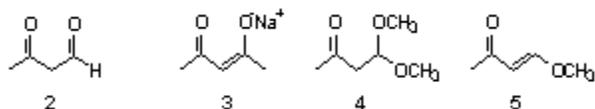


Estudios mecanísticos en la formación de indoloquinolizinas

Ramiro Quintanilla Licea*, Esaul Villarreal Platas*, Alejandro García García**

En el año de 1888 fue sintetizado por Claisen el acetilacetaldehído **2** a la forma de sal sódica⁴⁾ **3**. El acetilacetaldehído como compuesto β -dicarbonílico es en sí bastante inestable⁵⁾. A partir de entonces se han obtenido diversos derivados del acetilacetaldehído, tales como la 4,4-dimetoxi-2-butanona **4** y la 4-metoxi-3-buten-2-ona **5**, los cuales presentan una mayor estabilidad y permiten sintetizar un gran número de sistemas heterocíclicos⁶⁾.



A partir de 1960, Teuber y sus colaboradores iniciaron el estudio de las reacciones de los diferentes derivados del acetilacetaldehído (especialmente de la 4,4-dimetoxi-2-butanona **4** y la 4-metoxi-3-buten-2-ona **5**) con aminas aromáticas, biogénicas, así como con derivados indólicos.

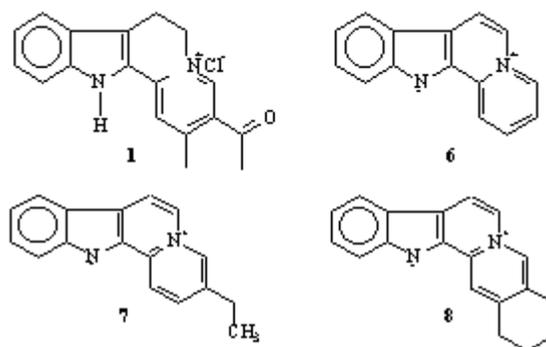
Uno de los objetivos principales de estas investigaciones era encontrar reacciones modelo que explicaran la biogénesis de alcaloides indólicos e isoquinolínicos.^{7,8}

Si bien los estudios biogénicos de otros autores demuestran en forma casi excluyente la participación del acetilacetaldehído en la biogénesis del tipo de alcaloides anteriormente mencionados⁹⁻¹¹⁾ del trabajo científico de Teuber y sus colaboradores han resultado una serie de sistemas heterocíclicos¹²⁾

que se pueden utilizar como precursores sintéticos de los alcaloides en cuestión (por ejemplo de la estricnina, yohimbina, reserpina o emetina, entre otros).¹³

Uno de los descubrimientos más sorprendentes fue la reacción entre el hidrocloreto de triptamina y el dimetilacetal del acetilacetaldehído para obtener

el cloruro de 3-acetil-7,12-dihidro-2-metil-6*H*-indolo-[2,3-*a*]-quinolizinio **1** en un 38 % de rendimiento¹⁾. Este sistema tetracíclico, con estructura de indoloquinolizina **6**, aparte del interés sintético antes mencionado ha cobrado importancia por los reportes de la actividad antitumoral mostrada por ciertos productos naturales (flavopereirina **7**, sempervirina **8**) con estructura de indoloquinolizina.^{2,3}



He aquí el interés, por tanto, de esclarecer el mecanismo de formación de **1** así como de sintetizar mediante esta reacción diversos compuestos homólogos (con sustituyentes en anillos A, C o D), para ser sometidos a pruebas de actividad farmacológica.

De acuerdo a las investigaciones mecanísticas sobre la formación de la sal de indoloquinolizinio **1**, ésta se forma a partir de la correspondiente amina biogénica, vía la aminobutenona **11** (ver adelante). Esta última sufre una reacción de ciclación del tipo Pictet-Spengler¹⁴⁾ para dar lugar a la correspondiente tetrahydro- β -carbolina **12** (en su defecto **13**), antes de proceder a la formación de la indoloquinolizina **1**.

* Centro de Investigación en Química Medicinal, Facultad de Ciencias Químicas, UANL, rquintan@ccr.dsi.uanl.mx

**Departamento de Físicoquímica, Facultad de Ciencias Químicas, UANL.

Objetivos

Síntesis, aislamiento y caracterización de posibles intermediarios en la síntesis del cloruro de 3-acetil-7,12-dihidro-2-metil-6*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizinio.

Obtención de una expresión cinética global, a partir de las ecuaciones establecidas para cada una de las etapas que involucra el mecanismo.

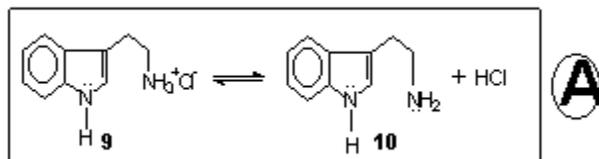
Fundamento

Cuando se sospecha de la formación de un intermediario durante la reacción para obtener un compuesto determinado, el primero puede ser sintetizado por algún método indirecto para ser sometido a las mismas condiciones de reacción y dar el mismo compuesto final. Lo anterior constituye evidencia positiva - mas no concluyente - de que dicho intermediario puede formar parte del mecanismo de la reacción¹⁵.

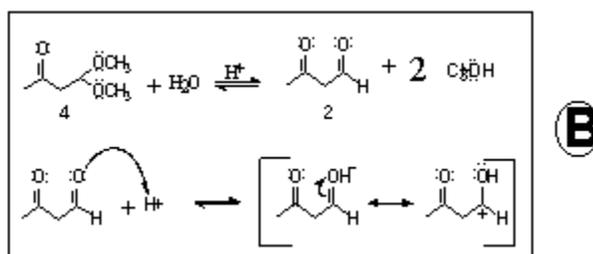
Adicionalmente, al proponer un mecanismo de reacción, se pueden establecer ecuaciones cinéticas para cada etapa de éste¹⁶; posteriormente, mediante el uso de la aproximación de estado estacionario - el cual establece que el cambio en la concentración de un intermediario con respecto al tiempo es igual a cero - es posible obtener una ecuación cinética, que esté en función de la concentración de las especies que se puedan medir experimentalmente. Enseguida se procede a la obtención de los datos de concentración en función del tiempo que aparecen en la ecuación cinética; si dichos datos guardan una buena correlación con el modelo matemático propuesto, la reacción puede llevarse a cabo mediante el mecanismo propuesto.

Mecanismo propuesto para la reacción de formación de cloruro de 3-acetil-7,12-dihidro-2-metil-6*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizinio

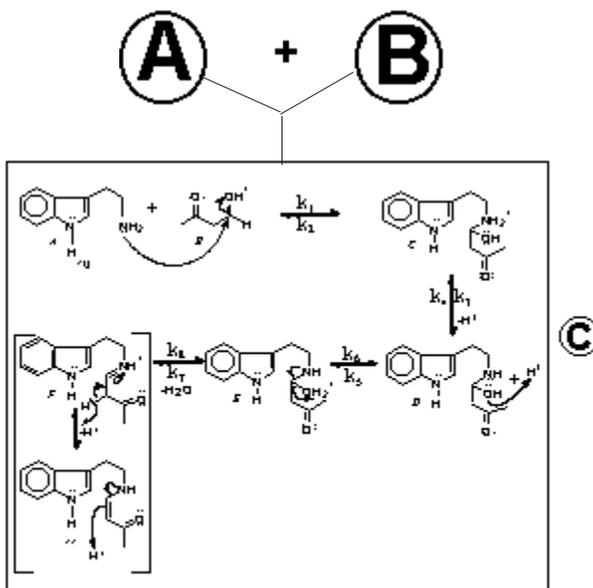
Equilibrio de formación de la triptamina



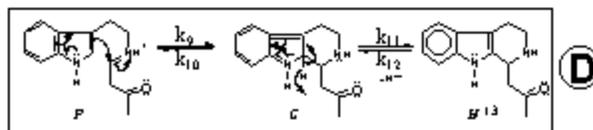
Equilibrio de formación y protonación del acetilacetaldehído



Nota: El símbolo H^+ se utilizará, por simplicidad, en sustitución de H_3O^+ , ya que esta última es la especie que realmente existe en el medio de reacción.



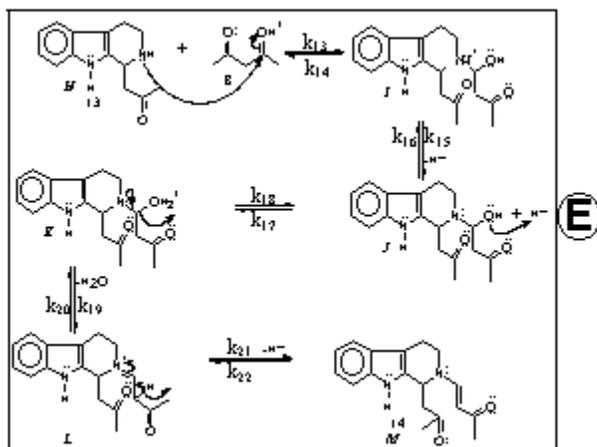
Obtención de la tetrahydro-b-carbolina 13



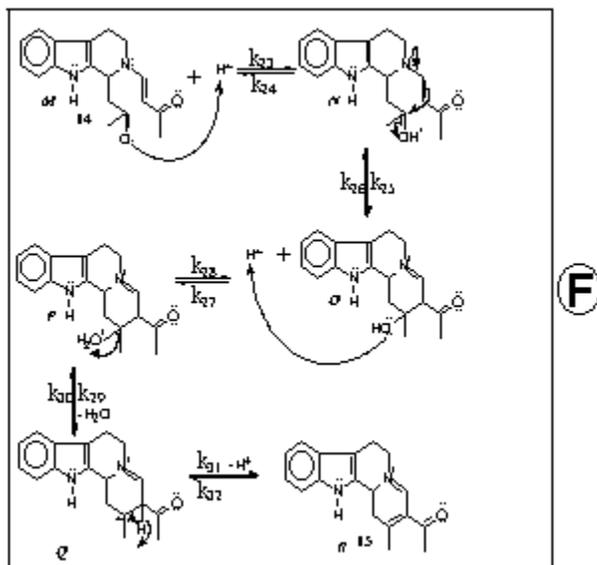
Metodología

En el presente trabajo se sintetizaron, mediante rutas alternas, algunos de los intermediarios que aparecen en el mecanismo propuesto para la formación del cloruro de 3-acetil-7,12-dihidro-2-metil-6*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizinio. También se establecieron y analizaron las ecuaciones cinéticas para cada uno

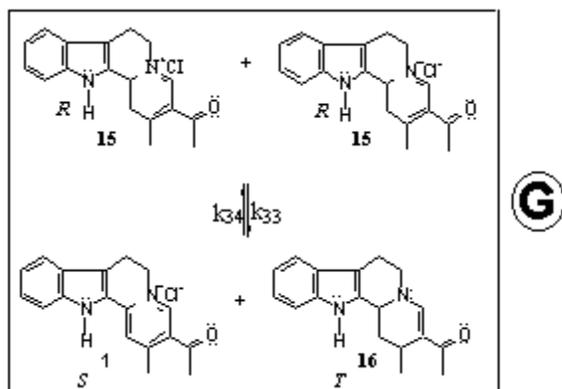
Adición de la segunda molécula de acetilacetaldéido



Obtención de la dihidropiridina 15



Obtención del cloruro de Indoloquinolizino 1 y de la tetrahidropiridina 16

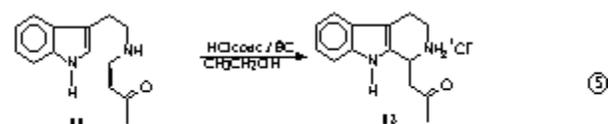
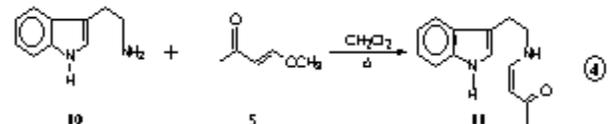
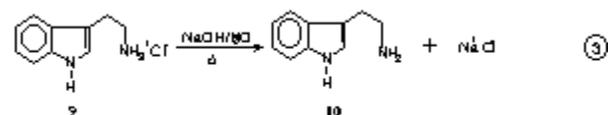
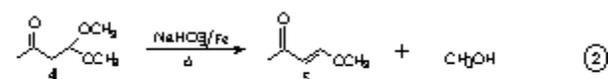
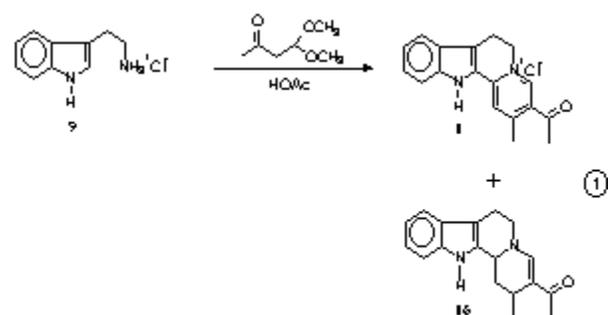


de los pasos que involucra el mecanismo de la reacción al igual que la ecuación cinética total.

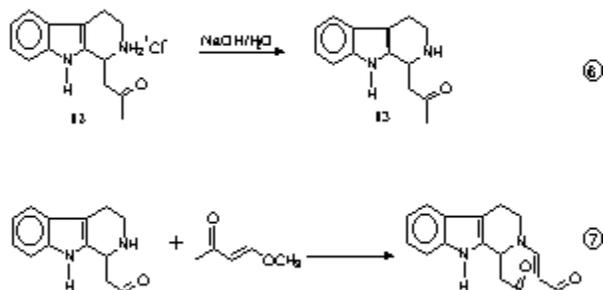
En lo que se refiere a la parte cinética, se analizó cada una de las etapas del mecanismo y se estableció una ecuación cinética para cada una de ellas, suponiendo que cada proceso es elemental; una vez que se obtuvieron las ecuaciones se aplicó el principio de estado estacionario y de las expresiones algebraicas resultantes se llegó a una ecuación cinética global, en la que intervienen la concentración de los reactivos y la del primer aducto formado por éstos.

Para establecer cada una de las ecuaciones, se representó mediante una letra mayúscula *cursiva* a cada uno de las especies intermedias; dicha letra se encuentra localizada bajo la estructura del aducto en cuestión.

Esquema sintético



Discusión del mecanismo



El mecanismo propuesto para la formación del cloruro de 3-acetil-7,12-dihidro-2-metil-6*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizinio tiene como primer paso la formación de triptamina *10* a partir del hidrocloreto de triptamina *9* (etapa A), así como también, la hidrólisis del dimetilacetal del acetilacetaldehído *4* para formar el acetilacetaldehído *2* y dos moléculas de metanol (etapa B).

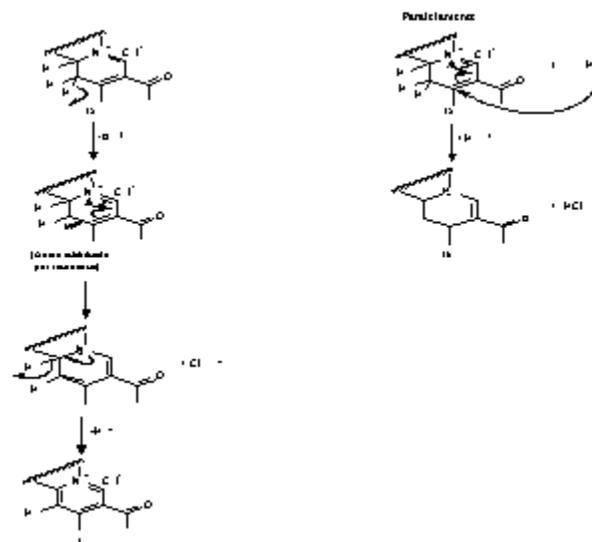
Aunque el primer proceso está muy desfavorecido, dado que las condiciones del medio de reacción son ácidas, se debe tener en mente que en solución se establece el equilibrio ácido-base, el cual se dará aunque sea en una pequeña extensión. Además, la formación de la triptamina se ve favorecida por el hecho de que al formarse una molécula de ésta, reacciona con una de acetilacetaldehído previamente protonado para dar lugar al primer paso del mecanismo formal de la reacción de formación del cloruro de indoloquinolizinio *1*. En lo que se refiere a la hidrólisis de la dimetoxibutanona *4*, ésta se encuentra favorecida por las condiciones ácidas del medio y la presencia de agua en el solvente.

Una vez que ocurre la adición nucleofílica sobre el acetilacetaldehído, el aducto formado sigue el curso normal para la formación de la imina correspondiente, la cual a su vez, está en equilibrio tautomérico con la correspondiente enamina *11* (etapa C) que fue el primero de los intermediarios aislados y caracterizados.

Enseguida, dadas las condiciones ácidas del medio de reacción, la imina se protona y experimenta la reacción del tipo Pictet-Spengler (reacción de ciclación) para formar el segundo intermediario, la tetrahidro-*b*-carbolina *13* (etapa D). Posteriormente, mediante la adición de una segunda molécula de acetilacetaldehído a la tetrahidro-*b*-carbolina y por un mecanismo similar al de la formación del primer intermediario se obtiene el tercero de los in-

termediarios propuestos *14* (etapa E). Nuevamente, dadas las condiciones ácidas del medio este último intermediario sufre una reacción de ciclación para obtener el cloruro de dihydropyridina *15*, el cual, mediante una reacción de autooxidación-reducción (desproporción) da como resultado una molécula de cloruro de indoloquinolizinio y otra de tetrahidropyridina *16* (etapa G). En este último paso se supone la salida de un protón y de un ión hidruro, en pasos consecutivos, de una misma molécula del cloruro de dihydropyridina *15*, para que ésta forme el cloruro de indoloquinolizinio *1*; y, paralelamente, una segunda molécula de *15* sufre la adición del ión hidruro desprendido en la primera molécula para formar la tetrahidropyridina *16*.

Mecanismo de autooxidación-reducción



Planteamiento de las ecuaciones cinéticas aplicación del principio de aproximación de estado estacionario¹⁶

Se plantearon ecuaciones cinéticas para cada uno de los procesos elementales (pasos del mecanismo):

$$dS/dt = k_{33} [R]^2 - k_{34} [S] [T] \quad \text{Ec'n 1}$$

$$dR/dt = k_{34} [S] [T] + k_{31} [Q]^2 - k_{33} [R]^2 - k_{32} [R]^2 [H^+]^2$$

Ec'n 2

$$dQ/dt = k_{32} \frac{[R]^2 [H^+]^2}{k_{30} [Q]^2 [H_2O]^2} + k_{29} [P]^2 - k_{31} \frac{[Q]^2}{Ec'n 3}$$

$$dP/dt = k_{30} \frac{[Q]^2 [H_2O]^2}{[P]^2} + k_{27} [O]^2 [H^+]^2 - k_{29} [P]^2 - Ec'n 4$$

$$dO/dt = k_{28} [P]^2 + k_{25} [N]^2 - k_{27} [O]^2 [H^+]^2 - k_{26} [O]^2 Ec'n 5$$

$$dN/dt = k_{26} [O]^2 + k_{23} [M]^2 [H^+]^2 - k_{25} [N]^2 - k_{24} [N]^2 Ec'n 6$$

$$dM/dt = k_{24} \frac{[N]^2}{[M]^2 [H^+]^2} + k_{21} [L]^2 - k_{23} [M]^2 [H^+]^2 - Ec'n 7$$

$$dL/dt = k_{22} \frac{[M]^2 [H^+]^2}{[L]^2 [H_2O]^2} + k_{19} [K]^2 - k_{21} [L]^2 - Ec'n 8$$

$$dK/dt = k_{20} \frac{[L]^2 [H_2O]^2}{[K]^2} + k_{17} [J]^2 [H^+]^2 - k_{19} [K]^2 - Ec'n 9$$

$$dJ/dt = k_{18} \frac{[K]^2}{[J]^2 [H^+]^2} + k_{15} [I]^2 - k_{17} [J]^2 [H^+]^2 - Ec'n 10$$

$$dI/dt = k_{16} [J]^2 [H^+]^2 + k_{13} [H]^2 [B]^2 - k_{15} [I]^2 - k_{14} [I]^2 Ec'n 11$$

$$dH/dt = k_{14} \frac{[I]^2}{[H]^2 [H^+]^2} + k_{11} [G]^2 - k_{13} [H]^2 [B]^2 - Ec'n 12$$

$$dG/dt = k_{12} [H]^2 [H^+]^2 + k_9 [F]^2 - k_{11} [G]^2 - k_{10} [G]^2 Ec'n 13$$

$$dF/dt = k_{10} [G]^2 + k_7 [E]^2 - k_9 [F]^2 - k_8 [F]^2 [H_2O]^2 Ec'n 14$$

$$dE/dt = k_8 [F]^2 [H_2O]^2 + k_5 [D]^2 [H^+]^2 - k_7 [E]^2 - k_6 [E]^2 Ec'n 15$$

$$dD/dt = k_6 [E]^2 + k_3 [C]^2 - k_5 [D]^2 [H^+]^2 - k_4 [D]^2 [H^+]^2 Ec'n 16$$

$$dC/dt = k_4 [D]^2 [H^+]^2 + k_1 [A]^2 [B]^2 - k_3 [C]^2 - k_2 [C]^2 Ec'n 17$$

No obstante el gran número de expresiones cinéticas requeridas para describir de manera completa el sistema reaccionante de interés, es posible

simplificar esto empleando el principio de estado estacionario para cada una de las especies intermedias, obteniéndose la siguiente expresión de velocidad global:

$$dS/dt = k_1 [A]^2 [B]^2 - k_2 [C]^2$$

Ecuación Cinética Global

Para el planteamiento de cada una de las ecuaciones se partió del hecho de que todos los pasos del mecanismo son reversibles (desde el punto de vista cinético) ya que como se mencionó antes, no se dispone de información experimental que permita despreciar la magnitud del proceso inverso de algunos de los pasos del mecanismo. También se tomaron en cuenta todos los pasos del mecanismo formal debido a que no se conocen los valores relativos de las constantes de velocidad (k_1 , k_2 , k_3 , etc.), que pudieran permitir la simplificación del tratamiento matemático.

La ecuación cinética global propuesta resulta prometedora por la sencillez de la misma, lo cual nos hace considerar que, a pesar de la complejidad del mecanismo de reacción, resultará más simple de lo esperado el poder efectuar el estudio cinético correspondiente que permitirá confirmar este mecanismo.

Conclusiones

- Los datos espectrales (IR, RMN) confirman la estructura esperada para cada uno de los compuestos sintetizados.
- Para el caso de la enamina *11*, los datos espectroscópicos demuestran que se forma inicialmente el isómero *cis* en una mayor proporción, el cual sufre una isomerización lenta hacia el isómero *trans*.
- La desaparición de las señales debidas al protón a al indol y de los hidrógenos olefinicos en el espectro de 1H -RMN demuestran que en la enamina *11* se llevó a cabo la reacción de ciclización para obtener la correspondiente tetrahidro- β -carbolina a la forma de hidrocloreto (*12*).
- No obstante que el espectro de 1H -RMN de la tetrahidro- β -carbolina a la forma de amina libre (*13*) tiene pocas diferencias con respecto al del hidrocloreto correspondiente, la obtención de la primera se confirma ya que los resultados de la prueba de Beilstein fueron negativos (ausencia

de Cl), así como también por la desaparición en el espectro de IR de las bandas debidas a la tensión del enlace N-H de la amina protonada.

Resumen

Las indoloquinolizinas¹ son compuestos tetracíclicos relacionados con los alcaloides indólicos, los cuales pueden aislarse a la forma de sales o de compuestos zwitteriónicos. El interés en estudiar este tipo de compuestos radica en los reportes de la actividad antitumoral^{2,3} mostrada por cierto tipo de productos naturales con estructura de indoloquinolizina. El presente trabajo tiene como finalidad el reunir evidencia experimental sobre el mecanismo de la reacción descubierta por Teuber y sus colaboradores para obtener el cloruro de 3-acetil-7,12-dihidro-2-metil-6*H*-indolo[2,3-*a*]-quinolizinio 1, una de las pocas reacciones existentes hasta ahora para obtener directamente el sistema tetracíclico de la indoloquinolizina. Para tal efecto se procedió a la síntesis y caracterización de algunos de los intermediarios que se postulan en el mecanismo de formación de 1. La caracterización de los compuestos se llevó a cabo utilizando espectroscopía de infrarrojo y de Resonancia Magnética Nuclear (¹H, ¹³C, COSY, DEPT).

Palabras claves: Indoloquinolizinas, Actividad antitumoral, Productos naturales, Alcaloides indólicos, Mecanismo de reacción.

Abstract

The indoloquinolizines¹ are tetracyclic compounds related with indole alkaloids, which are isolated as salts or zwitterionic compounds. The interest in these compounds initiated with the discovery of antitumor activity^{2,3} of many natural products with indoloquinolizine structure. This work was carried out in order to study the mechanism of Teuber's reaction which yields 3-acetyl-7,12-dihydro-2-methyl-6*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizinium chloride 1, as one of rare reactions to obtain directly the tetracyclic system of indoloquinolizine. For this purpose some intermediates postulated in the formation's mechanism of 1 were synthesized. The identification of these intermediates were achieved with (IR) and Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy (¹H, ¹³C, COSY, DEPT).

Keywords: Indoloquinolizines, Antitumor activity, Natural products, Indole alkaloids, Reaction's mechanism.

Agradecimientos

Agradecemos al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT, México) por el apoyo con el proyecto 1139P-A9507.

Agradecemos también a la Universidad Autónoma de Nuevo León por el apoyo con el proyecto PAICYT CA058-98.

Asimismo se agradece al Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear dirigido por la Dra. Nohemí Waksman de Torres por la realización de los espectros. Dicho equipo se instaló con el apoyo de CONACYT según convenio F512-N9306.

Referencias

1. H.-J. Teuber, Ramiro Quintanilla-Licea, T. Raabe; Indolo[2,3-*a*]-chinolizine und eine einfache Synthese von Flavoserpentin; Liebigs Ann. Chem. 1988, 1111-1120.
2. M. Beljanski, M. S. Beljanski; Selective inhibition of in vitro Synthesis of Cancer DNA by Alkaloids of b-Carboline Class; Expl. Cell Biol. 50 (1982) 79-87.
3. M. Beljanski, M. S. Beljanski; Three Alkaloids as Selective Destroyers of Cancer Cells in Mice; Oncology 43 (1986) 198-203.
4. L. Claisen, N. Stylos; Chem. Ber. 21 (1888) 1144-1149.
5. W. Franke, R. Kraft; Angew. Chem. 67 (1955) 395-399.
6. W. Franke, R. Kraft, K. Kosswig; Neuere Methoden der Präparativen Organischen Chemie, Bd. II, Verlag Chemie, 1960, Weinheim; P 1-19.
7. G. A. Cordell, J. E. Saxton, M. Shamma, G. F. Smith en "Dictionary of Alkaloids" (I. W. Southon and J. Buckingham eds.), Chapman and Hall, London and New York, 1989.
8. P. G. Waterman; Alkaloids and Sulphur Compounds en "Methods in Plant Biochemistry" (P. M. Dey and J. B. Harborne eds.), Vol 8, Academic Press, London, 1993.
9. A. I. Scott; Biosynthesis of Indole Alkaloids en "Alkaloids", Vol. 9, MTP International Review of Sciences, Serie one, 1973.

10. G. A. Cordell; *Lloydia* 37 (1974) 219-298.
11. J. P. Kutney; *Natural Product Reports* 7 (1990) 85-103.
12. A. R. Katritzky; *Journal of Heterocyclic Chemistry* 31 (1994) 569-602.
13. E. W. Baxter; P.S. Mariano; Recent Advances in The Synthesis of Yohimbine Alkaloids in "Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives" (W. Pelletier ed.), Vol. 8, Springer Verlag, Berlin, 1992.
14. Richard J. Sundberg; *The Chemistry of Indoles*; Academic Press; New York and London; 1970; pags. 236-238.
15. Jerry March; *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*; Fourth Edition; John Wiley and Sons, New York, 1992; pags. 205-231.
16. Octave Levenspiel; *Ingeniería de las Reacciones Químicas*; Editorial Reverté; México, 1995; pags. 16-23, 33-36.