actividad farmacológica de las amidas **11-14** (X=4-CONH, R<sup>1</sup>=Cl, R<sup>2</sup>=H) en receptores 5-HT<sub>4</sub> de íleon aislado de cobayo.

Comp.	Subunidad Básica	5-HT DE <sub>50</sub> , M <sup>a</sup>		pA <sub>2</sub> <sup>b</sup>	N <sup>c</sup>
		R1	R2		
Control		-	-	-	6
11		1,3x10 <sup>-8</sup>	6,8x10 <sup>-8</sup>	7,6	7
12		2,5x10 <sup>-8</sup>	2,4x10 <sup>-7</sup>	7,9	5
13		1,1x10 <sup>-8</sup>	1,8x10 <sup>-7</sup>	8,2	6
14		1,7x10 <sup>-8</sup>	1,4x10 <sup>-7</sup>	7,9	6
RS 39604		1,5x10 <sup>-8</sup>	2,9x10 <sup>-7</sup>	8,2	6

<sup>a</sup> Concentración de 5-HT requerida para producir el 50% de la contracción máxima inducida por 5-HT mediada por receptores 5-HT<sub>4</sub> en ausencia (R1) y presencia (R2) del compuesto estudiado.

<sup>b</sup> Único punto de análisis usando una concentración de antagonista 10<sup>-7</sup> M.

<sup>c</sup> Número de experimentos.

Los resultados de los ensayos funcionales en íleon de cobayo, expresados en la Figura 21 y en la Tabla VII, indican que los compuestos **11-14** se comportan como antagonistas del receptor 5-HT<sub>4</sub> y son selectivos frente al 5-HT<sub>3</sub><sup>263</sup>. Teniendo en cuenta los valores de pA<sub>2</sub> de los cuatro compuestos ensayados, se trata de nuevos antagonistas 5-HT<sub>4</sub> equipotentes al antagonista de referencia RS 39604.

<sup>263</sup>Véase nota 208(a).

#### 4.4. CONFORMACIÓN BIOACTIVA DE LOS NUEVOS LIGANDOS 5-HT<sub>4</sub>: ESTUDIO DEL EQUILIBRIO TAUTÓMERO E INFLUENCIA DEL ENLACE DE HIDRÓGENO INTRAMOLECULAR

En el diseño de nuevos fármacos con propiedades farmacológicas predeterminadas el estudio de la conformación bioactiva de una serie de ligandos dada es un paso crucial, necesario para abordar el estudio de su reconocimiento por el sitio de unión del receptor. En este trabajo, con objeto de aproximarnos a la conformación bioactiva de la nueva serie de ligandos de estructura general **I**, se ha llevado a cabo un estudio del equilibrio tautómero en el anillo de bencimidazol mediante RMN de <sup>13</sup>C y <sup>1</sup>H, espectroscopía IR y cálculos *ab initio*.

La tautomería anular de los azoles es un proceso rápido en la escala de tiempos de la RMN (<sup>1</sup>H, <sup>15</sup>N, <sup>13</sup>C), por lo que a temperatura ambiente se observan las señales promedio resultantes de la contribución de los dos tautómeros, y la observación de señales separadas es posible únicamente a baja temperatura<sup>264</sup>. Es bien conocido que la presencia de un enlace de hidrógeno intramolecular influye considerablemente en la constante del equilibrio prototrópico entre dos tautómeros, siendo abundantes los ejemplos que al respecto se encuentran en la bibliografía<sup>264,265</sup>. Sin embargo, pocos de ellos se refieren a la tautomería anular de derivados de bencimidazol<sup>266</sup>. El estudio del equilibrio prototrópico en los derivados del ácido 4-bencimidazolcarboxílico de estructura general **I**, que presentan en el sistema aromático sustituyentes potencialmente aceptores y/o dadores (CONH, COO) de un enlace de hidrógeno, resulta por tanto de especial interés.

El anillo de bencimidazol puede existir en dos formas tautómeras diferentes dependiendo de que sea el N<sub>1</sub> (tautómero I) ó el N<sub>3</sub> (tautómero II) quien esté presente como NH. Si bien lo habitual es numerar el bencimidazol considerando el NH como N<sub>1</sub>, para facilitar la discusión y comprensión de este estudio, ambos tautómeros se han numerado de la misma manera fijando arbitrariamente el grupo

---

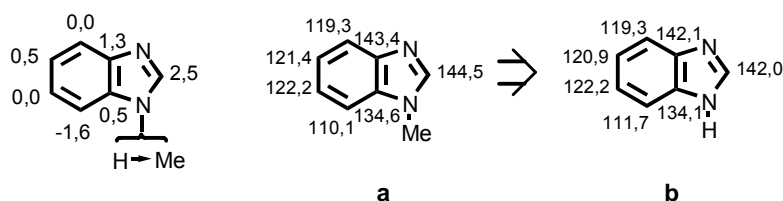
<sup>264</sup>(a) Elguero, J.; Marzin, C.; Katritzky, A.R.; Linda, P. *Adv. Heterocycl. Chem.*, **1976**, *Suppl. 1*. (b) Elguero, J.; Katritzky, A.R.; Denisko, O.V. *Adv. Heterocycl. Chem.*, **2000**, *76*, 1.

<sup>265</sup>Minkin, V.I.; Garnovskii, A.D.; Elguero, J.; Katritzky, A.R.; Denisko, O.V. *Adv. Heterocycl. Chem.*, **2000**, *76*, 157.

<sup>266</sup>Elguero, J.; Llouquet, G.; Marzin, C. *Tetrahedron Lett.*, **1975**, *46*, 4085.

acilo de los derivados del ácido 4-bencimidazolcarboxílico en la posición 4 del sistema aromático.

La aplicación de la RMN de  $^{13}\text{C}$  ha resultado ser de gran utilidad en el estudio de la tautomería de los azoles<sup>267</sup>. A partir del indol y el indazol, los cuales existen como un único tautómero, Elguero *et al.*<sup>268</sup> han calculado los efectos de la sustitución del protón del nitrógeno por un grupo metilo en las señales de  $^{13}\text{C}$ -RMN. Admitiendo que estos efectos son válidos en el caso del bencimidazol (Figura 22a), dichos autores han calculado los desplazamientos químicos de los carbonos de un supuesto bencimidazol no sustituido que existiera en forma de un único tautómero, a partir de los valores del 1-metilbencimidazol en  $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$  (Figura 22b).



**Figura 22.** Cálculo de los desplazamientos químicos teóricos de  $^{13}\text{C}$ -RMN para un supuesto bencimidazol no sustituido que existiera como un único tautómero.

Tomando estos desplazamientos químicos como valores base y los efectos de los sustituyentes tabulados por Ewing<sup>269</sup> para bencenos monosustituídos, se han calculado los desplazamientos químicos teóricos de los carbonos del homociclo para los dos posibles tautómeros I y II, resultantes del equilibrio prototrópico presente en los compuestos de estructura general I derivados de los ácidos 4-bencimidazolcarboxílico y 6-halo-4-bencimidazolcarboxílico ( $\text{X}=4\text{-CONH}$ ,  $4\text{-COO}$ ,  $\text{R}^1=\text{H}$ ,  $\text{Cl}$ ,  $\text{Br}$ ,  $\text{R}^2=\text{R}^3=\text{H}$ ) (Tabla VIII). El análisis conjunto de los desplazamientos químicos experimentales obtenidos a partir de los espectros de  $^{13}\text{C}$ -RMN, DEPT 135 y 2D de correlación  $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ , y los valores teóricos calculados ha permitido la asignación de los carbonos de estos derivados de bencimidazol, así como la estimación de la forma tautómera mayoritaria existente para estos compuestos en disolución.

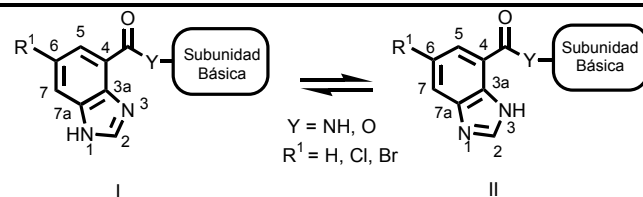
<sup>267</sup>Véanse notas 264 y 265.

<sup>268</sup>Fruchier, A; Pappalardo, L.; Elguero, J. *An. Quim. Ser. C*, **1980**, 76, 79.

<sup>269</sup>Ewing, D.F. *Org. Magn. Res.*, **1979**, 12, 449.

En la Tabla VIII se recogen los valores de los desplazamientos químicos teóricos y experimentales para algunos compuestos representativos, en  $\text{CDCl}_3$  y  $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ . Comparando los valores experimentales y calculados para los carbonos  $\text{C}_4$  y  $\text{C}_7$  y para  $\text{C}_{3a}$  y  $\text{C}_{7a}$ , se observa cómo para el caso de los ésteres derivados del ácido 4-bencimidazolcarboxílico los valores experimentales se asemejan a los calculados para el tautómero II, mientras que en las 4-bencimidazolcarboxamidas estos valores se aproximan a los de la forma tautómera I, observándose la misma tendencia para los derivados 6-halosustituídos. Por otra parte, los desplazamientos químicos experimentales de los carbonos del homociclo no muestran variaciones significativas en los espectros de  $\text{CDCl}_3$  y  $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$  (Tabla VIII), lo que indica que en ambos disolventes el equilibrio tautómero se encuentra desplazado en el mismo sentido. Consideremos por ejemplo, el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ) del éster **28** [ $\text{R}^1=\text{H}$ , subunidad básica= $N$ -[2-(4-metilpiperidino)etil]metanosulfonamida]: la señal que se observa a 113,7 ppm corresponde a un carbono cuaternario (no observable en el espectro DEPT 135) y se asigna a  $\text{C}_4$ . Este valor experimental es similar al calculado para dicho carbono en el tautómero II (113,8 ppm) frente al desplazamiento de 121,4 ppm estimado para  $\text{C}_4$  en el tautómero I. Análogamente la señal de CH observada a 124,9 ppm ó 125,5 ppm se aproxima al valor de 123,2 ppm calculado para  $\text{C}_7$  en la forma tautómera II y está bastante alejada del valor teórico (115,6 ppm) estimado para  $\text{C}_7$  en el tautómero I.

**Tabla VIII.** Desplazamientos de  $^{13}\text{C}$ -RMN ( $\delta/\text{ppm}$ ) de las señales correspondientes al homociclo de las 4-bencimidazolcarboxamidas y 4-bencimidazolcarboxilatos de estructura general I.



Comp. (tautómero)	R <sup>1</sup>	Y	Subunidad Básica	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>	C <sub>6</sub>	C <sub>7</sub>	C <sub>3a</sub>	C <sub>7a</sub>
I <sup>a</sup>	H	NH	H	125,2	119,9	121,9	114,4	141,1	133,8
II <sup>a</sup>	H	NH	H	117,6	121,2	120,6	122,0	133,1	141,8
UCM-21195 <sup>b</sup>	H	NH		122,3*	122,3*	122,2*	116,0	139,6	134,8
I <sup>c</sup>	H	NH	H	124,3	119,7	122,3	115,1	140,9	134,2
II <sup>c</sup>	H	NH	H	116,7	121,0	121,0	122,7	132,9	142,2
UCM-21195 <sup>d</sup>	H	NH		122,4	122,6*	123,1*	115,5	140,4	133,9

Tabla VIII. (Continuación).


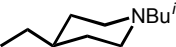
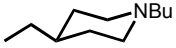

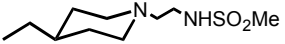
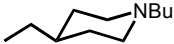
Comp. (tautómero)	R <sup>1</sup>	Y	Subunidad Básica	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>	C <sub>6</sub>	C <sub>7</sub>	C <sub>3a</sub>	C <sub>7a</sub>
I <sup>a</sup>	Cl	NH	H	127,2	120,0	126,8	114,5	139,9	135,8
II <sup>a</sup>	Cl	NH	H	119,6	121,3	125,5	122,1	131,9	143,8
<b>9<sup>b</sup></b>	Cl	NH		122,6*	121,8	126,5*	116,2	136,2 <sup>#</sup>	137,5 <sup>#</sup>
I <sup>c</sup>	Cl	NH	H	125,7	120,1	128,6	115,5	139,0	135,6
II <sup>c</sup>	Cl	NH	H	118,1	121,4	127,3	123,1	131,0	143,6
<b>13<sup>d</sup></b>	Cl	NH		123,5	123,5	128,7	115,1	139,1	133,5
I <sup>a</sup>	Br	NH	H	127,2	123,0	115,7	117,5	139,9	135,8
II <sup>a</sup>	Br	NH	H	119,6	124,3	114,4	125,1	131,9	143,8
<b>18<sup>b</sup></b>	Br	NH		123,0	124,6	114,3	119,1	137,0*	137,9*
I <sup>a</sup>	H	O	Et	121,1	121,7	122,7	116,7	142,9	134,6
II <sup>a</sup>	H	O	Et	113,5	123,0	121,4	124,3	134,9	142,6
<b>26<sup>b</sup></b>	H	O		114,2	124,4*	121,2	124,8*	132,7	144,4



Tabla VIII. (Continuación).

Comp. (tautómero)	R <sup>1</sup>	Y	Subunidad Básica	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>	C <sub>6</sub>	C <sub>7</sub>	C <sub>3a</sub>	C <sub>7a</sub>
I <sup>c</sup>	H	O	Et	121,4	121,9	121,7	115,6	143,1	133,6
II <sup>c</sup>	H	O	Et	113,8	123,2	120,4	123,2	135,1	141,6
<b>28<sup>d</sup></b>	H	O		113,7	124,9*	121,7	125,5*	133,3	143,6
I <sup>c</sup>	Cl	O	Et	122,8	122,3	128,0	116,0	141,2	135,0
II <sup>c</sup>	Cl	O	Et	115,2	123,6	126,7	123,6	133,2	143,0
<b>31<sup>d</sup></b>	Cl	O		114,5	125,0	127,4	125,0	131,9	144,5

<sup>a</sup> Valores calculados a partir de las referencias 268 y 269 en Me<sub>2</sub>SO-*d*<sub>6</sub>.

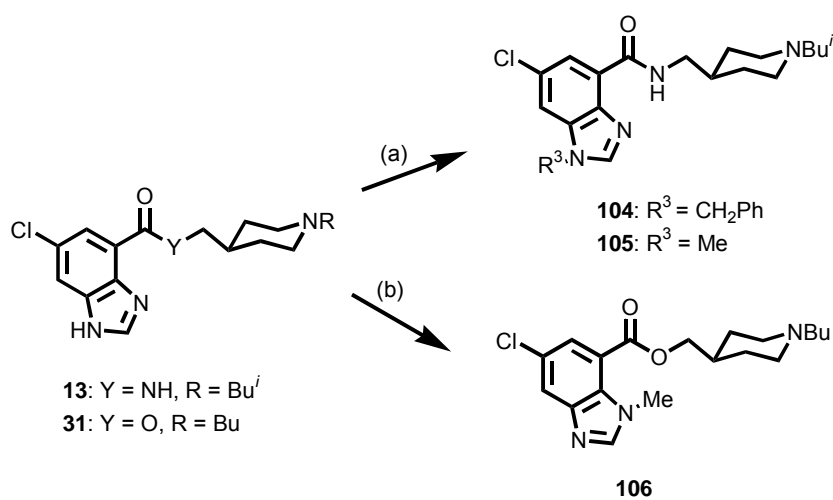
<sup>b</sup> Valores experimentales en Me<sub>2</sub>SO-*d*<sub>6</sub> fijando el grupo acilo en la posición 4.

<sup>c</sup> Valores calculados a partir de las referencias 268 y 269 en CDCl<sub>3</sub>.

<sup>d</sup> Valores experimentales en CDCl<sub>3</sub> fijando el grupo acilo en la posición 4.

\*. # Estas señales pueden estar intercambiadas.

Con el fin de obtener una confirmación adicional a la preferencia del equilibrio tautómero de las amidas y ésteres **I** derivados del ácido 4-bencimidazolcarboxílico, se llevó a cabo la síntesis de nuevos análogos N<sub>1</sub> ó N<sub>3</sub>-alquilados **104-106**, como se indica en el Esquema 31.

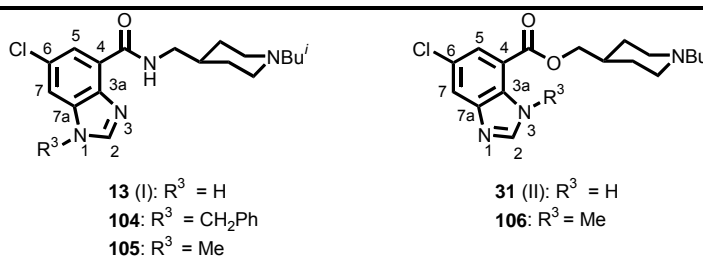


Reactivos: (a) (**13**) NaH, PhCH<sub>2</sub>Cl, DMF o BuLi, MeI, THF; (b) (**31**) NaH, MeI, DMF

**Esquema 31**

La posición de alquilación en los compuestos **105** y **106** fue confirmada mediante experimentos HMBC a partir del pico de cruce correspondiente al acoplamiento de los protones del grupo metilo con el carbono cuaternario adyacente al nitrógeno metilado. Los datos de <sup>13</sup>C-RMN para las amidas alquiladas **104**, **105** y el éster metilado **106**, en los que se retiene la tautomería, son muy similares a los de sus precursores no alquilados **13** y **31** respectivamente, lo que confirma la bondad de los cálculos teóricos utilizados para la asignación de los carbonos y la estimación del equilibrio tautómero en disolución (Tabla IX).

**Tabla IX.** Desplazamientos de  $^{13}\text{C}$ -RMN ( $\delta/\text{ppm}$ ) de las señales correspondientes al homociclo de las amidas **13**, **104** y **105** y de los ésteres **31** y **106**.



Comp. (tautómero)	$\text{C}_4$	$\text{C}_5$	$\text{C}_6$	$\text{C}_7$	$\text{C}_{3a}$	$\text{C}_{7a}$
I <sup>a</sup>	125,7	120,1	128,6	115,5	139,0	135,6
<b>13</b> <sup>b</sup>	123,5	123,5	128,7	115,1	139,1	133,5
<b>105</b> <sup>b</sup>	124,7	124,4	129,3	112,5	139,6	135,3
I <sup>c</sup>	127,2	120,0	126,8	114,5	139,9	135,8
<b>104</b> <sup>d</sup>	124,1*	122,7	127,1*	114,2	139,5	134,9
II <sup>a</sup>	115,2	123,6	126,7	123,6	133,2	143,0
<b>31</b> <sup>b</sup>	114,5	125,0	127,4	125,0	131,9	144,5
<b>106</b> <sup>b</sup>	117,1	126,0*	126,8	124,5*	131,5	146,8

<sup>a</sup> Valores calculados a partir de las referencias 268 y 269 en  $\text{CDCl}_3$ .

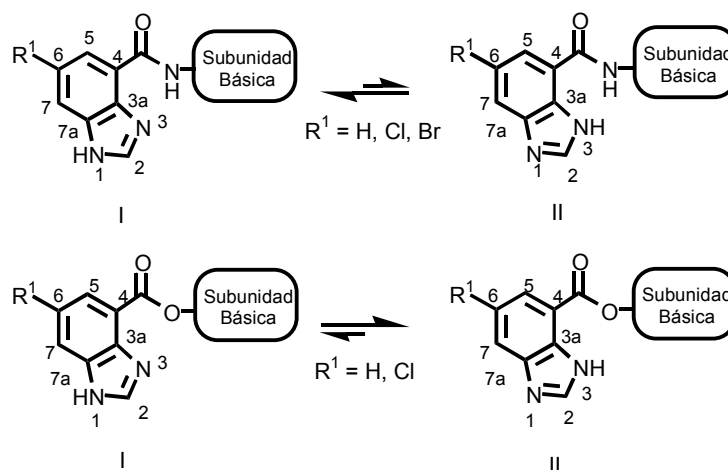
<sup>b</sup> Valores experimentales en  $\text{CDCl}_3$  fijando el grupo acilo en la posición 4.

<sup>c</sup> Valores calculados a partir de las referencias 268 y 269 en  $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ .

<sup>d</sup> Valores experimentales en  $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$  fijando el grupo acilo en la posición 4.

\* Estas señales pueden estar intercambiadas.

Por tanto, del análisis de los desplazamientos químicos de  $^{13}\text{C}$ -RMN en los compuestos de estructura general I analizados, se deduce que el equilibrio tautómero en disolución se encontraría desplazado hacia la forma I en el caso de las 4-carboxamidas, mientras que en los ésteres predominaría el tautómero II, tanto en los derivados 6-halosustituídos como en los no sustituidos (Figura 23).



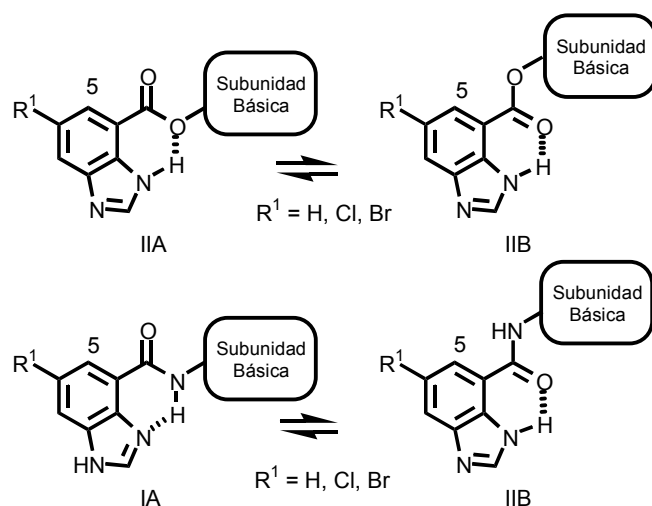
**Figura 23.** Desplazamiento del equilibrio tautómero en disolución de las amidas y ésteres derivados de los ácidos 4-benzimidazolcarboxílico y 6-halo-4-benzimidazolcarboxílico. (Para facilitar el análisis comparativo de los desplazamientos de <sup>13</sup>C-RMN experimentales y los calculados para los tautómeros I y II, ambos se han numerado fijando arbitrariamente el grupo acilo en la posición 4).

La mayor estabilidad del tautómero II de los ésteres frente al tautómero I podría ser atribuida a la existencia de un enlace de hidrógeno intramolecular entre el N<sub>3</sub>-H benzimidazólico y el grupo carboxilato, no existiendo tal posibilidad en el tautómero I (Figura 24). La realización de experimentos de <sup>1</sup>H-RMN a temperatura variable, de 20 °C a 100 °C en Me<sub>2</sub>SO-*d*<sub>6</sub>, para el éster **28** [R<sup>1</sup>=H, subunidad básica=*N*-[2-(4-metilpiperidino)etil]metanosulfonamida] confirmó que efectivamente el NH benzimidazólico está involucrado en un enlace de hidrógeno intramolecular. Así, en la Figura 25a se observa una relación lineal ( $r^2=0,998$ ; pendiente= $-5,55 \times 10^{-3}$  ppm/°C) entre la señal del protón correspondiente a dicho NH y la temperatura<sup>270</sup> [ $\delta_{\text{NH}}(20\text{ °C})=12,51$  ppm;  $\delta_{\text{NH}}(100\text{ °C})=12,08$  ppm], confirmándose experimentalmente que en disolución el equilibrio tautómero de los ésteres se encuentra desplazado hacia la forma II, tal y como indicaban los cálculos teóricos.

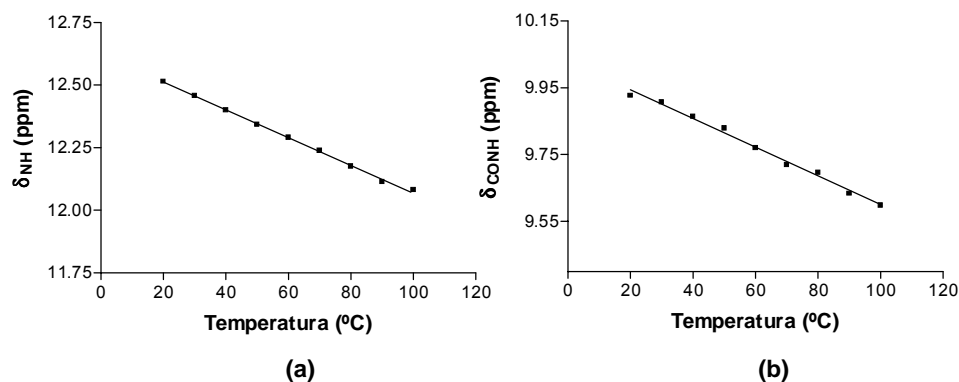
En las 4-benzimidazolcarboxamidas es posible plantear la existencia de un enlace de hidrógeno intramolecular en ambos tautómeros I y II, debido al carácter dador-aceptor del grupo amida (Figura 24). Sin embargo, en la realización de los

<sup>270</sup>(a) Ovchinnikov, Y.A.; Ivanov, V.T. *Tetrahedron*, **1975**, 31, 2177. (b) Kessler, H. *Angew. Chem. Int., Ed. Engl.*, **1982**, 21, 512. (c) Curran, T.P.; Chandler, N.M.; Kennedy, R.J.; Keane, M.T. *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37, 1933. (d) Crisp, G.T.; Jiang, Y.-L. *Tetrahedron*, **1999**, 55, 549.

experimentos de  $^1\text{H}$ -RMN a temperatura variable para la amida UCM-21195 [ $\text{R}^1=\text{H}$ , subunidad básica=(1-butil-4-piperidil)metilo], se observó una correlación lineal entre el desplazamiento químico de la señal correspondiente al NH amídico [ $\delta_{\text{CONH}}(20\text{ }^\circ\text{C})=9,93\text{ ppm}$ ;  $\delta_{\text{CONH}}(100\text{ }^\circ\text{C})=9,60\text{ ppm}$ ] y la temperatura ( $r^2=0,992$ ; pendiente= $-4,3\times 10^{-3}\text{ ppm}/^\circ\text{C}$ ) (Figura 25b). En este caso es el NH de la amida el que está involucrado en un enlace de hidrógeno lo que ratifica, al igual que los desplazamientos químicos de  $^{13}\text{C}$ , el predominio de la forma I en disolución, ya que sólo este tautómero puede formar dicho enlace de hidrógeno intramolecular. Las señales son independientes de la concentración de soluto, excluyendo la posibilidad de asociaciones intermoleculares.



**Figura 24.** Estructuras susceptibles de formar un enlace de hidrógeno intramolecular en los derivados de los ácidos 4-benzimidazolcarboxílico y 6-halo-4-benzimidazolcarboxílico de estructura general I. I y II denotan el tautómero anular del benzimidazol, y las letras A y B hacen referencia al rotámero *sin* o *anti* del grupo carbonilo respecto a  $\text{H}_5$ .



**Figura 25.** Representación de los valores de desplazamiento químico (ppm): (a) del NH del anillo de bencimidazol frente a la temperatura, para el éster **28** [ $R^1=H$ , subunidad básica=*N*-[2-(4-metilpiperidino)etil]metanosulfonamida]; (b) del NH de la amida frente a la temperatura, para el compuesto UCM-21195 [ $R^1=H$ , subunidad básica=(1-butil-4-piperidil)metilo].

La presencia de estos enlaces de hidrógeno intramoleculares se ha visto corroborada mediante la realización de espectros IR a distintas concentraciones (1 M,  $10^{-1}$  M,  $10^{-2}$  M) en cloroformo, en un espectrofotómetro de doble haz con compensación del disolvente. En espectroscopía IR la formación de un enlace de hidrógeno A-H $\cdots$ B implica un ensanchamiento y un desplazamiento a menor número de ondas de la banda de tensión A-H asociado con relación a la correspondiente a A-H libre. La técnica de IR permite distinguir entre una asociación por enlace de hidrógeno intermolecular o intramolecular, ya que sólo en el primer caso se observa una intensificación de los picos correspondientes a las bandas de tensión A-H asociado al aumentar la concentración, no viéndose afectadas en el segundo caso<sup>271</sup>. En el caso del éster UCM-31193<sup>272</sup> [ $R^1=H$ , subunidad básica=quinuclidin-3-ilo] se observa que la intensidad de la banda de NH asociado del bencimidazol ( $3200\text{ cm}^{-1}$ ) no se afecta con la dilución. Esto indica la implicación del NH bencimidazólico de los ésteres en un enlace de hidrógeno intramolecular. El análisis de los espectros IR de la amida UCM-21195 [ $R^1=H$ , subunidad básica=(1-butil-4-piperidil)metilo] resulta más complejo, al estar presentes en la misma región las bandas de los NH del grupo amida y del anillo de bencimidazol. No obstante, por comparación con los espectros anteriores es posible distinguir entre las bandas asociadas de uno y otro tipo de NH. Al

<sup>271</sup>(a) Aaron, H.S. *Top. Stereochem.*, **1979**, 11, 1. (b) Symons, M.C.R. *Chem. Soc. Rev.*, **1983**, 12, 1.

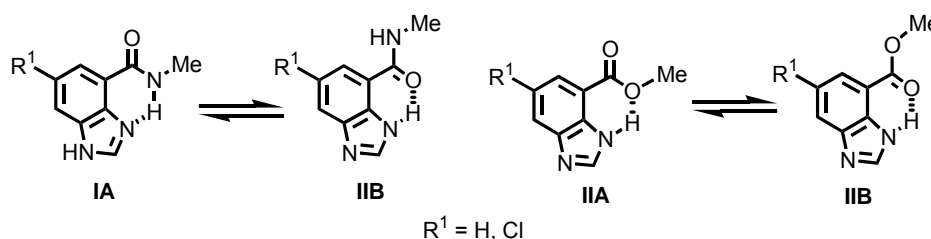
<sup>272</sup>Véase nota 223.

aumentar la dilución, se observa una disminución de la intensidad de la banda de NH bencimidazólico asociado ( $3200\text{ cm}^{-1}$ ), no afectándose la banda correspondiente al NH amídico asociado ( $3300\text{ cm}^{-1}$ ). Este experimento confirma la presencia de un enlace de hidrógeno intramolecular entre el NH amídico y el bencimidazol en las 4-bencimidazolcarboxamidas.

La existencia de un enlace de hidrógeno intramolecular en las 4-bencimidazolcarboxamidas y 4-bencimidazolcarboxilatos supone, además del desplazamiento del equilibrio tautomero del heterociclo, una restricción conformacional importante en la rotación alrededor del enlace entre el carbono carbonílico y el C<sub>4</sub> del bencimidazol. Así, el carbonilo puede situarse en una disposición *sin* (rotámero A) o *anti* (rotámero B) respecto al hidrógeno de la posición 5 del anillo de bencimidazol (véase Figura 24, página 138). En las 4-bencimidazolcarboxamidas ambos tautómeros pueden considerarse monoconformacionales en cuanto a la disposición del grupo carbonilo respecto al anillo aromático, por la existencia de un enlace de hidrógeno intramolecular entre el NH amídico y el nitrógeno bencimidazólico N<sub>3</sub> en la forma tautómera I, lo que fija el rotámero A, o bien entre el oxígeno carbonílico y el N<sub>3</sub>-H aromático en el tautómero II, fijándose el rotámero B (Figura 24). En cuanto a los ésteres derivados del ácido 4-bencimidazolcarboxílico, y de acuerdo a los datos de RMN e IR, la estructura en disolución se correspondería con el tautómero II. En este tautómero, tanto el oxígeno del grupo carbonilo (rotámero B) como el oxígeno del carboxilato (rotámero A) pueden actuar como aceptores del enlace de hidrógeno intramolecular con el N<sub>3</sub>-H del bencimidazol, siendo posible la formulación de las conformaciones IIA y IIB para dicho tautómero (Figura 24). La mayor basicidad, y por tanto mayor capacidad aceptora, del oxígeno carbonílico, junto con la disminución de la frecuencia de la banda de tensión carbonílica para estos carboxilatos ( $1700\text{ cm}^{-1}$  aproximadamente) respecto de la banda de carbonilo libre en el éster N<sub>3</sub>-metilado **106** ( $1720\text{ cm}^{-1}$ ), son consistentes con que sea el oxígeno del carbonilo el aceptor de dicho enlace de hidrógeno y por tanto IIB la conformación predominante en disolución.

Adicionalmente, se han llevado a cabo cálculos *ab initio* para estudiar tanto el equilibrio prototrópico (tautómero I ó II) como la conformación del grupo carbonilo (rotámero A o B) en los derivados del ácido 4-bencimidazolcarboxílico de estructura general I. Para ello, se llevó a cabo la optimización geométrica

completa de las correspondientes *N*-metil-4-bencimidazolcarboxamidas, como modelo de las amidas **I**, y del 4-bencimidazolcarboxilato de metilo como modelo de los ésteres **I** (Figuras 26), utilizando el sistema de programas GAUSSIAN-98<sup>273</sup>.



**Figura 26.** Análogos empleados como modelos en el análisis del equilibrio prototrópico y la conformación rotacional del grupo carbonilo mediante cálculos *ab initio* en la serie de derivados del ácido 4-bencimidazolcarboxílico de estructura general **I**.

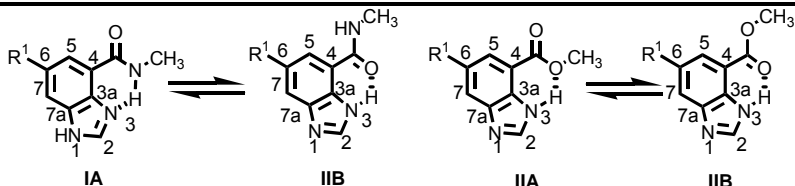
La Tabla X muestra la diferencia de energía ( $\Delta V$ ) y la diferencia de energía libre tanto a vacío ( $\Delta G$ ) como en disolución acuosa ( $\Delta G + \Delta \Delta G_{\text{solv}}$ ) entre las estructuras A y B, susceptibles de formar un enlace de hidrógeno (Figura 26). Los datos expresados en dicha tabla muestran que en la 4-bencimidazolcarboxamida ( $R^1=H$ ), la conformación IA es ligeramente más estable que la IIB ( $\Delta G = -0,3 \text{ Kcal.mol}^{-1}$  a vacío;  $\Delta G + \Delta \Delta G_{\text{solv}} = -2,2 \text{ Kcal.mol}^{-1}$  en disolución), manteniéndose la misma tendencia para la amida 6-clorosustituida ( $R^1=Cl$ ) ( $\Delta G = -0,4 \text{ Kcal.mol}^{-1}$ ;  $\Delta G + \Delta \Delta G_{\text{solv}} = -1,2 \text{ Kcal.mol}^{-1}$ ). Asimismo, la conformación IIB del carboxilato ( $R^1=H$ ) es más estable que la IIA ( $\Delta G = 1,3 \text{ Kcal.mol}^{-1}$ ;  $\Delta G + \Delta \Delta G_{\text{solv}} = 1,1 \text{ Kcal.mol}^{-1}$ ). Estos resultados están de acuerdo con las conclusiones de los estudios a partir de datos experimentales de RMN y espectroscopía IR, por lo que validan los métodos teóricos empleados en este estudio computacional. Podemos concluir, por tanto, que en las 4-bencimidazolcarboxamidas el grupo carbonilo adopta preferentemente la conformación *sin* respecto al hidrógeno de la posición 5

<sup>273</sup>Frisch, M.J.; Trucks, G.W.; Schlegel, H.B.; Scuseria, G.E.; Robb, M.A.; Cheeseman, J.R.; Zakrzewski, V.G.; Montgomery, J.A.; Keith, T.A.; Petersson, G.A.; Raghavachari, K.; Al-Laham, A.; Stratmann, R.E.; Burant, J.C.; Dapprich, S.; Millam, J.M.; Daniels, A.D.; Kudin, K.N.; Strain, M.C.; Farkas, O.; Tomasi, J.; Barone, V.; Cossi, M.; Cammi, R.; Mennucci, B.; Pomelli, C.; Adamo, C.; Clifford, S.; Ochterski, J.; Petersson, G.A.; Ayala, P.Y.; Cui, Q.; Morokuma, K.; Malick, D.K.; Rabuck, A.D.; Raghavachari, K.; Foresman, J.B.; Cioslowski, J.; Ortiz, J.V.; Stefanov, B.B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Gomperts, R.; Martin, R.L.; Fox, D.J.; Keith, T.; Al-Laham, M.A.; Peng, C.Y.; Nanayakkara, A.; Gonzalez, C.; Challacombe, M.; Gill, P.M.W.; Johnson, B.G.; Chen, W.; Wong, W.; Andres, J.L.; Head-Gordon, M.; Replogle, E.S.; Pople, J.A. Gaussian 98, Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, 1998.



(rotámero A), quedando libre para actuar como potencial aceptor de enlace de hidrógeno en su interacción con el receptor. Por el contrario, en los carboxilatos el grupo carbonilo se sitúa formando un enlace de hidrógeno intramolecular con el nitrógeno bencimidazólico (rotámero B), lo que impediría su interacción con el receptor.

**Tabla X.** Diferencias de energía ( $\Delta V$ ) y de energía libre a vacío ( $\Delta G$ ) y en disolución acuosa ( $\Delta G + \Delta \Delta G_{\text{solv}}$ ) entre las estructuras A y B, y energías de solvatación de las estructuras A ( $\Delta G_{\text{solv}}^A$ ) y B ( $\Delta G_{\text{solv}}^B$ ) de las *N*-metil-4-bencimidazolcarboxamidas y el 4-bencimidazolcarboxilato de metilo utilizados como modelos de los derivados del ácido 4-bencimidazolcarboxílico de estructura general I. Las energías se expresan en  $\text{Kcal.mol}^{-1}$ .



Modelo	R <sup>1</sup>	$\Delta V^a$	$\Delta G^b$	$\Delta G_{\text{solv}}^A^c$	$\Delta G_{\text{solv}}^B^c$	$\Delta G + \Delta \Delta G_{\text{solv}}^d$
amida	H	-0,04	-0,32	-8,65	-6,75	-2,22
amida	Cl	0,08	-0,44	-7,52	-6,80	-1,16
éster	H	1,80	1,31	-4,41	-4,19	1,09

<sup>a</sup> Diferencia de energía entre las estructuras A y B ( $V^A - V^B$ ), calculada a nivel B3LYP<sup>274</sup>/6-311G\*\*// B3LYP/6-31G\*\*.

<sup>b</sup> La corrección térmica a la energía libre de Gibbs a 298,15 K, calculada a partir del modo normal de las frecuencias vibracionales, se adiciona a  $\Delta V$ .

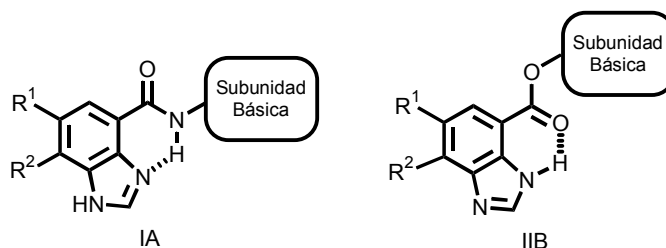
<sup>c</sup> Calculada con el modelo de polarización continua<sup>275</sup> a nivel B3LYP/6-311G\*\*.

<sup>d</sup>  $\Delta \Delta G_{\text{solv}}$  se calcula como  $\Delta \Delta G_{\text{solv}} = \Delta G_{\text{solv}}^A - \Delta G_{\text{solv}}^B$ .

<sup>274</sup> Becke, A.D. *J. Chem. Phys.*, **1993**, 98, 5648.

<sup>275</sup> (a) Miertus, S.; Scrocco, E.; Tomasi, J. *Chem. Phys.*, **1981**, 55, 117-124. (b) Miertus, S.; Tomasi, J. *Chem. Phys.*, **1982**, 65, 239-245.

La interpretación de todos estos resultados lleva a la formulación de la estructuras representadas en la Figura 27 para las amidas y ésteres de estructura general I derivados del ácido 4-bencimidazolcarboxílico, en disolución.



**Figura 27.** Estructura predominante en disolución para las amidas y ésteres derivados del ácido 4-bencimidazolcarboxílico de estructura general I.

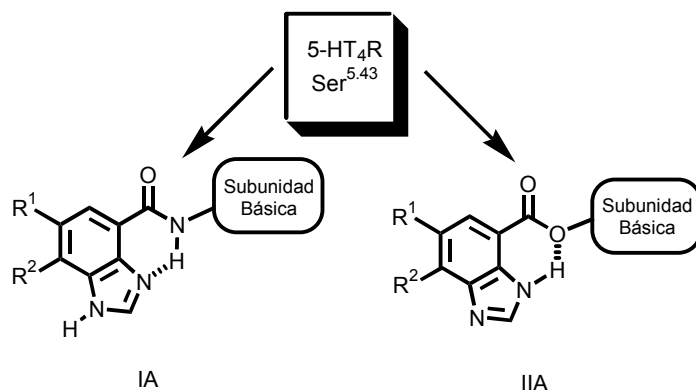
Estudios de relación estructura-afinidad<sup>276</sup> así como el modelo de farmacóforo propuesto para antagonistas del receptor 5-HT<sub>4</sub><sup>277</sup> muestran que el grupo carbonilo es un elemento estructural clave para su reconocimiento por el sitio de unión. Además, experimentos recientes de mutagénesis dirigida<sup>278</sup> en este receptor han revelado que el residuo de Ser<sup>5.43</sup> es un punto de unión clave tanto en el reconocimiento de agonistas como de antagonistas mediante la formación un enlace de hidrógeno con el ligando. Estos estudios sugieren que el grupo carbonilo del antagonista GR 113808 (página 7) forma un enlace de hidrógeno con el grupo hidroxilo de la cadena lateral de la Ser<sup>5.43</sup> en su unión al receptor 5-HT<sub>4</sub><sup>278</sup>. En este sentido, en nuestra hipótesis de trabajo hemos asumido como conformación bioactiva de los nuevos ligandos 5-HT<sub>4</sub> derivados de bencimidazol de estructura general I las estructuras A representadas en la Figura 28, en las que la existencia de un enlace de hidrógeno intramolecular N<sub>3</sub>/CONH o N<sub>3</sub>-H/COO<sub>2</sub> fija al grupo carbonilo en un plano paralelamente al hidrógeno de la posición 5, formándose un pseudociclo de seis eslabones que impone una clara restricción conformacional de la cadena unida al grupo acilo. Así, el grupo carbonilo de estos ligandos puede actuar como aceptor de enlace de hidrógeno en su interacción con el sitio de unión del receptor 5-HT<sub>4</sub>. Esta hipótesis implica los 4-bencimidazolcarboxilatos deben experimentar un cambio conformacional en su interacción con el receptor. La energía estimada para dicho cambio conformacional es del orden de 1 Kcal·mol<sup>-1</sup>

<sup>276</sup>Véase nota 16.

<sup>277</sup>Véase nota 27.

<sup>278</sup>Mialet, J.; Dahmoune, Y.; Lezoualc'h, F.; Berque-Bestel, I.; Eftekhari, P.; Hoebeke, J.; Sicsic, S.; Langlois, M.; Fischmeister, R. *Br. J. Pharmacol.*, **2000**, *13*, 527.

en disolución (véase Tabla X) y podría ser fácilmente compensada por la energía de interacción ligando-receptor.

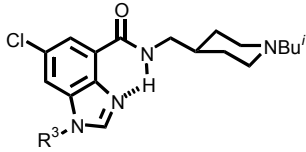
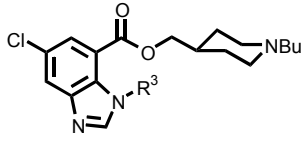


**Figura 28.** Hipótesis de conformación bioactiva para las 4-bencimidazolcarboxamidas y carboxilatos de estructura general I en su interacción con el receptor 5-HT<sub>4</sub>.

Los datos de afinidad por el receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub> de los compuestos metilados **105**, **106** (Tabla XI) apoyan la hipótesis de las estructuras propuestas en la Figura 28 como conformación bioactiva para las 4-bencimidazolcarboxamidas y carboxilatos I. Así, la metilación de **31** en el N<sub>3</sub> supone la pérdida del enlace de hidrógeno intramolecular y una disminución en la afinidad 5-HT<sub>4</sub> [ $K_i(\mathbf{31})=2,9$  vs  $K_i(\mathbf{106})=241$  nM nM], lo que sugiere la importancia del enlace de hidrógeno intramolecular y confirma que la coplanaridad del grupo carbonilo y el sistema de bencimidazol es un elemento estructural clave para una elevada afinidad 5-HT<sub>4</sub><sup>279</sup>. En este sentido la amida N<sub>1</sub>-metilada **105**, en la que el enlace de hidrógeno intramolecular se mantiene inalterado respecto a la conformación bioactiva de las bencimidazolcarboxamidas no alquiladas, sigue presentando una alta afinidad 5-HT<sub>4</sub> [ $K_i(\mathbf{13})=0,29$  nM vs  $K_i(\mathbf{105})=2,2$  nM].

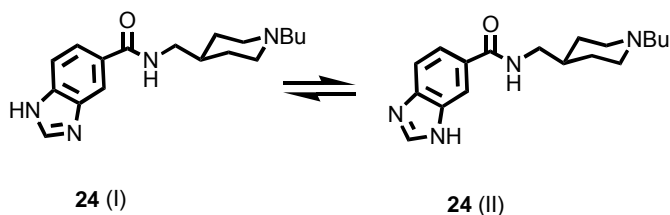
<sup>279</sup>Véase nota 27.

**Tabla XI.** Comparación de los datos de afinidad receptoral 5-HT<sub>4</sub> *in vitro*<sup>a</sup> de los compuestos **13**, **31** y los derivados alquilados **105**, **106**.

				Comp.	K <sub>i</sub> ±E.E. (nM) <sup>a</sup>
<b>13</b> (IA): R <sup>3</sup> = H		<b>31</b> (IIA): R <sup>3</sup> = H		<b>13</b>	0,29±0,04
<b>105</b> : R <sup>3</sup> = Me		<b>106</b> : R <sup>3</sup> = Me		<b>105</b>	2,2±0,2
				<b>31</b>	2,9±0,4
				<b>106</b>	241±3

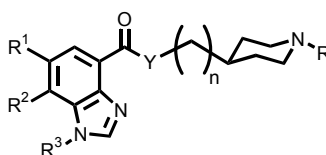
<sup>a</sup> Los datos representan el valor medio de K<sub>i</sub> (nM) y su error estándar de dos a cuatro experimentos individuales realizados por triplicado.

La importancia del enlace de hidrógeno intramolecular, no sólo en la fijación del tautómero anular del bencimidazol sino también contribuyendo a la coplanaridad del grupo carbonilo, se pone asimismo de manifiesto en la inactividad de la 5-bencimidazolcarboxamida **24** regioisómera del cabeza de serie UCM-21195 (véase Tabla IV, página 119), donde no existe posibilidad de enlace de hidrógeno intramolecular (Figura 29). Este resultado indica que la disposición del anillo de bencimidazol en el sitio de unión del receptor juega un papel clave en el reconocimiento de los ligandos de estructura general I.

**Figura 28.** Equilibrio tautómero de la 5-bencimidazolcarboxamida **24**.

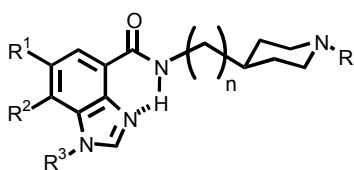
#### 4.5. RELACIÓN ESTRUCTURA-AFINIDAD: ANÁLISIS COMPARATIVO DEL CAMPO MOLECULAR (QSAR-3D/CoMFA)

Con objeto de seguir avanzando en el conocimiento de la interacción de los compuestos de estructura general I con el receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub>, se han llevado a cabo estudios QSAR-3D mediante la metodología CoMFA, los cuales permitirán establecer la relación entre la afinidad de esta nueva clase de antagonistas 5-HT<sub>4</sub> y la estructura de los distintos elementos farmacofóricos. El análisis QSAR-3D/CoMFA se realizó considerando las 4-bencimidazolcarboxamidas y carboxilatos en los que la subunidad básica es un anillo de 1-alkuil-4-piperidilo o (1-alkuil-4-piperidil)metilo, recogidos en la Tabla XII.

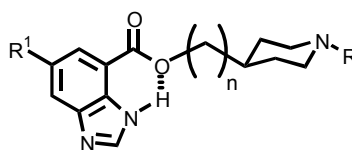


##### 4.5.1. Criterios de superposición

Uno de los pasos cruciales en la metodología CoMFA es la elección de un criterio adecuado de superposición de los ligandos de la serie analizada. De acuerdo con la hipótesis de conformación bioactiva desarrollada previamente en esta memoria (véase apartado 4.4), para la generación del modelo CoMFA se ha considerado la superposición de dicha conformación de los derivados de bencimidazol seleccionados: estructura IA de las carboxamidas (**1-4**, UCM-21195, **5**, **9**, **11-14**, **104**, **105**, **18-23**) y estructura IIA de los carboxilatos (**26-28**, **31**, **32**).



**1-4**, UCM-21195, **5**, **9**, **11-14**,  
**104**, **105**, **18-23** (IA)



**26-28**, **31**, **32** (IIA)

R<sup>1</sup> = H, Cl, Br

R<sup>2</sup> = H, NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>

R<sup>3</sup> = H, CH<sub>2</sub>Ph, Me

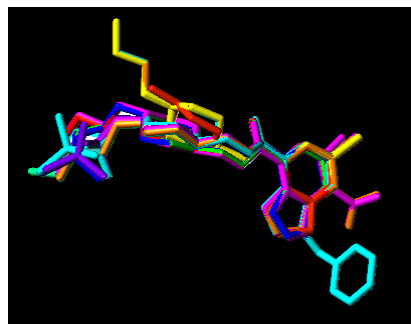
n = 0, 1

R = Me, Et, Pr, Bu, Bu<sup>t</sup>, Pent, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NHSO<sub>2</sub>Me

La optimización geométrica completa de los ligandos, protonados en el nitrógeno piperidínico, se llevó a cabo mediante cálculos semiempíricos empleando el modelo hamiltoniano AM1<sup>280</sup>.

A continuación, el conjunto de los derivados de bencimidazol considerados se orientó en el espacio mediante la superposición de los átomos pesados del anillo común de bencimidazol y de la subunidad de piperidina, tomando el análogo UCM-21195 como compuesto de referencia. Esta superposición (Figura 30) maximiza el solapamiento de los átomos pesados del esqueleto de los ligandos.

**Figura 30.** Superposición de los ligandos empleados en la generación del modelo CoMFA para el receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub>.



#### 4.5.2. Metodología CoMFA

La constante de afinidad ( $K_i$ ) es una función tanto de la estabilización del complejo ligando-receptor como de la energía de solvatación de los ligandos. En este sentido, en la tabla construida para llevar a cabo el estudio CoMFA se han considerado los compuestos como filas, y como columnas dos tipos de variables: la variable dependiente experimental y una serie de parámetros estructurales como variables independientes, que constituyen el resto de las columnas. Así, el  $pK_i$  (M) en el receptor 5-HT<sub>4</sub> (variable dependiente) se expresa como una función de los valores de energía de los campos ésterico y electrostático, para mimetizar la energía de estabilización del complejo ligando-receptor, y de la energía de solvatación ( $\Delta G_{\text{solv}}$ ) como variable independiente adicional en la descripción del modelo QSAR.

<sup>280</sup>Dewar, M.J.S.; Zoebish, E.G.; Healy, E.F.; Stewar, J.J.P. *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, *107*, 3902.

El cálculo de las variables independientes empleadas en el análisis se llevó a cabo mediante la combinación de cálculos *ab initio* y técnicas de mecánica molecular. Todos los cálculos cuánticos se han llevado a cabo con el sistema de programas GAUSSIAN-98<sup>281</sup>, usando el criterio por defecto para la convergencia. Los estudios CoMFA se llevaron a cabo con el módulo QSAR del programa SYBYL 6.5<sup>282</sup>, usando los parámetros por defecto (para detalles computacionales véase apartado 6.1 del capítulo Métodos Computacionales).

#### 4.5.3. Modelo CoMFA generado para los derivados de bencimidazol en el receptor 5-HT<sub>4</sub>

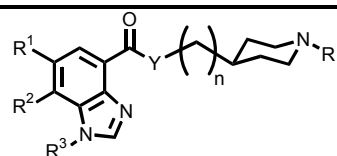
El modelo CoMFA se generó empleando una serie de entrenamiento de veintiún compuestos, marcados con el símbolo § en la Tabla XII. Con objeto de evaluar el poder predictivo del modelo CoMFA generado, los compuestos **1**, **19** y **31** fueron excluidos arbitrariamente de la serie de entrenamiento. Las afinidades de los compuestos de la serie de entrenamiento por el receptor 5-HT<sub>4</sub>, expresadas como p*K*<sub>i</sub> (M), se relacionaron con las variables independientes (campos estérico y electrostático y energías de solvatación) mediante la metodología PLS<sup>283</sup>.

La Tabla XIII muestra los parámetros estadísticos del análisis. El modelo CoMFA generado posee una gran capacidad predictiva con un valor de  $q^2$  ( $r^2_{\text{cross}}$  del análisis PLS mediante LOO) muy elevado ( $q^2=0,789$ ), por lo que constituye una herramienta útil para la predicción de afinidades 5-HT<sub>4</sub>. Además, el modelo no validado presenta un  $r^2$  de 0,997 (8 componentes principales). El campo estérico, el campo electrostático y la energía de solvatación contribuyen a la ecuación QSAR en 43,5%, 50,3% y 6,1%, respectivamente. Como prueba de la solidez del modelo CoMFA, éste se aplicó a los ligandos excluidos (**1**, **19** y **31**). Claramente los valores de p*K*<sub>i</sub> predichos (véase símbolo # en la Tabla XII) están en buen acuerdo con los valores determinados experimentalmente. La comparación de los valores teóricos de p*K*<sub>i</sub> con los observados para la serie total de los veinticuatro compuestos analizados (Tabla XII) refleja igualmente la calidad del análisis, como se observa en la representación gráfica de la Figura 31.

<sup>281</sup>Véase nota 273.

<sup>282</sup>SYBYL; Tripos Inc., 1699 South Handley Rd., St Louis, MO 63144.

<sup>283</sup>Véase nota 162.

**Tabla XII.** Valores de  $K_i$  y  $pK_i$  experimentales y valores de  $pK_i$  predichos ( $pK_i^{\text{pred}}$ ) por el modelo CoMFA generado para el receptor 5-HT<sub>4</sub>.

Comp.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	Y	n	R	$K_i \pm E.E.$ (nM) <sup>a</sup>	$pK_i$ (M)	$pK_i^{\text{pred}}$ (M)
1	H	H	H	NH	0	Me	719±58	6,14	6,38 <sup>#</sup>
2	H	H	H	NH	0	Et	>1000	6,00 <sup>§</sup>	5,91
3	H	H	H	NH	0	Pr	>1000	6,00 <sup>§</sup>	6,02
4	H	H	H	NH	0	Bu	290±54	6,54 <sup>§</sup>	6,61
UCM-21195	H	H	H	NH	1	Bu	13,7±0,9	7,86 <sup>§</sup>	7,97
5	H	H	H	NH	1	MSAE <sup>b</sup>	11,4±3,0	7,94 <sup>§</sup>	7,94
9	Cl	H	H	NH	0	Me	54,0±2,8	7,27 <sup>§</sup>	7,36
11	Cl	H	H	NH	1	Bu	0,32±0,07	9,49 <sup>§</sup>	9,32
12	Cl	H	H	NH	1	MSAE <sup>b</sup>	0,11±0,03	9,96 <sup>§</sup>	9,99
13	Cl	H	H	NH	1	Bu <sup>i</sup>	0,29±0,04	9,54 <sup>§</sup>	9,46
14	Cl	H	H	NH	1	Pent	0,54±0,10	9,27 <sup>§</sup>	9,26
104	Cl	H	Bn <sup>c</sup>	NH	1	Bu <sup>i</sup>	69,2±9,3	7,16 <sup>§</sup>	7,19
105	Cl	H	Me	NH	1	Bu <sup>i</sup>	2,2±0,2	8,66 <sup>§</sup>	8,66
18	Br	H	H	NH	1	Bu	0,64±0,04	9,19 <sup>§</sup>	9,17
19	Cl	NO <sub>2</sub>	H	NH	1	Bu	44,6±2,0	7,35	7,59 <sup>#</sup>
20	Br	NO <sub>2</sub>	H	NH	1	Bu	48,2±6,5	7,32 <sup>§</sup>	7,32
21	Cl	NH <sub>2</sub>	H	NH	1	Bu	22,4±0,6	7,65 <sup>§</sup>	7,75
22	Br	NH <sub>2</sub>	H	NH	1	Bu	27,8±3,3	7,56 <sup>§</sup>	7,63
23	H	NH <sub>2</sub>	H	NH	1	Bu	115±15	6,94 <sup>§</sup>	6,85
26	H	H	H	O	0	Me	>10000	5,00 <sup>§</sup>	4,91
27	H	H	H	O	1	Bu	24,6±0,5	7,61 <sup>§</sup>	7,59
28	H	H	H	O	1	MSAE <sup>b</sup>	26,1±0,3	7,58 <sup>§</sup>	7,59
31	Cl	H	H	O	1	Bu	2,9±0,4	8,54	8,39 <sup>#</sup>
32	Cl	H	H	O	1	MSAE <sup>b</sup>	2,3±1,1	8,64 <sup>§</sup>	8,67

<sup>a</sup> Los datos representan el valor medio de  $K_i$  (nM) y su error estándar de dos a cuatro experimentos individuales realizados por triplicado.

<sup>b</sup> MSAE: 2-[(metilsulfonil)amino]etilo.

<sup>c</sup> Bn: bencilo

<sup>§</sup> Compuestos utilizados en la generación del modelo CoMFA (serie de entrenamiento).

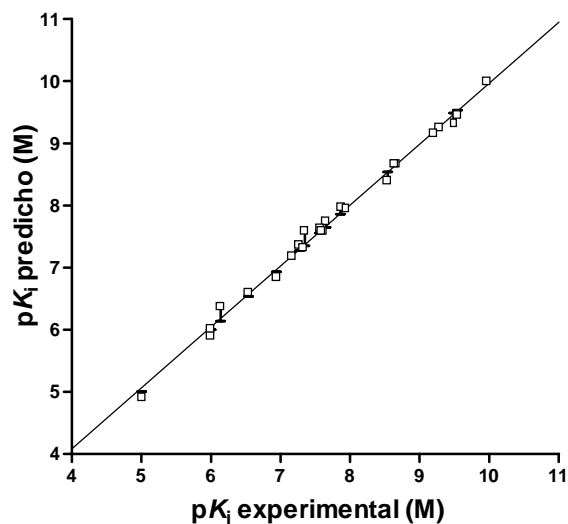
<sup>#</sup> Compuestos excluidos en la generación del modelo CoMFA (empleados en la validación del modelo).



**Tabla XIII.** Parámetros estadísticos del modelo CoMFA generado para el receptor 5-HT<sub>4</sub><sup>a</sup>.

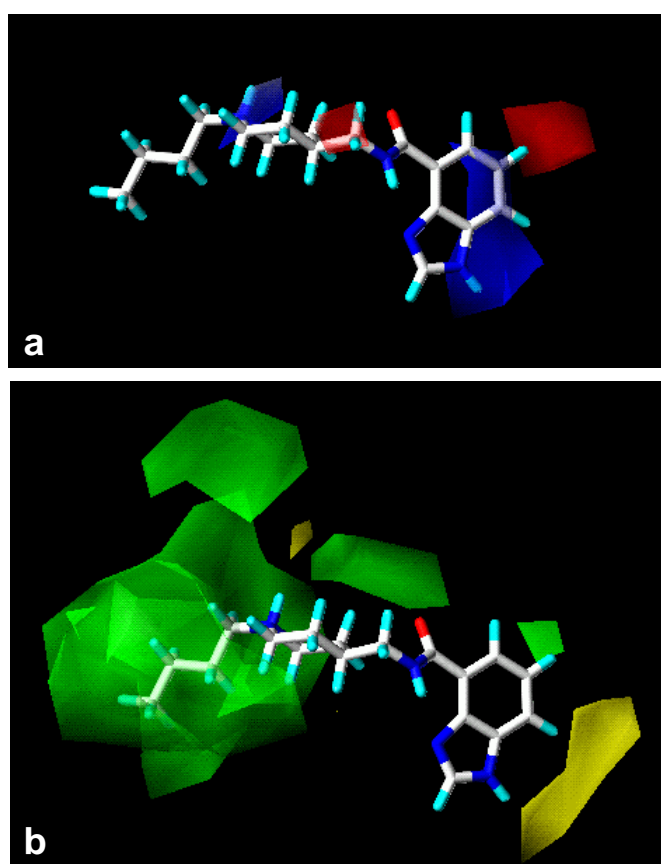
$q^2$	0,789
SEP	0,772
$N$	8
$n$	21
$r^2$	0,997
SEE	0,093
$F$	485,248
$P$	0,000
Contribuciones:	
estérica	43,5
electrostática	50,3
solvatación ( $\Delta G_{\text{solv}}$ )	6,1

<sup>a</sup> Parámetros estadísticos del modelo PLS generado usando los campos CoMFA (estéricos y electrostáticos) y  $\Delta G_{\text{solv}}$  como variables independientes. El valor  $r^2_{\text{cross}}$  del análisis PLS mediante validación cruzada (LOO) se indica como  $q^2$ ; SEP denota el error estándar de la predicción;  $N$  es el número óptimo de componentes principales usado en el análisis PLS;  $n$  es el número de compuestos;  $r^2$  es el coeficiente de correlación correspondiente al análisis PLS no validado; SEE representa el error estándar en la estimación; se indica el valor del estadístico  $F$  para el análisis PLS;  $P$  representa la probabilidad de que  $r^2=0$ ; las contribuciones indican el porcentaje relativo de contribución del campo o  $\Delta G_{\text{solv}}$ .

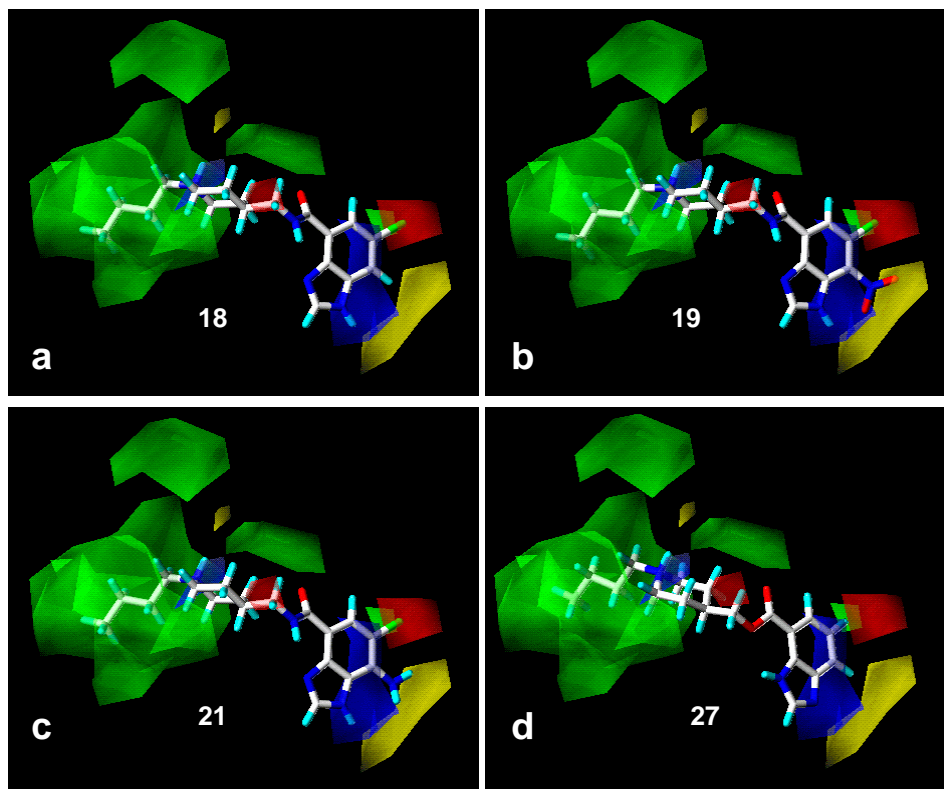
**Figura 31.** Representación de los valores de pK<sub>i</sub> predichos por el modelo CoMFA generado para el receptor 5-HT<sub>4</sub> frente a los valores de pK<sub>i</sub> experimentales ( $n=24$ ,  $r^2=0,9938$ ). Los valores residuales [ $pK_i - pK_i^{\text{pred}}$ ] (M) se indican en forma de barras de error.

Los resultados del análisis realizado se interpretan mejor mediante los mapas de contorno tridimensionales, que visualizan las regiones del espacio alrededor de las moléculas donde las interacciones de índole estérico o electrostático aumentan o disminuyen la afinidad. La Figura 32 muestra una representación de estos mapas de contorno de los campos CoMFA electrostático y estérico, indicando como referencia el cabeza de serie UCM-21195. En la Figura 32a, la presencia en el ligando de una alta densidad electrónica supone un aumento (áreas en color rojo) o disminución (áreas en color azul) de la afinidad por el receptor 5-HT<sub>4</sub>. En el mapa de contorno estérico (Figura 32b) las regiones en color verde representan zonas del espacio que si son ocupadas por el ligando conducen a un aumento en la afinidad, mientras en color amarillo se indican las zonas cuya ocupación conduce a una disminución en la afinidad.

El análisis CoMFA nos permite racionalizar los resultados de afinidad receptoral 5-HT<sub>4</sub> observados. Con respecto al fragmento aromático, el mapa de contorno del campo electrostático (Figura 32a) muestra que una región de alta densidad electrónica es favorable (color rojo) en la posición 6 del anillo de bencimidazol, lo que indica el efecto beneficioso de la introducción de sustituyentes electronegativos en dicha posición. El mapa de contorno estérico (Figura 32b) refleja una pequeña región de color verde (favorable) en dicha posición y una región estéricamente desfavorable (amarilla) alrededor de la posición 7 del anillo de bencimidazol. Como se observa en la Figura 33a-c, en los derivados 6-cloro ó 6-bromosustituidos el átomo de halógeno ocupa el pequeño bolsillo estérico (verde), así como la región favorable a la densidad de carga negativa (roja) situados en esa zona del espacio. Esto justifica el efecto favorable, no sólo electrostático sino también estérico, de la introducción de un átomo de halógeno en la posición 6 del anillo aromático, que induce en todos los casos un notable incremento (uno o dos órdenes de magnitud) en la afinidad por el receptor 5-HT<sub>4</sub> [ $K_i$ (**5**)=11,4 nM vs  $K_i$ (**12**)=0,11 nM;  $K_i$ (UCM-21195)=13,7 nM vs  $K_i$ (**11**)=0,32 vs  $K_i$ (**18**)=0,64 nM;  $K_i$ (**27**)=24,6 nM vs  $K_i$ (**31**)=2,9 nM;  $K_i$ (**28**)=26,1 nM vs  $K_i$ (**32**)=2,3 nM]. Por otro lado, la ocupación de la región amarilla estéricamente desfavorable que tiene lugar al introducir un grupo amino o nitro en la posición 7 del anillo aromático (Figura 33b,c) conduce a una disminución en la afinidad de los derivados **19-23** [ $K_i$ (**11**)=0,32 nM vs  $K_i$ (**19**)=44,6 nM vs  $K_i$ (**21**)=22,4 nM;  $K_i$ (**18**)=0,64 nM vs  $K_i$ (**20**)=48,2 nM vs  $K_i$ (**22**)=27,8 nM;  $K_i$ (UCM-21195)=13,7 nM vs  $K_i$ (**23**)=115 nM].



**Figura 32.** Mapas de contorno electrostático y estérico del modelo CoMFA generado para el receptor 5-HT<sub>4</sub>. El código de colores es el siguiente: (a) *mapa electrostático*, el color rojo indica regiones en las que la presencia de densidad de carga positiva en el ligando va en detrimento de la afinidad y en color azul se representan las regiones donde una densidad de carga positiva en el ligando incrementa la afinidad 5-HT<sub>4</sub>; (b) *mapa estérico*, el color amarillo indica regiones cuya ocupación resulta perjudicial para la afinidad, mientras las regiones verdes representan zonas donde la presencia de un sustituyente voluminoso del ligando es beneficiosa para la afinidad 5-HT<sub>4</sub>. Como referencia se muestra el compuesto cabeza de serie UCM-21195 (Y=NH, n=1, R=Bu, R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=H).



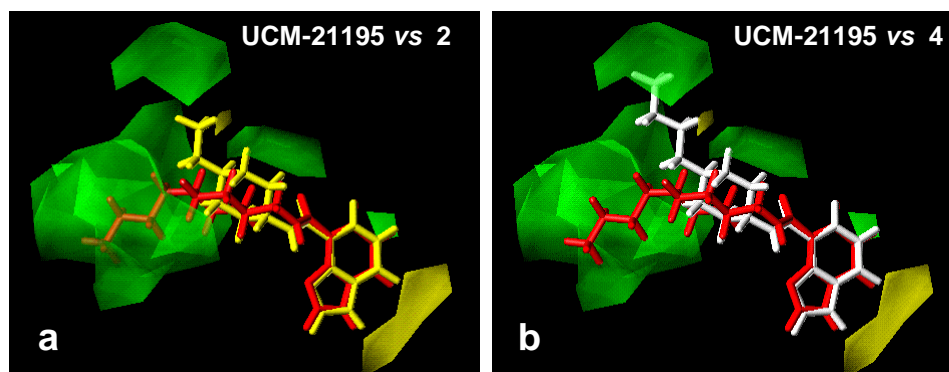
**Figura 33.** Compuestos (a) **18** (Y=NH, n=1, R=Bu, R<sup>1</sup>=Br, R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=H); (b) **19** (Y=NH, n=1, R=Bu, R<sup>1</sup>=Cl, R<sup>2</sup>=NO<sub>2</sub>, R<sup>3</sup>=H); (c) **21** (Y=NH, n=1, R=Bu, R<sup>1</sup>=Cl, R<sup>2</sup>=NH<sub>2</sub>, R<sup>3</sup>=H); y (d) **27** (Y=O, n=1, R=Bu, R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=H) embebidos en los campos estérico (regiones verdes y amarillas) y electrostático (regiones azules y rojas) del modelo CoMFA obtenido para el receptor 5-HT<sub>4</sub>. Se observa como sustituyentes voluminosos y/o electronegativos en la posición 6 del bencimidazol contribuyen favorablemente a la afinidad (región verde y roja), mientras la presencia de sustituyentes voluminosos en la posición 7 del anillo aromático (región amarilla) disminuye la afinidad por el receptor 5-HT<sub>4</sub>.

Por tanto, el anillo bencimidazólico de los ligandos de estructura general **I** debe contener únicamente un sustituyente voluminoso y electronegativo en la posición 6 para una afinidad 5-HT<sub>4</sub> óptima.

Finalmente, respecto a la subunidad básica el mapa electrostático de la Figura 32a (página 152) muestra una zona próxima al nitrógeno farmacofórico en la que la carga positiva incrementa la afinidad (azul). Además, de acuerdo con nuestra hipótesis de farmacóforo para el reconocimiento de antagonistas por el receptor 5-HT<sub>4</sub>, el modelo CoMFA generado presenta un bolsillo hidrofóbico alrededor del nitrógeno básico. En el mapa de contorno estérico de la Figura 32b (página 152) se observa una amplia región estérica favorable (verde) que se extiende alrededor del sustituyente del nitrógeno piperidínico. La ocupación de este área por un sustituyente voluminoso tendrá un efecto positivo en la afinidad. En los análogos **1-4**, **9** y **26**, sin unidad metilénica entre el grupo acilo y el anillo de piperidina, el sustituyente del nitrógeno básico no se acomoda en el área verde (Figura 34a), o bien hay sólo cierta ocupación de la misma al aumentar el tamaño de dicho sustituyente, por ejemplo con un grupo butilo en el ligando **4** (Figura 34b). Estos ligandos resultan así inactivos o poco activos en el receptor 5-HT<sub>4</sub> [e.g.,  $K_i(\mathbf{2}) > 1000$  nM;  $K_i(\mathbf{4}) = 290$  nM]. Por el contrario, el grupo alquilo de los ligandos en los que la subunidad básica es un anillo de (1-alkil-4-piperidil)metilo (UCM-21195, **5**, **11-14**, **18-23**, **27**, **28**, **31**, **32**) se aloja en dicho bolsillo hidrofóbico (Figura 34a,b), lo que supone un notable aumento de la afinidad 5-HT<sub>4</sub> [e.g.,  $K_i(\mathbf{4}) = 290$  nM vs  $K_i(\text{UCM-21195}) = 13,7$  nM]. Estos resultados confirman que tanto la presencia de un sustituyente voluminoso en el nitrógeno básico como la distancia de este nitrógeno al anillo aromático son de gran importancia para una alta afinidad 5-HT<sub>4</sub>, como postulábamos en nuestro modelo de farmacóforo para antagonistas de este receptor<sup>284</sup>.

---

<sup>284</sup>Véase nota 27.



**Figura 34.** Comparación de la ocupación del bolsillo hidrofóbico alrededor del nitrógeno básico (región verde) en el mapa de contorno estérico por parte del ligando UCM-21195 (Y=NH, n=1, R=Bu, R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=H) representado en color rojo y los ligandos (a) **2** (Y=NH, n=0, R=Et, R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=H) representado en color amarillo; y (b) **4** (Y=NH, n=0, R=Bu, R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=H) representado en color blanco. En el compuesto **2** el grupo etilo que tiene como sustituyente el nitrógeno básico no alcanza la región favorable a la ocupación estérica y es inactivo; en el compuesto **4** en el que R es un grupo butilo ya hay cierta ocupación de dicha zona y por tanto afinidad, incrementándose ésta aún más al incorporar una unidad metilénica entre el grupo acilo y el anillo de piperidina en el ligando UCM-21195, que conduce a la ocupación óptima.

#### 4.6. MODELOS DE INTERACCIÓN LIGANDO-RECEPTOR 5-HT<sub>4</sub>

Recientemente, el sitio de unión del receptor 5-HT<sub>4</sub> humano (h5-HT<sub>4a</sub>) ha sido investigado por primera vez mediante experimentos de mutagénesis dirigida<sup>285</sup>. Estos estudios han demostrado que, entre otros, los receptores mutados Ser<sup>5.43</sup>-Ala, Phe<sup>6.51</sup>-Ala y Phe<sup>6.52</sup>-Val/Asn<sup>6.55</sup>-Leu no son capaces de unir al antagonista GR 113808 (página 7). Además, la mutación de la Asn<sup>6.55</sup> por un residuo de Leu, reduce la afinidad de dicho antagonista en un factor de 5,2.

Basándonos en estos resultados y teniendo en cuenta la hipótesis de la conformación bioactiva previamente establecida (véase apartado 4.4) y la estructura cristalográfica 3D de la RHO bovina recientemente publicada<sup>286</sup>, se ha

<sup>285</sup>Véase nota 278.

<sup>286</sup>Véase nota 195.

realizado la simulación computacional del reconocimiento por un modelo 3D del receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub> de la nueva clase de ligandos de estructura general I, representados por el cabeza de serie UCM-21195 y el éster **27** (UCM-26995) [X=4-CONH y X=4-COO respectivamente, R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=H, subunidad básica=(1-butiril-4-piperidil)metilo]. Los cálculos de mecánica cuántica se llevaron a cabo con el sistema de programas GAUSSIAN-98<sup>287</sup>. Las minimizaciones energéticas y simulaciones de dinámica molecular se realizaron con el modulo Sander de AMBER 5<sup>288</sup>.

La identificación de la disposición en el espacio de los residuos esenciales en el reconocimiento de la amida UCM-21195 y el éster UCM-26995 (**27**) por el receptor 5-HT<sub>4</sub> se llevó a cabo mediante la optimización geométrica *ab initio* de los ligandos en el interior de las cadenas laterales de los residuos de Asp<sup>3.32</sup>, Ser<sup>5.43</sup> y Asn<sup>6.55</sup>. La posición de los C<sub>α</sub> de los aminoácidos considerados se mantiene fija en los valores obtenidos en el modelo de los dominios transmembrana del receptor 5-HT<sub>4</sub> (para detalles computacionales véase apartado 6.2.2 del capítulo Métodos Computacionales). En la Figura 35 se muestran las estructuras resultantes para estos modelos tras la optimización geométrica. El complejo ligando-receptor está formado por: *i*) una interacción iónica entre el NH de la piperidina protonada y el átomo O<sub>δ</sub> del Asp<sup>3.32</sup>, a la distancia optimizada entre heteroátomos de 2,55 Å (UCM-21195) ó 2,50 Å (UCM-26995); *ii*) un enlace de hidrógeno entre el oxígeno carbonílico del ligando y el grupo hidroxilo de la Ser<sup>5.43</sup>, a una distancia de 2,79 Å para UCM-21195 y 3,06 Å para UCM-26695; *iii*) un enlace de hidrógeno entre los hidrógenos del grupo amida de la Asn<sup>6.55</sup> y las nubes electrónicas π del anillo aromático<sup>289</sup> del ligando, a una distancia optimizada entre el nitrógeno y el centroide del anillo aromático de 3,69 Å (UCM-21195) ó 4,10 Å (UCM-26995), de manera similar a los enlaces de hidrógeno que se han propuesto entre el benceno y el agua<sup>290</sup>. Asimismo, la naturaleza electrónica del oxígeno del carboxilato en el

---

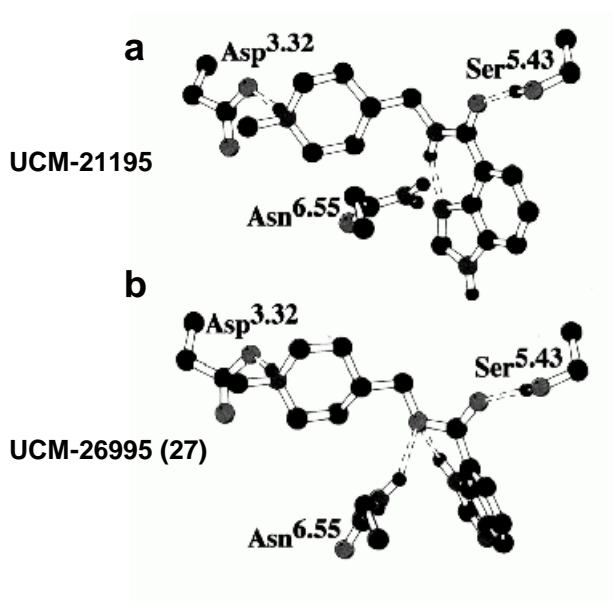
<sup>287</sup>Véase nota 273.

<sup>288</sup>Case, D.A.; Pearlman, D.A.; Caldwell, J.W.; Cheatham III, T.E.; Ross, W.S.; Simmerling, C.L.; Darden, T.A.; Merz, K.M.; Stanton, R.V.; Cheng, A.L.; Vicent, J.J.; Crowley, M.; Ferguson, D.M.; Radmer, R.J.; Seibel, G.L.; Singh, U.C.; Weiner, P.K.; Kollman, P.A.; AMBER 5. University of California, San Francisco, 1997.

<sup>289</sup>Levitt, M.; Perutz, M.F. *J. Mol. Biol.*, **1988**, *201*, 751-754.

<sup>290</sup>Suzuki, S.; Green, P.G.; Bumgarner, R.E.; Dasgupta, S.; Goddard III, W.A.; Blakem G.A. *Science*, **1992**, *257*, 942.

éster UCM-26995 facilita la formación de un enlace de hidrógeno tanto con la Asn<sup>6.55</sup> (3,25 Å), como con el N<sub>3</sub>-H del anillo bencimidazólico (Figura 35b).



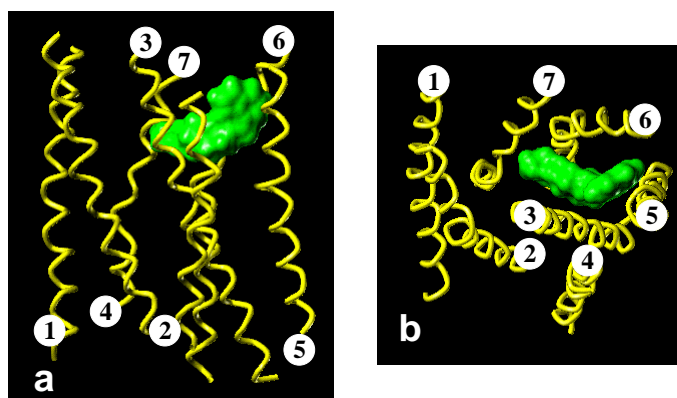
**Figura 35.** Optimización geométrica *ab initio* del sitio de unión del receptor 5-HT<sub>4</sub>, constituido por las cadenas laterales de Asp<sup>3.32</sup>, Ser<sup>5.43</sup> y Asn<sup>6.55</sup> y (a) un modelo de la amida UCM-21195 [X=4-CONH, R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=H, subunidad básica=(1-metil-4-piperidil)metilo]; (b) un modelo del éster UCM-26995 (27) [X=4-COO, R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=H, subunidad básica=(1-metil-4-piperidil)metilo]. No se han representado los hidrógenos no polares para ofrecer una vista más clara del sitio de reconocimiento. Las figuras se han creado con el programa MOLSCRIPT<sup>291</sup>.

Estos modelos reducidos de los complejos ligando-receptor se usaron para situar la amida UCM-21195 y el éster UCM-26995 en el interior de los dominios transmembrana del receptor 5-HT<sub>4</sub>, modelizados a partir de la estructura cristalina de la RHO<sup>292</sup> (para detalles computacionales véase apartado 6.2.1 del capítulo Métodos Computacionales). La Figura 36 muestra una vista a) paralela y b) perpendicular a la membrana, del ligando UCM-21195 en el modelo construido para los dominios transmembrana del receptor.

<sup>291</sup>Kraulis, J. J. *Appl. Crystallogr.*, **1991**, 24, 946.

<sup>292</sup>Véase nota 195.





**Figura 36.** Modelo molecular de los dominios transmembrana del receptor 5-HT<sub>4</sub> contruidos a partir de la estructura cristalográfica 3D de la RHO. El ligando UCM-21195 se muestra en el sitio de unión en una vista (a) paralela a la membrana; (b) perpendicular a la membrana.

Una representación detallada del modelo de interacción de los ligandos UCM-21195 y UCM-26995 en el sitio de unión del receptor 5-HT<sub>4</sub> se muestra en la Figura 37. La piperidina protonada de ambos ligandos se sitúa entre el Asp<sup>3.32</sup> y la Phe<sup>6.51</sup>, y, adicionalmente, el grupo carboxilato del Asp<sup>3.32</sup> forma un enlace de hidrógeno con el grupo hidroxilo del residuo cercano de Thr<sup>3.29</sup> (la Figura 37a muestra estas interacciones para el ligando UCM-21195). Las nubes ricas en electrones del anillo bencénico de la Phe<sup>6.51</sup> interactúan con los átomos de hidrógeno, pobres en electrones, unidos a los carbonos adyacentes al nitrógeno piperidínico protonado del ligando. Mediante biología molecular, se ha demostrado que la sustitución de dicha Phe<sup>6.51</sup> por Ala conduce a la pérdida de afinidad del antagonista GR 113808 (página 7) por el receptor<sup>293</sup>. La importancia del residuo de Phe<sup>6.51</sup> en el reconocimiento de los ligandos por el receptor 5-HT<sub>4</sub> se refleja también en el hecho de que la sustitución del Asp<sup>3.32</sup> por Asn no suponga, sin embargo, una pérdida de afinidad significativa en ligandos que contienen subunidades básicas de tipo piperidina, como el GR 113808<sup>293</sup>. Así, la mutación Asp<sup>3.32</sup>-Asn implica una disminución de la fortaleza de la interacción del nitrógeno básico protonado con el sitio de unión, que pasa de un par iónico (Asp<sup>3.32</sup>) a un enlace de hidrógeno (Asn). Esta nueva interacción con el residuo mutado supone un aumento de la carga explícita en los átomos de hidrógeno de los carbonos adyacentes al nitrógeno

<sup>293</sup>Véase nota 278.

básico protonado, y, en consecuencia, una mayor fortaleza en su interacción con la Phe<sup>6.51</sup>. Sin embargo, esta mutación Asp<sup>3.32</sup>-Asn sí tiene un efecto significativo en la afinidad 5-HT<sub>4</sub> de la serotonina<sup>294</sup> (página 4), una amina primaria, debido a la ausencia de hidrógenos deficientes de carga que puedan estabilizarse mediante la interacción con residuos aromáticos. En este sentido, la estructura cristalográfica de la enzima acetilcolinesterasa<sup>295</sup>, que cataliza la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina en colina, es un claro ejemplo de la importancia de este tipo de interacciones entre sistemas aromáticos y densidades de carga positiva. Así, el estudio de la estructura de los complejos formados por esta enzima con diferentes inhibidores que contienen nitrógenos básicos trimetilsustituídos, ha revelado que la cadena lateral catiónica interacciona fundamentalmente con residuos aromáticos, y no con residuos cargados negativamente también presentes en el centro activo.

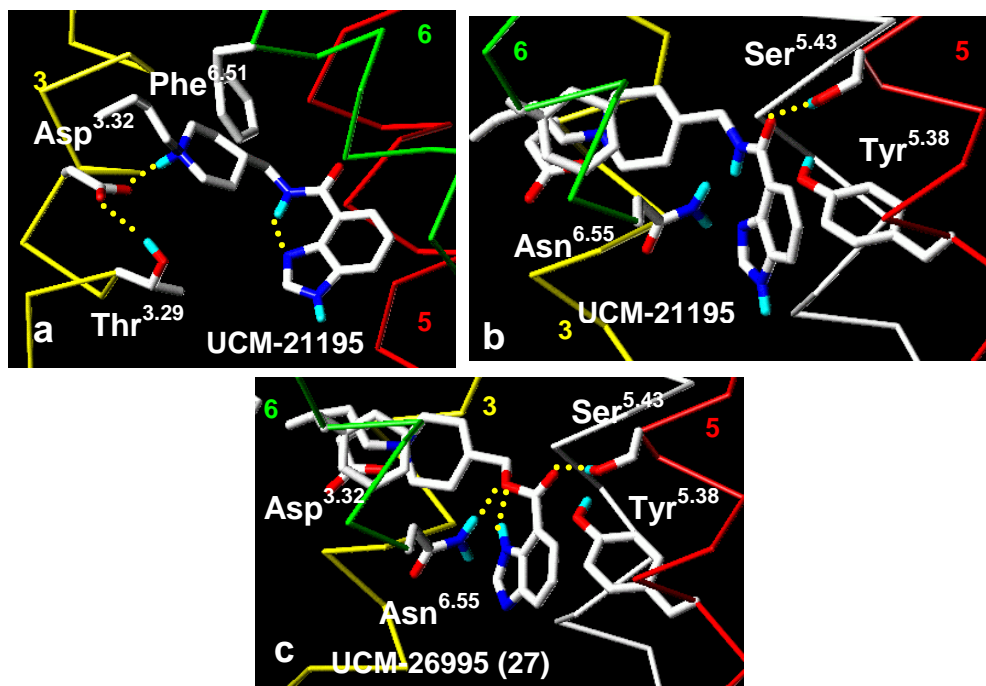
Por otro lado, el anillo bencimidazólico del ligando se encuentra situado entre la Asn<sup>6.55</sup> y la Tyr<sup>5.38</sup> (Figuras 37b y 37c). El anillo bencénico de la Tyr se sitúa perpendicularmente (*T-shaped*) al sistema aromático de bencimidazol, lo que hace posible una interacción aromática-aromática de tipo  $\pi$ - $\sigma$ . Este tipo de interacciones entre residuos aromáticos juega un importante papel en la estabilización de la estructura de proteínas<sup>296</sup>.

---

<sup>294</sup>Véase nota 278.

<sup>295</sup>Yu, H.; Kono, M.; McKee, T.D.; Oprian, D.D. *Biochemistry*, **1995**, 34, 14963.

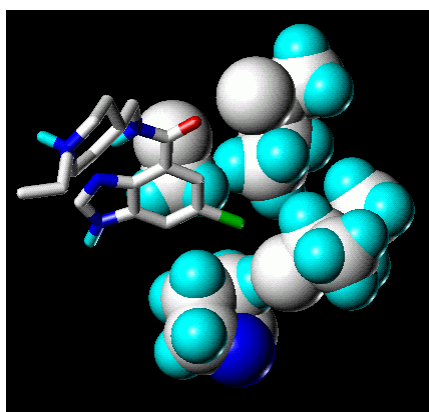
<sup>296</sup>Burley, S.K.; Petsko, G.A. *Science*, **1985**, 229, 23.



**Figura 37.** Modelo molecular de los dominios transmembrana del receptor 5-HT<sub>4</sub> construidos a partir de la estructura cristalográfica 3D de la RHO. Los ligandos UCM-21195 [X=4-CONH, R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=H, subunidad básica=(1-butil-4-piperidil)metilo] y UCM-26995 (**27**) [X=4-COO, R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=H, subunidad básica=(1-butil-4-piperidil)metilo] se muestran en una vista detallada del sitio de unión. El modo de unión al receptor incluye: *i*) la interacción iónica entre el NH de la piperidina protonada del ligando y el grupo carboxilato del Asp<sup>3.32</sup>; *ii*) el enlace de hidrógeno entre el oxígeno carbonílico del ligando y el grupo hidroxilo de la Ser<sup>5.43</sup>; *iii*) el enlace de hidrógeno entre el NH amídico de la Asn<sup>6.55</sup> y el anillo de bencimidazol del ligando, y, adicionalmente, el oxígeno del carboxilato en el éster UCM 26995 (**27**); *iv*) la interacción de las nubes ricas en electrones del anillo bencénico del residuo de Phe<sup>6.51</sup> y los hidrógenos pobres en electrones unidos a los átomos de carbono adyacentes al nitrógeno protonado de la piperidina del ligando; y *v*) la interacción aromática  $\pi$ - $\sigma$  entre el anillo de bencimidazol del ligando y el anillo aromático de la Tyr<sup>5.38</sup>. Los hidrógenos no polares no se han representado para ofrecer una vista más clara.

Finalmente, la superposición de los mapas de contorno de los campos estérico y electrostático del modelo CoMFA generado para el receptor 5-HT<sub>4</sub> (véase apartado 4.5) en el modelo computacional del centro de unión del receptor 5-HT<sub>4</sub> muestra que las áreas roja y verde situadas alrededor de la posición 6 del anillo de bencimidazol, donde el átomo de Cl o Br de los ligandos de estructura general **I** se acomoda, están localizadas entre las TMHs 5 y 6. Así, el enlace de hidrógeno del grupo carbonilo del ligando con la Ser<sup>5.43</sup> sitúa al átomo de halógeno en una

posición próxima a la Ala<sup>5.39</sup>, que queda orientada en la misma cara de la hélice que la Ser<sup>5.43</sup>, al estar ambas separadas por cuatro residuos. Un análisis del patrón de conservación de la posición 5.39 en todas las secuencias de los receptores serotoninérgicos encontradas en la base de datos de GPCRs<sup>297</sup> (GPCRDB) (67 entradas) muestra que la Ala está sólo presente en el receptor 5-HT<sub>4</sub>, con excepción del receptor 5-HT<sub>5</sub>. Los otros subtipos de receptores para serotonina poseen en esta posición residuos más voluminosos: 5-HT<sub>1</sub> (Thr), 5-HT<sub>2</sub> (Val, Met), 5-HT<sub>5</sub> (Ala, Thr), 5-HT<sub>6</sub> (Val) y 5-HT<sub>7</sub> (Thr). Por tanto, esta pequeña cavidad entre las TMHs 5 y 6 está sólo presente en el receptor 5-HT<sub>4</sub> y en ciertas especies de la familia 5-HT<sub>5</sub>. La mayor estabilización en el sitio de unión de los ligandos de estructura general **I** 6-halosustituidos se puede atribuir, por tanto, a interacciones electrostáticas y de van der Waals adicionales del átomo de halógeno en este bolsillo situado entre los dominios transmembrana 5 y 6, como se indica en la Figura 38. A la vista de estos resultados, vemos claramente como nuestro modelo es capaz de explicar los resultados observados en los estudios de relación estructura-afinidad.



**Figura 38.** Detalle de la cavidad situada entre las TMHs 5 y 6 del receptor 5-HT<sub>4</sub>, donde se acomoda el átomo de halógeno de la posición 6 del anillo de bencimidazol de los ligandos de estructura general **I**. Se muestra el compuesto **11** [X=4-CONH, R<sup>1</sup>=Cl; R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=H, subunidad básica=(1-butil-4-piperidil)metilo] como referencia. Los hidrógenos no polares no se han representado para ofrecer una vista más clara.

<sup>297</sup>Horn, F.; Weare, J.; Beukers, M.W.; Horsch, S.; Bairoch, A.; Chen, W.; Edvardsen, O.; Campagne, F.; Vriend, G. *Nucleic Acids Res.*, **1998**, 26, 275.

Estos estudios nos han permitido identificar las interacciones claves en la unión de los nuevos ligandos de estructura general **I** al receptor 5-HT<sub>4</sub>, que se corresponden con los tres elementos farmacofóricos propuestos por nosotros con anterioridad<sup>298</sup> para antagonistas 5-HT<sub>4</sub>: nitrógeno básico, grupo carbonilo y sistema aromático (véanse Figura 18, página 73, y Figura 37, página 160).

#### 4.7. DISEÑO Y SÍNTESIS DE NUEVOS COMPUESTOS A PARTIR DEL MODELO DE INTERACCIÓN LIGANDO-5HT<sub>4</sub>R PROPUESTO

Con objeto de dirigir de forma racional la síntesis de nuevas bencimidazolcarboxamidas de estructura general **I** con afinidad por el receptor 5-HT<sub>4</sub> hemos utilizado como punto de partida nuestro modelo de interacción ligando-receptor. Así, hemos considerado variaciones estructurales en el sustituyente del nitrógeno básico de la piperidina, buscando nuevas interacciones con residuos polares de las hélices más próximas, con el fin de evaluar la influencia de dicho sustituyente en la afinidad 5-HT<sub>4</sub>.

Como se indica en la Figura 39a, de todos los residuos que se sitúan en las proximidades del nitrógeno piperidínico, sólo los señalados en color rojo están situados adecuadamente para una posible interacción con el sustituyente de dicho nitrógeno básico: en la TMH 3 la Thr<sup>3.36</sup>, y en la TMH 7 la Tyr<sup>7.43</sup> y la Asn<sup>7.45</sup>.

La Tyr<sup>7.43</sup> está presente en todos los subtipos de receptores para serotonina, mientras que sólo el receptor 5-HT<sub>4</sub> y la familia 5-HT<sub>2</sub> poseen en la posición 3.36 un residuo de Thr o Ser, en lugar de Cys. Por el contrario, la Asn<sup>7.45</sup> está conservada en todos los receptores serotoninérgicos excepto en los subtipos 5-HT<sub>2</sub>, que poseen un residuo de Ser o Cys, como se representa en la Figura 39b.

---

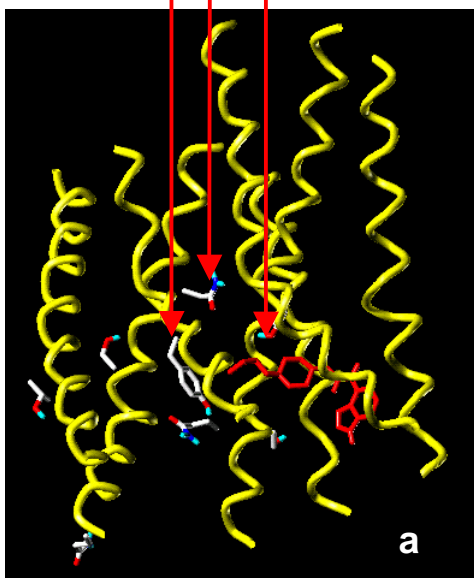
<sup>298</sup>Véase nota 27.

TMH 1: VLLTFLAVVI

TMH 2: MPFGAIELVQ

TMH 3: VRTSLDVLLT

TMH 7: TAFLWLGYIN



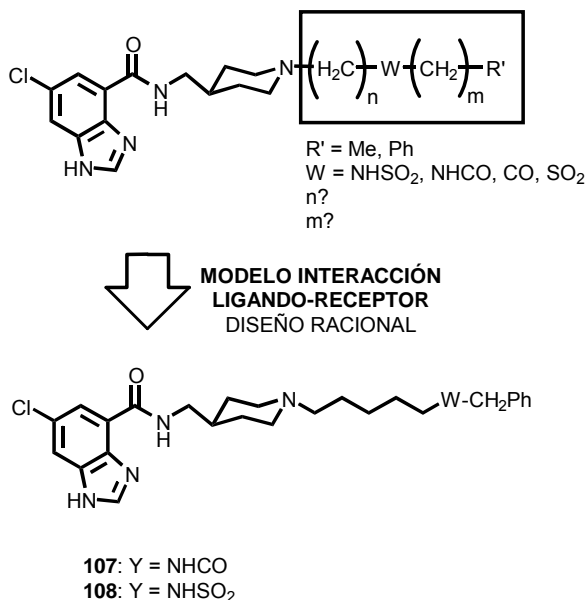
**b**

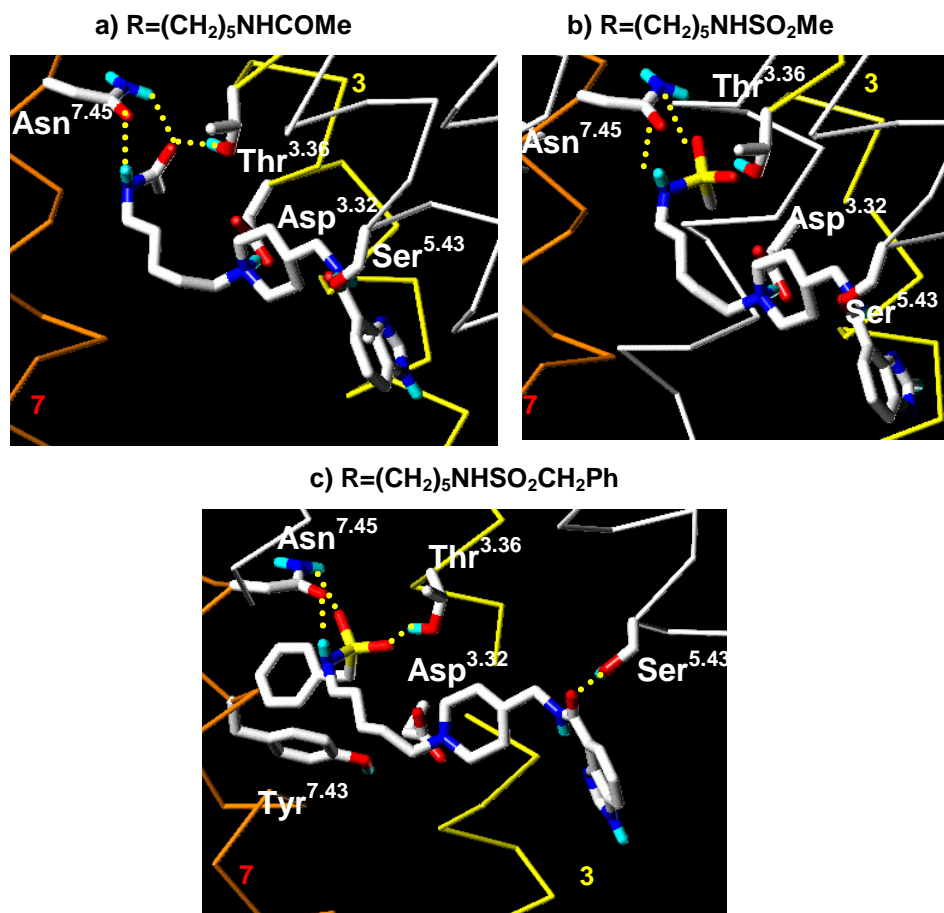
	TMH 3	TMH 7
5HT <sub>4</sub>	L V R T S L D V L L T	W T A F L W L G Y I N
5HT <sub>1A</sub>	D L F I A L D V L C C	G A I I N W L G Y S N
5HT <sub>1B</sub>	D F W L S S D I T C C	F D F F T W L G Y L N
5HT <sub>1D</sub>	D I W L S S D I T C C	F D F F T W L G Y L N
5HT <sub>1E</sub>	E V W L S V D M T C C	A D F L T W L G Y V N
5HT <sub>1F</sub>	D I W L S V D I T C C	S N F L A W L G Y L N
5HT <sub>2A</sub>	A V W I Y L D V L F S	L N V F V W I G Y L S
5HT <sub>2B</sub>	P A W L F L D V L F S	L E I F V W I G Y V S
5HT <sub>2C</sub>	P V W I S L D V L F S	L N V F V W I G Y V C
5HT <sub>5A</sub>	Q L W I A C D V L C C	K S I F L W L G Y S N
5HT <sub>5B</sub>	H V W I S F D V L C C	K S I F L W L G Y S N
5HT <sub>6</sub>	L L W T A F D V M C C	F D V L T W L G Y C N
5HT <sub>7</sub>	N V F I A M D V M C C	E R T F L W L G Y A N

**Figura 39.** (a) Residuos polares susceptibles de interactuar con el sustituyente del nitrógeno básico de la amida UCM-21195 (en color rojo); (b) homología de los residuos de Thr<sup>3.36</sup> (T), Tyr<sup>7.43</sup> (Y) y Asn<sup>7.45</sup> (N) en las secuencias de los distintos receptores para serotonina.

En el diseño de las nuevas 4-bencimidazolcarboxamidas, la estructura general propuesta para el sustituyente del nitrógeno piperidínico ha de contemplar la presencia de grupos polares, como grupos carbonilo, sulfonilo, amida o sulfonamida susceptibles de interaccionar con los aminoácidos polares situados en esa región del sitio de unión. Teniendo en cuenta nuestro modelo de interacción, en la fórmula general para el sustituyente del nitrógeno básico,  $R=(CH_2)_nW(CH_2)_mR'$ , el espaciador óptimo es de 5 unidades metilénicas ( $n=5$ ) y el grupo potencialmente aceptor o dador de enlace de hidrógeno (W), un grupo amida o sulfonamida, por su carácter dador-aceptor. Así, considerando una cadena de metilcarbamoilpentilo ( $R=(CH_2)_5NHCOMe$ , Figura 40a) se podría producir la interacción vía enlace de hidrógeno del grupo carbonilo del sustituyente con la Asn<sup>7.45</sup> y la Thr<sup>3.36</sup>, mientras el NH se dispone a la distancia adecuada para formar un enlace de este tipo con el grupo carbonilo de la cadena lateral de la Asn<sup>7.45</sup>. Si se lleva a cabo la sustitución isósterica del grupo amida por un grupo sulfonamida ( $R=(CH_2)_5NHSO_2Me$ , Figura 40b), serían ya dos los oxígenos que podrían formar enlace de hidrógeno con la Asn y Thr mencionadas. Adicionalmente, la presencia del grupo bencilo como sustituyente de la amida o sulfonamida en estos compuestos situaría al anillo bencénico en disposición adecuada para una interacción  $\pi$ - $\sigma$  con el anillo aromático de la Tyr<sup>7.43</sup> ( $R=(CH_2)_5NHSO_2CH_2Ph$ , Figura 40c).

Teniendo en cuenta estas consideraciones, de entre todos los sustituyentes polares del nitrógeno piperidínico considerados, se planteó la síntesis de los compuestos **107** y **108** como probables compuestos con una afinidad 5-HT<sub>4</sub> elevada.

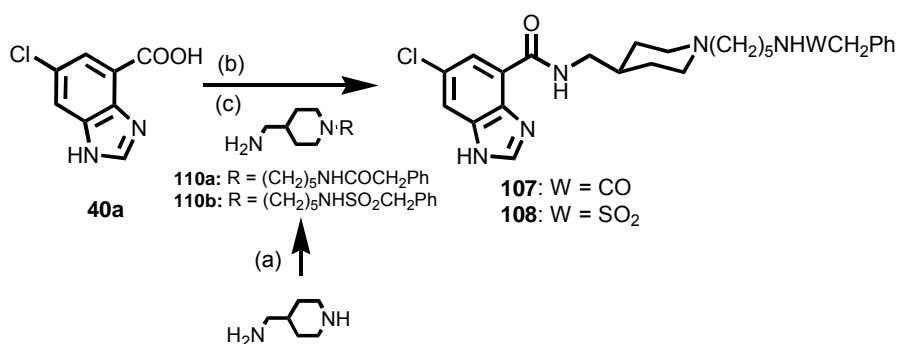




**Figura 40.** Interacciones postuladas en el diseño de las nuevas 4-bencimidazolcarboxamidas a partir del modelo 3D de los dominios transmembrana del receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub>. El grupo amida o sulfonamida del sustituyente de nitrógeno de la piperidina interactúa con la Asn<sup>7.45</sup> y la Thr<sup>3.36</sup> mediante enlaces de hidrógeno. En la sulfonamida bencilsustituída (c), el anillo bencénico se dispone adecuadamente para interactuar con la cadena lateral de la Tyr<sup>7.43</sup>.



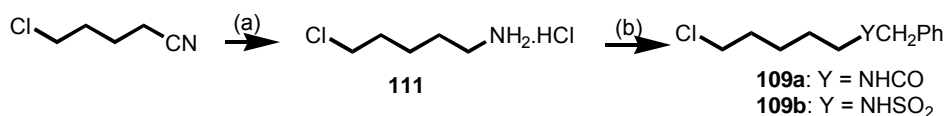
Los nuevos derivados de bencimidazol **107**, **108** se obtuvieron según la ruta sintética empleada tradicionalmente en nuestro grupo de trabajo, basada en el acoplamiento del ácido 6-cloro-4-bencimidazolcarboxílico (**40a**) con las (1-alkil-4-piperidil)metilaminas adecuadas **110a,b** (Esquema 32)



Reactivos: (a) RCl (**109a,b**), acetonitrilo; (b) CDI, DMF; (c) DBU, DMF

**Esquema 32**

Los derivados halogenados **109a,b**, necesarios para la síntesis de las piperidinas intermedias se obtuvieron a partir de la 5-cloropentilamina (**111**) por reacción con el cloruro de acilo o sulfonilo adecuado en cloruro de metileno seco. La amina **111** se obtuvo por hidrogenación del  $\delta$ -clorovaleronitrilo utilizando óxido de platino (catalizador de Adams) como catalizador (Esquema 33).



Reactivos: (a)  $\text{H}_2/\text{PtO}_2$ , HCl, EtOH; (b)  $\text{PhCH}_2\text{COCl}$  ó  $\text{PhCH}_2\text{SO}_2\text{Cl}$ ,  $\text{NEt}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$

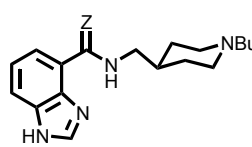
**Esquema 33**

En los experimentos de desplazamiento de radioligandos en cerebro de rata, los compuestos diseñados **107**, **108**, han resultado ser nuevos ligandos selectivos del receptor 5-HT<sub>4</sub> con elevada afinidad receptoral [**107**:  $K_i(5\text{-HT}_4)=0,31$  nM,  $K_i(5\text{-HT}_3)>10000$  nM; **108**:  $K_i(5\text{-HT}_4)=1,5$  nM,  $K_i(5\text{-HT}_3)>10000$  nM].

Una vez validado nuestro modelo de interacción ligando-receptor, el paso final es corroborar su poder predictivo en términos de energías libres, llegando a cuantificar la afinidad de nuevos compuestos antes de ser sintetizados. Para ello, en este trabajo hemos aplicado la metodología de integración termodinámica para la predicción de la afinidad de nuevos ligandos de estructura general **I**, planteando la sustitución isósterica del grupo amida por un grupo tioamida en el cabeza de serie UCM-21195 [X=4-CONH, R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=H, subunidad básica=(1-butil-4-piperidil)metilo].

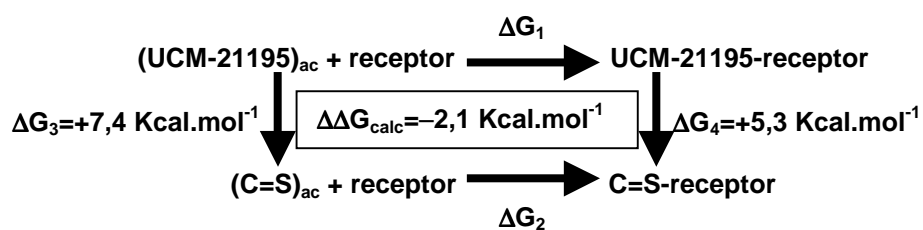
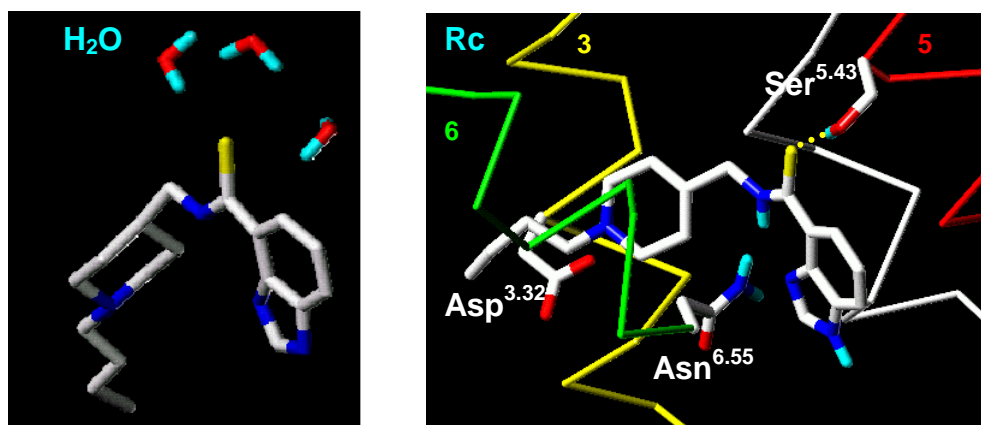
Como se observa en la Tabla XIV, dicha sustitución produciría una desestabilización (valores positivos de  $\Delta G$ ) tanto en agua como en el receptor, debido a la peor capacidad aceptora de enlace de hidrógeno del azufre. Sin embargo, dicho efecto es menos acusado en el receptor, donde el átomo de azufre sólo se implica en un enlace de hidrógeno con la Ser<sup>5.43</sup> ( $\Delta G_4$ ), con relación al agua ( $\Delta G_3$ ), donde interacciona con varias moléculas de disolvente mediante enlaces de hidrógeno (Figura 41). Como resultado, el balance final de la diferencia de energías libres de interacción del nuevo ligando respecto a la amida UCM-21195 ( $\Delta\Delta G_{\text{calc}} = \Delta G_4 - \Delta G_3$ ) es  $-2,1 \text{ Kcal.mol}^{-1}$  y, por tanto, deberíamos observar una mayor afinidad de la tioamida respecto de la amida (para detalles metodológicos véase apartado 6.2.4 del capítulo Métodos Computacionales).

**Tabla XIV.**  $\Delta G_3$ ,  $\Delta G_4$  y  $\Delta\Delta G$  calculado ( $\Delta\Delta G_{\text{calc}}$ )<sup>a</sup> en Kcal.mol<sup>-1</sup>, para la sustitución isómera del grupo amida por un grupo tioamida en el ligando UCM-21195.

	Comp.	Z	$\Delta G_3$ (ac)	$\Delta G_4$ (rc)	$\Delta\Delta G_{\text{cal}}$
	ligando <sub>1</sub> : UCM 21195		O		
ligando <sub>2</sub> : C=O→C=S		S	+7.4	+5.3	-2,1

<sup>a</sup>  $\Delta\Delta G_{\text{calc}} = \Delta G_4 - \Delta G_3$

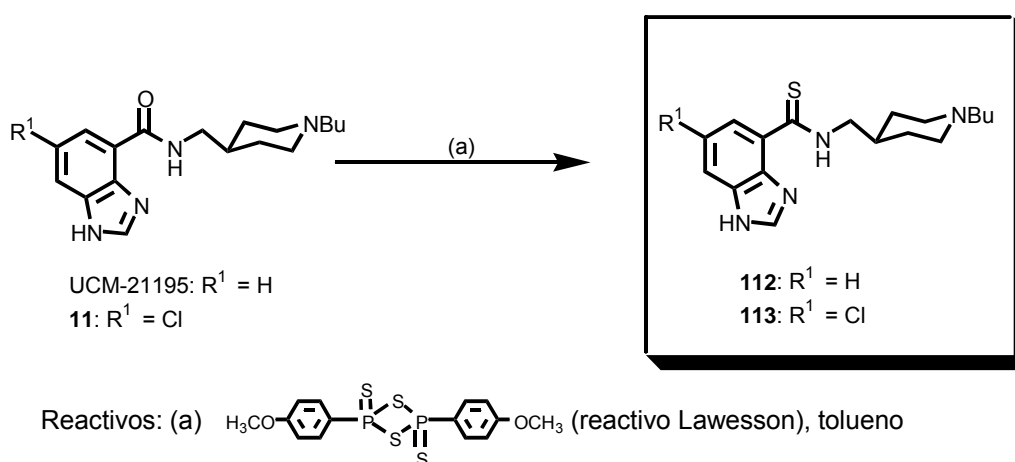
C=O (UCM-21195) → C=S



**Figura 41.** Esquema de energías libres ( $\Delta G$ ) para la sustitución isómera del grupo amida de UCM-21195 por un grupo tioamida.

Con el fin de validar esta hipótesis, se llevó a cabo la síntesis de las nuevas tioamidas diseñadas **112** ( $R^1=H$ ) y **113** ( $R^1=Cl$ ), así como la evaluación de su afinidad mediante experimentos de desplazamiento de radioligandos.

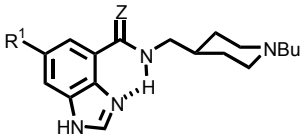
Las tioamidas **112** y **113** se sintetizaron por tratamiento de las correspondientes carboxamidas con el reactivo de Lawesson, a reflujo de tolueno (Esquema 34).



Esquema 34

La sustitución isóstera del grupo amida del ligando UCM-21195 por un grupo tioamida en el ligando **112** supone un notable incremento en la afinidad 5-HT<sub>4</sub> (Tabla XV). Podemos observar una excelente correlación entre el valor de  $\Delta\Delta G$  teórico para dicha sustitución ( $\Delta\Delta G_{\text{calc}} = -2,1 \text{ Kcal.mol}^{-1}$ ) y el valor de  $\Delta\Delta G$  experimental, calculado a partir de las constantes de afinidad de ambos ligandos [ $\Delta\Delta G_{\text{exp}} = -RT \ln [K_i(\text{UCM-21195})/K_i(\mathbf{112})] = -2,8 \text{ Kcal.mol}^{-1}$ ;  $T=300 \text{ K}$ ]. Estos resultados confirman el poder predictivo del modelo de interacción propuesto para el reconocimiento de la nueva serie de ligandos de estructura general I por el sitio de unión del receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub>. Además, se observa de nuevo el efecto favorable de la introducción de un átomo de cloro en la posición 6 del anillo de bencimidazol. En efecto, la tioamida **113**, en la que se incluyen ambas modificaciones simultáneamente, presenta una afinidad por el receptor 5-HT<sub>4</sub> muy optimizada con respecto a la serie de estructura general I (Tabla XV).

**Tabla XV.** Comparación de los datos de afinidad receptorial 5-HT<sub>4</sub> *in vitro*<sup>a</sup> en cerebro de rata de las tioamidas **112** y **113**, las carboxamidas precursoras UCM-21195 y **11**, y el antagonista de referencia RS 39604 (página 34).

	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Comp.</th> <th><math>K_i \pm E.E. \text{ (nM)}^a</math></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>UCM-21195</td> <td>13,7±0,9</td> </tr> <tr> <td><b>112</b></td> <td>0,15±0,04</td> </tr> <tr> <td><b>11</b></td> <td>0,32±0,07</td> </tr> <tr> <td><b>113</b></td> <td>0,081±0,013</td> </tr> <tr> <td>RS 39604</td> <td>3,9±0,2</td> </tr> </tbody> </table>		Comp.	$K_i \pm E.E. \text{ (nM)}^a$	UCM-21195	13,7±0,9	<b>112</b>	0,15±0,04	<b>11</b>	0,32±0,07	<b>113</b>	0,081±0,013	RS 39604	3,9±0,2
	Comp.	$K_i \pm E.E. \text{ (nM)}^a$												
UCM-21195	13,7±0,9													
<b>112</b>	0,15±0,04													
<b>11</b>	0,32±0,07													
<b>113</b>	0,081±0,013													
RS 39604	3,9±0,2													
UCM-21195: Z = O; R <sup>1</sup> = H 11: Z = O; R <sup>1</sup> = Cl 112: Z = S; R <sup>1</sup> = H 113: Z = S; R <sup>1</sup> = Cl	} $\Delta\Delta G_{\text{exp}} = -2,8 \text{ Kcal.mol}^{-1}$													

<sup>a</sup> Los datos representan el valor medio de  $K_i$  (nM) y su error estándar de dos a cuatro experimentos individuales realizados por triplicado.

Ambos derivados han resultado también ligandos potentes del receptor 5-HT<sub>4</sub> en caudado humano [ $K_i(\mathbf{112})=0,515 \text{ nM}$  y  $K_i(\mathbf{113})=0,099 \text{ nM}$ ], mostrando una excelente selectividad frente a los receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>3</sub>, 5-HT<sub>2A</sub> y 5-HT<sub>1A</sub> ( $K_i > 1000-10000 \text{ nM}$ ).

Las tioamidas sintetizadas, **112** y **113**, han sido caracterizadas como antagonistas potentes y selectivos del receptor 5-HT<sub>4</sub>, tanto en caudado humano como en esófago de rata [ $pA_2(\mathbf{112})=6,8$ ;  $pA_2(\mathbf{113})=7,7$ ;  $pA_2(\text{RS } 39604)=7,5$ ].

Hasta el momento, no se han descrito en la bibliografía antagonistas 5-HT<sub>4</sub> tan potentes y con una afinidad receptorial equiparable al excelente valor que presenta la tioamida **113**, por lo que podría ser una herramienta farmacológica muy útil en el conocimiento del receptor 5-HT<sub>4</sub>, así como un candidato prometedor para una caracterización farmacológica más amplia con el fin de poder desarrollar su posible aplicabilidad terapéutica. En este sentido se está llevando a cabo un desarrollo más completo de dicho ligando en los Departamentos de Farmacología de la Facultad de Medicina de la UCM y de la Facultad de Farmacia de la Universidad del País Vasco, así como su marcaje isotópico con [<sup>11</sup>C] en el grupo canadiense dirigido por el Dr. Alan Wilson del *PET Centre (Clarke Division)*, para su posible utilización en diagnóstico por imagen mediante técnicas de tomografía de emisión de positrones (PET).

## 5. PARTE EXPERIMENTAL

---

## 5. PARTE EXPERIMENTAL

### 5.1. QUÍMICA

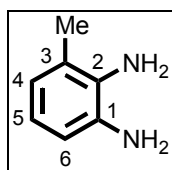
Los puntos de fusión (p.f.) se han determinado en un aparato Gallenkamp y Stuart-Scientific y no se han corregido. Los espectros de IR se han registrado en espectrofotómetros "Perkin-Elmer 781" y "Shimadzu-8300"; las frecuencias se expresan en  $\text{cm}^{-1}$ . Los espectros de  $^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -RMN se han obtenido en los espectrómetros "Bruker 500-AMX" a 500 y 125 MHz respectivamente, "Varian VXR-300S", "Bruker 300-AM" y "Bruker Avance 300" a 300 y 75 MHz respectivamente, "Bruker 250-AM" a 250 y 62,5 MHz respectivamente, y "Bruker 200-AC" a 200 y 50 MHz respectivamente, del Servicio de RMN de la UCM (Facultad de Químicas). Los espectros 2D de correlación  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  con detección inversa (HMQC y HMBC) se realizaron en el espectrómetro "Bruker Avance 300". Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm) utilizando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna; las constantes de acoplamiento ( $J$ ) vienen expresadas en hertzios (Hz). En la descripción de las señales de RMN se han empleado las siguientes abreviaturas: s (singlete), sa (singlete ancho), d (doblete), da (doblete ancho), t (triplete), ta (triplete ancho), q (cuadruplete), qa (cuadruplete ancho), qt (quintuplete), sx (sextuplete) y m (multiplete). Los análisis elementales cuantitativos (C, H, N) de los compuestos finales se han determinado en el Servicio de Análisis de la UCM (Facultad de Farmacia) con un error de  $\pm 0,4\%$  respecto de los valores teóricos. La espectrometría de masas se llevó a cabo por inyección directa en un instrumento "HP 5989", usando la técnica de impacto electrónico con una energía de ionización de 70 eV. Los picos se expresan en  $m/z$ , y los picos molecular y base se indican como (M) y (100), respectivamente. La cromatografía analítica en capa fina (c.c.f.) se ha llevado a cabo en cromatofolios de gel de sílice de Merck (Kieselgel 60F-254) y detección con luz UV, yodo, disolución etanólica al 10% de ácido fosfomolibdico (PMA), disolución ácida de vainillina o disolución etanólica al 5% de ninhidrina. Para la cromatografía en columna a baja presión, se utilizó gel de sílice tipo 60 de Merck (tamaño de grano 230-400 ASTM). Todos los productos de partida y reactivos se han adquirido con alto grado de pureza en Aldrich, Fluka, Merck, Panreac o Lancaster. Los disolventes con alto grado de pureza se adquirieron en SDS, Panreac o Merck. El resto de los disolventes se han secado y/o destilado antes de ser utilizados. La DMF, el éter etílico y el cloruro de metileno anhidros se obtuvieron por agitación sobre hidruro cálcico o sodio seguida de

destilación bajo argón. El THF anhidro se utilizó recién destilado bajo argón sobre sodio y benzofenona como indicador.

### 5.1.1. Síntesis de ácidos 4-bencimidazolcarboxílicos

#### 5.1.1.1. 2-Amino-3-metil-anilina **34**

A una mezcla de 7,6 g (50 mmol) de 2-metil-6-nitroanilina y 20,0 g (168 mmol) de estaño mantenida a 0 °C, se le adicionan 50 mL de ácido clorhídrico concentrado, gota a gota. La mezcla de reacción se refluxe durante 1 hora y media. A continuación, se añade una disolución de hidróxido sódico al 20% hasta pH básico y la mezcla se calienta durante 1 hora a 100 °C. Se filtran las sales y la disolución resultante se extrae con cloroformo (3 x 50 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre sulfato sódico y el disolvente se elimina a presión reducida, obteniéndose 5,2 g (85%) de **34**: p.f. 58-59 °C (hexano) (lit.<sup>299</sup> p.f. 61-63 °C).



IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3400, 3370, 3280, 3210 ( $\text{NH}_2$ ), 1630, 1600, 1580, 1480 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 2,16 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,33 (s, 4H, 2 $\text{NH}_2$ , intercambiable con  $\text{D}_2\text{O}$ ), 6,55-6,64 (m, 3H,  $\text{H}_4$ ,  $\text{H}_5$ ,  $\text{H}_6$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 17,2 ( $\text{CH}_3$ ), 114,8 ( $\text{C}_6$ ), 118,8 ( $\text{C}_5$ ), 121,8 ( $\text{C}_4$ ), 123,0 ( $\text{C}_3$ ), 133,2; 133,6 ( $\text{C}_1$ ,  $\text{C}_2$ ).

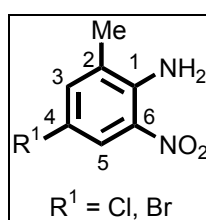
#### 5.1.1.2. 2-Metil-6-nitroanilinas. Procedimiento general. **37a,b**

A una disolución de 3,8 g (2,5 mol) de 2-metil-6-nitroanilina en acetonitrilo (25 mL) calentada a 60 °C se le añaden 2,7 mol de la *N*-halosuccinimida

<sup>299</sup>Véase nota 207.



correspondiente. La mezcla de reacción se calienta a reflujo durante 5 horas (c.c.f.). El disolvente se elimina a presión reducida y el sólido resultante se disuelve en 25 mL de cloruro de metileno y se lava con hidróxido sódico al 5% (2 x 10 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre sulfato sódico y el disolvente se elimina a presión reducida, obteniéndose la 4-haloanilina **37** correspondiente que se purifica por cristalización del disolvente adecuado.



\* 4-cloro-2-metil-6-nitroanilina **37a**

Rto. 90%; p.f. 128-130 °C (metanol/agua) (lit.<sup>300</sup> p.f. 121-123 °C).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3480, 3360 ( $\text{NH}_2$ ), 1630, 1590, 1565, 1515 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3, \delta$ ): 2,16 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 6,13 (sa, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7,17 (d,  $J = 1,8$ , 1H,  $\text{H}_3$ ), 7,93 (d,  $J = 2,4$ , 1H,  $\text{H}_5$ ).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3, \delta$ ): 17,6 ( $\text{CH}_3$ ), 120,7 ( $\text{C}_4$ ), 123,3 ( $\text{C}_5$ ), 127,3 ( $\text{C}_2$ ), 132,0 ( $\text{C}_6$ ), 136,2 ( $\text{C}_3$ ), 142,2 ( $\text{C}_1$ ).

\* 4-bromo-2-metil-6-nitroanilina **37b**<sup>301</sup>

Rto. 75%; p.f. 144-145 °C (metanol/agua).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3480, 3350 ( $\text{NH}_2$ ), 1615, 1580, 1555, 1505 (Ar).

---

<sup>300</sup>Véase nota 210.

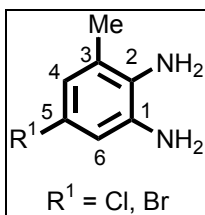
<sup>301</sup>Véase nota 209(a).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 2,24 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 6,20 (sa, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7,37 (d,  $J = 1,5$ , 1H,  $\text{H}_3$ ), 8,16 (d,  $J = 2,2$ , 1H,  $\text{H}_5$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 17,5 ( $\text{CH}_3$ ), 107,3 ( $\text{C}_4$ ), 126,3; 127,5 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_6$ ), 138,7 ( $\text{C}_3$ ), 142,5 ( $\text{C}_1$ ).

#### 5.1.1.3. 2-Amino-3-metilanilinas. Procedimiento general. **38a,b**

A una disolución de 30 mmol de **37a,b** en etanol absoluto (200 mL) a 50 °C, se le añade una cucharada de níquel-Raney y 3,7 mL (60 mmol) de hidrato de hidrazina al 80%. La mezcla de reacción se calienta a 55-60 °C durante media hora (c.c.f.) y tras enfriar se filtra el catalizador sobre celita. El disolvente se elimina a presión reducida obteniéndose un aceite que se cristaliza del disolvente adecuado.



#### \* 2-amino-5-cloro-3-metilanilina **38a**

Rto. 95%; p.f. 59-60 °C (tetracloruro de carbono) (lit.<sup>302</sup> p.f. 61-62,5 °C).

$\text{IR}$  ( $\text{KBr}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3400, 3300 ( $\text{NH}_2$ ), 1620, 1600, 1485 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 2,15 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,34 (sa, 4H,  $2\text{NH}_2$ ), 6,58 (s, 1H,  $\text{H}_6$ ), 6,61 (s, 1H,  $\text{H}_4$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 17,2 ( $\text{CH}_3$ ), 114,3 ( $\text{C}_6$ ), 121,2 ( $\text{C}_4$ ), 123,4 ( $\text{C}_5$ ), 124,4 ( $\text{C}_3$ ), 131,5 ( $\text{C}_2$ ), 135,0 ( $\text{C}_1$ ).

<sup>302</sup>Véase nota 209(b).

\* 2-amino-5-bromo-3-metilanilina **38b**<sup>303</sup>

Rto. 93%; p.f. 74-75 °C (cloroformo/hexano).

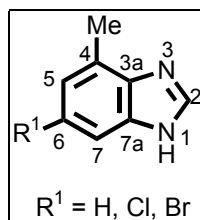
IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3420, 3360 (NH<sub>2</sub>), 1625, 1580, 1500 (Ar).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 2,05 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4,32 (sa, 2H, NH<sub>2</sub>), 4,74 (sa, 2H, NH<sub>2</sub>), 6,46 (d, *J* = 2,1, 1H, H<sub>6</sub>), 6,58 (d, *J* = 2,4, 1H, H<sub>4</sub>).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 17,5 (CH<sub>3</sub>), 107,6 (C<sub>5</sub>), 114,4 (C<sub>6</sub>), 120,6 (C<sub>4</sub>), 123,0 (C<sub>3</sub>), 131,8 (C<sub>2</sub>), 136,3 (C<sub>1</sub>).

5.1.1.4. 4-Metilbencimidazoles. Procedimiento general. **35**, **39a,b**

Una disolución de 12 mmol de **34** o **38a,b** y 1,6 g (35 mmol) de ácido fórmico en agua (10 mL) se calienta a 100 °C durante 1-6 horas (c.c.f.). La mezcla de reacción se enfría en baño de hielo y se trata con una disolución acuosa fría de hidróxido potásico 1 N hasta pH básico, precipitando el 4-metilbencimidazol correspondiente **35**, **39a,b** que se cristaliza del disolvente adecuado



\* 4-metilbencimidazol **35**

Rto. 70%; p.f. 142-143 °C (agua) (lit.<sup>304</sup> p.f. 143-145 °C).

IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3070 (NH), 1610, 1595, 1485 (Ar).

<sup>303</sup>Véase nota 209(a).

<sup>304</sup>Véase nota 207.

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 2,63 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7,10 (d,  $J = 7,2$ , 1H,  $\text{H}_5$ ), 7,21 (t,  $J = 8,2$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 7,51 (d,  $J = 8,1$ , 1H,  $\text{H}_7$ ), 8,17 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 17,2 ( $\text{CH}_3$ ), 112,5 ( $\text{C}_7$ ), 122,7; 123,0 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_6$ ), 125,7 ( $\text{C}_4$ ), 137,1; 137,6 ( $\text{C}_{3a}$ ,  $\text{C}_{7a}$ ), 140,4 ( $\text{C}_2$ ).

\* 6-cloro-4-metilbencimidazol **39a**

Rto. 98%; p.f. 172-173 °C (cloroformo).

IR ( $\text{KBr}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3040 (NH), 1620, 1600, 1490 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO-}d_6$ ,  $\delta$ ): 2,54 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7,07 (s, 1H,  $\text{H}_5$ ), 7,50 (s, 1H,  $\text{H}_7$ ), 8,29 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 12,70 (sa, 1H, NH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO-}d_6$ ,  $\delta$ ): 16,6 ( $\text{CH}_3$ ), 112,5 ( $\text{C}_7$ ), 122,0 ( $\text{C}_5$ ), 125,9; 126,8 ( $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_6$ ), 136,8; 138,6 ( $\text{C}_{3a}$ ,  $\text{C}_{7a}$ ), 142,9 ( $\text{C}_2$ ).

\* 6-bromo-4-metilbencimidazol **39b**

Rto. 75%; p.f. 208-210 °C (cloroformo).

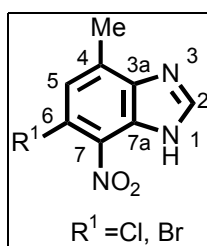
IR ( $\text{KBr}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3030 (NH), 1610, 1585, 1470 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO-}d_6$ ,  $\delta$ ): 2,51 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7,16 (s, 1H,  $\text{H}_5$ ), 7,60 (s, 1H,  $\text{H}_7$ ), 8,23 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO-}d_6$ ,  $\delta$ ): 16,5 ( $\text{CH}_3$ ), 113,9 ( $\text{C}_6$ ), 115,4 ( $\text{C}_7$ ), 124,6 ( $\text{C}_5$ ), 127,3 ( $\text{C}_4$ ), 136,9; 139,1 ( $\text{C}_{3a}$ ,  $\text{C}_{7a}$ ), 142,7 ( $\text{C}_2$ ).

5.1.1.5. 4-Metil-7-nitrobencimidazoles. Procedimiento general. **41a,b**

A una disolución de 12 mmol de **39a,b** en 6 mL de ácido sulfúrico concentrado a 0 °C se le adiciona, gota a gota, una mezcla de 0,6 mL de ácido nítrico al 70% y 0,6 mL de ácido sulfúrico concentrado, y se mantiene la reacción por debajo de 5 °C durante 2 horas. A continuación, se añaden 7 mL de agua helada y la mezcla de reacción se trata con hidróxido amónico hasta pH básico, precipitando un sólido que se filtra y se seca a vacío. El espectro de RMN del crudo indica que los isómeros 7-nitro (**41**) y 5-nitro (**42**) se encuentran en proporción 70:30. Los isómeros **41a,b** deseados se separan por cromatografía en columna de gel de sílice y se purifican por cristalización del disolvente adecuado.

\* 6-cloro-4-metil-7-nitrobencimidazol **41a**

Cromatografía: acetato de etilo/hexano 2:8→6:4

Rto. 59%; p.f. 264-265 °C (cloroformo).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3150 (NH), 1620, 1590, 1540, 1490 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO-d}_6$ ,  $\delta$ ): 2,60 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7,35 (s, 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,47 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 13,35 (sa, 1H, NH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO-d}_6$ ,  $\delta$ ): 16,5 ( $\text{CH}_3$ ), 119,5 ( $\text{C}_6$ ), 124,1 ( $\text{C}_5$ ), 132,3; 133,6 ( $\text{C}_7$ ,  $\text{C}_{7a}$ ), 138,7 ( $\text{C}_4$ ), 145,3 ( $\text{C}_2$ ), 145,5 ( $\text{C}_{3a}$ ).

\* 6-bromo-4-metil-7-nitrobencimidazol **41b**

Cromatografía: acetato de etilo→acetato de etilo/etanol 4:1

Rto. 56%; p.f. 274-275 °C (d) (acetato de etilo).

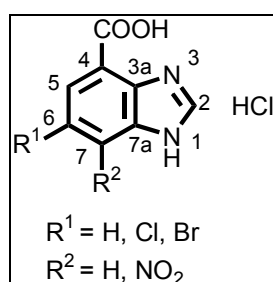
IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3100 (NH), 1615, 1590, 1540, 1490 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO-}d_6$ ,  $\delta$ ): 2,62 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7,54 (s, 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,48 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 13,39 (sa, 1H, NH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO-}d_6$ ,  $\delta$ ): 16,5 ( $\text{CH}_3$ ), 106,4 ( $\text{C}_6$ ), 126,6 ( $\text{C}_5$ ), 132,5; 136,3 ( $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_7$ ,  $\text{C}_{7a}$ ), 145,8 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_{3a}$ ).

5.1.1.6. Ácidos 4-bencimidazolcarboxílicos. Procedimiento general. **36**, **40a,b**, **43a,b**

A una disolución de 10 mmol de **35** en 100 mL de agua, **39a,b** en 100 mL de hidróxido sódico 0,5 N ó **41a,b** en 100 mL de hidróxido sódico 1 N, calentada a 100 °C, se le añaden 5 porciones de 1,7 g (11 mmol) de permanganato potásico, a intervalos de 1 hora. Tras la última adición la mezcla de reacción se refluxe durante 1-2 horas más (c.c.f.). A continuación, se filtra el dióxido de manganeso en caliente, el agua se elimina a presión reducida y el residuo resultante se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice (cloroformo/metanol 9:1→1:1), aislándose el ácido bencimidazolcarboxílico correspondiente **36**, **40a,b**, **43a,b** en forma de hidrocloreuro.



\* ácido 4-bencimidazolcarboxílico **36**<sup>305</sup>

Rto. 35%; p.f. >300 °C (ácido clorhídrico diluido).

IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3330 (OH), 3000 (NH<sub>2</sub><sup>+</sup>), 1690 (COOH), 1620, 1530, 1485, 1470 (Ar).

<sup>1</sup>H-RMN (Me<sub>2</sub>SO-d<sub>6</sub>, δ): 7,71 (td, *J* = 8,1; 2,7, 1H, H<sub>6</sub>), 8,11 (d, *J* = 6,6, 1H, H<sub>5</sub>), 8,17 (d, *J* = 8,1, 1H, H<sub>7</sub>), 9,71 (s, 1H, H<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C-RMN (Me<sub>2</sub>SO-d<sub>6</sub>, δ): 117,9 (C<sub>4</sub>), 119,9 (C<sub>7</sub>), 126,0 (C<sub>6</sub>), 128,0 (C<sub>5</sub>), 129,6 (C<sub>3a</sub>), 132,4 (C<sub>7a</sub>), 142,3 (C<sub>2</sub>), 165,6 (COOH).

\* ácido 6-cloro-4-bencimidazolcarboxílico **40a**

Rto. 30%; p.f. >300 °C (ácido clorhídrico diluido).

IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3400 (OH), 3000 (NH<sub>2</sub><sup>+</sup>), 1700 (COOH), 1620, 1530, 1465 (Ar).

<sup>1</sup>H-RMN (Me<sub>2</sub>SO-d<sub>6</sub>, δ): 7,94 (d, *J* = 1,9, 1H, H<sub>7</sub>), 8,17 (d, *J* = 1,9, 1H, H<sub>5</sub>), 9,46 (s, 1H, H<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C-RMN (Me<sub>2</sub>SO-d<sub>6</sub>, δ): 118,6 (C<sub>4</sub>), 119,8 (C<sub>7</sub>), 126,7 (C<sub>5</sub>), 128,9; 129,0 (C<sub>3a</sub>, C<sub>6</sub>), 135,2 (C<sub>7a</sub>), 143,8 (C<sub>2</sub>), 164,5 (COOH).

\* ácido 6-bromo-4-bencimidazolcarboxílico **40b**

Rto. 40%; p.f. >300 °C (ácido clorhídrico diluido).

IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3230 (OH), 3000 (NH<sub>2</sub><sup>+</sup>), 1700 (COOH), 1610, 1520, 1450 (Ar).

<sup>1</sup>H-RMN (Me<sub>2</sub>SO-d<sub>6</sub>, δ): 8,09 (d, *J* = 1,5, 1H, H<sub>7</sub>), 8,32 (d, *J* = 1,5, 1H, H<sub>5</sub>), 9,43 (s, 1H, H<sub>2</sub>).

---

<sup>305</sup>Véase nota 207.

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 116,7 ( $\text{C}_6$ ), 119,0 ( $\text{C}_4$ ), 122,5 ( $\text{C}_7$ ), 129,3 ( $\text{C}_{3a}$ ), 129,5 ( $\text{C}_5$ ), 135,2 ( $\text{C}_{7a}$ ), 143,5 ( $\text{C}_2$ ), 164,4 (COOH).

\* **ácido 6-cloro-7-nitro-4-bencimidazolcarboxílico 43a**

Rto. 38%; p.f. >300 °C (ácido clorhídrico diluido).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3100 (OH), 2900 ( $\text{NH}_2^+$ ), 1710 (COOH), 1630, 1610, 1545, 1525, 1460 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 7,98 (s, 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,60 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 116,3; 118,7 ( $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_6$ ), 125,0 ( $\text{C}_5$ ), 133,5 ( $\text{C}_{7a}$ ), 136,4; 140,7 ( $\text{C}_{3a}$ ,  $\text{C}_7$ ), 147,6 ( $\text{C}_2$ ), 164,3 (COOH).

\* **ácido 6-bromo-7-nitro-4-bencimidazolcarboxílico 43b**

Rto. 40%; p.f. >300 °C (ácido clorhídrico diluido).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3110 (OH), 3010 ( $\text{NH}_2^+$ ), 1715 (COOH), 1630, 1615, 1550, 1530, 1490 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 8,09 (s, 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,57 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 104,1 ( $\text{C}_6$ ), 119,0 ( $\text{C}_4$ ), 128,0 ( $\text{C}_5$ ), 133,8 ( $\text{C}_{7a}$ ), 136,3; 142,6 ( $\text{C}_{3a}$ ,  $\text{C}_7$ ), 147,2 ( $\text{C}_2$ ), 164,2 (COOH).

### 5.1.2. Síntesis de agentes alquilantes

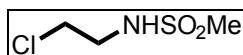
#### 5.1.2.1. *N*-(2-Haloetil)metanosulfonamidas. Procedimiento general. **51, 61**

Sobre una disolución de 20 mmol del hidrocloreuro de 2-cloroetilamina o hidrobromuro de 2-bromoetilamina en 100 mL de cloruro de metileno anhidro bajo atmósfera de argón, se adicionan 3,2 mL (40 mmol) de piridina. A continuación se



añaden 2,3 mL (30 mmol) de cloruro de mesilo y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 20-24 horas (c.c.f.). La disolución orgánica se lava sucesivamente con 50 mL de una disolución acuosa al 10% de ácido clorhídrico y 50 mL de una disolución acuosa de carbonato potásico al 20%. La fase orgánica se seca sobre sulfato sódico anhidro y tras eliminar el disolvente a presión reducida el residuo resultante se purifica por destilación.

\* *N*-(2-cloroetil)metanosulfonamida **51**<sup>306</sup>



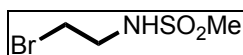
Rto. 81%; (aceite).

IR (cm<sup>-1</sup>): 3300 (NH), 1320, 1150 (NHSO<sub>2</sub>).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 2,93 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,37 (t, *J* = 5,9, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,58 (t, *J* = 5,9, 2H, CH<sub>2</sub>), 5,10 (sa, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 40,2 (CH<sub>3</sub>), 43,5; 44,3 (2CH<sub>2</sub>).

\* *N*-(2-bromoetil)metanosulfonamida **61**



Rto. 45%; p.e. 100 °C / 0,05 mm Hg.

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 2,95 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,43 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 5,37 (sa, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 31,7 (BrCH<sub>2</sub>), 40,5 (CH<sub>3</sub>), 44,4 (BrCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>).

<sup>306</sup>Henry, J.; Bauer, A.; Ehlers, G.; Hirsekorn, B.; Jacobs, T.; Noll, W.; Weibezahn, W., Römer, F. *Ann.*, **1950**, 566, 210.

5.1.2.2. *N*-(5-Cloropentil)fenilacetamida y *N*-(5-cloropentil)fenilmetilsulfonamida  
**109a,b**

\* *5-cloropentilamina 111*. Sobre una disolución de 0,75 g (6,2 mmol) de  $\delta$ -clorovaleronitrilo en 160 mL de etanol absoluto, se adicionan 3,1 mL de ácido clorhídrico concentrado y 156 mg (0,6 mmol) de óxido de platino como catalizador. La suspensión resultante se hidrogena a 60 p.s.i. (*pound square inch-libras/pulgadas*<sup>2</sup>) y temperatura ambiente hasta la desaparición del producto de partida (c.c.f.). La mezcla de reacción se filtra sobre celita y el disolvente se evapora a presión reducida, obteniéndose tras secar sobre pentóxido de fósforo a vacío 0,98 g (99%) de **111** en forma de hidrocloreto: p.f. 164-166 °C (metanol/cloroformo).

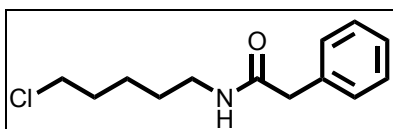


IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3412 ( $\text{NH}_2$ ).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6, \delta$ ): 1,35-1,61 (m, 4H,  $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 1,71 (qt,  $J = 6,8$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 2,73 (t,  $J = 7,1$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 3,62 (t,  $J = 6,6$ , 2H,  $\text{ClCH}_2$ ), 8,14 (sa, 2H,  $\text{NH}_2$ ).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6, \delta$ ): 23,1 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 26,0 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 31,3 ( $\text{ClCH}_2\text{CH}_2$ ), 38,3 ( $\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 45,1 ( $\text{ClCH}_2$ ).

\* *N*-(5-cloropentil)fenilacetamida y *N*-(5-cloropentil)fenilmetilsulfonamida.  
*Procedimiento general. 109a,b*. Sobre una disolución de 750 mg (4,7 mmol) de **111** en 24 mL de cloruro de metileno anhidro bajo atmósfera de argón, se adicionan 0,95 mL (9,5 mmol) de trietilamina. A continuación se añaden 5,2 mmol del cloruro de acilo o sulfonilo correspondiente y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 20-24 horas (c.c.f.). La disolución orgánica se lava sucesivamente con 20 mL de una disolución acuosa al 10% de ácido clorhídrico y 20 mL de una disolución acuosa de carbonato potásico al 20%. La fase orgánica se seca sobre sulfato sódico anhidro y tras eliminar el disolvente a presión reducida el residuo resultante se purifica por cristalización del disolvente adecuado.

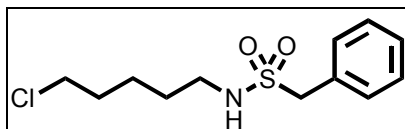
**\*\* N-(5-cloropentil)fenilacetamida 109a**

Rto. 70%; p.f. 48-49 °C (acetato de etilo/hexano).

IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>): 3314 (NH), 1655 (CONH), 1603, 1522, 1497 (Ar).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 1,32-1,47 (m, 4H, ClCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1,72 (qt, J = 6,8, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 3,20 (q, J = 6,6, 2H, CH<sub>2</sub>NHCO), 3,47 (t, J = 6,6, 2H, ClCH<sub>2</sub>), 3,63 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 5,45 (sa, 1H, NHCO), 7,22-7,35 (m, 5H, Ph).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 23,9 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 28,6 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 31,9 (ClCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 39,3 (CH<sub>2</sub>Ph), 43,8; 44,7 (CH<sub>2</sub>NHCO, ClCH<sub>2</sub>), 127,0; 128,5; 129,3; 134,8 (Ph), 171,1 (NHCO).

**\*\* N-(5-cloropentil)fenilmetilsulfonamida 109b**

Rto. 85%; p.f. 69-71 °C (acetato de etilo/hexano).

IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3283 (NH), 1603, 1491 (Ar), 1329, 1159 (NHSO<sub>2</sub>).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 1,23-1,56 (m, 4H, ClCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1,73 (qt, J = 6,8, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 2,97 (q, J = 6,6, 2H, CH<sub>2</sub>NHSO<sub>2</sub>), 3,50 (t, J = 6,6, 2H, ClCH<sub>2</sub>), 4,10 (m, 1H, NHSO<sub>2</sub>), 4,24 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 7,35-7,38 (m, 5H, Ph).

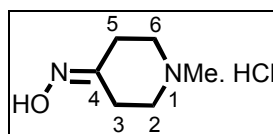
<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 23,6 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 29,5 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 31,7 (ClCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 43,3; 44,5 (CH<sub>2</sub>NHSO<sub>2</sub>, ClCH<sub>2</sub>), 58,6 (CH<sub>2</sub>Ph), 128,6; 128,7; 129,5; 130,4 (Ph).

### 5.1.3. Síntesis de diaminas

#### 5.1.3.1. 1-Alquil-4-aminopiperidinas **45**, **48a-c**

##### \* 4-amino-1-metilpiperidina **45**

\*\* oxima de la 1-metil-4-piperidona **44**. A una disolución de 5,0 g (44 mmol) de 1-metil-4-piperidona en 10 mL de etanol se le adiciona una disolución de 3,1 g (44 mmol) de hidrocloreto de hidroxilamina en 10 mL de agua, gota a gota. La mezcla de reacción se calienta a 100 °C durante 2 horas y los disolventes se eliminan a presión reducida, obteniéndose 7,2 g (99%) de **44** en forma de hidrocloreto: p.f. 243-245 °C (etanol/éter etílico) (lit.<sup>307</sup> p.f. 243-244 °C).



IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3130 (OH), 1660 (C=N).

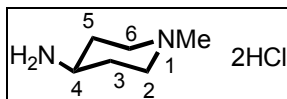
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 2,34 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,40 (t,  $J = 6,0$ , 2H,  $2\text{H}_5$ ), 2,51 (t,  $J = 6,0$ , 2H,  $2\text{H}_2$ ), 2,56 (t,  $J = 6,0$ , 2H,  $2\text{H}_6$ ), 2,70 (t,  $J = 6,0$ , 2H,  $2\text{H}_3$ ), 10,32 (s, 1H, OH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 24,0 ( $\text{C}_3$ ), 31,1 ( $\text{C}_5$ ), 45,6 ( $\text{CH}_3$ ), 54,3 ( $\text{C}_2$ ), 55,6 ( $\text{C}_6$ ), 156,1 ( $\text{C}_4$ ).

\*\* 4-amino-1-metilpiperidina **45**. A una disolución de 0,6 g (25 mmol) de sodio en 50 mL de etanol absoluto se le añade una suspensión de 4,1 g (25 mmol) de **44** en 25 mL de etanol absoluto, en atmósfera de argón. La mezcla de reacción se refluxe durante 45 minutos, se filtra el cloruro sódico formado y a la disolución resultante se le añaden 5,7 g (250 mmol) de sodio, en trocitos, manteniendo un reflujo constante. Finalizada la adición, la mezcla de reacción se refluxe durante 1 hora más. Después de enfriar, se añaden 50 mL de agua y el etanol se elimina a presión reducida. La disolución acuosa resultante se satura con carbonato potásico y el aceite en suspensión se extrae con éter etílico (3 x 25 mL). Los

<sup>307</sup>Véase nota 211(a).

extractos orgánicos se secan sobre sulfato magnésico y el disolvente se elimina a presión reducida, obteniéndose 1,1 g (40%) de **45**, que se aísla en forma de dihidrocloruro: p.f. 241-243 °C (metanol/acetato de etilo) (lit.<sup>308</sup> p.f. 242-244 °C).



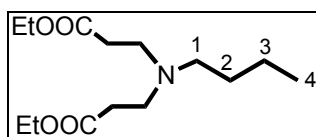
IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3360 ( $\text{NH}_3^+$ ), 1635, 1610 ( $\text{NH}^+$ ,  $\text{NH}_3^+$ ).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1,41 (qd,  $J = 11,7$ ; 3,9, 2H,  $\text{H}_{3\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ax}}$ ), 1,80-1,84 (m, 4H,  $\text{NH}_2$ ,  $\text{H}_{3\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ec}}$ ), 1,99 (td,  $J = 11,7$ ; 1,8, 2H,  $\text{H}_{2\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ax}}$ ), 2,27 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,65 (tt,  $J = 10,8$ ; 4,2, 1H,  $\text{H}_4$ ), 2,80 (d,  $J = 12,0$ , 2H,  $\text{H}_{2\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ec}}$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 35,7 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 46,0 ( $\text{CH}_3$ ), 48,0 ( $\text{C}_4$ ), 54,4 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ).

\* 1-butil-4-piperidona **46**

\*\* butil-di-(2-etoxicarboniletíl)amina **49**. A 80,1 g (0,8 mol) de acrilato de etilo se le adicionan 40 mL (0,4 mol) de butilamina y la mezcla de reacción se calienta a 125 °C durante 20 horas (c.c.f.). El líquido resultante se cromatografía en columna de gel de sílice (hexano), obteniéndose 79,1 g (73%) de **49**: p.e. 125 °C / 1 mm Hg (lit.<sup>309</sup> p.e. 154-156 °C / 2 mm Hg).



IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1740 (COO).

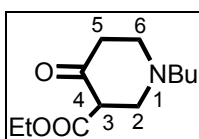
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0,86 (t,  $J = 7,2$ , 3H,  $3\text{H}_4$ ), 1,19-1,39 (m, 10H,  $2\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ,  $2\text{H}_2$ ,  $2\text{H}_3$ ), 2,37 (t,  $J = 6,9$ , 4H,  $2\text{CH}_2\text{COOEt}$  ó  $2\text{H}_1$ ), 2,39 (t,  $J = 7,5$ , 2H,  $2\text{H}_1$  ó  $2\text{CH}_2\text{COOEt}$ ), 2,79 (t,  $J = 6,6$ , 4H,  $2\text{NCH}_2$ ), 4,08 (q,  $J = 7,2$ , 4H,  $2\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ).

<sup>308</sup>Véase nota 211(b).

<sup>309</sup>Véase nota 213(a).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 13,9 ( $\text{C}_4$ ), 14,1 ( $2\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ), 20,3 ( $\text{C}_3$ ), 29,2 ( $\text{C}_2$ ), 32,5 ( $2\text{CH}_2\text{COOEt}$ ), 49,1 ( $2\text{NCH}_2$ ), 53,3 ( $\text{C}_1$ ), 60,1 ( $2\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ), 172,6 ( $2\text{COO}$ ).

\*\* *1-butil-3-etoxicarbonil-4-piperidona* **50**. A una mezcla de 6,2 g (0,3 mol) de sodio en 70 mL de xileno anhidro calentada a reflujo se le añaden, gota a gota y en atmósfera de argón, 0,5 mL de etanol absoluto y 77,0 g (0,3 mol) de **49**. La mezcla de reacción se refluje durante 1 hora y tras enfriar, se añaden 100 mL de agua helada gota a gota. La suspensión resultante se agita a temperatura ambiente durante 15 minutos. La fase orgánica se lava con varias fracciones de 100 mL de agua (c.c.f.), y las fases acuosas resultantes se extraen con éter etílico (2 x 100 mL) y se acidulan con ácido clorhídrico concentrado hasta pH rojo congo (en baño de hielo). A continuación, se adiciona carbonato potásico hasta pH neutro y la disolución resultante se extrae con éter etílico (10 x 200 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre sulfato magnésico y el disolvente se elimina a presión reducida, obteniéndose 1,6 g (32%) de **50** que se purifica por destilación: p.e. 125 °C / 1 mm Hg



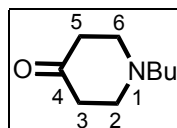
IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1725 ( $\text{C=O}$ ), 1670 ( $\text{COO}$ ).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0,90 (t,  $J = 7,2$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,22-1,52 (m, 7H,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 2,36-2,44 (m, 6H,  $\text{NCH}_2$ ,  $2\text{H}_2$ ,  $2\text{H}_5$ ), 2,57 (t,  $J = 6,3$ , 2H,  $2\text{H}_6$ ), 3,09 (t,  $J = 1,5$ , 1H,  $\text{H}_3$ ), 4,18 (q,  $J = 6,9$ , 2H,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 13,9 ( $\text{CH}_3$ ), 14,1 ( $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ), 20,5 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 29,3 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 40,6 ( $\text{C}_5$ ), 53,3 ( $\text{C}_6$ ), 55,0 ( $\text{C}_2$ ), 56,3 ( $\text{C}_3$ ), 57,6 ( $\text{NCH}_2$ ), 60,1 ( $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ), 170,0 ( $\text{COO}$ ), 204,2 ( $\text{C}_4$ ).

\*\* *1-butil-4-piperidona* **46**. Una disolución de 12,0 g (53 mmol) de **50** en 63 mL de ácido clorhídrico al 20% se refluje durante 3 horas. Tras enfriar la mezcla de reacción, se trata con hidróxido sódico al 50% y la disolución básica resultante se extrae con éter etílico (5 x 40 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre sulfato magnésico y el disolvente se elimina a presión reducida,

obteniéndose 6,2 g (75%) de **46**: p.e. 60 °C / 1 mm Hg (lit.<sup>310</sup> p.e. 111-114 °C / 15 mm Hg).

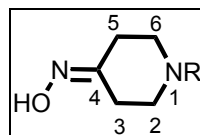


IR (cm<sup>-1</sup>): 1725 (C=O).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 0,87 (t, *J* = 7,2, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,29 (sx, *J* = 7,2, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1,44 (qt, *J* = 7,2, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2,35-2,40 (m, 6H, 2H<sub>3</sub>, 2H<sub>5</sub>, NCH<sub>2</sub>), 2,67 (t, *J* = 6,0, 4H, 2H<sub>2</sub>, 2H<sub>6</sub>).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 13,8 (CH<sub>3</sub>), 20,5 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 29,4 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 41,1 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>), 53,0 (C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>), 57,1 (NCH<sub>2</sub>), 208,2 (C<sub>4</sub>).

*\*oximas de las 1-alkil-4-piperidonas. Procedimiento general. 47a-c.* A una disolución de 39 mmol de la 1-alkil-4-piperidona correspondiente en 20 mL de etanol se le añade, gota a gota, una disolución de 2,9 g (42 mmol) de hidrocloreuro de hidroxilamina en 20 mL de agua. A continuación, se adicionan 13,5 g (42 mmol) de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se refluxe durante 3 horas y se agita a temperatura ambiente durante 1 hora. El etanol se elimina a presión reducida y la disolución acuosa resultante se extrae con cloroformo (4 x 30 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre sulfato magnésico y el disolvente se elimina a presión reducida, obteniéndose la correspondiente oxima que se cristaliza del disolvente adecuado.



<sup>310</sup>Véase nota 213(b).

**\*\* oxima de la 1-etil-4-piperidona 47a**

Rto. 68%; p.f. 117-119 °C (éter etílico).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3160 (OH), 1660 (C=N).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1,09 (t,  $J = 7,2$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,36 (t,  $J = 6,0$ , 2H,  $2\text{H}_5$ ), 2,44 (q,  $J = 7,2$ , 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 2,50 (t,  $J = 6,6$ , 2H,  $2\text{H}_2$ ), 2,55 (t,  $J = 6,6$ , 2H,  $2\text{H}_6$ ), 2,66 (t,  $J = 6,0$ , 2H,  $2\text{H}_3$ ), 9,98 (s, 1H, OH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 12,2 ( $\text{CH}_3$ ), 24,3 ( $\text{C}_3$ ), 31,4 ( $\text{C}_5$ ), 52,0; 52,1 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{NCH}_2$ ), 53,3 ( $\text{C}_6$ ), 157,3 ( $\text{C}_4$ ).

**\*\* oxima de la 1-propil-4-piperidona 47b**

Rto. 73%; p.f. 100-102 °C (hexano).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3150 (OH), 1670 (C=N).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0,87 (t,  $J = 7,2$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,53 (sx,  $J = 7,2$ , 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 2,29-2,38 (m, 4H,  $2\text{H}_5$ ,  $\text{NCH}_2$ ), 2,50 (t,  $J = 6,0$ , 2H,  $2\text{H}_2$ ), 2,55 (t,  $J = 6,0$ , 2H,  $2\text{H}_6$ ), 2,65 (t,  $J = 5,7$ , 2H,  $2\text{H}_3$ ), 9,91 (s, 1H, OH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 11,8 ( $\text{CH}_3$ ), 19,9 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 24,1 ( $\text{C}_3$ ), 31,0 ( $\text{C}_5$ ), 52,3 ( $\text{C}_2$ ), 53,5 ( $\text{C}_6$ ), 60,0 ( $\text{NCH}_2$ ), 157,1 ( $\text{C}_4$ ).

**\*\* oxima de la 1-butil-4-piperidona 47c**

Rto. 70%; p.f. 92-94 °C (hexano).

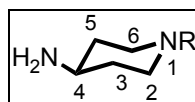
IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3100 (OH), 1665 (C=N).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0,89 (t,  $J = 7,5$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,29 (sx,  $J = 7,5$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1,47 (qt,  $J = 7,5$ , 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 2,33-2,37 (m, 4H,  $2\text{H}_5$ ,  $\text{NCH}_2$ ), 2,50 (t,  $J = 6,0$ , 2H,  $2\text{H}_2$ ), 2,54 (t,  $J = 6,9$ , 2H,  $2\text{H}_6$ ), 2,65 (t,  $J = 6,0$ , 2H,  $2\text{H}_3$ ), 9,73 (s, 1H, OH).



$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 13,9 ( $\text{CH}_3$ ), 20,6 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 24,1 ( $\text{C}_3$ ), 29,0 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 31,1 ( $\text{C}_5$ ), 52,3 ( $\text{C}_2$ ), 53,6 ( $\text{C}_6$ ), 57,9 ( $\text{NCH}_2$ ), 157,1 ( $\text{C}_4$ ).

\* 1-alkuil-4-aminopiperidinas. *Procedimiento general.* **48a-c.** A una suspensión de 1,6 g (42 mmol) de hidruro de litio y aluminio en 10 mL de éter etílico anhidro se le añade, gota a gota y en atmósfera de argón, una suspensión de 28 mmol de la oxima de la 1-alkuil-4-piperidona correspondiente **47a-c** en 20 mL de éter etílico anhidro. La mezcla de reacción se refluxe durante 21 horas en atmósfera de argón. Tras enfriar, se añaden 4 mL de agua y se agita la mezcla durante 30 minutos a temperatura ambiente. Las sales se filtran, se lavan con éter etílico y los extractos etéreos se secan sobre sulfato magnésico. El disolvente se elimina a presión reducida, obteniéndose la correspondiente amina que se purifica por destilación.



\*\* 4-amino-1-etilpiperidina **48a**

Rto. 48%; p.e. 50 °C / 1 mm Hg.

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3360, 3280, 1600 ( $\text{NH}_2$ ).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1,01 (t,  $J = 6,9$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,25-1,38 (m, 2H,  $\text{H}_{3\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ax}}$ ), 1,51 (m, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 1,72-1,78 (m, 2H,  $\text{H}_{3\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ec}}$ ), 1,88 (td,  $J = 11,7$ ; 2,7, 2H,  $\text{H}_{2\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ax}}$ ), 2,31 (q,  $J = 6,9$ , 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 2,58 (tt,  $J = 10,5$ ; 4,5, 1H,  $\text{H}_4$ ), 2,81 (dt,  $J = 12,0$ ; 3,0, 2H,  $\text{H}_{2\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ec}}$ ).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 12,3 ( $\text{CH}_3$ ), 36,1 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 48,9 ( $\text{C}_4$ ), 52,2; 52,3 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ,  $\text{NCH}_2$ ).

**\*\* 4-amino-1-propilpiperidina 48b**

Rto. 41%; p.e. 60 °C / 1 mm Hg.

IR (cm<sup>-1</sup>): 3360, 3285, 1600 (NH<sub>2</sub>).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 0,80 (t, *J* = 7,2, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,25-1,48 (m, 6H, H<sub>3ax</sub>, H<sub>5ax</sub>, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>), 1,70-1,75 (m, 2H, H<sub>3ec</sub>, H<sub>5ec</sub>), 1,88 (td, *J* = 11,7; 2,1, 2H, H<sub>2ax</sub>, H<sub>6ax</sub>), 2,16-2,21 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>), 2,56 (tt, *J* = 10,5; 4,2, 1H, H<sub>4</sub>), 2,78 (dt, *J* = 12,0; 3,0, 2H, H<sub>2ec</sub>, H<sub>6ec</sub>).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 12,1 (CH<sub>3</sub>), 20,4 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 36,1 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>), 48,9 (C<sub>4</sub>), 52,7 (C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>), 60,8 (NCH<sub>2</sub>).

**\*\* 4-amino-1-butilpiperidina 48c**

Rto. 40%; p.e. 55 °C / 1 mm Hg.

IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>): 3340, 3280, 1580 (NH<sub>2</sub>).

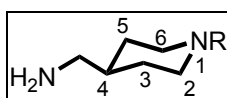
<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 0,84 (t, *J* = 7,2, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,19-1,49 (m, 8H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, H<sub>3ax</sub>, H<sub>5ax</sub>, NH<sub>2</sub>), 1,72-1,78 (m, 2H, H<sub>3ec</sub>, H<sub>5ec</sub>), 1,89 (td, *J* = 12,0; 1,8, 2H, H<sub>2ax</sub>, H<sub>6ax</sub>), 2,20-2,25 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>), 2,57 (tt, *J* = 10,5; 4,2, 1H, H<sub>4</sub>), 2,80 (d, *J* = 12,3, 2H, H<sub>2ec</sub>, H<sub>6ec</sub>).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 13,9 (CH<sub>3</sub>), 20,7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 29,2 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 35,8 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>), 48,7 (C<sub>4</sub>), 52,4 (C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>), 58,4 (NCH<sub>2</sub>).

**5.1.3.2. (1-Alquil-4-piperidil)metilaminas. Procedimiento general. 52a-d, 110a,b**

Sobre una disolución de 1,1 g (10 mmol) de 4-piperidilmetilamina en acetonitrilo seco (10 mL) enfriada a 0 °C se añade, gota a gota, el correspondiente derivado halogenado (8 mmol) en acetonitrilo seco (8 mL). La mezcla de reacción se deja evolucionar a temperatura ambiente y se agita durante toda la noche. A continuación se añaden 50 mL de hidróxido sódico al 4% y se extrae la disolución resultante con cloroformo (3 x 50 mL). Los extractos orgánicos se lavan con una

disolución saturada de cloruro sódico y se secan sobre sulfato sódico. El crudo aislado al eliminar el disolvente a presión reducida se cromatografía en columna de gel de sílice, obteniéndose la correspondiente (1-alkil-4-piperidil)metilamina pura. En todos los casos se detectan en el espectro  $^1\text{H-RMN}$  del crudo de reacción pequeñas cantidades de producto dialquilado (5-20%) y de producto de partida (5-10%).



\* (1-butil-4-piperidil)metilamina **52a**

Agente alquilante: 1-bromobutano.

Cromatografía: cloroformo/metanol/amoniaco 9:1:0,1→9:4:0,1.

Rto. 51%; p.e. 45 °C / 0,3 mm Hg.

IR (cm<sup>-1</sup>): 3370, 3290, 1605 (NH<sub>2</sub>).

$^1\text{H-RMN}$  (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ ): 0,82 (t,  $J = 7,2$ , 3H, CH<sub>3</sub>), 1,08-1,27 (m, 5H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>3ax</sub>, H<sub>5ax</sub>), 1,39 (qt,  $J = 7,5$ , 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1,62 (d,  $J = 9,6$ , 2H, H<sub>3ec</sub>, H<sub>5ec</sub>), 1,80 (t,  $J = 11,7$ , 2H, H<sub>2ax</sub>, H<sub>6ax</sub>), 1,99 (sa, 2H, NH<sub>2</sub>), 2,18-2,23 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>), 2,48 (d,  $J = 6,0$ , 2H, CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 2,86 (d,  $J = 12,0$ , 2H, H<sub>2ec</sub>, H<sub>6ec</sub>).

$^{13}\text{C-RMN}$  (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ ): 14,1 (CH<sub>3</sub>), 21,0 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 29,2 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 29,9 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>), 39,3 (C<sub>4</sub>), 48,0 (CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 53,8 (C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>), 59,0 (NCH<sub>2</sub>).

\* *N*-[2-(4-aminometilpiperidino)etil]metanosulfonamida **52b**

Agente alquilante: *N*-(2-cloroetil)metanosulfonamida (**51**).

Cromatografía: cloroformo/metanol/amoniaco 9:4:0,2→8:2:1.

Rto. 49%; p.f. 111-113 °C (metanol/éter etílico).

IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>): 3580, 3320 (NH<sub>2</sub>, NH), 1610 (NH<sub>2</sub>), 1325, 1150 (NH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1,20-1,26 (m, 3H,  $\text{H}_{3\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ax}}$ ,  $\text{H}_4$ ), 1,72 (dm,  $J = 10,5$ , 2H,  $\text{H}_{3\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ec}}$ ), 2,00 (td,  $J = 11,7$ ; 2,2, 2H,  $\text{H}_{2\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ax}}$ ), 2,51 (t,  $J = 6,1$ , 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 2,57 (d,  $J = 6,3$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 2,88 (dm,  $J = 11,5$ , 2H,  $\text{H}_{2\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ec}}$ ), 2,92 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,19 (t,  $J = 5,6$ , 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 29,5 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 38,4 ( $\text{C}_4$ ), 39,5 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 39,6 ( $\text{CH}_3$ ), 47,3 ( $\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 53,0 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 56,9 ( $\text{NCH}_2$ ).

\* (1-isobutil-4-piperidil)metilamina **52c**

Agente alquilante: 1-bromo-2-metilpropano.

Cromatografía: cloroformo/metanol/amoniaco 9:1:0,1→8:2:0,1.

Rto. 63%; p.f. 106-108 °C (metanol/éter etílico).

$\text{IR}$  ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3400, 3300, 1620 ( $\text{NH}_2$ ).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0,88 (d,  $J = 6,6$ , 6H,  $2\text{CH}_3$ ), 1,15-1,30 (m, 3H,  $\text{H}_{3\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ax}}$ ,  $\text{H}_4$ ), 1,63-1,80 (m, 5H,  $\text{NCH}_2\text{CH}$ ,  $\text{H}_{3\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ec}}$ ,  $\text{NH}_2$ ), 1,83 (tm,  $J = 10,5$ , 2H,  $\text{H}_{2\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ax}}$ ), 2,05 (d,  $J = 7,3$ , 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 2,56 (dm,  $J = 5,6$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 2,87 (dm,  $J = 11,6$ ,  $\text{H}_{2\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ec}}$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 20,9 ( $2\text{CH}_3$ ), 25,3 ( $\text{NCH}_2\text{CH}$ ), 29,7 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 39,2 ( $\text{C}_4$ ), 47,9 ( $\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 53,9 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 67,2 ( $\text{NCH}_2$ ).

\* (1-pentil-4-piperidil)metilamina **52d**

Agente alquilante: 1-cloropentano.

Cromatografía: cloroformo/metanol/amoniaco 9:1:0,1→8:2:0,1.

Rto. 54%; p.f. 98-100 °C (metanol/éter etílico).

$\text{IR}$  ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3260, 1580 ( $\text{NH}_2$ ).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0,77 (t,  $J = 6,7$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,09-1,21 (m, 7H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $\text{H}_{3\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ax}}$ ,  $\text{H}_4$ ), 1,37 (m, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 1,59 (dm,  $J = 9,5$  Hz, 2H,  $\text{H}_{3\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ec}}$ ), 1,76

(tm,  $J = 11,1$  Hz, 2H,  $H_{2ax}$ ,  $H_{6ax}$ ), 1,88 (sa, 2H,  $NH_2$ ), 2,16 (m, 2H,  $NCH_2$ ), 2,45 (dm,  $J = 4,8$  Hz, 2H,  $CH_2NH_2$ ), 2,82 (dm,  $J = 11,9$  Hz, 2H,  $H_{2ec}$ ,  $H_{6ec}$ ).

$^{13}C$ -RMN ( $CDCl_3$ ,  $\delta$ ): 14,0 ( $CH_3$ ), 22,6 ( $CH_2CH_3$ ), 26,7; 29,9 ( $CH_2CH_2CH_3$ ,  $NCH_2CH_2$ ,  $C_3$ ,  $C_5$ ), 39,0 ( $C_4$ ), 47,8 ( $CH_2NH_2$ ), 53,7 ( $C_2$ ,  $C_6$ ), 59,2 ( $NCH_2$ ).

\* *N*-[5-(4-aminometilpiperidino)pentil]fenilacetamida **110a**

Agente alquilante: *N*-(5-cloropentil)fenilacetamida (**109a**).

Cromatografía: cloroformo/metanol/amoniaco 9:4:0,1→9:4:1.

Rto. 30%; 136-138 °C (acetato de etilo).

IR ( $CHCl_3$ ,  $cm^{-1}$ ): 3427, 3300 ( $NH_2$ ,  $NH$ ), 1647 ( $CONH$ ), 1603, 1558, 1497 (Ar).

$^1H$ -RMN ( $CDCl_3$ ,  $\delta$ ): 1,14-1,71 (m, 13H,  $CH_2CH_2CH_2CH_2NH$ ,  $2H_3$ ,  $2H_5$ ,  $H_4$ ,  $NH_2$ ), 1,85 (t,  $J = 10,5$ , 2H,  $H_{2ax}$ ,  $H_{6ax}$ ), 2,23 (dd,  $J = 8,1$ ; 7,3, 2H,  $NCH_2$ ), 2,54 (d,  $J = 4,9$ , 2H,  $CH_2NH_2$ ), 2,88 (d,  $J = 11,5$ , 2H,  $H_{2ec}$ ,  $H_{6ec}$ ), 3,17 (q,  $J = 6,6$ , 2H,  $CH_2NHCO$ ), 3,54 (s, 2H,  $CH_2Ph$ ), 5,43 (sa, 1H,  $CONH$ ), 7,21-7,37 (m, 5H, Ph).

$^{13}C$ -RMN ( $CDCl_3$ ,  $\delta$ ): 24,7 ( $CH_2CH_2CH_2NH$ ), 26,5 ( $CH_2CH_2NH$ ), 29,2 ( $NCH_2CH_2$ ), 29,8 ( $C_3$ ,  $C_5$ ), 39,2 ( $C_4$ ), 39,4 ( $CH_2Ph$ ), 43,7 ( $CH_2NHCO$ ), 48,0 ( $CH_2NH_2$ ), 53,6 ( $C_2$ ,  $C_6$ ), 58,7 ( $NCH_2$ ), 127,2; 128,8; 129,3; 134,9 (Ph), 170,7 ( $NHCO$ ).

\* *N*-[5-(4-aminometilpiperidino)pentil]fenilmetanosulfonamida **110b**

Agente alquilante: *N*-(5-cloropentil)fenilmetanosulfonamida (**109b**).

Cromatografía: cloroformo/metanol/amoniaco 9:4:0,1→9:4:1.

Rto. 30%; p.f. 128-129 °C (tolueno).

IR ( $KBr$ ,  $cm^{-1}$ ): 3384, 3240 ( $NH_2$ ,  $NH$ ), 1560, 1541, 1495 (Ar), 1313, 1138 ( $NHSO_2$ ).

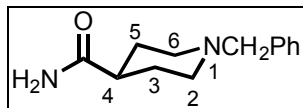
$^1H$ -RMN ( $CDCl_3$ ,  $\delta$ ): 1,18-1,55 (m, 11H,  $CH_2CH_2CH_2CH_2NH$ ,  $H_{3ax}$ ,  $H_{5ax}$ ,  $H_4$ ,  $NH_2$ ), 1,67 (d,  $J = 9,0$ , 2H,  $H_{3ec}$ ,  $H_{5ec}$ ), 1,88 (t,  $J = 11,2$ , 2H,  $H_{2ax}$ ,  $H_{6ax}$ ), 2,29 (dd,  $J = 7,8$ ;

7,1, 2H, NCH<sub>2</sub>), 2,53 (d,  $J = 5,1$ , 2H, CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 2,87-2,99 (m, 4H, H<sub>2ec</sub>, H<sub>6ec</sub>, CH<sub>2</sub>NHSO<sub>2</sub>), 4,22 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 7,36 (s, 5H, Ph).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 24,2 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 26,2 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 29,6 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>), 29,9 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 39,2 (C<sub>4</sub>), 43,5 (CH<sub>2</sub>NHSO<sub>2</sub>), 47,9 (CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 53,7 (C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>), 58,4; 58,6 (NCH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Ph), 128,6; 128,8; 129,6; 130,6 (Ph).

#### 5.1.3.3. 1-(Bencil-4-piperidil)metilamina **54**

\* 1-bencil-4-piperidinacarboxamida **53**. A una disolución de 3,0 g (23 mmol) de 4-piperidinacarboxamida (isonipecotamida) en etanol (75 mL) se le añaden 4,8 g (35 mmol) de carbonato potásico. A continuación se adicionan 2,6 mL (28 mmol) de cloruro de bencilo, gota a gota, y la mezcla de reacción se refluxe durante 9 horas. Tras enfriar, las sales se filtran y el etanol se elimina a presión reducida. El residuo sólido resultante se disuelve en 30 mL de agua y se extrae con cloroformo (4 x 20 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre sulfato sódico y el disolvente se elimina a presión reducida, obteniéndose 4,0 g (80%) de **53**: p.f. 160-162 °C (tolueno).



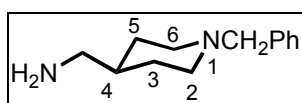
IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3335, 3163 (NH<sub>2</sub>), 1635 (CONH, Ar), 1495 (Ar).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 1,61-2,20 (m, 7H, 2H<sub>3</sub>, 2H<sub>5</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>2ax</sub>, H<sub>6ax</sub>), 2,91 (d,  $J = 11,7$ , 2H, H<sub>2ec</sub>, H<sub>6ec</sub>), 3,47 (s, 2H, NCH<sub>2</sub>Ph), 5,66 (sa, 1H, NH), 6,15 (sa, 1H, NH), 7,22-7,28 (m, 5H, Ph).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 28,9 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>), 42,8 (C<sub>4</sub>), 53,0 (C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>), 63,1 (NCH<sub>2</sub>Ph), 127,0; 128,1; 129,0; 138,3 (Ph), 177,9 (CONH).

\* (1-bencil-4-piperidil)metilamina **54**. A una suspensión de 1,1 g (28 mmol) de hidruro de litio y aluminio en THF anhidro (30 mL) se le añade, gota a gota y en atmósfera de argón, una suspensión de 3,0 g (14 mmol) de **53** en THF (30 mL) y

se calienta a 40-45 °C durante 4 horas. A continuación, la mezcla de reacción se enfría en baño de hielo, se adiciona etanol y 10 mL de agua y se agita a temperatura ambiente durante 30 minutos. Tras filtrar las sales sobre celita y evaporar el disolvente a presión reducida, el residuo se disuelve en agua (25 mL) y se extrae con cloroformo (4 x 25 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre sulfato sódico y el disolvente se elimina a presión reducida, obteniéndose 2,7 g (96%) de **54** (aceite)(lit<sup>311</sup> p.e. 125 °C / 1,0 mm Hg).



IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>): 3169, 3086 (NH<sub>2</sub>), 1585, 1495, 1466 (Ar).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 1,17-1,28 (m, 3H, H<sub>3ax</sub>, H<sub>5ax</sub>, H<sub>4</sub>), 1,39 (sa, 2H, NH<sub>2</sub>), 1,68 (d, J = 8,5, 2H, H<sub>3ec</sub>, H<sub>5ec</sub>), 1,94 (t, J = 11,5, 2H, H<sub>2ax</sub>, H<sub>6ax</sub>), 2,56 (d, J = 5,9, 2H, CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 2,89 (d, J = 11,7, 2H, H<sub>2ec</sub>, H<sub>6ec</sub>), 3,48 (s, 2H, NCH<sub>2</sub>Ph), 7,26-7,31 (m, 5H, Ph).

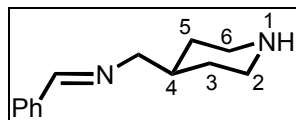
<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 30,0 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>), 39,4 (C<sub>4</sub>), 48,2 (CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 53,6 (C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>), 63,5 (NCH<sub>2</sub>Ph), 126,9; 128,1; 129,2; 138,6 (Ph).

#### 5.1.3.4. (1-terc-Butoxicarbonil-4-piperidil)metilamina **64**

##### Método A

\* *N*-bencilidén-4-piperidilmetilamina **66**. Sobre una suspensión de 1,5 g (10,6 mmol) de sulfato sódico anhidro en 25 mL de benceno se añade gota a gota una disolución de 1,0 g (8,8 mmol) de 4-piperidilmetilamina en 23 mL de benceno. A continuación se adicionan 0,9 mL (8,8 mmol) de benzaldehído, gota a gota, y la mezcla se agita a temperatura ambiente toda la noche. Tras filtrar las sales, el disolvente se elimina a presión reducida, obteniéndose 1,74 g (97%) de **66** (aceite).

<sup>311</sup>Véase nota 78(b).



IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3277 (NH), 1647 (C=N), 1582, 1495 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1,18 (qd,  $J = 12,0$ ; 3,9, 2H,  $\text{H}_{3\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ax}}$ ), 1,63-1,92 (m, 4H,  $\text{H}_{3\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ec}}$ ,  $\text{H}_4$ , NH), 2,60 (td,  $J = 12,0$ ; 2,0, 2H,  $\text{H}_{2\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ax}}$ ), 3,07 (d,  $J = 6,1$ , 2H,  $\text{H}_{2\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ec}}$ ), 3,48 (d,  $J = 6,1$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{N}=\text{CH}$ ), 7,35-7,41 (m, 3H, Ph), 7,69-7,73 (m, 2H, Ph), 8,22 (s, 1H, HC=N).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 31,8 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 37,6 ( $\text{C}_4$ ), 46,6 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 68,2 ( $\text{CH}_2\text{N}=\text{CH}$ ), 128,0; 128,5; 130,4; 135,6 (Ph), 161,1 (C=N).

\* *N*-bencilidén-(1-*tert*-butoxicarbonil-4-piperidil)metilamina **67**. A una disolución de 1,0 g (4,9 mmol) de **66** en 10 mL de dioxano, 5 mL de agua y 5 mL de una disolución acuosa de hidróxido sódico 1 M, agitada y enfriada a 0 °C, se añaden 1,2 g (5,4 mmol) de dicarbonato de di-*tert*-butilo sólido en porciones. La mezcla de reacción se deja evolucionar a temperatura ambiente y se agita durante una hora. La disolución obtenida se concentra a vacío (10 mL), y se extrae con acetato de etilo (2 x 15 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre sulfato sódico y el disolvente se elimina a presión reducida obteniéndose 1,4 g (96%) de **67** (aceite).



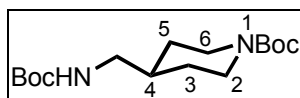
IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1680 (NCOO), 1647 (C=N), 1582, 1560 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1,10-1,27, (m, 2H,  $\text{H}_{3\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ax}}$ ), 1,44 (s, 9H,  $3\text{CH}_3$ ), 1,71 (d,  $J = 9,8$ , 2H,  $\text{H}_{3\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ec}}$ ), 1,86 (m, 1H,  $\text{H}_4$ ), 2,70 (t,  $J = 8,4$ , 2H,  $\text{H}_{2\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ax}}$ ), 3,49 (d,  $J = 4,4$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{N}=\text{CH}$ ), 4,11 (d,  $J = 4,8$ , 2H,  $\text{H}_{2\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ec}}$ ), 7,39-7,41 (m, 3H, Ph), 7,70-7,72 (m, 2H, Ph), 8,23 (s, 1H, HC=N).



$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 28,6 (3 $\text{CH}_3$ ), 30,5 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 37,6 ( $\text{C}_4$ ), 43,9 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 67,7 ( $\text{CH}_2\text{N}=\text{CH}$ ), 79,4 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 128,2; 128,7; 130,7; 136,2 (Ph), 155,0 (COO), 161,6 (C=N).

\* *desprotección de 67: obtención de N-terc-butoxicarbonil-(1-terc-butoxicarbonil-4-piperidil)metilamina 68.* Una disolución de 2,0 g (6,6 mmol) de **67** en 66 mL de bisulfato potásico acuoso al 20% se agita a temperatura ambiente durante 20 horas (c.c.f.). A continuación, la mezcla de reacción se enfría con un baño de hielo, se basicifica con carbonato sódico sólido y se extrae con 60 mL de cloroformo. Tras secar la fase orgánica sobre sulfato sódico y eliminar el disolvente a presión reducida, se obtiene un aceite que se purifica en columna de gel de sílice (cloroformo→cloroformo/metanol 9:1) obteniéndose 0,72 g (70%) del dicarbamato **68** (aceite), en lugar de la amina **64** esperada.



IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3356 (NH), 1680 (NCOO).

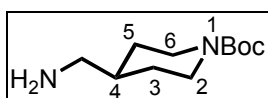
$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1,08 (qd,  $J = 12,7$ ; 3,9, 2H,  $\text{H}_{3\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ax}}$ ), 1,43 (s, 19H,  $\text{H}_4$ , 6 $\text{CH}_3$ ), 1,64 (d,  $J = 12,5$ , 2H,  $\text{H}_{3\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ec}}$ ), 2,65 (t,  $J = 12,9$ , 2H,  $\text{H}_{2\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ax}}$ ), 2,99 (t,  $J = 5,9$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ), 4,09 (d,  $J = 12,2$ , 2H,  $\text{H}_{2\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ec}}$ ), 4,59 (sa, 1H, NH).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 28,5 (6 $\text{CH}_3$ ), 29,7 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 36,9 ( $\text{C}_4$ ), 43,7 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 46,1 ( $\text{CH}_2\text{NH}$ ), 79,4 (2 $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 154,9; 156,1 (2COO).

### Método B

\* *(1-terc-butoxicarbonil-4-piperidil)metilamina 64.* A una disolución de 1,0 g (8,7 mmol) de 4-piperidilmetilamina en 9 mL de dioxano, 9 mL de agua y 9 mL de una disolución acuosa de hidróxido sódico 1 M, agitada y enfriada a 0 °C, se añade, gota a gota, una disolución de 2,1 g (9,5 mmol) de dicarbonato de di-terc-butilo en dioxano (50 mL). La mezcla de reacción se deja evolucionar a temperatura ambiente y se agita durante 8 horas. La disolución obtenida se

concentra a vacío (40 mL), se extrae con cloroformo (3 x 40 mL) y los extractos orgánicos se secan sobre sulfato sódico. El crudo aislado al eliminar el disolvente a presión reducida se cromatografía en columna de gel de sílice (cloroformo→cloroformo/metanol 9:1), obteniéndose 0,88 g (47%) de **64** (aceite). Del crudo de reacción se aísla también el dicarbamato **68** en una relación molar 4:6 respecto al monocarbamato **64**.



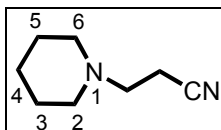
IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3381, 3317 ( $\text{NH}_2$ ), 1678 ( $\text{NCOO}$ ).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1,02 (qd,  $J = 12,4$ ; 4,4, 2H,  $\text{H}_{3\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ax}}$ ), 1,39 (s, 10H,  $\text{H}_4$ , 3 $\text{CH}_3$ ), 1,60-1,68 (m, 4H,  $\text{H}_{3\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ec}}$ ,  $\text{NH}_2$ ), 2,53 (d,  $J = 6,6$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 2,62 (t,  $J = 12,2$ , 2H,  $\text{H}_{2\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ax}}$ ), 4,05 (d,  $J = 12,7$ , 2H,  $\text{H}_{2\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ec}}$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 28,3 (3 $\text{CH}_3$ ), 29,6 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 39,3 ( $\text{C}_4$ ), 43,6 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 47,7 ( $\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 79,1 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 154,7 ( $\text{COO}$ ).

#### 5.1.3.5. 3-Piperidinopropilamina **56**

\*3-piperidinopropanonitrilo **55**. A 3,5 g (66 mmol) de acrilonitrilo se le adicionan 5,0 g (59 mmol) de piperidina, gota a gota. La mezcla de reacción se calienta a 100 °C durante 15 horas, aislándose 7,2 g (90%) de **55**: p.e. 55 °C / 0,5 mm Hg (lit.<sup>312</sup> p.e. 125-130 °C / 27 mm Hg).



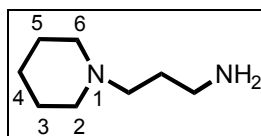
IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2260 (CN).

<sup>312</sup>Véase nota 216(a).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1,35-1,43 (m, 2H, 2H<sub>4</sub>), 1,55 (qt,  $J = 5,7$ , 4H, 2H<sub>3</sub>, 2H<sub>5</sub>), 2,39 (t,  $J = 5,7$ , 4H, 2H<sub>2</sub>, 2H<sub>6</sub>), 2,46 (t,  $J = 7,8$ , 2H, CH<sub>2</sub>CN), 2,63 (t,  $J = 7,5$ , 2H, CH<sub>2</sub>N-pip).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 15,7 (CH<sub>2</sub>CN), 24,1 (C<sub>4</sub>), 25,9 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>), 54,1 (C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>), 54,2 (CH<sub>2</sub>N-pip), 119,2 (CN).

\* *3-piperidinopropilamina* **56**. A una suspensión de 1,4 g (37 mmol) de hidruro de litio y aluminio en 60 mL de éter etílico anhidro se le añade una disolución de 3,5 g (25 mmol) de **55** en 10 mL de éter etílico anhidro, gota a gota y en atmósfera de argón. La mezcla de reacción se refluxa durante 3 horas en atmósfera de argón y se agita a temperatura ambiente durante 13 horas. Tras enfriar a 0 °C, se añaden 1,5 mL de agua, 1,5 mL de hidróxido sódico al 20% y 4 mL de agua y la mezcla se agita durante 30 minutos. Se filtran las sales, se lavan con éter etílico y los extractos orgánicos se secan sobre sulfato magnésico. El disolvente se elimina a presión reducida, obteniéndose 1,0 g (28%) de **56**: p.e. 30 °C / 0,04 mm Hg (lit.<sup>313</sup> p.e. 103-104 °C / 33 mm Hg).



$\text{IR}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3365, 3280, 1580 (NH<sub>2</sub>).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1,22 (sa, 2H, NH<sub>2</sub>), 1,30-1,36 (m, 2H, 2H<sub>4</sub>), 1,47 (qt,  $J = 5,7$ , 4H, 2H<sub>3</sub>, 2H<sub>5</sub>), 1,53 (qt,  $J = 6,9$ , 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 2,21-2,26 (m, 6H, 2H<sub>2</sub>, 2H<sub>6</sub>, CH<sub>2</sub>N-pip), 2,63 (t,  $J = 6,9$ , 2H, CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>).

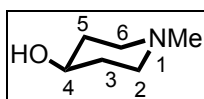
$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 24,2 (C<sub>4</sub>), 25,7 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>), 30,5 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 40,7 (CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 54,4 (C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>), 57,0 (CH<sub>2</sub>N-pip).

<sup>313</sup>Véase nota 216(b).

### 5.1.4. Síntesis de aminoalcoholes

#### 5.1.4.1. 1-Metil-4-piperidinol **57**

A una suspensión de 0,6 g (16 mmol) de hidruro de litio y aluminio en 30 mL de éter etílico anhidro se le añade, gota a gota, una disolución de 5,0 g (44 mmol) de 1-metil-4-piperidona en 30 mL de éter etílico anhidro en atmósfera de argón. La mezcla de reacción se refluxe durante 15 minutos y se agita a temperatura ambiente 15 minutos más, en atmósfera de argón. A continuación, se añaden 1 mL de agua, 1 mL de hidróxido sódico al 15% y 2 mL más de agua y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 20 minutos. Las sales se filtran, se lavan con éter etílico y la disolución etérea resultante se seca sobre sulfato magnésico. El disolvente se elimina a presión reducida, obteniéndose 3,0 g (60%) de **57**: p.e. 50 °C / 1 mm Hg (lit.<sup>314</sup> p.e. 105-110 °C / 25 mm Hg).



IR (cm<sup>-1</sup>): 3350 (OH).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 1,54-1,66 (m, 2H, H<sub>3ax</sub>, H<sub>5ax</sub>), 1,87 (dq, J = 12,9; 3,6, 2H, H<sub>3ec</sub>, H<sub>5ec</sub>), 2,11 (td, J = 10,5; 2,1, 2H, H<sub>2ax</sub>, H<sub>6ax</sub>), 2,25 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,72 (dt, J = 11,4; 3,6, 2H, H<sub>2ec</sub>, H<sub>6ec</sub>), 3,63 (tt, J = 9,3; 3,9, 1H, H<sub>4</sub>).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 34,2 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>), 45,8 (CH<sub>3</sub>), 53,1 (C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>), 66,7 (C<sub>4</sub>).

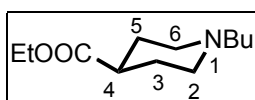
#### 5.1.4.2. (1-Alquil-4-piperidil)metanoles **59, 62**

##### \* (1-butil-4-piperidil)metanol **59**

\*\* 1-butil-4-piperidinacarboxilato de etilo **58**. A una disolución de 5,0 g (32 mmol) de 4-piperidinacarboxilato de etilo (isonipecotinato de etilo) en etanol (125 mL), se le añaden 6,6 g (48 mmol) de carbonato potásico. A continuación se

<sup>314</sup>Véase nota 217.

adicionan 4 mL (39 mmol) de 1-bromobutano, gota a gota, y la mezcla de reacción se refluxe durante 7 horas. Tras enfriar, las sales se filtran y el etanol se elimina a presión reducida. El residuo sólido resultante se disuelve en 50 mL de agua y se extrae con cloroformo (3 x 50 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre sulfato sódico y el disolvente se elimina a presión reducida, obteniéndose 5,3 g (78%) de **58**: p.f. 142-145 °C (éter etílico).



IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>): 1730 (COO).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 0,89 (t, *J* = 7,5, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,20 (t, *J* = 7,2, 3H, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1,27 (sx, *J* = 7,5, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1,51 (qt, *J* = 7,5, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1,76-1,89 (m, 2H, H<sub>3ax</sub>, H<sub>5ax</sub>), 1,97 (dq, *J* = 13,8; 3,9, 2H, H<sub>3ec</sub>, H<sub>5ec</sub>), 2,19 (ta, 2H, H<sub>2ax</sub>, H<sub>6ax</sub>), 2,32 (tt, *J* = 10,2; 4,2, 1H, H<sub>4</sub>), 2,37-2,42 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>), 2,92 (dt, *J* = 12,0; 4,5, 2H, H<sub>2ec</sub>, H<sub>6ec</sub>), 4,08 (q, *J* = 7,2, 2H, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 13,7 (CH<sub>3</sub>), 14,0 (COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 20,5 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 27,2; 28,1 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 40,1 (C<sub>4</sub>), 52,3 (C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>), 58,2 (NCH<sub>2</sub>), 60,3 (COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 174,4 (COO).

\*\* (1-butil-4-piperidil)metanol **59**. A una suspensión de 0,5 g (13 mmol) de hidruro de litio y aluminio en THF anhidro (15 mL) se le añade, gota a gota y en atmósfera de argón, una suspensión de 2,0 g (9 mmol) de **58** en THF (5 mL) y se calienta a 40-45 °C durante 7 horas en atmósfera de argón. A continuación la mezcla de reacción se enfría en baño de hielo, se adiciona etanol y 3 mL de agua y se agita a temperatura ambiente durante 30 minutos. Tras eliminar el disolvente a presión reducida, el residuo se disuelve en agua y se extrae con éter etílico (4 x 25 mL). Los extractos etéreos se secan sobre sulfato sódico y el disolvente se elimina a presión reducida, obteniéndose 1,2 g (70%) de **59**: p.e. 75 °C / 0,8 mm Hg.



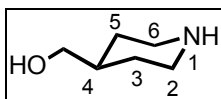
IR (cm<sup>-1</sup>): 3320 (OH).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 0,84 (t, *J* = 7,5, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,17-1,26 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, H<sub>3ax</sub>, H<sub>5ax</sub>), 1,36-1,41 (m, 3H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, H<sub>4</sub>), 1,66 (d, *J* = 11,4, 2H, H<sub>3ec</sub>, H<sub>5ec</sub>), 1,83 (td, *J* = 11,4; 1,5, 2H, H<sub>2ax</sub>, H<sub>6ax</sub>), 2,20-2,26 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>), 2,87 (d, *J* = 11,4, 2H, H<sub>2ec</sub>, H<sub>6ec</sub>), 3,35 (d, *J* = 6,3, 2H, CH<sub>2</sub>OH), 4,11 (sa, 1H, OH).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 14,1 (CH<sub>3</sub>), 21,0 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 28,8 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>), 29,0 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 38,6 (C<sub>4</sub>), 53,7 (C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>), 59,0 (NCH<sub>2</sub>), 67,2 (CH<sub>2</sub>OH).

\* *N*-[2-(4-hidroximetilpiperidino)etil]metanosulfonamida **62**

\*\* *4*-piperidilmetanol **60**. A una suspensión de 0,5 g (13 mmol) de hidruro de litio y aluminio en THF anhidro (20 mL) se le añade, gota a gota y en atmósfera de argón, una suspensión de 1,2 g (7,5 mmol) de 4-piperidinacarboxilato de etilo (isonipecotinato de etilo) en THF (5 mL). La mezcla de reacción se agita toda la noche a temperatura ambiente en atmósfera de argón. A continuación se añaden sucesivamente sobre la mezcla enfriada en baño de hielo etanol y 3 mL de agua. Tras agitar durante 30 minutos a temperatura ambiente, se elimina el disolvente a presión reducida y el residuo se disuelve en agua y se extrae con éter etílico (4 x 25 mL). Los extractos etéreos se secan sobre sulfato sódico y el disolvente se elimina a presión reducida, obteniéndose 3,9 g (72%) de **60**: p.f. 61-62 °C (lit.<sup>315</sup> p.f. 56-61 °C)



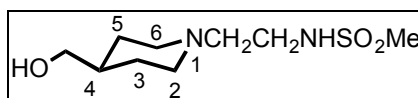
IR (cm<sup>-1</sup>): 3600-3200 (OH, NH), 1650 (NH).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 1,11 (qd, *J* = 12,3; 4,0, 2H, H<sub>3ax</sub>, H<sub>5ax</sub>), 1,57 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 1,70 (d, *J* = 13,1, 2H, H<sub>3ec</sub>, H<sub>5ec</sub>), 2,57 (tm, *J* = 12,3, 2H, H<sub>2ax</sub>, H<sub>6ax</sub>), 3,06 (d, *J* = 12,5, 2H, H<sub>2ec</sub>, H<sub>6ec</sub>), 3,40 (d, *J* = 6,3, 2H, CH<sub>2</sub>OH).

<sup>315</sup>Véase nota 220.

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 29,1 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 40,0 ( $\text{C}_4$ ), 45,3 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 66,2 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ).

\*\* *N*-[2-(4-hidroximetilpiperidino)etil]metanosulfonamida **62**. Sobre una disolución de 1,6 g (14 mmol) de **60** en acetonitrilo seco (40 mL), se añaden 5 mL de *N,N*-diisopropiletilamina (28 mmol) y a continuación 2,9 g (13,7 mmol) de *N*-(2-bromoetil)metanosulfonamida (**61**) disueltos en acetonitrilo (10 mL). La mezcla de reacción se refluxe durante 2 horas y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo obtenido se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice (cloruro de metileno/etanol/amoniaco 9:1:0,1) aislándose 1,8 g (51%) de **62**: p.f. 80-82 °C (lit<sup>316</sup> 81-82 °C).



IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3300 (OH, NH), 1330, 1160 ( $\text{NHSO}_2$ ).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1,26 (qd,  $J = 12,3$ ; 3,6, 2H,  $\text{H}_{3\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ax}}$ ), 1,48-1,62 (m, 2H,  $\text{H}_4$ , OH), 1,74 (dm,  $J = 13,1$ , 2H,  $\text{H}_{3\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ec}}$ ), 2,03 (tm,  $J = 12,3$ , 2H,  $\text{H}_{2\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ax}}$ ), 2,53 (t,  $J = 5,9$ , 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 2,88 (dm,  $J = 11,5$ ,  $\text{H}_{2\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ec}}$ ), 2,97 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,19 (t,  $J = 5,5$ , 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 3,50 (d,  $J = 7,1$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ).

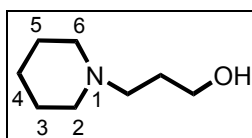
$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 28,7 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 38,3 ( $\text{C}_4$ ), 39,8 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 40,0 ( $\text{CH}_3$ ), 53,3 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 57,3 ( $\text{NCH}_2$ ), 67,4 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ).

#### 5.1.4.3. 3-Piperidinopropanol **63**

A una mezcla de 5,0 g (59 mmol) de piperidina y 6,6 g (48 mmol) de carbonato potásico en 30 mL de acetonitrilo seco a reflujo, se le adicionan, gota a gota y en atmósfera de argón, 5 mL (56 mmol) de 3-cloro-1-propanol. La mezcla de reacción se refluxe durante 22 horas en atmósfera de argón. Tras enfriar, las sales se filtran y se lavan con acetato de etilo. El disolvente se elimina a presión reducida, obteniéndose un residuo que se cromatografía en columna de gel de

<sup>316</sup>Veáse nota 219.

sílice (acetato de etilo/etanol 9:1), aislándose 6,4 g (80%) de **63**: p.e. 55 °C / 0,4 mm Hg (lit.<sup>317</sup> p.e. 125 °C / 30 mm Hg).



IR (cm<sup>-1</sup>): 3350 (OH).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 1,37-1,39 (m, 2H, 2H<sub>4</sub>), 1,51 (qt, *J* = 5,4, 4H, 2H<sub>3</sub>, 2H<sub>5</sub>), 1,64 (qt, *J* = 5,7, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), 2,39 (m, 4H, 2H<sub>2</sub>, 2H<sub>6</sub>), 2,50 (t, *J* = 5,7, 2H, CH<sub>2</sub>N-pip), 3,74 (t, *J* = 5,1, 2H, CH<sub>2</sub>OH), 5,80 (sa, 1H, OH).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 24,0 (C<sub>4</sub>), 25,8 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>), 26,8 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), 54,5 (C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>), 59,4 (CH<sub>2</sub>N-pip), 64,5 (CH<sub>2</sub>OH).

#### 5.1.5. Síntesis de bencimidazolcarboxamidas y bencimidazolcarboxilatos. Procedimiento general. 1-4, UCM-21195, 5-7, UCM-30593, 9, 11-16, UCM-23395, 18-20, 24, 26-33, 65, 107, 108

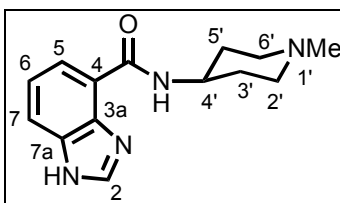
A una disolución de 10 mmol del hidrocloreuro del ácido 4-bencimidazolcarboxílico correspondiente (**36**, **40a,b**, **43a,b**) o del ácido 5-bencimidazolcarboxílico en DMF (10 mL), en atmósfera de argón, se le añaden 1,6 g (10 mmol) de 1,1'-carbonildiimidazol y la disolución resultante se calienta a 40 °C durante 1 hora. A continuación se añade, gota a gota, una disolución de 12-20 mmol de la diamina o el aminoalcohol adecuado y 1,5 g (10 mmol) de 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno en DMF (20 mL). La mezcla de reacción se calienta a 50 °C durante 20-24 horas en atmósfera de argón. El disolvente se evapora a presión reducida y el aceite resultante se disuelve en 100 mL de cloroformo, se lava con 40 mL de agua y posteriormente con 40 mL de carbonato potásico acuoso al 20%. La fase orgánica se seca sobre sulfato sódico y el disolvente se elimina a presión reducida, aislándose la amida o el éster correspondiente, que se

<sup>317</sup>Véase nota 221.



purifica por cromatografía en columna de gel de sílice y posterior cristalización del disolvente adecuado.

5.1.5.1. *N*-(1-Metil-4-piperidil)-4-bencimidazolcarboxamida **1**



Rto. 32 %; p.f. 122-124 °C (agua).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3380, 3260 (NH), 1645 (CONH), 1615, 1570, 1490, 1470 (Ar).

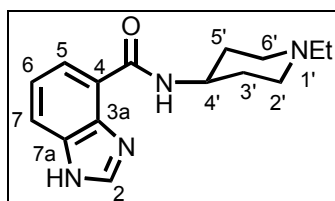
$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6, \delta$ ): 1,51-1,61 (m, 2H,  $\text{H}_{3'ax}$ ,  $\text{H}_{5'ax}$ ), 1,91 (d,  $J = 10,2$ , 2H,  $\text{H}_{3'ec}$ ,  $\text{H}_{5'ec}$ ), 2,09 (t,  $J = 10,2$ , 2H,  $\text{H}_{2'ax}$ ,  $\text{H}_{6'ax}$ ), 2,17 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,69 (d,  $J = 10,8$ , 2H,  $\text{H}_{2'ec}$ ,  $\text{H}_{6'ec}$ ), 3,85-3,88 (m, 1H,  $\text{H}_{4'}$ ), 7,33 (t,  $J = 8,1$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 7,75 (d,  $J = 8,1$ , 1H,  $\text{H}_7$ ), 7,86 (d,  $J = 7,2$ , 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,46 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 9,80 (sa, 1H, CONH).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6, \delta$ ): 31,9 ( $\text{C}_{3'}$ ,  $\text{C}_{5'}$ ), 46,0 ( $\text{C}_{4'}$ ), 46,2 ( $\text{CH}_3$ ), 53,9 ( $\text{C}_{2'}$ ,  $\text{C}_{6'}$ ), 116,5 ( $\text{C}_7$ ), 122,0 ( $\text{C}_4$ ), 122,1; 122,2 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_6$ ), 135,2 ( $\text{C}_{7a}$ ), 139,5 ( $\text{C}_{3a}$ ), 143,3 ( $\text{C}_2$ ), 164,3 (CONH).

Análisis calculado para  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}$ :

C, 65,09; H, 7,02; N, 21,69

Encontrado: C, 64,71; H, 6,93; N, 21,38

5.1.5.2. *N*-(1-Etil-4-piperidil)-4-bencimidazolcarboxamida **2**

Cromatografía: acetato de etilo/etanol 9:1→4:1.

Rto. 37%; p.f. 126-128 °C (agua).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3420, 3250 (NH), 1650 (CONH), 1620, 1575, 1490 (Ar).

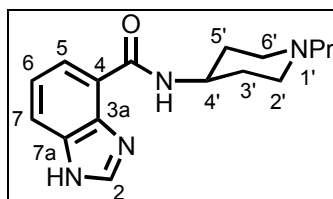
$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 1,01 (t,  $J = 7,2$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,57 (qd,  $J = 12,3$ ; 3,3, 2H,  $\text{H}_{3'ax}$ ,  $\text{H}_{5'ax}$ ), 1,94-1,98 (m, 2H,  $\text{H}_{3'ec}$ ,  $\text{H}_{5'ec}$ ), 2,11 (t,  $J = 10,2$ , 2H,  $\text{H}_{2'ax}$ ,  $\text{H}_{6'ax}$ ), 2,34 (q,  $J = 7,2$ , 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 2,79 (d,  $J = 11,4$ , 2H,  $\text{H}_{2'ec}$ ,  $\text{H}_{6'ec}$ ), 3,91-3,94 (m, 1H,  $\text{H}_{4'}$ ), 7,35 (t,  $J = 7,8$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 7,77 (dd,  $J = 8,1$ ; 1,2, 1H,  $\text{H}_7$ ), 7,89 (dd,  $J = 7,5$ ; 1,2, 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,49 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 9,80 (sa, 1H, CONH).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 12,2 ( $\text{CH}_3$ ), 31,8 ( $\text{C}_{3'}$ ,  $\text{C}_{5'}$ ), 46,0 ( $\text{C}_{4'}$ ), 51,2 ( $\text{C}_{2'}$ ,  $\text{C}_{6'}$ ), 51,6 ( $\text{NCH}_2$ ), 116,0 ( $\text{C}_7$ ), 121,9; 122,1 ( $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_6$ ), 134,1 ( $\text{C}_{7a}$ ), 139,1 ( $\text{C}_{3a}$ ), 142,8 ( $\text{C}_2$ ), 163,9 (CONH).

Análisis calculado para  $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}\cdot\text{H}_2\text{O}$ :

C, 62,04; H, 7,63; N, 19,30

Encontrado: C, 62,12; H, 7,45; N, 19,33

5.1.5.3. *N*-(1-Propil-4-piperidil)-4-bencimidazolcarboxamida **3**

Cromatografía: cloroformo/metanol 9:1.

Rto. 40%; p.f. 119-121 °C (acetona/éter etílico).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3440, 3260 (NH), 1645 (CONH), 1615, 1570, 1490 (Ar).

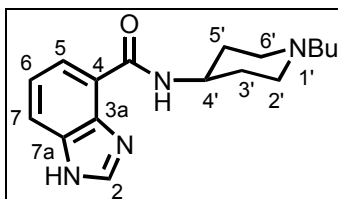
$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6, \delta$ ): 0,86 (t,  $J = 7,5$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,44 (sx,  $J = 7,5$ , 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 1,58 (q,  $J = 9,9$ , 2H,  $\text{H}_{3'ax}, \text{H}_{5'ax}$ ), 1,95 (d,  $J = 10,5$ , 2H,  $\text{H}_{3'ec}, \text{H}_{5'ec}$ ), 2,14 (ta, 2H,  $\text{H}_{2'ax}, \text{H}_{6'ax}$ ), 2,26 (t,  $J = 7,8$ , 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 2,79 (d,  $J = 10,2$ , 2H,  $\text{H}_{2'ec}, \text{H}_{6'ec}$ ), 3,92-3,94 (m, 1H,  $\text{H}_4$ ), 7,35 (t,  $J = 8,1$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 7,77 (d,  $J = 8,1$ , 1H,  $\text{H}_7$ ), 7,89 (d,  $J = 7,5$ , 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,49 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 9,97 (sa, 1H, CONH), 13,00 (sa, 1H, NH).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6, \delta$ ): 11,8 ( $\text{CH}_3$ ), 19,6 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 31,7 ( $\text{C}_{3'}$ ,  $\text{C}_{5'}$ ), 45,9 ( $\text{C}_4$ ), 51,6 ( $\text{C}_{2'}$ ,  $\text{C}_{6'}$ ), 59,8 ( $\text{NCH}_2$ ), 115,3 ( $\text{C}_7$ ), 121,9; 122,2 ( $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_6$ ), 133,5 ( $\text{C}_{7a}$ ), 140,3 ( $\text{C}_{3a}$ ), 142,8 ( $\text{C}_2$ ), 163,8 (CONH).

Análisis calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}$ :

C, 67,10; H, 7,74; N, 19,56

Encontrado: C, 66,81; H, 7,62; N, 19,18

5.1.5.4. *N*-(1-Butil-4-piperidil)-4-bencimidazolcarboxamida 4

Cromatografía: acetato de etilo → acetato de etilo/etanol 9,5:0,5.

Rto. 44%; p.f. 94-97 °C (acetona/agua).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3440, 3280 (NH), 1650 (CONH), 1620, 1570, 1490 (Ar).

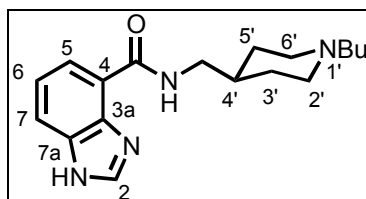
$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 0,88 (t,  $J = 7,2$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,28 (sx,  $J = 7,2$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1,41 (qt,  $J = 7,2$ , 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 1,56 (q,  $J = 9,3$ , 2H,  $\text{H}_{3'ax}$ ,  $\text{H}_{5'ax}$ ), 1,94 (d,  $J = 10,2$ , 2H,  $\text{H}_{3'ec}$ ,  $\text{H}_{5'ec}$ ), 2,11 (t,  $J = 10,5$ , 2H,  $\text{H}_{2'ax}$ ,  $\text{H}_{6'ax}$ ), 2,27 (t,  $J = 7,2$ , 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 2,77 (d,  $J = 11,1$ , 2H,  $\text{H}_{2'ec}$ ,  $\text{H}_{6'ec}$ ), 3,91-3,93 (m, 1H,  $\text{H}_4'$ ), 7,35 (t,  $J = 7,8$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 7,77 (d,  $J = 7,8$ , 1H,  $\text{H}_7$ ), 7,88 (d,  $J = 7,5$ , 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,48 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 9,81 (sa, 1H, CONH).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 13,9 ( $\text{CH}_3$ ), 20,1 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 28,7 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 31,8 ( $\text{C}_{3'}$ ,  $\text{C}_{5'}$ ), 46,0 ( $\text{C}_4'$ ), 51,7 ( $\text{C}_{2'}$ ,  $\text{C}_{6'}$ ), 57,6 ( $\text{NCH}_2$ ), 116,1 ( $\text{C}_7$ ), 122,0; 122,1 ( $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_6$ ), 134,8 ( $\text{C}_{7a}$ ), 139,4 ( $\text{C}_{3a}$ ), 142,8 ( $\text{C}_2$ ), 163,9 (CONH).

Análisis calculado para  $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}$ :

C, 67,97; H, 8,05; N, 18,65

Encontrado: C, 67,61; H, 8,04; N, 18,41

5.1.5.5. *N-[(1-Butil-4-piperidil)metil]-4-bencimidazolcarboxamida UCM-21195*

Cromatografía: acetato de etilo/etanol 9:1.

Rto. 49%; p.f. 122-125 °C (acetato de etilo).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3250 (NH), 1650 (CONH), 1620, 1565, 1490 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 0,86 (t,  $J = 7,2$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,24-1,38 (m, 6H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{H}_{3'\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5'\text{ax}}$ ), 1,55 (m, 1H,  $\text{H}_{4'}$ ), 1,70 (d,  $J = 12,0$ , 2H,  $\text{H}_{3'\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5'\text{ec}}$ ), 1,83 (t,  $J = 10,8$ , 2H,  $\text{H}_{2'\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6'\text{ax}}$ ), 2,23 (t,  $J = 7,2$ , 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 2,85 (d,  $J = 10,5$ , 2H,  $\text{H}_{2'\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6'\text{ec}}$ ), 3,34 (ta, 2H,  $\text{CONHCH}_2$ ), 7,35 (t,  $J = 7,5$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 7,77 (d,  $J = 7,8$ , 1H,  $\text{H}_7$ ), 7,89 (d,  $J = 6,9$ , 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,48 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 9,92 (sa, 1H, CONH), 12,88 (sa, 1H, NH).

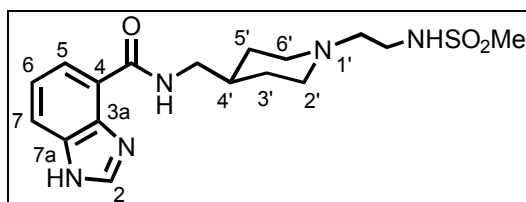
$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 14,0 ( $\text{CH}_3$ ), 20,3 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 28,7 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 29,9 ( $\text{C}_{3'}$ ,  $\text{C}_{5'}$ ), 36,3 ( $\text{C}_{4'}$ ), 44,5 ( $\text{CONHCH}_2$ ), 53,2 ( $\text{C}_{2'}$ ,  $\text{C}_{6'}$ ), 57,9 ( $\text{NCH}_2$ ), 116,0 ( $\text{C}_7$ ), 122,2; 122,3 ( $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_6$ ), 134,8 ( $\text{C}_{7a}$ ), 139,6 ( $\text{C}_{3a}$ ), 143,0 ( $\text{C}_2$ ), 164,8 (CONH).

Análisis calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}$ :

C, 68,75; H, 8,33; N, 17,82

Encontrado: C, 68,78; H, 8,32; N, 17,49

5.1.5.6. *N*-[[1-[2-[(Metilsulfonil)amino]etil]-4-piperidil]metil]-4-bencimidazolcarboxamida **5**



Cromatografía: cloroformo/metanol 9:1 → cloroformo/metanol/amoniaco 8:2:1.

Rto. 59%; p.f. 67-69 °C.

IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>): 3700, 3470, 3300, 3180 (NH), 1660 (CONH), 1620, 1570 (Ar), 1330, 1160 (NHSO<sub>2</sub>).

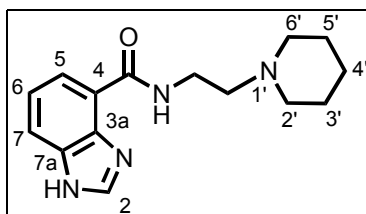
<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 1,39 (qm, *J* = 9,1, 2H, H<sub>3'ax</sub>, H<sub>5'ax</sub>), 1,71-1,81 (m, 1H, H<sub>4'</sub>), 1,83 (d, *J* = 12,1, 2H, H<sub>3'ec</sub>, H<sub>5'ec</sub>), 2,05 (td, *J* = 11,9; 2,4, 2H, H<sub>2'ax</sub>, H<sub>6'ax</sub>), 2,53 (t, *J* = 5,9, 2H, NCH<sub>2</sub>), 2,89 (dm, *J* = 11,9, 2H, H<sub>2'ec</sub>, H<sub>6'ec</sub>), 2,97 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,19 (t, *J* = 5,5, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3,50 (t, *J* = 5,5, 2H, CONHCH<sub>2</sub>), 7,38 (t, *J* = 7,9, 1H, H<sub>6</sub>), 7,68 (d, *J* = 7,9, 1H, H<sub>5</sub> ó H<sub>7</sub>), 8,06 (d, *J* = 7,5, 1H, H<sub>5</sub> ó H<sub>7</sub>), 8,16 (s, 1H, H<sub>2</sub>), 10,01 (sa, 1H, CONH).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 29,8 (C<sub>3'</sub>, C<sub>5'</sub>), 36,0 (C<sub>4'</sub>), 39,7 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 39,8 (CH<sub>3</sub>), 44,9 (CONHCH<sub>2</sub>), 53,0 (C<sub>2'</sub>, C<sub>6'</sub>), 58,0 (NCH<sub>2</sub>), 116,0 (C<sub>7</sub>), 122,0 (C<sub>4</sub>), 122,5; 122,9 (C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>), 134,3 (C<sub>7a</sub>), 139,7 (C<sub>3a</sub>), 141,3 (C<sub>2</sub>), 166,4 (CONH).

Análisis calculado para C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>S:

C, 53,81; H, 6,64; N, 18,45

Encontrado: C, 53,62; H, 6,26; N, 18,22

5.1.5.7. *N*-(2-Piperidinoetil)-4-bencimidazolcarboxamida **6**

Cromatografía: acetato de etilo/etanol 9:1.

Rto. 30%.

IR (cm<sup>-1</sup>): 3390, 3250 (NH), 1645 (CONH), 1610, 1560, 1485 (Ar).

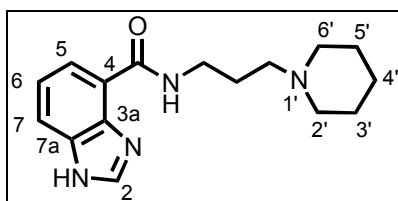
<sup>1</sup>H-RMN (Me<sub>2</sub>SO-*d*<sub>6</sub>, δ): 1,38-1,41 (m, 2H, 2H<sub>4'</sub>), 1,53 (qt, *J* = 5,4, 4H, 2H<sub>3</sub>, 2H<sub>5</sub>), 2,42 (ta, 4H, 2H<sub>2</sub>, 2H<sub>6</sub>), 2,50 (t, *J* = 6,9, 2H, CH<sub>2</sub>N-pip), 3,53 (q, *J* = 6,9, 2H, CONHCH<sub>2</sub>), 7,34 (t, *J* = 7,8, 1H, H<sub>6</sub>), 7,75 (d, *J* = 7,8, 1H, H<sub>7</sub>), 7,87 (d, *J* = 7,8, 1H, H<sub>5</sub>), 8,44 (s, 1H, H<sub>2</sub>), 9,91 (sa, 1H, CONH), 12,90 (sa, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-RMN (Me<sub>2</sub>SO-*d*<sub>6</sub>, δ): 24,2 (C<sub>4'</sub>), 25,7 (C<sub>3'</sub>, C<sub>5'</sub>), 36,7 (CONHCH<sub>2</sub>), 54,1 (C<sub>2'</sub>, C<sub>6'</sub>), 57,7 (CH<sub>2</sub>N-pip), 116,2 (C<sub>7</sub>), 122,1; 122,2 (C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>), 135,0 (C<sub>7a</sub>), 139,1 (C<sub>3a</sub>), 142,9 (C<sub>2</sub>), 164,8 (CONH).

Análisis calculado para C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O:

C, 66,15; H, 7,40; N, 20,57

Encontrado: C, 65,82; H, 7,06; N, 20,19

5.1.5.8. *N*-(3-Piperidinopropil)-4-bencimidazolcarboxamida **7**

Cromatografía: acetato de etilo/etanol 9:1.

Rto. 42%; p.f. 161-164 °C (acetona).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3230, 3120 (NH), 1635 (CONH), 1610, 1585, 1485 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 1,35-1,37 (m, 2H,  $2\text{H}_{4'}$ ), 1,46-1,48 (m, 4H,  $2\text{H}_3$ ,  $2\text{H}_5$ ), 1,73 (qt,  $J = 6,6$ , 2H,  $\text{CONHCH}_2\text{CH}_2$ ), 2,31-2,36 (m, 6H,  $2\text{H}_2$ ,  $2\text{H}_6$ ,  $\text{CH}_2\text{N-pip}$ ), 3,45 (q,  $J = 6,3$ , 2H,  $\text{CONHCH}_2$ ), 7,35 (t,  $J = 7,8$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 7,77 (d,  $J = 7,8$ , 1H,  $\text{H}_7$ ), 7,88 (d,  $J = 7,5$ , 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,45 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 9,74 (sa, 1H, CONH).

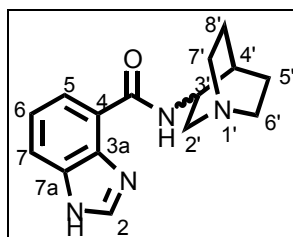
$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 24,3 ( $\text{C}_{4'}$ ), 25,7 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 26,7 ( $\text{CONHCH}_2\text{CH}_2$ ), 37,4 ( $\text{CONHCH}_2$ ), 54,2 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 56,3 ( $\text{CH}_2\text{N-pip}$ ), 116,4 ( $\text{C}_7$ ), 122,0; 122,1 ( $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_6$ ), 135,1 ( $\text{C}_{7a}$ ), 139,2 ( $\text{C}_{3a}$ ), 142,9 ( $\text{C}_2$ ), 164,8 (CONH).

Análisis calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}$ :

C, 67,10; H, 7,74; N, 19,56

Encontrado: C, 67,06; H, 7,64; N, 19,48



5.1.5.9. ( $\pm$ )-N-(1-Azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)-4-bencimidazolcarboxamida **UCM-30593**

Cromatografía: cloroformo/metanol 9:1→7:3.

Rto. 35%; p.f. 196-198 °C (agua).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3450, 3260 (NH), 1650 (CONH), 1610, 1560, 1480 (Ar).

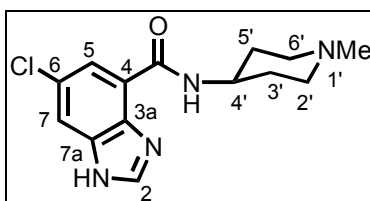
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 1,39-1,46 (m, 1H,  $\text{H}_{5b}$  ó  $\text{H}_{8b}$ ), 1,58-1,63 (m, 2H,  $2\text{H}_5$  ó  $2\text{H}_8$ ), 1,85-1,92 (m, 2H,  $\text{H}_4$ ,  $\text{H}_{5a}$  ó  $\text{H}_{8a}$ ), 2,54-2,56 (m, 1H,  $\text{H}_{2b}$ ), 2,70 (t,  $J = 7,8$ , 2H,  $2\text{H}_6$  ó  $2\text{H}_7$ ), 2,75-2,83 (m, 2H,  $2\text{H}_6$  ó  $2\text{H}_7$ ), 3,26 (dd,  $J = 13,5; 9,3$ , 1H,  $\text{H}_{2a}$ ), 4,03-4,05 (m, 1H,  $\text{H}_3$ ), 7,33 (t,  $J = 7,5$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 7,74 (dd,  $J = 7,8; 0,9$ , 1H,  $\text{H}_7$ ), 7,86 (dd,  $J = 7,5; 0,9$ , 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,47 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 10,13 (sa, 1H, CONH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 20,2; 25,4 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_8$ ), 25,7 ( $\text{C}_4$ ), 46,1; 46,9 ( $\text{C}_6$ ,  $\text{C}_7$ ), 46,3 ( $\text{C}_3$ ), 56,1 ( $\text{C}_2$ ), 116,0 ( $\text{C}_7$ ), 122,1 ( $\text{C}_4$ ), 122,2 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_6$ ), 134,3 ( $\text{C}_{7a}$ ), 139,6 ( $\text{C}_{3a}$ ), 143,0 ( $\text{C}_2$ ), 164,4 (CONH).

Análisis calculado para  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}$ :

C, 66,64; H, 6,71; N, 20,73

Encontrado: C, 66,28; H, 6,39; N, 20,65

5.1.5.10. *N*-(1-Metil-4-piperidil)-6-cloro-4-bencimidazolcarboxamida **9**

Cromatografía: cloroformo/metanol 9:1.

Rto. 33%; p.f. 238-239 °C (acetona/acetato de etilo).

IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3280, 3120 (NH), 1660 (CONH), 1625, 1605, 1585, 1480 (Ar).

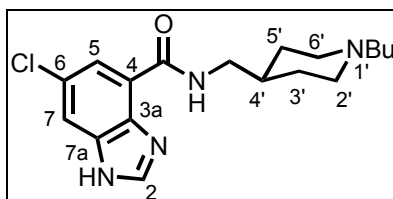
<sup>1</sup>H-RMN (Me<sub>2</sub>SO-*d*<sub>6</sub>, δ): 1,57 (q, *J* = 9,9, 2H, H<sub>3'ax</sub>, H<sub>5'ax</sub>), 1,92 (d, *J* = 10,2, 2H, H<sub>3'ec</sub>, H<sub>5'ec</sub>), 2,09 (t, *J* = 11,7, 2H, H<sub>2'ax</sub>, H<sub>6'ax</sub>), 2,18 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,71 (d, *J* = 11,1, 2H, H<sub>2'ec</sub>, H<sub>6'ec</sub>), 3,86-3,88 (m, 1H, H<sub>4'</sub>), 7,82 (d, *J* = 1,5, 1H, H<sub>5</sub>), 7,84 (d, *J* = 1,8, 1H, H<sub>7</sub>), 8,50 (s, 1H, H<sub>2</sub>), 9,58 (sa, 1H, CONH).

<sup>13</sup>C-RMN (Me<sub>2</sub>SO-*d*<sub>6</sub>, δ): 31,5 (C<sub>3'</sub>, C<sub>5'</sub>), 45,7 (C<sub>4'</sub>), 45,9 (CH<sub>3</sub>), 53,7 (C<sub>2'</sub>, C<sub>6'</sub>), 116,2 (C<sub>7</sub>), 121,8 (C<sub>5</sub>), 122,6; 126,5 (C<sub>4</sub>, C<sub>6</sub>), 136,2; 137,5 (C<sub>3a</sub>, C<sub>7a</sub>), 144,3 (C<sub>2</sub>), 162,7 (CONH).

Análisis calculado para C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>4</sub>O:

C, 57,42; H, 5,81; N, 19,14

Encontrado: C, 57,29; H, 5,81; N, 18,77

5.1.5.11. *N*-[(1-Butil-4-piperidil)metil]-6-cloro-4-bencimidazolcarboxamida 11

Cromatografía: cloroformo/metanol 1:9.

Rto. 43%; p.f. 184-186 °C (tolueno).

IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3660, 3280, 3180 (NH), 1650 (CONH), 1620, 1580, 1480 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0,87 (t,  $J = 7,1$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,29 (sx,  $J = 7,5$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1,49-1,59 (m, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 1,64 (qm,  $J = 12,7$ , 2H,  $\text{H}_{3'\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5'\text{ax}}$ ), 1,78-1,89 (m, 1H,  $\text{H}_4'$ ), 1,87 (dm,  $J = 12,3$ , 2H,  $\text{H}_{3'\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5'\text{ec}}$ ), 2,18 (t,  $J = 11,5$ , 2H,  $\text{H}_{2'\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6'\text{ax}}$ ), 2,48-2,53 (m, 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 3,16 (dm,  $J = 11,9$ , 2H,  $\text{H}_{2'\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6'\text{ec}}$ ), 3,54 (t,  $J = 5,2$ , 2H,  $\text{CONHCH}_2$ ), 7,56 (s, 1H,  $\text{H}_7$ ), 7,98 (s, 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,00 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 9,85 (sa, 1H, CONH).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 13,8 ( $\text{CH}_3$ ), 20,7 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 28,0 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 28,9 ( $\text{C}_{3'}$ ,  $\text{C}_{5'}$ ), 35,7 ( $\text{C}_{4'}$ ), 44,4 ( $\text{CONHCH}_2$ ), 53,2 ( $\text{C}_{2'}$ ,  $\text{C}_{6'}$ ), 58,4 ( $\text{NCH}_2$ ), 115,0 ( $\text{C}_7$ ), 123,1 ( $\text{C}_4$ ), 123,5 ( $\text{C}_5$ ), 128,6 ( $\text{C}_6$ ), 134,4 ( $\text{C}_{7\text{a}}$ ), 138,9 ( $\text{C}_{3\text{a}}$ ), 142,0 ( $\text{C}_2$ ), 165,1 (CONH).

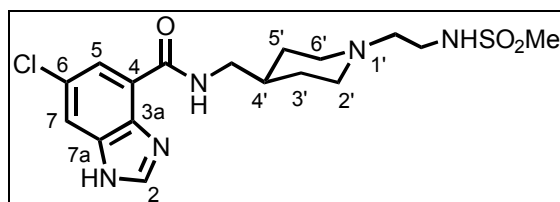
MS: 348 (M), 305 (100), 262, 179, 151, 138, 110, 55.

Análisis calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{ClN}_4\text{O}$ :

C, 61,97; H, 7,22; N, 16,06

Encontrado: C, 61,74; H, 6,93; N, 15,72

5.1.5.12. *N*-[[1-[2-[(Metilsulfonil)amino]etil]-4-piperidil]metil]-6-cloro-4-bencimidazolcarboxamida **12**



Cromatografía: cloroformo/metanol 9:1→3:1.

Rto. 52%; p.f. 85-87 °C.

IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>): 3300, 3100 (NH), 1650 (CONH), 1620, 1550, 1470 (Ar), 1320, 1150 (NHSO<sub>2</sub>).

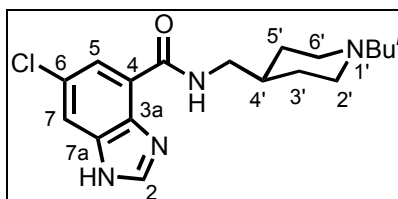
<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 1,39 (qm, *J* = 11,4, 2H, H<sub>3'ax</sub>, H<sub>5'ax</sub>), 1,71-1,82 (m, 1H, H<sub>4'</sub>), 1,80 (d, *J* = 13,5, 2H, H<sub>3'ec</sub>, H<sub>5'ec</sub>), 2,03 (t, *J* = 11,5, 2H, H<sub>2'ax</sub>, H<sub>6'ax</sub>), 2,52 (t, *J* = 5,5, 2H, NCH<sub>2</sub>), 2,87 (d, *J* = 11,1, 2H, H<sub>2'ec</sub>, H<sub>6'ec</sub>), 2,97 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,18 (t, *J* = 5,5, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3,48 (t, *J* = 5,9, 2H, CONHCH<sub>2</sub>), 7,67 (s, 1H, H<sub>7</sub>), 8,02 (s, 1H, H<sub>5</sub>), 8,15 (s, 1H, H<sub>2</sub>), 10,01 (sa, 1H, CONH).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 29,9 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>), 36,1 (C<sub>4</sub>), 39,7 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 40,0 (CH<sub>3</sub>), 45,1 (CONHCH<sub>2</sub>), 53,1 (C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>), 56,7 (NCH<sub>2</sub>), 115,2 (C<sub>7</sub>), 123,7 (C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>), 128,9 (C<sub>6</sub>), 133,9 (C<sub>7a</sub>), 138,4 (C<sub>3a</sub>), 141,9 (C<sub>2</sub>), 165,1 (CONH).

Análisis calculado para C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>S:

C, 49,33; H, 5,84; N, 16,92

Encontrado: C, 49,02; H, 6,00; N, 16,67

5.1.5.13. *N*-[(1-Isobutil-4-piperidil)metil]-6-cloro-4-bencimidazolcarboxamida **13**

Cromatografía: cloroformo/metanol 10:1.

Rto. 50%; p.f. 184-186 °C (tolueno).

IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>): 3660, 3460, 3140 (NH), 1660 (CONH), 1620, 1580, 1480 (Ar).

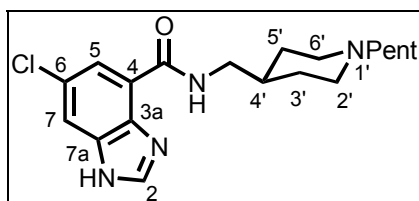
<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 0,86 (d, *J* = 6,3, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 1,42-1,58 (m, 2H, H<sub>3'ax</sub>, H<sub>5'ax</sub>), 1,73-1,87 (m, 4H, NCH<sub>2</sub>CH, H<sub>3'ec</sub>, H<sub>5'ec</sub>, H<sub>4'</sub>), 1,98 (tm, *J* = 13,5, 2H, H<sub>2'ax</sub>, H<sub>6'ax</sub>), 2,14 (d, *J* = 8,9, 2H, NCH<sub>2</sub>), 2,99 (dm, *J* = 14,4, 2H, H<sub>2'ec</sub>, H<sub>6'ec</sub>), 3,52 (t, *J* = 7,4, 2H, CONHCH<sub>2</sub>), 7,59 (s, 1H, H<sub>7</sub>), 8,02 (s, 2H, H<sub>2</sub>, H<sub>5</sub>), 9,93 (sa, 1H, CONH).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 21,1 (CH<sub>3</sub>), 25,4 (NCH<sub>2</sub>CH), 29,5 (C<sub>3'</sub>, C<sub>5'</sub>), 36,2 (C<sub>4'</sub>), 44,9 (CONHCH<sub>2</sub>), 53,8 (C<sub>2'</sub>, C<sub>6'</sub>), 67,1 (NCH<sub>2</sub>), 115,1 (C<sub>7</sub>), 123,5 (C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>), 128,7 (C<sub>6</sub>), 133,5 (C<sub>7a</sub>), 139,1 (C<sub>3a</sub>), 141,9 (C<sub>2</sub>), 165,1 (CONH).

Análisis calculado para C<sub>18</sub>H<sub>25</sub>ClN<sub>4</sub>O:

C, 61,97; H, 7,22; N, 16,06

Encontrado: C, 61,66; H, 6,99; N, 15,88

5.1.5.14. *N-[(1-Pentil-4-piperidil)metil]-6-cloro-4-bencimidazolcarboxamida 14*

Cromatografía: cloroformo/metanol 8:1→4:1.

Rto. 46%; p.f. 176-178 °C (tolueno).

IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>): 3660, 3480, 3300, 3140 (NH), 1660 (CONH), 1580, 1490 (Ar).

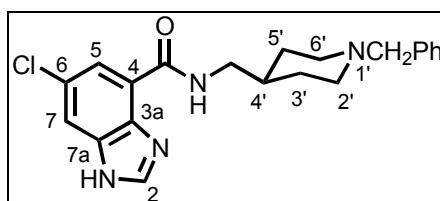
<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 0,86 (t, *J* = 6,3, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,24-1,31 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1,50-1,68 (m, 4H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, H<sub>3'ax</sub>, H<sub>5'ax</sub>), 1,77-1,89 (m, 1H, H<sub>4'</sub>), 1,87 (d, *J* = 12,7, 2H, H<sub>3'ec</sub>, H<sub>5'ec</sub>), 2,16 (t, *J* = 11,9, 2H, H<sub>2'ax</sub>, H<sub>6'ax</sub>), 2,45- 2,50 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>), 3,15 (d, *J* = 11,5, 2H, H<sub>2'ec</sub>, H<sub>6'ec</sub>), 3,57 (t, *J* = 5,2, 2H, CONHCH<sub>2</sub>), 7,56 (s, 1H, H<sub>7</sub>), 8,00 (s, 2H, H<sub>2</sub>, H<sub>5</sub>), 9,86 (sa, 1H, CONH).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 13,9 (CH<sub>3</sub>), 22,4 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 25,8; 29,1; 29,7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, C<sub>3'</sub>, C<sub>5'</sub>), 35,8 (C<sub>4'</sub>), 44,4 (CONHCH<sub>2</sub>), 53,3 (C<sub>2'</sub>, C<sub>6'</sub>), 58,8 (NCH<sub>2</sub>), 114,7 (C<sub>7</sub>), 123,6 (C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>), 128,7 (C<sub>6</sub>), 134,3 (C<sub>7a</sub>), 138,8 (C<sub>3a</sub>), 141,9 (C<sub>2</sub>), 165,0 (CONH).

Análisis calculado para C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>ClN<sub>4</sub>O:

C, 62,88; H, 7,50; N, 15,44

Encontrado: C, 62,56; H, 7,27; N, 15,11

5.1.5.15. *N-[(1-Bencil-4-piperidil)metil]-6-cloro-4-bencimidazolcarboxamida 15*

Cromatografía: cloroformo/metanol 40:1→4:1.

Rto. 73%; p.f. 179-180 °C (tolueno).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3432, 3284 (NH), 1653 (CONH), 1610, 1582, 1477 (Ar).

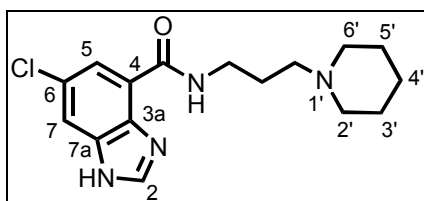
$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 1,32 (qa,  $J = 10,4$ , 2H,  $\text{H}_{3'ax}$ ,  $\text{H}_{5'ax}$ ), 1,60 (m, 1H,  $\text{H}_{4'}$ ), 1,72 (d,  $J = 12,2$ , 2H,  $\text{H}_{3'ec}$ ,  $\text{H}_{5'ec}$ ), 1,95 (t,  $J = 10,9$ , 2H,  $\text{H}_{2'ax}$ ,  $\text{H}_{6'ax}$ ), 2,84 (d,  $J = 11,2$ , 2H,  $\text{H}_{2'ec}$ ,  $\text{H}_{6'ec}$ ), 3,44 (m, 4H, CONHCH<sub>2</sub>, NCH<sub>2</sub>Ph), 7,25-7,38 (m, 5H, Ph), 7,86 (m, 2H,  $\text{H}_5$ ,  $\text{H}_7$ ), 8,52 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 9,52 (sa, 1H, CONH).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 29,7 ( $\text{C}_{3'}$ ,  $\text{C}_{5'}$ ), 35,9 ( $\text{C}_{4'}$ ), 44,5 (CONHCH<sub>2</sub>), 52,9 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 62,4 (NCH<sub>2</sub>Ph), 115,9 ( $\text{C}_7$ ), 121,8 ( $\text{C}_5$ ), 122,7; 126,7 ( $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_6$ ), 126,9; 128,0; 128,7 (Ph), 136,5; 138,6 (Ph,  $\text{C}_{3a}$ ,  $\text{C}_{7a}$ ), 144,4 ( $\text{C}_2$ ), 163,5 (CONH).

Análisis calculado para  $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{ClN}_4\text{O}$ :

C, 65,87; H, 6,05; N, 14,63

Encontrado: C, 65,48; H, 6,02; N, 14,39

5.1.5.16. *N*-(3-Piperidinopropil)-6-cloro-4-bencimidazolcarboxamida **16**

Cromatografía: cloroformo/metanol 1:1→1:4

Rto. 53%; p.f. 208-210 °C (metanol).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3220, 3080 (NH), 1630 (CONH), 1600, 1570, 1480 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 1,42-1,48 (m, 2H,  $2\text{H}_{4'}$ ), 1,54-1,80 (m, 4H,  $2\text{H}_3$ ,  $2\text{H}_5$ ), 1,85 (qt,  $J = 6,9$ , 2H,  $\text{CONHCH}_2\text{CH}_2$ ), 2,46-2,51 (m, 6H,  $2\text{H}_2$ ,  $2\text{H}_6$ ,  $\text{CH}_2\text{N-pip}$ ), 3,51-3,60 (m, 2H,  $\text{CONHCH}_2$ ), 7,86 (d,  $J = 1,9$ , 1H,  $\text{H}_5$ ), 7,90 (d,  $J = 2,2$ , 1H,  $\text{H}_7$ ), 8,51 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 9,62 (sa, 1H, CONH).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6/\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ ,  $\delta$ ): 23,1 ( $\text{C}_{4'}$ ), 24,7 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_{5'}$ ), 25,9 ( $\text{CONHCH}_2\text{CH}_2$ ), 37,9 ( $\text{CONHCH}_2$ ), 54,5 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_{6'}$ ), 56,2 ( $\text{CH}_2\text{N-pip}$ ), 116,4 ( $\text{C}_7$ ), 121,7 ( $\text{C}_5$ ), 122,5; 126,5 ( $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_6$ ), 137,5; 138,1 ( $\text{C}_{3a}$ ,  $\text{C}_{7a}$ ), 144,3 ( $\text{C}_2$ ), 163,5 (CONH).

MS: 320 (M), 230, 205, 183, 152, 108, 98 (100), 60.

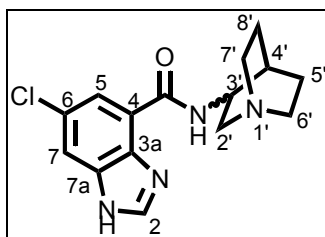
Análisis calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{ClN}_4\text{O}$ :

C, 59,90; H, 6,60; N, 17,46

Encontrado: C, 60,06; H, 6,55; N, 17,38



5.1.5.17. ( $\pm$ )-N-(1-Azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)-6-cloro-4-bencimidazolcarboxamida  
**UCM-23395**



Cromatografía: cloroformo/metanol 9:1.

Rto. 39%; p.f. 264-266 °C (agua).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3460, 3250, 3140 (NH), 1645 (CONH), 1620, 1575, 1480 (Ar).

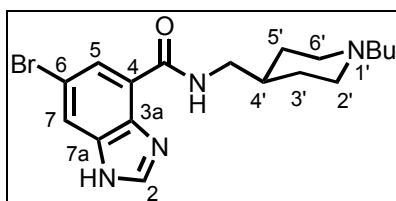
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 1,45-1,51 (m, 1H,  $\text{H}_{5b}$  ó  $\text{H}_{8b}$ ), 1,61-1,67 (m, 2H,  $2\text{H}_5$  ó  $2\text{H}_8$ ), 1,83-1,87 (m, 1H,  $\text{H}_{5a}$  ó  $\text{H}_{8a}$ ), 1,94 (sx,  $J = 3,0$ , 1H,  $\text{H}_4$ ), 2,58 (dd,  $J = 13,8$ ; 4,5, 1H,  $\text{H}_{2b}$ ), 2,74 (t,  $J = 7,8$ , 2H,  $2\text{H}_6$  ó  $2\text{H}_7$ ), 2,78-2,87 (m, 2H,  $2\text{H}_6$  ó  $2\text{H}_7$ ), 3,29 (dd,  $J = 13,5$ ; 9,6, 1H,  $\text{H}_{2a}$ ), 4,06-4,10 (m, 1H,  $\text{H}_3$ ), 7,84 (d,  $J = 2,1$ , 1H,  $\text{H}_5$ ), 7,86 (d,  $J = 2,1$ , 1H,  $\text{H}_7$ ), 8,53 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 9,96 (d,  $J = 6,3$ , 1H, CONH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 20,1; 25,3 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_8$ ), 25,6 ( $\text{C}_4$ ), 46,0; 46,8 ( $\text{C}_6$ ,  $\text{C}_7$ ), 46,5 ( $\text{C}_3$ ), 55,7 ( $\text{C}_2$ ), 116,0 ( $\text{C}_7$ ), 121,7 ( $\text{C}_5$ ), 122,7; 126,5 ( $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_6$ ), 136,2; 137,8 ( $\text{C}_{3a}$ ,  $\text{C}_{7a}$ ), 144,5 ( $\text{C}_2$ ), 163,2 (CONH).

Análisis calculado para  $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{O}$ :

C, 59,11; H, 5,62; N, 18,38

Encontrado: C, 58,93; H, 5,56; N, 18,03

5.1.5.18. *N*-[(1-Butil-4-piperidil)metil]-6-bromo-4-bencimidazolcarboxamida **18**

Cromatografía: acetato de etilo → acetato de etilo/etanol 4:1.

Rto. 35%; p.f. 182-184 °C (d) (tolueno).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3450, 3275 (NH), 1637 (CONH), 1608, 1578, 1477 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 0,89 (t,  $J = 7,5$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,20-1,44 (m, 6H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{H}_{3'ax}$ ,  $\text{H}_{5'ax}$ ), 1,58 (m, 1H,  $\text{H}_4$ ), 1,72 (d,  $J = 12,3$ , 2H,  $\text{H}_{3'ec}$ ,  $\text{H}_{5'ec}$ ), 1,87 (t,  $J = 10,2$ , 2H,  $\text{H}_{2'ax}$ ,  $\text{H}_{6'ax}$ ), 2,27 (t,  $J = 6,6$ , 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 2,89 (d,  $J = 11,1$ , 2H,  $\text{H}_{2'ec}$ ,  $\text{H}_{6'ec}$ ), 3,35 (t, 2H,  $J = 6,3$ ,  $\text{CONHCH}_2$ ), 7,97 (s, 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,00 (d,  $J = 1,2$ , 1H,  $\text{H}_7$ ), 8,50 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 9,66 (sa, 1H, CONH).

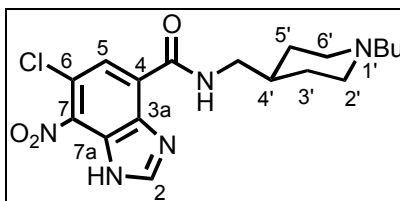
$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 14,0 ( $\text{CH}_3$ ), 20,2 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 28,6 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 29,7 ( $\text{C}_{3'}$ ,  $\text{C}_{5'}$ ), 36,0 ( $\text{C}_4$ ), 44,6 ( $\text{CONHCH}_2$ ), 53,1 ( $\text{C}_{2'}$ ,  $\text{C}_{6'}$ ), 57,9 ( $\text{NCH}_2$ ), 114,3 ( $\text{C}_6$ ), 119,1 ( $\text{C}_7$ ), 123,0 ( $\text{C}_4$ ), 124,6 ( $\text{C}_5$ ), 137,0; 137,9 ( $\text{C}_{3a}$ ,  $\text{C}_{7a}$ ), 144,3 ( $\text{C}_2$ ), 163,6 (CONH).

Análisis calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{BrN}_4\text{O}$ :

C, 54,97; H, 6,41; N, 14,24

Encontrado: C, 54,56; H, 6,47; N, 14,08

5.1.5.19. *N*-[(1-Butil-4-piperidil)metil]-6-cloro-7-nitro-4-bencimidazolcarboxamida  
**19**



Cromatografía: cloroformo → cloroformo/metanol 9:1.

Rto. 84 %; p.f. 188-190 °C (d) (acetato de etilo).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3300, 3103 (NH), 1655 (CONH), 1612, 1581, 1487 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 0,88 (t,  $J = 7,1$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,18-1,55 (m, 6H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{H}_{3'\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5'\text{ax}}$ ), 1,60-1,81 (m, 3H,  $\text{H}_{4'}$ ,  $\text{H}_{3'\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5'\text{ec}}$ ), 2,31 (ta,  $J = 12,2$ , 2H,  $\text{H}_{2'\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6'\text{ax}}$ ), 2,50-2,61 (m, 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 3,13 (da,  $J = 12,4$ , 2H,  $\text{H}_{2'\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6'\text{ec}}$ ), 3,35 (ta,  $J = 5,9$ , 2H,  $\text{CONHCH}_2$ ), 7,82 (s, 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,31 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 9,93 (sa, 1H, CONH).

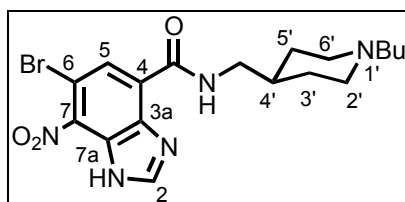
$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 13,8 ( $\text{CH}_3$ ), 19,9 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 27,2 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 28,4 ( $\text{C}_{3'}$ ,  $\text{C}_{5'}$ ), 35,0 ( $\text{C}_{4'}$ ), 44,1 ( $\text{CONHCH}_2$ ), 52,3 ( $\text{C}_{2'}$ ,  $\text{C}_{6'}$ ), 56,8 ( $\text{NCH}_2$ ), 115,0 ( $\text{C}_6$ ), 120,4 ( $\text{C}_5$ ), 122,9 ( $\text{C}_4$ ), 136,4; 137,9; 141,1 ( $\text{C}_7$ ,  $\text{C}_{3a}$ ,  $\text{C}_{7a}$ ), 151,3 ( $\text{C}_2$ ), 163,4 (CONH).

Análisis calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{ClN}_5\text{O}_3$ :

C, 54,89; H, 6,14; N, 17,78

Encontrado: C, 55,00; H, 6,14; N, 17,74

5.1.5.20. *N*-[(1-Butil-4-piperidil)metil]-6-bromo-7-nitro-4-bencimidazolcarboxamida **20**



Cromatografía: cloroformo→cloroformo/metanol 4:1.

Rto. 95%; p.f. 189-190 °C (d) (acetato de etilo).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3234, 3092 (NH), 1655 (CONH), 1607, 1567, 1481 (Ar).

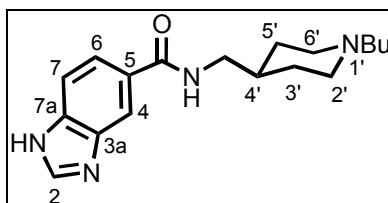
$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 0,88 (t,  $J = 7,1$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,18-1,55 (m, 6H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{H}_{3'ax}$ ,  $\text{H}_{5'ax}$ ), 1,60-1,81 (m, 3H,  $\text{H}_{4'}$ ,  $\text{H}_{3'ec}$ ,  $\text{H}_{5'ec}$ ), 2,30 (ta,  $J = 11,7$ , 2H,  $\text{H}_{2'ax}$ ,  $\text{H}_{6'ax}$ ), 2,52-2,60 (m, 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 3,12 (da,  $J = 11,7$ , 2H,  $\text{H}_{2'ec}$ ,  $\text{H}_{6'ec}$ ), 3,34 (ta,  $J = 5,9$ , 2H,  $\text{CONHCH}_2$ ), 7,96 (s, 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,28 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 9,86 (ta, 1H, CONH).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 13,7 ( $\text{CH}_3$ ), 19,8 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 27,2 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 28,4 ( $\text{C}_{3'}$ ,  $\text{C}_{5'}$ ), 35,0 ( $\text{C}_{4'}$ ), 44,0 ( $\text{CONHCH}_2$ ), 52,3 ( $\text{C}_{2'}$ ,  $\text{C}_{6'}$ ), 56,8 ( $\text{NCH}_2$ ), 102,3 ( $\text{C}_6$ ), 122,9 ( $\text{C}_5$ ), 123,1 ( $\text{C}_4$ ), 136,8; 140,1; 141,0 ( $\text{C}_7$ ,  $\text{C}_{3a}$ ,  $\text{C}_{7a}$ ), 150,9 ( $\text{C}_2$ ), 163,4 (CONH).

Análisis calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{BrN}_5\text{O}_3$ :

C, 49,32; H, 5,52; N, 15,98

Encontrado: C, 49,52; H, 5,53; N, 15,95

5.1.5.21. *N*-[(1-Butil-4-piperidil)metil]-5-bencimidazolcarboxamida **24**

Cromatografía: cloroformo/metanol 4:1→1:1.

Rto. 66%; p.f. 151-152 °C (acetato de etilo).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3300, 3100 (NH), 1640 (CONH), 1550, 1470, 1450 (Ar).

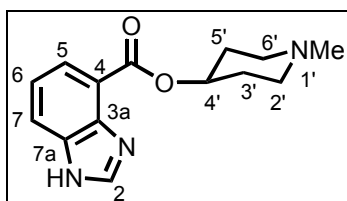
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0,86 (t,  $J = 7,2$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,22-1,48 (m, 6H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{H}_{3'\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5'\text{ax}}$ ), 1,64-1,66 (m, 1H,  $\text{H}_4$ ), 1,72 (d,  $J = 12,9$ , 2H,  $\text{H}_{3'\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5'\text{ec}}$ ), 1,88 (t,  $J = 10,8$ , 2H,  $\text{H}_{2'\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6'\text{ax}}$ ), 2,29 (dd,  $J = 8,1$ ; 7,5, 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 2,93 (d,  $J = 11,4$ , 2H,  $\text{H}_{2'\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6'\text{ec}}$ ), 3,33 (t,  $J = 6,0$ , 2H,  $\text{CONHCH}_2$ ), 7,19 (t,  $J = 4,8$ , 1H, CONH), 7,46 (d,  $J = 8,1$ , 1H,  $\text{H}_7$ ), 7,58 (d,  $J = 8,7$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 8,02 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 8,05 (s, 1H,  $\text{H}_4$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14,0 ( $\text{CH}_3$ ), 20,8 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 28,8 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 29,8 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 36,1 ( $\text{C}_4$ ), 45,6 ( $\text{CONHCH}_2$ ), 53,3 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 58,6 ( $\text{NCH}_2$ ), 115,0 ( $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_7$ ), 121,4 ( $\text{C}_6$ ), 129,1 ( $\text{C}_5$ ), 137,6; 140,0 ( $\text{C}_{3\text{a}}$ ,  $\text{C}_{7\text{a}}$ ), 143,1 ( $\text{C}_2$ ), 168,9 (CONH).

Análisis calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}$ :

C, 68,75; H, 8,33; N, 17,82

Encontrado: C, 68,51; H, 8,23; N, 17,41

5.1.5.22. 4-Bencimidazolcarboxilato de 1-metil-4-piperidilo **26**

Cromatografía: cloroformo/metanol 9:1.

Rto. 45%; p.f. 163-165 °C (agua).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3390 (NH), 1700 (COO), 1600, 1490 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO-}d_6$ ,  $\delta$ ): 1,86-1,96 (m, 4H,  $2\text{H}_{3'}$ ,  $2\text{H}_{5'}$ ), 2,21-2,25 (m, 5H,  $\text{CH}_3$ ,  $\text{H}_{2\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ax}}$ ), 2,65-2,68 (m, 2H,  $\text{H}_{2\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ec}}$ ), 5,04 (tt,  $J = 8,1$ ; 3,9, 1H,  $\text{H}_{4'}$ ), 7,34 (t,  $J = 7,5$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 7,88 (d,  $J = 7,5$ , 1H,  $\text{H}_5$  ó  $\text{H}_7$ ), 7,99 (d,  $J = 8,1$ , 1H,  $\text{H}_5$  ó  $\text{H}_7$ ), 8,32 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 12,48 (sa, 1H, NH).

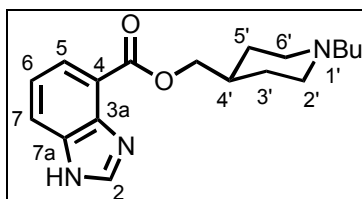
$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO-}d_6$ ,  $\delta$ ): 30,6 ( $\text{C}_{3'}$ ,  $\text{C}_{5'}$ ), 46,0 ( $\text{CH}_3$ ), 52,6 ( $\text{C}_{2'}$ ,  $\text{C}_{6'}$ ), 70,6 ( $\text{C}_{4'}$ ), 114,2 ( $\text{C}_4$ ), 121,2 ( $\text{C}_6$ ), 124,4; 124,8 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_7$ ), 132,7 ( $\text{C}_{3a}$ ), 144,0 ( $\text{C}_2$ ), 144,4 ( $\text{C}_{7a}$ ), 164,8 (COO).

Análisis calculado para  $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2$ :

C, 64,84; H, 6,61; N, 16,20

Encontrado: C, 64,69; H, 6,66; N, 16,08

## 5.1.5.23. 4-Bencimidazolcarboxilato de (1-butil-4-piperidil)metilo 27



Cromatografía: acetato de etilo/etanol 9:1.

Rto. 50%; p.f. 159-161 °C (acetona).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3150 (NH), 1715 (COO), 1605, 1490, 1475 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0,87 (t,  $J = 7,2$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,27 (sx,  $J = 7,4$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1,39-1,50 (m, 4H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{H}_{3'\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5'\text{ax}}$ ), 1,75-1,80 (m, 3H,  $\text{H}_{3'\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5'\text{ec}}$ ,  $\text{H}_4'$ ), 1,90 (t,  $J = 11,6$ , 2H,  $\text{H}_{2'\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6'\text{ax}}$ ), 2,26-2,32 (m, 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 2,95 (d,  $J = 11,4$ , 2H,  $\text{H}_{2'\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6'\text{ec}}$ ), 4,23 (d,  $J = 5,9$ , 2H,  $\text{COOCH}_2$ ), 7,29 (t,  $J = 7,8$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 7,92 (d,  $J = 7,6$ , 1H,  $\text{H}_5$  ó  $\text{H}_7$ ), 8,00 (d,  $J = 8,0$ , 1H,  $\text{H}_5$  ó  $\text{H}_7$ ), 8,14 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 10,83 (sa, 1H, NH).

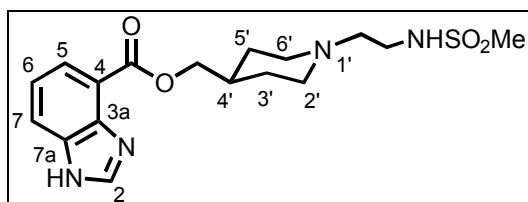
$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14,2 ( $\text{CH}_3$ ), 21,0 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 29,1 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 29,3 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 35,7 ( $\text{C}_4'$ ), 53,5 ( $\text{C}_{2'}$ ,  $\text{C}_{6'}$ ), 59,0 ( $\text{NCH}_2$ ), 69,6 ( $\text{COOCH}_2$ ), 114,1 ( $\text{C}_4$ ), 121,8 ( $\text{C}_6$ ), 125,2; 125,5 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_7$ ), 133,4 ( $\text{C}_{3a}$ ), 141,7 ( $\text{C}_2$ ), 143,8 ( $\text{C}_{7a}$ ), 166,6 (COO).

Análisis calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_2$ :

C, 68,54; H, 7,99; N, 13,32

Encontrado: C, 68,56; H, 7,91; N, 13,37

5.1.5.24. 4-Bencimidazolcarboxilato de [1-[2-[(Metilsulfonil)amino]etil]-4-piperidil]metilo **28**



Cromatografía: cloroformo/metanol 10:1→4:1.

Rto. 49%; p.f. 134-136 °C (tolueno).

IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>): 3680, 3460, 3340, 3120 (NH), 1730 (COO), 1600, 1540, 1480 (Ar), 1380, 1150 (NHSO<sub>2</sub>).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 1,42 (qd, *J* = 11,9; 3,2, 2H, H<sub>3ax</sub>, H<sub>5ax</sub>), 1,68 (m, 1H, H<sub>4'</sub>), 1,84 (d, *J* = 12,6, 2H, H<sub>3'ec</sub>, H<sub>5'ec</sub>), 2,08 (td, *J* = 10,3; 2,4, 2H, H<sub>2'ax</sub>, H<sub>6'ax</sub>), 2,55 (t, *J* = 5,9, 2H, NCH<sub>2</sub>), 2,91 (dm, *J* = 11,5, 2H, H<sub>2'ec</sub>, H<sub>6'ec</sub>), 2,98 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,21 (t, *J* = 5,5, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 4,28 (d, *J* = 5,9, 2H, COOCH<sub>2</sub>), 5,01 (sa, 1H, NHSO<sub>2</sub>), 7,36 (t, *J* = 7,5, 1H, H<sub>6</sub>), 7,96 (d, *J* = 7,5, 1H, H<sub>5</sub> ó H<sub>7</sub>), 8,06 (d, *J* = 7,9, 1H, H<sub>5</sub> ó H<sub>7</sub>), 8,17 (s, 1H, H<sub>2</sub>), 10,50 (sa, 1H, NH).

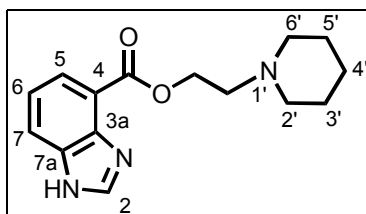
<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 28,9 (C<sub>3'</sub>, C<sub>5'</sub>), 35,4 (C<sub>4'</sub>), 39,6 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 40,0 (CH<sub>3</sub>), 52,9 (C<sub>2'</sub>, C<sub>6'</sub>), 56,7 (NCH<sub>2</sub>), 69,1 (COOCH<sub>2</sub>), 113,7 (C<sub>4</sub>), 121,7 (C<sub>6</sub>), 124,9; 125,5 (C<sub>5</sub>, C<sub>7</sub>), 133,3 (C<sub>3a</sub>), 141,4 (C<sub>2</sub>), 143,6 (C<sub>7a</sub>), 166,4 (COO).

Análisis calculado para C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S:

C, 53,66; H, 6,36; N, 14,73

Encontrado: C, 53,41; H, 6,42; N, 14,38



5.1.5.25. 4-Bencimidazolcarboxilato de 2-piperidinoetilo **29**

Cromatografía: acetato de etilo/etanol 9,5:0,5.

Rto. 52%;; p.f. 148-150 °C (acetato de etilo).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3140 (NH), 1710 (COO), 1600, 1510, 1490, 1480 (Ar).

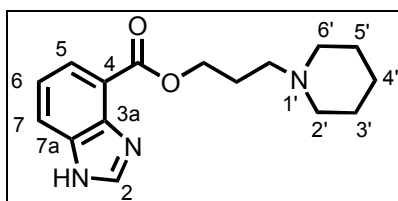
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1,50-1,52 (m, 2H,  $2\text{H}_{4'}$ ), 1,63 (qt,  $J = 5,1$ , 4H,  $2\text{H}_{3'}$ ,  $2\text{H}_{5'}$ ), 2,51 (m, 4H,  $2\text{H}_{2'}$ ,  $2\text{H}_{6'}$ ), 2,68 (t,  $J = 5,7$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{N-pip}$ ), 4,43 (t,  $J = 5,7$ , 2H,  $\text{COOCH}_2$ ), 7,26 (t,  $J = 8,1$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 7,86 (d,  $J = 7,5$ , 1H,  $\text{H}_5$  ó  $\text{H}_7$ ), 7,96 (d,  $J = 8,1$ , 1H,  $\text{H}_5$  ó  $\text{H}_7$ ), 8,05 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 12,40 (sa, 1H, NH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 24,2 ( $\text{C}_{4'}$ ), 26,2 ( $\text{C}_{3'}$ ,  $\text{C}_{5'}$ ), 54,1 ( $\text{C}_{2'}$ ,  $\text{C}_{6'}$ ), 57,1 ( $\text{CH}_2\text{N-pip}$ ), 59,9 ( $\text{COOCH}_2$ ), 115,1 ( $\text{C}_4$ ), 121,8 ( $\text{C}_6$ ), 125,1; 125,6 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_7$ ), 133,8 ( $\text{C}_{3a}$ ), 141,9 ( $\text{C}_2$ ), 144,2 ( $\text{C}_{7a}$ ), 165,4 (COO).

Análisis calculado para  $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2$ :

C, 65,91; H, 7,01; N, 15,37

Encontrado: C, 65,83; H, 6,94; N, 15,43

5.1.5.26. 4-Bencimidazolcarboxilato de 3-piperidinopropilo **30**

Cromatografía: acetato de etilo/etanol 9:1

Rto. 46%; p.f. 153-155 °C (acetona/éter etílico).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3120 (NH), 1700 (COO), 1600, 1485, 1475 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1,43-1,49 (m, 2H,  $2\text{H}_{4'}$ ), 1,59 (qt,  $J = 5,7$ , 4H,  $2\text{H}_{3'}$ ,  $2\text{H}_{5'}$ ), 1,99 (qt,  $J = 6,6$ , 2H,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_2$ ), 2,41 (ta, 4H,  $2\text{H}_{2'}$ ,  $2\text{H}_{6'}$ ), 2,49 (t,  $J = 6,6$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{N-pip}$ ), 4,42 (t,  $J = 6,3$ , 2H,  $\text{COOCH}_2$ ), 7,31 (t,  $J = 7,8$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 7,94 (d,  $J = 7,5$ , 1H,  $\text{H}_5$  ó  $\text{H}_7$ ), 8,01 (d,  $J = 7,8$ , 1H,  $\text{H}_5$  ó  $\text{H}_7$ ), 8,15 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 11,30 (sa, 1H, NH).

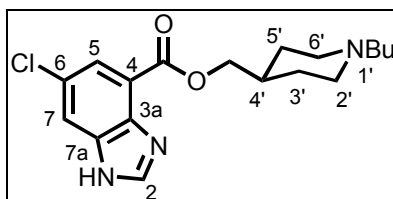
$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 24,1 ( $\text{C}_{4'}$ ), 25,4 ( $\text{C}_{3'}$ ,  $\text{C}_{5'}$ ), 25,7 ( $\text{COOCH}_2\text{CH}_2$ ), 54,6 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_{6'}$ ), 56,4 ( $\text{CH}_2\text{N-pip}$ ), 64,2 ( $\text{COOCH}_2$ ), 113,9 ( $\text{C}_4$ ), 121,5 ( $\text{C}_6$ ), 125,1; 125,2 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_7$ ), 133,0 ( $\text{C}_{3a}$ ), 141,7 ( $\text{C}_2$ ), 143,7 ( $\text{C}_{7a}$ ), 166,1 (COO).

Análisis calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_2$ :

C, 66,87; H, 7,37; N, 14,62

Encontrado: C, 66,74; H, 7,24; N, 14,53

## 5.1.5.27. 6-Cloro-4-bencimidazolcarboxilato de (1-butil-4-piperidil)metilo 31



Cromatografía: cloroformo/metanol 8:1.

Rto. 60%; p.f. 165-167 °C (acetona).

IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3450 (NH), 1710 (COO), 1600, 1490, 1460 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0,90 (t,  $J = 7,5$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,30 (sx,  $J = 7,2$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1,45-1,59 (m, 4H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{H}_{3'ax}$ ,  $\text{H}_{5'ax}$ ), 1,79-1,88 (m, 1H,  $\text{H}_4$ ), 1,81 (d,  $J = 11,9$ , 2H,  $\text{H}_{3'ec}$ ,  $\text{H}_{5'ec}$ ), 1,99 (t,  $J = 11,5$ , 2H,  $\text{H}_{2'ax}$ ,  $\text{H}_{6'ax}$ ), 2,34-2,39 (m, 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 3,03 (d,  $J = 11,5$ , 2H,  $\text{H}_{2'ec}$ ,  $\text{H}_{6'ec}$ ), 4,26 (d,  $J = 5,9$ , 2H,  $\text{COOCH}_2$ ), 7,89 (s, 1H,  $\text{H}_5$  ó  $\text{H}_7$ ), 7,99 (s, 1H,  $\text{H}_5$  ó  $\text{H}_7$ ), 8,17 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 10,80 (sa, 1H, NH).

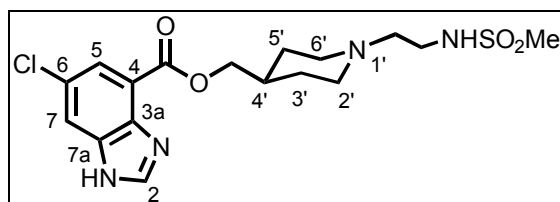
$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14,0 ( $\text{CH}_3$ ), 20,8 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 28,8 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 29,0 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 35,4 ( $\text{C}_4$ ), 53,3 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 58,7 ( $\text{NCH}_2$ ), 69,8 ( $\text{COOCH}_2$ ), 114,5 ( $\text{C}_4$ ), 125,0 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_7$ ), 127,4 ( $\text{C}_6$ ), 131,9 ( $\text{C}_{3a}$ ), 142,8 ( $\text{C}_2$ ), 144,5 ( $\text{C}_{7a}$ ), 165,4 (COO).

Análisis calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{ClN}_3\text{O}_2$ :

C, 61,80; H, 6,91; N, 12,01

Encontrado: C, 61,62; H, 6,89; N, 11,91

5.1.5.28. 6-Cloro-4-bencimidazolcarboxilato de [1-[2-[(Metilsulfonil)amino]etil]-4-piperidil]metilo **32**



Cromatografía: cloroformo/metanol 10:1.

Rto. 42%; p.f. 137-139 °C (tolueno).

IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3700, 3460, 3320 (NH), 1710 (COO), 1600, 1535, 1470 (Ar), 1310, 1150 ( $\text{NHSO}_2$ ).

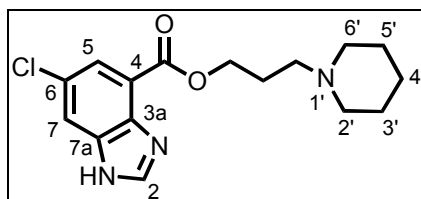
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1,40 (qd,  $J = 11,5$ ; 3,2, 2H,  $\text{H}_{3'ax}$ ,  $\text{H}_{5'ax}$ ), 1,73-1,92 (m, 3H,  $\text{H}_{3'ec}$ ,  $\text{H}_{5'ec}$ ,  $\text{H}_4$ ), 2,09 (td,  $J = 11,9$ ; 2,0, 2H,  $\text{H}_{2'ax}$ ,  $\text{H}_{6'ax}$ ), 2,56 (t,  $J = 5,9$ , 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 2,93 (dm,  $J = 11,1$ , 2H,  $\text{H}_{2'ec}$ ,  $\text{H}_{6'ec}$ ), 2,99 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,22 (t,  $J = 5,5$ , 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 4,28 (d,  $J = 6,3$ , 2H,  $\text{COOCH}_2$ ), 5,03 (sa, 1H,  $\text{NHSO}_2$ ), 7,91 (d,  $J = 2,0$ , 1H,  $\text{H}_5$  ó  $\text{H}_7$ ), 8,03 (d,  $J = 2,0$ , 1H,  $\text{H}_5$  ó  $\text{H}_7$ ), 8,19 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 10,58 (sa, 1H, NH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 29,0 ( $\text{C}_{3'}$ ,  $\text{C}_{5'}$ ), 35,4 ( $\text{C}_{4'}$ ), 39,9 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 40,2 ( $\text{CH}_3$ ), 53,4 ( $\text{C}_{2'}$ ,  $\text{C}_{6'}$ ), 57,1 ( $\text{NCH}_2$ ), 69,7 ( $\text{COOCH}_2$ ), 114,7 ( $\text{C}_4$ ), 125,0 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_7$ ), 127,4 ( $\text{C}_6$ ), 132,2 ( $\text{C}_{3a}$ ), 143,4 ( $\text{C}_2$ ), 144,6 ( $\text{C}_{7a}$ ), 165,4 (COO).

Análisis calculado para  $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{ClN}_4\text{O}_4\text{S}$ :

C, 49,21; H, 5,59; N, 13,50

Encontrado: C, 49,43; H, 5,49; N, 13,23

5.1.5.29. 6-Cloro-4-bencimidazolcarboxilato de 3-piperidinopropilo **33**

Cromatografía: cloroformo/metanol 9:1.

Rto. 47%; p.f. 158-160 °C (acetona).

IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3440, 3140 (NH), 1715 (COO), 1635, 1600, 1490, 1460 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1,38-1,40 (m, 4H,  $2\text{H}_{4'}$ ), 1,51-1,59 (m, 4H,  $2\text{H}_{3'}$ ,  $2\text{H}_{5'}$ ), 1,97 (qt,  $J = 6,3$ , 2H,  $\text{CONHCH}_2\text{CH}_2$ ), 2,43 (m, 4H,  $2\text{H}_2$ ,  $2\text{H}_6$ ), 2,49 (t,  $J = 6,7$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{N-pip}$ ), 4,32 (t,  $J = 5,9$ , 2H,  $\text{COOCH}_2$ ), 7,77 (s, 1H,  $\text{H}_5$  ó  $\text{H}_7$ ), 7,84 (s, 1H,  $\text{H}_5$  ó  $\text{H}_7$ ), 8,12 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 23,7 ( $\text{C}_{4'}$ ), 24,9 ( $\text{C}_{3'}$ ,  $\text{C}_{5'}$ ), 25,2 ( $\text{COOCH}_2\text{CH}_2$ ), 54,3 ( $\text{C}_{2'}$ ,  $\text{C}_{6'}$ ), 55,7 ( $\text{CH}_2\text{N-pip}$ ), 64,1 ( $\text{COOCH}_2$ ), 114,6 ( $\text{C}_4$ ), 124,4; 125,1 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_7$ ), 127,1 ( $\text{C}_6$ ), 131,5 ( $\text{C}_{3a}$ ), 143,6 ( $\text{C}_2$ ), 144,5 ( $\text{C}_{7a}$ ), 164,8 (COO).

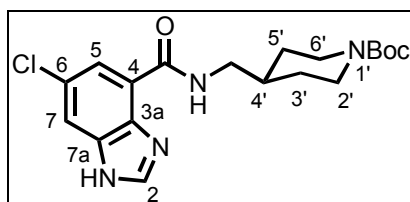
MS: 321 (M), 210, 179, 151, 124, 98 (100), 55.

Análisis calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{ClN}_3\text{O}$ :

C, 59,72; H, 6,26; N, 13,06

Encontrado: C, 59,34; H, 5,98; N, 12,78

5.1.5.30. *N*-[(1-*tert*-Butoxicarbonil-4-piperidil)metil]-6-cloro-4-bencimidazolcarboxamida **65**



Cromatografía: cloroformo→cloroformo/metanol 7:3.

Rto. 60%; p.f. 178-179 °C (acetato de etilo).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3651, 3281 (NH), 1693 (NCOO), 1638 (CONH), 1610, 1582, 1479 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1,12-1,34 (m, 2H,  $\text{H}_{3'ax}$ ,  $\text{H}_{5'ax}$ ), 1,44 (s, 9H,  $3\text{CH}_3$ ), 1,73-1,84 (m, 3H,  $\text{H}_{3'ec}$ ,  $\text{H}_{5'ec}$ ,  $\text{H}_4'$ ), 2,71 (t,  $J = 11,5$ , 2H,  $\text{H}_{2'ax}$ ,  $\text{H}_{6'ax}$ ), 3,49 (m, 2H,  $\text{CONHCH}_2$ ), 4,12 (d,  $J = 12,5$ , 2H,  $\text{H}_{2'ec}$ ,  $\text{H}_{6'ec}$ ), 7,61 (s, 1H,  $\text{H}_7$ ), 8,10 (m, 2H,  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_5$ ), 9,98 (t,  $J = 5,1$ , 1H, CONH), 11,25 (sa, 1H, NH).

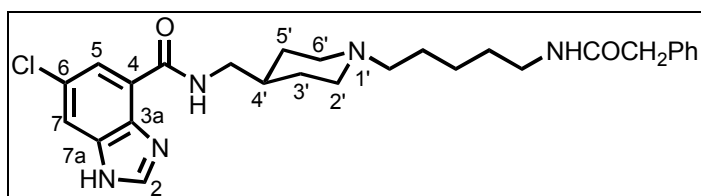
$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 28,4 ( $3\text{CH}_3$ ), 29,9 ( $\text{C}_{3'}$ ,  $\text{C}_{5'}$ ), 36,5 ( $\text{C}_{4'}$ ), 43,7 ( $\text{C}_{2'}$ ,  $\text{C}_{6'}$ ), 45,2 ( $\text{CONHCH}_2$ ), 79,7 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 115,6 ( $\text{C}_7$ ), 123,2 ( $\text{C}_4$ ), 123,7 ( $\text{C}_5$ ), 128,9 ( $\text{C}_6$ ), 134,8 ( $\text{C}_{7a}$ ), 138,7 ( $\text{C}_{3a}$ ), 141,9 ( $\text{C}_2$ ), 155,0 (COO), 165,2 (CONH).

Análisis calculado para  $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{ClN}_4\text{O}_3$ :

C, 58,08; H, 6,41; N, 14,26

Encontrado: C, 57,69; H, 6,11; N, 13,99

5.1.5.31. *N*-[[1-[5-[(Fenilacetil)amino]pentil]-4-piperidil]metil]-6-cloro-4-bencimidazolcarboxamida **107**



Cromatografía: cloroformo→cloroformo/metanol 4:1.

Rto. 54%; p.f. 151-153 °C (tolueno).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3277 (NH), 1647, (CONH), 1610, 1560, 1495 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1,18-1,57 (m, 8H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ,  $\text{H}_{3'\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5'\text{ax}}$ ), 1,74 (m, 1H,  $\text{H}_4$ ), 1,82 (d,  $J = 12,0$ , 2H,  $\text{H}_{3'\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5'\text{ec}}$ ), 2,06 (t,  $J = 11,7$ , 2H,  $\text{H}_{2'\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6'\text{ax}}$ ), 2,34-2,39 (m, 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 3,02 (d,  $J = 11,4$ , 2H,  $\text{H}_{2'\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6'\text{ec}}$ ), 3,17 (q,  $J = 7,2$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{NHCObn}$ ), 3,46 (t,  $J = 4,8$ , 2H,  $\text{CONHCH}_2$ ), 3,54 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 5,74 (ta, 1H,  $\text{NHCObn}$ ), 7,21-7,34 (m, 5H, Ph), 7,54 (s, 1H,  $\text{H}_7$ ), 7,97 (s, 2H,  $\text{H}_5$ ,  $\text{H}_2$ ).

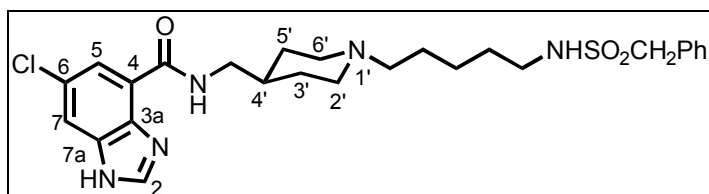
$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 24,6 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 25,9 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 29,2; 29,4 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 35,9 ( $\text{C}_4$ ), 39,5 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 43,6 ( $\text{CH}_2\text{NHCO}$ ), 44,8 ( $\text{CONHCH}_2$ ), 53,3 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 58,4 ( $\text{NCH}_2$ ), 115,3 ( $\text{C}_7$ ), 123,2 ( $\text{C}_4$ ), 123,5 ( $\text{C}_5$ ), 127,3 (Ph), 128,5 ( $\text{C}_6$ ), 128,9; 129,3 (Ph), 134,6 ( $\text{C}_{7a}$ ), 134,9 (Ph), 138,8 ( $\text{C}_{3a}$ ), 142,0 ( $\text{C}_2$ ), 165,0 (CONH), 171,4 (NHCO).

Análisis calculado para  $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{ClN}_5\text{O}_2$ :

C, 65,38; H, 6,91; N, 14,12

Encontrado: C, 65,08; H, 6,67; N, 13,98

5.1.5.32. *N*-[[1-[5-[(Bencilsulfonil)amino]pentil]-4-piperidil]metil]-6-cloro-4-bencimidazolcarboxamida **108**



Cromatografía: cloroformo/metanol 9:1→7:3.

Rto. 73%; p.f. 161-163 °C (cloroformo/hexano).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3651, 3277 (NH), 1653 (CONH), 1610, 1570, 1474 (Ar), 1317, 1124 (NHSO<sub>2</sub>).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ ): 1,21-1,50 (m, 8H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH, H<sub>3'ax</sub>, H<sub>5'ax</sub>), 1,65-1,77 (m, 3H, H<sub>4'</sub>, H<sub>3'ec</sub>, H<sub>5'ec</sub>), 1,97 (t,  $J = 11,1$ , 2H, H<sub>2'ax</sub>, H<sub>6'ax</sub>), 2,32 (dd,  $J = 7,8$ ; 7,2, 2H, NCH<sub>2</sub>), 2,91-2,96 (m, 4H, H<sub>2'ec</sub>, H<sub>6'ec</sub>, CH<sub>2</sub>NHSO<sub>2</sub>), 3,46 (ta, 2H, CONHCH<sub>2</sub>), 4,20 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 4,85 (sa, 1H, NHSO<sub>2</sub>), 7,30-7,35 (m, 5H, Ph), 7,57 (s, 1H, H<sub>7</sub>), 7,95 (s, 1H, H<sub>5</sub>), 7,99 (s, 1H, H<sub>2</sub>), 9,71 (sa, 1H, CONH).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ ): 24,1 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 25,7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 29,3 (C<sub>3'</sub>, C<sub>5'</sub>), 29,7 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 35,9 (C<sub>4'</sub>), 43,5 (CH<sub>2</sub>NHSO<sub>2</sub>), 44,8 (CONHCH<sub>2</sub>), 53,4 (C<sub>2'</sub>, C<sub>6'</sub>), 58,1; 58,6 (NCH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Ph), 114,8 (C<sub>7</sub>), 122,9; 123,6 (C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>), 128,7; 128,8; 129,4; 130,6 (C<sub>6</sub>, Ph), 134,9 (C<sub>7a</sub>), 138,9 (C<sub>3a</sub>), 141,9 (C<sub>2</sub>), 164,9 (CONH).

Análisis calculado para C<sub>26</sub>H<sub>34</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>S:

C, 58,69; H, 6,44; N, 13,16

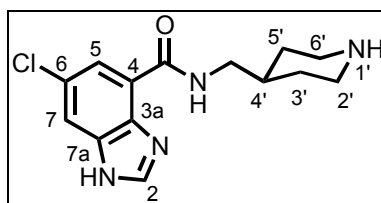
Encontrado: C, 58,53; H, 6,34; N, 13,03



### 5.1.6. Síntesis de *N*-(4-piperidilmetil)-6-cloro-4-bencimidazolcarboxamida **10**

**Desprotección de 15.** A una disolución de 500 mg (1,3 mmol) de **15** en 7 mL de cloruro de metileno seco, enfriada a 0 °C con un baño de hielo y bajo atmósfera de argón, se adicionan gota a gota 0,3 mL (2,6 mmol) de cloroformiato de 1-cloroetilo. A continuación, la disolución se refluxe durante 1 hora y el disolvente se elimina a presión reducida. El sólido resultante se disuelve en 7 mL de metanol seco y se refluxe durante otra hora. El disolvente se evapora a baja presión y el sólido obtenido se disuelve en 10 mL de una disolución acuosa de carbonato potásico al 20% y se extrae con cloroformo (2 x 10 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre sulfato sódico y el disolvente se elimina a presión reducida obteniéndose 480 mg del producto de partida (96% de recuperación). Una prueba análoga empleando 4 equivalentes (en lugar de 2) de cloroformiato de 1-cloroetilo y calentando más tiempo (3 horas) antes de la metanolisis del intermedio formado conduce nuevamente a la recuperación de prácticamente toda la masa del producto de partida **15**.

**Desprotección de 65.** Sobre 500 mg (1,27 mmol) de **65** se adicionan 5 mL (126 mmol) de ácido fórmico al 98% y la disolución resultante se agita a temperatura ambiente durante 4 horas. El disolvente se elimina a presión reducida y el residuo obtenido se disuelve en 1 mL de agua y se enfría a 0 °C. A continuación se basifica con una disolución acuosa fría de hidróxido potásico 1 N, precipitando 273 mg (73%) de **10**: p.f. 238-240 °C (metanol/cloroformo).



IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3650, 3285, 3258 (NH), 1653 (CONH), 1612, 1555, 1477 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 1,19 (qa,  $J = 11,5$ , 2H,  $\text{H}_{3'ax}$ ,  $\text{H}_{5'ax}$ ), 1,64-1,70 (m, 3H,  $\text{H}_{3'ec}$ ,  $\text{H}_{5'ec}$ ,  $\text{H}_4$ ), 2,49 (ta,  $J = 11,0$ , 2H,  $\text{H}_{2'ax}$ ,  $\text{H}_{6'ax}$ ), 2,98 (da,  $J = 10,7$ , 2H,  $\text{H}_{2'ec}$ ,  $\text{H}_{6'ec}$ ),

3,30 (ta, 2H, CONHCH<sub>2</sub>), 7,72 (s, 1H, H<sub>5</sub>), 7,77 (s, 1H, H<sub>7</sub>), 8,36 (s, 1H, H<sub>2</sub>), 9,88 (sa, 1H, CONH).

<sup>13</sup>C-RMN (Me<sub>2</sub>SO-d<sub>6</sub>, δ): 29,9 (C<sub>3'</sub>, C<sub>5'</sub>), 36,2 (C<sub>4'</sub>), 44,9; 45,2 (C<sub>2'</sub>, C<sub>6'</sub>, CONHCH<sub>2</sub>), 117,0 (C<sub>7'</sub>), 120,9 (C<sub>5'</sub>), 122,1; 125,4 (C<sub>4'</sub>, C<sub>6'</sub>), 139,1; 139,5 (C<sub>3a'</sub>, C<sub>7a'</sub>), 147,0 (C<sub>2'</sub>), 164,4 (CONH).

Análisis calculado para C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>4</sub>O:

C, 57,44; H, 5,85; N, 19,14

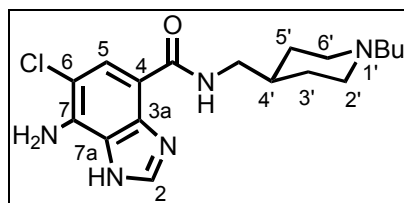
Encontrado: C, 57,37; H, 5,43; N, 19,25

### 5.1.7. Síntesis de 7-amino-4-bencimidazolcarboxamidas

#### 5.1.7.1. *N*-[(1-Butil-4-piperidil)metil]-7-amino-6-halo-4-bencimidazolcarboxamidas. Procedimiento general. **21, 22**

A una disolución de **19** ó **20** (0,75 mmol) en 15 mL de etanol absoluto, se le añaden una punta de espátula de níquel-Raney y 0,1 mL (1,65 mmol) de hidrato de hidrazina al 80 % en agua, gota a gota. Se mantiene la agitación a temperatura ambiente hasta que desaparece el producto de partida (c.c.f.). La mezcla de reacción se filtra sobre celita y el disolvente se elimina a presión reducida. El crudo obtenido se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice y posterior cristalización del disolvente adecuado.

#### \**N*-[(1-butil-4-piperidil)metil]-7-amino-6-cloro-4-bencimidazolcarboxamida **21**



Cromatografía: cloroformo/metanol/amoniaco 9,5:0,5:0,1→9:1:0,1.  
Rto. 39%; p.f. 232-234 °C (d) (cloroformo).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3456, 3331, 3205 ( $\text{NH}_2$ , NH), 1649 (CONH), 1627, 1587, 1452 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6, \delta$ ): 0,89 (t,  $J = 7,2$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,19-1,46 (m, 6H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{H}_{3'ax}$ ,  $\text{H}_{5'ax}$ ), 1,55 (m, 1H,  $\text{H}_4'$ ), 1,70 (da,  $J = 12,3$ , 2H,  $\text{H}_{3'ec}$ ,  $\text{H}_{5'ec}$ ), 1,89 (ta,  $J = 11,4$ , 2H,  $\text{H}_{2'ax}$ ,  $\text{H}_{6'ax}$ ), 2,28 (t,  $J = 6,9$ , 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 2,89 (da,  $J = 10,5$ , 2H,  $\text{H}_{2'ec}$ ,  $\text{H}_{6'ec}$ ), 3,27 (m, 2H,  $\text{CONHCH}_2$ ), 6,08 (sa, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7,76 (s, 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,39 (sa, 1H,  $\text{H}_2$ ), 9,57 (sa, 1H, CONH), 12,41 (sa, 1H, NH).

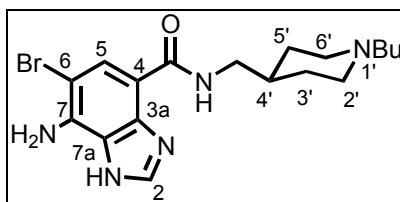
$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6, \delta$ ): 13,9 ( $\text{CH}_3$ ), 20,1 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 28,5 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 29,7 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 36,4 ( $\text{C}_4$ ), 44,3 ( $\text{CONHCH}_2$ ), 53,1 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 57,8 ( $\text{NCH}_2$ ), 109,2; 111,8; 124,5; 131,8; 134,3; 139,9; 141,7 (bencimidazol), 164,4 (CONH).

Análisis calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{ClN}_5\text{O}$ :

C, 59,41; H, 7,20; N, 19,25

Encontrado: C, 59,07; H, 6,82; N, 18,95

\* *N*-[(1-butil-4-piperidil)metil]-7-amino-6-bromo-4-bencimidazolcarboxamida  
22



Cromatografía: cloroformo/metanol/amoniaco 9,5:0,5:0,1→8:2:0,1.

Rto. 51%; p.f. 228-230 °C (d) (cloroformo).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3454, 3335, 3207 ( $\text{NH}_2$ , NH), 1647 (CONH), 1624, 1585, 1456 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6, \delta$ ): 0,89 (t,  $J = 8,1$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,18-1,47 (m, 6H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{H}_{3'ax}$ ,  $\text{H}_{5'ax}$ ), 1,55 (m, 1H,  $\text{H}_4'$ ), 1,70 (da,  $J = 12,3$ , 2H,  $\text{H}_{3'ec}$ ,  $\text{H}_{5'ec}$ ), 1,88 (ta,  $J = 11,1$ , 2H,  $\text{H}_{2'ax}$ ,  $\text{H}_{6'ax}$ ), 2,28 (t,  $J = 7,2$ , 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 2,89 (da,  $J = 11,4$ , 2H,  $\text{H}_{2'ec}$ ,  $\text{H}_{6'ec}$ ), 3,27 (m, 2H,  $\text{CONHCH}_2$ ), 6,10 (sa, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7,89 (s, 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,36 (sa, 1H,  $\text{H}_2$ ), 9,54 (sa, 1H, CONH), 12,38 (sa, 1H, NH).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 13,9 ( $\text{CH}_3$ ), 20,2 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 28,5 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 29,7 ( $\text{C}_{3'}$ ,  $\text{C}_{5'}$ ), 36,1 ( $\text{C}_{4'}$ ), 44,3 ( $\text{CONHCH}_2$ ), 53,1 ( $\text{C}_{2'}$ ,  $\text{C}_{6'}$ ), 57,8 ( $\text{NCH}_2$ ), 98,0; 111,9; 121,4; 127,1; 131,8; 135,2; 141,4 (bencimidazol), 164,5 (CONH).

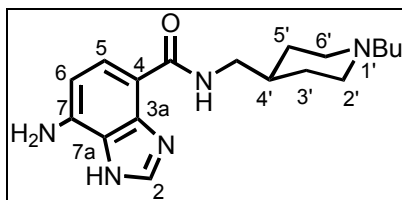
Análisis calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{BrN}_5\text{O}$ :

C, 52,94; H, 6,42; N, 17,15

Encontrado: C, 52,55; H, 6,49; N, 16,83

### 5.1.7.2. *N*-[(1-Butil-4-piperidil)metil]-7-amino-4-bencimidazolcarboxamida **23**

A una disolución de 260 mg (0,6 mmol) de **20** en 12 mL de etanol absoluto, se le añaden 72 mg (0,07 mmol) de paladio sobre carbono al 10% y 1,6 mL (27 mmol) de hidrato de hidrazina al 80% en agua, gota a gota, y se refluye hasta que desaparece el producto de partida (c.c.f.). La mezcla de reacción se filtra sobre celita y el disolvente se elimina a presión reducida. El crudo obtenido se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice (cloroformo/metanol/amoniaco 9,5:0,5:0,1 $\rightarrow$ 8:2:0,1) aislándose 175 mg (90%) de **23**: p.f. 162-164 °C (d).



IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3470, 3350, 3225 ( $\text{NH}_2$ , NH), 1650 (CONH), 1600, 1560, 1450 (Ar).

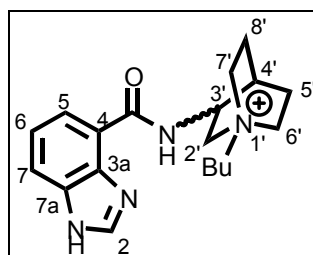
$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 0,90 (t,  $J = 7,5$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,18-1,50 (m, 6H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{H}_{3'ax}$ ,  $\text{H}_{5'ax}$ ), 1,57 (m, 1H,  $\text{H}_{4'}$ ), 1,73 (da,  $J = 12,3$ , 2H,  $\text{H}_{3'ec}$ ,  $\text{H}_{5'ec}$ ), 2,01 (ta,  $J = 11,4$ , 2H,  $\text{H}_{2'ax}$ ,  $\text{H}_{6'ax}$ ), 2,37 (t,  $J = 7,2$ , 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 2,97 (da,  $J = 11,7$ , 2H,  $\text{H}_{2'ec}$ ,  $\text{H}_{6'ec}$ ), 3,21 (m, 2H,  $\text{CONHCH}_2$ ), 5,89 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 6,50 (d,  $J = 8,4$ , 2H,  $\text{H}_6$ ), 7,65 (d,  $J = 8,1$ , 2H,  $\text{H}_5$ ), 8,36 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 9,64 (sa, 1H, CONH), 12,19 (sa, 1H, NH).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 13,9 ( $\text{CH}_3$ ), 20,0 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 27,9 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 29,2 ( $\text{C}_{3'}$ ,  $\text{C}_{5'}$ ), 35,8 ( $\text{C}_{4'}$ ), 43,9 ( $\text{CONHCH}_2$ ), 52,7 ( $\text{C}_{2'}$ ,  $\text{C}_{6'}$ ), 57,4 ( $\text{NCH}_2$ ), 104,5; 109,6; 121,7; 124,5; 135,2; 140,4 (bencimidazol), 165,9 (CONH).

5.1.8. Síntesis de derivados de ( $\pm$ )-1-butil-1-azoniabicyclo[2.2.2]oct-3-ilo.  
 Procedimiento general. 8, 17

A una disolución de 1 mmol de la amida **UCM-30593** ó **UCM-23395** en etanol (4 mL), se le añaden 140 mg (1 mmol) de 1-bromobutano. La disolución se refluxe hasta que no se observa evolución en la desaparición del producto de partida (c.c.f.). A continuación se elimina el disolvente a presión reducida y el sólido obtenido se cromatografía en columna de gel de sílice.

5.1.8.1. Bromuro de ( $\pm$ )-N-(1-butil-1-azoniabicyclo[2.2.2]oct-3-il)-4-bencimidazolcarboxamida **8**



Cromatografía: cloroformo/metanol/amoniaco 9:1:0,1→8:2:0,1.  
 Rto. 40%; p.f. >300 °C.

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3400, 3200 (NH), 1650 (CONH), 1615, 1550, 1485 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6, \delta$ ): 0,95 (t,  $J = 7,5$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,31 (sx,  $J = 7,5$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1,68 (qt,  $J = 7,5$ , 2H,  $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 2,07 (m, 3H,  $\text{H}_{5b}$  ó  $\text{H}_{8b}$ ,  $2\text{H}_{5'}$  ó  $2\text{H}_{8'}$ ), 2,27 (m, 1H,  $\text{H}_{5a}$  ó  $\text{H}_{8a}$ ), 2,35 (m, 1H,  $\text{H}_{4'}$ ), 3,21-3,26 (m, 2H,  $\text{N}^+\text{CH}_2$ ), 3,41-3,52 (m, 5H,  $\text{H}_{2b}$ ,  $2\text{H}_{6'}$ ,  $2\text{H}_{7'}$ ), 3,99 (dd,  $J = 12,0$ ;  $9,9$ , 1H,  $\text{H}_{2a}$ ), 4,49 (m, 1H,  $\text{H}_{3'}$ ), 7,42 (t,  $J = 8,1$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 7,84 (d,  $J = 8,1$ , 1H,  $\text{H}_7$ ), 7,92 (d,  $J = 7,5$ , 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,58 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 10,46 (d,  $J = 6,0$ , 1H, CONH), 13,14 (sa, 1H, NH).

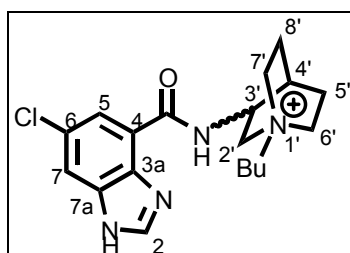
$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6, \delta$ ): 13,7 ( $\text{CH}_3$ ), 19,0; 19,5 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $\text{C}_{5'}$  ó  $\text{C}_{8'}$ ), 22,5; 23,5 ( $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{C}_{5'}$  ó  $\text{C}_{8'}$ ), 24,5 ( $\text{C}_{4'}$ ), 45,0 ( $\text{C}_{3'}$ ), 52,9; 53,6 ( $\text{C}_{6'}$ ,  $\text{C}_{7'}$ ), 60,9 ( $\text{C}_{2'}$ ), 63,0 ( $\text{N}^+\text{CH}_2$ ), 116,1 ( $\text{C}_7$ ), 121,7 ( $\text{C}_4$ ), 122,5 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_6$ ), 133,6 ( $\text{C}_{7a}$ ), 140,4 ( $\text{C}_{3a}$ ), 143,3 ( $\text{C}_2$ ), 165,1 (CONH).

Análisis calculado para C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>BrN<sub>4</sub>O:

C, 56,02; H, 6,68; N, 13,75

Encontrado: C, 55,81; H, 6,32; N, 13,55

5.1.8.2. Bromuro de ( $\pm$ )-N-(1-butil-1-azoniabicyclo[2.2.2]oct-3-il)-6-cloro-4-bencimidazolcarboxamida **17**



Cromatografía: cloruro de metileno/etanol 4:1.

Rto. 52%; p.f. >300 °C.

IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3400, 3200 (NH), 1660 (CONH), 1620, 1550, 1480 (Ar).

<sup>1</sup>H-RMN (Me<sub>2</sub>SO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$ ): 0,95 (t,  $J = 7,2$ , 3H, CH<sub>3</sub>), 1,32 (sx,  $J = 7,2$ , 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1,68 (qt,  $J = 7,3$ , 2H, N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2,07 (m, 3H, H<sub>5'b</sub> ó H<sub>8'b</sub>, 2H<sub>5'</sub> ó 2H<sub>8'</sub>), 2,25-2,29 (m, 1H, H<sub>5'a</sub> ó H<sub>8'a</sub>), 2,34-2,35 (m, 1H, H<sub>4'</sub>), 3,23-3,28 (m, 2H, N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>), 3,42-3,57 (m, 5H, H<sub>2'b</sub>, 2H<sub>6'</sub>, 2H<sub>7'</sub>), 3,98 (dd,  $J = 12,3$ ; 11,4, 1H, H<sub>2'a</sub>), 4,48-4,49 (m, 1H, H<sub>3'</sub>), 7,88 (s, 1H, H<sub>5</sub>), 7,93 (s, 1H, H<sub>7</sub>), 8,56 (s, 1H, H<sub>2</sub>), 10,15 (sa, 1H, CONH), 12,95 (sa, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-RMN (Me<sub>2</sub>SO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$ ): 13,8 (CH<sub>3</sub>), 19,0; 19,6 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, C<sub>5'</sub> ó C<sub>8'</sub>), 22,6; 23,6 (N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, C<sub>5'</sub> ó C<sub>8'</sub>), 24,5 (C<sub>4'</sub>), 45,4 (C<sub>3'</sub>), 53,2; 53,7 (C<sub>6'</sub>, C<sub>7'</sub>), 60,3 (C<sub>2'</sub>), 63,2 (N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>), 116,7 (C<sub>7</sub>), 122,2; 126,9 (C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>), 135,8; 138,7 (C<sub>3a</sub>, C<sub>7a</sub>), 144,8 (C<sub>2</sub>), 164,2 (CONH).

Análisis calculado para C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>BrClN<sub>4</sub>O:

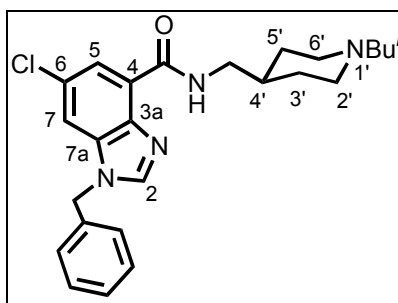
C, 51,65; H, 5,93; N, 12,68

Encontrado: C, 51,46; H, 5,74; N, 12,37

### 5.1.9. Síntesis de bencimidazolcarboxamidas y carboxilatos N<sub>1</sub> o N<sub>3</sub>-alquilados

#### 5.1.9.1. N-[(1-Isobutil-4-piperidil)metil]-1-bencil-6-cloro-4-bencimidazol-carboxamida **104**

A una disolución de 300 mg (0,8 mmol) de **13** en DMF anhidra (20 mL), en atmósfera de argón, se le añaden 36 mg (0,9 mmol) de hidruro sódico en suspensión mineral al 60% y se agita a temperatura ambiente durante media hora. A continuación se añaden, gota a gota, 0,09 mL (0,8 mmol) de cloruro de bencilo disueltos en 10 mL de DMF anhidra, y se calienta a 30 °C durante 18 horas. Tras evaporar el disolvente a presión reducida, el crudo se disuelve en 50 mL de cloroformo y se lava con una disolución acuosa saturada de carbonato sódico (2 x 30 mL). La fase orgánica se seca sobre sulfato sódico y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo obtenido se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice (cloroformo/metanol 9,5:0,5), aislándose 340 mg (90%) de **104**: p.f. 150-151 °C (acetato de etilo).



IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3273 (NH), 1655 (CONH), 1607, 1560, 1487, 1472 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 0,86 (d,  $J = 6,6$ , 6H,  $2\text{CH}_3$ ), 1,28 (qd,  $J = 11,7$ ; 3,0, 2H,  $\text{H}_{3'ax}$ ,  $\text{H}_{5'ax}$ ), 1,52-1,86 (m, 6H,  $\text{H}_{4'}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}$ ,  $\text{H}_{3'ec}$ ,  $\text{H}_{5'ec}$ ,  $\text{H}_{2'ax}$ ,  $\text{H}_{6'ax}$ ), 2,01 (d,  $J = 7,2$ , 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 2,83 (da,  $J = 11,1$ , 2H,  $\text{H}_{2'ec}$ ,  $\text{H}_{6'ec}$ ), 3,37 (t,  $J = 6,3$ , 2H,  $\text{CONHCH}_2$ ), 5,63 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 7,33-7,41 (m, 5H, Ph), 7,83 (d,  $J = 2,1$ , 1H,  $\text{H}_5$  ó  $\text{H}_7$ ), 8,00 (d,  $J = 2,1$ , 1H,  $\text{H}_5$  ó  $\text{H}_7$ ), 8,80 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 9,73 (t,  $J = 5,7$ , 1H, CONH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 20,9 ( $\text{CH}_3$ ), 25,1 ( $\text{NCH}_2\text{CH}$ ), 29,9 ( $\text{C}_{3'}$ ,  $\text{C}_{5'}$ ), 36,2 ( $\text{C}_{4'}$ ), 44,7 ( $\text{CONHCH}_2$ ), 48,1 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 53,6 ( $\text{C}_{2'}$ ,  $\text{C}_{6'}$ ), 66,7 ( $\text{NCH}_2$ ), 114,2 ( $\text{C}_7$ ), 122,7 ( $\text{C}_5$ ),

124,1; 127,1 (C<sub>4</sub>, C<sub>6</sub>), 127,6; 128,1; 128,9 (Ph), 134,9 (C<sub>7a</sub>), 136,3 (Ph), 139,5 (C<sub>3a</sub>), 146,3 (C<sub>2</sub>), 163,1 (CONH).

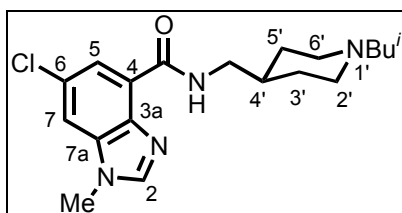
Análisis calculado para C<sub>25</sub>H<sub>31</sub>ClN<sub>4</sub>O:

C, 68,40; H, 7,12; N, 12,76

Encontrado: C, 68,13; H, 7,22; N, 12,56

5.1.9.2. *N*-[(1-Isobutil-4-piperidil)metil]-1-metil-6-cloro-4-bencimidazol-carboxamida **105**

Una disolución de 200 mg (0,6 mmol) de **13** en THF anhidro (5,7 mL) en atmósfera de argón se enfría a -78 °C, y a continuación se añaden, gota a gota, 0,3 mL (0,9 mmol) de una disolución 2,5 M de butilitio en hexano. La mezcla de reacción se agita durante 2 horas desde -78 °C hasta -10 °C, adicionando entonces 0,03 mL (0,05 mmol) de yoduro de metilo, gota a gota. Se prolonga la agitación a temperatura ambiente durante 3 horas más. La reacción se hidroliza con 10 mL de una disolución acuosa saturada de cloruro sódico, y se extrae con acetato de etilo (2 x 20 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre sulfato sódico, el disolvente se elimina a presión reducida y el residuo resultante se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice (cloroformo/metanol/amoniaco 40:1:0,1), aislándose 151 mg (73%) de **105**: p.f. 128-130 °C (cloroformo/hexano).



IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>): 3298, 3095 (NH), 1655 (CONH), 1608, 1566, 1460 (Ar).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 0,86 (d, *J* = 6,5, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 1,51 (q, *J* = 11,8, 2H, H<sub>3'ax</sub>, H<sub>5'ax</sub>), 1,65-1,82 (m, 4H, H<sub>4'</sub>, NCH<sub>2</sub>CH, H<sub>3'ec</sub>, H<sub>5'ec</sub>), 1,99 (ta, *J* = 11,4, 2H, H<sub>2'ax</sub>, H<sub>6'ax</sub>), 2,13 (d, *J* = 7,2, 2H, NCH<sub>2</sub>), 2,93 (da, *J* = 11,8, 2H, H<sub>2'ec</sub>, H<sub>6'ec</sub>), 3,40 (t, *J* = 6,0, 2H,



CONHCH<sub>2</sub>), 3,81 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 7,44 (d,  $J = 2,0$ , 1H, H<sub>7</sub>), 7,86 (s, 1H, H<sub>2</sub>), 8,05 (d,  $J = 2,0$ , 1H, H<sub>5</sub>), 9,86 (sa, 1H, CONH).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 21,0 (CH<sub>3</sub>), 25,5 (NCH<sub>2</sub>CH), 30,1 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>), 31,4 (NCH<sub>3</sub>), 36,3 (C<sub>4</sub>'), 45,3 (CONHCH<sub>2</sub>), 53,9 (C<sub>2</sub>', C<sub>6</sub>'), 67,2 (NCH<sub>2</sub>), 112,5 (C<sub>7</sub>), 124,4 (C<sub>5</sub>), 124,7 (C<sub>4</sub>), 129,3 (C<sub>6</sub>), 135,3 (C<sub>7a</sub>), 139,6 (C<sub>3a</sub>), 143,9 (C<sub>2</sub>), 164,2 (CONH).

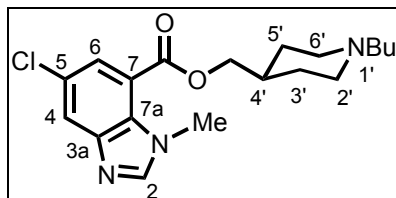
Análisis calculado para C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>ClN<sub>4</sub>O:

C, 62,88; H, 7,50; N, 15,44

Encontrado: C, 62,74; H, 7,25; N, 15,26

#### 5.1.9.3. 5-Cloro-1-metil-7-bencimidazolcarboxilato de (1-butil-4-piperidil)metilo **106**

A una disolución de 500 mg (1,4 mmol) de **31** en DMF anhidra (9,5 mL), en atmósfera de argón, se le añaden 71 mg (1,8 mmol) de hidruro sódico en suspensión mineral al 60% y se agita a temperatura ambiente durante 3 horas. A continuación la mezcla de reacción se enfría a 0 °C y se añaden, gota a gota, 0,1 mL (1,6 mmol) de yoduro de metilo, agitándose a temperatura ambiente durante 20 horas. Tras evaporar el disolvente a presión reducida, el crudo se disuelve en 15 mL de cloroformo y se lava secuencialmente con una disolución acuosa al 20% de carbonato sódico (10 mL), agua (5 mL) y una disolución acuosa saturada de cloruro sódico (5 mL). La fase orgánica se seca sobre sulfato sódico y el disolvente se elimina a presión reducida. El crudo obtenido se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice (cloroformo/metanol 50:1→1:1), aislándose 130 mg (25%) de **106**: p.f. 194-195 °C (acetato de etilo). En esta reacción se aislaron cantidades importantes de 6-cloro-1-metil-4-bencimidazolcarboxilato de metilo, obteniéndose también ácido 6-cloro-1-metil-4-bencimidazolcarboxílico, junto con trazas del isómero N<sub>1</sub>-metilado. Esto demuestra que la reacción predominante del éster **31** en presencia de hidruro sódico no es la desprotonación del nitrógeno bencimidazólico sino la ruptura del enlace del éster y subsecuente O-y N-alquilación del ácido 6-cloro-4-bencimidazolcarboxílico, siendo mínima la proporción de éster **31** susceptible de alquilación al añadir el yoduro de metilo.



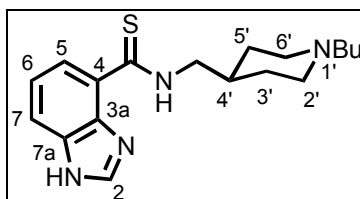
IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3390 (NH), 1718 (COO), 1662, 1504, 1472 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0,92 (t,  $J = 7,1$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,22-1,59 (m, 6H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{H}_{3'\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5'\text{ax}}$ ), 1,84 (da,  $J = 8,3$ , 3H,  $\text{H}_{3'\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5'\text{ec}}$ ,  $\text{H}_4'$ ), 2,01 (ta,  $J = 11,7$ , 2H,  $\text{H}_{2'\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6'\text{ax}}$ ), 2,38 (dd,  $J = 8,1$ ; 7,3, 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 3,04 (da,  $J = 11,5$ , 2H,  $\text{H}_{2'\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6'\text{ec}}$ ), 4,03 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ), 4,22 (d,  $J = 6,1$ , 2H,  $\text{COOCH}_2$ ), 7,80 (d,  $J = 2,0$ , 1H,  $\text{H}_4$  ó  $\text{H}_6$ ), 7,88 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 7,94 (d,  $J = 2,2$ , 1H,  $\text{H}_4$  ó  $\text{H}_6$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 13,9 ( $\text{CH}_3$ ), 20,7 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 28,2 ( $\text{C}_{3'}$ ,  $\text{C}_{5'}$ ), 29,6 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 35,0; 35,9 ( $\text{NCH}_3$ ,  $\text{C}_{4'}$ ), 52,9 ( $\text{C}_{2'}$ ,  $\text{C}_{6'}$ ), 58,3 ( $\text{NCH}_2$ ), 69,5 ( $\text{COOCH}_2$ ), 117,1 ( $\text{C}_7$ ), 124,5; 126,0 ( $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_6$ ), 126,8 ( $\text{C}_5$ ), 131,5 ( $\text{C}_{7a}$ ), 146,8 ( $\text{C}_{3a}$ ), 147,7 ( $\text{C}_2$ ), 164,7 (COO).

#### 5.1.10. Síntesis de bencimidazolcarbotoamidas. Procedimiento general. 112, 113

A una disolución de 1 mmol de la amida **UCM-21195** ó **11** en tolueno seco (15 mL), en atmósfera de argón, se le añaden de una vez 0,3 g (0,7 mmol) del reactivo Lawesson a temperatura ambiente. Después de refluir la mezcla de reacción durante 18 horas, se evapora el disolvente a presión reducida. El residuo resultante se disuelve en cloroformo y se lava dos veces con carbonato potásico acuoso al 20%. La fase orgánica se seca sobre sulfato sódico y el disolvente se elimina a presión reducida, aislándose un sólido resinoso que se cromatografía en columna de gel de sílice. La tioamida obtenida se recristaliza del disolvente adecuado.

5.1.10.1. *N*-[(1-Butil-4-piperidil)metil]-4-bencimidazolcarbotioamida **112**

Cromatografía: cloruro de metileno/etanol 9:1.

Rto. 50%; p.f. 153-154 °C (tolueno).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3450, 3200 (NH), 1575, 1480 (Ar).

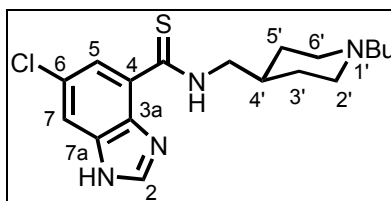
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 0,88 (t,  $J = 7,2$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,23-1,41 (m, 6H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{H}_{3'ax}$ ,  $\text{H}_{5'ax}$ ), 1,80-1,84 (m, 3H,  $\text{H}_4'$ ,  $\text{H}_{3'ec}$ ,  $\text{H}_{5'ec}$ ), 1,93 (t,  $J = 10,5$ , 2H,  $\text{H}_{2'ax}$ ,  $\text{H}_{6'ax}$ ), 2,28 (t,  $J = 6,9$ , 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 2,90 (d,  $J = 10,5$ , 2H,  $\text{H}_{2'ec}$ ,  $\text{H}_{6'ec}$ ), 3,82 (m, 2H,  $\text{CSNHCH}_2$ ), 7,39 (t,  $J = 7,5$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 7,80 (d,  $J = 7,5$ , 1H,  $\text{H}_5$  ó  $\text{H}_7$ ), 8,42 (d,  $J = 6,0$ , 1H,  $\text{H}_5$  ó  $\text{H}_7$ ), 8,56 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 12,30 (sa, 1H,  $\text{CSNH}$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 13,9 ( $\text{CH}_3$ ), 20,1 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 28,4 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 29,7 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 34,7 ( $\text{C}_4'$ ), 51,5 ( $\text{CSNHCH}_2$ ), 52,9 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6'$ ), 57,7 ( $\text{NCH}_2$ ), 115,9 ( $\text{C}_7$ ), 122,2 ( $\text{C}_5$ ), 125,4 ( $\text{C}_4$ ), 126,1 ( $\text{C}_6$ ), 133,9 ( $\text{C}_{7a}$ ), 138,4 ( $\text{C}_{3a}$ ), 143,1 ( $\text{C}_2$ ), 193,0 ( $\text{CSNH}$ ).

Análisis calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{S}$ :

C, 65,41; H, 7,93; N, 16,95

Encontrado: C, 65,49; H, 8,15; N, 16,82

5.1.10.2. *N*-[(1-Butil-4-piperidil)metil]-6-cloro-4-bencimidazolcarbotioamida **113**

Cromatografía: cloruro de metileno/etanol 9:1.  
Rto. 47%; p.f. 154-156 °C (d) (tolueno).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3220 (NH), 1600, 1490, 1450 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 0,85 (t,  $J = 7,3$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,21-1,39 (m, 6H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{H}_{3'\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5'\text{ax}}$ ), 1,75-1,78 (m, 3H,  $\text{H}_4$ ,  $\text{H}_{3'\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5'\text{ec}}$ ), 1,90 (t,  $J = 10,6$ , 2H,  $\text{H}_{2'\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6'\text{ax}}$ ), 2,26 (t,  $J = 7,7$ , 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 2,88 (d,  $J = 10,3$ , 2H,  $\text{H}_{2'\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6'\text{ec}}$ ), 3,76 (m, 2H,  $\text{CSNHCH}_2$ ), 7,83 (s, 1H,  $\text{H}_5$  ó  $\text{H}_7$ ), 8,25 (s, 1H,  $\text{H}_5$  ó  $\text{H}_7$ ), 8,54 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 12,25 (sa, 1H, CSNH).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 13,8 ( $\text{CH}_3$ ), 19,9 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 27,2 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 28,5 ( $\text{C}_{3'}$ ,  $\text{C}_{5'}$ ), 33,7 ( $\text{C}_4$ ), 51,1 ( $\text{CSNHCH}_2$ ), 52,1 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 56,8 ( $\text{NCH}_2$ ), 115,4 ( $\text{C}_7$ ), 125,3 ( $\text{C}_5$ ), 126,4; 126,6 ( $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_6$ ), 135,5; 137,0 ( $\text{C}_{3a}$ ,  $\text{C}_{7a}$ ), 144,5 ( $\text{C}_2$ ), 191,6 (CSNH).

Análisis calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{ClN}_4\text{S}$ :

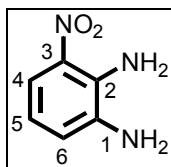
C, 59,24; H, 6,91; N, 15,35

Encontrado: C, 59,53; H, 6,88; N, 15,10

### 5.1.11. Síntesis de *N*-(benzimidazol-4-il)-(1-butil-4-piperidil)acetamida 25

#### 5.1.11.1. 4-Amino-1-tritilbencimidazol 69

\* 1,2-diamino-3-nitrobenzeno **72**. A una disolución de 1,0 g (5,5 mmol) de 2,6-dinitroanilina en etanol absoluto (150 mL), se le añaden 585 mg (0,5 mmol) de paladio sobre carbono al 10% y 1,0 mL (16,5 mmol) de hidrato de hidrazina al 80% en agua, gota a gota, y se agita a 50 °C hasta que desaparece el producto de partida (c.c.f.). La mezcla de reacción se filtra sobre celita y el disolvente se elimina a presión reducida. El crudo obtenido se redissuelve en cloroformo y tras eliminar el residuo no soluble por filtración, se evapora el disolvente a presión reducida y el sólido resultante se recristaliza de acetona/hexano aislándose 0,7 g (83%) de **72**.

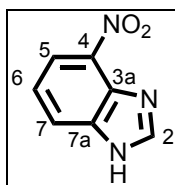


IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3440, 3309 ( $\text{NH}_2$ ), 1647, 1624, 1525 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 3,42 (sa, 1H,  $\text{NH}_2$ ), 5,95 (sa, 1H,  $\text{NH}_2$ ), 6,62 (t,  $J = 7,3$ , 1H,  $\text{H}_5$ ), 6,93 (d,  $J = 7,0$ , 1H,  $\text{H}_4$  ó  $\text{H}_6$ ), 7,73 (d,  $J = 8,5$ , 1H,  $\text{H}_4$  ó  $\text{H}_6$ ).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 116,6; 117,9; 122,1 ( $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_6$ ), 129,0; 136,0; 136,9 ( $\text{C}_1$ ,  $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_3$ ).

\* *4-nitrobenzimidazol 73*. Una disolución de 1,0 g (6,5 mmol) de **72** y 1,8 g (39 mmol) de ácido fórmico en agua (1,3 mL) se refluxe durante 6 horas (c.c.f.). La mezcla de reacción se enfría en baño de hielo y se adicionan 10 mL de agua fría. A continuación, se trata con una disolución acuosa fría de hidróxido potásico 1 N hasta pH básico, precipitando un sólido que se lava con agua fría y se recristaliza de etanol/agua, aislándose 0,8 g (75%) de **73**.

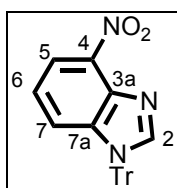


IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3100 (NH), 1635, 1531, 1488 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 7,40 (t,  $J = 8,1$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 8,17 (d,  $J = 8,3$ , 2H,  $\text{H}_5$ ,  $\text{H}_7$ ), 8,81 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 13,30 (sa, 1H, NH).

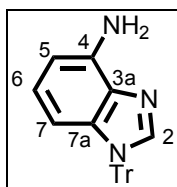
\* *4-nitro-1-tritilbenzimidazol 74*. A una disolución de 2,1 g (13 mmol) de 4-nitrobenzimidazol (**73**) en THF anhidro (130 mL) bajo atmósfera de argón y

enfriada en baño de hielo, se le añaden 560 mg (14 mmol) de hidruro sódico en suspensión mineral al 60%, y se agita durante media hora a 0 °C. A continuación se adicionan 4,2 g (15 mmol) de cloruro de tritilo y la mezcla de reacción se agita durante 22 horas a temperatura ambiente. La reacción se diluye en agua (130 mL) y se extrae con acetato de etilo (2 x 250 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre sulfato sódico, y tras eliminar el disolvente a presión reducida se aíslan 4,7 g (90%) de **74**.



$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 6,81 (d,  $J = 8,4$ , 1H,  $\text{H}_7$ ), 6,99 (t,  $J = 8,1$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 7,13-7,16 (m, 5H, tritilo), 7,31-7,35 (m, 10H, tritilo), 8,02 (d,  $J = 7,5$ , 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,10 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ).

\* *4-amino-1-tritilbenzimidazol* **69**. A una disolución de 1,0 g (2,5 mmol) de **74** en etanol absoluto (45 mL), se le añaden 1,25 g de níquel-Raney y 1,5 mL (25 mmol) de hidrato de hidrazina al 80% en agua, gota a gota. Se mantiene la agitación a temperatura ambiente durante aproximadamente una hora, hasta que desaparece el producto de partida (c.c.f.). La mezcla de reacción se filtra sobre celita y el disolvente se elimina a presión reducida. El crudo obtenido se disuelve en 100 mL de cloroformo y se lava con agua (50 mL). La fase orgánica se seca sobre sulfato sódico y tras evaporar el disolvente a presión reducida se aíslan 0,84 g (91%) de **69**: p.f. 192-193 °C (tolueno).



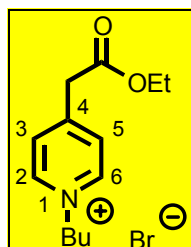
$\text{IR}$  ( $\text{KBr}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3454, 3308 ( $\text{NH}_2$ ), 1630, 1597, 1485 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 4,36 (sa, 1H,  $\text{NH}_2$ ), 4,89 (sa, 1H,  $\text{NH}_2$ ), 5,86 (dd,  $J = 8,3$ ; 1,0, 1H,  $\text{H}_7$ ), 6,42 (dd,  $J = 7,8$ ; 1,0, 1H,  $\text{H}_5$ ), 6,69 (t,  $J = 8,0$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 7,17-7,32 (m, 15H, tritilo), 7,71 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 75,4 ( $\text{CPh}_3$ ), 105,6; 105,7 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_7$ ), 123,3 ( $\text{C}_6$ ), 127,8; 127,9; 128,1; 130,1 (tritilo), 133,7; 135,5 ( $\text{C}_{3a}$ ,  $\text{C}_{7a}$ ), 141,5 (tritilo), 142,0 ( $\text{C}_2$ ), 147,3 ( $\text{C}_4$ ).

### 5.1.11.2. Ácido (1-butil-4-piperidil)acético **70**

\* bromuro de 1-butil-4-[(etoxicarbonil)metil]piridinio **75**. A una disolución de 0,67 mL (6 mmol) de 4-piridilacetato de etilo en etanol (3 mL), se le añaden 0,66 mL (6 mmol) de 1-bromobutano. La disolución se agita toda la noche a temperatura ambiente y a continuación se refluxe durante 6 horas. Tras la adición de un nuevo equivalente de 1-bromobutano (0,66 mL) la mezcla se refluxe durante 24 horas más hasta que no se observa evolución en la desaparición del producto de partida (c.c.f.). A continuación se elimina el disolvente a presión reducida y el sólido obtenido se cromatografía en columna de gel de sílice (acetato de etilo/etanol 3:1) aislándose 1,1 g (60%) de **75** (aceite).



$\text{IR}$  ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1750 (COO), 1650, 1580, 1520, 1470 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0,88 (t,  $J = 7,5$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,19 (t,  $J = 7,2$ , 3H,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ), 1,35 (sx,  $J = 7,2$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1,95 (qt,  $J = 8,1$ , 2H,  $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 3,94 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{COOEt}$ ), 4,10 (q,  $J = 6,9$ , 2H,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ), 4,89 (t,  $J = 6,9$ , 2H,  $\text{N}^+\text{CH}_2$ ), 8,03 (d,  $J = 6,6$ , 2H,  $\text{H}_3$ ,  $\text{H}_5$ ), 9,44 (d,  $J = 6,9$ , 2H,  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_6$ ).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 13,5 ( $\text{CH}_3$ ), 14,1 ( $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ), 19,3 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 33,8 ( $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 40,5 ( $\text{CH}_2\text{COOEt}$ ), 61,2; 62,2 ( $\text{N}^+\text{CH}_2$ ,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ), 129,2 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 144,7 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 153,6 ( $\text{C}_4$ ), 167,9 ( $\text{COO}$ ).

\* (1-butil-4-piperidil)acetato de etilo **76**. Sobre una disolución de 500 mg (1,65 mmol) de **75** en etanol absoluto (40 mL), se adicionan 212 mg (0,2 mmol) de paladio sobre carbono al 10%. La suspensión resultante se hidrogena a 60 p.s.i. y temperatura ambiente hasta la desaparición del producto de partida (c.c.f.). La mezcla de reacción se filtra sobre celita para eliminar el catalizador y el disolvente se evapora a presión reducida. El residuo resultante se disuelve en cloroformo (20 mL) y se lava con carbonato potásico acuoso al 20% (10 mL). La fase orgánica se seca sobre sulfato sódico y el disolvente se elimina a presión reducida obteniéndose 368 mg (98%) de **76** (aceite).



IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1730 ( $\text{COO}$ ).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0,84 (t,  $J = 7,2$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,19 (t,  $J = 7,2$ , 3H,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ), 1,18-1,30 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $\text{H}_{3\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ax}}$ ), 1,40 (qt,  $J = 8,1$ , 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 1,64 (d,  $J = 14,0$ , 2H,  $\text{H}_{3\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ec}}$ ), 1,72 (m, 1H,  $\text{H}_4$ ), 1,84 (t,  $J = 12,5$ , 2H,  $\text{H}_{2\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ax}}$ ), 2,15 (d,  $J = 7,2$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{COOEt}$ ), 2,22 (dd,  $J = 8,1$ ; 7,8, 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 2,83 (d,  $J = 11,7$ , 2H,  $\text{H}_{2\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ec}}$ ), 4,06 (q,  $J = 10,8$ , 2H,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14,0 ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ), 20,9 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 29,2 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 32,1 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 33,0 ( $\text{C}_4$ ), 41,2 ( $\text{CH}_2\text{COOEt}$ ), 53,6 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 58,8 ( $\text{NCH}_2$ ), 60,1 ( $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ), 172,8 ( $\text{COO}$ ).

\* ácido (1-butil-4-piperidil)acético **70**. Una disolución de 250 mg (1,1 mmol) de **76** en una disolución acuosa de ácido clorhídrico al 20% (1,6 mL) se refluxe durante 18 horas (c.c.f.). Tras enfriar la mezcla de reacción, se elimina el disolvente a presión reducida y el sólido resultante se lava con acetona, obteniéndose tras filtrar 207 mg (80%) de **70** en forma de hidrocloreuro.





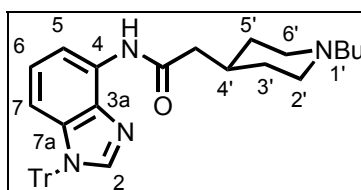
IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3500, 3300 (OH,  $\text{N}^+\text{H}$ ), 1728 (COOH).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6, \delta$ ): 0,88 (t,  $J = 7,3$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,28 (sx,  $J = 7,3$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1,54-1,66 (m, 4H,  $\text{H}_{3\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ax}}$ ,  $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 1,80 (da,  $J = 13,6$ , 2H,  $\text{H}_{3\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ec}}$ ), 1,85 (m, 1H,  $\text{H}_4$ ), 2,16 (d,  $J = 7,0$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{COOH}$ ), 2,79-2,95 (m, 4H,  $\text{H}_{2\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ax}}$ ,  $\text{N}^+\text{CH}_2$ ), 3,39 (d,  $J = 11,4$ , 2H,  $\text{H}_{2\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ec}}$ ), 10,53 (sa, 1H, COOH).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6, \delta$ ): 13,5 ( $\text{CH}_3$ ), 19,5; 24,8 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 28,4 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_{5,}$ ), 30,3 ( $\text{C}_4$ ), 47,6 ( $\text{CH}_2\text{COOH}$ ), 51,3; 55,6 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ,  $\text{N}^+\text{CH}_2$ ), 173,1 (COOH).

### 5.1.11.3. *N*-(1-tritilbencimidazol-4-il)-(1-butil-4-piperidil)acetamida **25**

\* *N*-(1-tritilbencimidazol-4-il)-(1-butil-4-piperidil)acetamida **71**. A una disolución de 250 mg (0,67 mmol) de **69** en DMF anhidra (0,7 mL), se le añade una disolución de 141 mg (0,6 mmol) de **70** y 148 mg (0,6 mmol) de 2-etoxi-1-etoxicarbonil-1,2-dihidroquinolina en DMF anhidra (0,7 mL). La mezcla de reacción se calienta a 110 °C y 30 mm Hg durante 24 horas. A continuación, se evapora el disolvente a presión reducida y el residuo se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice (cloroformo→cloroformo/metanol 1:1), aislándose 222 mg (60%) de **71**: p.f. 77-79 °C (tolueno).



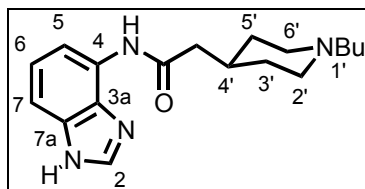
IR ( $\text{CHCl}_3, \text{cm}^{-1}$ ): 3404 (NH), 1684 (CONH), 1620, 1597, 1522, 1480 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3, \delta$ ): 0,72 (t,  $J = 7,5$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,04-1,16 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $\text{H}_{3\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ax}}$ ), 1,32-1,44 (m, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 1,64 (da,  $J = 12,9$ , 2H,  $\text{H}_{3\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ec}}$ ), 1,83-1,91

(m, 1H, H<sub>4'</sub>), 1,97 (ta,  $J = 10,5$ , 2H, H<sub>2'ax</sub>, H<sub>6'ax</sub>), 2,20 (d,  $J = 7,2$ , 2H, NHCOCH<sub>2</sub>), 2,29 (dd,  $J = 8,4$ ; 7,8, 2H, NCH<sub>2</sub>), 2,89 (da,  $J = 11,7$ , 2H, H<sub>2'ec</sub>, H<sub>6'ec</sub>), 5,98 (d,  $J = 8,4$ , 1H, H<sub>7</sub>), 6,67 (t,  $J = 8,1$ , 1H, H<sub>6</sub>), 6,95-7,13 (m, 15H, tritilo), 7,60 (s, 1H, H<sub>2</sub>), 7,90 (d,  $J = 7,5$ , 1H, H<sub>5</sub>), 8,48 (sa, 1H, NHCO).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 13,9 (CH<sub>3</sub>), 20,6 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 28,3 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 31,0 (C<sub>3'</sub>, C<sub>5'</sub>), 32,8 (C<sub>4'</sub>), 44,1 (NHCOCH<sub>2</sub>), 53,3 (C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>), 58,3 (NCH<sub>2</sub>), 75,6 (CPh<sub>3</sub>), 110,8, 111,2 (C<sub>5</sub>, C<sub>7</sub>), 123,2 (C<sub>6</sub>), 128,1; 128,2 (tritilo), 129,7 (C<sub>4</sub>), 129,9 (tritilo), 131,1; 134,8 (C<sub>3a</sub>, C<sub>7a</sub>), 141,2 (tritilo), 142,7 (C<sub>2</sub>), 170,3 (NHCO).

\* *N*-(bencimidazol-4-il)-(1-butil-4-piperidil)acetamida **25**. A una disolución de 150 mg (0,27 mmol) de **71** en THF (2 mL) se le añaden 2 mL de agua y 2 mL de ácido acético glacial, y la reacción se calienta a reflujo durante 1 hora y media. El crudo de reacción se enfría a temperatura ambiente y se diluye en agua (5 mL). A continuación se basifica hasta pH=9-10 con hidróxido sódico acuoso al 5% y se extrae con acetato de etilo (2 x 20 mL). Las fases orgánicas se secan sobre sulfato sódico y el disolvente se elimina a presión reducida. El crudo de reacción se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice (cloroformo/metanol 10:1→1:10), aislándose 54 mg (64%) de **25**: p.f. 205-207 °C (metanol/agua).



IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>): 3412 (NH), 1676 (CONH), 1630, 1603, 1522 (Ar).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 0,91 (t,  $J = 7,2$ , 3H, CH<sub>3</sub>), 1,25-1,53 (m, 6H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, H<sub>3'ax</sub>, H<sub>5'ax</sub>), 1,81 (da,  $J = 12,9$ , 2H, H<sub>3'ec</sub>, H<sub>5'ec</sub>), 1,94-2,00 (m, 3H, H<sub>4'</sub>, H<sub>2'ax</sub>, H<sub>6'ax</sub>), 2,33 (dd,  $J = 8,0$ ; 7,7, 2H, NCH<sub>2</sub>), 2,38 (d,  $J = 7,1$ , 2H, NHCOCH<sub>2</sub>), 2,95 (da,  $J = 11,6$ , 2H, H<sub>2'ec</sub>, H<sub>6'ec</sub>), 7,16-7,31 (m, 3H, H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>, H<sub>7</sub>), 8,23 (s, 1H, H<sub>2</sub>), 8,58 (sa, 1H, NHCO).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14,0 ( $\text{CH}_3$ ), 20,9 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 29,0 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 32,0 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 33,5 ( $\text{C}_4$ ), 44,6 ( $\text{NHCOCH}_2$ ), 53,6 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 58,8 ( $\text{NCH}_2$ ), 104,9 ( $\text{C}_7$ ), 112,2 ( $\text{C}_5$ ), 123,6 ( $\text{C}_6$ ), 127,2 ( $\text{C}_4$ ), 128,4; 130,1 ( $\text{C}_{3a}$ ,  $\text{C}_{7a}$ ), 139,5 ( $\text{C}_2$ ), 170,7 ( $\text{NHCO}$ ).

Análisis calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}$ :

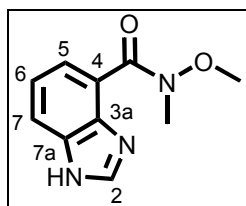
C, 68,76; H, 8,33; N, 17,82

Encontrado: C, 68,56; H, 8,36; N, 17,77

### 5.1.12. Síntesis de *N*-metil-*N*-metoxi-4-bencimidazolcarboxamidas

#### 5.1.12.1. *N*-Metil-*N*-metoxi-4-bencimidazolcarboxamida **79**

Sobre 1,0 g (5 mmol) del hidrocloreto del ácido **36**, en atmósfera de argón, se añaden 20 mL de cloruro de tionilo. A continuación, la mezcla se refluxe durante 4 horas y el cloruro de tionilo en exceso se elimina a presión reducida, aislándose 0,9 g (85%) del cloruro de ácido en forma de hidrocloreto (banda de tensión carbonílica  $1755\text{ cm}^{-1}$ ). A una disolución de 5,0 g (23 mmol) de dicho cloruro de ácido y 2,5 g (25 mmol) del hidrocloreto de *N,O*-dimetilhidroxilamina en cloruro de metileno seco (46 mL), bajo atmósfera de argón y enfriada a  $0\text{ }^\circ\text{C}$ , se le añaden, gota a gota, 6,1 mL (76 mmol) de piridina. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 3 horas y se elimina el disolvente a presión reducida. El residuo resultante se disuelve en cloroformo (100 mL) y se lava con carbonato potásico acuoso al 20% (50 mL). La fase orgánica se seca sobre sulfato sódico y el disolvente se elimina a presión reducida, obteniéndose 3,6 g (77%) de **79**: p.f.  $138\text{-}140\text{ }^\circ\text{C}$  (acetato de etilo).



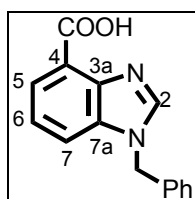
IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1635 (CON), 1600, 1490, 1460 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 3,44 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,67 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 7,30 (t,  $J = 8,1$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 7,93-7,97 (m, 2H,  $\text{H}_5$ ,  $\text{H}_7$ ), 8,12 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 11,03 (sa, 1H, NH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 34,0 ( $\text{NCH}_3$ ), 61,0 ( $\text{OCH}_3$ ), 117,7 ( $\text{C}_4$ ), 121,3 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_6$ ), 123,1 ( $\text{C}_7$ ), 133,8 ( $\text{C}_{3a}$ ), 141,7 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_{7a}$ ), 167,4 (CON).

#### 5.1.12.2. *N*-Metil-*N*-metoxi-1-bencil-4-bencimidazolcarboxamida **80**

\* ácido 1-bencil-4-bencimidazolcarboxílico **78**. A una disolución de 1,0 g (5 mmol) del hidrocloreto del ácido **36** en 25 mL de DMF anhidra y atmósfera de argón, se le adicionan 640 mg (16 mmol) de hidruro sódico al 60%. La mezcla de reacción se agita durante 30 minutos y se le añade, gota a gota, una disolución de 0,6 mL (5 mmol) de cloruro de bencilo en 5 mL de DMF anhidra. A continuación, se calienta a 30 °C durante 16 horas (c.c.f.) en atmósfera de argón. El disolvente se evapora a presión reducida, y el residuo se disuelve en 150 mL de agua y se acidula con un mezcla 1:1 de ácido clorhídrico en agua hasta pH 4. La fase acuosa se extrae con cloroformo (5 x 200 mL), los extractos orgánicos se secan sobre sulfato sódico y el disolvente se elimina a presión reducida, aislándose 1,0 g (97%) de **78**<sup>318</sup>: p.f. 159-160 °C (cloroformo/éter etílico).



IR ( $\text{KBr}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3400 (OH), 1730 (COOH), 1610, 1500, 1540, 1420 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 5,64 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7,32-7,43 (m, 6H, Ph,  $\text{H}_6$ ), 7,84 (d,  $J = 7,5$ , 1H,  $\text{H}_5$ ), 7,88 (d,  $J = 8,4$ , 1H,  $\text{H}_7$ ), 8,75 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ).

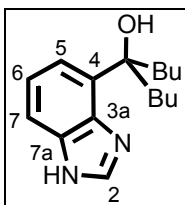
$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 48,0 ( $\text{CH}_2$ ), 115,8 ( $\text{C}_7$ ), 120,7 ( $\text{C}_4$ ), 122,6 ( $\text{C}_6$ ), 124,2 ( $\text{C}_5$ ), 127,5; 127,9; 128,8 (Ph), 134,0; 136,4; 142,0 (Ph,  $\text{C}_{3a}$ ,  $\text{C}_{7a}$ ), 145,4 ( $\text{C}_2$ ), 166,4 (COOH).

<sup>318</sup>Véase nota 234.



5.1.13. Síntesis de 1-(bencimidazol-4-il)-1-butil-1-pentanol **83**

A una disolución de 1,0 g (5,0 mmol) del hidrocloreto del ácido 4-bencimidazolcarboxílico (**36**) en THF (10 mL), en atmósfera de argón, se le añaden 0,9 g (5,5 mmol) de 1,1'-carbonildiimidazol y la disolución resultante se calienta a 50 °C durante 1 hora 30 minutos. A continuación, se deja enfriar la reacción a temperatura ambiente, se baja la temperatura a -50 °C y se añaden, gota a gota, 11 mL (22,5 mmol) de una disolución de cloruro de butilmagnesio 2 M en THF. La disolución se agita bajo atmósfera de argón, durante aproximadamente 2 horas 30 minutos, dejando que la temperatura del sistema alcance la temperatura ambiente. La mezcla de reacción se añade, gota a gota, sobre 200 mL de una disolución acuosa de ácido clorhídrico al 10% enfriada a 0 °C, manteniendo una agitación vigorosa. La disolución acuosa se basifica con carbonato sódico sólido y se extrae con cloroformo (3 x 100 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre sulfato sódico, el disolvente se elimina a presión reducida y el crudo se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo 1:1), aislándose 0,65 g (50%) del alcohol **83**: p.f. 86-88 °C (hexano), y sólo trazas de la cetona **81**.



IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3250(OH), 1500, 1460 (Ar).

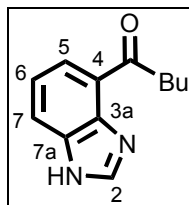
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0,80 (t,  $J = 7,0$ , 6H,  $2\text{CH}_3$ ), 1,06-1,39 (m, 8H,  $2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1,82-2,04 (m, 4H,  $2\text{C(OH)CH}_2$ ), 6,98 (d,  $J = 7,3$ , 1H,  $\text{H}_5$ ), 7,22 (t,  $J = 7,3$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 7,57 (d,  $J = 7,7$ , 1H,  $\text{H}_7$ ), 7,97 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14,0 ( $2\text{CH}_3$ ), 23,0 ( $2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 25,8 ( $2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 42,9 ( $2\text{C(OH)CH}_2$ ), 79,5 (COH), 114,7 ( $\text{C}_7$ ), 119,4 ( $\text{C}_5$ ), 122,3 ( $\text{C}_6$ ), 132,5; 134,9 ( $\text{C}_{3a}$ ,  $\text{C}_{7a}$ ), 139,7 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_4$ ).

#### 5.1.14. Síntesis (bencimidazol-4-il) cetonas

##### 5.1.14.1. (Bencimidazol-4-il) butil cetona **81**

A una disolución de 500 mg (2,4 mmol) de la amida **79** en THF (25 mL), bajo atmósfera de argón y enfriada a 0 °C, se le añaden, gota a gota, 2,7 mL (5,4 mmol) de una disolución de cloruro de butilmagnesio 2 M en THF ó 3,3 mL (5,4 mmol) de una disolución de butilitio 1,6 M en hexano. La mezcla de reacción se agita bajo atmósfera de argón a 0 °C, durante 1-3 horas (c.c.f.) y se añade, gota a gota, sobre 250 mL de una disolución etanólica de ácido clorhídrico al 10% enfriada a 0 °C, manteniendo una agitación vigorosa. A continuación, se elimina el disolvente a presión reducida y el residuo se disuelve en 20 mL de agua. La disolución acuosa se basifica con carbonato sódico sólido y se extrae con cloroformo (2 x 30 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre sulfato sódico, el disolvente se elimina a presión reducida y el crudo se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo 7:3), aislándose 295-369 mg (60-75%) de **81**: p.f. 169-170 °C (cloroformo).



IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1680 (CO), 1600, 1505, 1480 (Ar).

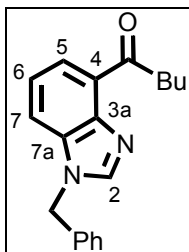
$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0,98 (t,  $J = 7,0$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,45 (sx,  $J = 7,0$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1,79 (qt,  $J = 7,0$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 3,10 (t,  $J = 7,0$ , 2H,  $\text{COCH}_2$ ), 7,36 (t,  $J = 7,7$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 7,89 (d,  $J = 7,7$ , 1H,  $\text{H}_5$  ó  $\text{H}_7$ ), 8,06 (d,  $J = 8,1$ , 1H,  $\text{H}_5$  ó  $\text{H}_7$ ), 8,17 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 11,12 (sa, 1H, NH).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 13,9 ( $\text{CH}_3$ ), 22,5 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 26,7 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 37,9 ( $\text{COCH}_2$ ), 121,1 ( $\text{C}_4$ ), 121,5 ( $\text{C}_6$ ), 124,8; 125,9 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_7$ ), 132,3 ( $\text{C}_{3a}$ ), 142,1 ( $\text{C}_2$ ), 144,0 ( $\text{C}_{7a}$ ), 201,9 (CO).

5.1.14.2. (1-Bencilbencimidazol-4-il) cetonas. Procedimiento general. **82a,b**

A una disolución de 1,0 g (3,4 mmol) de la amida **80** en THF (34 mL), en atmósfera de argón y enfriada a 0 °C, se le añaden, gota a gota, 5,1 mL (10,1 mmol) de una disolución de cloruro de butilmagnesio 2 M en THF ó 2,3 mL (6,8 mmol) de una disolución de yoduro de metilmagnesio 3 M en hexano. La mezcla de reacción se agita bajo atmósfera de argón desde 0 °C a temperatura ambiente, durante 4-5 horas (c.c.f.) y se añade, gota a gota, sobre 300 mL de una disolución etanólica de ácido clorhídrico al 10% enfriada a 0 °C, manteniendo una agitación vigorosa. A continuación, se elimina el disolvente a presión reducida y el residuo se disuelve en 50 mL de agua. La disolución acuosa se basifica con carbonato sódico sólido y se extrae con cloroformo (2 x 100 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre sulfato sódico, el disolvente se elimina a presión reducida y el crudo se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice en la mezcla de disolventes adecuada.

\* (1-bencilbencimidazol-4-il) butil cetona **82a**



Cromatografía: cloruro de metileno/acetato de etilo 18:1→1:1.

Rto. 86%.

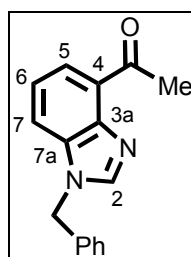
IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1680 (CO), 1610, 1495, 1455 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0,96 (t,  $J = 7,5$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,50 (sx,  $J = 7,5$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1,78 (qt,  $J = 7,5$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 3,54 (t,  $J = 7,1$ , 2H,  $\text{COCH}_2$ ), 5,41 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 7,18 (m, 2H, Ph), 7,29-7,36 (m, 4H,  $\text{H}_6$ , Ph), 7,47 (d,  $J = 7,9$ , 1H,  $\text{H}_7$ ), 7,89 (d,  $J = 7,5$ , 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,06 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ).



$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14,1 ( $\text{CH}_3$ ), 22,5 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 26,4 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 43,1 ( $\text{COCH}_2$ ), 49,0 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 114,3 ( $\text{C}_7$ ), 122,7; 123,3 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_6$ ), 127,0; 128,4; 129,1 ( $\text{Ph}$ ), 129,6 ( $\text{C}_4$ ), 135,0 ( $\text{C}_{7a}$ ,  $\text{Ph}$ ), 142,5 ( $\text{C}_{3a}$ ), 143,8 ( $\text{C}_2$ ), 201,7 ( $\text{CO}$ ).

\* (1-bencilbencimidazol-4-il) metil cetona **82b**



Cromatografía: hexano/acetato de etilo 1:1.

Rto. 90%; p.f. 89-90 °C (acetato de etilo).

IR ( $\text{KBr}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1662 ( $\text{CO}$ ), 1607, 1578, 1491, 1454 ( $\text{Ar}$ ).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 3,02 (s, 3H,  $\text{COCH}_3$ ), 5,38 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 7,12-7,17 (m, 2H,  $\text{Ph}$ ), 7,23-7,37 (m, 4H,  $\text{H}_6$ ,  $\text{Ph}$ ), 7,45 (dd,  $J = 8,1$ ;  $1,2$ , 1H,  $\text{H}_7$ ), 7,87 (dd,  $J = 7,6$ ;  $1,2$ , 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,05 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ).

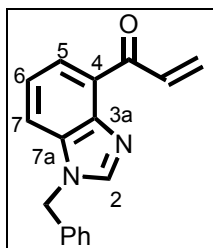
$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 31,4 ( $\text{COCH}_3$ ), 49,0 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 114,7 ( $\text{C}_7$ ), 122,6; 123,3 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_6$ ), 127,0; 128,5; 129,1 ( $\text{Ph}$ ), 129,4 ( $\text{C}_4$ ), 135,0; 135,1 ( $\text{C}_{7a}$ ,  $\text{Ph}$ ), 142,9 ( $\text{C}_{3a}$ ), 143,9 ( $\text{C}_2$ ), 198,9 ( $\text{CO}$ ).

#### 5.1.14.3. Tratamiento de la amida de Weinreb **80** con bromuro de vinilmagnesio

A una disolución de 1,0 g (3,4 mmol) de **80** en THF (34 mL) bajo atmósfera de argón, enfriada a 0 °C ó a -78 °C, se le añaden, gota a gota, 6,8 mL (6,8 mmol) de una disolución de bromuro de vinilmagnesio 1 M en THF. La mezcla de reacción se agita bajo atmósfera de argón desde 0 °C a temperatura ambiente, durante 4

horas (c.c.f.) [o a 0 °C durante 4 horas, o desde -78 °C a 0 °C durante 5 horas, o a -78 °C durante 2 horas] y se añade, gota a gota, sobre 300 mL de una disolución etanólica de ácido clorhídrico al 10% enfiada a 0 °C, manteniendo una agitación vigorosa. A continuación, se elimina el disolvente a presión reducida y el residuo se disuelve en 50 mL de agua. La disolución acuosa se basifica con carbonato sódico sólido y se extrae con cloroformo (2 x 100 mL). La hidrólisis de la mezcla de reacción se puede llevar a cabo también sobre una disolución acuosa saturada de cloruro amónico enfiada a 0 °C (desde 1 mL/mL de reacción hasta 20 mL/mL de reacción en dos fracciones), y posterior extracción de la fase acuosa con cloroformo. Los extractos orgánicos se secan sobre sulfato sódico, el disolvente se elimina a presión reducida y el crudo se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice (cloroformo/acetato de etilo 9:1→1:1).

\* (1-bencilbencimidazol-4-il) vinil cetona **100**

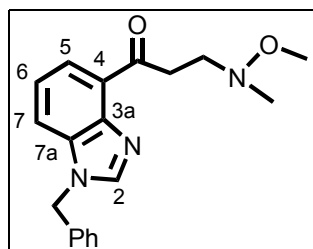


Rto. 4%; p.f. 157-158 °C (acetato de etilo).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1670 (CO), 1605, 1497, 1454 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 5,40 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 5,91 (dd,  $J = 10,5; 2,2$ , 1H,  $\text{CH}=\text{CH}_{2\text{trans}}$  CO), 6,54 (dd,  $J = 17,3; 2,2$ , 1H,  $\text{CH}=\text{CH}_{2\text{cisCO}}$ ), 7,14-7,19 (m, 2H, Ph), 7,28-7,36 (m, 4H,  $\text{H}_6$ , Ph), 7,43 (dd,  $J = 8,0; 1,0$ , 1H,  $\text{H}_7$ ), 7,92 (dd,  $J = 7,6; 1,0$ , 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,06 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 8,07 (dd,  $J = 17,1; 10,2$ , 1H,  $\text{COCH}=\text{CH}_2$ ).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 49,1 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 114,7 ( $\text{C}_7$ ), 122,9; 124,1 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_6$ ), 127,0 (Ph), 128,5; 128,6 ( $\text{CH}=\text{CH}_2$ , Ph), 129,0 (Ph), 129,4 ( $\text{C}_4$ ), 135,0 ( $\text{C}_{7a}$ , Ph), 136,1 ( $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 142,8 ( $\text{C}_{3a}$ ), 143,9 ( $\text{C}_2$ ), 190,6 (CO).

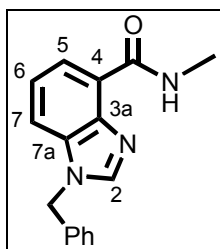
\* (1-bencilbencimidazol-4-il) 2-(N-metil-N-metoxiamino)etil cetona **101**

Rto. 20-30%; p.f. 79-80 °C (acetato de etilo).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1664 (CO), 1608, 1485, 1456 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 2,63 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,17 (t,  $J = 6,8$ , 2H,  $\text{COCH}_2$ ), 3,48 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,82 (t,  $J = 6,8$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 5,40 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 7,16-7,21 (m, 2H, Ph), 7,31-7,39 (m, 4H,  $\text{H}_6$ , Ph), 7,47 (dd,  $J = 8,0$ ; 1,0, 1H,  $\text{H}_7$ ), 7,90 (dd,  $J = 7,3$ ; 1,2, 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,05 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 41,0 ( $\text{COCH}_2$ ), 45,1 ( $\text{NCH}_3$ ), 48,9 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 55,5 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 59,8 ( $\text{OCH}_3$ ), 114,3 ( $\text{C}_7$ ), 122,5; 123,2 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_6$ ), 126,9; 128,3; 129,0 (Ph), 129,2 ( $\text{C}_4$ ), 134,9 ( $\text{C}_{7a}$ , Ph), 142,6 ( $\text{C}_{3a}$ ), 143,7 ( $\text{C}_2$ ), 199,9 (CO).

\* N-metil-1-bencil-4-bencimidazolcarboxamida **102**

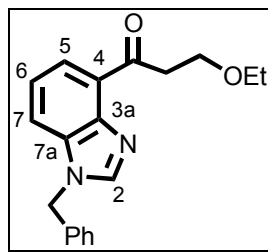
Rto. <3%; p.f. 146-148 °C (acetato de etilo).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1647 (CONH), 1608, 1587, 1566, 1500 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 3,12 (d,  $J = 4,9$ , 3H,  $\text{CONHCH}_3$ ), 5,39 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 7,14-7,19 (m, 2H, Ph), 7,30-7,44 (m, 5H, Ph,  $\text{H}_6$ ,  $\text{H}_7$ ), 7,99 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ), 8,17 (dd,  $J = 7,3$ ; 1,7, 1H,  $\text{H}_5$ ), 9,62 (sa, 1H, CONH).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 26,3 ( $\text{CONHCH}_3$ ), 49,2 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 113,3 ( $\text{C}_7$ ), 123,2 ( $\text{C}_5$  ó  $\text{C}_6$ ), 123,8 ( $\text{C}_4$ ), 124,1 ( $\text{C}_5$  ó  $\text{C}_6$ ), 127,1; 128,6; 129,2 (Ph), 134,6 ( $\text{C}_{7a}$ ), 134,9 (Ph), 142,8 ( $\text{C}_{3a}$ ,  $\text{C}_2$ ), 166,1 (CONH).

\* (1-bencilbencimidazol-4-il) 2-etoxietil cetona **103**



Rto. 25%; p.f. 55-57 °C (acetato de etilo).

IR ( $\text{KBr}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1668 (CO), 1604, 1483, 1456 (Ar).

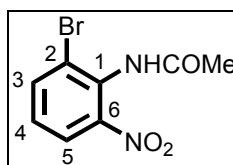
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1,15 (t,  $J = 6,9$ , 2H,  $\text{CH}_3$ ), 3,52 (q,  $J = 6,9$ , 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 3,80-3,94 (m, 4H,  $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 5,36 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 7,12-7,15 (m, 2H, Ph), 7,24-7,32 (m, 4H,  $\text{H}_6$ , Ph), 7,43 (dd,  $J = 7,8$ ; 0,9, 1H,  $\text{H}_7$ ), 7,87 (d,  $J = 7,8$ , 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,02 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 15,1 ( $\text{CH}_3$ ), 43,6 ( $\text{COCH}_2$ ), 49,0 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 65,8; 66,2 ( $\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 114,6 ( $\text{C}_7$ ), 122,6; 123,3 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_6$ ), 127,0; 128,4; 129,1 (Ph), 129,2 ( $\text{C}_4$ ), 135,0 ( $\text{C}_{7a}$ , Ph), 142,6 ( $\text{C}_{3a}$ ), 143,8 ( $\text{C}_2$ ), 199,2 (CO).

## 5.1.15. Síntesis de 4-bromobencimidazoles

5.1.15.1. 4-Bromobencimidazol **89**

\* 2-bromoacetanilida **90**. A una suspensión de 25,0 g (145 mmol) de 2-bromoanilina se adicionan 27 mL (290 mmol) de anhídrido acético y 1,3 mL de ácido sulfúrico concentrado, en baño de agua fría. La disolución se agita a temperatura ambiente durante unos minutos hasta la formación de un precipitado blanco. La mezcla de reacción se enfría en baño de hielo y se filtra, y el precipitado se lava con agua, aislándose 29,8 g (90%) de **90**: p.f. 97-100 °C (metanol/éter etílico).



IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3290 (NH), 1660 (CONH), 1600, 1585 (Ar), 1540 (CONH), 1475 (Ar).

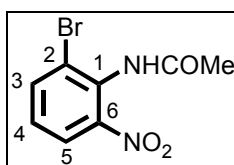
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 2,23 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 6,96 (t,  $J = 7,8$ , 1H,  $\text{H}_4$ ), 7,30 (t,  $J = 7,5$ , 1H,  $\text{H}_5$ ), 7,52 (d,  $J = 8,1$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 7,59 (sa, 1H, NHCO), 8,32 (d,  $J = 7,5$ , 1H,  $\text{H}_3$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 24,8 ( $\text{CH}_3$ ), 113,3 ( $\text{C}_2$ ), 122,0 ( $\text{C}_6$ ), 125,2 ( $\text{C}_4$ ), 128,3 ( $\text{C}_5$ ), 132,2 ( $\text{C}_3$ ), 135,6 ( $\text{C}_1$ ), 168,3 (NHCO).

\* 2-bromo-6-nitroacetanilida y 2-bromo-4-nitroacetanilida **91a,b**. Una suspensión de 10,0 g (47 mmol) de **90** se añade en porciones sobre una mezcla nitrante de 23 mL de ácido nítrico fumante y 16,5 mL de ácido acético glacial enfriada a 0 °C con baño de hielo. La disolución resultante se agita a 0-5 °C durante 24 horas y se vierte sobre 20 mL de agua. La fase acuosa se extrae al menos tres veces con cloroformo (20 mL). Los extractos orgánicos se lavan primero con una disolución acuosa de carbonato sódico al 10% (30 mL) y luego con agua (30 mL). A continuación se secan sobre sulfato sódico y se elimina el disolvente a presión reducida, obteniéndose una mezcla 1:1 de 2-bromo-6-

nitroacetanilida (**91a**) y 2-bromo-4-nitroacetanilida (**91b**), que se cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/cloruro de metileno 8,5:1,5 →1:1), aislándose 4,9 g (40%) de **91a**: p.f. 197-199 °C (tolueno), y 5,4 g (45%) de **91b**: 120-121 °C (éter etílico).

**\*\* 2-bromo-6-nitroacetanilida 91a**

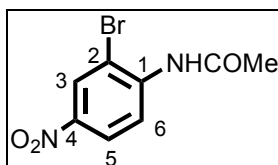


IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3270 (NH), 1675 (CONH), 1580 (Ar), 1535 (CONH), 1510, 1460 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6, \delta$ ): 2,09 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7,47 (t,  $J = 7,8$ , 1H,  $\text{H}_4$ ), 7,98 (d,  $J = 8,4$ , 1H,  $\text{H}_3$  ó  $\text{H}_5$ ), 8,09 (d,  $J = 7,8$ , 1H,  $\text{H}_3$  ó  $\text{H}_5$ ), 10,23 (s, 1H, NHCO).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6, \delta$ ): 22,5 ( $\text{CH}_3$ ), 122,6 ( $\text{C}_2$ ), 124,1 ( $\text{C}_4$ ), 128,3 ( $\text{C}_5$ ), 129,5 ( $\text{C}_1$ ), 137,2 ( $\text{C}_3$ ), 147,5 ( $\text{C}_6$ ), 168,6 (NHCO).

**\*\* 2-bromo-4-nitroacetanilida 91b**

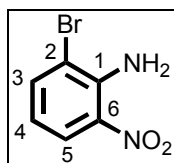


IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3260 (NH), 1680 (CONH), 1610, 1590 (Ar), 1540 (CONH), 1515, 1475 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3, \delta$ ): 2,30 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7,88 (sa, 1H, NHCO), 8,20 (dd,  $J = 9,3$ ; 2,4, 1H,  $\text{H}_5$ ), 8,45 (d,  $J = 2,4$ , 1H,  $\text{H}_3$ ), 8,65 (d,  $J = 9,0$ , 1H,  $\text{H}_6$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3, \delta$ ): 25,1 ( $\text{CH}_3$ ), 111,9 ( $\text{C}_2$ ), 120,2, 124,2 ( $\text{C}_5, \text{C}_6$ ), 127,9 ( $\text{C}_3$ ), 141,3 ( $\text{C}_1$ ), 143,1 ( $\text{C}_4$ ), 168,5 (NHCO).

\* *2-bromo-6-nitroanilina* **92**. Una disolución de 3,5 g (13,5 mmol) de la acetanilida **91a** en 14 mL de ácido clorhídrico concentrado y 28 mL de etanol, se refluxe durante 5 horas. Tras dejar enfriar, la mezcla de reacción se vierte sobre 20 mL de agua helada y se basifica con hidróxido sódico acuoso frío al 10%, precipitando 2,8 g (95%) de **92**: p.f. 75-76 °C (hexano) (lit.<sup>319</sup> p.f. 74 °C).

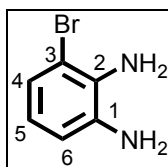


IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3490, 3370 ( $\text{NH}_2$ ), 1620, 1575, 1510 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 6,50-6,70 (m, 3H,  $\text{H}_4$ ,  $\text{NH}_2$ ) 7,68 (dd,  $J = 7,8$ ; 1,2, 1H,  $\text{H}_3$ ), 8,12 (d,  $J = 8,4$ , 1H,  $\text{H}_5$ ).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 112,1 ( $\text{C}_2$ ), 116,5 ( $\text{C}_4$ ), 125,9 ( $\text{C}_5$ ), 138,8 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_6$ ), 142,1 ( $\text{C}_1$ ).

\* *3-bromo-1,2-diaminobenceno* **93**. A una disolución de 8,8 g (34,5 mmol) de cloruro estannoso dihidratado en 9 mL de ácido clorhídrico concentrado, refrigerada en baño de agua fría, se le añaden 2,5 g (11,5 mmol) de **92** en porciones. Después de la adición, la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 3 horas (c.c.f.) y se basifica con una disolución acuosa de hidróxido potásico al 20% hasta pH 9-10 aproximadamente. La fase acuosa se extrae tres veces con cloroformo (50 mL) y los extractos orgánicos se secan sobre sulfato sódico. Al eliminar el disolvente a presión reducida se obtienen 2,1 g (95%) de **93**: p.e. 98-100 °C / 1 mm Hg (lit.<sup>320</sup> p.f. 55-56 °C; p.e. 124 °C / 3 mm Hg).



<sup>319</sup>Véase nota 239(c).

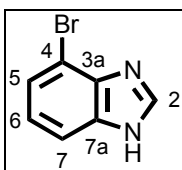
<sup>320</sup>Véase nota 239(a).

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3410, 3340 ( $\text{NH}_2$ ), 1625, 1580, 1485, 1465 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 3,46 (sa, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 3,82 (sa, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 6,56 (t,  $J = 7,8$ , 1H,  $\text{H}_5$ ), 6,62 (dd,  $J = 7,5$ ; 1,5, 1H,  $\text{H}_6$ ), 6,98 (dd,  $J = 8,1$ ; 1,5, 1H,  $\text{H}_4$ ).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 111,0 ( $\text{C}_3$ ), 115,5 ( $\text{C}_6$ ), 120,1 ( $\text{C}_5$ ), 123,4 ( $\text{C}_4$ ), 133,1 ( $\text{C}_2$ ), 135,3 ( $\text{C}_1$ ).

\* *4-bromobencimidazol* **89**. Una disolución de 1,5 g (8 mmol) de **93** y 1,1 g (23 mmol) de ácido fórmico en 6,5 mL de agua se calienta a 100 °C durante 3 horas. La mezcla de reacción se enfría en baño de hielo y se basifica con una disolución fría de hidróxido potásico 1 N hasta pH básico, precipitando 1,2 g (77%) de **89**: p.f. 170-172 °C (acetato de etilo) (lit.<sup>321</sup> p.f. 167-168 °C).



IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3300-3000 (NH), 1620, 1580, 1505, 1480, 1455 (Ar).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 7,18 (t,  $J = 8,1$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 7,45 (d,  $J = 7,5$ , 1H,  $\text{H}_5$ ), 7,61 (d,  $J = 8,4$ , 1H,  $\text{H}_7$ ), 8,34 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ).

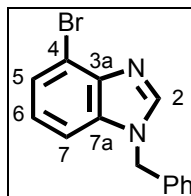
$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 109,7 ( $\text{C}_4$ ), 113,4 ( $\text{C}_7$ ), 123,0; 124,0 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_6$ ), 137,4; 139,5 ( $\text{C}_{3a}$ ,  $\text{C}_{7a}$ ), 143,3 ( $\text{C}_2$ ).

<sup>321</sup>Rabiger, D.J.; Joullié, M.M. *J. Chem. Soc.*, **1964**, 915.



5.1.15.2. *Bencil-4-bromobencimidazoles 96a,b*

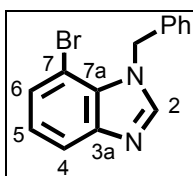
A una disolución de 175 mg (0,9 mmol) de **89** en THF anhidro (18 mL), bajo atmósfera de argón y enfriada a 0 °C, se añaden 40,5 mg (1,0 mmol) de hidruro sódico en suspensión mineral al 60%. Se agita 30 minutos a 0 °C y a continuación se añade, gota a gota, una disolución de 0,11 mL (1,0 mmol) de cloruro de bencilo en 8,8 mL de THF, y un cristal de yoduro de tetrabutilamonio. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 20 horas (c.c.f.) y posteriormente se añaden 5 mL de una disolución acuosa saturada de cloruro sódico y se extrae con cloroformo (3 x 15 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre sulfato sódico anhidro y se elimina el disolvente a presión reducida. El crudo, que presenta una relación de los isómeros **96a,b** (*anti, sin* respectivamente) de 80:20 en el espectro de <sup>1</sup>H-RMN, se cromatografía en columna de gel de sílice (cloruro de metileno/acetato de etilo 20:1→9:1), obteniéndose 120 mg (48%) de **96a** p.f. 114-116 °C (cloroformo/hexano), y una mezcla enriquecida de **96b**.

\* *1-bencil-4-bromobencimidazol 96a*

IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 1495, 1450, 1430 (Ar).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, δ): 5,23 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 7,05 (t, *J* = 7,9, 1H, H<sub>6</sub>), 7,07 (m, 2H, Ph), 7,12 (d, *J* = 7,5, 1H, H<sub>7</sub>), 7,25 (m, 3H, Ph), 7,38 (d, *J* = 7,5, 1H, H<sub>5</sub>), 7,91 (s, 1H, H<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, δ): 49,2 (CH<sub>2</sub>Ph), 109,6 (C<sub>7</sub>), 113,8 (C<sub>4</sub>), 124,0; 125,3 (C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>), 126,8; 128,2; 128,8 (Ph), 134,4; 134,9 (C<sub>7a</sub>, Ph), 142,5 (C<sub>3a</sub>), 143,6 (C<sub>2</sub>).

\* 1-bencil-7-bromobencimidazol **96b**

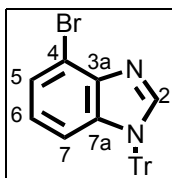
datos parciales:

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 5,72 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 7,08 (t,  $J = 7,8$ , 1H,  $\text{H}_5$ ), 7,36 (d,  $J = 7,7$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 7,72 (d,  $J = 8,1$ , 1H,  $\text{H}_4$ ), 7,83 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ).

$^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 49,8 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 109,3 ( $\text{C}_7$ ), 120,0 ( $\text{C}_4$ ), 123,5 ( $\text{C}_5$ ), 126,4; 126,9 (Ph), 127,9 ( $\text{C}_6$ ); 128,8 (Ph); 137,5 ( $\text{C}_{7a}$ ), 142,9 ( $\text{C}_{3a}$ ), 145,7 ( $\text{C}_2$ ).

5.1.15.3. 4-Bromo-1-tritilbencimidazol **97**

A una disolución de 1,0 g (5,1 mmol) de **89** en THF anhidro (25 mL), enfriada a 0 °C bajo atmósfera de argón, se añaden 252 mg (6,1 mmol) de hidruro sódico en suspensión mineral al 60%. Se agita 30 minutos a 0 °C y a continuación se añaden 1,9 g (6,6 mmol) de cloruro de tritilo. Tras alcanzar la temperatura ambiente, se adiciona un cristal de yoduro de tetrabutilamonio y se calienta a reflujo durante 5 horas (c.c.f.). A continuación, la mezcla se enfría a temperatura ambiente, se diluye con 10 mL de agua y se extrae con cloroformo (3 x 50 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre sulfato sódico anhidro y se elimina el disolvente a presión reducida. El crudo se cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo 9,5:0,5→7:3), obteniéndose 1,9 g (86%) de **97**: p.f. 225-227 °C (acetato de etilo).



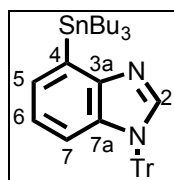
$\text{IR}$  ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1600, 1568, 1440, 1420 (Ar).

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 6,42 (d,  $J = 8,1$ , 1H,  $\text{H}_7$ ) , 6,76 (t,  $J = 8,1$ , 1H,  $\text{H}_6$ ), 7,13-7,19 (m, 6H, tritilo,  $\text{H}_5$ ), 7,36-7,28 (m, 10H, tritilo), 7,94 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ).

$^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 75,9 (tritilo), 113,6 ( $\text{C}_4$ ), 114,8 ( $\text{C}_7$ ), 123,3; 125,2 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_6$ ), 128,2; 128,3; 130,0 (tritilo), 135,3 ( $\text{C}_{7a}$ ), 140,9 (tritilo), 143,2 ( $\text{C}_{3a}$ ), 144,5 ( $\text{C}_2$ ).

#### 5.1.16. Síntesis de (1-tritilbencimidazol-4-il)-tri-butilestano **98**

A una disolución de 250 mg (0,6 mmol) de **97** en THF (15 mL) y atmósfera de argón, enfriada a  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ , se le añaden, gota a gota, 0,71 mL (1,4 mmol) de una disolución de butilitio 2 M en THF. La mezcla de reacción se agita bajo atmósfera de argón, durante 15 minutos, se añaden, gota a gota, 0,46 mL (1,7 mmol) de cloruro de tributilestano y se mantiene la agitación durante 20 horas desde  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  a temperatura ambiente. A continuación, la reacción se diluye por adición de 5 mL de hexano y se lava sucesivamente con 5 mL de agua y 5 mL de una disolución acuosa saturada de cloruro sódico. La fase orgánica se seca sobre sulfato sódico, el disolvente se elimina a presión reducida y el crudo se cromatografía en columna de gel de sílice (hexano→hexano/acetato de etilo 7:3), obteniéndose 81 mg (22%) del estannano **98** (aceite).



$\text{IR}$  ( $\text{KBr}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1597, 1585, 1493, 1483 (Ar).

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0,87(t,  $J = 7,3$ , 9H,  $3\text{CH}_3$ ), 1,17-1,30 (m, 6H,  $3\text{SnCH}_2$ ), 1,33 (sx,  $J = 7,3$ , 6H,  $3\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1,51-1,71 (m, 6H,  $3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 6,41 (dd,  $J = 8,3$ ; 1,2, 1H,  $\text{H}_7$ ), 6,86 (dd,  $J = 8,3$ ; 7,1, 1H,  $\text{H}_6$ ), 7,16-7,21 (m, 6H, tritilo,  $\text{H}_5$ ), 7,22-7,32 (m, 10H, tritilo), 7,91 (s, 1H,  $\text{H}_2$ ).

$^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 10,1 ( $3\text{SnCH}_2$ ), 13,7 ( $3\text{CH}_3$ ), 27,3 ( $3\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 29,3 ( $3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 75,3 (tritilo), 115,1 ( $\text{C}_7$ ), 121,8 ( $\text{C}_6$ ), 127,9; 128,0 (tritilo), 129,7 ( $\text{C}_5$ ), 130,1 (tritilo), 130,9 ( $\text{C}_4$ ), 133,2 ( $\text{C}_{7a}$ ), 134,6 (tritilo), 143,7 ( $\text{C}_2$ ), 150,8 ( $\text{C}_{3a}$ ).

## 5.1.17. Síntesis de 4-(2-Bromoetil)piperidinas

5.1.17.1. 4-(2-Bromoetil)-1-butilpiperidina **86**

\* 2-(4-piperidil)etanol **84**. Sobre una disolución de 3,0 g (24,0 mmol) de 2-(pirid-4-il)etanol en ácido acético glacial (26 mL), se adicionan 300 mg (1,3 mmol) de óxido de platino. La suspensión resultante se hidrogena a 50 p.s.i. y temperatura ambiente hasta la desaparición del producto de partida (c.c.f.). La mezcla de reacción se filtra sobre celita para eliminar el catalizador y el disolvente se evapora a presión reducida. El residuo resultante se disuelve en cloruro de metileno (100 mL) y se lava con carbonato potásico acuoso al 20% (50 mL). La fase orgánica se seca sobre sulfato sódico, el disolvente se elimina a presión reducida y el crudo se cromatografía en columna de gel de sílice (cloruro de metileno/metanol 9:1), obteniéndose 2,3 g (73%) de **84** (aceite) (lit.<sup>322</sup> p.e. 118-124 °C / 2 mm Hg). Los datos espectroscópicos de IR están referidos al aminoalcohol **84** en forma de sal acética.



IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3600-3200 (OH, NH), 1640 (NH).

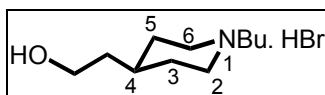
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1,12 (qd,  $J = 12,5$ ; 4,0, 2H,  $\text{H}_{3\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ax}}$ ), 1,46-1,60 (m, 3H,  $\text{H}_4$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), 1,68 (d,  $J = 12,9$ , 2H,  $\text{H}_{3\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ec}}$ ), 1,74 (sa, 1H, OH ó NH), 2,58 (td,  $J = 12,1$ ; 2,6, 2H,  $\text{H}_{2\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ax}}$ ), 3,05 (dm,  $J = 11,8$ , 2H,  $\text{H}_{2\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ec}}$ ), 3,68 (t,  $J = 6,6$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 32,8 ( $\text{C}_4$ ), 33,5 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 40,0 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), 46,7 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 60,1 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ).

\* 2-(1-butil-4-piperidil)etanol **85**. Sobre una disolución de 1,0 g (7,7 mmol) de **84** en acetonitrilo seco (8 mL), se añaden 2,0 g de *N,N*-diisopropiletilamina (15,5 mmol) y a continuación 1,0 g (7,5 mmol) de 1-bromobutano disuelto en

<sup>322</sup>Véase nota 235.

acetonitrilo (12 mL). La mezcla de reacción se refluje durante 2 horas y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo obtenido se disuelve en 50 mL de cloruro de metileno y se lava con una disolución acuosa de carbonato sódico al 20% (25 mL). La fase orgánica se seca sobre sulfato sódico, el disolvente se elimina a presión reducida y el crudo se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice (cloruro de metileno/metanol/amoniaco 1:1:0,1), aislándose 0,73 g (52%) de **85** (aceite). Los datos espectroscópicos están referidos al aminoalcohol **85** en forma de hidrobromuro.



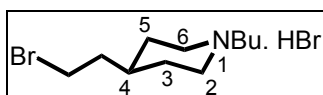
IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3400 (OH).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0,96 (t,  $J = 7,3$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,37 (sx,  $J = 7,3$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1,50-1,55 (m, 1H,  $\text{H}_4$ ), 1,61 (q,  $J = 6,3$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), 1,83-2,05 (m, 6H,  $2\text{H}_3$ ,  $2\text{H}_5$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 2,68 (m, 2H,  $\text{H}_{2\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ax}}$ ), 2,92 (dd,  $J = 8,8$ ;  $8,1$ , 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 3,52 (m, 2H,  $\text{H}_{2\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ec}}$ ), 3,72 (t,  $J = 6,2$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 13,5 ( $\text{CH}_3$ ), 20,0 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 25,5 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 28,6 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 30,3 ( $\text{C}_4$ ), 37,7 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), 52,8 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 57,2 ( $\text{NCH}_2$ ), 59,0 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ).

\* 4-(2-bromoetil)-1-butilpiperidina **86**. Una disolución de 0,48 g (2,6 mmol) de **85** en 1,1 mL de ácido bromhídrico concentrado, se refluje durante 3 horas. A continuación se concentra la mezcla de reacción por evaporación a presión reducida, se añaden 5 mL de agua, y se extrae con acetato de etilo (3 x 10 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre sulfato sódico y el disolvente se elimina a presión reducida, aislándose 0,66 g (78%) de **86** en forma de hidrobromuro. Si dicho hidrobromuro se disuelve en éter y se lava con una disolución acuosa de carbonato potásico, tras secar la fase éterea sobre sulfato sódico y eliminar el disolvente a presión reducida, en el espectro de  $^1\text{H-RMN}$  se observa una proporción 53:47 de **86** en forma de base libre y la sal de quinuclidinio resultante de la ciclación intramolecular, respectivamente. En la cromatografía en columna de gel de sílice (cloroformo) de dicha mezcla se recupera prácticamente todo el

producto en forma del isómero ciclado. Los datos espectroscópicos están referidos a **86** en forma de hidrobromuro.

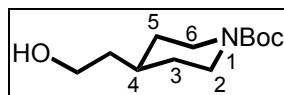


$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 0,96 (t,  $J = 7,3$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,39 (sx,  $J = 7,0$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1,58-1,61 (m, 1H,  $\text{H}_4$ ), 1,88-1,90 (m, 6H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$ ,  $\text{H}_{3\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ax}}$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 2,08-2,16 (m, 2H,  $\text{H}_{3\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ec}}$ ), 2,68-2,72 (m, 2H,  $\text{H}_{2\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ax}}$ ), 2,95-2,97 (m, 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 3,45 (t,  $J = 5,2$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{Br}$ ), 3,61 (d,  $J = 10,3$ , 2H,  $\text{H}_{2\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ec}}$ ),.

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 13,5 ( $\text{CH}_3$ ), 20,1 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 25,5 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 28,0 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 30,6 ( $\text{CH}_2\text{Br}$ ), 32,0 ( $\text{C}_4$ ), 37,5 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$ ), 52,8 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 57,5 ( $\text{NCH}_2$ ).

#### 5.1.17.2. 4-(2-Bromoetil)-1-terc-butoxicarbonilpiperidina **88**

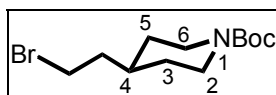
\* 2-(1-terc-butoxicarbonil-4-piperidil)etanol **87**. A una disolución de 380 mg (2,9 mmol) de **84** en 15 mL de acetonitrilo enfriada a 0 °C, se le añade, gota a gota, una disolución de 578 mg (2,6 mmol) de dicarbonato di-terc-butilo en 15 mL de acetonitrilo. La mezcla de reacción se agita 1 hora a 0 °C y, a continuación, se añaden 30 mL de una disolución acuosa al 20% de carbonato potásico y 10 mL de cloroformo y se agita toda la noche. La fase orgánica se decanta y la fase acuosa se extrae con cloroformo (2 x 30 mL). Se juntan todos los extractos orgánicos, se secan sobre sulfato sódico y el disolvente se elimina a presión reducida, aislándose 593 mg (88%) de **87**.



$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1,08 (qd,  $J = 12,7$ ; 2,4, 2H,  $\text{H}_{3\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ax}}$ ), 1,40 (s, 9H, 3 $\text{CH}_3$ ), 1,44 (q,  $J = 6,3$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), 1,49-1,54 (m, 1H,  $\text{H}_4$ ), 1,62 (d,  $J = 15$ , 2H,  $\text{H}_{3\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ec}}$ ), 2,29 (s, 1H, OH), 2,64 (ta,  $J = 12,7$ , 2H,  $\text{H}_{2\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ax}}$ ), 3,63 (t,  $J = 6,3$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 4,00 (da, 2H,  $\text{H}_{2\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ec}}$ ).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 28,3 (3 $\text{CH}_3$ ), 32,0; 32,4 ( $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 39,1 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), 43,9 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 59,8 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 79,2 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 154,8 ( $\text{COO}$ ).

\* 4-(2-bromoetil)-1-terc-butoxicarbonilpiperidina **88**. A una disolución de 593 mg (2,6 mmol) de **87** en 5 mL de acetonitrilo, enfriada a 0 °C y bajo atmósfera de argón, se le añaden 712 mg (2,7 mmol) de trifenilfosfina y una disolución de 903 mg (2,7 mmol) de tetrabromuro de carbono en 3 mL de acetonitrilo. La reacción se agita desde 0 °C a temperatura ambiente durante 48 horas y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo obtenido se disuelve en 20 mL de cloroformo y se lava con 10 mL de agua. La fase orgánica se seca sobre sulfato sódico, el disolvente se evapora a presión reducida y el crudo se cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo 4:1→1:1), obteniéndose 360 mg (47%) de **88**.



IR ( $\text{KBr}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1680 ( $\text{NCOO}$ ).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1,08 (qd,  $J = 12,7$ ; 3,2, 2H,  $\text{H}_{3\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ax}}$ ), 1,42 (s, 9H, 3 $\text{CH}_3$ ), 1,62-1,66 (m, 3H,  $\text{H}_4$ ,  $\text{H}_{3\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{5\text{ec}}$ ), 1,78 (q,  $J = 6,7$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$ ), 2,67 (ta,  $J = 12,3$ , 2H,  $\text{H}_{2\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ax}}$ ), 3,41 (t,  $J = 7,0$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{Br}$ ), 4,06-4,08 (m, 2H,  $\text{H}_{2\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ec}}$ ).

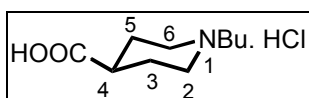
$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 28,5 (3 $\text{CH}_3$ ), 31,1; 31,4 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ,  $\text{CH}_2\text{Br}$ ), 34,4 ( $\text{C}_4$ ), 39,1 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$ ), 43,8 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 79,3 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 154,8 ( $\text{COO}$ ).

### 5.1.18. Síntesis de amidas de Weinreb alifáticas

#### 5.1.18.1. N-Metil-N-metoxi-1-butil-4-piperidinacarboxamida **95**

\* ácido 1-butil-4-piperidinacarboxílico. A una disolución de 1,76 g (44 mmol) de hidróxido sódico en agua (7 mL), se le añaden 4,7 g (22 mmol) de 1-butil-4-piperidinacarboxilato de etilo (**58**) y la mezcla de reacción se refluxe durante 15 minutos hasta la desaparición del producto de partida (c.c.f.). La disolución se

diluye mediante adición de 7 mL de agua y se deja enfriar. A continuación, se vierte sobre 5,5 mL de ácido clorhídrico concentrado a 0 °C, se concentra, y se extrae al menos 5 veces con cloroformo (20 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre sulfato sódico y el disolvente se elimina a presión reducida, obteniéndose 4,8 g (98%) del ácido 1-butil-4-piperidinacarboxílico, en forma de hidrocloreto, que se recristaliza de acetona.



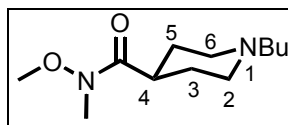
IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3450 (OH), 1750 (COO).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 0,87 (t,  $J = 7,3$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,28 (sx,  $J = 7,3$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1,60-1,71 (m, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 1,89-2,07 (m, 4H,  $2\text{H}_3$ ,  $2\text{H}_5$ ), 2,50 (m, 1H,  $\text{H}_4$ ), 2,90-2,96 (m, 4H,  $\text{H}_{2\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ax}}$ ,  $\text{NCH}_2$ ), 3,62 (m, 2H,  $\text{H}_{2\text{ec}}$ ,  $\text{H}_{6\text{ec}}$ ).

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 13,5 ( $\text{CH}_3$ ), 19,5 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 24,5 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ), 25,0 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 37,7 ( $\text{C}_4$ ), 50,5 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 55,4 ( $\text{NCH}_2$ ), 174,6 (COOH).

\* *N*-metil-*N*-metoxi-1-butil-4-piperidinacarboxamida **94**. A una disolución de 1,16 g (5,2 mmol) del hidrocloreto del ácido 1-butil-4-piperidinacarboxílico en 10 mL de cloruro de metileno seco bajo atmósfera de argón, se le añaden 1,24 g (5,7 mmol) de 1,1'-carbonildiimidazol al 75% y la disolución resultante se calienta a 40 °C durante media hora. A continuación se añaden 0,56 g (5,7 mmol) del hidrocloreto de *N,O*-dimetilhidroxilamina y 0,46 mL (5,7 mmol) de piridina. La mezcla de reacción se calienta a 50 °C durante 20-24 horas en atmósfera de argón. El disolvente se evapora a presión reducida y el aceite resultante se disuelve en 30 mL de cloroformo y se lava con 15 mL de carbonato potásico acuoso al 20% y posteriormente con agua (2 x 30 mL). La fase orgánica se seca sobre sulfato sódico, el disolvente se elimina a presión reducida, y el crudo se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo 2:8), obteniéndose 0,67 g (56%) de **94**: p.e. 105-110 °C / 1 mm Hg.





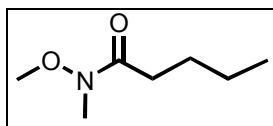
IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>): 1670 (CON).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 0,91 (t, *J* = 7,3, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,30 (sx, *J* = 7,0, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1,43-1,50 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1,71-1,89 (m, 4H, 2H<sub>3</sub>, 2H<sub>5</sub>), 1,95 (td, *J* = 11,4; 2,6, 2H, H<sub>2ax</sub>, H<sub>6ax</sub>), 2,31 (dd, *J* = 9,9; 7,7, 2H, NCH<sub>2</sub>), 2,64 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 2,98 (dt, *J* = 11,8; 2,9, 2H, H<sub>2ec</sub>, H<sub>6ec</sub>), 3,18 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 3,70 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 14,0 (CH<sub>3</sub>), 20,8 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 28,1 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>), 29,1 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 32,2 (NCH<sub>3</sub>), 38,3 (C<sub>4</sub>), 53,2 (C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>), 58,7 (NCH<sub>2</sub>), 61,5 (OCH<sub>3</sub>), 176,2 (CON).

#### 5.1.18.2. *N*-Metil-*N*-metoxipentanamida **95**

1,00 g (8,3 mmol) del cloruro de pentanoilo y 0,88 g (9,1 mmol) del hidrocloreto de *N,O*-dimetilhidroxilamina se disuelve en 20 mL de THF anhidro bajo atmósfera de argón y la disolución se enfría a 0 °C. A continuación se añaden 1,45 mL (18,3 mmol) de piridina, la mezcla de reacción se agita durante 5 horas a temperatura ambiente y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo obtenido se disuelve en 20 mL de cloroformo y se lava sucesivamente con 10 mL de disolución acuosa de ácido clorhídrico al 10% y 5 mL de agua. La fase orgánica se seca sobre sulfato sódico y el disolvente se elimina a presión reducida, aislándose 0,72 g (61%) de **95** (aceite).



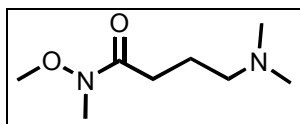
IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>): 1660 (CON).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ): 0,92 (t, *J* = 7,3, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,36 (sx, *J* = 7,7, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1,61 (qtm, *J* = 7,0, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2,41 (t, *J* = 7,3, 2H, COCH<sub>2</sub>), 3,18 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 3,68 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 13,6 ( $\text{CH}_3$ ), 22,4 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 26,6 ( $\text{COCH}_2\text{CH}_2$ ), 31,4 ( $\text{COCH}_2$ ), 32,0 ( $\text{NCH}_3$ ), 61,0 ( $\text{OCH}_3$ ), 174,7 ( $\text{CON}$ ).

#### 5.1.18.3. *N*-Metil-*N*-metoxi-4-(*N,N*-dimetilamino)butanamida **99**

A una disolución de 1,02 g (6,0 mmol) del hidrocloreto del ácido 4-(*N,N*-dimetilamino)butanoico en 12 mL de THF anhidro bajo atmósfera de argón, se le añaden 1,21 g (6,6 mmol) de 1,1'-carbonildiimidazol al 88% y la disolución resultante se refluje durante media hora. A continuación, se añaden 0,64 g (6,6 mmol) del hidrocloreto de *N,O*-dimetilhidroxilamina y 1 mL (6,6 mmol) de 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno. La mezcla de reacción se agita a reflujo durante 4 horas en atmósfera de argón. El disolvente se evapora a presión reducida y el aceite resultante se disuelve en 30 mL de cloroformo, y se lava con 15 mL de carbonato potásico acuoso al 20% y posteriormente con 15 mL de agua. La fase orgánica se seca sobre sulfato sódico, el disolvente se elimina a presión reducida, y el crudo se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice (cloroformo→cloroformo/metanol 9:1), obteniéndose 0,41 g (40%) de **99** (aceite).



$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1,77 (qt,  $J = 7,8$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 2,18 (s, 6H, 2 $\text{NCH}_3$ ), 2,27 (t,  $J = 7,5$ , 2H,  $\text{COCH}_2$ ), 2,42, (t,  $J = 7,5$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3,14 (s, 3H,  $\text{CONCH}_3$ ), 3,65 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 22,5 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 29,6 ( $\text{COCH}_2$ ), 32,3 ( $\text{CONCH}_3$ ), 45,4 (2 $\text{NCH}_3$ ), 59,1 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 61,0 ( $\text{OCH}_3$ ), 167,5 ( $\text{CON}$ ).

## 5.2. AFINIDAD RECEPTORIAL

Los experimentos de desplazamiento de radioligandos se han realizado utilizando un aparato de filtración múltiple a vacío Brandel Harvester, un homogeneizador de aspas Polytron PT-10, una centrífuga Beckman J2-HS, un pHmetro Beckman y un contador de centelleo líquido LKB WALLAC (1219 Rackbeta). Todos los ensayos se han realizado por triplicado de dos a cuatro veces.

El cálculo de la  $CI_{50}$  se ha realizado mediante regresión no lineal de la curva de desplazamiento, obtenida con el programa Prism (GraphPad), utilizando la ecuación  $\%UE = 100(1 - C^b)/(CI_{50}^b + C^b)$ , donde  $\%UE$  representa el porcentaje de unión específica del radioligando,  $b$  es la pendiente de la curva y  $C$  la concentración del compuesto objeto de estudio. La conversión de  $CI_{50}$  a  $K_i$  se ha llevado a cabo con la ecuación  $K_i = CI_{50}/(1 + L/K_D)^{323}$ , donde  $L$  es la concentración de radioligando y  $K_D$  su constante de disociación.

En todos los casos los animales de experimentación, ratas albinas machos (*Rattus norvegicus albinus*) raza Sprague-Dawley, con un peso aproximado de 200 g, se sacrifican por decapitación. Los cerebros se extirpan rápidamente y se congelan en nitrógeno líquido. El tejido se conserva a  $-80\text{ }^\circ\text{C}$  hasta el momento de su utilización.

### 5.2.1. Ensayos de afinidad por el receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub>

Se ha seguido el protocolo de Grossman *et al.*<sup>324</sup> que se describe a continuación.

El cuerpo estriado se disecciona rápidamente sobre hielo, se homogeneiza en 15 volúmenes de tampón HEPES 50 mM (pH 7,4 a  $4\text{ }^\circ\text{C}$ ) y se centrifuga a 48000g durante 10 min, a  $4\text{ }^\circ\text{C}$ . El sobrenadante se desprecia y el sedimento se resuspende en 4,5 mL (aproximadamente 1500  $\mu\text{g}$  de proteína) del mismo tampón. Fracciones de 100  $\mu\text{L}$  de la suspensión final se incuban durante 30 min a

---

<sup>323</sup>Véase nota 253.

<sup>324</sup>Véase nota 70(a).

37 °C con [<sup>3</sup>H]GR 113808 0,1 nM, en presencia o ausencia de seis concentraciones ( $10^{-12}$ - $10^{-5}$  M) del compuesto objeto de estudio en un volumen final de 1 mL de tampón de incubación. La unión inespecífica se determina con 5-HT 30 µM.

### 5.2.2. Ensayos de afinidad por el receptor serotoninérgico 5-HT<sub>3</sub>

Se ha seguido el protocolo de Wong *et al.*<sup>325</sup> que se describe a continuación.

La corteza cerebral se homogeneiza en 9 volúmenes de sacarosa 0,32 M y se centrifuga a 1000g durante 10 min, a 4 °C. El sedimento se desprecia y el sobrenadante se centrifuga a 17000g durante 20 min, a 4 °C. El sedimento se lava dos veces por resuspensión en 60 volúmenes de tampón Tris-HCl 50 mM (pH 7,4 a 25 °C) y centrifugación a 48000g durante 10 min, a 4 °C. Después del segundo lavado el sedimento resuspendido se incuba a 37 °C durante 10 min. Las membranas se centrifugan nuevamente en las mismas condiciones y el sedimento se resuspende en 2,75 volúmenes del tampón de incubación, compuesto por Tris-HCl 50 mM, pargilina 10 µM, ácido ascórbico 0,6 mM y CaCl<sub>2</sub> 5 mM (pH 7,4 a 25 °C). Fracciones de 100 µL (aproximadamente 2 mg/mL de proteína) de la suspensión final de las membranas se incuban durante 30 min a 25 °C con [<sup>3</sup>H]LY 278584 0,7 nM, en presencia o ausencia de seis concentraciones ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) del compuesto objeto de estudio en un volumen final de 2 mL de tampón de incubación. La unión inespecífica se determina con 5-HT 10 µM.

### 5.2.3. Ensayos de afinidad por el receptor serotoninérgico 5-HT<sub>2A</sub>

Se ha seguido el protocolo de Titeler *et al.*<sup>326</sup> que se describe a continuación.

La corteza cerebral se homogeneiza en 60 volúmenes de tampón frío, compuesto por Tris-HCl 50 mM, EDTA 0,5 mM y MgSO<sub>4</sub> 10 mM (pH 7,4 a 37 °C) y se centrifuga a 30000g durante 15 min, a 4 °C. El sobrenadante se desprecia y el

---

<sup>325</sup>Wong, D.T.; Robertson, D.W.; Reid, L.R. *Eur. J. Pharmacol.*, **1989**, 166, 107.

<sup>326</sup>Titeler, M.; Lyon, R.A.; Davis, K.H.; Glennon, R.A. *Biochem. Pharmacol.*, **1987**, 36, 3265.

sedimento se resuspende en el tampón y se incuba a 37 °C durante 15 min. Después de centrifugar a 30000g durante 15 min, a 4 °C, las membranas se lavan dos veces mediante resuspensión y centrifugación en las condiciones descritas. El sedimento final se resuspende en el tampón de incubación, compuesto por Tris-HCl 50 mM, EDTA 0,5 mM, MgSO<sub>4</sub> 10 mM, ácido ascórbico 0,1% y pargilina 10 μM (pH 7,4 a 37 °C). Fracciones de la suspensión final de las membranas (aproximadamente 0,5 mg de proteína) se incuban a 37 °C durante 15 min con [<sup>3</sup>H]ketanserina 0,4 nM, en presencia o ausencia del compuesto objeto de estudio (1 μM) en un volumen final de 2 mL del tampón. La unión inespecífica se determina con cinanserina 1 μM.

#### 5.2.4. Ensayos de afinidad por el receptor serotoninérgico 5-HT<sub>1A</sub>

Se ha seguido el protocolo de Clark *et al.*<sup>327</sup> que se describe a continuación.

La corteza cerebral se homogeneiza en 10 volúmenes de tampón Tris-HCl 50 mM (pH 7,7 a 25 °C) y se centrifuga a 28000g durante 15 min, a 4 °C. El sobrenadante se desprecia y el sedimento se lava dos veces mediante resuspensión y centrifugación en las condiciones descritas. Después del tercer lavado el sedimento resuspendido se incuba a 37 °C durante 10 min. Las membranas se centrifugan nuevamente y el sedimento se resuspende en 10 volúmenes de tampón Tris-HCl con MgSO<sub>4</sub> 5 mM y EDTA 0,5 mM (pH 7,4 a 25 °C). Fracciones de 100 μL de la suspensión final de las membranas (aproximadamente 5 mg/mL de proteína) se incuban durante 15 min a 37 °C con [<sup>3</sup>H]-8-OH-DPAT 0,6 nM, en presencia o ausencia del compuesto objeto de estudio (1 μM) en un volumen final de 1,1 mL de tampón Tris-HCl 50 mM (pH 7,4 a 25 °C) con clonidina 10 nM y prazosín 30 nM. La unión inespecífica se determina con 5-HT 10 μM.

En todos los casos, los ligandos radiactivos unidos se separan de los libres por filtración múltiple a vacío sobre filtros Whatman GF/B (previamente humedecidos en polietilenimina 0,05%). Los filtros se lavan una vez con 4 mL de tampón HEPES

---

<sup>327</sup>Clark, R.D.; Weinhardt, K.K.; Berger, J.; Fischer, L.E.; Brown, C.M.; MacKinnon, A.C.; Kilpatrick, A.T; Spedding, M. *J. Med. Chem.*, **1990**, 33, 633.

50 mM frío en el caso del receptor 5-HT<sub>4</sub>, y dos veces con 4 mL de tampón Tris-HCl 50 mM frío en el resto de los receptores de serotonina. A continuación, se secan durante 1 hora a 60 °C, se adicionan 4 mL de líquido de centelleo (Aquasol) y se mide la radiactividad unida a las membranas mediante espectrometría de centelleo líquido.



## 6. MÉTODOS COMPUTACIONALES

### 6.1. METODOLOGÍA CoMFA

Todos los cálculos cuánticos se han llevado a cabo con el sistema de programas GAUSSIAN-98<sup>328</sup>, usando el criterio por defecto para la convergencia. Los estudios CoMFA se llevaron a cabo con el módulo QSAR del programa SYBYL 6.5<sup>329</sup>, usando los parámetros por defecto.

#### 6.1.1. Obtención de parámetros

Las cargas atómicas puntuales de los ligandos necesarias para evaluar el campo CoMFA electrostático se calcularon a partir del potencial electrostático molecular<sup>330</sup> usando las funciones de base 6-31G\*, habitualmente empleadas en la simulación de proteínas, ácidos nucleicos y moléculas orgánicas<sup>331</sup>, y utilizadas con éxito en otros estudios CoMFA<sup>332</sup>.

Los campos de interacción intermolecular que rodean a cada molécula (campos de potencial estérico y electrostático) se calcularon en cada uno de los puntos de intersección con una red 3D regularmente espaciada de distancia interespacial 2 Å, usando un carbono sp<sup>3</sup> con un radio de van der Waals de 1,52 Å y carga +1,0 como átomo prueba, y el campo de fuerzas de TRIPOS. La región a lo largo de la cual se define dicha red, es generada automáticamente por el *software* y se extiende a lo largo del volumen de van der Waals de todas las moléculas en las direcciones X, Y, Z. El valor de energía de corte (*cut off*) de las interacciones estéricas y electrostáticas del átomo prueba con los puntos de la red ha sido establecido en  $\pm 30$  Kcal.mol<sup>-1</sup>, y las contribuciones electrostáticas se ignoraron en aquellos puntos de intersección con interacciones estéricas máximas. Para el cálculo de los potenciales electrostáticos se ha utilizado el modelo de la constante dieléctrica dependiente de la distancia.

---

<sup>328</sup>Véase nota 273.

<sup>329</sup>Véase nota 282.

<sup>330</sup>Singh, U.C.; Kollman, P.A. *J. Comput. Chem.*, **1984**, *5*, 129.

<sup>331</sup>Véase nota 173.

<sup>332</sup>Morón, J.A.; Campillo, M.; Pérez, V.; Unzeta, M.; Pardo, L. *J. Med. Chem.*, **2000**, *43*, 1684.



Las energías de solvatación,  $\Delta G_{\text{solv}}$ , de los derivados del ácido 4-bencimidazolcarboxílico se calcularon con el modelo de polarización continua<sup>333</sup>, usando las funciones de base 6-31G\* y considerando el agua como disolvente.

### 6.1.2. Tratamiento de los parámetros

La técnica estadística de validación cruzada (*cross validation*) se ha utilizado para comprobar la validez del modelo. El análisis mediante PLS<sup>334</sup> se utilizó para derivar ecuaciones lineales a partir de la matriz de parámetros moleculares resultante. Así, la validación cruzada mediante la técnica LOO permitió seleccionar el número de componentes principales óptimo para la generación del modelo final. Se dio el mismo peso a todos los descriptores de la tabla QSAR mediante el empleo de la opción *standard CoMFA scaling*. Las columnas CoMFA cuya desviación estándar era demasiado pequeña para ser incluidas en el cálculo se han eliminado mediante el uso de la opción MINIMUM SIGMA. El valor de  $\sigma$  (*column filter*) fue establecido en  $2,0 \text{ Kcal.mol}^{-1}$ , lo que permite reducir de forma importante el número de interacciones con la red y, en consecuencia, el número de variables independientes, así como acelerar el análisis y reducir la cantidad de ruido.

El modelo CoMFA final, que explica la afinidad en términos de propiedades estructurales 3D, se generó mediante análisis PLS no validado con el número de componentes sugerido en el análisis estadístico mediante la técnica de validación molécula a molécula LOO.

Para visualizar los campos CoMFA estérico y electrostático se generan los mapas de contorno mediante el producto de la desviación estándar asociada con la columna CoMFA y el coeficiente en cada punto de la red ( $\text{SD} \times \text{coeff}$ ).

---

<sup>333</sup>Véase nota 275.

<sup>334</sup>Véase nota 162.

## 6.2. MODELOS DE INTERACCIÓN LIGANDO-RECEPTOR 5-HT<sub>4</sub>

Los cálculos de mecánica cuántica se llevaron a cabo con el sistema de programas GAUSSIAN-98<sup>335</sup>. Las minimizaciones energéticas y simulaciones de dinámica molecular se realizaron con el módulo Sander de AMBER 5<sup>336</sup>, que emplea el campo de fuerzas de Cornell *et al.*<sup>337</sup>.

### 6.2.1. Modelo 3D de los dominios transmembrana del receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub>

El modelo 3D de los dominios transmembrana del receptor 5-HT<sub>4</sub> fue construido mediante técnicas de modelización molecular asistida por ordenador (mecánica y dinámica molecular), empleando como punto de partida los dominios transmembrana de la estructura de rayos X de la RHO<sup>338</sup> (anotación HELIX en el archivo 1F88 de la base de datos de proteínas de Brookhaven<sup>339</sup>-PDB-). Los residuos conservados de Asn<sup>55</sup> (número de residuo correspondiente al archivo PDB de la RHO) y Asn<sup>37</sup> (número de residuo correspondiente a la secuencia del receptor h5-HT<sub>4</sub>) (Asn<sup>1.50</sup> según la nomenclatura de Ballesteros y Weinstein<sup>340</sup>); Asp<sup>83</sup> y Asp<sup>66</sup> (Asp<sup>2.50</sup>); Arg<sup>135</sup> y Arg<sup>118</sup> (Arg<sup>3.50</sup>); Trp<sup>161</sup> y Trp<sup>146</sup> (Trp<sup>4.50</sup>); Pro<sup>215</sup> y Pro<sup>204</sup> (Pro<sup>5.50</sup>); Pro<sup>267</sup> y Pro<sup>274</sup> (Pro<sup>6.50</sup>); y Pro<sup>303</sup> y Pro<sup>309</sup> (Pro<sup>7.50</sup>) fueron empleados para la superposición de las secuencias de aminoácidos de las TMHs de la RHO y del receptor h5-HT<sub>4</sub>. Las cadenas laterales de los aminoácidos no conservados se dispusieron en la conformación habitualmente observada en la estructura de proteínas que contienen  $\alpha$ -hélices<sup>341</sup>. Todos los residuos ionizables de las hélices se consideraron sin carga a excepción del Asp<sup>2.50</sup>, Asp<sup>3.32</sup>, Asp<sup>3.49</sup>, Arg<sup>3.50</sup>, y Glu<sup>6.30</sup>. A continuación, se llevó a cabo la minimización energética (5000 pasos) del modelo molecular obtenido, calentamiento posterior de 0 a 600 K en 30 ps, equilibrado desde 30 a 150 ps a 600 K, enfriamiento a 300 K desde 150 a 210 ps, y

<sup>335</sup>Véase nota 273.

<sup>336</sup>Véase nota 288.

<sup>337</sup>Véase nota 173.

<sup>338</sup>Véase nota 195.

<sup>339</sup>Bernstein, F.C.; Koetzle, T.F.; Williams, G.J.B.; Mayer, G.F.; Brice, M.D.; Rodgers, J.R.; Kennard, O.; Shimanouchi, T.; Tasami, M. *J. Mol. Biol.*, **1977**, 112, 535.

<sup>340</sup>Véase nota 189.

<sup>341</sup>McGregor, M.J.; Islam, S.A.; Sternberg, M.J. *J. Mol. Biol.*, **1987**, 198, 295.

equilibrado de 210 a 300 ps a 300 K. Durante este proceso todos los átomos de  $C_{\alpha}$ , así como las cadenas laterales de los residuos conservados, fueron fijados en la posición original determinada por la estructura cristalina de la RHO. Este proceso permite que las cadenas laterales de los aminoácidos se dispongan arbitrariamente para adoptar una conformación energéticamente favorable. Es importante señalar que la cadena lateral de la Thr<sup>3.37</sup> adopta una conformación *g*- durante la simulación de dinámica molecular. Recientemente se ha demostrado que los residuos de Ser y Thr en esta conformación *g*- inducen un pequeño ángulo de flexión en las TMHs, debido a la formación de un enlace de hidrógeno adicional entre el átomo  $O_{\gamma}$  de la Ser o Thr y el oxígeno carbonílico del enlace peptídico *i*-3 ó *i*-4<sup>342</sup>, doblamiento que es importante en la conformación 3D final de la proteína. Así, en el modelo de receptor 5-HT<sub>4</sub> inferido a partir de la RHO se ha incorporado un ángulo de 4°<sup>342</sup> en la TMH 3, a partir de la posición ocupada por la Thr<sup>3.37</sup>. Esto supone un pequeño desplazamiento de los residuos localizados en la región más próxima al dominio extracelular de la TMH 3 en dirección a la TMH 5, lo que facilita la interacción del ligando con los residuos de Asp<sup>3.32</sup> y Ser<sup>5.43</sup>, claves en el reconocimiento de los ligandos 5-HT<sub>4</sub> según estudios de biología molecular<sup>343</sup>.

### 6.2.2. Modelos moleculares de los complejos: UCM-21195-receptor 5-HT<sub>4</sub> y UCM-26995-receptor 5HT<sub>4</sub>

El modo de reconocimiento de los ligandos se determinó inicialmente mediante optimización geométrica *ab initio* (HF) con las funciones de base 3-21G\*. El sistema modelizado consiste en los residuos Asp<sup>3.32</sup>, Ser<sup>5.43</sup> y Asn<sup>6.55</sup> (sólo se incluyen las cadenas laterales y los  $C_{\alpha}$  del esqueleto) del receptor 5-HT<sub>4</sub>, y el ligando UCM-21195 ó UCM-26995 (**27**) (en los que el grupo butilo unido al nitrógeno piperidínico se reemplaza por un grupo metilo). Todas las valencias libres se sustituyen por átomos de hidrógeno. Los  $C_{\alpha}$  de los aminoácidos considerados se mantuvieron fijos en las posiciones previamente obtenidas durante el proceso de optimización. Los modelos reducidos de los complejos ligando-receptor optimizados se emplearon como punto de partida para situar la estructura completa del ligando UCM-21195 ó UCM-26995 (**27**) en el modelo 3D

<sup>342</sup>Ballesteros, J.A.; Deupi, X.; Olivella, M.; Haaksma, E.E.J.; Pardo, L. *Biophys. J.*, **2000**, *79*, 2754.

<sup>343</sup>Véase nota 278.

construido para las TMHs del receptor 5-HT<sub>4</sub>. A continuación, se llevó a cabo la minimización energética (5000 pasos) del sistema completo.

En las simulaciones se aplicó *SHAKE bond constraints* en todos los enlaces, con un tiempo de integración de cada paso de 2 fs, y 13 Å como valor de corte para las interacciones no enlazantes. La parametrización de los ligandos UCM-21195 y UCM-26995 (**27**) se adaptó a partir del campo de fuerzas de Cornell *et al.*<sup>344</sup> usando la metodología RESP para el cálculo de cargas puntuales<sup>345</sup>.

### 6.2.3. Diseño de bencimidazolcarboxamidas **107**, **108**

La identificación de la disposición en el espacio de los residuos esenciales en el reconocimiento de las nuevas bencimidazolcarboxamidas **107**, **108** se llevó a cabo mediante optimización geométrica AM1 de dichos ligandos en el interior de las cadenas laterales de los residuos de Asp<sup>3.32</sup>, Ser<sup>5.43</sup>, Asn<sup>7.45</sup>, Tyr<sup>7.43</sup> y Thr<sup>3.36</sup> (sólo se incluyen las cadenas laterales y los C<sub>α</sub> del esqueleto). Todas las valencias libres se sustituyen por átomos de hidrógeno. La posición de los C<sub>α</sub> de los aminoácidos considerados se mantiene fija en los valores obtenidos en el modelo de los dominios transmembrana del receptor 5-HT<sub>4</sub>. Los modelos reducidos de los complejos ligando-receptor optimizados se emplearon para situar la estructura completa del ligando en el modelo 3D construido para las TMHs del receptor 5-HT<sub>4</sub>.

---

<sup>344</sup>Véase nota 173.

<sup>345</sup>Cieplak, P.; Cornell, W.D.; Bayly, C.; Kollman, P.A. *J. Comp. Chem.*, **1995**, *16*, 1357.

#### 6.2.4. Integración termodinámica

Para el cálculo del valor de  $\Delta\Delta G$  correspondiente a la sustitución isósterica del grupo amida por uno tioamida en el cabeza de serie UCM-21195 se ha aplicado la técnica de integración termodinámica, con un tiempo de simulación de 902 ps (tiempo de cada paso: 2 fs), en 41 ventanas (6 ps de equilibrado y 16 ps para la recolección de datos), con *SHAKE constraints* en los enlaces que contienen hidrógenos. Durante la simulación en el modelo de receptor se mantuvieron fijas las posiciones de los  $C_\alpha$  en las coordenadas establecidas en el modelo generado para el receptor 5-HT<sub>4</sub> a partir de la estructura 3D de la RHO, y se estableció el valor de corte para las energías no enlazantes en una distancia de 13 Å. Para la determinación de  $\Delta G_3$  se empleó una caja de dimensiones 32Å x 31Å x 31Å, que incluye 990 moléculas de agua modelo TIP3P<sup>346</sup>, y densidad de aproximadamente 1 g/cm<sup>3</sup>. Se consideró como nivel de corte en la evaluación de las interacciones agua-agua y agua-soluto una distancia de 8 Å, y no se aplicó nivel de corte alguno para las interacciones entre las moléculas de soluto.

---

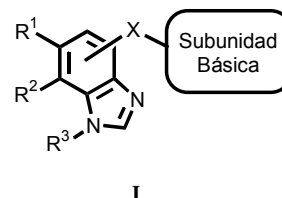
<sup>346</sup>Véase nota 186.

## 7. CONCLUSIONES

---

## 7. CONCLUSIONES

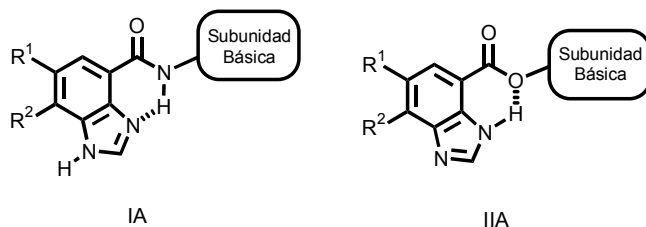
1. En el presente trabajo se ha llevado a cabo la síntesis de nuevas amidas y ésteres derivados de bencimidazol de estructura general **I**. Asimismo, se han explorado las distintas alternativas para la síntesis de las correspondientes (bencimidazol-4-il) cetonas.



2. Mediante experimentos de desplazamiento de radioligandos *in vitro*, se ha determinado la afinidad de los compuestos sintetizados por los receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>3</sub> y 5-HT<sub>4</sub>. La mayoría de los compuestos ha mostrado una elevada afinidad (en muchos casos subnanomolar) por el receptor 5-HT<sub>4</sub>, resultando inactivos en el receptor 5-HT<sub>3</sub>. Los datos de afinidad obtenidos nos han permitido validar el modelo postulado por nosotros para el farmacóforo del receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub>, en el que la distancia al nitrógeno básico y la ocupación del bolsillo hidrofóbico por un sustituyente voluminoso en dicho nitrógeno constituyen dos requerimientos estructurales fundamentales para la afinidad 5-HT<sub>4</sub> y selectividad frente al receptor 5-HT<sub>3</sub>.

3. Los ligandos **11-14** [X=4-CONH, R<sup>1</sup>=Cl, R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=H, subunidad básica=(1-alkil-4-piperidil)metilo] se han caracterizado como antagonistas potentes y selectivos del receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub> en íleon aislado de cobayo.

4. Mediante técnicas de RMN de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C, espectroscopía IR y cálculos *ab initio* se ha realizado un estudio del equilibrio tautómero en el anillo de bencimidazol de los compuestos de fórmula general **I**. Este análisis estructural nos ha permitido aproximarnos a la conformación bioactiva de esta nueva serie de ligandos 5-HT<sub>4</sub>. Los datos de afinidad por el receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub> de los análogos alquilados en el nitrógeno bencimidazólico (**104-106**) apoyan la hipótesis de las estructuras propuestas como conformación bioactiva de las 4-bencimidazolcarboxamidas y carboxilatos **I**.



5. Los estudios cuantitativos de relación estructura-afinidad (QSAR-3D) realizados mediante la metodología CoMFA han puesto de manifiesto la influencia favorable para la afinidad 5-HT<sub>4</sub> de un sustituyente electronegativo y/o voluminoso en la posición 6 del anillo de bencimidazol de los ligandos de estructura general I, mientras que la presencia de un grupo voluminoso en la posición 7 del anillo aromático disminuye la afinidad. Asimismo, el modelo CoMFA generado confirma nuevamente la importancia para una alta afinidad 5-HT<sub>4</sub> tanto de la presencia de un sustituyente voluminoso en el nitrógeno básico, como de la distancia de éste al anillo aromático.

6. Teniendo en cuenta los resultados de los experimentos de mutagénesis dirigida llevados a cabo recientemente en el receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub> humano, así como la hipótesis de conformación bioactiva previamente establecida para los ligandos I y la estructura cristalográfica 3D de la rodopsina, se ha realizado la simulación computacional del reconocimiento por un modelo 3D del receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub> de la nueva clase de ligandos de estructura general I, representados por el cabeza de serie UCM-21195 y el éster **27** (UCM-26995) [X=4-CONH y X=4-COO respectivamente, R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=H, subunidad básica=(1-butiril-4-piperidil)metilo]. El modo de unión al receptor incluye como interacciones claves: *i*) el par iónico entre el NH de la piperidina protonada del ligando y el grupo carboxilato del Asp<sup>3.32</sup>; *ii*) el enlace de hidrógeno entre el oxígeno carbonílico del ligando y el grupo hidroxilo de la Ser<sup>5.43</sup>; *iii*) el enlace de hidrógeno entre la Asn<sup>6.55</sup> y el anillo de bencimidazol del ligando, y, adicionalmente, el oxígeno del carboxilato en el éster UCM 26995 (**27**); *iv*) la interacción del residuo de Phe<sup>6.51</sup> y los hidrógenos deficientes en electrones unidos a los átomos de carbono adyacentes al nitrógeno protonado de la piperidina del ligando; y *v*) la interacción aromática  $\pi$ - $\sigma$  entre el anillo de bencimidazol del ligando y el anillo aromático de la Tyr<sup>5.38</sup>. Estos estudios nos han permitido identificar las interacciones claves en la unión de los nuevos ligandos de estructura general I al receptor 5-HT<sub>4</sub>, que se corresponden con los



tres elementos farmacofóricos propuestos por nosotros con anterioridad para antagonistas 5-HT<sub>4</sub>, así como justificar las conclusiones observadas en los estudios de relación estructura-afinidad.

7. Tomando nuestro modelo de interacción ligando-receptor como punto de partida, se han diseñado y sintetizado las nuevas 6-cloro-4-bencimidazolcarboxamidas **107** y **108** [subunidad básica=*N*-[5-(4-aminometilpiperidino)pentil]fenilacetamida y *N*-[5-(4-aminometilpiperidino)pentil]fenilmetanosulfonamida, respectivamente], en las que el grupo amida o sulfonamida del sustituyente del nitrógeno de la piperidina interacciona con la Asn<sup>7.45</sup> y la Thr<sup>3.36</sup> mediante enlaces de hidrógeno, y el anillo bencénico se dispone adecuadamente para interaccionar con la cadena lateral de la Tyr<sup>7.43</sup>. Ambos compuestos han resultado ser nuevos ligandos selectivos del receptor 5-HT<sub>4</sub> con elevada afinidad receptoral [**107**:  $K_i(5\text{-HT}_4)=0,31$  nM,  $K_i(5\text{-HT}_3)>10000$  nM; **108**:  $K_i(5\text{-HT}_4)=1,5$  nM,  $K_i(5\text{-HT}_3)>10000$  nM].

8. Finalmente, en este trabajo hemos aplicado la metodología de integración termodinámica para la predicción del efecto sobre la afinidad 5-HT<sub>4</sub> de la sustitución isótera del grupo amida en el ligando UCM-21195 por un grupo tioamida. La mayor afinidad por el receptor 5-HT<sub>4</sub> de la tioamida **112** [X=4-CSNH, R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=H, subunidad básica=(1-butil-4-piperidil)metilo] [ $K_i(\mathbf{112})=0,15$  nM vs  $K_i(\text{UCM-21195})=13,7$  nM] confirma el poder predictivo del modelo de interacción propuesto para el reconocimiento de la nueva serie de ligandos de estructura general **I** por el receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub>, observándose una excelente correlación entre el valor de  $\Delta\Delta G$  teórico (-2,1 Kcal.mol<sup>-1</sup>) y el experimental (-2,8 Kcal.mol<sup>-1</sup>). La tioamida **113** [X=4-CSNH, R<sup>1</sup>=Cl, R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=H, subunidad básica=(1-butil-4-piperidil)metilo] presenta un valor de afinidad por debajo del rango subnanomolar en el receptor 5-HT<sub>4</sub> [ $K_i(\mathbf{113})=0,081$  nM], lo cual supone, sin duda, una clara optimización de los rasgos estructurales presentes en la nueva serie de ligandos 5-HT<sub>4</sub> definida por la fórmula general **I**. Adicionalmente, ambos compuestos han resultado también potentes ligandos del receptor 5-HT<sub>4</sub> en caudado humano [ $K_i(\mathbf{112})=0,515$  nM y  $K_i(\mathbf{113})=0,099$  nM], mostrando una excelente selectividad frente a los receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>3</sub>, 5-HT<sub>2A</sub> y 5-HT<sub>1A</sub> ( $K_i>1000-10000$  nM) y se han caracterizado como antagonistas potentes y selectivos del receptor 5-HT<sub>4</sub>, tanto en caudado humano como en esófago de rata. Hasta el momento, no se han descrito en la bibliografía antagonistas 5-HT<sub>4</sub> tan potentes y con una

afinidad receptorial equiparable al excelente valor que presenta la tioamida **113**, por lo que podría ser una herramienta farmacológica muy útil en el conocimiento del receptor 5-HT<sub>4</sub>, así como un prometedor candidato para una caracterización farmacológica más amplia con el fin de poder desarrollar su posible aplicabilidad terapéutica.