

Alcaloides de la iboga: modificaciones estructurales y evaluación de su potencial antidepresivo

Q.F. Bruno Rodrigo González Núñez

La yema de un huevo toca un lecho de ceniza Poco a poco se endurece Pues el centro pierde su agua Su color es ahora, oscuro como una pupila Indistinguible de un trozo de basalto

La masa pétrea toca el vino Persiguiendo el fondo se rompe Los mil fragmentos se achican cada vez más La tensión se libera Una fase límpida y homogénea Una solución

"...

Quédate hoy conmigo, vive hoy conmigo un día y una noche y te mostraré el origen de todos los poemas. Tendrás entonces todo cuanto hay de grande en la Tierra y el Sol, (existen además millones de soles más allá) y nada tomarás ya nunca de segunda ni de tercera mano, ni mirarás más por los ojos de los muertos, ni te nutrirás con el espectro de los libros. Tampoco contemplarás el mundo con mis ojos ni tomarás las cosas de mis manos. Aprenderás a escuchar en todas direcciones y dejarás que la esencia del Universo se filtre por tu ser."

> Walt Whitman Leaves of Grass



Alcaloides de la iboga: modificaciones estructurales y

evaluación de su potencial antidepresivo

Q.F. Bruno Rodrigo González Núñez

Tesis de Doctorado

Presentada como uno de los requisitos para el título de

Doctor en Química

Programa de Posgrado en Química de la Facultad de Química

Universidad de la República

Programa de Desarrollo de Ciencias Básicas

Marzo de 2024

Alcaloides de la iboga: modificaciones estructurales y

evaluación de su potencial antidepresivo

Q.F. Bruno Rodrigo González Núñez

Tesis de Doctorado

Presentada como uno de los requisitos para el título de

Doctor en Química

Universidad de la República

Programa de Desarrollo de Ciencias Básicas

Marzo de 2024

Tribunal:

Dra. Margarita Brovetto

Dra. Graciela Mahler

Dr. Ronaldo Aloise Pilli

Dr. Ignacio Carrera, (Director de Tesis) Dr. Gustavo Seoane (Director de Tesis)

Agradecimientos

Hace poquito, el día que cumplí 31, también se cumplieron 10 años de que planté bandera en el laboratorio de síntesis orgánica (LSO). Este laboratorio, con pisos de damero y caños verdes, cambió mi rumbo en muchísimos sentidos; y lo sigue haciendo hasta el día de hoy. Son infinitas las historias que ha presenciado la campana, unos tantos miles de reacciones, y unas cuantas limpiezas con música alta, para ir pasando el trapo por los matraces sin miedo. De alguna forma, el polvo nunca se va del todo en el LSO; y tampoco se van del todos los que lo habitan y guardan un pedacito de su ser entre algodones en los cajones celestes.

Me tocó vivir muchos LSO, a veces repleto, a veces vacío como el mismo Sahara, y Peixoto en un oasis del desierto haciendo una columna un viernes de tarde. También me puse el bigote y fui grignardo por varios años; cientos, sino miles de pasadas ida y vuelta por ese pasillo rumbo al rotavapor. También soy akiro, donde heredé el lugar de mi hermana mayor, bien sucuchadito allá en el fondo, que lindo.

En el LSO también encontré el amor, más de una vez.

Por todo esto y más, mucho mucho más, quiero agradecerles a todos los que se cruzaron en este camino, mí camino, por el tan querido primer piso.

А mis tutores primero, sin ellos estaría deriva. porque а la Nacho: no existen palabras justas para expresar este afecto; tú fuiste quien abrió la puerta de ese LSO para mí, y por ello estaré siempre eternamente agradecido. En el laboratorio me enseñaste la belleza de la síntesis orgánica, y fuera del laboratorio, cómo crecer un poquito más hacia adentro. Seo, que tú estés presente siempre hace la diferencia, es una seguridad de otra índole, un tanto inexplicable. Admiro tu basto conocimiento, agudeza visual y las charlas eternas sobre temas de todo tipo, que tipo interesante.

A Mati, mi compañero siempre. ¿Cómo de aquel compañero de analítica....? El LSO catalizó entre nosotros un montón de cosas. Solo hace falta un Amigo invisible, un día lluvioso y una carpa inundable ♥. Que nuestro humor transmute cada día es de las cosas que me hacen más feliz.

A mi hermana, la Pichu, la mejor de todas, la de la música, la del baile, la de la filosofía y la del serenito. Mi vida no sería, si no es con vos. Un triunfo tu ser. Que agradecido que estoy con Johannes y con el hogar que construyeron, que tanto me cuidó este último tiempo.

A mis compañeras de todos los días: ♥ Caro, Grysi y Lu ♥, horas de charla, música, química y chisme, mucho chisme. Si es con un chivito de Nahueluchi de por medio, mucho mejor. ¡Y vuelve JuanMa! el Golden-boy, un crack de la ciencia, y un tipazo.

A la segunda generación, la anterior, que siempre fue para mí una fuente de inspiración: Nía, Gonza y Vicui, los akiros de corazón, siempre aprendí muchísimo de ustedes, no solo a elegir el tamaño de la columna por cómo están las manchas en la TLC, sino a reír, amar y ver lo bueno siempre (respectivamente). Viro y Pipo, en mi opinión los grignardos más grignardos que conozco, gente buena. AP eterno comandante del LSO desde su trono administrador de la galaxia (FM).

Pero en esta generación mediana, tengo que hacer un parate: Mari y Agus son mis hermanas académicas, y también del corazón ♥. Que lindo se pasa con ustedes, Nico, Cesar y la Ona; ¡viva la familia! Por más tortilla, dados y Santa Teresa, salú.

A los chicos grandes de las oficinas, porque con todos comparto y vivo un hermoso grupo humano. Quique; Marie (como te vamos a extrañar ♥); Valeria, que fue mi reencuentro con la química orgánica en la universidad, admiro tu didáctica; Game, siempre cuidándonos y organizándolo todo; David y sus charlas superinteresantes; y Marga, la tía Marga, la de la media empanada ♥.

Gaby ♥ Clau, una sola entidad de mi LSO de antaño, meriendas eternas. Maxi Friss, Juan, Maca, Pieri y en especial a Colobbio y Pao con los que compartí un lindo período de Grignard.

Dicen que en algún punto la serpiente se muerde la cola, y una vez cada mil años un orgánico se hace amigo de un inorgánico. Mi inorgánico predilecto se llama Santiago Rostan y tiene el corazón ♥ grande como un terbutilo. A Nachi, (la Larva Magna) un ejemplo de amigo que comparte bien desde adentro, y es genuino siempre, a cada momento.

A los compañeros de farmacia, siempre cerca, con los que pasé un muy lindo BrazMedChem; Cami, Franco, Naty, Martin, Guille, Chelo, Graciela, Laurita y Gloria.

A mis compañeros de imaginario9, con los que aprendí otros ojos sobre las sustancias psicoactivas, el diploma interdisciplinario y la reducción de daños abrió mi cabeza. Rocío, Emilia, Flor, Lulu, Rodrigo, Nico, Matilde, y tantos otros.

A mis amigos, en especial ♥Mage♥ con la que compartimos una familia a una cuadra de distancia (te voy a extrañar mil pannarabit), somos una simbiosis. A Mauri y a Ine que siempre están cerca sea donde estén.

A mi familia, a papá por ser el andamio constante y la paciencia que se necesita para ver crecer el roble, y a mamá, por la pólvora, la chispa, los besos y el sentimiento.

A la familia González, por mostrarme como se trabaja en grupo, una fuerza de todos por todos increíble. ¡Qué seguridad! Una especial mención a Paysandú, la piedra laja, el dulce de guayaba y los atardeceres sobre el río Uruguay.

A mi abuela Isabel, la reina de la química, la que cocinó toda la vida, y me cautivó con su transformación de la materia.

Agradecimientos institucionales:

Facultad de Química- Universidad de la República.

PEDECIBA (Programa para el Desarrollo de las Ciencias Básicas).

ANII (Agencia Nacional de Investigación e Innovación).

CSIC (UdelaR).

CAP (Comisión Académica de Posgrado).

Laboratorio de Biocatálisis y Biotransformaciones (LBB), Facultad de Química, UdelaR.

Al grupo del Dr. Dalibor Sames y la Universidad de Columbia, NY, Estados Unidos.

A Vero, Horacio y Guille por los RMN.

A Leopoldo por los rayos-X.

Alcaloides de la iboga: modificaciones estructurales y

evaluación de su potencial antidepresivo

Q.F. Bruno Rodrigo González Núñez

Tesis de Doctorado

Programa de Posgrado en Química de la Facultad de Química

Universidad de la República

Marzo de 2024

DIRECTORES: Dr. Ignacio Carrera,¹ Dr. Gustavo Seoane.¹

¹Departamenteo de Química Orgánica, Facultad de Química - UdelaR

La ibogaina es un alcaloide monoterpeno indólico (MIA), clasificado como un psicodélico del tipo oneirogénico (generador de sueños). Es el constituyente mayoritario del extracto de la corteza de raíz de *Tabernanthe iboga*, un arbusto de la región de África central, donde es utilizado de forma sacramental por la población bwiti hace al menos ciento cincuenta años.

El interés moderno que justifica el amplio estudio sobre la neurofarmacología de este alcaloide, esta fundado en la descripción de su actividad antiadictiva. Estudios observacionales indican que: tras una única administración de altas dosis de ibogaina, individuos que padecen trastorno por uso problemático de sustancias (principalmente a opioides), presentan una marcada reducción del síndrome de abstinencia (*withdrawal*) y conducta de búsqueda de sustancia (craving). La investigación clínica se limitó a estudios de fase 1 y 2, mostrando eficacia, pero advirtiendo problemas de seguridad. Existen antecedentes que muestran que ibogaína puede promover la aparición de arritmias ventriculares y eventuales fatalidades, que han sido atribuidas a la inhibición del canal de potasio *hERG*, responsable de la repolarización de las células del miocardio.

Existe una amplia discusión en la literatura entorno a la elucidación del mecanismo de acción de ibogaina; no se ha definido un receptor del sistema nervioso central único que explique su actividad biológica. Se hipotetiza un mecanismo de acción polifarmacológico, ya que el alcaloide presenta actividad micromolar por receptores nicotínicos, opioides, glutamatérgicos, sigma y transportadores de monoaminas. Además, al igual que otros psicodélicos, ibogaina genera eventos de plasticidad neuronal mediados el aumento en la expresión de factores neurotróficos, lo que podría explicar sus efectos duraderos, incluso luego de su eliminación del organismo.

En modelos de comportamiento animal para depresión mayor, se describió recientemente, un efecto tipo-antidepresivo de ibogaina, que resulta más potente y rápido que aquel observado para fluoxetina, un conocido antidepresivo de amplia distribución en la clínica. Este hecho, sumado a la conocida capacidad de ibogaína de inhibir el transportador recaptador de serotonina humano (*hSERT*) de forma no competitiva, sugieren que los efectos antiadictivos de la ibogaína podrían estar relacionados a un fuerte efecto antidepresivo inducido por la sustancia. Esto inspiró la propuesta del proyecto de química medicinal abordado en la siguiente tesis doctoral, donde nos propusimos basarnos en la estructura de la ibogaína para la preparación de nuevas moléculas con potencial antidepresivo

Para ello, llevamos a cabo la obtención de análogos de ibogaina mediante una estrategia semisintética, lo que demandó la optimización y escalado de un proceso de extracción de alcaloides de la iboga desde la corteza de raíz de *Voacanga africana* (*Apocynaceae*); la evaluación in vitro de los compuestos sintetizados como inhibidores de *hSERT* y otros transportadores de monoaminas; y por último, la evaluación in vitro de la actividad inhibitoria del canal *hERG*, para los análogos más prometedores.

Iboga Alkaloids: Structural modifications and evaluation of their antidepressant potential

Q.F. Bruno Rodrigo González Núñez

Doctoral Thesis

Graduate Program in Chemistry, Facultad de Química

Universidad de la República

March 2024

ADVISORS: Dr. Ignacio Carrera, Dr. Gustavo Seoane.

Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry - UdelaR

Ibogaine is an indole monoterpene alkaloid (MIA), classified as a oneirogenic psychedelic (dream generator). It is the major constituent of the extract from the root bark of *Tabernanthe iboga*, a shrub native to the central African region, where it has been sacramentally used by the Bwiti population for at least one hundred and fifty years. The modern interest justifying the extensive study of the neuropharmacology of this alkaloid is founded on its description of anti-addictive activity. Observational studies indicate that following a single administration of high doses of ibogaine, individuals suffering from substance use disorder (primarily opioids) experience a marked reduction in withdrawal syndrome and substance-seeking behavior. Clinical research has been limited to phase 1 and 2 studies, showing efficacy but warning of safety issues. There is evidence showing that ibogaine may promote the onset of ventricular arrhythmias and eventual fatalities, which have been attributed to the inhibition of the hERG potassium channel, responsible for myocardial cell repolarization.

There is extensive discussion in the literature regarding the elucidation of the mechanism of action of ibogaine; a single central nervous system receptor explaining its biological activity has not been defined. A polypharmacological mechanism of action is hypothesized, as the alkaloid exhibits micromolar activity on nicotinic, opioid, glutamatergic,

sigma receptors, and monoamine transporters. Additionally, like other psychedelics, ibogaine induces neuronal plasticity events mediated by increased expression of neurotrophic factors, which could explain its lasting effects, even after elimination from the body.

In animal behavior models for major depression, a type-antidepressant effect of ibogaine was recently described, which is more potent and faster-acting than that observed for fluoxetine, a well-known antidepressant widely used in clinical practice. This, coupled with ibogaine's known ability to inhibit the human serotonin reuptake transporter (hSERT) non-competitively, suggests that the anti-addictive effects of ibogaine may be related to a strong antidepressant effect induced by the substance. This inspired the proposal of the medicinal chemistry project addressed in the following doctoral thesis, where we aimed to base ourselves on the structure of ibogaine for the preparation of new molecules with antidepressant potential.

To achieve this, we carried out the obtaining of ibogaine analogs through a semisynthetic strategy, which required the optimization and scaling of a process for extracting iboga alkaloids from the bark of the root of *Voacanga africana* (Apocynaceae); the in vitro evaluation of the synthesized compounds as inhibitors of hSERT and other monoamine transporters; and finally, the in vitro evaluation of the inhibitory activity of the hERG channel, for the most promising analogs.

Indice

1. Introducción		
2. Antecedentes		6
2.1 Ibogaína		6
2.1.1 Origen e historia		6
2.1.2 Evidencia preclínica y	v clínica de sus efectos antiadictivos	8
2.1.3 Farmacología y meca	nismo de acción	
2.1.4 Toxicidad		
2.2 Depresión e hipótesis mon	oaminérgica	
2.2.1 Bases neurobiológicas	s de la depresión	
2.2.2 Ibogaína y SERT		
2.3 Desarrollos de química me	dicinal	
2.3.1 Análogos de estructur	a completa	
2.3.2 Derivados simplificado	DS	
2.3 Desarrollos de química me	dicinal	
2.3.1 Análogos de estructur	a completa	
2.3.2 Derivados simplificado	DS	
2.4 Química de los alcaloides o	de la iboga	53
2.4.1 Modificaciones estruct	turales sobre el producto natural	55
2.4.2 Fuentes naturales de a	alcaloides de la iboga y origen biosintético	59
3. Objetivos y estrategia metodo	lógica	
4. Resultados y discusión		
4.1 Obtención de alcaloides de	e la corteza de raíz de <i>Voacanga africana</i>	80
4.1.1 Optimización de la ex	tracción a escala de laboratorio	
4.1.2 Ruptura de alcaloides	s bis-indólicos	
4.2 Modificaciones estructural	es del esqueleto de alcaloides de la iboga	
4.2.1 Modificaciones en N1	, C10 y C16	
4.2.2 Reacciones de oxidac	ión en C3, N4 y C7	
4.2.3 Análogos funcionaliza	ados en la cadena etílica lateral (C18 y C19	

4.3 Evaluación biológica de alcaloides semisintéticos de la iboga	159
4.3.1 Inhibición de transportadores de monoaminas	160
4.3.2 Sobre el mecanismo de acción antidepresivo de ibogaína y noribogaína	189
4.3.3 Inhibición del canal de potasio hERG	193
5 Conclusiones y perspectivas futuras	203
5.1 Voacanga africana como fuente viable de alcaloides de la iboga	203
5.2 Construcción de una biblioteca de análogos 204	204
5.2.1 Establecimiento de una línea de producción de ibogaína y noribogaína	206
5.2.2 Estudio de reactividad comparada entre ibogaína y voacangina	206
5.2.3 Determinación de la configuración absoluta de 32b	208
5.2.4 Síntesis total de análogos con modificados en la cadena etílica	208
5.3 Nuevos inhibidores no-competitivos de SERT y VMAT2	211
5.3.1 Evaluación preliminar de la cardiotoxicidad por inhibición hERG	213
6 Experimental	217
6.1 Obtención de alcaloides de la corteza de Voacanga africana	218
6.2 Procedimientos de síntesis y caracterización de compuestos	223
6.3 Cálculos computacionales	271
6.4 Caracterización biológica de análogos de ibogaina	272
ANEXO I – Espectros seleccionados	278
ANEXO II – Publicaciones en revistas científicas	278

Listado de Tablas

- Tabla 2.1 Resumen de los ensayos clínicos llevados a cabo (finalizados) con ibogaína. Adaptado de

 Gallo Alfonso et al______11
- Tabla 2.2 Datos farmacocinéticos seleccionados del estudio preclínico en Ratas (Spraugue-Dawley). "Tmax": tiempo del pico de concentración máxima. "[μM]" concentración micromolar máxima alcanzada en el tejido. "t1/2": tiempo de vida media. "ND": no determinado. No se muestra la desviación estándar (±) para una mejor visualización de los datos. Adaptado de Mash et al. 14
- Tabla 2.3 Valores de afinidad expresados como constante de disociación Ki (μM) * antagonista; ** agonista; *** agonista parcial._____16
- Tabla 2.4 Alcaloides de la iboga y su IC50 sobre hERG (μM) reportes de literatura. ">" indica que el valor de IC50 reportado es mayor que la mencionada (inespecífico)._____31
- Tabla 2.5 Productos naturales sintetizados de forma racémica por Kuehne et al.,154 y algunos análogos estructurales no naturales. La actividad biológica de estos compuestos fue estudiada por Glick et al.,19,48,154–156 Popik et al.,55 y Jacobson et al._____42
- Tabla 2.6 Afinidad de 18–MC sobre receptores del SNC expresada como Ki (μM). Versión ampliada de la Tabla 2.3. * antagonista, ** agonista, ***agonista parcial. Las referencias para las afinidades reportadas para ibogaína y noribogaína se encuentran en la Tabla 2.3._____44

Tabla 2.7 Síntesis totales del núcleo iboga Tabla adaptada de Iyer et al.1_____54

- Tabla 2.8 Especies representativas de la familia Apocynacea y su contenido de alcaloides (% m/m). NR: no registrado. TR: trazas (<0,01%). Las referencias: 203–206 son rendimientos calculados a partir de análisis por GC o HPL (MS). Las referencias: 201,202 son rendimiento aislado del alcaloide. Adaptado de Iyer et al._____61
- Tabla 4.1 Cribado de solventes orgánicos para la extracción directa de alcaloides en medio básico. El% de alcaloides de interés se calculó como la suma de las cantidades estimadas de 2 y 4, conrelación a la masa total del extracto seco.86
- Tabla 4.2 Optimización de las condiciones de ruptura de voacamina (4) en medio ácido. En todos los casos se utilizó calentamiento asistido por microondas, con una potencia de 100W y calentando hasta observar el consumo total de material de partida por TLC, salvo que se indique lo contrario. a La conversión no fue completa, luego de 90 min de calentamiento se obtiene 11% de voacangina (2), y parte de voacamina (4) sin reaccionar. b La conversión no fue completa, tiempos prolongados de reacción redundaron en menor rendimiento de voacangina (2)._____94

Tabla 4.3 Optimización de la ruptura de voacamina (4) en medio ácido, empleando calentamiento convencional en tubo sellado. En todos los casos: se calentó a 110 °C; [voacamina] = 0,015 M. a 17% de norvoacangina (10), y 20% de ibogaína (1). b 7% de norvoacangina (10). c 8% de norvoacangina (10)._____96

Tabla 4.4 Condiciones de hidrólisis básica y descarboxilación en medio ácido de 2._____100

- Tabla 4.5 Desmetilación de ibogaína (1) para la síntesis de noribogaina (16), metabolito activo. __104
- Tabla 4.6 síntesis de ibogamina (18). a se observa aparición de noribogaina (16). b no hay avance dereacción, se recupera 45-56 % de material de partida sin reaccionar._____106
- Tabla 4.7 Reacciones basadas en oxidación con oxígeno gas. a no se observa reacción, b se aísla como una mezcla inseparable de 31b y 32b (7:3) con 65 % de rendimiento global._____112
- Tabla 4.8 Comparación de desplazamientos químicos en 1H-RMN para el compuesto 32b. La primera columna lista los valores experimentales, la segunda y tercera son valores calculados para ambos epímeros 32b y 32b'. La RMSD es significativamente menor para el epímero C7-S.___117
- Tabla 4.9 Oxidaciones con ácido m-cloroperbenzoico (m-CPBA). a se recupera también 23% de material de partida, b N-óxido detectado por TLC, que se descompone en el medio de reacción, c se recupera también 44% de material de partida._____121
- Tabla 4.10 Oxidaciones con dimetildioxirano (DMDO). El agente oxidante se preparó y utilizó como solución 0,092M en acetona._____122
- Tabla 4.11 Oxidaciones con iodo en medio básico. a se recupera 75% de 2; b se recupera 28% de 1; c

 mezcla.______124
- Tabla 4.12 Descriptores globales y descriptores condensados por átomo calculados para ibogaina (1) y voacangina (2). (μ): potencial químico, (η): dureza, (Ν.Ι.): índice de nucleofilia._____126
- Tabla 4.13 Reacción de Wittig sobre la cetona 44syn._____136
- Tabla 4.14 Eliminación en medio ácido. a se recupera 25% de material de partida._____137
- Tabla 4.15 Condiciones para la eliminación en medio básico de 61. Reacciones one-pot, utilizando 60 crudo como material de partida. a resultado cualitativo, presencia de 58 evidenciada por TLC.
- ______142 Tabla 4.16. Sustitución por cianuro en C19 de voacristina (3).______146 Tabla 4.17 Sustituciones sobre 12, con Reactivo de Burgess como activador._____149 Tabla 4.18 líneas celulares, fluoróforos y controles positivos empleados en ensayos de inhibición. ______161

- Tabla
 4.19
 Resultados
 de inhibición
 SERT, de análogos
 iboga
 publicados
 en
 la
 patente

 W02022/020352A1:
 de Sames et at.______167
- Tabla 4.20 Resultados de inhibición SERT (n=2), de análogos semisintéticos (obtenidos en 4.2.1 y 4.2.2). Todos los valores expresan IC50±SEM (μM). N.A.: No Activo. * Las estructuras "repetidas" respecto a Tabla 4.19 (1, 16, 18) indican la réplica del experimento biológico, con el fin de obtener concordancia con los datos publicados en (W02022/020352A1).______168
- Tabla 4.21 Resultados de inhibición SERT (n=2), de análogos preparados 4.2.2 y 4.2.3. Todos los valores expresan IC50±SEM (μM). N.A.: No Activo._____169
- Tabla 4.22 Resultados de inhibición VMAT2, de análogos de iboga publicados en la patente

 W02022/020352A1: de Sames et al.______175
- Tabla 4.23 Resultados de inhibición VMAT2 (n≤2), de análogos semisintéticos preparados en 4.2.1 y 4.2.2. Todos los valores expresan IC50±SEM (μM). N.A.: No Activo. * Las estructuras "repetidas" respecto a Tabla 4.18 (1, 16, 18) indican la réplica del experimento biológico, con el fin de obtener concordancia con los datos publicados en (W02022/020352A1)._____178
- Tabla 4.24 Resultados de inhibición VMAT2 (n≤2), de análogos semisintéticos preparados en 4.2.2 y 4.2.3. Todos los valores expresan IC50±SEM (μM). N.A.: No Activo._____179
- Tabla 4.25 Resultados de inhibición hDAT (n≤2), de análogos semisintéticos preparados en 4.2.1 y 4.2.2. Todos los valores expresan IC50±SEM (μM). N.A.: No Activo._____183
- Tabla 4.26 Resultados de inhibición hDAT (n≤2), de análogos semisintéticos preparados en 4.2.2 y4.2.3. Todos los valores expresan IC50±SEM (μM). N.A.: No Activo._____184
- Tabla 4.27 Índice de selectividad calculado para los compuestos sintetizados y evaluados por nuestros colaboradores. Se calcula como el cociente: (IC50-hVMAT2/IC50-hSERT), valores numéricos más grandes indican compuestos más activos sobre hSERT, valores más cercanos a 0 indican compuestos con mayor actividad hVMAT2. Las filas resaltadas en amarillo corresponden a ibogaína (1) y su metabolito activo noribogaína (16).______186
- Tabla 4.28 Índice de selectividad calculado para los compuestos sintetizados y evaluados en esta tesis. Se calcula como el cociente: (IC50-hVMAT2/IC50-hSERT), valores numéricos más grandes indican compuestos más activos sobre hSERT, valores más cercanos a 0 indican compuestos con mayor actividad hVMAT2. Las filas resaltadas en amarillo corresponden a ibogaína (1), su metabolito activo noribogaina (16) e ibogamina (18).______187

Tabla 4.29 Verapamilo (control positivo). 0.33% DMSO (control negativo, vehículo)._____195

Tabla 4.30 Alcaloides de la iboga y su IC50 sobre hERG (μM), comparación de resultados con la literatura. ">" indica que la concentración es mayor que la mencionada______196

Listado de Figuras

Figura 1.1. Estructuras de psicodélicos claves para entender su clasificación._____1

- Figura 1.2. Flujo de trabajo, tres grandes unidades temáticas que serán descritas como objetivos específicos del trabajo. ______3
- Figura 2.1 Estructura de ibogaína con numeración del esqueleto propuesta por Taylor et al.____6
- Figura 2.2 Metabolización de ibogaína en humanos, datos extraídos de diferentes estudios clínico. " $t_{1/2}$ ": tiempo de vida media.______13
- Figura 2.3 Perfil de concentración de ibogaína y noribogaína total, tras la administración i.p. de ibogaína (40 mg/kg), en plasma sanguíneo (A) y en cerebro (B). Perfil de concentración libre de ibogaína y noribogaína, tras la administración i.p. de ibogaína (40 mg/kg), en plasma sanguíneo (C) y en cerebro (D).Adaptado de Rodríguez et al._____15
- Figura 2.4. Resumen de la actividad de ibogaína sobre los receptores con afinidad significativa expresada como Ki (constante de disociación). "ag": agonista. "antg": antagonista. "Bloq": bloquea.______18
- Figura 2.5 Representación gráfica de una sinapsis serotoninérgica. En color violeta la terminal presinaptica y en celeste la pos-sinaptica. _____20
- Figura 2.6 Vía catabólica de dopamina (DA), se produce DOPAC (ácido 3,4-dihidroxifenilacético) y HVA (ácido homovanílico). MAO: mono-aminooxidaza. COMT: catecol 0 metiltransferaza.____22
- Figura 2.7 Resumen de los efectos observados en ensayos preclinicos que denotan el potencial antidepresivo de ibogaína._____26
- Figura 2.8 Cambios conformacionales del canal de potasio hERG, voltaje dependiente. A: conformación cerrada. B: conformación cerrada. C: conformación inactiva/refractaria (no sensible, sin posibilidad de apertura). Ex: exterior celular. In: interior celular. El cambio conformacional que permite el eflujo de iones potasio K+ está controlado por la diferencia de potencial a ambos extremos de la membrana plasmática._____28
- Figura 2.9 Alcaloides bloqueantes de hERG. Cambios estructurales ilustrativos para la modulación de inhibición no deseada. Adaptado de Kratz et al._____30
- Figura 2.10 La inhibición de hERG causa el alargamiento entre la onda Q y la onda T del electrocardiograma, lo que puede generar arritmias fatales.______31
- Figura 2.11 Descubrimiento de los primeros fármacos antidepresivos._____34
- Figura 2.12 Vía catabólica (degradación) de la serotonina (5-HT) por parte de la enzima monoamino oxidasa (MAO).______34
- Figura 2.13 Clasificación de fármacos antidepresivos._____35

- Figura 2.14 Estructuras representativas de antidepresivos, clasificadas por grupo en base a su mecanismo de acción._____35
- Figura 2.15 A/ estructura de serotonina (5-hidroxi-triptamina, 5-HT) B/ Estructura protéica del tranportador de serotonina (SERT). C/ descripción (2D) de su sitio activo (S1) y principales aminoácidos involucrados. Abreviaturas: EC: exterior celular, IC: interior celular, TM: α-hélice transmembrana. Adaptado de Zeppelin et al (2019)._____36
- Figura 2.16 Mecanismo de simporte 5-HT:sodio (NSS). Se muestra una serie de cortes transversales del transportador a lo largo de sucesivos cambios conformacionales. Adaptado de Chan et al (2022).______37
- Figura 2.17 Corte transversal del transportador de serotonina (SERT) es sus diferentes conformaciones, por las que atraviesa el en el proceso de internalización del neurotransmisor. Abierto hacia el exterior celular (EC), ocluido (OC) y abierto hacia el interior celular (IC). Adaptado de Chan et al (2022)._____38
- Figura 2.18 La ibogaína puede unirse tanto a la conformación IF como OF. Luego estabiliza el transportador en la conformación IF u OC. Figura extraída y adaptada de Coleman et al.______39
- Figura 2.19 Ibogaína en el sitio activo (S1) de SERT en su conformación ocluida (OC). La visualización fue elaborada en el programa MOE 15. Se muestran los residuos aminoacídicos más importantes en código de 3 letras: Asp98, Arg104, Tyr176, Ser336, Phe341, Ser438 y Thr439. Las líneas punteadas indican las interacciones más importantes entre el ligando la proteína. El bolsillo se visualiza como una superficie con un gradiente de color, donde verde indica mayor hidrofobicidad (apolar) y rosado mayor hidrofilicidad (polar)._____40

Figura 2.20 Derivatización química de albifloranina y 18-MC, Bandarage & Kuehen	44
Figura 2.21 Derivados fosforilados de noribogaína, Gless et al	46
Figura 2.22 Compuestos sintetizados y patentados por Sames et al	46
Figura 2.23 Ruta para la síntesis de análogos empleada por Sames et al	47
Figura 2.24 Estrategia síntesis de isoquinuclidinas Passarella et al	48
Figura 2.25 Estrategia síntesis de isoquinuclidinas Levi et al	49
Figura 2.26 Estrategia sintética y compuestos diseñados por Pazos et al	49
Figura 2.27 Estrategia de síntesis y estructuras de la biblioteca de Efange et al	50
Figura 2.28 Estructuras de los compuestos diseñados por Floresta et al	51
Figura 2.29 Estrategia sintética y compuestos de la biblioteca de Cameron et al	51

Figura 2.30 Clasificación de Han et al para alcaloides de la iboga con modificaciones en el esqueleto
carbonado, "post-iboga alkaloids"55
Figura 2.31 Obtención semisintética de alcaloides de la vinca, por ruptura oxidativa de C16-C21 de
catarantina. Estructura de cleavamina, post-iboga tipo I (C6+C5+C9+C6)56
Figura 2.32 Obtención semisintética de alcaloides post-iboga Tipo II57
Figura 2.33 Obtención semisintética de alcaloides post-iboga tipo III57
Figura 2.34 Obtención semisintética de alcaloides post-iboga tipo IV58
Figura 2.35. Formación de estrictocidina59
Figura 2.36. Estrictocidina como intermediario biosintético común a alcaloides monoterpeno- indólicos (MIA)59
Figura 2.37. Identificación estructural del esqueleto carbonado proveniente de la porción monoterpénica (C10). Clasificación por grupo de alcaloide60
Figura 2.38. Estructura de deshidrosecodina. Biosíntesis del esqueleto carbonado vía cicloadición [4+2]61
Figura 2.39 Estructura de los alcaloides encontrados en la semilla de <i>V. africana</i> 63
Figura 3.1 Resumen gráfico de los objetivos específicos78
Figura 4.1.1 Estructura de alcaloides identificados en la corteza de raíz de Voacanga africana81
Figura 4.1.2 Esquema del protocolo de extracción en medio ácido acuoso82
Figura 4.1.3 Diagrama ORTEP de voacamina (4). Los elipsoides se representan con un 30% de probabilidad. El agua de cristalización se omite para una visualización más clara83
Figura 4.1.4 Diagrama ORTEP de la celda unidad asimétrica de voacamina, obtenida por difracción de rayos X de monocristal. Se observan tres unidades independientes de voacamina y moléculas de agua conectadas por interacciones N-HOH2 enlace de hidrógeno (representados por líneas punteadas azules). Los elipsoides se representan con una probabilidad del 30%83
Figura 4.1.5 Espectro de 1H-RMN del alcaloide bis-indólico voacamina (4) en CDCl3. Se muestra la asignación completa de las señales con número; la notación a/b refiere a protones diasterotópicos84
Figura 4.1.6 Cribado de solventes orgánicos para extracción de raíz de V. africana. Análisis de extractos crudos por RMN con estándar interno (5µL de tricloroetileno). Se muestra la estructura de voacangina (2), en rojo los protones (y su desplazamiento químico) que fueron usados para la cuantificación, destacados en espectro con flechas de color anaranjado. La estructura de voacamina (4) se excluye para una mejor visibilidad, las señales diagnósticas

xii

tomadas para la cuantificación en este caso fueron: 5,31; 5,12; 2,58 y 2,46 ppm, (ver espectro y asignación en Figura 4.1.5)._____85

- Figura 4.1.7 Esquema del procedimiento de extracción directa con solventes orgánicos en medio básico.______86
- Figura 4.1.8 Análisis LC-MS de la mezcla de alcaloides bis-indólicos obtenidos por extracción con acetona de la corteza de raíz de Voacanga africana. Se observa el cromatograma de absorción UV (254nm), con 3 picos principales en proporción (1,87 : 1 : 0,22), y un espectro de masa (MS)(ESI) para el compuesto mayoritario (m/z: 353) a modo representativo, ya que el MS fue igual para los tres picos. Condiciones cromatográficas: (Kinetex C18-EVO (150 x 4,6 mm) 5 μm), gradiente: T0 20%B, T5min 50%B , T10min 98 %B. A: 0,1% ácido fórmico, B: MeCN.)_______88
- Figura 4.1.9 Espectro de 1H-RMN del alcaloide bis-indólico voacamidina (5) en CDCl3. Se muestra la asignación completa de las señales con número; la notación a/b refiere a protones diasterotópicos._____89
- Figura 4.1.10 Determinación de proporción de alcaloides bis-indólicos por 1H-RMN. Se apilan los espectros de 4 y 5 puros, con los de la mezcla obtenida por extracción con acetona y extracción ácido base, en la región de 4,85 a 5,80 ppm. La proporción se establece por integración relativa de las señales aisladas._____89
- Figura 4.1.11 Registro gráfico de procedimiento de extracción escalado para 0,5 kg de corteza de raíz en un reactor de 10 L._____90
- Figura 4.1.12 Esquema de purificación del extracto obtenido a escala de 0,5 kg de material vegetal._____91
- Figura 4.1.13 Alcaloides minoritarios del extracto de raíz de Voacanga africana identificados en escala de 0,5 kg. A) Estructura de dos productos nuevos identificados en el proceso de escalado. B) Propuesta mecanística para la formación de 6._____92

Figura 4.1.14 Ruptura del dímero voacamina (4) reportada por Buchi et al._____93

Figura 4.1.15 Propuesta de mecanismo de ruptura de voacamina (4), SEAr._____95

- Figura 4.1.16 Perfiles de seguimiento de reacción. En azul curva de desaparición de voacamina (4), en naranja curva de producción de voacangina (2). En gris curva de producción de norvoacangina (10)._____97
- Figura 4.1.17 Resumen de 4.1, obtención de alcaloides de *Voacanga africana*. Los resultados porcentuales son para una escala de extracción de 100 g de material vegetal._____98
- Figura 4.2.1 Resumen gráfico de las modificaciones estructurales y clasificación por apartado._____99

Figura 4.2.2 Propuesta de mecanismo de descarboxilación de voacangina (2)10
Figura 4.2.3 Diagrama ORTEP de clorhidrato de ibogaína, análisis de difracción de rayos-X d
monocristal. Los elipsoides estan representados con un 30% de probabilidad10
Figura 4.2.4 La hidrólisis y descarboxilación de voacristina (3), produce iboxigaína (1
hidroxiibogaína) (12)10
Figura 4.2.5 Reducción del éster metílico de voacangina (2). Modificaciones sintéticas para l
oxidación y bencilación de voacanginol (13)103
Figura 4.2.6 Propuesta mecanística para la alquilación en C7 de voacanginol (13)10
Figura 4.2.7 Mecanismo propuesto para la desmetilación de ibogaína (1)10
Figura 4.2.8 Desmetilación de 19-hidroxiibogaína (12), para producir 10,19 dihidroxiibogamín
(17)10
Figura 4.2.9 Síntesis de ibogamina (18) a partir de noribogaina (16)10
Figura 4.2.10 Estrategia sintética para la síntesis de 19-hidroxiibogamína (21)10
Figura 4.2.11 Modificaciones en el N del indol a partir de ibogaína (1) y voacangina (2)108
Figura 4.2.12 Condiciones no exitosas para la N sustitución de ibogaina (1)109
Figura 4.2.13 N-bencilación de ibogaína (1)109
Figura 4.2.14 Substitución N del indol en análogos C19 hidroxilados (voacristina (3), iboxigaína (12)
La estereoquímica de 30 se propone en base a reactividad de reacciones similares (ver punt
4.2.2.2)110

- Figura 4.2.15 Mecanismo propuesto para la oxidación de ibogaína (1) y voacangina (2) usando oxígeno en estado fundamental (triplete) y en estado excitado (singulete)._____113
- Figura 4.2.16 Resumen de reportes previos que conciernen a la determinación de la configuración absoluta de 32b. (A) Evidencias de un enlace de hidrógeno intramolecular entre el hidroxilo y el éster metílico, únicamente posible en una configuración syn de ambos grupos funcionales, lo que apoya una configuración S en C7.35,43 (B) La síntesis de los derivados pseudoindoxilo (iboluteína (34a) y voaluteína (34b)) mediante un rearreglo de Wagner Meerwein, y el posterior análisis de su espectroscopía de RMN y desplazamiento de señales por adición de sales de Yb, apoya una configuración S en C7.44 (C) Madinaveitia et al argumentan una configuración R en C7, basados en el desplazamiento químico de señales de la 7 hidoxiindolenina y su derivado acetilado.
- Figura 4.2.17 Configuración absoluta de voacangina 7-hidroxiindolenina (32b). (A) Realce nOe observado entre las señales de protón OH y H21. (B) Estructuras minimizadas por DFT de los dos posibles epímeros 7S and 7R. La distancia se determinó experimentalmente, de forma

precisa, mediante la cuantificación del realce nOe; ésta concuerda con la calculada para el epímero 7S en su conformación más estable._____115

- Figura 4.2.18 2D-NOESY del compuesto 32b. Marcadas con círculos en verde de identifican los realces de nOe (cross-peaks) que fueron clave para la determinación de la configuración absoluta en C7. Para la determinación de la distancia mediante cuantificación del efecto nOe, trazas del eje t2 fueron extraídas de este experimento 2D para las señales H21, H5α y H5β._____116
- Figura 4.2.19 Configuración absoluta de ibogaína 7-metoxiindolenina (32aMe). (A) Realces nOe observados entre las señales de protón H21 con OCH3 y H16. (B) Estructuras minimizadas por DFT de los dos posibles epímeros de este compuesto, 7S and 7R. La distancia se determinó experimentalmente, de forma precisa, mediante la cuantificación del realce nOe; ésta concuerda con la calculada para el epímero 7S en su conformación más estable, lo que valida la metodología de trabajo.______118
- Figura 4.2.20 Diferencias de desplazamiento químico en 7-hidroxiindoleninas y sus derivados acetilados.______119

Figura 4.2.21 Oxidación de voacangina (2) utilizando tetraacetato de plomo. (A) Resultados descritos por Madinaveitia et al.,34 (B) Reproducción de este experimento en el laboratorio. (C) Acetilación de la 7-hidroperoxiindolenina 31b, el producto (31b-Ac) no coincide con el compuesto aislado por Madinaveitia et al. en (A)._____120

- Figura 4.2.22 Mecanismos de oxidación con mCPBA._____122
- Figura 4.2.23 Mecanismo propuesto para las oxidaciones mediadas por DMDO._____123
- Figura 4.2.24 Acople a larga distancia (en W) entre H3 y H15. Éste permitió confirmar estereoquímica absoluta de C3 de los hemiaminales 36a y 36b (nuevo centro estereogénico)._____124

Figura 4.2.25 Mecanismo propuesto para las oxidaciones con iodo en medio básico._____125

Figura 4.2.26 Oxidación de voacristina (3) con iodo en medio básico._____125

- Figura 4.2.27 Estructuras de ibogaina (1) a la izquierda y voacangina (2) a la derecha, optimizadas por DFT. Se mapea el potencial electrostático en una superficie de isodensidad (0,001 e-/Å3), escala de colores: del rojo (-0,05 V) al azul (+0,05 V). Se incluye el valor de potencial electrostático mínimo (VS,min) sobre el nitrógeno de la isoquinuclidina y sobre el anillo indólico.______127
- Figura 4.2.28 Función f de Fukui. Representada como una superficie de isodensidad. (0,001 e-/Å3, violeta = positivo, cyan = negativo). Ibogaina (1) a la izquierda y voacangina (2) a la derecha.________128
- Figura 4.2.29 Función f 0 de Fukui. Representada como una superficie de isodensidad. (0,01 e-/Å3, violeta = positivo, cyan = negativo). Ibogaína (1) a la izquierda y voacangina (2) a la derecha.______129

Figura 4.2.30 Estructuras de intermedios imino hipotéticos optimizadas por DFT. 51 Se incluye una representación visual de interacciones no covalentes de baja energía (NCI). Las interacciones se representan en diferentes colores, de acuerdo con un gradiente de densidad reducido (RDG) en una superficie de isodensidad (= 0,5). Código de color: enlaces de hidrógeno (azul), Van der Waals (verde) y repulsión estérica (rojo). Las flechas punteadas señalan las interacciones desfavorables más significativas para ambas estructuras._____130

Figura 4.2.31 (A) Estructuras de coronaridina y 18-metoxicoronaridina, (±)18-MC un análogo sintético con disminuida toxicidad cardíaca. (B) Acetilación de voacristina (3) e iboxigaína (12).___132

Figura 4.2.32 Oxidación del hid	Iroxilo en C19 de voacristina ((3) e iboxigaína (12).	133
---------------------------------	---------------------------------	------------------------	-----

Figura 4.2.33 Mecanismo propuesto para la oxidación de Parikh-Doering de 3 y 12._____134

- Figura 4.2.35 Adición de organolitiados a la cetona 44syn._____135
- Figura 4.2.36 Estrategias para la eliminación del alcohol en C19._____136
- Figura 4.2.37 Eliminación del formiato a alta temperatura en tubo sellado. Mecanismo demostrativo de la reacción buscada.______137

Figura 4.2.38 Tosilación de voacristina (3). El tosilato 57 no resulta aislable, en contacto con solventes polares, produce el azetidonio 58a (producto de ciclación intramolecular)._____138

Figura 4.2.39 A/ Esquema del mecanismo general tomado de March´s Advanced Organic Chemistry 6th edition. B/ La eliminación tipo-Hofmann sobre 58a está impedida por la geometría del sistema policíclico.______139

Figura 4.2.40 Mesilación de 3 en diferentes disolventes._____139

- Figura 4.2.41 Propuesta de mecanismo para la obtención de 60. Las flechas azules indican un mecanismo con inversión de la configuración (60S). Las flechas rojas indican un mecanismo con doble inversión y retención de la configuración (60R)._____140
- Figura 4.2.42 Caracterización de 19-cloroibogaína (61); en medios polares como DMSO se produce una ciclación intramolecular espontánea, que da lugar al azetidonio 62. Se muestran los espectros de 1H-RMN para los dos compuestos totalmente asignados._____141
- Figura 4.2.43 (A) Estrategia de eliminación suave utilizando reactivo de Burgess. (B) Reacción con voacristina (3) en tolueno. (C) Síntesis del reactivo de Burgess a partir de clorosulfonilisocianato._____144
- Figura 4.2.44 Eliminación con etóxido de sodio en etanol, con iboxigaína (12) como material de partida._____144

Figura 4.2.34 Hidrólisis y descarboxilación de 44. Las interacciones nOe claves para la determinación de la configuración de la cadena lateral se marcan en flechas rojas._____134

Figura 4.2.45 Estrategia general de generación de análogos sustituidos en C19 (65, 66). Nuc: nucleófilo145
Figura 4.2.46 Sustitución con azida de sodio y reducción de Staüdinger146
Figura 4.2.47 Estrategias de sustitución sobre 3 sin buenos resultados147
Figura 4.2.48 Sustituciones sobre 12147
Figura 4.2.49 El tioeter 74 se oxida espontáneamente en solución en contacto con el aire, produciendo una mezcla de epímeros del sulfóxido 76148
Figura 4.2.50 Prueba experimental de sustitución con hidróxido demuestra que el mecanismo transcurre a través de una doble inversión, con retención de la configuración148
Figura 4.2.51 Síntesis total de análogos con modificación en la cadena etílica lateral. (A) Síntesis racémica de isoquinuclidina 80, funcionalizada en la cadena etílica lateral. (B) Ruta sintética para la generación de análogos a partir de isoquinuclidinas modificadas en la cadena etílica150
Figura 4.2.52 Posibles productos secundarios, que se aprecian si la temperatura de la reacción supera los -50 °C151
Figura 4.2.53 Estados de transición en la reacción de Diels-Alder entre la dihidropiridina 79 y metilvinilcetona151
Figura 4.2.54 Reacciones de Wittig sobre la isoquinuclidina sintética 80152
Figura 4.2.55 Reducción de 80, separación de epímeros exo y endo153
Figura 4.2.56 Estructuras minimizadas por mecánica molecular de los epímero exo/endo de la cetona 80. Las flechas anaranjadas indican el sentido de aproximación del agente reductor en ambas caras de la cetona. Una de las caras está fuertemente impedida en el diasterómero exo, lo que resulta en la reducción diasteroselectiva de 80exo154
Figura 4.2.57 Generación de alqueno a partir de 90154
Figura 4.2.58 Desprotección de la amina con TMSI, sobre la cetona 80155
Figura 4.2.59 Protección del alcohol 90 mediante metilación o formación de sililéter156
Figura 4.2.60 Desprotección de la amina con TMSI, sobre 95 y 94156
Figura 4.2.61 Reacciones de SN2 entre las isoquinuclidinas 96 y 86 con 3-(2-bromoetil)indol157
Figura 4.2.62 Formación de anillo de tetrahidroazepina. Bromación en α del indol, y acople Heck reductivo con paladio(0) como catalizador157
Figure (21 France de inhibitión transportadores de monocmines (A) Les lísses UEV202 - ENV

Figura 4.3.1 Ensayo de inhibición transportadores de monoaminas. (A) Las líneas HEK293 o EM4 transfectadas con los transportadores de interés (hSERT, hDAT, hVMAT2) bioacumulan sustratos fluorescentes. (B)/ Estructuras de los sustratos fluorescentes utilizados APP+ y FFN206 con sus respectivas longitudes de onda de absorción y emisión._____161

- Figura 4.3.2 Descripción gráfica del protocolo del ensayo de inhibidores de transportadores de monoaminas (hSERT, hDAT, hVMAT2) basado en sustratos fluorescentes._____162
- Figura 4.3.3 Clasificación de compuestos según bioactividad, tras la normalización de datos, indicando el máximo de inhibición del control_____163
- Figura 4.3.4 Resumen gráfico de relación estructura actividad (SAR), de alcaloides de la iboga y hSERT. El código de color indica: Verde: cambios estructurales que mejoran la actividad inhibidora; amarillo: cambios estructurales que no afectan o implican una pérdida leve de actividad, anaranjado: cambios estructurales que implican una pérdida moderada de actividad, rojo: pérdida total de capacidad de actividad. * caída respecto al compuesto desmetilado en posición C10.______170
- Figura 4.3.5 Diagrama 3D de ibogaína en el sitio activo de hSERT en su conformación ocluida publicada por Coleman et al. (código PBD: 6DZV).78 Se destacan los residuos aminoacídicos más relevantes, próximos al sitio activo. En líneas punteadas se marcan las principales interacciones de baja energía con Asp98 y Phe341. La superficie se representa en un gradiente de color, donde verde representa áreas hidrofóbicas y el violeta áreas polareshidrofílicas de la superficie proteica._______171
- Figura 4.3.6 (A) Los análogos sustituidos en C19 que ven más afectada su actividad sobre SERT tienen residuos que pueden formar interacciones polares con el N4 de la isoquinuclidina. (B) Los análogos sustituidos en C19 cuya actividad sobre SERT se vio menos afectada tienen sustituyentes voluminosos (o cargados positivamente, como 116) que buscaran una disposición más alejada al N4.______172

Figura 4.3.7 Protonación de N4 en ibogaína vs 19-fluoroibogaína (77)._____173

- Figura 4.3.8 Resumen gráfico de relación estructura actividad (SAR), de alcaloides de la iboga y VMAT2. El código de color indica: Verde: cambios estructurales que mejoran la actividad inhibidora; amarillo: cambios estructurales que no afectan o implican una pérdida leve de actividad, anaranjado: cambios estructurales que implican una pérdida moderada de actividad, rojo: pérdida total de capacidad de actividad. * respecto a noribogaína._____180
- Figura 4.3.9 Resumen gráfico de relación estructura actividad (SAR), de alcaloides de la iboga y DAT. El código de color indica: Verde: cambios estructurales que mejoran la actividad inhibidora; amarillo: cambios estructurales que no afectan o implican una pérdida leve de actividad, anaranjado: cambios estructurales que implican una pérdida moderada de actividad, rojo: pérdida total de capacidad de actividad. * respecto a noribogaína.______182
- Figura 4.3.10 (A) Mecanismo de acción de los ISRSs inhibiendo la conformación "abierta hacia afuera" de SERT, lo que impide la recaptación de serotonina desde la hendidura sináptica al interior

de la terminal presináptica. (B) Mecanismo propuesto para ibogaína y noribogaína, que inhiben SERT en su conformación "abierta hacia adentro". Al inhibir a su vez a VMAT2, la serotonina en el citoplasma puede competir por el sitio de unión en SERT y ser transportada hacia el exterior celular invirtiendo el sentido de funcionamiento del transportador._____191

Figura 4.3.11 Diagrama de metodología patch clamp, es su variante whole-cell (diseño del experimento realizado). Las proteínas transmembrana azules representan el canal de potasio hERG.

Figura 4.3.12 Estructura de los compuestos evaluados en el ensayo de inhibición hERG._____194

Figura 5.1 Resumen de resultados, Voacanga africana como fuente viable de alcaloides de la iboga._____204

Figura 5.2 Biblioteca de análogos de ibogaína LSO-FQ._____205

Figura 5.3 Propuesta de síntesis de análogos C3 sustituidos._____206

Figura 5.4 Resumen de la regioselectividad de los agentes oxidantes, y las estructuras de los productos obtenidos clasificados según el locus de reacción._____207

Figura 5.5 Resumen sobre la corrección estereoquímica de la 7-hidroxiindolenina 32b._____208

Figura 5.6 Resumen de resultados sobre la síntesis total de análogos funcionalizados en la cadena etílica lateral._____208

Figura 5.7 Perspectivas a futuro en la construcción de análogos por síntesis total._____209

Figura 5.8 Perspectivas a futuro en la obtención de análogos ramificados._____210

 Figura 5.9 Resumen genérico SAR para SERT y VMAT2.
 211

 Figura 5.10 Resumen de los compuestos más interesantes.
 212

Listado de abreviaturas

1,2-DCE	1,2-dicloroetano
¹³ C-RMN	Espectroscopía de resonancia magnética nuclear de carbono 13
18-c-6	Éter 18-corona-6
18-MC	18-metoxi-coronaridina
¹ H-RMN	Espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protón
2-CB	4-bromo-2,5-dimetoxifeniletilamina
5-HIAA	5-hidroxiindolacético
5-HIAA	Ácido 5-hidroxindolacético
5-HIAL	5-hidroxiindolacetaldehidi
5HT	5-hidroxitriptamina, serotonina
5HT _{2A}	Receptor metabotrópico de serotonina, subtipo 2ª
ACS	American Chemical Society
ag	agonista
antg	antagonista
APCI	lonización química a presión atmosférica
APP+	Sonda fluorescente sustrato de SERT
Ar	Aromático
BDNF	Brain Derived Neurotrophic Factor (Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro)
BHE	Barrera hematoencefálica
Bloq	Bloqueante
Bn	Bencilo
BnBr	Bromuro de bencilo
Boc	tert-butiloxicarbonilo
C18	Ocatadecilsilano, fase estacionaria apolar de HPLC
COD	Ciclo ocatadieno
Cryo EM	Cryoelectromicroscopía
CYP2D6	Enzima citocromo P450 del subtipo 2D6
D1-3	Receptores metabotrópicos de dopamina subtipos 1 a 3
DA	dopamina
DAD	Arreglo de diodos
DAT	Transportador Recaptador de Dopamina
DBU	1,8-Diazabiciclo(5.4.0)undec-7-eno
DCM	Diclorometano
DEA	Administración de control de drogas de EEUU
DFT	teoría del funcional de la densidad
DiPEA	Diisopropiel etil amona

DMAP	N,N-Dimetilaminopiridino
DMDO	Dimetildioxirano
DMF	Dimetilformamida
DMS0	Dimetilsulfóxido
DMT	Dimetiltriptamina
DOP	Receptor opioide delta
DOPAC	ácido 3,4-dihidroxifenilacético
EEG	Electro Encéfalograma
EMA	Agencia Europea del Medicamento
Eq	Equivalente
ESI	lonización por electro spry
FDA	Food and Drug Administration, autoridad sanitaria de los EEUU
FFN	Fluorecent false neurotransmiter
GC	Cromatografía gaseosa
GDNF	Glial Cell line-Derived Neurotrophic Factor (Factor Neurotrófico derivado de células gliales)
HEKZ93	Celulas embrionarias de rinon humano 293, Linea celular
hERG	(human <i>Ether-a-go-go</i> -Related Gene) canal ionico de potasio (K _v 11.1)
HMDS-Li	Hexametildisilazano de litio
HMDS-LI	Hexametildisilazano de litio
	Hexametilfosforamida
HPLC	Cromatografia liquida de alta performance
HVA	acido homovanilico
i.p.	Intra peritoneal
I.V.	Intravenoso
Ibo	
1050	Concentración inhibitoria del 50%
IF ,	Conformación abierta hacia el interior celular de SERT
IKr	Corriente rectificadora tardia de potasio
IMAU	Farmacos inhibidores de la Monoaminooxidasa
	Inhibidores de la recaptación de noradrenalina y dopamina
ISRS	Inhibidores Selectivos de la Recaptación de Serotonina
ISRSN	Innibidores selectivos de la recaptación de serotonina y noradrenalina
J	Constante de acoplamiento
	Constante de disociación ligando-receptor
	Receptor opioide Kappa
	Diisopropit amida de litio
LED	Diodo emisor de luz

LogP	Coeficiente de reparto ocatnol/agua, medida de lipofilicidad
LSD	Ácido lisérgico dietilamida
LSF	Late Stage Functionalization
m/z	Relación masa carga
M1-3	Receptores metabotrópicos de acetilcolina (muscarínicos) subtipos 1 a 3
MAO-A	Enzima monoamino oxidasa – subtipo A
MAO-B	Enzima monoamino oxidasa – subtipo B
MAT	Transportadores de Monoaminas
тСРВА	Ácido m-cloroperbenzoico
MDMA	3,4-metilendioximetanfetamina
МОР	Receptor opioide mu
MS	Espectrometría de masas
Ms	Mesilo, metansulfonilo
MTT	3- [4,5- dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide
MW	Microwave, microondas
NAcc	Núcleo Acumbens
nACh	Receptor nicotínico de acetilcolina
NBOMe	2-(4-iodo-2,5-dimetoxifenil)-N-[(2 metoxifenil)metil]etanamina
NET	Transportador de noradrenalina
NIH	National Institute of Health, EEUU
NMDA	Receptor de glutamato, sensible a N-metil-d-aspartato
nOe	Nuclear Overhauser effect
NSS	Simporte de sodio:neurotransmisor
ΝΤ	neurotransmisor
0C	Conformación ocluida de SERT
OF	Conformación abierta hacia el exterior celular de SERT
ONU	Organización de Naciones Unidas
ORTEP	Oak Ridge Thermal-Ellipsoid Plot Program
P. atm	Presión atmosférica
р.о.	Por vía oral
Pd/C	Paladio (0) sobre carbono
PDB	Protein Data Bank
Ph	Fenilo
PPh₃	Tifenilfosfina
ppm	Partes por millon
PTSD	Trastorno por estrés postraumático
рТsOH	Ácido p-toluensulfónico
Ру	Piridina

RE	Retículo endoplasmático
REM	'Rapid Eye Movement' , fase del sueño
RMSD	Error raíz media cuadrada
S₌Ar	
SEM	Desviación estándar media
SERT	Transportador Recaptador de Serotonina
S _N 2	Sustitución nucleófilo bimolecular
SNC	Sistema Nervioso central
SRL	Sociedad de responsabilidad limitada
t.a.	Temperature ambiente
t _{1/2}	Tiempo de vida media, parámetro farmacocinético
TBG	Taberntanalog , análogo simplificado de ibogaína
ТСА	Antidepresivos tricíclicos
TCE	Traumatismo craneoencefálico
TDM	Trastorno depresivo mayor
TEA	Trietilamina
Tf	Triflato, trifluorometansulfonilo
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
TIPS	Triisopropilsilano
TIPS	Triisopropilsilano tiol
TLC	Cromatografía en capa fina
Tmax	Tiempo de concentración máxima, parámetro farmacocinético
TMSI	Ioduro de trimetilsilano
TNF	Test de Nado Forzado
ΤΝΤ	Tela no tejida, NWF en inglés
TR	Trazas
Ts	Tosilo, p-toluensulfonilo
TSA201	Línea celular, células embrionarias de riñón humano 293 transfectadas estables
TsNHNH2	Tosil-hidrazina
TUS	Trastorno por uso de sustancias
V.O.	Vía oral
VMAT2	Transportador vesicular de monoaminas
VTA	Área ventral Tegmental del cerebro medio
α3β4	Subtipo de receptor nicotínico
σ1	Receptor sigma-1
σ1	Receptor sigma-2

xxiv



1. Introducción

1 Introducción

Los psicodélicos son un grupo de pequeñas moléculas con acción a nivel del sistema nervioso central (SNC) capaces de alterar la percepción del entorno, las emociones y la conciencia de quien las consume, sin interrumpir la memoria, ni generar delirio.¹ H. Osmond, acuñó este concepto como un neologismo de: psico (del griego *psyche*) relativo a la mente, y délico (del griego *delein*), desvelar; en conjunto "manifestación de la mente".² Esta descripción remplazó las categorías de psicotomiméticos y alucinógenos, que hacían referencia a la capacidad de estas moléculas de provocar estados parecidos a la psicosis y alucinaciones visuales respectivamente.²

Los psicodélicos pueden clasificarse en: <u>psicodélicos clásicos</u> (*serotoninérgicos*), que incluye a la psilocibina (componente psicoactivo de algunas especies de hongos *Psilocybe*), la mescalina (componente psicoactivo del cactus de peyote), o la dietilamida del ácido lisérgico (LSD), entre otros (Figura 1.1).³ Los psicodélicos clásicos son agonistas parciales del receptor de serotonina del subtipo 2A (5-HT_{2A}), un receptor acoplado a proteína G, que regula de forma positiva la excitabilidad de neuronas piramidales en la corteza prefrontal.^{1,4} Por otro lado, los <u>psicodélicos no clásicos</u>, también llamados psicodélicos atípicos, tienen otros blancos moleculares de acción y se subclasifican según el efecto subjetivo de la experiencia en: disociativos (ej. ketamina); oneirogénicos o generadores de sueños (ej. ibogaína) y empatógenos (ej. 3,4-metilendioximetanfetamina, MDMA).



Figura 1.1. Estructuras de psicodélicos clave para entender su clasificación.

La investigación con psicodélicos fue intensa en las décadas de los 1950's y 1960's, principalmente debido a la síntesis y descubrimiento del efecto psicoactivo del LSD, por parte del

químico suizo Albert Hoffman (1938). Esto promovió un gran avance en el campo de la neuroquímica, específicamente en el estudio de los sistemas de neurotransmisión, en base al cuál se desarrollarían posteriormente nuevas opciones terapéuticas, como los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina.⁵ La mayor parte de los estudios clínicos conducidos en este período abordaron el tratamiento de distintas afecciones psiquiátricas como: trastornos de humor, uso problemático de alcohol, entre otros.⁵ La investigación clínica con LSD y otros psicodélicos se vio súbitamente interrumpida por el ingreso de estas sustancias en el listado de sustancias controladas por los convenios de la Organización de Naciones Unidas (ONU), que prohíben su producción y comercialización. Aunque los convenios permiten de forma explícita la investigación científica; existió una prohibición funcional apoyada en estrictos controles institucionales, que llevó al alejamiento de investigadores de esta área del conocimiento.⁵

Desde el inicio del siglo XXI, la investigación con psicodélicos atraviesa un período de auge, al cual muchos actores de la comunidad científica se refieren como "renacimiento".⁵ Un factor preponderante de este resurgimiento son los avances en investigaciones clínicas con psilocibina,⁶ para el tratamiento de la depresión mayor; y MDMA para el tratamiento del trastorno por estrés postraumático (PTSD, por su sigla en inglés).⁷ En ambos casos se trata de un esquema terapéutico de psicoterapia asistida con psicodélicos; este modelo de tratamiento implica un cambio sustancial, que difiere de la medicina alopática/tradicional actual. Además, a diferencia de la medicación psiquiátrica utilizada en la clínica actualmente —con posologías por largos períodos de tiempo o crónicas— los psicodélicos se administran en forma aguda, a dosis única, o en pocas sesiones. Los efectos positivos se observan incluso luego de que la sustancia ha dejado el organismo, lo que hace suponer un mecanismo que involucra cambios estructurales en el SNC, mediado por eventos de neuroplasticidad.^{8,9} No existen hoy tratamientos con psicodélicos aprobados por agencias reguladoras de medicamentos, como FDA en Estados Unidos, o EMA en la Unión Europea; pero es de esperar que, si la investigación clínica prosigue, esta regulación se produzca en los próximos años.

Dentro de la medicación psiquiátrica actual, los antidepresivos más utilizados en la clínica, los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS), presentan una muy baja eficacia, donde un porcentaje de entre el 40–60% de los pacientes no responde al tratamiento.¹⁰ Además, tienen un período de latencia de 3 a 4 semanas para producir mejorías clínicas.¹⁰ Por esto, es clave acceder a nuevas moléculas con potencial antidepresivo; buscando una mayor eficacia y mejores tiempos de respuesta. En este sentido, los psicodélicos se presentan como una opción prometedora.

Dentro de los psicodélicos atípicos del tipo oneirogénico, ibogaína, un alcaloide monoterpénico indólico que se aísla de la corteza de la raíz de *Tabernanthe iboga*, presentó un efecto tipo antidepresivo más potente y rápido que fluoxetina (un conocido ISRS), en modelos comportamentales en roedores; lo que indica un perfil prometedor.¹¹ Además, a diferencia de otros ISRS, inhibe al transportador recaptador de serotonina (SERT) de forma no competitiva, lo que resulta interesante y lo diferencia a otros fármacos utilizados en la clínica.^{12,13} El amplio estudio sobre la neurofarmacología de este alcaloide está fundado en la descripción de su actividad antiadictiva.¹⁴

Los estudios observacionales, anecdóticos y ensayos clínicos abiertos indican que tras una única administración a altas dosis, los individuos que padecen trastorno por uso problemático de sustancias (principalmente opioides), presentan una marcada reducción del síndrome de abstinencia (*withdrawal*), y de la conducta de búsqueda de sustancia (*craving*). En este sentido, los efectos anti-adictivos podrían estar mediados, en parte, por efectos antidepresivos descritos anteriormente.

El desarrollo clínico de ibogaína se vio enlentecido —principalmente— por su capacidad de modificar el ritmo cardíaco, lo que puede resultar en generación de arritmias fatales.¹⁵ En concreto, ibogaína provoca la prolongación del intervalo QT del electrocardiograma, efecto que está asociado a su capacidad de inhibir el canal de potasio hERG, presente en miocitos del tejido cardíaco.¹⁶

Lo expuesto hasta el momento posiciona a la ibogaína y su espacio químico, como un terreno fértil para el acceso a moléculas con alto potencial antidepresivo sin dejar de tener en cuenta los aspectos negativos referidos a la cardiotoxicidad; cuya solución implica —igualmente— la generación de diversidad estructural. En la presente tesis se aborda la construcción de nuevos análogos de ibogaína mediante una estrategia semisintética, lo que implicó la selección de una fuente natural para la extracción de alcaloides, así como un estudio detallado de la reactividad de este tipo de estructuras. Para la estimación del potencial antidepresivo, se realizaron ensayos *in vitro* basados en cultivo celular, donde se evaluó a los compuestos preparados como inhibidores de hSERT y otros transportadores de monoaminas (Figura 2.1). Finalmente se estableció, solo para análogos seleccionados, la capacidad de inhibir el canal hERG, como forma de estimar su cardiotoxicidad.



Figura 1.2. Flujo de trabajo, tres grandes unidades temáticas que serán descritas como objetivos específicos del trabajo.
Referencias bibliográficas

- (1) McClure-Begley, T. D.; Roth, B. L. Nat. Rev. Drug Discov. 2022, 21 (6), 463–473.
- (2) Osmond, H. Ann. N. Y. Acad. Sci. **1957**, 66 (3), 418–434.
- (3) Apud Peláez, I. E.; Carrera, I.; Scuro, J.; Montero, F. Rev Psiquiatr Urug 2021, 85 (1), 63–76.
- (4) Vollenweider, F. X.; Preller, K. H. Nat. Rev. Neurosci. 2020, 21 (11), 611–624.
- (5) Yaden, D. B.; Yaden, M. E.; Griffiths, R. R. JAMA Psychiatry 2021, 78 (5), 469.
- (6) Davis, A. K.; Barrett, F. S.; May, D. G.; Cosimano, M. P.; Sepeda, N. D.; Johnson, M. W.; Finan, P. H.;
 Griffiths, R. R. JAMA Psychiatry 2021, 78 (5), 481–489.
- Mitchell, J. M.; Ot'alora G, M.; van der Kolk, B.; Shannon, S.; Bogenschutz, M.; Gelfand, Y.; Paleos, C.;
 Nicholas, C. R.; Quevedo, S.; Balliett, B.; Hamilton, S.; Mithoefer, M.; Kleiman, S.; Parker-Guilbert, K.;
 Tzarfaty, K.; Harrison, C.; de Boer, A.; Doblin, R.; Yazar-Klosinski, B. *Nat. Med.* 2023, *29* (10), 2473–2480.
- (8) Olson, D. E. *Biochemistry* **2022**, *61* (3), 127–136.
- (9) Olson, D. E. J. Exp. Neurosci. 2018, 12.
- (10) Hodes, G. E.; Russo, S. J. In *Drug Discovery for Psychiatric Disorders*; The Royal Society of Chemistry, 2012; pp 159–183.
- Rodríguez, P.; Urbanavicius, J.; Prieto, J. P.; Fabius, S.; Reyes, A. L.; Havel, V.; Sames, D.; Scorza, C.;
 Carrera, I. ACS Chem. Neurosci. 2020, 11 (11), 1661–1672.
- (12) Wasko, M. J.; Witt-Enderby, P. A.; Surratt, C. K. ACS Chem. Neurosci. 2018, 9 (10), 2475–2483.
- (13) Coleman, J. A.; Yang, D.; Zhao, Z.; Wen, P.-C.; Yoshioka, C.; Tajkhorshid, E.; Gouaux, E. *Nature* 2019, 569 (7754), 141–145.
- (14) Iyer, R. N.; Favela, D.; Zhang, G.; Olson, D. E. *Nat. Prod. Rep.* **2021**, *38* (2), 307–329.
- (15) Koenig, X.; Hilber, K. *Molecules* **2015**, *20* (2), 2208–2228.
- (16) Alper, K.; Bai, R.; Liu, N.; Fowler, S. J.; Huang, X.-P.; Priori, S. G.; Ruan, Y. *Cardiovasc. Toxicol.* 2016, *16* (1), 14–22.



2. Antecedentes

2 Antecedentes

En el presente capítulo se presenta el alcaloide ibogaína, en un recorrido que muestra: su historia, un importante paneo del estado del arte sobre su actividad biológica a nivel del sistema nervioso central (SNC) y su toxicidad, en especial su efecto sobre la función cardíaca. En la segunda sección, se introduce la patología de la depresión y las principales dianas farmacológicas para el tratamiento de esta; con énfasis en los transportadores de monoaminas humanos, que son de especial relevancia para esta tesis. Por último, se abordan los aspectos químicos de los alcaloides de la iboga, lo que incluirá una revisión del espacio químico explorado con objetivos de química medicinal, algunas modificaciones estructurales complejas sobre el producto natural, terminando por identificar las principales fuentes naturales (origen biosintético) poniendo foco en los procesos de extracción de alcaloides.

2.1 Ibogaína

2.1.1 Origen e historia

La ibogaína (1) es un alcaloide monoterpénico del indol que da nombre al grupo llamado "alcaloides de la iboga". El motivo estructural característico de esta familia incluye un biciclo isoquinuclidínico, fusionado a un sistema indólico a través de un anillo de tetrahidroazepina (Figura 2.1). Se identificó por primera vez como principal alcaloide del extracto de corteza de raíz de *Tabernanthe iboga* (1901), un arbusto de la región de África central, perteneciente a la familia Apocynaceae.¹ Sin embargo, su estructura definitiva fue reportada recién en 1958 por Taylor *et al*, quien propondrían la numeración del esqueleto utilizada más ampliamente en la actualidad (Figura 2.1).² La estructura posee un total de 4 centros quirales; y su configuración absoluta fue establecida por experimentos de difracción de rayos-X en 1960.³



Figura 2.1 Estructura de ibogaína con numeración del esqueleto propuesta por Taylor et al.²

Existe un uso ceremonial y ancestral extendido de *T. iboga* por parte de la cultura Bwiti, originaria de la región de África central (Gabón),⁴ quienes emplean la corteza de raíz molida del

arbusto como droga vegetal (a la que se refiere como "iboga"). Para esta cultura la *iboga* representa parte de su identidad, se la considera una vía de unión con los ancestros y el resto de la sociedad, y es base de un conjunto de creencias comunes.⁵ En los denominados "ritos de pasaje", los individuos ingieren grandes cantidades (*gramos*) del preparado vegetal y experimentan un estado psicodélico prolongado e intenso, que se asemeja a un ensueño vivido; y que les permite alcanzar vivencias espirituales profundas y conexión con lo divino. Esta experiencia del tipo onírica, se diferencia de la vivencia subjetiva de otras sustancias psicodélicas, y por esta razón se ha clasificado a la ibogaína como un psicodélico oneirogénico. El mecanismo por el cual ibogaína provoca estas alteraciones de la conciencia es desconocido, ya que a diferencia de los psicodélicos clásicos (LSD, Psilocibina o mescalina) no presenta una afinidad marcada por el receptor serotoninérgico 5HT-2A,⁶ (ver más adelante).

Hacia el año 1930, la ibogaína se comercializó en Francia como un extracto conteniendo aproximadamente 8 mg por dosis (cantidad baja que no produce efecto psicodélico) bajo el nombre de *Lambaréne*, con el fin de tratar la fatiga, la depresión y distintas enfermedades infecciosas.⁷ Esto probablemente fue inspirado en el uso que le daban los nativos africanos como estimulante a dosis bajas, para permanecer alerta en jornadas extendidas de caza y búsqueda de alimentos.⁸

En 1963, se descubrieron de forma inesperada las propiedades antiadictivas de ibogaína, cuando un grupo de usuarios experimentales de drogas que registraban su experiencia con diferentes psicoactivos, describen el cese de los síntomas de abstinencia y la conducta de búsqueda asociada a un uso problemático de heroína, tras haberse administrado única dosis de 19 mg/kg de ibogaína.⁵ De los 20 individuos, 7 cursaban una adicción a la heroína y luego de su experiencia, 5 de ellos reportaron que tanto su deseo de consumo, como los síntomas asociados a la abstinencia de heroína desaparecieron y permanecieron ausentes durante meses.⁹ Quien coordinaba estas reuniones de usuarios era un joven activista llamado Howard Lotsof.

A principios de los años '90, Lotsof patentó el uso de ibogaína para el tratamiento de la abstinencia a opioides,¹⁰ la dependencia a cocaína y otros estimulantes,¹¹ a alcohol,¹² a nicotina¹³ y/o a una combinación de ellas.¹⁴ A su vez, llevó a cabo estudios de carácter observacional, donde administró dosis de ibogaína vía oral (v.o.) entre 5 y 25 mg/kg a grupos de 3 a 5 adultos. Según lo descrito, una única dosis eliminó la necesidad de consumo por un tiempo máximo de 6 meses, mientras que una serie de 4 dosis administrada a uno de los individuos fue efectiva durante 3 años.

El compromiso, activismo y dedicación de Lotsof para impulsar la investigación sobre el potencial antiadictivo de la ibogaína, así como los impactantes reportes anecdóticos de usuarios que lograron dejar su dependencia a opioides y otras sustancias de abuso; permitieron inspirar a varios investigadores de la comunidad científica, para llevar a cabo investigaciones preclínicas y clínicas sobre el potencial antiadictivo de este alcaloide, sobre las cuales se realiza una breve reseña a continuación.

2.1.2 Evidencia preclínica y clínica de sus efectos antiadictivos

2.1.2.1 Efecto de ibogaína en modelos preclínicos de adicción

Los primeros estudios para evaluar el potencial antiadictivo de la ibogaína se llevaron a cabo utilizando el paradigma conductual de autoadministración de drogas en roedores.¹⁵ Este modelo implica entrenar a los animales para realizar una tarea específica, como presionar una palanca o colocar el hocico en un orificio (conocido como *nosepoke* en inglés), la cual se asocia a una dosis de fármacopor vía intravenosa. Si el fármaco tiene un efecto reforzador, entonces se espera un aumento y repetición de la conducta, lo que indica búsqueda de la droga. La motivación del animal a repetir el comportamiento se desafía, hasta llegar al punto de quiebre (*breaking point* en inglés), que indica el máximo esfuerzo que el animal está dispuesto a hacer para obtener una dosis de la sustancia.¹⁵

En estudios bajo este paradigma comportamental, ibogaína demostró disminuir la autoadministración de diferentes sustancias de abuso. Esto fue evidenciado para una sustancia proadictiva como la morfina (opioide), donde la administración de una única dosis de ibogaína 40 u 80 mg/kg en ratas, disminuyó de manera significativa la autoadministración intravenosa (i/v) durante 48 horas.¹⁶ Con este resultado, los autores sugieren que ibogaína estaría afectando la propiedad reforzadora de la morfina.

Efectos similares fueron registrados en experimentos análogos, pero con la autoadministración i/v de cocaína,¹⁷ donde una única dosis de ibogaína de 40 mg/kg también disminuyó significativamente su autoadministración durante 48 horas. La variabilidad en el efecto comportamental de los animales resulta significativamente alta en tiempos mayores a las 48 horas posadministración; en algunas se vuelve a la condición basal, mientras que en otras, la disminución de la autoadministración se prolonga por períodos más largos (semanas).^{18,19} El cambio de la posología, de una a dos dosis de ibogaína, afianza los efectos de disminución de la autoadministración a largo plazo.^{17–19}

La ampliación del espectro a otras sustancias reforzadoras de la autoadministración llevó al ensayo sobre la ingesta de alcohol y nicotina. Ibogaína disminuyó la preferencia por el alcohol de manera dosis dependiente luego de una única administración intraperitoneal o intragástrica. ²⁰⁻²² Un efecto similar se observó para la la autoadministración vía oral de nicotina.²³ Para la autoadministración de estas dos últimas sustancias los efectos aparentan no ser tan duraderos como para morfina o cocaína (semanas).²³

A partir de estos ensayos preclínicos (en los que se destaca la labor del farmacólogo Stanley Glick) y el estudio *in vitro* de la acción de ibogaína sobre receptores del SNC se han formulado múltiples hipótesis sobre su mecanismo de acción farmacológico que serán analizadas más adelante (apartado 2.1.3).

2.1.2.2 Estudios clínicos con ibogaína

Los prometedores efectos antiadictivos reportados de manera anecdótica para la ibogaína, junto con los excelentes resultados obtenidos en estudios preclínicos, han impulsado la realización de investigaciones clínicas. En la Tabla 2.1 se resumen los principales estudios realizados hasta la fecha, detallando la metodología empleada, las dosis administradas, el número de participantes y la sustancia adictiva tratada. Se observa que la mayoría de estos estudios son ensayos abiertos u observacionales, con la excepción de un ensayo doble ciego.²⁴ A pesar de los alentadores e impactantes hallazgos de eficacia, el avance de las investigaciones clínicas con ibogaína se ha visto obstaculizado por preocupaciones relacionadas con la seguridad y aspectos regulatorios. Como se discutirá más adelante en detalle (apartado 2.1.4), la ibogaína puede bloquear los canales de potasio hERG en el miocardio, lo que puede prolongar el intervalo QTc en el electrocardiograma y dar lugar a la aparición de arritmias ventriculares, situación que ha resultado en fatalidades durante la administración de la sustancia en entornos clínicos alternativos.²⁵ Esto ha impedido la progresión de los estudios clínicos a fase III, deteniendo el desarrollo de ibogaína como medicamento en los últimos años.

En cuanto a los aspectos regulatorios, la ibogaína fue clasificada por la DEA de Estados Unidos (1967) como una sustancia ilegal incluyéndola en la lista 1, que refiere a sustancias "sin uso médico conocido y generadores de dependencia". Esto difiere con la evidencia científica aquí planteada. Esta acción gubernamental debe ser entendida como una decisión política en un contexto de auge prohibicionista de las sustancias psicoactivas a mediados del siglo pasado. Ibogaína tiene una categorización similar en 9 de los 28 países de la Unión Europea; mientras que, en Brasil, Nueva Zelanda y Sudáfrica existe una regulación novedosa que la clasifican como sustancia de uso farmacéutico, con uso restringido a contextos médicos. En el resto de los países del mundo (como es el caso de Uruguay), no existe regulación sobre esta sustancia. Al igual que con otros psicodélicos, la investigación científica se ha visto coartada por este contexto legal, ya que es necesario contar con permisos especiales y estrictos controles para realizar labor experimental con ibogaína en los países en los cuales se clasifica como sustancia controlada.

A pesar de estos efectos secundarios no deseados y los aspectos legales mencionados, se ha observado un creciente interés en la comunidad científica por seguir explorando el potencial terapéutico de la ibogaína de forma clínica, motivado por la escasa oferta de farmacoterapias disponibles para el tratamiento de uso problemático de sustancias. En los últimos años, se han iniciado nuevas investigaciones con el objetivo de abordar y mitigar los problemas de seguridad asociados, generando protocolos clínicos cuidadosamente diseñados bajo un estricto control médico, que incluyen:

 Incremento gradual de la dosis de ibogaína administrada, con monitoreo electrocardiográfico continuo para evaluar la prolongación del intervalo QT durante la administración. ²⁶

- 2. Desintoxicación previa de los pacientes antes de la administración de ibogaína, lo cual implica la interrupción del consumo de sustancias adictivas y medicamentos para evitar interacciones no deseadas que puedan intensificar la prolongación del intervalo QT y/o aumentar la vida media de la ibogaína y la noribogaína.
- Rigurosa selección de pacientes mediante un criterio de exclusión estricto, que incluye evaluación psiquiátrica, así como evaluación de condiciones cardíacas preexistentes y función hepática.
- 4. Co-administración de magnesio, ya que se ha demostrado que puede reducir el intervalo QTc,²⁷ lo que sugiere que su uso conjunto con ibogaína podría ofrecer cardioprotección y mejorar la seguridad del tratamiento. Este efecto de cardioprotección ha sido probado para ibutilida,²⁸ otros fármacos con el mismo mecanismo de acción cardiotóxica que ibogaína (ver más adelante apartado 2.1.4).

A su vez, se está estudiando la potencial aplicación clínica de ibogaína para otros desórdenes neuropsiquiátricos. Un artículo publicado este año en la prestigiosa revista *Nature Medicine* muestra un ensayo clínico en 30 veteranos con traumatismo craneoencefálico (TCE).²⁹ En este estudio clínico se realizó una administración gradual de ibogaína comenzando con una dosis baja de 2 mg/kg para evaluar efectos sobre la fisiología cardíaca; pasada una ventana de seguridad de 40 minutos, la dosis se ajusta a 14 mg/kg de ibogaina coadministrada con magnesio (sulfato). El tratamiento redujo sustancialmente los síntomas de trastorno por estrés post-traumático (PTSD, por sus siglas en inglés), depresión y ansiedad de los pacientes y disminuyó los puntajes en una escala de discapacidad en comparación con las mediciones basales, tanto inmediatamente después del tratamiento como en el seguimiento realizado un mes después. No se reportaron efectos secundarios inesperados ni eventos adversos graves. Es importante destacar que el estudio no fue un ensayo controlado aleatorio y, como tal, no incluyó ningún grupo control; pero sin duda, los impresionantes resultados obtenidos desencadenarán ensayos más rigurosos para evaluar la eficacia de la terapia con ibogaína-magnesio para el TCE y otras condiciones psiquiátricas.

Artículo	Metodología	Dosis	Ν	Sustancia de uso	Resultados
Mash 2000 ³⁰	Ensayo clínico abierto	500, 600 o 800 mg	27	Opioides y cocaína	Disminución del " <i>craving</i> " a las 36 horas y a la semana luego del tratamiento tanto para ambas drogas. Disminución de los síntomas de depresión durante 1 mes luego tratamiento.
Mash 2001 ³¹	Ensayo clínico abierto	800 mg; 10 mg/kg	32	Heroína y metadona	Disminución del " <i>craving</i> " a las 36 horas y a la semana luego del tratamiento. Disminución de los síntomas de depresión durante 1 mes luego tratamiento.
Davis 2017 ³²	Estudio observacional retrospectivo	5-15 mg/kg	88	Opioides	80% redujo los síntomas de abstinencia. 30% no volvió a consumir opioides.
Brown & Alper 2018 ³³	Estudio observacional prospectivo	12 mg/kg	30	Opioides	50% se mantuvieron en abstinencia luego de 1 mes post tratamiento, 30% luego de 3 meses y un 23% luego de 12 meses.
Mash 2018 ³⁴	Ensayo clínico abierto	8-12 mg/kg	191	Cocaína (102) y opioides (89)	Reducción del " <i>craving"</i> , síndrome de abstinencia y síntomas de depresión a los 5 días y luego de un mes del tratamiento.
Schenberg 2014 ³⁵	Estudio observacional retrospectivo	17 mg/kg	75	Cocaína	Media de abstinencia de 5,5 meses luego de 1 sesión de tratamiento y 8,4 meses luego de múltiples tratamientos.
Schenberg 2016 ³⁶	Estudio observacional retrospectivo, perspectiva cualitativa	15 mg/kg	22	Cocaína y crack	Disminución de la búsqueda de las drogas así como una notoria mejora de la calidad de vida.
Prior y Prior 2014 ²⁴	Estudio doble ciego	1800 mg	20	Cocaína	Reducción significativa del uso de cocaína entre el grupo tratado con ibogaína y el grupo placebo (p <0,0001).

Tabla 2.1 Resumen de los ensayos clínicos llevados a cabo (finalizados) con ibogaína. Adaptado de Gallo Alfonso *et al.*³⁷

2.1.3 Farmacología y mecanismo de acción

Ibogaína presenta una farmacocinética y farmacodinamia compleja, y hasta la fecha, a pesar de extensas investigaciones llevadas a cabo, su mecanismo de acción antiadictivo sigue sin elucidarse. De esta manera, actualmente no se cuenta con un blanco farmacológico único que explique sus efectos terapéuticos a pesar de varias hipótesis durgidas a lo largo de los últimos años al respecto. De la misma manera, tampoco se conoce el mecanismo farmacológico que explique sus peculiares efectos psicodélicos, ya que a diferencia de los psicodélicos clásicos como LSD, mescalina o psilocibina, ibogaína presenta una afinidad baja por el receptor 5-HT2A.

A continuación, se realiza una reseña sobre la farmacología de ibogaína e investigaciones recientes llevadas a cabo por nuestro grupo interdisciplinario para ahondar en su mecanismo de acción.

2.1.3.1 Farmacocinética

La ibogaína sufre desmetilación a nivel del metoxilo indólico C10; su principal metabolito es la noribogaína que fue identificada inicialmente en experimentos *in vitro* con microsomas hepáticos.³⁸ La demetilación está catalizada principalmente por la acción del citocromos CYP2D6 y en menor medida por CYP2C19 y CYP3A4,³⁹ lo que sugiere que ibogaína sufriría un metabolismo de primer pasaje hepático. Noribogaína tiene afinidad por varios receptores del SNC al igual que ibogaína (ver siguiente punto 2.1.3.2), y también puede atravesar la barrera hematoencefálica por lo que es considerado un metabolito activo esencial para el entendimiento de la actividad biológica.

En humanos: se registran dos estudios farmacocinética con ibogaína.⁴⁰⁻⁴² Uno en voluntarios sanos (n=21), donde ibogaína fue administrada vía oral en una dosis única de 20 mg (0,285 mg/kg), que provocó un pico de concentración Tmax= 1,5 h posadministración, con una vida media de 2–5 h.⁴¹ En este estudio también se incluye un grupo experimental pretratado con paroxetina (un conocido inhibidor de la CYP2D6); donde el tiempo de vida media se extendió a 10,2 h, registrando concentraciones detectables de ibogaína incluso luego de 72 h. Además, se observan influencias del genotipo CYP2D6 de los pacientes, diferenciando entre metabolizadores rápidos y lentos; esto demuestra que CYP2D6 es el isotipo de citocromo responsable por la metabolización del alcaloide.

El pico de noribogaína producto de la metabolización se observa entre 3-4 h posterior a la administración de ibogaína.



Figura 2.2 Metabolización de ibogaína en humanos, datos extraídos de diferentes estudios clínico. " $t_{1/2}$ ": tiempo de vida media.

En comparación, el segundo estudio la ibogaína se realizó en usuarios de heroína en tratamientos de desintoxicación (n=24),³¹ a los cuales se administró una dosis alta (10 mg/kg) vía oral. Se registró un pico de concentración máxima en plasma posadministración de Tmax=1,7 h. El tiempo de vida media informado fue de 7,45 horas, lo que implica que el tiempo necesario para la eliminación >90% de la droga administrada es superior a 24 h; un período de tiempo luego del cual se siguen registrando concentraciones elevadas de noribogaína, lo que hizo inviable estimar un tiempo de vida media para noribogaína.³¹ Existe una diferencia entre los dos estudios en cuanto al valor de vida media reportado para ibogaína (2-5h vs 7,45h), lo que podría deberse a diferencias metabólicas entre pacientes sanos y pacientes con uso problemático de sustancias.

También hay registro de estudios farmacocinéticos con la administración oral del metabolito activo, noribogaína.⁴⁰ En este estudio se trabaja con n=36 voluntarios sanos, a los cuales se le administran distintas dosis (por grupo) de 3, 10, 30 y 60 mg de noribogaína por vía oral. Se determinó un pico máximo de concentración en plasma Tmax=2–3 h posadministración. Noribogaína demostró tener una vida media mucho más larga que la de ibogaína (28–49 h), lo que fuertemente sugiere que puede estar implicada en sus efectos farmacológicos.

En animales. Para la progresión de estudios preclínicos es importante determinar los parámetros farmacocinéticos en animales, lo que además permite determinar las concentraciones de fármaco en tejido y/o fluido del cerebro.^{31,43,44}

Según Mash *et al (2001)*, en estudios de biodistribución en ratas (n=4)(Tabla 2.2), la administración i.p. de ibogaína (40 mg/kg) es seguida por una distribución rápida del fármaco detectando concentraciones en el cerebro pasado 15 minutos de la administración.³¹ Se demostró que la cinética de eliminación de la ibogaína en el cerebro tiene una vida media de aproximadamente

11 h, y alcanza una concentración máxima de ~11 μ M, y resultados similares se observan para la administración p.o. donde la concentración en el cerebro alcanza los ~15 μ M. El pico máximo de producción de noribogaína se observa en plasma a las 2,4 h post administración (40 mg/kg i.p.), lo que corresponde a una concentración de ~21 μ M.

	Plasma	Cerebro	Cerebro
	(40mg/kg i.p.)	(40mg/kg i.p.)	(50mg/kg p.o.)
Ibogaína			
Tmax, (h)	0,1	1,0	1,0
[µM]	11,2	11,0	15,1
t _{1/2} (h)	2,38	11,05	ND
Noribogaina			
Tmax, (h)	2,40	2,00	2,00
[µM]	21,9	9,8	11,3
t _{1/2} (h)	ND	ND	ND

Tabla 2.2 Datos farmacocinéticos seleccionados del estudio preclínico en Ratas (Spraugue-Dawley). "Tmax": tiempo del pico de concentración máxima. "[**µM**]" concentración micromolar máxima alcanzada en el tejido. "t_{1/2}": tiempo de vida media. "ND": no determinado. No se muestra la desviación estándar (±) para una mejor visualización de los datos. Adaptado de Mash *et al*.³¹

En el tejido cerebral, se registran cantidades apreciables de noribogaína en un mismo rango de concentración 9,8-11,3 μ M, independientemente de la vía de administración (i.p. vs p.o.).³¹ Los siguientes datos demuestran que tanto ibogaína como su metabolito activo, alcanzan concentraciones elevadas en el SNC (9,8-15,1 μ M). Esto indica para los receptores que tiene afinidad en el rango bajo- μ M, puede haber una activación/inhibición relevante.

Un reporte de *Baumann et al* (2001),⁴⁵ demuestra que la administración i.v. de 10 mg/kg de ibogaína, evita una gran parte de la conversión a noribogaína en el hígado. En comparación con una administración i.p. de 40 mg/kg (Tabla 2.2) la concentración máxima (Cmax) de noribogaína alcanzada es unas 6 veces menor. De esta forma, el autor establece que para evaluar los efectos farmacológicos de ibogaína sin la influencia de noribogaína, los experimentos en animales deberían realizarse a tiempos cortos, utilizando una administración i.v.

En un reporte farmacocinético más reciente, utilizando ratas (Wistar), nuestro grupo reportó datos coincidentes con los ya expuestos,⁴⁶ pero registrando una metabolización no tan rápida, ya que la concentración de noribogaína supera a la de ibogaína recién luego de los 45 minutos posadministración (Figura 2.3). Las concentraciones para ambos compuestos fueron superiores en el tejido cerebral que en el plasma sanguíneo (~7,7-7,9 veces más). El valor de concentración libre fue estimado en función de la concentración total, ponderado por un valor de unión a proteínas plasmáticas y unión inespecífica a tejido cerebral, determinado como parte del ensayo.⁴⁶ Para el tejido nervioso se establece entonces una concentración libre máxima de 3,0 µM tanto para ibogaína

como para noribogaína, sensiblemente menor al valor reportado por Mash & Baumann (2001) de 9,8-15,1 μM.



Figura 2.3 Perfil de concentración de ibogaína y noribogaína total, tras la administración i.p. de ibogaína (40 mg/kg), en plasma sanguíneo (A) y en cerebro (B). Perfil de concentración libre de ibogaína y noribogaína, tras la administración i.p. de ibogaína (40 mg/kg), en plasma sanguíneo (C) y en cerebro (D).Adaptado de Rodríguez et al.⁴⁶

2.1.3.2 Farmacodinamia

Ibogaína y noribogaina se unen con afinidades débiles (rango micromolar) a muchas proteínas objetivo del sistema nervioso central (Tabla 2.3). Sin embrago, como fue expuesto en el punto anterior, las dosis utilizadas de ibogaína tanto en modelos preclínicos como para su administración a seres humanos provocan concentraciones altas de ibogaína y noribogaina en el cerebro. Por ejemplo, según datos de nuestro grupo, la administración de una dosis intraperitoneal de 40 mg/Kg de ibogaína en ratas, genera una concentración máxima libre en cerebro cercana a 3,0 μM para ibogaína y noribogaina.⁴⁶ Teniendo en cuenta este valor y los datos de la Tabla 2.3, se concluye que ibogaína y noribogaina tendrán una interacción apreciable sobre los siguientes blancos farmacológicos: receptores opioides (KOR y MOR); receptores serotoninérgicos del subtipo 2A y 3; el canal NMDA (glutamatérgico); receptores nicotínicos α3β4 (nACh); receptores sigma (σ1, σ2), y los transportadores de serotonina (SERT) y dopamina (DAT). No sería relevante con este criterio, la acción sobre: receptores serotoninérgicos para noribogaína; los receptores dopaminérgicos (D1-D3); los receptores muscarínicos de acetilcolina (M1 y M2) y la inhibición por el transportador de noradrenalina.

A continuación, se analiza la acción de ibogaína y noribogaína sobre los receptores definidos como relevantes para la acción farmacológica. Cabe destacar que la mayoría de los datos de afinidad de la Tabla 2.3 fueron obtenidos por técnicas de desplazamiento de ligandos marcados, lo que indica una fuerza de unión, pero no especifica una consecuencia funcional sobre el receptor (activación/agonismo, bloqueo sin activación/antagonismo).

Receptor	Ibogaína	Noribogaína	Referencia
KOR	2.2 **	0.61 ***	47,48
MOR	2.0 - 3.0 *	0.68 - 13 *	47-49
DOR	>10	5.2-25	42,50
5-HT1A	>100	>100	48
5-HT1D	>100	>100	48
5-HT2A	1.8 - 92.5	>100	51-54
5-HT3	2.6	>100	48
D1	>10	>10	48
D2	>10	>10	48
D3	70	>100	48
NMDA	1.01 – 5.20 *	5.48 - 31.4 *	44,52,54-59
M1	16	15	48
M2	32	36	48
nACh (α3β4)	1.1 - 9.5 *	17 *	60-62
σ1	2.5 – 9.3	11 - 15	48,63
σ2	0.09 - 0.25	5.2 - 19	48,63
SERT	4.1	0.57	38,48,64
DAT	2.0	2.0	65
NET	>100	39	42
VMAT2	2.23	4.99	44

Tabla 2.3 Valores de afinidad expresados como constante de disociación **Ki (μM)** * antagonista; ** agonista; *** agonista parcial.

Receptores opioides (KOR y MOR)

Los estudios iniciales de desplazamiento de radioligando sobre el receptor mu (MOR),⁵² sugirieron que tanto la ibogaína como su metabolito se unen con afinidades en el bajo rango micromolar a este receptor (μ M). En su momento, impulsado por el objetivo de explicar los efectos antiadictivos de ibogaína y noribogaina observados sobre la dependencia a morfina, se propuso la hipótesis de un modo de acción similar al de otros tratamientos como la buprenorfina (un agonista parcial de MOR),⁶⁶ y la metadona (un agonista de MOR);⁶⁷ para los que se propone un paradigma de "mantenimiento" o "remplazo". Se sugirió entonces que ibogaína y noribogaína tenían una acción agonista sobre MOR,⁶⁸ pero posteriormente se demostró inequívocamente que ambos congéneres actúan como antagonistas del receptor.⁶⁹ Para ello se realizaron experimentos para medir la activación de MOR en cultivos celulares que expresan el receptor, usando un análogo de guanosina marcado para medir la respuesta intracelular de activación de proteína G ([35S]GTPγS: guanosine-5'-O-(γ-thio)-triphosphate).⁴⁹ Se corrigieron los valores de Ki a 3 μ M (ibogaína) y 13 μ M (noribogaína)

por lo que deben considerarse antagonistas débiles de MOR (siendo ibogaína más potente que noribogaína).

A su vez, ambos compuestos actúan como agonistas del receptor kappa (KOR),aunque noribogaína tiene una mayor afinidad (rango submicromolar).^{44,47} Además, dicho metabolito activo exhibe un peculiar y poco común agonismo sesgado para diferentes vías de señalización en el KOR, pudiendo activar la señalización mediada por proteína G (como un agonista parcial) y al mismo tiempo inhibir la acción de las beta-arrestinas. Los agonistas KOR tienen un potencial terapéutico porque ejercen efectos analgésicos, antidepresivos y neuroprotectores; sin embargo su uso clínico se ve limitado porque generan también disforia (asociada a la vía de las beta arrestinas) y efectos de alteración de la percepción del entorno.⁷⁰ De esta manera noribogaína podría presentar efectos terapéuticos, sin presentar la disforia característica de estos agentes farmacológicos. A su vez, acción agonista sobre KOR es una de las posibles explicaciones para la acción psicodélico atípico" es un agonista selectivo KOR, aunque mucho más potente (Ki: 4.3-16 nM).^{71,72}

Receptores de serotonina (5HT-2A y 5HT-3)

Existen múltiples estudios *in vitro* sobre la acción de ibogaína sobre el receptor 5HT-2A,⁵¹⁻⁵⁴ debido a que el agonismo sobre este subtipo es señalado como el responsable de los efectos psicodélicos de los llamados "psicodélicos clásicos o sertoninérgicos" como LSD, mescalina, pscilocibina y otros análogos sintéticos como 2-CB, NBOMe, etc.^{73,74} Al contrario de estos compuestos que cuentan con una afinidad nanomolar por el receptor,⁷⁴ ibogaína tiene una afinidad del orden micromolar (1,8-92 µM) que varía según la fuente consultada. De esta manera es poco probable que el estado alterado de conciencia generado por ibogaína obedezca, a esta débil acción sobre el 5HT-2A.

El receptor 5-HT3, a diferencia de otros receptores de 5-HT, pertenece a la familia de canales iónicos controlados por ligandos.⁷⁵ Está compuesto por cinco subunidades dispuestas alrededor de un poro central permeable a iones de sodio, potasio y calcio, y su activación por serotonina induce una respuesta excitatoria neuronal; la corriente resultante, predominantemente de sodio y potasio, provoca una rápida activación.⁷⁵ Este receptor tiene mayor similitud con el receptor nicotínico de acetilcolina en términos de homología, que con el resto de los receptores serotoninérgicos de naturaleza metabotrópica (asociados a proteína G). Su rol dentro del SNC no es claro, ya que se encuentra presente tanto en terminales pre como pos-sináptica,⁷⁶ del hipocampo y la amígdala. El análisis en profundidad de la acción de ibogaína sobre este receptor, que no posee una funcionalidad clara definida en la literatura excede los objetivos de la presente tesis.



Figura 2.4. Resumen de la actividad de ibogaína sobre los receptores con afinidad significativa expresada como **Ki** (constante de disociación). "ag": agonista. "antg": antagonista. "Bloq": bloquea.

Receptor N-metil-D-aspartato (NMDA)

El receptor glutamatérgico NMDA es un canal iónico no selectivo permeable a cationes (Na⁺, K⁺, Ca²⁺), el glutamato —principal neurotransmisor excitatorio del SNC— es agonista de este canal, provocando su apertura. La transmisión glutamatérgica está involucrada en los procesos de memoria, aprendizaje y transmisión del dolor, y su disfunción aparece relacionada a patologías como la epilepsia, la esquizofrenia, y enfermedades neurodegenerativas como (Parkinson, Huntington y Alzheimer).⁷⁷

Ibogaína es un antagonista no competitivo del receptor NMDA, con una afinidad micromolar baja (1,01-5,20 μ M); mientras que noribogaína resulta menos activa sobre este canal (5,48-31,4 μ M dependiendo del estudio consultado).44,52,54-59 Esta acción antagonista vincula los efectos de ibogaína con los de ketamina (un psicodélico no clásico de carácter disociativo), y un estudio llevado a cabo nuestro grupo interdisciplinario muestra semejanzas entre componentes por electroencefalográficos detectados durante la vigilia inducida en ratas por ibogaína y ketamina.⁷⁸⁻⁸⁰ Esto propone la hipótesis de que los efectos psicodélicos de ibogaína podrían estar mediados, al menos en parte, por su acción en la transmisión glutamatérgica. Con respecto a la contribución del antagonismo NMDA sobre los efectos antiadictivos de ibogaína, no está claro el efecto de otras sustancias de este tipo como ketamina sobre la autoadministración de sustancias opioides en modelos preclínicos, ya que en la literatura se encuentran reportes contradictorios.^{81,82} Por esto, es poco probable que el antagonismo NMDA de ibogaína explique sus efectos antiadictivos.

Por otro lado, ketamina ha sido aprobada recientemente por la autoridad sanitaria de EEUU (FDA) para su uso como antidepresivo de rápida acción contra la depresión mayor resistente.⁸³ Esta similitud, plantea la posibilidad que ibogaína, que también presenta actividad como antagonista de NMDA, posea también un potencial antidepresivo de rápida acción (registrado en modelos preclínicos por nuestro grupo, ver más adelante punto 2.1.3.3).

Receptor nicotínico de acetilcolina (nACh a3β4)

Los receptores colinérgicos de tipo nicotínico (nACh) son de tipo ionotrópico, a diferencias de los muscarínicos asociados a proteína G (metabotrópicos). Existen múltiples subtipos de nACh que se clasifican según el tipo de subunidad que conforma el canal pentamérico, que pueden ser α o β . El ejemplo más conocido de nACh es el involucrado en la junción neuromuscular de la placa neuromotora (en el cual ibogaína no tiene acción).⁸⁴

Los receptores nACh que se encuentran presentes a nivel del SNC son menos conocidos; La ibogaína es un antagonista no competitivo particularmente del subtipo $\alpha 3\beta 4.^{85}$ El receptor $\alpha 3\beta 4$ se expresa en la vía colinérgica habenulo-interpeduncular del cerebro, considerada una vía de recompensa de drogas alternativa al circuito de recompensa dopaminérgico clásico (VTA-NAc).⁶⁰ La ibogaína muestra afinidades de unión en el rango bajo micromolar (1,1-9,5 µM) que varía en los reportes de literatura, dependiendo del ensayo utilizado.⁶⁰⁻⁶² Incluso se ha estudiado en detalle la unión de ibogaína sobre este receptor mediante métodos experimentales y computacionales;^{60,61,86,87} y se establece que el alcaloide se una a la parte central del canal iónico, bloqueando el poro de pasaje de cationes. El receptor nACh ($\alpha 3\beta 4$) es definido como el principal blanco molecular de 18-MC un análogo sintético de ibogaína con importante actividad antiadictiva que se describe en detalle más adelante (apartado 2.3.1). De esta manera los receptores nicotínicos han sido postulados como un blanco potencial de la actividad antiadictiva de ibogaína; aunque la interacción con los mismos no logra explicar los efectos duraderos y persistentes en el tiempo, luego de la eliminación de ibogaína y noribogaína del organismo.

Receptores sigma ($\sigma 1 y \sigma 2$)

Inicialmente se clasificó a los receptores sigma como un subtipo de receptor opioide, porque se registró una fuerte unión de los estereoisómeros *d* de la clase de fármacos derivados de la benzomorfina. Tras la clonación del receptor σ 1 se observó que no guardaba relación evolutiva con los receptores kappa, mu y delta; además se localiza principalmente en el interior celular, unido a la superficie del retículo endoplásmico (RE).⁸⁸ La función de los receptores sigma se encuentra poco estudiada, pero se sabe que juega un papel importante en la modulación de la neurotransmisión noradrenérgica, serotoninérgica, dopaminérgica y glutamatérgica.⁸⁸ La cocaína, por ejemplo, es un agonista σ que a altas dosis provoca convulsiones en animales; la administración de un antagonista σ bloquea las convulsiones generadas por cocaína.⁸⁹ Además, un psicodélico clásico como la DMT también presenta afinidad por los receptores sigma, sin una diferencia de actividad entre los subtipos (14,7 y 21,7 µM respectivamente).⁹⁰

La afinidad reportada para ibogaína sobre el receptor σ^2 es la única que se encuentra en el rango nanomolar; (únicamente la actividad de noribogaína sobre los receptores opioides se encuentra en el mismo rango).^{63,91} Dentro de los subtipos del receptor, ibogaína es unas 43 veces más activo sobre el σ^2 que σ^1 (Ki σ^2 : 201nM y Ki σ^1 : 8554nM).⁶³ No es claro si la acción sobre los receptores sigma por parte de los alcaloides de la iboga es agonista o antagonista. La falta de inhibidores selectivos para receptores sigma y sus subtipos ha impedido el avance del entendimiento de la función de estos receptores. Es necesaria mayor investigación en torno al funcionamiento y rol del receptor antes de establecer efectos fisiológicos en consecuencia a la acción de ibogaína sobre estas dianas farmacológicas.⁷⁸

Transportadores de monoaminas (DAT, SERT y VMAT2)

Los transportadores de monoaminas (MAT) son una familia de proteínas transmembrana cuya función principal es la recaptación del neurotransmisor (NT) desde la hendidura sináptica hacia el citosol de la neurona presináptica (terminal) (Figura 2.5).⁹² Existen diferentes transportadores específicos para cada neurotransmisor dopamina (DAT), serotonina (SERT) y noradrenalina (NET). Las características estructurales de estas proteínas se analizan en detalle más adelante, con SERT como diana principal (apartado 2.2.2).



Figura 2.5 Representación gráfica de una sinapsis serotoninérgica. En color violeta la terminal pre-sinaptica y en celeste la pos-sinaptica.

En la Figura 2.5 se ejemplifican la serie de eventos que ocurre durante una sinapsis, los cuales se describen a continuación:

- Los NTs (en este caso 5HT) son liberados por exocitosis tras el desencadenamiento de un potencial de acción en la neurona presináptica, que promueve la fusión de las vesículas —que almacenan el mismo— con la membrana celular.
- El NT ejerce su acción en los receptores de la terminal postsináptica, activando receptores ionotrópicos o metabotrópicos.
- Posteriormente el NT debe ser removido para que el impulso nervioso finalice y para ello los MAT permiten la recaptación para su reingreso a la terminal presináptica. El reciclaje del NT implica una ganancia metabólica para la célula que no necesita biosintetizarlo *de novo*.
- 4. Una vez en el citosol presináptico, para que el NT pueda ser utilizado nuevamente, este debe ser almacenado en vesículas sinápticas, de lo contrario será degradado (ver abajo). Esta función lo cumple otro MAT, el transportador vesicular (VMAT2); es la misma proteína para todos los NT clasificados como monoaminas (serotonina, dopamina y noradrenalina).
- 5. El NT que no es almacenado por la vesícula sináptica y permanece en el citosol celular, es degradado por la enzima monoaminooxidasa (MAO) que está presente a nivel mitocondrial. Existen dos formas principales de MAO con diferente tolerancia al sustrato, presentando la MAO-A mayor afinidad para serotonina, dopamina y noradrenalina; mientras que la MAO-B tiene más afinidad para la feniletilamina y dopamina. En el caso de serotonina, la MAO-A la degrada al aldehído correspondiente (mediante reacción de transaminación), que es oxidado inmediatamente a ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) en el medio celular (ver más adelante Figura 2.12).

DAT. Desde el comienzo del estudio sobre la acción y actividad biológica de ibogaína, hubo un foco muy importante en la transmisión dopaminérgica, ya que el incremento de esta en regiones del circuito de recompensa del cerebro (Núcleo Acumbens, VTA, etc) está asociado a los efectos reforzadores de moléculas con potencial adictivo como cocaína y anfetaminas.⁹³

En modelos de evaluación *in vitro* con sinaptosomas, la ibogaína (20µM) bloquea la captación de dopamina a través de la inhibición del transportador (DAT),⁹⁴ lo que podría —potencialmente aumentar los niveles extracelulares de dopamina. Sin embargo, estudios *in vivo* encontraron que tanto ibogaína como noribogaína tienen una baja afinidad por DAT (Tabla 2.3), y no afectan los niveles de dopamina en el núcleo accumbens.⁴⁵ Otros estudios *in vivo* demostraron que los efectos de la ibogaína en la cantidad de dopamina extracelular dependen de la región cerebral involucrada.⁹⁵

Además, la ibogaína induce disminuciones marcadas y sostenidas en la concentración de dopamina total del tejido, junto con la elevaciones en los metabolitos producto de la descomposición

del NT, DOPAC y HVA (Figura 2.6).⁹⁶ Estos efectos de la ibogaína son específicos del sistema dopaminérgico, ya no se observa —de forma análoga— la baja del contenido total de 5HT del tejido.



Figura 2.6 Vía catabólica de dopamina (DA), se produce DOPAC (ácido 3,4dihidroxifenilacético) y HVA (ácido homovanílico). MAO: mono-aminooxidaza. COMT: catecol-O-metiltransferaza.

Es difícil definir cómo se producen los efectos finales sobre el nivel extracelular de dopamina, ya que tanto ibogaína como noribogaína inhiben DAT. Adicionalmente, también presentan actividad sobre otros receptores que pueden regular la concentración extracelular del NT. Por ejemplo: la activación aguda de KOR inhibe la liberación de dopamina específicamente en el NAc y el estriado dorsal.⁹⁷ Es plausible que ambos mecanismos, la inhibición de DAT y la activación de KOR, se contrarresten entre sí; con un efecto final que dependerá de la dosis de ibogaína/noribogaína administrada; los niveles de dopamina podrían aumentar o disminuir

Además, se encuentra poco estudiada la acción de ibogaína y noribogaína sobre VMAT2, con un único reporte que indica una actividad inhibitoria del orden µM (2.23 y 4.99 respectivamente).⁴⁴ Esta inhibición podría llevar a una acumulación de DA en el citosol celular, la cual sería degradada por la MAO, explicando el aumento de los metabolitos DOPAC y HVA, así como la baja en el nivel de DA total del tejido.⁹⁸ Por lo tanto, se deben realizar más investigaciones *in vivo* con la equivalencia de dosis clínicas estandarizadas para evaluar las implicaciones de la inhibición asociada de DAT de la ibogaína en el contexto de los trastornos por consumo de sustancias

SERT. Experimentos *in vitro*, determinaron que ibogaína es un inhibidor del transportador de serotonina (SERT),⁹⁹ y noribogaína resulta unas 10 veces más potente que su precursor.⁴⁵ Como era de esperar tras los resultados de inhibición *in vitro*, ibogaína provoca un aumento en los niveles extracelulares de 5-HT *in vivo*,^{45,98} posiblemente por un bloqueo de la recaptación del NT. A diferencia de otros inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina, utilizados como antidepresivos (ISRS) ibogaína ha sido categorizada como un inhibidor no competitivo.¹⁰⁰ Un análisis detallado de la interacción entre ibogaína y SERT se presenta en el apartado 2.2.2, el cual será foco de esta tesis.

En resumen, la variedad de receptores involucrados (Tabla 2.3) demuestra la complejidad da la farmacología de este alcaloide y explica, al menos en parte, la controversia en torno a la discusión sobre su mecanismo de acción (ver siguiente punto 2.1.3.3). En este sentido, resulta poco probable que un único receptor sea responsable de los efectos antiadictivos de ibogaína, sino que se trate de un ejemplo de mecanismo polifarmacológico.

2.1.3.3 Estudios sobre el mecanismo de acción.

Inicialmente los efectos antiadictivos de la ibogaína intentaron explicarse mediante una teoría de "remplazo" o "mantenimiento", es decir, como ibogaína actúa sobre múltiples receptores podría disminuir los síntomas del síndrome de abstinencia actuando sobre el mismo receptor de la sustancia de abuso. Un ejemplo clásico de esta "teoría de remplazo" es la sustitución de morfina o heroína por metadona, en individuos con adicción a opioides; ibogaína tiene una reportada afinidad sobre receptores opioides (como se vio en 2.1.3.2) pero funciona como un antagonista MOR, por lo que no podría actuar como un sustituto a morfina u otro opioide. Adicionalmente se ha sugerido que los efectos de ibogaína sobre la autoadministración de nicotina podrían explicase por una afinidad por receptores colinérgicos nicotínicos, pero de la misma manera, posteriormente se determinó que ibogaína es un inhibidor de los receptores α3β4.²³ Por lo tanto, estas hipótesis del "remplazo" o "mantenimiento" resultan simplistas, no tienen una base farmacológica, y no son capaces de explicar los efectos tanto en modelos animales como en humanos. A continuación, se presentan estudios llevados a cabo por nuestro grupo de investigación interdisciplinario *Arché*, que intentan profundizar sobre diferentes aspectos de un potencial mecanismo de acción de ibogaína.

Efectos sobre la expresión de factores neurotróficos.

Los estudios preclínicos en roedores en modelos de autoadministración de sustancias muestran efectos antiadictivos persistentes por 48-72 horas luego de la administración de una dosis i.p. de 40 mg/Kg de ibogaína.^{17-19,48} Sin embargo, a las 24 horas post-administración no se encuentran ibogaína y noribogaína en el tejido cerebral de ratas,¹⁰¹ lo que demuestra que este efecto a largo plazo no es mantenido por la presencia dichas sustancias en el organismo. De esta manera la actividad antiadictiva duradera de la ibogaína podría estar explicada mediante la inducción de procesos de neuroplasticidad que se mantienen luego que la ibogaína y noribogaína han sido eliminadas del organismo.

Recientemente, un trabajo publicado por nuestro grupo de investigación, describe la acción de la ibogaína en roedores sobre la expresión del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y aquel derivado de las células gliales (GDNF) en zonas del cerebro vinculadas al circuito dopaminérgico de recompensa.¹⁰² Estos factores neurotróficos son proteínas que promueven la sobrevida, el desarrollo y el normal funcionamiento de las neuronas, además de diversos fenómenos de plasticidad tanto estructural como funcional.¹⁰³

La administración de ibogaína aumenta los niveles de GDNF a nivel del área tegmental ventral (VTA), región clave del circuito de recompensa que media múltiples cambios plásticos generados por el consumo crónico de sustancias de abuso. Dicho aumento de GDNF podría promover fenómenos de plasticidad a nivel de conexiones y circuitos de aquellos núcleos que se ven afectados por los procesos adictivos, siendo ésta una perspectiva muy prometedora para el tratamiento del trastorno

por uso de sustancias (TUS). Existen desarrollos de análogos de ibogaína que tienen como foco, promover la liberación de GDNF a nivel cerebral (ver apartado 2.3.2, *Pazos et al*).

Por otro lado, en el mismo estudio se encontró un impactante aumento de la expresión de BDNF a nivel de la corteza prefrontal. Teniendo en cuenta que se conoce que un aumento de BDNF en esta zona del cerebro promueve un efecto antidepresivo, esto podría estar indicando un fuerte efecto antidepresivo promovido por la administración de ibogaína; lo que es un antecedente muy importante para el desarrollo de esta tesis.

Es importante destacar, que esta capacidad de promover procesos de plasticidad en el SNC parece ser compartida con otros psicodélicos como psilocibina, sustancia que es capaz de inducir efectos antidepresivos rápidos y sostenidos en el tiempo.¹⁰⁴ De esta manera, la literatura reciente propone el uso de fármacos psicoplastógenos para describir moléculas con la capacidad de inducir profundos y rápidos fenómenos plásticos en cerebros adultos.¹⁰⁵

Efectos sobre el sueño

Como se mencionó anteriormente la ibogaína se clasifica como un psicodélico oneirogénico, por su capacidad de inducir episodios vívidos similares a los sueños durante la vigilia con ojos cerrados. El sueño de movimientos oculares rápidos o sueño (REM), es el estado de sueño donde tienen lugar la mayor parte de los sueños o actividad onírica.¹⁰⁶ El sueño REM se caracteriza por una gran plasticidad neuronal clave para la consolidación de la memoria.¹⁰⁷ En ese sentido, se ha sugerido que la plasticidad asociada a la actividad oneirogénica de la ibogaína podría estar relacionada con su efecto antiadictivo,^{108,109} e incluso, de ser responsable del mismo.¹¹⁰ Según esta hipótesis, la actividad cerebral durante los efectos psicoactivos de la ibogaína debería poseer grandes similitudes con el sueño REM. Sin embargo, estudios pioneros en gatos observaron que la ibogaína promueve un aumento de la actividad del electroencefalograma (EEG) similar a la observada bajo estimulación directa de la formación reticular, área promotora de la vigilia.¹¹¹ Estudios más recientes de nuestro grupo interdisciplinario, confirmaron el efecto promotor de la vigilia en rata. La supresión del sueño REM y el aumento de la vigilia pueden deberse al aumento de serotonina sináptica producido por la ibogaína, observándose efectos similares en reportes que utilizan antidepresivos como los ISRS.^{112,113} Estos resultados nuevamente resalta el potencial perfil antidepresivo de ibogaína.

A primera vista, el efecto promotor de vigilia parece contradecir el efecto oneirogénico de la ibogaína. Sin embargo, a través de herramientas cuantitativas y diversos métodos analíticos aplicados sobre registros de EEG, nuestro grupo observó grandes diferencias entre la vigilia generada bajo el efecto de la ibogaína con respecto a la vigilia fisiológica. La vigilia inducida por ibogaína tiene importantes similitudes con el sueño REM (alta potencia y baja coherencia en la banda gamma de frecuencias -30 a 100 Hz- del EEG). De esta manera, la ibogaína promueve un estado de vigilia en el cerebro que posee características marcadas de sueño REM, pudiéndose explicar de este modo el efecto oneirogénico de esta sustancia.⁸⁰ Sin embargo, si el efecto oneirogénico participa en el efecto antiadictivo aún queda por ser estudiado. De hecho, aunque actualmente está en debate,

hay autores que identifican a la experiencia subjetiva generada por sustancias psicodélicas como un factor crucial para la obtención de los resultados positivos.¹¹⁴ En particular, se describe que existe una fuerte correlación positiva entre la magnitud de la experiencia psicodélica con los resultados terapéuticos.

Efectos del tipo antidepresivo en roedores.

En paralelo con la literatura relacionada al potencial antiadictivo de ibogaína, se ha observado en ciertos estudios observacionales que la administración de ibogaína también induce efectos antidepresivos.³⁴ A su vez, los estudios mencionados anteriormente llevados a cabo en roedores que mostraron que ibogaína induce la expresión de BDNF en la corteza pre-frontal de rata, y que promueve un aumento de vigilia y disminución del sueño REM; las cuales son características compartidas por fármacos antidepresivos (Figura 2.7). Esto nos impulsó a explorar el efecto de ibogaína y noibogaína en modelos animales utilizados para detectar antidepresivos.

Se encontró que la administración sistémica aguda de ibogaína y noribogaína en ratas produce un efecto *tipo*-antidepresivo dependiente de la dosis y del tiempo de administración, en el test de nado forzado (TNF), un modelo ampliamente utilizado en estudios preclínicos para identificar el efecto *tipo*-antidepresivo de sustancias.⁴⁶ Es interesante comparar los efectos en el TNF de la ibogaína con la fluoxetina (fármaco inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina, ISRS, utilizado en la clínica). Con la fluoxetina se requiere la administración sistémica de tres dosis para encontrar un efecto *tipo*-antidepresivo en ratas; sin embargo, un efecto comportamental similar se obtiene con ibogaína y noribogaína luego de la administración de una única dosis. Este resultado sugiere un efecto más potente y/o rápido para estos alcaloides de la iboga en comparación a los ISRS.

La alta comorbilidad entre el trastorno por uso de sustancias (TUS) y la depresión nos llevó a proponer que el efecto tipo-antidepresivo encontrado podría contribuir significativamente al efecto antiadictivo descrito para ibogaína.



Figura 2.7 Resumen de los efectos observados en ensayos preclinicos que denotan el potencial antidepresivo de ibogaína.

¿Cuál sería el mecanismo neuroquímico que explicaría los efectos antidepresivos de ibogaína/noribogaína? La regulación de los niveles de 5-HT a través de la inhibición de SERT es un mecanismo que proponemos como central, y será el abordado en esta tesis y discutido en detalle más adelante. A su vez, la inhibición de SERT puede estar directamente involucrada en las propiedades antiadictivas de ibogaína y noribogaína, especialmente en el caso de los opioides. De hecho, la abstinencia de la exposición crónica a agonistas de MOR se asocia con niveles reducidos de 5-HT, que son parcialmente responsables del síndrome de abstinencia.¹¹⁵ La inhibición de SERT por parte de ibogaína/noribogaína mantendría los niveles de 5-HT y suavizaría de esta forma el proceso de desintoxicación.

Otra posibilidad de explicar los efectos antidepresivos encontrados para ibogaína y noribogaína, es la capacidad de bloquear receptores NMDA, ya que otros compuestos como la ketamina, se caracterizan también por una producir un efecto antidepresivo rápida y sostenido, aliviando los síntomas de depresión luego de una única administración sub-anestésica en individuos con depresión mayor.¹¹⁶ A su vez, cabe destacar que, otros psicodélicos, tales como psilocibina también muestran efectos prometedores como antidepresivos,¹¹⁷ lo cual podría sugerir un mecanismo convergente en su acción central.

2.1.4 Toxicidad

La ibogaína tiene efectos no deseados que han obstaculizado su desarrollo clínico, como ya fue mencionado en el apartado 2.1.2. De forma resumida estos se pueden listar en:

- Toxicidad cardíaca. Ibogaína provoca un alargamiento del intervalo QTc en el electrocardiograma, lo que resulta clínicamente en la generación de arritmias ventriculares, que pueden resultar fatales en individuos con predisposición. A nivel molecular, este efecto se asocia con el bloqueo del canal de potasio hERG.^{7,118}
- Toxicidad cerebelar. Se ha reportado toxicidad a dosis altas de 100 o 200 mg/Kg, sobre la región del cerebelo, en especial sobre las células de Purkinje, lo que se manifiesta fisiológicamente con la generación de temblores (termogénesis) y perdida de coordinación motora.¹¹⁹ Sin embargo, a las dosis utilizadas en ensayos de roedores que muestran efectos terapéuticos (de 20 a 50 mg/Kg) no se observa este efecto adverso.¹²⁰
- Su carácter psicodélico. A las dosis utilizadas en el tratamiento de adicciones, la ibogaína posee acción psicodélica intensa, caracterizada como oneirogénica, es decir que potencia la aparición de imágenes como ocurre en los sueños, durante la vigilia.⁷⁹ Actualmente existe una discusión muy importante dentro de la comunidad científica, sobre la posibilidad de disociar los efectos de alteración de la percepción de la capacidad terapéutica buscada.^{121,122} En la experiencia subjetiva descrita por usuarios de ibogaína se repite la valoración del estado psicodélico como un momento de reflexión interna, por lo que podría estar vinculado al efecto terapéutico.¹²³

Si bien la ibogaína no provoca un efecto "reforzador" en animales, estos efectos psicoactivos han provocado que se la considere erróneamente como una sustancia con un alto potencial de abuso, lo que justificó su marco regulatorio en Estados Unidos.¹²⁴

En el marco de esta tesis profundizaremos únicamente en la actividad cardiotóxica, la cual es parte de la evaluación biológica de los compuestos sintetizados.

2.1.4.1 Cardiotoxicidad (inhibición de hERG)

El canal hERG (*Kv 11.1*), o canal de potasio rectificador tardío, es una proteína transmembrana que juega un papel crucial en la regulación de la actividad eléctrica en el corazón. La sigla hERG se deriva de "*human Ether-à-go-go-Related Gene*", que hace referencia al gen responsable de la síntesis de esta proteína. hERG es un canal iónico tetramérico, cada unidad protéica posee 6 segmentos transmembrana (S1-S6)(Figura 2.8); las unidades S1 a S4 conforman un dominio que actúa como un sensor de la diferencia de potencial de la membrana plasmática. Esto le permite al canal la capacidad de "autorregularse", ya que el cambio conformacional (apertura-cierre) que controla el eflujo de potasio está controlado por el propio voltaje transmembrana.¹²⁵ Los segmentes S5-S6 conforman la parte interior del poro, por el que circula el catión en cuestión. Al igual que otros canales voltaje dependientes hERG tiene tres conformaciones principales (Abierto, Cerrado e Inactivo); en particular este canal tiene una cinética de activación lenta (retardada) y una inactivación rápida.¹²⁵ La corriente rectificadora de potasio "I_{Kr}" que genera este canal es esencial para la fase de repolarización de la membrana del miocito cardíaco,¹²⁵ lo que permite que el corazón complete su ciclo eléctrico antes de iniciar un nuevo potencial de acción. Esto es esencial para mantener un ritmo cardíaco coordinado y normal, de lo contrario se generan arritmias.



Figura 2.8 Cambios conformacionales del canal de potasio hERG, voltaje dependiente. A: conformación cerrada. B: conformación cerrada. C: conformación inactiva/refractaria (no sensible, sin posibilidad de apertura). Ex: exterior celular. In: interior celular. El cambio conformacional que permite el eflujo de iones potasio K+ está controlado por la diferencia de potencial a ambos extremos de la membrana plasmática.

Las mutaciones genéticas que afectan al canal hERG están asociadas con trastornos cardíacos, como el síndrome del QT largo (Figura 2.10),¹²⁶ que predispone a las personas a arritmias graves y potencialmente mortales. La inhibición del canal hERG por pequeñas moléculas puede dar lugar a consecuencias clínicas similares, como la inducción de arritmias ventriculares. Por lo tanto, la evaluación de la actividad sobre el canal hERG es incorporada actualmente en la fase inicial de desarrollo de fármacos, ya que la inhibición compromete la seguridad cardiovascular del medicamento. Existen numerosos casos de medicamentos aprobados (con variadas aplicaciones) para su comercialización que tuvieron que ser retirados del mercado por esta razón,¹²⁵ por ejemplo: terfenadina (antihistamínico, 1997), sertindole (antipsicótico, 1998), cisapride (acelerador de la motilidad gástrica, 2002) o astemizol (antihistamínico, 2003).

Una posible explicación al amplio espectro de estructuras que afectan al funcionamiento de esta proteína está dado por el sitio de unión. Estudios de mutagénesis dirigida permitieron asegurar que la mayoría de las moléculas conocidas que inhiben el canal lo hacen obstruyéndolo por el poro en que circulan los iones potasio.¹²⁵ Es postulado que el conducto de entrada desde la porción citosólica

de la proteína es excepcionalmente amplio (lo cual es necesario para el correcto control de apertura y cierre por voltaje), y esto explica la promiscuidad de unión de ligandos.¹²⁵

Una revisión bibliográfica reciente que analiza la interacción de productos naturales con este canal iónico señala a los alcaloides como el principal grupo de metabolitos secundarios de plantas vinculados con la inhibición de hERG.¹²⁵ Se ha establecido de forma cualitativa que la unidad estructural mínima para esta interacción de este efecto no deseado (toxicóforo) es la presencia de un nitrógeno básico en un contexto hidrofóbico y/o aromático.¹²⁷ En la Figura 2.9 se presentan algunos ejemplos ilustrativos donde una pequeña modificación estructural en el alcaloide resulta en un marcado cambio de actividad.

En el primer ejemplo la berberina, alcaloide que contiene un piridonio como parte de su estructura pierde por completo su acción inhibidora cuando se incorpora una lactama. De esta forma el nitrógeno pasa a ser no-básico, por lo tanto no está protonado y con carga positiva a pH fisiológico. En el segundo caso, la (-)-asimilobina (una amina secundaria) no inhibe el canal hERG pero su análogo metilado sí, lo que posiblemente se deba al aumento de su lipofilicidad.

El último ejemplo plantea un caso distinto, el alcaloide tropánico benzoilecgonina carece de actividad sobre el canal, pero su derivado esterificado es un potente inhibidor de hERG. Este cambio abrupto de la actividad biológico se debe muy probablemente a la formación de una interacción iónica intramolecular en el α-aminoácido que impide la interacción del nitrógeno (cargado positivamente a pH fisiológico) con el sitio de acción en el canal iónico. De este breve análisis de relación estructura actividad para alcaloides sobre hERG se resume que, las estrategias válidas para disminuir la inhibición son:

- disminuir la basicidad del nitrógeno básico (pasar de amina terciaria a secundaria, o de amina a amida)
- o disminuir la hidrofobicidad/lipofilicidad del sistema
- generar interacciones intramoleculares que "neutralicen" el nitrógeno cargado positivamente (ej. lónicas (zwiteriones))



Figura 2.9 Alcaloides bloqueantes de hERG. Cambios estructurales ilustrativos para la modulación de inhibición no deseada. Adaptado de Kratz *et al.*¹²⁵

Alcaloides de la iboga y hERG

Se han registrado fatalidades asociadas con la ingesta de ibogaína, en un número importante de artículos publicados como reporte de caso clínico.¹²⁸⁻¹³¹ Una revisión de 14 casos fatales (con evidencia suficiente) relacionadas con la ibogaína desde 1990 y 2008 concluyó que 12 de ellos presentaban condiciones cardíacas preexistentes, que contribuyeron a la letalidad.¹²⁸ Es por ello que como primera medida de seguridad dentro de los ensayos clínicos más recientes, se excluye del estudio a los pacientes con cardiopatías declaradas.



Figura 2.10 La inhibición de hERG causa el alargamiento entre la onda Q y la onda T del electrocardiograma, lo que puede generar arritmias fatales.

Existe más de un reporte de la evaluación *in vitro* de ibogaína y algunos congéneres sobre la inhibición del canal hERG, los cuales se resumen en la Tabla 2.4.¹³²⁻¹³⁴ La variación experimental entre los estudios está dada por el tipo de línea celular utilizada (TSA-201 y HEK293), pero todos son coherentes en reportar un valor de IC50 para ibogaína en el entorno de ~4µM.

Ibogaína	Noribogaína	(±)-18-MC	Línea Celular	Artículo
4	-	15	TSA-201	Koenig <i>et al</i> (2013) ¹³⁵
4	-	-	TSA-201	Koenig <i>et al</i> (2014) ¹³³
4,09	2,86	>50	HEK293	Alper <i>et al</i> (2016) ¹³⁴

Tabla 2.4 Alcaloides de la iboga y su IC50 sobre hERG (μM) reportes de literatura. ">" indica que el valor de IC50 reportado es mayor que la mencionada (inespecífico).

En un estudio posterior sobre el mecanismo de bloqueo del canal hERG por la ibogaína,¹¹⁸ se demostró que el fármaco atraviesa la membrana para dirigirse al canal desde el lado intracelular. Mediante mutagénesis dirigida al sitio de unión se reveló que la cavidad interna del canal, donde los residuos aminoacídicos del segmento S6 que revisten el poro, conforman el bolsillo de unión a ibogaína. El nitrógeno del biciclo isoquinuclidinico es una amina terciaria con un valor de pKa=8,1,¹¹⁸ lo que hace que el fármaco coexista en una forma cargada y una forma neutral a pH fisiológico. Tanto la forma cargada sola como en compañía de la forma neutra serían responsables del bloqueo del canal, ambas especies comparten el mismo sitio de unión.

Además, se corroboró que noribogaína inhibe el canal de potasio con una IC50 similar a la de ibogaína (IC50: 2,85µM). Lo que indica que la demetilación en C10 no es un cambio estructural apropiado para modular la inhibición. Por último, es necesario mencionar el caso de 18-MC, un análogo sintético que ha sido desarrollado en el contexto de trabajos de química medicinal (ver más adelante sección 2.3). Este análogo presenta una inhibición más baja sobre hERG respecto a ibogaína y noribogaína, aunque existen discrepancias entre los reportes de la literatura, mientras un reporte

informa un IC50 de 15μM, otra publicación indica un valor mucho más alto (>50μM). Por tanto, se plantea que este análogo puede haber resuelto, al menos en parte los problemas de cardiotoxicidad de ibogaína. Las características estructurales que presenta 18-MC en comparación con ibogaína son entonces de especial interés, y debe ser tenido en cuenta a la hora de diseñar nuevos derivados.

2.2 Depresión, hipótesis monoaminérgica y transportadores de monoaminas (MAT)

Los trastornos depresivos afectan negativamente la calidad de vida de quien los padece; son incluidos dentro de este grupo: el trastorno depresivo mayor (TDM), el trastorno depresivo persistente, o el trastorno depresivo inducido por sustancias o medicamentos, entre otros.¹³⁶ El TDM -más recurrente- se caracteriza por un ánimo depresivo duradero por más de dos semanas y pérdida del interés o el placer por la mayoría de las actividades diarias (anhedonia).¹³⁶ Puede incluir insomnio, agitación o retraso psicomotor, fatiga crónica, sentimiento de culpabilidad o inutilidad excesiva, disminución de la capacidad de concentración y toma de decisiones, así como pensamiento recurrente de muerte (idea recurrente de suicidio sin plan determinado). La sintomatología provoca un amplio deterioro en el ámbito social, laboral y otras áreas importantes del funcionamiento del individuo.

El trastorno depresivo mayor es una de las principales causas de discapacidad en la población mundial afectando aproximadamente a 300 millones de personas en el mundo.¹³⁷ La prevalencia del TDM para la región de las Américas es de 4% para hombres y 6% para mujeres. En Uruguay los trastornos mentales representan el 17% de las enfermedades no transmisibles, siendo una de las principales causas de discapacidad, según el Plan Nacional de Salud Mental (2020-2027) elaborado por la autoridad sanitaria (MSP). Adicionalmente, con la reciente pandemia de COVID-19 y la generación de contextos de aislamiento forzado, que pueden ser desafiante para la salud mental de los individuos, se ha registrado un aumento en el consumo de psicofármacos y estupefacientes.^{138,139}

2.2.1 Bases neurobiológicas de la depresión

El entendimiento de las bases neurobiológicas de la depresión, estuvo asociado al descubrimiento aleatorio de los primeros compuestos con acción antidepresiva: los inhibidores de la enzima monoamino-oxidasa A (iMAO) y los antidepresivos tricíclicos (TCA).¹⁴⁰ Los primeros, se descubrieron durante la optimización de la isoniazida como medicamento antituberculoso; y los TCA durante el estudio de la clorpromazina como antipsicótico (Figura 2.11). Ambos grupos de fármacos aumentaba las concentraciones extracelulares de NTs (serotonina, dopamina, noradrenalina), por distintos mecanismos: los iMAO por impedir su metabolización (Figura 2.12, con serotonina como ejemplo), y los TCA por inhibir la recaptación en la neurona presináptica. Esto llevó al desarrollo de la denominada "hipótesis monoaminérgica" de la depresión que postula que la misma es generada principalmente por una disminución en la transmisión de los circuitos serotoninérgicos y/o noradrenérgicos del sistema nervioso central.¹⁴¹ Por lo tanto, las estrategias farmacológicas han buscado aumentar las concentraciones extracelulares de serotonina y/o noradrenalina.^{141,142}



Figura 2.11 Descubrimiento de los primeros fármacos antidepresivos.



Figura 2.12 Vía catabólica (degradación) de la serotonina (5-HT) por parte de la enzima monoamino oxidasa (MAO).

Los distintos mecanismos que dan lugar a este aumento de la transmisión monoaminérgica se ilustran en la Figura 2.13, dando lugar a la clasificación de fármacos antidepresivos más comunes. Algunas estructuras de ejemplo se muestran en la Figura 2.14 agrupadas según su mecanismo de acción. Los antidepresivos más utilizados hoy en la clínica son los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS), aunque cuentan con un problema registrado de eficacia; se estima que gran parte de los usuarios (~40-40%) son refractarios al tratamiento.^{143,} Además, todos ellos presentan un período de latencia farmacodinámica, un período en el cual el paciente no ve mejoría clínica, y debe mantener el compromiso con el tratamiento incluso observándose efectos adversos.¹⁴⁴ *Como consecuencia existe una gran necesidad de encontrar nuevas estrategias farmacológicas para desarrollar antidepresivos más eficientes y de efecto inmediato.*¹⁴⁵







Figura 2.14 Estructuras representativas de antidepresivos, clasificadas por grupo en base a su mecanismo de acción.

2.2.2 Ibogaína y SERT

SERT es una proteína de membrana, conformada por una única unidad polipeptídica con 12 a-hélices transmembrana (TM1-12, Figura 2.15). Pertenece a la misma familia de trasportadores de monoaminas conformada por el transportador de dopamina (DAT) y noradrenalina (NET).⁹² Su función principal es transportar el neurotransmisor desde la hendidura sináptica hacia el citosol de la neurona presináptica (como fue explicado en Figura 2.5). Cuenta con un sitio activo (S1) de unión al neurotransmisor donde se definen 3 regiones principales A, B y C (Figura 2.15C). Dentro de los aminoácidos (AAs) que rodean el sitio activo, el aspartato (Asp98) es comúnmente señalado por su rol de generar una interacción iónica con el nitrógeno cargado positivamente del sustrato (a pH fisiológico). Está descrito un sitio de unión alternativo (S2) inmediatamente anterior a S1, por el canal de acceso al sitio activo (S1). S2 tiene un gran tamaño y puede acomodar moléculas en múltiples conformaciones; las uniones de lingando en este sitio son, como regla general más débiles que en S1.

De las familias de fármacos antidepresivos mencionadas en el apartado anterior, los tricíclicos (TCA) se unen con alta afinidad al sitio S1,¹⁴⁶ y con baja afinidad a S2. En tanto los ISRS se unen con alta afinidad al sitio S1,¹⁴⁷ pero se descartó la hipótesis de su unión al sitio S2.¹⁴⁷



Figura 2.15 A/ estructura de serotonina (5-hidroxi-triptamina, 5-HT) B/ Estructura protéica del tranportador de serotonina (SERT). C/ descripción (2D) de su sitio activo (S1) y principales aminoácidos involucrados. Abreviaturas: EC: exterior celular, IC: interior celular, TM: α-hélice transmembrana. Adaptado de *Zeppelin et al* (2019).

El mecanismo de transporte de 5-HT por parte de SERT ha sido estudiado en detalle recientemente mediante simulaciones de dinámica molecular;^{148,149} el mismo está asociado al ingreso de sodio y cloruro a la célula, por lo que se lo conoce como simporte de neurotransmisor:sodio (NSS)

(Figura 2.16). Por cada unidad de 5-HT transportada, entra a la célula un Na⁺ y un Cl⁻ y sale un K⁺, lo que asegura un balance de carga neutro (5-HT cargada positivamente a pH fisiológico).^{147,150}

En este proceso de transporte, la proteína atraviesa un importante cambio conformacional (Figura 2.16), pasando por tres estados bien definidos:

Abierta hacia el exterior celular (OF). Donde puede unirse una molécula de serotonina proviniento de la hendidura sináptica, entrando por el canal de entrada.

Ocluida (OC). Donde la molécula del NT se encuentra en el interior y ambos accesos al exterior e interior celular están cerrados.

Abierta hacia el interior celular (IF). Donde se forma un canal hacia el citosol, por el cual la serotonina avanza para ser ingresada al medio intracelular. La Figura 2.17 muestra un corte transversal del transportador en los tres estados conformacionales. Las esferas azules resaltan el canal interior el cual cambia de diámetro radicalmente durante el proceso de transporte.



Figura 2.16 Mecanismo de simporte 5-HT:sodio (NSS). Se muestra una serie de cortes transversales del transportador a lo largo de sucesivos cambios conformacionales. Adaptado de Chan et al (2022).



Figura 2.17 Corte transversal del transportador de serotonina (SERT) es sus diferentes conformaciones, por las que atraviesa el en el proceso de internalización del neurotransmisor. Abierto hacia el exterior celular (EC), ocluido (OC) y abierto hacia el interior celular (IC). Adaptado de Chan et al (2022).

Ibogaína y SERT.

Como se describió en el punto 2.1.3.2 ibogaína inhibe SERT *in vitro* con una afinidad micromolar (4.1 μM), y noribogaína resulta ~10 veces más potente que su precursor (0,57 μM).⁴⁴ En experimentos posteriores, se estableció que la inhibición era de carácter no competitivo pues estudios *in vitro* utilizando concentraciones incrementales de 5-HT marcada no desplazan la inhibición por ibogaína.¹⁰⁰ Esto es una diferencia sustancial con los ISRS, que son categorizados como inhibidores competitivos de SERT, sensibles a la concentración extracelular de serotonina. Estos resultados inicialmente se interpretaron proponiendo diferentes sitios de unión a SERT para ibogaína y los ISRS. Inclusive la situación era más compleja ya que ibogaína sí presenta un comportamiento competitivo con un análogo de cocaína (β-CID), el cual sí es un inhibidor competitivo con el sustrato natural.¹⁰⁰ Esto planteó una excepción en la enzimología, ya que los inhibidores que se unen al sitio activo tienden a hacerlo por competencia.¹⁵¹

Experimentos adicionales de marcación de los residuos cisteína expuestos de la proteína, permitieron hipotetizar sobre el estado conformacional del transportador.¹⁰⁰ Cuando ibogaína se une al transportador, las cisteínas del canal de ingreso (hacia el exterior celular) no se marcan, lo que indica que el mismo permanece cerrado. En cambio, la unión de β-CID, no impide la marcación de estos residuos aminoacídicos lo que indicaría que —con este compuesto—que el canal permanece abierto hacia el exterior celular.

Más recientemente Coleman et al,¹⁵² salda esta discusión tras reportar la estructura del complejo ibogaína-SERT elucidada por Cryo-EM, se comprueba que ibogaína tiene el mismo sitio de unión que el neurotransmisor, la diferencia está en la conformación del transportador a la que se une.¹⁵² El autor propone, tras un detallado estudio del mecanismo de transporte de la proteína (como el realizado en las Figuras 2.16 y 2.17, observe que la publicación de Chan et al fue publicado en 2022, previo al estudio de Coleman (2019)), que es necesario un cambio conformacional con tres estados principales (idénticos a los descritos anteriormente).¹⁵³



Figura 2.18 La ibogaína puede unirse tanto a la conformación IF como OF. Luego estabiliza el transportador en la conformación IF u OC. Figura extraída y adaptada de Coleman et al.¹⁵²

La hipótesis sugiere que ibogaína puede unirse al transportador en su configuración OF o IF (tras atravesar la membrana por difusión pasiva), pero una vez unida, el complejo ibogaína-SERT encuentra un mínimo de energía en los estados conformacionales OC o IF. De esta forma, sin importar la abundancia de serotonina en el exterior celular, esta no tendrá acceso al sitio de unión, causando un comportamiento de inhibición no competitiva.¹⁵² Este fenómeno estaría controlado —según el autor— por el gran volumen del biciclo isoquinuclidínico, que impide su pasaje a través del canal de salida hacia el citosol.¹⁵²

Las estructuras del complejo ibogaína-SERT en los estados conformacionales OC e IF, elucidadas en este estudio, se encuentra disponibles en la base de datos PDB, (códigos: 6DZV y 6DZZ respectivamente). El análisis del sitio activo (S1) con ibogaína unida se visualizó haciendo uso del programa MOE 15 (Figura 2.19). Vemos como el nitrógeno isoquinuclidínico cargado positivamente (a pH fisiológico) interacciona con el **Asp98**; y la cómo el NH indólico lo hace con la **Phe341**; estas dos interacciones son resaltadas como las más importantes para la estabilidad del complejo ligando-proteína. Este modelo fue tenido en cuenta al proponer cambios estructurales para el diseño de nuevos análogos de ibogaína y la racionalización de los resultados biológicos obtenidos (ver apartado 4.3.1). Si queremos compuestos que inhiban SERT de forma no competitiva —a semejanza de ibogaína— se debe buscar estabilizar las conformaciones OC e IF, por tanto se debe trabajar visualizando el sitio activo de estas estructuras.


Figura 2.19 Ibogaína en el sitio activo (S1) de SERT en su conformación ocluida (OC). La visualización fue elaborada en el programa MOE 15. Se muestran los residuos aminoacídicos más importantes en código de 3 letras: **Asp98, Arg104, Tyr176, Ser336, Phe341, Ser438 y Thr439.** Las líneas punteadas indican las interacciones más importantes entre el ligando la proteína. El bolsillo se visualiza como una superficie con un gradiente de color, donde verde indica mayor hidrofobicidad (apolar) y rosado mayor hidrofilicidad (polar).

Hasta fines del 2023, no existían reportadas otras pequeñas moléculas que inhiban SERT de forma no competitiva, estabilizando su conformación OC o IF; como lo hacen los alcaloides de la iboga. Este hecho, sumado a los efectos tipo-antidepresivos descritos en modelos preclínicos y clínicos (punto 2.1.3.3) indican que ibogaína tiene el potencial de generar una nueva familia de moléculas antidepresivas con un mecanismo de acción novedoso. Un artículo publicado a fines del 2023 por un grupo de la Universidad de Yale,¹⁴⁹ muestra el desarrollo de inhibidores específicos para estabilizar a SERT en conformaciones del transportador que estén cerradas hacia el exterior celular. Los autores, desarrollan dos potentes inhibidores en el rango bajo nanomolar, y mediante estudios de CryoM demuestran que efectivamente tienen la selectividad conformacional buscada para SERT. Los compuestos son ensayados en modelos animales para depresión y ansiedad, donde exhiben potencias 200 veces mayores a un ISRS prototípico como fluoxetina.¹⁴⁹ Además, los compuestos fueron activos en un modelo de abstinencia a morfina en roedores, mostrando un interesante perfil antiadictivo. Con este estudio se reafirma la importancia de desarrollar fármacos con un modo de acción sobre SERT similar a ibogaína y noribogaína, y se justifica de esta manera, la propuesta de investigación que motivó el desarrollo de esta tesis doctoral.

2.3 Desarrollos de química medicinal

El objetivo de desarrollar análogos de ibogaína que mantengan o incrementen sus propiedades antiadictivas, disminuyendo sus efectos adversos, ha sido abordado por diferentes grupos de investigación en las últimas décadas. A pesar de que el objetivo de esta tesis está focalizado en el desarrollo de análogos de la iboga como antidepresivos y no como antiadictivos, es importante tener presente los proyectos de química medicinal previos que se han llevado a cabo en el espacio químico de la iboga. A su vez, también se han desarrollado análogos con el interés de profundizar el estudio del enigmático mecanismo de acción de ibogaína.

En esta sección se recorren los programas de química medicinal elaborados a partir del núcleo estructural de ibogaína, clasificados según el tipo de análogo desarrollado en: derivados con estructura completa (apartado 2.3.1) y estructura simplificada (apartado 2.3.2). En el primer caso, el término *"estructura completa"* refiere a moléculas que conservan la porción aromática (indol), el anillo de tetrahidroazepina y el biciclo isoquinuclidínico. En los derivados clasificados como *"estructura simplificada"* se pierde al menos, una de estas tres funcionalidades (indol, tetrahidroazepina o isoquinuclidina). Además, en cada caso se aborda de forma breve la estrategia de construcción molecular, mostrando el paso clave de reacción de la ruta sintética. En la mayoría de los casos se emplea una estrategia de síntesis total, aunque hay ejemplos de productos naturales formando parte de bibliotecas de compuestos en las publicaciones discutidas.

Al tratarse de proyectos con objetivos de química medicinal, gran parte de los trabajos poseen datos de evaluación biológica y se enfocan en el entendimiento de la actividad sobre uno o más receptores del sistema nervioso central, lo que será comentado brevemente. Esto no quiere decir que para todos los compuestos que se muestran, se tenga una caracterización biológica completa, la mayoría de las veces se tiene la actividad de un mismo conjunto de moléculas sobre uno o dos receptores (ej, opioides y NMDA, pero no SERT). En muchos casos la información se encuentra como parte de patentes de invención, y no se revelan todos los detalles experimentales. El hecho de que gran parte del espacio químico explorado se encuentre patentado, es un indicio del gran potencial de estas moléculas para la aplicación terapéutica.

Al final de esta sección se espera que el lector tenga una visión general de qué porciones de la molécula han sido exploradas en términos de diversidad estructural con fines químico-medicinales. En la siguiente sección (2.4) se abordan las modificaciones estructurales realizadas sobre el producto natural sin un objetivo químico medicinal, lo que constituyen importantes antecedentes para esta tesis, al involucrar aproximaciones semisintéticas.

2.3.1 Análogos de estructura completa

Dentro de los proyectos de caracterización farmacológica llevados adelante inicialmente con ibogaína y sus congéneres, destaca el trabajo del químico Martin Kuehne (The University of Vermont, USA) en asociación con el farmacólogo Stanley Glick (Albany Medical College, USA), quienes promovieron el desarrollo del análogo 18-MC (*vide infra*). El trabajo de Kuehne permitió la obtención de compuestos por vía de síntesis total racémica,¹⁵⁴ y al tratarse de estructuras complejas se obtuvieron y evaluaron pocos análogos, la mayoría productos naturales conocidos.



 R_1 : H, OH, OMe, OtBu R_2 : H, OMe R_3 : H, CO₂Me R_4 : H, Me

Nombre	R1	R ₂	R₃	R₄
Ibogaína	OMe	Н	Н	Et
Noribogaína	ОН	Н	Н	Et
Ibogamina	Н	Н	н	Et
10-t-butoxiibogamina	OtBu	Н	Н	Et
Tabernantina	Н	OMe	н	Et
Coronaridina	Н	Н	CO ₂ Me	Et
Desetil-coronaridina	Н	Н	CO ₂ Me	Н
Desetil-metil- coronaridina	Н	Н	CO ₂ Me	Me
Conofaringina	OMe	OMe	CO ₂ Me	Et

Tabla 2.5 Productos naturales sintetizados de forma racémica por Kuehne *et al.*,¹⁵⁴ y algunos análogos estructurales no naturales. La actividad biológica de estos compuestos fue estudiada por Glick *et al.*,^{19,48,154-156} Popik *et al.*,⁵⁵ y Jacobson *et al.*⁶³

Inicialmente el estudio biológico estuvo guiado por modelos comportamentales de autoadministración de morfina y cocaína en roedores.¹⁹ En ellos, como se mencionó anteriormente (ver sección 2.1.2.1) ibogaína demostró disminuir la autoadministración de dichas sustancias, lo que puede relacionarse con los resultados de los estudios observacionales en humanos. Este modelo **no** es apto para realizar un cribado de gran cantidad de compuestos; por lo que apenas se ensayaron seis análogos estructurales, que demostraron disminuir la autoadministración, al igual que ibogaína.¹⁹ Como efectos secundarios de la ibogaína a disminuir, los autores buscaron encontrar análogos que produjeran menos temblores, , asociados a la citotoxicidad a nivel del cerebelo (centro de control del movimiento). En ese sentido, sólo ibogamina y coronaridina demostraron una marcada caída del efecto tremogénico.¹⁹ Además, se realizaron estudios de microdiálisis para detectar niveles

extracelulares de dopamina en regiones del cerebro medio (donde se localiza el circuito de recompensa) luego de la administración de estos dos alcaloides, en donde se detectó su disminución. Esto fijó la principal hipótesis, en su momento, que los efectos anti-adictivos estaban mediados por una modulación del sistema dopaminérgico.

La búsqueda imperiosa por una diana farmacológica responsable por estos efectos comportamentales impulsó el estudio *in vitro* de varios de los compuestos sintetizados sobre varios receptores del SNC: opioides,¹⁵⁷ sigma,⁶³ glutamato (NMDA),⁵⁵ y nicotínicos; y su comparación a la actividad de ibogaína.¹⁵⁶

Como se mencionó anteriormente (punto 2.1.1.5) ibogaína tiene afinidad nanomolar por receptores sigma (Ki σ 1: 8554nM y Ki σ 2: 201nM), siendo 43 veces más activa sobre el subtipo σ 2. Jacobson *et al*,⁶³ establecieron que ibogamina y tabernantina tenían un orden de actividad similar al de ibogaína sobre σ 2 (194 y 137nM respectivamente), pero son unas 3-5 veces más afines a σ 1, lo que los hace menos selectivos para σ 2, respecto a ibogaína. En cambio, noribogaína es mucho menos activo sobre σ 2 (Ki = 5226nM) y también σ 1; mientras que coronaridina se mostró prácticamente inactiva.

Posteriormente se estudió la acción sobre receptores glutamatérgicos, en particular el canal iónico NMDA,⁵⁵ donde ibogaína presenta una afinidad micromolar (Ki = 1,1 μ M). Se observó una influencia de los sustituyentes en C10, si el cambio es por por OH (noribogaína) o H (ibogamina o coronaridina), la actividad cae levemente (Ki: 5,48-6,24 μ M), independientemente de la presencia del éster en C16. Sin embargo, la incorporación de un grupo muy voluminoso, como t-Bu, disminuye radicalmente la afinidad (Ki = 179 μ M). Otros cambios estructurales que afectaron negativamente la afinidad sobre NMDA fue el remplazo de la cadena etílica lateral por un metilo o un H (desetilcoronaridina), (Ki: 67,9 y 252 μ M respectivamente); lo que podría ser debido a la disminución de la lipofilia, o interacciones específicas en el sitio activo.

2.3.1.1 Derivados de coronaridina y el desarrollo de 18-MC.

La estructura de coronaridina se identificó como un posible punto de partida debido a la ausencia del desarrollo de temblores asociados con el tratamiento de ibogaína.¹⁵⁵ La estructura de albifloranina (18-hidroxycoronaridina), originalmente aislada de la planta *Tabernaemontana albiflora*, fue seleccionada para manipulaciones sintéticas orientadas a introducir sustituyentes en la cadena etílica lateral (Figura 2.20, Serie 1).¹⁵⁶ De los compuestos sintetizados, 18-metoxicoronaridina (18-MC) mantuvo su eficacia en modelos de roedores para inhibir la administración de morfina y cocaína, mientras carecía de los temblores y la neurotoxicidad asociados con la ibogaína.¹⁵⁵



Figura 2.20 Derivatización química de albifloranina y 18-MC, Bandarage & Kuehen.154

Existe un estudio y desarrollo farmacológico único sobre 18-MC como análogo de ibogaína, que no se observa para otros análogos estructurales. Sucesivos trabajos de investigación se han centrado en mostrar su eficacia, mecanismo de acción y disminución de la toxicidad (cardíaca y tremogénica).⁴⁸ Se conoce su acción en múltiples receptores del SNC, al igual que ibogaína y noribogaína (Tabla 2.6), lo que permite la comparación y discusión diferencial en cuanto a su mecanismo de acción.

Receptor	Ibogaína	Noribogaína	18-MC	Ref
KOR	2.2 **	0.61 ***	5.1	48
MOR	2.0 - 3.0 *	0.68 - 13 *	1.1 ***	48
DOR	>10	5.2-25	3.5	48
5-HT1A	>100	>100	46	48
5-HT1D	>100	>100	>10	48
5-HT2A	1.8 - 92.5	>100	40	48
5-HT3	2.6	>100	3.8	48
D1	>10	>10	>100	48
D2	>10	>10	>16	48
D3	70	>100	25	48
NMDA	1.01 - 5.20 *	5.48 - 31.4 *	>100	48
M1	16	15	32	48
M2	32	36	>100	48
nACh (α3β4)	1.1 - 9.5 *	17 *	0,75 *	158
σ1	2.5 - 9.3	11 - 15	>100	48
σ2	0.09 - 0.25	5.2 - 19	13	48
SERT	4.1	0.57	>10	48,159
DAT	2.0	2.0	_	_
NET	>100	39	>10	48
VMAT2	2.23	4.99	-	-

Tabla 2.6 Afinidad de 18-MC sobre receptores del SNC expresada como Ki (μM). Versión ampliada de la Tabla 2.3. * antagonista, ** agonista, ***agonista parcial. Las referencias para las afinidades reportadas para ibogaína y noribogaína se encuentran en la Tabla 2.3. El análogo 18-MC también actúa sobre receptores opioides, teniendo una afinidad similar para KOR, pero difiere en su acción sobre MOR ya que se comporta como un agonista parcial. Curiosamente, a diferencia de ibogaína, 18-MC tiene poca o ninguna actividad en los receptores NMDA, receptores sigma o transportadores de monoaminas (en particular SERT).⁴⁸

La inhibición del receptor nicotínico de acetilcolina (subtipo: α3β4) se ha propuesto como el mecanismo detrás de las propiedades antiadictivas de 18-MC, ya que tiene una IC50 similar a la de ibogaína y una especificidad por este subtipo de receptor.¹⁵⁸ Apoyándose en esta hipótesis de mecanismo de acción, y habiendo identificado el éster metílico de C16 como crucial para eliminar los efectos tremogénicos, se sintetizó una segunda serie de análogos de 18-MC (Figura 2.20). Los derivados de la serie 2 se sintetizaron a partir del ácido carboxílico libre de 18-MC, del cual se genera el cloruro de ácido por tratamiento con cloruro de oxalilo, y se agrega el nucleófilo correspondiente.¹⁵⁶ Se evaluaron trece análogos de 18-MC como inhibidores del receptor nicotínico α3β4; la mayoría de los análogos de 18-MC mostraron una inhibición alta (>85%) del canal iónico, lo que demuestra que para esta acción farmacológica esta sustitución es tolerada. Todos los análogos sintetizados mostraron menor actividad como inhibidores de receptores opioides, solo 18-MC se compara con la afinidad de ibogaina. Únicamente destaca el derivado sustituido en R₂ con un grupo etilendimetilamino (Figura 2.20), que es muy selectivo para receptor KOR.

Como se mencionó anteriormente, la actividad inhibitoria de 18-MC sobre SERT es menor que la observada para ibogaína (Tabla 2.6), recientemente se estableció una IC50 de 51,6µM para 18-MC,¹⁵⁹ lo que indica que su potencial como antidepresivo (actuando por vía de inhibición de la recaptación de neurotransmisores) sería muy bajo. Independientemente de esto, lo autores realizan experimentos comportamentales que sugieren una actividad antidepresiva a dosis altas.¹⁵⁹

Como se mencionó anteriormente (punto 2.1.4.1) 18-MC ha sido señalado como un análogo que resuelve los problemas de cardiotoxicidad, por tener una disminuida acción como inhibidor del canal de potasio hERG. Este hecho ha impulsado su desarrollo como fármaco llegando incluso a realizarse ensayos clínicos recientes de fase 1 y 2 (ej. Código NIH: NCT04292197).

2.3.1.2 Derivados fosforilados

El desarrollo de algunos derivados tuvo como foco principal el mejoramiento de propiedades farmacocinéticas (absorción, distribución y solubilidad),¹⁶⁰ donde fueron patentados análogos de noribogaína con ésteres de fosfato en el fenol en C10 o el nitrógeno indólico (N1)(Figura 2.21). Los compuestos reportados y patentados tienen entre 1 y 3 unidades de fosfato, como una cadena lineal unida con enlaces tipo-pirofosfato. La unidad de fosfato se incorpora en dos pasos a partir de noribogaína y una especie de P(III) reactiva, la cual se oxida a fosfato, en un segundo paso, con iodo. Además, se incluyen compuestos reducidos en la porción indólica de la molécula, concretamente en el doble enlace C2-C7, que según los autores se oxida fácilmente a noribogaína en condiciones fisiológicas.



Figura 2.21 Derivados fosforilados de noribogaína, Gless et al.¹⁶⁰

Principalmente, se trata de una invención que no aborda la exploración del espacio químico de la *iboga* a partir de la generación de diversidad estructural, sino una manipulación sencilla de la estructura para generar potenciales prodrogas liberadoras de noribogaína de forma controlada. Los autores proponen su uso en el tratamiento del dolor.

2.3.1.3 Derivados con cambios del núcleo indólico (benzofuranos, benzotiofenos)

Es de destacar el trabajo de Sames *et al.*, quien ha propuesto la síntesis de análogos completos con cambios del núcleo aromático, sustituyendo el indol por benzofurano, benzotiofenos o benzimidazol (Figura 2.22).¹⁶¹ Además, en esta patente de invención se exploran distintos patrones de sustitución en el anillo bencénico (metoxilado, alquilado, fluorado o con un hidroxilo libre) y la posición relativa de la cadena etílica lateral. Se sintetizan un gran número de compuestos (>50), con foco en la actividad sobre receptores opioides (KOR, MOR y DOR) y el estudio de la selectividad entre los distintos subtipos, con el objetivo de encontrar terapias para el dolor con menos efectos secundarios.



Figura 2.22 Compuestos sintetizados y patentados por Sames et al.¹⁶¹

Los análogos se construyen por una ruta de síntesis total racémica, como se muestra en la Figura 2.23. Inicialmente se forma la isoquinuclidina mediante una reacción de Diels Alder entre una dihidropiridina y metilvinilcetona, obteniéndose una mezcla epimérica (Figura 2.23A), la cual puede ser separada por formación de una hidrazona, por tratamiento con tosilhidrazina.



Figura 2.23 Ruta para la síntesis de análogos empleada por Sames et al.¹⁶²

El residuo aromático se incorpora mediante una reacción de sustitución nucleófila sobre la amina de la isoquinuclidina (Figura 2.23B). Para la formación del enlace C-C necesario para el cierre del ciclo de tetrahidroazepina y obtener análogos completos, los autores desarrollan condiciones catalizadas por reactivos organometálicos (Figura 2.23B). Para los compuestos que tienen benzofurano en remplazo del indol, se utiliza un catalizador organometálico de Ni, con muy buenos resultados. En el caso de los compuestos con indol, es necesario utilizar catalizadores de Pd, y halogenar la posición 2 del indol para poder promover la formación del ciclo de 7 miembros. Esta ruta sintética es utilizada en la parte final de esta tesis para la obtención de análogos clave por síntesis total (punto 4.2.3.4).

En especial los compuestos oxa-iboga resultaron potentes agonistas del receptor opioide kappa tanto *in vitro* como *in vivo*, pero exhiben características conductuales atípicas en comparación con los psicodélicos kappa estándar. En una publicación de este grupo depositada en el Biorxiv,¹⁶³ los autores muestran que la oxa-noribogaina (Figura 2.22) tiene una mayor eficacia terapéutica en modelos de uso de opioides en ratas, y no tiene potencial proarrítmico cardiaco, a diferencia de la noribogaina. Por lo tanto, los compuestos oxa-iboga representan candidatos para un nuevo tipo de farmacoterapia para el tratamiento del TUS en relación a opioides.

2.3.2 Derivados simplificados

Existen abordajes de simplificación estructural de ibogaína que apuntan a la síntesis de una parte de la molécula en particular, sin considerar el resto de las funcionalidades. En estos casos, al tratarse de estructuras de menor complejidad respecto a la del producto natural, suele sintetizarse un gran número de compuestos. Como punto débil, las estructuras a las que se arriba muchas veces difieren considerablemente del compuesto de referencia, lo que puede llevar a un perfil de actividad biológica muy distinto.

2.3.2.1 Isoquinuclidinas

Dentro de los trabajos que abordan la síntesis del biciclo nitrogenado como parte central, se destaca el trabajo de Passarella *et al.* (Figura 2.24),^{164,165} donde se construye una biblioteca de 11 compuestos, en su mayoría lactamas, que no poseen el anillo de 7 miembros (tetrahidoazepina) pero conservan la porción aromática unida mediante la posición C16 (en ibogaína). La isoquinuclidina se construye mediante una reacción de Diels-Alder entre acrilato de metilo y *N*-bencilpiridona, que transcurre con una baja regioselectividad, obteniéndose 4 isómeros posibles. Luego se incorpora la porción aromática mediante una reacción de Suzuki, donde los autores incluyen diversidad, introduciendo (además de indol) otros aromáticos (fenilo, tiofeno, etc).

Se evalúa la actividad biológica de estos compuestos sobre transportadores de monoaminas (SERT, DAT), receptor kappa opioide (KOR) y NMDA. Se obtuvo actividad baja micromolar (IC50< 1–10µM) para SERT, DAT y KOR comparable a la de ibogaína, pero no para NMDA. Esto llama la atención ya que se trata de amidas, y el nitrógeno isoquinuclidínico no tiene el carácter básico que presenta en el producto natural, y que como veremos más adelante, pareciera ser fundamental para la interacción con los transportadores de monoaminas.



Figura 2.24 Estrategia síntesis de isoquinuclidinas Passarella et al.¹⁶⁴

Por otro lado, Levi *et al. s*intetiza isoquinuclidinas N,16-disubstituidas, obtenidas de forma racémica (Figura 2.25).¹⁶⁶ La construcción del biciclo se realiza por medio de una lactamización de

un éster metílico, para lo cual se requieren altas temperaturas 160°C (calentamiento en seco, atmósfera inerte), proceso que resulta muy ineficiente. La variación estructural propuesta es la incorporación de residuos aromáticos (R_1 y R_2) en ambas posiciones de la isoquinuclidina; utiliza 6 sustituyente distintos en cada residuo, siempre incluyendo aromáticos con distinto patrón de metoxilación. Se obtienen mezclas epiméricas en la posición equivalente a C16 del producto natural, las cuales no son separables. En este caso no hay datos de evaluación biológica, los autores mencionan la de evaluación a fututo sobre receptores opioides (KOR, MOR, DOR), receptores sigma (σ 1 y σ 2), NMDA y receptores nicotínicos (nAch), pero los datos no han sido publicados.



Figura 2.25 Estrategia síntesis de isoquinuclidinas Levi et al.¹⁶⁶

Más recientemente, nuestro grupo de investigación (en el marco de la tesis de la Dra. Pazos) abordó la síntesis enantioselectiva de isoquinuclidinas a partir de dioles homoquirales (obtenidos por biotransformación de arenos) como dienos en reacciones de Imino Diels-Alder (Figura 2.26).^{167,168} Los derivados finales cuentan con la función etilindólica, pero con una desconexión entre la posición C2 y C16 de la molécula que no contiene el ciclo de tetrahidroazepina. Resulta interesante que los análogos están oxigenados en la isoquinuclidina y alquilados en posición C3, residuo que los autores utilizan para aumentar la diversidad estructural de la biblioteca (*15 compuestos*).



Figura 2.26 Estrategia sintética y compuestos diseñados por Pazos et al.¹⁶⁸

La actividad biológica evaluada sobre estos compuestos fue como potenciales liberadores de GDNF, que como se mencionó anteriormente, podría ser un mecanismo central de la actividad antiadictiva, promoviendo eventos de plasticidad neuronal en el circuito de recompensa. Cuatro de los compuestos evaluados resultaron ser activos *in vitro* como promotores liberadores de GDNF en células C6 (glioma de rata). Uno de los compuestos fue seleccionado como líder por su baja citotoxicidad, medida dos métodos experimentales distintos: LDH (lactato deshidrogenasa) y WST-1 (competencia metabólica por reducción de tetrazolio). Adicionalmente, también se evalúa la actividad antiparasitaria mediante ensayos de citotoxicidad sobre *Tripanosoma brucei*, identificando compuestos activos con un buen índice de selectividad contra el patógeno sobre macrófagos sanos.

2.3.2.2 Sistemas tri y tetracíclicos (sin isoquinuclidina)

Otros autores proponen la eliminación del biciclo isoquinuclidínico, para conservar el sistema de anillos fusionados que contiene la porción aromática (indol) y el anillo de tetrahidroazepina (C5+C6+C7). En este sentido Efange *et al.*, propuso el cambio del indol por un benzotiofeno como se observa en la Figura 2.27, y sintetizó una pequeña biblioteca de 5 compuestos variando los sustituyentes de un nuevo anillo aromático, unido en posición C16.¹⁶⁹ El paso clave de la síntesis es el cierre del ciclo de 7 miembros en condiciones ácidas, que ocurre por el ataque del carbono α del tiofeno, a un carbocatión que se genera a partir del OH bencílico.



Figura 2.27 Estrategia de síntesis y estructuras de la biblioteca de Efange et al.¹⁶⁹

Efange et al, evalúan los compuestos preparados en transportadores de monoaminas (DAT, SERT), receptor NMDA, receptores de dopamina (D₁, D₂, D₃) y receptores opioides (MOR, KOR) mediante ensayos de afinidad por desplazamiento de ligando radio-marcado. La mayoría de estos compuestos resultan 8-10 veces más afines por DAT que ibogaína y noribogaína.¹⁶⁹ En cambio para SERT sólo uno resulta con el mismo nivel de afinidad que el compuesto de referencia, el cual no tiene sustituyentes desactivantes del anillo.

Floresta et al, propone una primera aproximación mediante estudios computacionales donde ensaya la unión —mediante metodologías de docking— a receptores sigma (σ 1 y σ 2).¹⁷⁰ El objetivo de los autores es conseguir ligandos selectivos para el subtipo σ 2. Diseñan una base de datos de ligando que fusionan la estructura de ibogaína e Incazano (Figura 2.28), un producto natural conocido por su actividad tipo antidepresiva e inhibidor de la monoaminooxidasa (MAO). En este trabajo únicamente se realiza la evaluación biológica de un compuesto representativo de toda la serie evaluada computacionalmente, para demostrar que la constante de afinidad está dentro del mismo orden que la predicha por el programa.



Figura 2.28 Estructuras de los compuestos diseñados por Floresta et al.¹⁷⁰

Más recientemente Cameron *et al.*,¹⁷¹ realizaron un estudio sistemático de deconstrucción del esqueleto de la iboga sintetizando isoquinuclidinas y sistemas tricíclicos, como el de la Figura 2.29. El reconocimiento de estructuras activas estuvo liderado por un ensayo *in vitro* que mide la generación de nuevas prolongaciones y espinas neuronales. El mismo grupo de investigación acuñó recientemente el concepto de psicoplastógeno,^{172,173} que refiere a moléculas que aumentan la complejidad de las ramificaciones neuronales de células proveniente de cultivo primario de corteza de rata. Se observó que las isoquinuclidinas (sin indol o anillo de tetrahidoazepina) carecían de actividad, por el contrario, los sistemas tricíclicos (C6+C5+C7) conservan esta actividad, con una magnitud comparable a la del compuesto de referencia.





Los compuestos se obtienen mediante la síntesis de indol de Fischer, partiendo de la fenilhidrazina correspondiente y la cetona cíclica de 7 miembros. Se genera una pequeña biblioteca de 7 compuestos, de los cuales se selecciona TBG (estructura en Figura 2.29) como líder del grupo y se realiza una caracterización biológica extensa de este compuesto. Esta caracterización incluye la evaluación de la toxicidad cardíaca en modelos animales que utilizan pez zebra (*Danio rerio*), donde se observa que TBG tiene una menor capacidad de generar descoordinación cardíaca que ibogaína.

Para inferir sobre la actividad alucinogénica del compuesto, los autores evalúan (*in vitro*) su acción sobre el receptor 5HT2A, donde TBG muestra ser un agonista parcial, ya que provoca un 50% de activación respecto a 5HT (sustrato natural), incluso a altas concentraciones. Sorprendentemente no se incluye ibogaína dentro del panel de compuestos evaluados; sabemos por reportes previos de literatura que ibogaína es poco activa (IC50 19µM) sobre este receptor (Tabla 2.3).⁴⁸ En la misma línea, se realizan experimentos comportamentales en roedores donde se contabilizan los movimientos de cabeza (*head twich*), una conocida respuesta provocada por psicodélicos clásicos como LSD y psilocibina (agonistas 5HT2A) que es indicativa de su actividad alucinogénica. TBG no genera esta respuesta en animales, por lo que los autores aseguran haber disociado la capacidad alucinogénica de la actividad promotora de la plasticidad neural (terapéutica). Esto es al menos, discutible, ya que ibogaína (no incluida en el ensayo comportamental), al no ser un psicodélico clásico no genera este comportamiento en roedores. Por tanto, no puede aseverarse que el análogo en cuestión no sea también clasificado como un psicodélico no clásico.

TBG es utilizado también en una variedad de experimentos comportamentales en roedores que buscan caracterizar un efecto tipo-antidepresivo (por ejemplo: test de preferencia de sacarosa, test de nado forzado TNF)), y un efecto antiadictivo (modelo de autoadministración de sustancias (heroína)). En el <u>TNF</u>, TBG redujo la inmovilidad de los roedores tras una dosis de 50mg/kg pero no a 10 mg/kg 24 horas previo al test, lo que denota una actividad antidepresiva duradera como la de ketamina. En el test de preferencia de alcohol y heroína, TBG reduce la ingesta de alcohol y la autoadministración de heroína de forma significativa.

En busca de posibles dianas responsables por este efecto comportamental, TBG fue evaluado contra un panel de 87 receptores del SNC a una concentración fija de 10µM, y mostró actividad significativa (inhibición >50%) contra receptores de serotonina del subtipo 1B, 2A, 2B y 2C; además inhibe la enzima MAO-A y el transportador SERT, lo que podría explicar claramente los efectos antidepresivos observados. Por otro lado, TBG no produce una inhibición significativa del transportador vesicular VMAT.

2.4 Química de los alcaloides de la iboga

El siguiente apartado busca destacar los principales puntos de la reactividad de estructuras con esqueleto tipo-iboga, lo cual es de especial interés ya que la aproximación principal del trabajo químico de la tesis presentada es mediante una metodología semisintética. Actualmente se denomina a este tipo de estrategia "Funcionalización en Etapa Tardía" (*Late Stage Functionalization –* LSF),¹⁷⁴ consistente en realizar modificaciones sintéticas puntuales sobre estructuras orgánicas complejas, como las de productos naturales. Esta estrategia de trabajo tiene un gran potencial para la generación de grandes bibliotecas de compuestos en un corto período, ya que, a diferencias de la síntesis total, el trabajo químico no se centra en la construcción de un esqueleto complejo (ya provisto por el agente biosintetizador —planta o microorganismo— con la estereoquímica apropiada), sino en la derivatización química. La contraparte negativa es que los cambios estructurales propuestos están limitados a los grupos funcionales presentes en la estructura del producto natural, pudiendo tener áreas de la molécula poco accesibles sintéticamente. Por esta razón, las estrategias LSF recurren asiduamente a estrategias de funcionalización C-H, buscando la activación de enlaces poco reactivos.

Cabe destacar de forma breve, que existen múltiples síntesis totales reportadas para el núcleo de la iboga (Tabla 2.7, adaptado de *lyer et al*,¹) que abordan la preparación de alguno de sus congéneres (ibogamina, catarantina, coronaridina, etc). La mayoría tienen como objetivo sintético (±)-ibogamina y comparten un mismo abordaje de síntesis, que implica primero la formación de la isoquinuclidina (Q), para luego incorporar el indol (I) y por último, generar el anillo de tetrahidroazepina (A). Algunas de estas aproximaciones ya fueron descritas en el apartado 2.3.1, donde se obtienen análogos de estructura completa con un fin químico-medicinal (ej. Figura 2.23, *Sames et al.* (2015)). La mayoría de las síntesis listadas en la Tabla 2.7 son racémicas, recién a partir del año 2000 con el reporte de White *et al*, se obtiene un producto enantiomericamente puro.



Año	Grupo	Objetivo sintético	Secuencia de formación	Pasos	% R global
1965	Buchi 175,176	(±)-ibogamina	Q→I→A	14	1,3
1968	Nagata ¹⁷⁷	(±)-ibogamina	Q→I→A	16	0,8
1981	Hanaoka ¹⁷⁸	(±)-ibogamina	Q→I→A	17	3,9
1985	Kuehne 154	(±)-ibogamina	Q/I→A	10	2,6
1985	Raucher ¹⁷⁹	(±)-catarantina	Q→I→A	11	9,0
1991	Herdeis ¹⁸⁰	(±)-ibogamina	Q→I→A	8	14
1996	Grieco ¹⁸¹	(±)-ibogamina	I→Q→A	9	7,0
1999	Fukuyama ¹⁸²	(±)-catarantina	Q→I→A	17	6,0
2000	White ¹⁸³	(-)-ibogamina	A→Q→I	15	4,6
2005	Hodgson ¹⁸⁴	(+)-ibogamina	Q→I→A	11	2,0
2006	Borschberg ¹⁸⁵	(-)-19-hidroxiibogamina	Q→I→A	20	1,9
2012	Sinha ¹⁸⁶	(±)-ibogaína	Q→I→A	9	9,4
2012	Takayama ¹⁸⁷	(-)-voacangalactona	Q→I→A	25	3,2
2014	Oguri ¹⁸⁸	(-)-catarantina	I→Q/A	10	2,8
2015	Sames ¹⁶²	(±)-ibogamina	Q→I→A	9	7,3
2016	Luo ¹⁸⁹	(+)-ibogamina	I→Q/A	12	4,2
2016	She ¹⁹⁰	(±)-ibogaína	I→Q/A	12	4,6

Tabla 2.7 Síntesis totales del núcleo iboga Tabla adaptada de Iyer et al.¹

2.4.1 Modificaciones estructurales sobre el producto natural

Los trabajos de modificación estructural sobre el producto natural pueden agruparse principalmente en dos categorías: aquellos realizados en la década del '40 y '50 por Taylor *et al*, con el fin de la identificación estructural de ibogaína, los cuales incluyen un gran número de reacciones de oxidación y serán descritos en detalle en 4.2.2., y por otro lado, más recientemente, el trabajo realizado por Han *et al*,¹⁹¹⁻¹⁹³ quien crea una clasificación sistemática de estructuras modificadas obtenidas por rearreglo del esqueleto de la iboga (Figura 2.30). Para referirse a este tipo de compuestos el autor acuña el concepto de *"post-iboga alkaloids"*; su objetivo de trabajo fue generar otros productos naturales a partir de catarantina (análogo de ibogaína de la serie enantiomérica opuesta) para hipotetizar sobre su origen biosintético común.



Figura 2.30 Clasificación de *Han et al* para alcaloides de la iboga con modificaciones en el esqueleto carbonado, *"post-iboga alkaloids"*.¹⁹¹

Esta clasificación crea cuatro categorías (I, II, III y IV) según el tipo de enlace que se rompe en el rearreglo de la estructura.¹⁹¹ En la primera categoría se pierde el enlace C16-C21, dando lugar a estructuras tipo cleavamina (Figura 2.31). Este tipo de moléculas forma parte de los alcaloides de la vinca, compuestos diméricos como vincamina y vincristina, conocidos por su potente acción antitumoral, ya que son inhibidores de la polimerización de microtúbulos (citoesqueleto).¹⁹⁴ La obtención de un análogo (vinorelvina) ha sido llevada a cabo de forma semisintética a partir de catarantina y vindolina, un alcaloide de la familia aspidosperma. El enlace C16-C21 se pierde por la ruptura oxidativa en presencia de cloruro de hierro (III), formando un intermedio iminio, el cual es atacado por el anillo aromático de la vindolina para formar el nuevo enlace C-C. En un segundo paso,

el imínio se reduce con borohidruro de sodio para dar el producto final conteniendo la estructura tipo-cleavamina.

La segunda categoría contiene análogos donde el anillo de tetrahidroazepina ha sido contraído a 5 o 6 miembros. Para su obtención semisintética es necesario generar estructuras tipo indolenina (Figura 2.32), las cuales son tratadas en medio ácido (acuoso o anhidro) para generar los productos rearreglados. En el primer caso (medio acuoso), el ataque de la isoquinuclidina se da sobre la imina de la indolenina, para formar un nuevo ciclo de 5 miembros (voatinggina). En cambio, en medio anhidro (solvólisis en TFA), el ataque es sobre la posición adyacente, para generar un nuevo ciclo de 6 miembros (tabertiggina). En ambos casos se forma una nueva insaturación tras la ruptura del enlace N4-C21, el cual finaliza formando un sistema conjugado con la cetona (enona) lo que promueve el avance de la reacción; difícilmente este tipo de rearreglo ocurra sin una cetona en posición C19.



Figura 2.31 Obtención semisintética de alcaloides de la vinca, por ruptura oxidativa de C16-C21 de catarantina. Estructura de cleavamina, post-iboga tipo I (C6+C5+C9+C6).



Figura 2.32 Obtención semisintética de alcaloides post-iboga Tipo II.

La ruptura del enlace N4-C3 (post-iboga tipo III) implica la pérdida del sistema bicíclico de la isoquinuclidina (Figura 2.33), para dar un sistema de anillos fusionado que recuerda a algunos análogos obtenidos con fines químico-medicinales (ver Figura 2.27 y 2.29). Inicialmente, la reacción de un derivado de catarantina (con el N-indólico protegido) con bromuro de cianógeno da lugar a una cianamida. La ruptura se da de forma regioselectiva (N4-C3), sin observar otros productos que se podrían obtener por la ruptura de los otros dos enlaces sigma del nitrógeno (N4-C5 y N4-C21). El autor completa una secuencia sintética mediante la sustitución del bromuro por un hidroxilo, y la hidrólisis de la cianamida para obtener la amina libre, lo que permite la síntesis de un producto natural ((+)-20-*epi*-3-hidroxi-3,4- secocoronaridina).



Figura 2.33 Obtención semisintética de alcaloides post-iboga tipo III.

La última categoría de esta clasificación, post-iboga tipo IV, refiere a análogos obtenidos por oxidación de la porción indólica de la molécula, que pueden dar lugar a estructuras tipo pseudoindoxilo o ruptura del enlace C2-C7 (Figura 2.34). En este caso, el trabajo de She *et al.*¹⁹⁰ utiliza la 7-hidroxiindolenina de la ibogaína para producir iboluteína, un espiro-compuesto que se obtiene por rearreglo en medio básico. Es posible promover la ruptura oxidativa del enlace C2-C7 por tratamiento de la 7-hidroxiindolenina con peróxido de hidrógeno; en este caso se utiliza el

derivado oxidado en C3 (lactama), presumiblemente, para evitar reacciones secundarias de oxidación de la isoquinuclidina por parte del peróxido.



Figura 2.34 Obtención semisintética de alcaloides post-iboga tipo IV.

Como se observa, estas estructuras tienen una reactividad diversa; algunos de estos compuestos rearreglados distan bastante de la estructura de ibogaína por lo que es de esperar que tengan un perfil de actividad biológica diferente. Nuestro interés estará puesto en la exploración de un espacio químico próximo al del compuesto de referencia (ibogaína), con el fin de establecer reglas claras de relación estructura-actividad.

2.4.2 Fuentes naturales de alcaloides de la iboga y origen biosintético

2.4.2.1 Origen biosintético

Los alcaloides de la iboga son un grupo de alcaloides monoterpeno-indólicos (MIA) que provienen biosintéticamente de la 3α-estrictocidina, la cual se genera por la condensación de triptamina y secologanina (Figura 2.35).¹⁹⁵ La secologanina se produce, a su vez, a partir de geraniol, de allí el origen mono-terpénico (C10) de estas estructuras.



Figura 2.35. Formación de estrictocidina.

La 3α-estrictocidina da origen biosintético a múltiples grupos de alcaloides monoterpenoindólicos (Figura 2.36). La pluripotencialidad estructural de este intermedio biosintético está dada por la existencia 'enmascarada' de dos funcionalidades aldehído dentro de la porción terpénica, en conjunción con la libre rotación del metileno que une ambos ciclos de 6 miembros.



Figura 2.36. Estrictocidina como intermediario biosintético común a alcaloides monoterpeno-indólicos (MIA).

Estructuralmente se pueden clasificar los MIA en función del patrón estructural del esqueleto carbonado de la porción terpénica de la molécula (Figura 2.37). De esta forma, abordamos la complejidad estructural de tan diverso grupo de productos naturales agrupándolos como: alcaloides de la aspidosperma, corinante o iboga.



(aspidosperma)

Figura 2.37. Identificación estructural del esqueleto carbonado proveniente de la porción monoterpénica (C10). Clasificación por grupo de alcaloide.

La deshidrosecodina —que se produce a partir de estrictocidina— es el precursor común a los alcaloides de la iboga y la aspidosperma (Figura 2.38). La deshidrosecodina cuenta con dos sistemas diénicos (indicados en rojo y azul en la Figura 2.38), los cuales pueden actuar, de forma alternativa, en reacciones de cicloadición [4+2] junto con un doble enlace del otro dieno. Esta posibilidad 'pívot' da lugar a una diversidad estructural muy importante; las enzimas que controlan este proceso se conocen como dielsalderasas.¹⁹⁶⁻¹⁹⁸ Nótese los aspectos estereoquímicos de este paso biosintético; la deshidrosecodina no cuenta con centros quirales en su estructura, pero los alcaloides de destino cuentan con tres carbonos quirales (Figura 2.38). Además, el mismo intermedio da lugar a alcaloides de la iboga de series enantioméricas distintas, (+)-catarantina y (-)-voacangina, controlado por la maquinaria biosintética de la célula.¹⁹⁶⁻¹⁹⁸



Figura 2.38. Estructura de deshidrosecodina. Biosíntesis del esqueleto carbonado vía cicloadición [4+2].

2.4.2.2 Fuentes naturales

Los alcaloides de la iboga y la aspidosperma son encontrados principalmente en plantas de la familia Apocynacea, que incluye los géneros: *Tabernanthe, Voacanga, Tabernaemontana, Catharantus, Corynanthe, y Aspidosperma,* y cuenta con más de 2000 especies.¹⁹⁹ El perfil y distribución de alcaloides entre las distintas partes anatómicas de la planta es muy variable, tendiendo a concentrarse en la raíz, más específicamente en su corteza. Este hecho brinda indicios del rol químico ecológico de estos metabolitos secundarios, que posiblemente protegen a la planta del ataque de herbívoros subterráneos, lo que se condice con la acción antihelmíntica y antiparasitaria reportada para compuestos de esta familia.²⁰⁰

El contenido reportado de alcaloides (% m/m del material vegetal seco) para distintas especies vegetales es variable (Tabla 2.8), y está afectado por factores como: el método de extracción, el método de análisis y la variabilidad entre individuos de la misma especie. La variabilidad interindividual es esperable, ya que se trata de metabolitos secundarios que modifican su distribución y concentración según las condiciones ambientales (condiciones de cultivo, tipo de suelo, época del año, estrés hídrico, fotoperíodo) y propias de la planta (edad de la planta, período de floración/fructificación, etc.). Además, hay que resaltar, que los valores informados como parte de la Tabla 2.8, no son únicamente rendimientos de extracción aislados, sino datos obtenidos por estimación luego del análisis por HPLC o GC (MS) de una pequeña muestra de material vegetal. Este tipo de estimaciones tiende a informar cantidades diferentes de contenido de alcaloides en comparación al aislamiento preparativo por motivos como: cromatogramas de muestras complejas con baja resolución entre analitos; utilizar estándares internos con estructura sustancialmente diferentes a la de los analitos (ej. cafeína); el método de extracción de una muestra analítica no tiene en cuenta las pérdidas del proceso de purificación cuando se trabaja a escala preparativa.

Especie	Ibogaína	Ibogamína	Voacangina	Coronaridina	Catarantina
T. iboga ^{201–204}	0,27-0,32	0,097-0,40	0,043-0,28	NR	NR
V. africana ²⁰⁵	0,25	TR	1,67	TR	NR
<i>T. arborea</i> ^{204,205}	0,27	0,036	0,96	0,073	NR
C. roseus ²⁰⁶	NR	NR	NR	NR	0,003-0,099
T. alba ²⁰⁴	0,046-0,22	0,042-0,30	0,033-0,96	0,075-0,52	NR
T. donnell ²⁰⁴	0,069-0,74	0,028-0,032	0,21-0,44	0,046-0,23	NR
T. amygdalifolia ²⁰⁴	0,047	0,76-0,96	0,19-0,22	1,092-1,38	NR

Tabla 2.8 Especies representativas de la familia Apocynacea y su contenido de alcaloides (% m/m). NR: no registrado. TR: trazas (<0,01%). Las referencias: ²⁰³⁻²⁰⁶ son rendimientos

calculados a partir de análisis por GC o HPL (MS). Las referencias: 201,202 son rendimiento aislado del alcaloide. Adaptado de Iyer *et al.*¹

Teniendo en cuenta estas observaciones, del análisis de la Tabla 2.8 se desprende que catarantina se encuentra en baja proporción en plantas del género *Catharantus*, donde fue identificada originalmente.²⁰⁶ A su vez *C. roseus*, no produce ibogaína ni otros congéneres de la serie enantiomérica opuesta. Por el contrario, las especies mostradas pertenecientes a los géneros *Tabernanthe, Tabernanthemontana y Voacanga*, producen una cantidad mayor de alcaloides en términos generales, todos de la serie enantiomérica de ibogaína, con distinto patrón de sustitución (ver estructuras Tabla 2.5). Como ya fue mencionado en la introducción, la ibogaína es el alcaloide más abundante en el extracto de raíz de *Tabernanthe iboga* (fuente original), donde se encuentran también otras estructuras similares. Además de los compuestos con la estructura básica de (-)-ibogamina, el extracto también incluyen variaciones como derivados pseudoindoxilo (iboluteína)(rendimiento no informado).⁶

El aislamiento directo de ibogaína de *T. iboga* se ha vuelto problemático debido a su alta demanda por parte de la creciente subcultura médica,⁵ existe hoy en día una comunidad global de personas que proporcionan terapia con ibogaína para el tratamiento del trastorno por uso de sustancias (TUS) en entornos médicos alternativos.⁵ Con este fin, las dosis utilizadas son de la escala de gramos por individuo (10-35 mg/kg del alcaloide puro en forma de clorhidrato). Si bien el porcentaje de extracción desde la fuente natural (~0,3%) es apreciable —desde un punto de vista farmacognóstico— resulta totalmente insuficiente para la demanda global. Estos hechos han tenido un impacto negativo en la disponibilidad de la planta en África Occidental debido a una sobre-explotación no controlada.²⁰⁷ Además de estas preocupaciones ambientales, *T. iboga* también es considerada sagrada en la disciplina espiritual tradicional de los Bwiti, donde desempeña un importante papel cultural, especialmente en Gabón, donde el acceso a la planta ha sido amenazado;^{205,207} por tanto es necesario la búsqueda de fuentes alternativas, promover prácticas de cultivo sustentable, con un enfoque humanitario y respetuoso de la cultura Bwiti.²⁰⁸

La especie *Voacanga africana* ha sido cultivada sistemáticamente por más de 30 años a gran escala en África central (Ghana, Gabón, Camerún, Guinea Ecuatorial), en granjas de cultivo especializadas.²⁰⁹ La motivación económica para su cultivo es la venta y exportación de sus semillas (1600 toneladas anuales),²¹⁰ las cuales contienen alcaloides indólicos: vincamona, vincanol y su derivado metilado (Figura 2.39),²¹¹ siendo una especie mucho más abundante y con una distribución geográfica más amplia que *T. iboga.*²⁰⁹



Figura 2.39 Estructura de los alcaloides encontrados en la semilla de V. africana.

Aunque la composición cualitativa de alcaloides en la corteza de tallo y raíz de *V. africana* ha sido descrita previamente,^{187,210,212} pocos estudios muestran un análisis cuantitativo de su composición. Una estimación del contenido de voacangina —el principal alcaloide— utilizando métodos analíticos proporcionó ~1,67% del peso seco en la corteza de raíz (Tabla 2.8).²⁰⁵ Por otro lado, sólo unos pocos estudios informan rendimientos aislados de voacangina (por ejemplo, ~0,5% del peso seco de la corteza de tallo) y procedimientos de extracción detallados (que se verán en detalles en la sección 4.1).^{202,213} La voacangina permite la preparación semisintética de ibogaína en un procedimiento que implica la hidrólisis básica seguida de descarboxilación ácida.²¹⁴ En comparación con la extracción directa desde *T. iboga*, la ibogaína producida mediante este proceso suele tener mayores niveles de pureza, debido a la ausencia de otros alcaloides estructuralmente relacionados de difícil separación (ej. ibogamina e ibogalina).

Recientemente, se ha reportado la presencia de cantidades significativas de voacangina en algunas especies de *Tabernaemontana* de origen americano (Tabla 2.8), nuevamente estimados luego del análisis por GCMS del extracto entero de una pequeña muestra de material vegetal.^{204,205,215} Si bien resulta promisorio buscar especies autóctonas del continente americano como proveedores de alcaloides de la iboga, no se cuenta con una plantación comercial activa, como es el caso de *Voacanga africana*.

Referencias bibliográficas

- (1) Iyer, R. N.; Favela, D.; Zhang, G.; Olson, D. E. Nat. Prod. Rep. 2021, 38 (2), 307–329.
- (2) Bartlett, M. F.; Dickel, D. F.; Taylor, W. I. J. Am. Chem. Soc. 1958, 80 (1), 126–136.
- (3) Arai, G.; Coppola, J.; Jeffrey, G. A. Acta Crystallogr. **1960**, *13* (7), 553–564.
- (4) Heink, A.; Katsikas, S.; Lange-Altman, T. J. Psychoactive Drugs 2017, 49 (3), 201–208.
- (5) Alper, K. R.; Lotsof, H. S.; Kaplan, C. D. J. Ethnopharmacol. 2008, 115 (1), 9–24.
- (6) Wasko, M. J.; Witt-Enderby, P. A.; Surratt, C. K. ACS Chem. Neurosci. 2018, 9 (10), 2475–2483.
- (7) Litjens, R. P. W.; Brunt, T. M. Clin. Toxicol. 2016, 54 (4), 297–302.
- (8) Gallo, C.; Renzi, P.; Loizzo, S.; Loizzo, A.; Capasso, A. Pharmacologyonline 2009, 920 (3, News Letters), 906–920.
- (9) Brown, T. K. Curr. Drug Abuse Rev. **2013**, 6 (1), 3–16.
- Lotsof, H. S. Rapid Method for Interrupting the Narcotic Addiction Syndrome. US4499096, 1985.
- (11) Lotsof, H. S. RAPID METHOD FOR INTERRUPTING THE COCAINE AND AMPHETAMINE ABUSE SYNDROME. US4587243, 1986.
- (12) Lotsof, H. S. RAPID METHOD FOR ATTENUATING THE ALCOHOL DEPENDENCY SYNDROME. US4857523, 1989.
- (13) Lotsof, H. S. RAPID METHOD FOR INTERRUPTING OR ATTENUATING THE NICOTINE/TOBACCO DEPENDENCY SYNDROME. US5026697, 1991.
- (14) Lotsof, H. S. RAPID METHOD FOR INTERRUPTING OR ATTENUATING POLY-DRUG DEPENDENCY SYNDROMES. US5152994, 1992.
- (15) Kuhn, B. N.; Kalivas, P. W.; Bobadilla, A. C. Front. Behav. Neurosci. 2019, 13 (November), 1–24.
- (16) Glick, S. D.; Rossman, K.; Steindorf, S.; Maisonneuve, I. M.; Carlson, J. N. Eur. J. Pharmacol. 1991, 195 (3), 341–345.
- (17) Cappendijk, S. L. T.; Dzoljic, M. R. Eur. J. Pharmacol. 1993, 241 (2–3), 261–265.
- (18) Glick, S. D.; Rossman, K.; Steindorf, S.; Maisonneuve, I. M.; Carlson, J. N. Eur. J. Pharmacol. 1991, 195 (3), 341–345.
- (19) Glick, S. D.; Kuehne, M. E.; Raucci, J.; Wilson, T. E.; Larson, D.; Keller, R. W.; Carlson, J. N. Brain Res. 1994, 657 (1–2), 14–22.
- (20) Rezvani, A. H.; Overstreet, D. H.; Leef, Y. W. Pharmacol. Biochem. Behav. 1995, 52 (3), 615–620.
- (21) Carnicella, S.; Kharazia, V.; Jeanblanc, J.; Janak, P. H.; Ron, D. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.

2008, *105* (23), 8114–8119.

- (22) He, D.-Y. J. Neurosci. 2005, 25 (3), 619–628.
- (23) GLICK, S. D.; MAISONNEUVE, I. M. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1998, 844 (1), 214–226.
- (24) Prior, P. L.; Prior, S. L. J. Addict. Ther. OPEN 2014, 1 (3), 1-5.
- Mazoyer, C.; Carlier, J.; Boucher, A.; Péoc'h, M.; Lemeur, C.; Gaillard, Y. J. Forensic Sci. 2013, 58 (6), 1666–1672.
- Wilkins, C.; dos Santos, R. G.; Solá, J.; Aixalá, M.; Cura, P.; Moreno, E.; Alcázar-Córcoles, M. Á.;
 Hallak, J. E. C.; Bouso, J. C. J. Psychedelic Stud. 2017, 1 (1), 29–34.
- (27) Krasner, B. S.; Girdwood, R.; Smith, H. Can. Anaesth. Soc. J. 1981, 28 (4), 329–333.
- (28) Caron, M. F.; Kluger, J.; Tsikouris, J. P.; Ritvo, A.; Kalus, J. S.; White, C. M. *Pharmacotherapy* 2003, *23* (3), 296–300.
- (29) Cherian, K. N.; Keynan, J. N.; Anker, L.; Faerman, A.; Brown, R. E.; Shamma, A.; Keynan, O.; Coetzee, J. P.; Batail, J. M.; Phillips, A.; Bassano, N. J.; Sahlem, G. L.; Inzunza, J.; Millar, T.; Dickinson, J.; Rolle, C. E.; Keller, J.; Adamson, M.; Kratter, I. H.; Williams, N. R. *Nat. Med.* 2024, 30 (February).
- Mash, D. C.; Kovera, C. A.; Pablo, J.; Tyndale, R. F.; Ervin, F. D.; Williams, I. C.; Singleton, E. G.;
 Mayor, M. Ann. N. Y. Acad. Sci. 2000, 914 (305), 394–401.
- (31) Mash, D. C.; Kovera, C. A.; Pablo, J.; Tyndale, R.; Ervin, F. R.; Kamlet, J. D.; Lee Hearn, W. In *The Alkaloids: Chemistry and Biology*; 2001; Vol. 56, pp 155–171.
- (32) Davis, A. K.; Barsuglia, J. P.; Windham-Herman, A.-M.; Lynch, M.; Polanco, M. J. Psychedelic Stud. 2017, 1 (2), 65–73.
- (33) Brown, T. K.; Alper, K. Am. J. Drug Alcohol Abuse **2018**, 44 (1), 24–36.
- (34) Mash, D. C.; Duque, L.; Page, B.; Allen-Ferdinand, K. Front. Pharmacol. 2018, 9 (JUN), 1–12.
- (35) Schenberg, E. E.; de Castro Comis, M. A.; Chaves, B. R.; da Silveira, D. X. *J. Psychopharmacol.* **2014**, *28* (11), 993–1000.
- (36) Schenberg, E. E.; de Castro Comis, M. A.; Alexandre, J. F. M.; Tófoli, L. F.; Chaves, B. D. R.; da Silveira, D. X. J. Psychedelic Stud. 2017, 1 (2), 74–83.
- (37) Gallo, D.; Gonzalez, J.; Rodriguez, P.; Casto, S.; Scorza, C.; Torterolo, P.; Alfonso, I. C. Rev. Psiquiatr. DEL URUGUAY 2023, 87 (1), 30–46.
- (38) Mash, D. C.; Staley, J. K.; Baumann, M. H.; Rothman, R. B.; Lee Hearn, W. Life Sci. 1995, 57 (3), 45–50.
- (39) Obach, S.; Pablo, J.; Mash, D. C. Drug Metab. Dispos. 1998, 26 (8), 764–768.

- (40) Glue, P.; Lockhart, M.; Lam, F.; Hung, N.; Hung, C. T.; Friedhoff, L. J. Clin. Pharmacol. 2015, 55
 (2), 189–194.
- (41) Glue, P.; Winter, H.; Garbe, K.; Jakobi, H.; Lyudin, A.; Lenagh-Glue, Z.; Hung, C. T. J. Clin.
 Pharmacol. 2015, 55 (6), 680–687.
- Mash, D. C.; Kovera, C. A.; Pablo, J.; Tyndale, R.; Ervin, F. R.; Kamlet, J. D.; Hearn, W. L. Alkaloids.
 Chem. Biol. 2001, 56, 155–171.
- (43) Zubaran, C.; Shoaib, M.; Stolerman, I. P.; Pablo, J.; Mash, D. C. *Neuropsychopharmacology* 1999, 21 (1), 119–126.
- (44) Staley, J. K.; Ouyang, Q.; Pablo, J.; Hearn, W. L.; Flynn, D. D.; Rothman, R. B.; Rice, K. C.; Mash,
 D. C. *Psychopharmacology (Berl)*. **1996**, *127* (1), 10–18.
- Baumann, M. H.; Rothman, R. B.; Pablo, J. P.; Mash, D. C. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2001, 297 (2), 531–539.
- (46) Rodríguez, P.; Urbanavicius, J.; Prieto, J. P.; Fabius, S.; Reyes, A. L.; Havel, V.; Sames, D.; Scorza,
 C.; Carrera, I. ACS Chem. Neurosci. 2020, 11 (11), 1661–1672.
- Maillet, E. L.; Milon, N.; Heghinian, M. D.; Fishback, J.; Schürer, S. C.; Garamszegi, N.; Mash, D.
 C. Neuropharmacology 2015.
- (48) Glick, S. D.; Maisonneuve, I. M.; Szumlinski, K. K. Ann. N. Y. Acad. Sci. 2000, 914 (518), 369–386.
- (49) Antonio, T.; Childers, S. R.; Rothman, R. B.; Dersch, C. M.; King, C.; Kuehne, M.; Bornmann, W. G.;
 Eshleman, A. J.; Janowsky, A.; Simon, E. R.; Reith, M. E. A.; Alper, K. *PLoS One* **2013**, *8* (10), 1–18.
- (50) Pearl, S. M.; Herrick-Davis, K.; Teitler, M.; Glick, S. D. Brain Res. 1995, 675 (1–2), 342–344.
- (51) Helsley, S.; Fiorella, D.; Rabin, R. A.; Winter, J. C. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1998, 59 (2), 419–425.
- (52) Sweetnam, P. M.; Lancaster, J.; Snowman, A.; Collins, J. L.; Perschke, S.; Bauer, C.; Ferkany, J.
 Psychopharmacology (Berl). 1995, 118 (4), 369–376.
- (53) Repke, D. B.; Artis, D. R.; Nelson, J. T.; Wong, E. H. F. J. Org. Chem. **1994**, 59 (8), 2164–2171.
- (54) Glick, S. D.; Maisonneuve, I. M.; Hough, L. B.; Kuehne, M. E.; Bandarage, U. K. CNS Drug Rev.
 1999, 5 (1), 27–42.
- (55) Layer, R. T.; Skolnick, P.; Bertha, C. M.; Bandarage, U. K.; Kuehne, M. E.; Popik, P. Eur. J. Pharmacol. 1996, 309 (2), 159–165.
- (56) Popik, P.; Layer, R. T.; Fossom, L. H.; Benveniste, M.; Geter-Douglass, B.; Witkin, J. M.; Skolnick,
 P. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1995, 275 (2), 753 LP 760.
- (57) Popik, P.; Layer, R. T.; Skolnick, P. Psychopharmacology (Berl). 1994, 114 (4), 672–674.

- (58) Chen, K.; Kokate, T. G.; Donevan, S. D.; Carroll, F. I.; Rogawski, M. A. Neuropharmacology 1996, 35 (4), 423–431.
- (59) Mash, D. C.; Staley, J. K.; Pablo, J. P.; Holohean, A. M.; Hackman, J. C.; Davidoff, R. A. *Neurosci.* Lett. 1995, 192 (1), 53–56.
- (60) Arias, H. R.; Rosenberg, A.; Targowska-Duda, K. M.; Feuerbach, D.; Yuan, X. J.; Jozwiak, K.; Moaddel, R.; Wainer, I. W. Int. J. Biochem. Cell Biol. 2010, 42 (9), 1525–1535.
- (61) Arias, H. R.; Targowska-Duda, K. M.; Feuerbach, D.; Jozwiak, K. Int. J. Biochem. Cell Biol. 2015, 65, 81–90.
- (62) Fryer, J.; Lukas, R. J Pharmacol Exp Ther 1999, 288 (1), 88–92.
- (63) Bowen, W. D.; Vilner, B. J.; Williams, W.; Bertha, C. M.; Kuehne, M. E.; Jacobson, A. E. *Ibogaine* and its congeners are $\sigma 2$ receptor-selective ligands with moderate affinity; 1995; Vol. 279.
- (64) El-Kasaby, A.; Just, H.; Malle, E.; Stolt-Bergner, P. C.; Sitte, H. H.; Freissmuth, M.; Kudlacek, O. J. Biol. Chem. 2010, 285 (50), 39201–39210.
- (65) Mazhar Asjad, H. M.; Kasture, A.; El-Kasaby, A.; Sackel, M.; Hummel, T.; Freissmuth, M.; Sucic, S. J. Biol. Chem. 2017, 292 (47), 19250–19265.
- (66) Lutfy, K.; Eitan, S.; Bryant, C. D.; Yang, Y. C.; Saliminejad, N.; Walwyn, W.; Kieffer, B. L.; Takeshima, H.; Carroll, F. I.; Maidment, N. T.; Evans, C. J. J. Neurosci. 2003, 23 (32), 10331– 10337.
- (67) Kreek, M. J.; Borg, L.; Ducat, E.; Ray, B. J. Addict. Dis. 2010, 29 (2), 200-216.
- (68) Pablo, J. P.; Mash, D. C. Neuroreport **1998**, 9 (1).
- Palagini, L.; Baglioni, C.; Ciapparelli, A.; Gemignani, A.; Riemann, D. Sleep Medicine Reviews.
 W.B. Saunders October 1, 2013, pp 377–390.
- (70) Stein, C. Annu. Rev. Med. 2016, 67, 433–451.
- Roth, B. L.; Baner, K.; Westkaemper, R.; Siebert, D.; Rice, K. C.; Steinberg, S. A.; Ernsberger, P.;
 Rothman, R. B. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2002**, *99* (18), 11934–11939.
- (72) Ona, G.; Sampedro, F.; Romero, S.; Valle, M.; Camacho, V.; Migliorelli, C.; Mañanas, M. Á.;
 Antonijoan, R. M.; Puntes, M.; Coimbra, J.; Ballester, M. R.; Garrido, M.; Riba, J. Int. J.
 Neuropsychopharmacol. 2022, 25 (1), 54–63.
- (73) McClure-Begley, T. D.; Roth, B. L. Nat. Rev. Drug Discov. 2022, 21 (6), 463–473.
- (74) Nichols, D. E. In Brain Imaging in Behavioral Neuroscience; 2017; pp 1–43.
- (75) Yakel, J. L. Endo, M., Kurachi, Y., Mishina, M., Eds.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2000; pp 541–560.
- (76) Van Hooft, J. A.; Vijverberg, H. P. M. *Trends Neurosci.* 2000, 23 (12), 605–610.

- (77) Vyklicky, V.; Korinek, M.; Smejkalova, T.; Balik, A.; Krausova, B.; Kaniakova, M.; Lichnerova, K.;
 Cerny, J.; Krusek, J.; Dittert, I.; Horak, M.; Vyklicky, L. *Physiol. Res.* 2014, 63 (SUPPL.).
- (78) Ona, G.; Reverte, I.; Rossi, G. N.; dos Santos, R. G.; Hallak, J. E. C.; Colomina, M. T.; Bouso, J. C. J. Psychopharmacol. 2023.
- (79) González, J.; Prieto, J. P.; Rodríguez, P.; Cavelli, M.; Benedetto, L.; Mondino, A.; Pazos, M.;
 Seoane, G.; Carrera, I.; Scorza, C.; Torterolo, P. Front. Pharmacol. 2018, 9, 374.
- (80) González, J.; Cavelli, M.; Castro-Zaballa, S.; Mondino, A.; Tort, A. B. L.; Rubido, N.; Carrera, I.;
 Torterolo, P. ACS Pharmacol. Transl. Sci. 2021, 4 (2), 517–525.
- (81) Bisaga, A.; Comer, S. D.; Ward, A. S.; Popik, P.; Kleber, H. D.; Fischman, M. W. Psychopharmacology (Berl). 2001, 157 (1), 1–10.
- (82) Allen, R. M.; Carelli, R. M.; Dykstra, L. A.; Suchey, T. L.; Everett, C. V. J. Pharmacol. Exp. Ther.
 2005, 315 (1), 449–457.
- (83) Tyler, M. W.; Yourish, H. B.; Ionescu, D. F.; Haggarty, S. J. ACS Chem. Neurosci. 2017, 8 (6), 1122–1134.
- (84) Dani, J. A. Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptor Structure and Function and Response to Nicotine, 1st ed.; Elsevier Inc., 2015; Vol. 124.
- (85) Popik, P.; Layer, R. T.; Skolnick, P. Pharmacol. Rev. 1995, 47 (2), 235 LP 253.
- (86) Arias, H. R.; Rosenberg, A.; Feuerbach, D.; Targowska-Duda, K. M.; Maciejewski, R.; Jozwiak, K.; Moaddel, R.; Glick, S. D.; Wainer, I. W. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.* **2010**, *1798* (6), 1153– 1163.
- (87) Arias, H. R.; Feuerbach, D.; Targowska-Duda, K. M.; Jozwiak, K. Int. J. Biochem. Cell Biol. 2011, 43 (9), 1330–1339.
- (88) Leonard, B. E. *Pharmacopsychiatry* **2004**, *37* (SUPPL. 3).
- (89) Narayanan, S.; Mesangeau, C.; H. Poupaert, J.; R. McCurdy, C. *Curr. Top. Med. Chem.* 2011, 11 (9), 1128–1150.
- (90) Fontanilla, D.; Johannessen, M.; Hajipour, A. R.; Cozzi, N. V.; Jackson, M. B.; Ruoho, A. E. Science (80-.). 2009, 323 (5916), 934–937.
- (91) Mach, R. H.; Smith, C. R.; Childers, S. R. Life Sci. 1995, 57 (4), 57–62.
- (92) Zeppelin, T.; Ladefoged, L. K.; Sinning, S.; Schiøtt, B. Neuropharmacology 2019, 161 (December 2018), 107548.
- (93) Zahniser, N. R.; Sorkin, A. Neuropharmacology 2004, 47 (SUPPL. 1), 80–91.
- (94) Wells, G. B.; Lopez, M. C.; Tanaka, J. C. *The effects of ibogaine on dopamine and serotonin transport in rat brain synaptosomes*; 1999.

- (95) Maisonneuve, I. M.; Keller, R. W.; Glick, S. D. Eur. J. Pharmacol. 1991, 199 (1), 35-42.
- (96) BAUMANN, M. H.; ROTHMAN, R. B.; ALI, S. F. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1998, 844 (1), 252–264.
- (97) Escobar, A. del P.; Casanova, J. P.; Andrés, M. E.; Fuentealba, J. A. Front. Pharmacol. 2020, 11 (February), 1–12.
- (98) Baumann, M. H.; Pablo, J.; Ali, S. F.; Rothman, R. B.; Mash, D. C. In *THE ALKALOIDS*; 2001; Vol. 56, pp 79–113.
- Toll, L.; Berzetei-Gurske, I. P.; Polgar, W. E.; Brandt, S. R.; Adapa, I. D.; Rodriguez, L.; Schwartz, R. W.; Haggart, D.; O'Brien, A.; White, A.; Kennedy, J. M.; Craymer, K.; Farrington, L.; Auh, J. S. NIDA Res. Monogr. 1998, 178, 440–466.
- (100) Jacobs, M. T.; Zhang, Y.; Campbell, S. D.; Rudnick, G. 2007, 282 (40), 29441–29447.
- (101) Pearl, S. M.; Hough, L. B.; Boyd, D. L.; Glick, S. D. Pharmacol. Biochem. Behav. 1997, 57 (4), 809–815.
- (102) Marton, S.; González, B.; Rodríguez-Bottero, S.; Miquel, E.; Martínez-Palma, L.; Pazos, M.; Pedro Prieto, J.; Rodríguez, P.; Sames, D.; Seoane, G.; Scorza, C.; Cassina, P.; Carrera, I. Front. Pharmacol. 2019, 10 (MAR).
- (103) He, D. Y.; Ron, D. FASEB J. 2006, 20 (13), 2420-2422.
- (104) de Vos, C. M. H.; Mason, N. L.; Kuypers, K. P. C. Front. Psychiatry 2021, 12 (September).
- (105) Olson, D. E. J. Exp. Neurosci. 2018, 12.
- (106) Torterolo, P.; Allen, W.; Poe, E. A. An. la Fac. Med. 2020, 7 (1).
- (107) Smith, C. Behav. Brain Res. 1996, 78 (1), 49–56.
- (108) Izawa, S.; Chowdhury, S.; Miyazaki, T.; Mukai, Y.; Ono, D.; Inoue, R.; Ohmura, Y.; Mizoguchi, H.;
 Kimura, K.; Yoshioka, M.; Terao, A.; Kilduff, T. S.; Yamanaka, A. *Science (80-.).* 2019, 365 (6459), 1308–1313.
- (109) Alper, K. R.; Lotsof, H. S.; Frenken, G. M.; Luciano, D. J.; Bastiaans, J. Am. J. Addict. 1999, 8 (3), 234–242.
- (110) Goutarel, R.; Gollnhofer, O.; Sillans, R. Psychedelic Monogr. Essays 1993, 6, 71–112.
- (111) Schneider, J. A.; Sigg, E. B. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1957, 66 (3), 765-776.
- (112) Monti, J. M.; Jantos, H. Int. J. Neuropsychopharmacol. 2005, 8 (1), 75–86.
- (113) Depoortere, H.; Loew, D. M. Br. J. Pharmacol. 1971, 41 (2), 402P-403P.
- (114) Yaden, D. B.; Yaden, M. E.; Griffiths, R. R. JAMA Psychiatry 2021, 78 (5), 469.
- (115) Kirby, L. G.; Zeeb, F. D.; Winstanley, C. A. Neuropharmacology 2011, 61 (3), 421-432.
- (116) Machado-Vieira, R.; Baumann, J.; Wheeler-Castillo, C.; Latov, D.; Henter, I. D.; Salvadore, G.;

Zarate, C. A. Pharmaceuticals 2010, 3 (1), 19-41.

- (117) Carhart-Harris, R. L.; Bolstridge, M.; Rucker, J.; Day, C. M. J.; Erritzoe, D.; Kaelen, M.; Bloomfield, M.; Rickard, J. A.; Forbes, B.; Feilding, A.; Taylor, D.; Pilling, S.; Curran, V. H.; Nutt, D. J. The Lancet Psychiatry 2016, 3 (7), 619–627.
- (118) Thurner, P.; Stary-Weinzinger, A.; Gafar, H.; Gawali, V. S.; Kudlacek, O.; Zezula, J.; Hilber, K.; Boehm, S.; Sandtner, W.; Koenig, X. J. Pharmacol. Exp. Ther. **2014**, 348 (2), 346–358.
- (119) Jana, G. K.; Paul, S.; Sinha, S. Org. Prep. Proced. Int. 2011, 43 (6), 541–573.
- (120) Xu, Z.; Chang, L. W.; Slikker, W.; Ali, S. F.; Rountree, R. L.; Scallet, a C. Toxicol. Sci. 2000, 57, 95–101.
- (121) Yaden, D. B.; Griffiths, R. R. ACS Pharmacol. Transl. Sci. 2020, 4 (2), 568–572.
- (122) Olson, D. E. Cite This ACS Pharmacol. Transl. Sci 2020, 2021, 567.
- (123) Nautiyal, K. M.; Yaden, D. B. Neuropsychopharmacology 2022, 1–2.
- (124) Alper, K. R.; Beal, D.; Kaplan, C. D. Alkaloids Chem. Biol. 2001, 56, 249–281.
- (125) Kratz, J. M.; Grienke, U.; Scheel, O.; Mann, S. A.; Rollinger, J. M. Natural Product Reports. 2017, pp 957–980.
- (126) Vandenberg, J. I.; Perry, M. D.; Perrin, M. J.; Mann, S. A.; Ke, Y.; Hill, A. P. *Physiol. Rev.* 2012, *92*(3), 1393–1478.
- (127) S. Hari Narayana Moorthy, N.; J. Ramos, M.; A. Fernandes, P. Curr. Drug Targets 2013, 14 (1), 102–113.
- (128) Alper, K. R.; Stajić, M.; Gill, J. R. J. Forensic Sci. 2012, 57 (2), 398–412.
- (129) Koenig, X.; Hilber, K. Molecules 2015, 20 (2), 2208–2228.
- (130) Vlaanderen, L.; Martial, L. C.; Franssen, E. J. F.; van der Voort, P. H. J.; Oosterwerff, E.; Somsen,
 G. A. Clin. Toxicol. 2014, 52 (6), 642–643.
- (131) Henstra, M.; Wong, L.; Chahbouni, A.; Swart, N.; Allaart, C.; Sombogaard, F. *Clin. Toxicol.* 2017, 55 (6), 600–602.
- (132) Koenig, X.; Kovar, M.; Rubi, L.; Mike, A. K.; Lukacs, P.; Gawali, V. S.; Todt, H.; Hilber, K.; Sandtner, W. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2013, *273* (2), 259–268.
- (133) Koenig, X.; Kovar, M.; Boehm, S.; Sandtner, W.; Hilber, K. Addict. Biol. 2014, 19 (2), 237–239.
- (134) Alper, K.; Bai, R.; Liu, N.; Fowler, S. J.; Huang, X.-P.; Priori, S. G.; Ruan, Y. Cardiovasc. Toxicol.
 2016, 16 (1), 14–22.
- (135) Koenig, X.; Kovar, M.; Rubi, L.; Mike, A. K.; Lukacs, P.; Gawali, V. S.; Todt, H.; Hilber, K.; Sandtner,
 W. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2013, *273* (2), 259–268.

- (136) American Psychiatric Association. DSM-V Manual Estadistico Diagnóstico.; 2013.
- (137) WHO. Depression and Other Common Mental Disorders https://www.who.int/mental_health/management/depression/prevalence_global_health_esti mates/en/.
- (138) Rajkumar, R. P. Asian J. Psychiatr. 2020, 52 (March), 102066.
- (139) Puccinelli, P. J.; da Costa, T. S.; Seffrin, A.; de Lira, C. A. B.; Vancini, R. L.; Nikolaidis, P. T.; Knechtle, B.; Rosemann, T.; Hill, L.; Andrade, M. S. *BMC Public Health* **2021**, *21* (1), 425.
- (140) Hodes, G. E.; Russo, S. J. In Drug Discovery for Psychiatric Disorders; The Royal Society of Chemistry, 2012; pp 159–183.
- (141) Krishnan, V.; Nestler, E. J. Nature 2008, 455 (7215), 894–902.
- (142) Cosci, F.; Chouinard, G. In Neurobiology of Depression: Road to Novel Therapeutics; Elsevier, 2019; pp 63–73.
- (143) Culpepper, L. J. Clin. Psychiatry 2010, 71 (suppl 1), 4-9.
- (144) Culpepper, L. J. Clin. Psychiatry 2010, 71 (suppl 1), 4-9.
- (145) Hodes, G. E.; Russo, S. J. 2012; pp 159–183.
- (146) Sarker, S.; Weissensteiner, R.; Steiner, I.; Sitte, H. H.; Ecker, G. F.; Freissmuth, M.; Sucic, S. Mol. Pharmacol. 2010, 78 (6), 1026–1035.
- (147) Tavoulari, S.; Forrest, L. R.; Rudnick, G. J. Neurosci. 2009, 29 (30), 9635–9643.
- (148) Chan, M. C.; Selvam, B.; Young, H. J.; Procko, E.; Shukla, D. Biophys. J. 2022, 121 (5), 715–730.
- (149) Singh, I.; Seth, A.; Billesbølle, C. B.; Braz, J.; Rodriguiz, R. M.; Roy, K.; Bekele, B.; Craik, V.; Huang, X.-P.; Boytsov, D.; Pogorelov, V. M.; Lak, P.; O'Donnell, H.; Sandtner, W.; Irwin, J. J.; Roth, B. L.; Basbaum, A. I.; Wetsel, W. C.; Manglik, A.; Shoichet, B. K.; Rudnick, G. Structure-based discovery of conformationally selective inhibitors of the serotonin transporter.; Elsevier Inc., 2023.
- (150) Tao, Z.; Zhang, Y.; Agyiri, A.; Rudnick, G. **2009**, *284* (49), 33807–33814.
- (151) Blat, Y. Chem. Biol. Drug Des. 2010, 75 (6), 535-540.
- (152) Coleman, J. A.; Yang, D.; Zhao, Z.; Wen, P.-C.; Yoshioka, C.; Tajkhorshid, E.; Gouaux, E. *Nature* 2019, 569 (7754), 141–145.
- (153) Coleman, J. A.; Green, E. M.; Gouaux, E. Nature 2016, 532 (7599), 334–339.
- (154) Bandarage, U. K.; Kuehne, M. E.; Glick, S. D. Tetrahedron 1999, 55 (31), 9405–9424.
- (155) Glick, S. D.; Kuehne, M. E.; Maisonneuve, I. M.; Bandarage, U. K.; Molinari, H. H. Brain Res. 1996, 719 (1–2), 29–35.
- (156) Kuehne, M. E.; He, L.; Jokiel, P. A.; Pace, C. J.; Fleck, M. W.; Maisonneuve, I. M.; Glick, S. D.;

Bidlack, J. M. 2003, 2716-2730.

- (157) Deecher, D. C.; Teitler, M.; Soderlund, D. M.; Bornmann, W. G.; Kuehne, M. E.; Glick, S. D. Brain Res. 1992, 571 (2), 242–247.
- (158) Glick, S. D.; Maisonneuve, I. M.; Kitchen, B. A.; Fleck, M. W. Eur. J. Pharmacol. 2002, 438 (1), 99– 105.
- (159) Arias, H. R.; De Deurwaerdère, P.; El-Kasaby, A.; Di Giovanni, G.; Eom, S.; Lee, J. H.; Freissmuth,
 M.; Chagraoui, A. *Eur. J. Pharmacol.* **2023**, *939* (December 2022).
- (160) D, G. J. R. R.; M, M. R. Phosphate Esters Of Noribogaine, 2015.
- (161) Kruegel, A. C.; Gassaway, Madalee M. Javitch, J.; Sames, D. WO 2016/086158A1, 2016.
- (162) Kruegel, A. C.; Rakshit, S.; Li, X.; Sames, D. J. Org. Chem. 2015, 80 (4), 2062–2071.
- (163) Havel, V.; Kruegel, A. C.; Bechand, B.; McIntosh, S.; Stallings, L.; Hodges, A.; Wulf, M. G.; Nelson,
 M.; Hunkele, A.; Ansonoff, M.; Pintar, J. E.; Hwu, C.; Abi-Gerges, N.; Zaidi, S. A.; Katritch, V.; Yang,
 M.; Javitch, J. A.; Majumdar, S.; Hemby, S. E.; Sames, D. *bioRxiv* 2023, 2021.07.22.453441.
- (164) Passarella, D.; Favia, R.; Giardini, A.; Lesma, G.; Martinelli, M.; Silvani, A.; Danieli, B.; Efange, S.
 M. N.; Mash, D. C. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11* (6), 1007–1014.
- (165) Passarella, D.; Barilli, A.; Efange, S. M. N.; Elisabetsky, E.; Leal, M. B.; Lesma, G.; Linck, V. M.;
 Mash, D. C.; Martinelli, M.; Peretto, I.; Silvani, A.; Danieli, B. *Nat. Prod. Res.* 2006, 20 (8), 758–765.
- (166) Levi, M.; Khan, M.; Borne, R. Lett. Drug Des. Discov. 2005, 2 (1), 51–54.
- (167) Pazos, M.; Martínez, S.; Vila, M. A.; Rodríguez, P.; Veiga, N.; Seoane, G.; Carrera, I. Tetrahedron: Asymmetry 2015, 26, 1436–1447.
- (168) Pazos, M.; Dibello, E.; Mesa, J. M.; Sames, D.; Comini, M. A.; Seoane, G.; Carrera, I. *Molecules* 2022, 27 (3), 829.
- (169) Efange, S. M. N.; Mash, D. C.; Khare, A. B.; Ouyang, Q. J. Med. Chem. 1998, 41 (23), 4486–4491.
- (170) Floresta, G.; Dichiara, M.; Gentile, D.; Prezzavento, O.; Marrazzo, A.; Rescifina, A.; Amata, E. Int. J. Mol. Sci. 2019, 20 (3), 1–11.
- (171) Cameron, L. P.; Tombari, R. J.; Lu, J.; Pell, A. J.; Hurley, Z. Q.; Ehinger, Y.; Vargas, M. V.; McCarroll, M. N.; Taylor, J. C.; Myers-Turnbull, D.; Liu, T.; Yaghoobi, B.; Laskowski, L. J.; Anderson, E. I.; Zhang, G.; Viswanathan, J.; Brown, B. M.; Tjia, M.; Dunlap, L. E.; Rabow, Z. T.; Fiehn, O.; Wulff, H.; McCorvy, J. D.; Lein, P. J.; Kokel, D.; Ron, D.; Peters, J.; Zuo, Y.; Olson, D. E. Nature **2021**, *589* (7842), 474–479.
- (172) Dunlap, L. E.; Azinfar, A.; Ly, C.; Cameron, L. P.; Viswanathan, J.; Tombari, R. J.; Myers-Turnbull,
 D.; Taylor, J. C.; Grodzki, A. C.; Lein, P. J.; Kokel, D.; Olson, D. E. *J. Med. Chem.* 2020, *63* (3),

1142-1155.

- (173) Cameron, L. P.; Benson, C. J.; Dunlap, L. E.; Olson, D. E. ACS Chem. Neurosci. 2018, 9 (7), 1582– 1590.
- (174) Börgel, J.; Ritter, T. Chem 2020, 6 (8), 1877–1887.
- (175) Büchi, G.; Coffen, D. L.; Kocsis, K.; Sonnet, P. E.; Ziegler, F. E. J. Am. Chem. Soc. 1966, 88 (13), 3099–3109.
- (176) Büchi, G.; Coffen, D. L.; Kocsis, K.; Sonnet, P. E.; Ziegler, F. E. J. Am. Chem. Soc. 1965, 87 (9), 2073–2075.
- (177) Hirai, S.; Kawata, K.; Nagata, W. Chem. Commun. (London) 1968, 234 (17), 1016–1017.
- (178) IMANISHI, T.; YAGI, N.; HANAOKA, M. Chem. Pharm. Bull. 1985, 33 (10), 4202–4211.
- (179) Raucher, S.; Bray, B. L.; Lawrence, R. F. J. Am. Chem. Soc. 1987, 109 (2), 442-446.
- (180) Herdeis, C.; Hartke-Karger, C. Liebigs Ann. der Chemie 1991, 1991 (2), 99–104.
- (181) Henry, K. J.; Grieco, P. A.; DuBay, W. J. Tetrahedron Lett. 1996, 37 (46), 8289-8292.
- (182) Reding, M. T.; Fukuyama, T. Org. Lett. 1999, 1 (7), 973–976.
- (183) White, J. D.; Choi, Y. Helv. Chim. Acta 2002, 85 (12), 4306–4327.
- (184) Hodgson, D. M.; Galano, J. M. Org. Lett. 2005, 7 (11), 2221-2224.
- (185) Höck, S.; Borschberg, H. Helv. Chim. Acta 2006, 89 (3), 542-557.
- (186) Jana, G. K.; Sinha, S. Tetrahedron 2012, 68 (35), 7155-7165.
- (187) Harada, M.; Asaba, K. N.; Iwai, M.; Kogure, N.; Kitajima, M.; Takayama, H. Org. Lett. 2012, 14 (22), 5800–5803.
- (188) Mizoguchi, H.; Oikawa, H.; Oguri, H. Nat. Chem. 2014, 6 (1), 57–64.
- (189) Zhang, Y.; Xue, Y.; Li, G.; Yuan, H.; Luo, T. Chem. Sci. 2016, 7 (8), 5530-5536.
- (190) Zhao, G.; Xie, X.; Sun, H.; Yuan, Z.; Zhong, Z.; Tang, S.; She, X. Org. Lett. 2016, 18 (10), 2447–2450.
- (191) Seong, S.; Lim, H.; Han, S. Chem **2019**, 5 (2), 353–363.
- (192) Lim, H.; Seong, S.; Han, S. Synthesis (Stuttg). 2019, 51 (14), 2737–2758.
- (193) Seong, S.; Lim, H.; Han, S. Strateg. Tactics Org. Synth. 2019, 14, 35–59.
- (194) Giovanelli, E.; Moisan, L.; Comesse, S.; Leroux, S.; Rousseau, B.; Hellier, P.; Nicolas, M.; Doris, E. Org. Biomol. Chem. 2013, 11 (35), 5885.
- (195) Gao, J.; Zuo, Y.; Xiao, F.; Wang, Y.; Li, D.; Xu, J.; Ye, C.; Feng, L.; Jiang, L.; Liu, T.; Gao, D.; Ma, B.;
 Huang, L.; Xu, Z.; Lian, J. Nat. Synth. 2023.
- (196) Kamileen, M. O.; Demars, M. D.; Hong, B.; Nakamura, Y.; Paetz, C.; Lichman, B. R.; Sonawane, P.

D.; Caputi, L.; O'Connor, S. E. J. Am. Chem. Soc. 2022, 144 (43), 19673-19679.

- (197) Caputi, L.; Franke, J.; Bussey, K.; Farrow, S. C.; Vieira, I. J. C.; Stevenson, C. E. M.; Lawson, D. M.; O'Connor, S. E. Nat. Chem. Biol. 2020, 16 (4), 383–386.
- (198) Farrow, S. C.; Kamileen, M. O.; Caputi, L.; Bussey, K.; Mundy, J. E. A.; McAtee, R. C.; Stephenson,
 C. R. J.; O'Connor, S. E. J. Am. Chem. Soc. 2019, 141 (33), 12979–12983.
- (199) Dey, A.; Mukherjee, A.; Chaudhury, M. Alkaloids From Apocynaceae: Origin, Pharmacotherapeutic Properties, and Structure-Activity Studies; 2017; Vol. 52.
- (200) Ramanitrahasimbola, D.; Rasoanaivo, P.; Ratsimamanga-Urverg, S.; Federici, E.; Palazzino, G.;
 Galeffi, C.; Nicoletti, M. *Phyther. Res.* **2001**, *15* (1), 30–33.
- (201) Bouso, J. C.; Fornís, I.; Vilamala, M. V.; De Loenen, B.; Sainz-Cort, A.; Jiménez-Garrido, D. F.; Dos Santos, R. G.; Hallak, J. E. C.; Alcázar-Córcoles, M. Á.; Jenks, C. W. *Rev. Psiquiatr. Clin.* 2020, 47 (2), 51–54.
- (202) Jenks, C. Nat. Prod. Lett. 2002, 16 (1), 71–76.
- (203) Dickel, D. F.; Holden, C. L.; Maxfield, R. C.; Paszek, L. E.; Taylor, W. I. J. Am. Chem. Soc. 1958, 80
 (1), 123–125.
- (204) Krengel, F.; Chevalier, Q.; Dickinson, J.; Herrera Santoyo, J.; Reyes Chilpa, R. Chem. Biodivers.
 2019, 16 (4).
- (205) Krengel, F.; Dickinson, J.; Jenks, C.; Reyes-Chilpa, R. Chem. Biodivers. 2020.
- (206) Ferreres, F.; Pereira, D. M.; Valentão, P.; Oliveira, J. M. A.; Faria, J.; Gaspar, L.; Sottomayor, M.;
 Andrade, P. B. J. Pharm. Biomed. Anal. 2010, 51 (1), 65–69.
- (207) Iboga Root: Dynamics of Iboga's African Origins and Modern Medical Use American Botanical Council https://www.herbalgram.org/resources/herbalgram/issues/109/table-ofcontents/hg109-feat-iboga/ (accessed Jul 28, 2021).
- (208) Tonye Mahop, M.; Asaha, S.; Ndam, N.; Blackmore, P. 2000, No. March, 1–34.
- (209) Brako-Danquah, J. O. Voacanga africana FARMING SYSTEM IN THE ASSIN SOUTH DISTRICT: SOCIO – ECONOMIC AND SOIL NUTRIENT IMPLICATIONS, Kwame Nkrumah University of Science and Technology, 2012.
- (210) Koroch, A. R.; Juliani, H. R.; Kulakowski, D.; Arthur, H.; Asante-Dartey, J.; Simon, J. E. In ACS Symposium Series; 2010; Vol. 1021, pp 363–380.
- (211) Pegnyemb, D. E.; Ghogomu, R. T.; Sondengam, B. L. Fitoterapia 1999, 70 (4), 446–448.
- (212) Chen, H. M.; Yang, Y. T.; Li, H. X.; Cao, Z. X.; Dan, X. M.; Mei, L.; Guo, D. Le; Song, C. X.; Dai, Y.; Hu, J.; Deng, Y. *Nat. Prod. Res.* 2016, *30* (10), 1144–1149.
- (213) Janot, M.; Goutarel, R. US2813873. 2813873, 1957.

- (214) Janot, M.; Goutarel, R. **1957**, 7–9.
- (215) Krengel, F.; Mijangos, M. V; Reyes-Lezama, M.; Reyes-Chilpa, R. Chem. Biodivers. 2019, 16 (7).


3. Objetivos y estrategia metodológica

3 Objetivos y estrategia metodológica

El objetivo general del trabajo consistió en generar análogos de ibogaína con potencial antidepresivo y menor perfil de cardiotoxicidad.

Definimos que el espacio químico a recorrer debería ser próximo al del alcaloide natural, con el fin de establecer perfiles claros de relación estructura actividad, mediante modificaciones estructurales discretas. Con este fin, la estrategia seleccionada fue semisintética, es decir nos propusimos generar modificaciones estructurales utilizando como material de partida el producto natural. Para ello, fue necesario tener acceso a una fuente de material vegetal adecuada y confiable que permitiera la obtención de alcaloides de la iboga, en cantidades suficientes para permitir la síntesis de los análogos diseñados (ver sección 4.1).

Con respecto a las modificaciones estructurales propuestas, las mismas no estuvieron basadas en un diseño racional, sino en la generación de análogos con la mayor diversidad estructural posible. En este sentido se pretendió contar con una biblioteca amplia de compuestos para, luego de la obtención de los datos de evaluación biológica, guiar nuevos diseños en base a perfiles de estructura/actividad mediante ciclos sucesivos de química medicinal. En ese sentido, se estudiaron tres grupos de modificaciones estructurales basadas en la posibilidad de alterar la estructura química por diversas reacciones de funcionalización, en especial utilizando reacciones de oxidación e interconversión de grupos funcionales (ver sección 4.2).

Para la estimación del potencial antidepresivo de los compuestos sintetizados, se propuso la evaluación *in vitro* de la inhibición del transportador plasmático de serotonina humano (hSERT) transfectado en células HEK293. A su vez, teniendo en cuenta que ibogaína también inhibe el transportador plasmático de dopamina (hDAT) y el vesicular de monoaminas (VMAT2), se decidió expandir el estudio para evaluar la inhibición de los nuevos compuestos sobre distintos sistemas de neurotransmisión. El ensayo utilizado está basado en el uso de sondas fluorescentes que son sustrato de los transportadores, y el mismo se encontraba optimizado y se realizaba de forma rutinaria en el laboratorio del Prof. Dalibor Sames (Universidad de Columbia) donde se llevó a cabo una pasantía de investigación como parte de esta tesis doctoral (ver sección 4.3)

El perfil de cardiotoxicidad fue estimado *in vitro*, mediante ensayos de inhibición del canal de potasio hERG mediante la técnica de *patch clamp*. La cantidad de compuestos ensayados en este caso fue muy limitada, debido al costo y complejidad del ensayo en cuestión (ver sección 4.3).

Por lo tanto, los objetivos específicos del presente trabajo pueden resumirse de la siguiente manera:

- La optimización de la extracción de alcaloides de la iboga desde una fuente natural, así como el estudio de la composición del extracto y el asilamiento/purificación de alcaloides para ser utilizados como materiales de partida en síntesis química.
- II. La generación de diversidad estructural mediante modificaciones químicas a partir de los productos naturales.
- III. El estudio de la actividad biológica de los compuestos sintetizados sobre transportadores de monoaminas humanos y el canal de potasio hERG



Figura 3.1 Resumen gráfico de los objetivos específicos.



4. Resultados y discusión

4 Resultados y discusión

En el presente capítulo se exhiben y discuten los resultados obtenidos, ordenados en tres secciones según el objetivo específico abordado. En la Sección 4.1 se describe la extracción de alcaloides de la corteza de la raíz de *Voacanga africana*, la caracterización química del extracto obtenido y la optimización del protocolo de extracción. La Sección 4.2 aborda las transformaciones químicas realizadas en los alcaloides de la iboga aislados, para la generación de una biblioteca de análogos de ibogaína. Por último, la Sección 4.3 muestra los resultados de la evaluación biológica de los compuestos preparados, en su capacidad como inhibidores de transportadores de monoaminas; adicionalmente se evalúa la inhibición del canal hERG para análogos seleccionados.

4.1 Obtención de alcaloides de la corteza de raíz de Voacanga africana

Como fue expuesto en el apartado 2.3.3, las fuentes naturales de alcaloides de la iboga son, en su mayoría, plantas de la familia Apocynaceae. La especie *Tabernanthe iboga* originaria de Gabón y zonas cercanas en África central, de donde fue aislada originalmente la ibogaína en la corteza de su raíz, se encuentra actualmente en peligro de extinción por la alta demanda del alcaloide generada por clínicas de tratamiento de adicciones, situadas en países con regulaciones laxas respecto a esta sustancia¹ (recordemos que ibogaína no ha culminado la etapa de desarrollo clínico, ni ha sido aprobada por agencias reguladoras de medicamentos con este fin). A su vez, el contenido de ibogaína en la corteza de la raíz de *T. iboga* es bajo (0,27-0,32%),²⁻⁵ y la presencia de otros alcaloides estructuralmente muy relacionados como ibogalina y tabernantina (apartado 2.3.3), hacen difícil la separación y purificación de los mismos; por tanto, se descartó esta especie para acceder a los materiales de partida de interés.

Frente a la necesidad de búsqueda de especies alternativas para acceder a alcaloides de la iboga en las cantidades necesarias —de gramos, para este proyecto—, y considerando la oferta de material vegetal disponible comercialmente, la corteza de raíz de *Voacanga africana* se presentó como una alternativa apropiada. En la literatura, trabajos previos como el de Jenks *et al.* reportaban la extracción de alcaloides (como voacangina (2)) a partir de la corteza de la raíz de esta especie, y apuntaban a la producción semisintética de ibogaína a partir de ellos.² El proceso reportado consistía en múltiples etapas de extracción en *batch* del material vegetal con ácidos diluidos (HCl o AcOH), precipitación mediante agregado de hidróxido de amonio, y sucesivas etapas de reparto líquidolíquido con el fin de enriquecer al extracto en los compuestos de interés. Dicho protocolo fue desarrollado buscando viabilizar el proceso en laboratorios de bajos recursos como una forma de acceder a ibogaína para su uso en clínicas de tratamientos de adicción, por lo que evita incluir procedimientos más complejos como purificación cromatográfica y destilación a vacío. Se propuso entonces, llevar a cabo un estudio cuali- y cuantitativo de los alcaloides presentes en la corteza de raíz de *Voacanga africana*, y optimizar un procedimiento para la extracción y purificación de alcaloides a partir de la misma, con la intención de usarlos como materiales de partida para el proyecto de química medicinal desarrollado en nuestro grupo.

4.1.1 Optimización de la extracción a escala de laboratorio

4.1.1.1 Extracción ácido-base

La primera acción fue replicar el protocolo reportado por Jenks a escala de laboratorio, proponiendo adaptaciones que incluyeron: centrifugado, cromatografía en columna y evaporación a presión reducida. Se trabajó inicialmente en escala de 50 g de material vegetal, lo que permitió la caracterización del extracto de forma cuantitativa, aislando los constituyentes de forma pura. Se identificaron como constituyentes principales del extracto los alcaloides voacangina (2) y voacristina (3), así como los alcaloides bis-indólicos voacamina (4) y voacamidina (5), (Figura 4.1.1). Estos alcaloides diméricos poseen una unidad de voacangina (alcaloide de la iboga) y una unidad de vobasina (destacada en azul, Figura 4.1.1), y son regioisómeros, difiriendo únicamente en la posición de sustitución de la unidad de vobasina sobre el núcleo aromático de 2.



Figura 4.1.1 Estructura de alcaloides identificados en la corteza de raíz de Voacanga africana.

Si bien todos los compuestos identificados (Figura 4.1.1) se encontraban previamente reportados, no existían datos en cuanto al rendimiento de extracción a escala preparativa, que resulta de especial interés para la viabilidad del proyecto. En la Figura 4.1.2, se esquematiza el proceso de extracción, el cual comienza por una extracción con ácido clorhídrico diluido (1%) que solubiliza los alcaloides de interés en su forma protonada. La maceración dinámica (agitación magnética constante) se repite 6 veces, con el fin de agotar el material vegetal en voacangina (**2**), lo que fue constatado por TLC. Se ensayaron múltiples materiales para la filtración y recuperación del material vegetal; el mejor resultado se obtuvo con tela no tejida (TNT) de matriz celulósica, que permitió un filtrado rápido, y la fácil recuperación del material para su re-extracción.



Figura 4.1.2 Esquema del protocolo de extracción en medio ácido acuoso.

Posteriormente el conjunto de los extractos acuosos ácidos se lleva hasta pH 10 mediante el agregado de solución concentrada de hidróxido de amonio. Se produce un precipitado amarronado de aspecto amorfo (base libre de alcaloides) y tamaño de partícula muy pequeño, que dificulta enormemente la filtración por papel. Se optó por recurrir a la centrifugación, lo cual permitió la separación del sólido, que se secó a presión atmosférica, a 60 °C durante la noche. El sólido de aspecto térreo se disuelve en acetona, y la fase orgánica resultante se filtra por papel, con el fin de eliminar pequeñas impurezas del material vegetal. El disolvente se evapora a presión reducida dando lugar a un extracto de alcaloides totales que representa el 5% en masa del material vegetal utilizado. Por último, la mezcla de alcaloides totales es adsorbida en sílicagel, y se utiliza para la siembra sólida de un proceso de purificación por cromatografía en columna. Se aísla de esta manera, 0,85% de voacangina (2), 0,38% de voacristina (3), y 2,41% de una mezcla de alcaloides diméricos voacamina (4) y voacamidina (5), inseparable por cromatografía en columna.

La mezcla de alcaloides bis-indólicos —cuya composición exacta se desconocía en un comienzo— se recristalizó de metanol, obteniéndose voacamina (4) pura. Los cristales obtenidos, de color rosa-violáceo, presentaron la calidad suficiente para análisis por difracción de rayos X de monocristal (Figuras 4.1.3 y 4.1.4). Adicionalmente, se realizó una caracterización completa mediante espectroscopía de RMN; la Figura 4.1.5 muestra el espectro de protón completamente asignado (¹³C-RMN y experimentos bidimensionales en Anexo I – Espectros seleccionados). El alcaloide minoritario fue aislado y caracterizado más adelante como voacamidina (**5**) (ver Figura 4.1.8).



Figura 4.1.3 Diagrama ORTEP de voacamina (**4**). Los elipsoides se representan con un 30% de probabilidad. El agua de cristalización se omite para una visualización más clara.



Figura 4.1.4 Diagrama ORTEP de la celda unidad asimétrica de voacamina, obtenida por difracción de rayos X de monocristal. Se observan tres unidades independientes de voacamina y moléculas de agua conectadas por interacciones N-H-OH₂ enlace de hidrógeno (representados por líneas punteadas azules). Los elipsoides se representan con una probabilidad del 30%.



Figura 4.1.5 Espectro de ¹H-RMN del alcaloide bis-indólico voacamina (**4**) en CDCl₃. Se muestra la asignación completa de las señales con número; la notación a/b refiere a protones diasterotópicos.

4.1.1.2 Extracción directa con solvente orgánico

En un esfuerzo por simplificar el procedimiento de aislamiento y evitar la secuencia de pasos de precipitación, filtración y centrifugación, se ensayó un método de extracción directa con solventes orgánicos en medio básico. Inicialmente, se realizó una selección de solventes, mediante un cribado a baja escala, que incluyó el ensayo de metanol, acetato de etilo, acetona y hexano como potenciales solventes de extracción. Se extrajo 0,3 g de corteza de raíz de *Voacanga africana* en presencia de NaHCO₃ sólido (10%) y 5 mL del solvente en cuestión. Se filtró el material vegetal y evaporó el solvente a presión reducida, el extracto seco y pesado se retomó en cloroformo deuterado con ayuda de ultrasonido para una completa disolución. A la muestra se agregaron 5 µL de tricloroetileno para ser utilizado como estándar interno y así estimar el contenido de **2** y **4** en cada caso.



Figura 4.1.6 Cribado de solventes orgánicos para extracción de raíz de *V. africana*. Análisis de extractos crudos por RMN con estándar interno (5μL de tricloroetileno). Se muestra la estructura de voacangina (**2**), en rojo los protones (y su desplazamiento químico) que fueron usados para la cuantificación, destacados en espectro con flechas de color anaranjado. La estructura de voacamina (4) se excluye para una mejor visibilidad, las señales diagnósticas tomadas para la cuantificación en este caso fueron: 5,31; 5,12; 2,58 y 2,46 ppm, (ver espectro y asignación en Figura 4.1.5).

Se analizaron los extractos crudos por ¹H-RMN (Figura 4.1.6) comparando sus espectros con los de voacangina (**2**) y voacamina (**4**) puros (no se consideraron los otros alcaloides por encontrarse en proporción menor). Fueron seleccionadas señales características de cada estructura, que pudieran identificarse de forma clara y aislada dentro del espectro del extracto crudo. En el caso de **2**, estas señales fueron las de 2 protones aromáticos (6,93 y 6,80 ppm), así como las señales correspondientes al metoxilo de la porción aromática (3,84 ppm) y el metoxilo del éster metílico (3,71 ppm). En el caso de **4**, las señales seleccionadas fueron: 5,31 y 5,12 ppm, pertenecientes al esqueleto de vobasina, y 2,58 y 2,46 ppm, correspondientes al N-Me (22') y al metoxilo del éster metílico (16') (ver Figura 4.1.5). Tras la integración y comparación con la señal del estándar —tricloroetileno (6,5 ppm (s))— se pudo estimar las cantidades de **2** y **4** presentes en el extracto, lo que permitió la elaboración de la Tabla 4.1.

Solvente	Masa del extracto	Cantidad estimada de Voacamina (4)	Cantidad estimada de Voacangina (2)	% de alcaloides de interés en el extracto
Hexanos	14 mg	5,3 mg	3,8 mg	65%
MeOH	76 mg	14,0 mg	4,5 mg	24%
AcOEt	30 mg	18,9 mg	4,7 mg	79%
Acetona	43 mg	28,6 mg	7,7 mg	84%

Tabla 4.1 Cribado de solventes orgánicos para la extracción directa de alcaloides en medio básico. El % de alcaloides de interés se calculó como la suma de las cantidades estimadas de 2 y 4, con relación a la masa total del extracto seco.

La mezcla de hexanos (entrada 1) mostró una baja eficiencia como solvente de extracción, ya que extrae únicamente 14 mg a partir de 0,3 g de material vegetal; por el contrario, MeOH (entrada 2) extrae una gran cantidad de masa (76 mg) pero el extracto obtenido es pobre en los compuestos de interés. AcOEt y acetona (entrada 3 y 4) tuvieron un mejor desempeño, con un alto porcentaje de compuestos de interés en el extracto final. Se seleccionó la acetona, ya que recuperó la mayor cantidad de voacamina y voacangina, que representa un ~84% de la masa del extracto total.

El proceso se escaló a 100 g de material vegetal, para comparar rendimientos aislados a escala preparativa con el protocolo previo de extracción ácido-base (punto 4.1.1.1). La maceración fue asistida por ultrasonido, en base a reportes de literatura que indican que el mismo permite una mayor penetrabilidad del solvente en el tejido vegetal.⁶ Un esquema del proceso de extracción desarrollado puede verse en la Figura 4.1.7.



Figura 4.1.7 Esquema del procedimiento de extracción directa con solventes orgánicos en medio básico.

Fueron necesarias 4 extracciones en *batch* para agotar el material vegetal en voacangina (**2**), lo que se constató por TLC del sobrenadante. El filtrado se realizó por papel de forma eficiente y rápida. Los extractos combinados se evaporaron a vacío para obtener un material crudo, al cual llamamos extracto de alcaloides totales, que representa un 10% en masa del material vegetal utilizado. El mismo se adsorbió en sílicagel y se sometió a cromatografía en columna para aislar los mismos alcaloides principales que en el procedimiento de extracción ácido-base. Los rendimientos aislados promedio y la desviación estándar (para n=3) son expresados como % del peso seco de la corteza de raíz: $1,1 \pm 0,2$ para voacangina (**2**), $0,46 \pm 0,02$ para voacristina (**3**) y 2,9 ± 0,2 para la mezcla de dímeros voacamina (**4**) y voacamidina (**5**).

Con el fin de caracterizar la mezcla de alcaloides bis-indólicos —de los cuáles el único constituyente aislado e identificado era voacamina (4) (Figura 4.1.5)— ésta se analizó por LC-MS (ESI), donde se resolvieron tres picos principales con una proporción relativa (1,87 : 1 : 0,22), todos mostrando el mismo ion (m/z= 353) correspondiente al [M+2H]²⁺ (Figura 4.1.8), sugiriendo que se trataba —muy probablemente— de isómeros de voacamina (4). La purificación por TLC preparativa permitió el aislamiento de cantidades suficientes del segundo compuesto más abundante, que fue identificado como voacamidina (5) mediante asignación por espectroscopía de RMN (Figura 4.1.9). Desafortunadamente, no fue posible separar suficiente cantidad del compuesto minoritario para una caracterización completa, aunque al ser la masa del ion molecular la misma que la de 4 y 5, esto sugiere que podría compartir la estructura iboga-vobasinílica, dando lugar a otro regioisómero con los mismos motivos estructurales (Figura 4.1.1).

La proporción relativa, establecida por HPLC, para la mezcla de alcaloides bis-indólicos extraídos con acetona se asemeja —dentro del error esperado— a la observada en el espectro ¹H-RMN de la mezcla (Figura 4.1.10) (1,87 : 1 : 0,22) vs (1,75 : 1 : 0,24). Si se observa con detenimiento la región de 4,85 a 5,80 ppm, se identifican las señales correspondientes a H11 y H11' (Figura 4.1.10) que tienen distinto desplazamiento en **4** (5,10 ppm) que en **5** (5,55 ppm). La señal H2 (5,31 ppm) corresponde al protón de alqueno del residuo vobasina, y tiene el mismo desplazamiento para **4** y **5**, por esta razón en los espectros la señal integra como la sumatoria de los constituyentes. Además, se distingue una tercera señal, en menor proporción (5,46 ppm) que se atribuye al isómero minoritario que no pudo ser aislado; asumimos que se trata de una señal análoga a H11, (H11'').





Si se realiza el mismo análisis comparativo en el espectro de RMN, de la fracción de alcaloides bis-indólicos obtenidos por extracción ácido-base (punto 4.1.1.1), se observa que la proporción relativa de los componentes es diferente (3,45 : 1 : 0,33)(Figura 4.1.10). Esto podría explicarse por una diferencia de basicidad entre los compuestos; es decir, si voacamina (4) es más básica que voacamidina (5), entonces se verá protonada en mayor medida y será más soluble en el medio acuoso de extracción (HCl 1%) (extracción ácido-base). Por el contrario, en acetona (extracción directa con solventes orgánicos), donde se extrae una mayor proporción de voacamidina, la eficiencia del proceso podría estar determinada por la diferente polaridad de los compuestos, y no por su basicidad.



Figura 4.1.9 Espectro de ¹H-RMN del alcaloide bis-indólico voacamidina (**5**) en CDCl₃. Se muestra la asignación completa de las señales con número; la notación a/b refiere a protones diasterotópicos.



Figura 4.1.10 Determinación de proporción de alcaloides bis-indólicos por ¹H-RMN. Se apilan los espectros de **4** y **5** puros, con los de la mezcla obtenida por extracción con acetona y

extracción ácido base, en la región de 4,85 a 5,80 ppm. La proporción se establece por integración relativa de las señales aisladas.

El proceso desarrollado para la extracción directa de los alcaloides de raíz de *Voacanga africana* con solvente orgánico resultó más corto y menos laborioso, ya que evita tediosos pasos de centrifugación y filtración. A su vez, los rendimientos de extracción mejoraron sensiblemente, lo que aseguró un suministro adecuado de alcaloides monoméricos voacangina (**2**) y voacristina (**3**) para la generación de diversidad estructural por semisíntesis (ver 4.2), asegurando la viabilidad del programa de química medicinal planteado.

A diferencia de voacangina (2), voacristina (3), aislada en menor proporción, no era un alcaloide esperado en el extracto. Este alcaloide presenta un grupo hidroxilo en posición C19, lo que resulta interesante para funcionalizar la cadena etílica lateral del biciclo isoquinuclidínico e introducir cambios estructurales a este nivel. A su vez, se establecieron como constituyentes mayoritarios del extracto los alcaloides bis-indólicos 4 y 5, cuya cantidad y proporción relativa no estaban reportadas en la literatura previamente.

4.1.1.3 Escalado del proceso de extracción directa con solvente orgánico

Al contar con un protocolo simple de extracción directa y purificación de alcaloides optimizado, se procedió al escalado del proceso, que implicó el empleo de 0,5 kg de corteza de raíz molida. Dicho escalado se realizó en colaboración con el Laboratorio de Química Fina, Instituto Polo Tecnológico de Pando (IPTP) y la empresa Siquimia S.R.L, que dispusieron de la planta física y un reactor encamisado de 10 L respectivamente (Figura 4.1.11). En estas condiciones, la aplicación de ultrasonido durante el proceso de maceración resultó inviable; por consiguiente, se empleó agitación mecánica y calentamiento a 40 °C. La corteza de raíz se extrajo por lotes (5 × 4 L), y los extractos combinados de acetona se concentraron al vacío para obtener 40 g (8%) de extracto crudo.



Extraction reactor (10 L) 0.5Kg scale

Column chromatography for ~40 g of extract

Figura 4.1.11 Registro gráfico de procedimiento de extracción escalado para 0,5 kg de corteza de raíz en un reactor de 10 L.

El extracto crudo se purificó por cromatografía en columna, que desafortunadamente no permitió la completa separación de los alcaloides de interés (debido a una escasa resolución, la cual podría mejorarse al optimizar el tamaño de columna y los gramos de sílica a usar por cantidad de muestra). Para lograr la purificación de los componentes, fue necesario seguir un esquema de purificación como se esquematiza en la Figura 4.1.12, con sucesivas columnas cromatográficas para cada fracción que constituyera una mezcla. Se obtuvo, tras el proceso de purificación establecido: 4,1 g de voacangina (**2**)(0,82% del peso seco de la corteza de raíz), 2,2 g de voacristina (**3**) (0,45%) y 11,1 g de voacamina (**4**)(2,20%). Además, se obtuvo 4,72 g de una mezcla de alcaloides bis-indólicos no separable por cromatografía, conteniendo voacamina, voacamidina, y el dímero minoritario no identificado, en una relación de 1,7 : 1 : 0,4, (0,94%)



Figura 4.1.12 Esquema de purificación del extracto obtenido a escala de 0,5 kg de material vegetal.

Por otro lado, se pudieron identificar dos nuevos compuestos: 3-(2-oxopropil)voacangina (**6**) (0,15 g, 0,03%) y su análogo descarboxilado Tabernaricatina G (**7**) (0,07 g, 0,01%), (Figura 4.1.13A). Estos alcaloides se encontraban descritos previamente en literatura para plantas del género *Tabernaemontana*, pero no para *Voacanga africana*.^{7,8} Es de suponer que la baja proporción de estos alcaloides en el extracto total impidió su identificación en extracciones anteriores a escala de 50-150 g (4.1.1.1 y 4.1.1.2) y es mediante un aumento de la escala que resultan aislables.

Alternativamente, no se descarta la hipótesis de que **6** y **7** puedan generarse durante el proceso de extracción, por la adición de una unidad de acetona; en este sentido, la Figura 4.1.13B plantea un posible camino de obtención de **6**. El intermedio iminio **8** podría obtenerse en presencia de algún agente oxidante en el medio de extracción, como se aborda más adelante (4.2.1), dicho intermedio se produce, por ejemplo, en reacciones de oxidación con iodo. Si **8** es atacado por un enolato, producido a partir de acetona en medio básico (condiciones de la extracción) daría lugar a **6**; el calentamiento a 40 °C (que no fue empleado en anteriores extracciones) podría estar favoreciendo esta transformación.

En cuanto a **7**, podría obtenerse a partir de ibogaína (**1**) de la misma forma que plantea la Figura 4.1.13B; lo que resulta sorprendente, porque previamente no se detectó ibogaína (**1**) como constituyente del extracto de alcaloides de *V. africana*. Una posible explicación es que **1** se encuentre presente en cantidad de trazas, y reaccione por completo en estas condiciones de extracción para dar **7**. No consideramos viable plantear que **2** o **6** podrían descarboxilarse en el medio de reacción, ya que esta transformación requeriría condiciones ácidas (ver punto 4.2.1.1).



Figura 4.1.13 Alcaloides minoritarios del extracto de raíz de *Voacanga africana* identificados en escala de 0,5 kg. A) Estructura de dos productos nuevos identificados en el proceso de escalado. B) Propuesta mecanística para la formación de **6**.

4.1.2 Ruptura de alcaloides bis-indólicos

Tras identificar que, en conjunto, los alcaloides bis-indólicos voacamina (4) y voacamidina (5) son el componente principal de la corteza de raíz de *Voacanga africana* (en peso), se visualizó la posibilidad de sustituir la unidad estructural de vobasina por un protón (utilizando condiciones de sustitución electrofílica aromática (S_EAr)) para producir mayores cantidades de voacangina (2). De esta manera, se buscó maximizar la cantidad obtenida de este alcaloide monomérico, que será utilizado como bloque de construcción de la quimioteca propuesta en el proyecto (ver 4.2). Los alcaloides bis-indólicos como 4 y 5, no son moléculas

prometedoras para la actividad biológica buscada, ya que difícilmente atraviesen la barrera hematoencefálica (BHE) debido a su tamaño (PM= 704,9 g/mol); aunque presentan otras interesantes actividades biológicas reportadas en la literatura, como antiplasmodium,⁹ y antiproliferativa.¹⁰

La transformación propuesta ya se encontraba reportada en las publicaciones seminales de Buchi *et al.* sobre la elucidación estructural de los dímeros iboga-vobasina,¹¹ donde **4** se trató con cloruro de deuterio en agua deuterada (D₂O) a temperatura de reflujo para obtener voacangina-*d3* (Figura 4.1.14). Mediante este experimento Buchi *et al.* demostraron que las tres posiciones aromáticas son pasibles de actuar en reacciones de S_EAr. Sin embargo, el reporte no incluía un rendimiento molar asociado a dicha transformación.



Figura 4.1.14 Ruptura del dímero voacamina (4) reportada por Buchi et al.¹¹

Se reprodujo el experimento utilizando voacamina pura (0,02 M), en una mezcla 3:2 de HCl acuoso y metanol (concentración final de HCl de 3 M). La reacción se completó después de 6 horas a temperatura de reflujo para producir voacangina (**2**) con un rendimiento moderado del 31%. No se detectó ni aisló ningún producto derivado del residuo de vobasina, lo que fue atribuido a la descomposición en medio ácido, reportada previamente.¹¹

Se realizó una optimización de las condiciones de reacción buscando aumentar el rendimiento para la obtención de **2**. Para ello se ensayó calentamiento asistido por microondas (Tabla 4.2), una metodología de gran eficiencia que encuentra especial aplicabilidad en reacciones con tiempo extendido de calentamiento. Irradiando con una potencia de 100 W, la reacción se completó después de sólo 9 minutos a 100 °C, dando el mismo rendimiento molar del 30% de **2** (entrada 1). Para evitar la descomposición de **2** que podría explicar el bajo rendimiento obtenido, se decidió realizar la reacción a temperaturas más bajas. A 80 °C se necesitaron tiempos de reacción más largos y no se observó conversión completa, el rendimiento molar aislado disminuyó, dando un 23% de **2** (entrada 2); a 60 °C no se observó reacción alguna (entrada 3). Concentraciones más altas de HCl (6M) produjeron la descomposición del material de partida (entrada 4).



	Condiciones	Solvente	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Voacangina 2 (%)
1	HCL 3M	H ₂ O	100	9	30
2	HCL 3M	H ₂ O	80	30	23ª
3	HCL 3M	H_2O	60	60	No reacciona
4	HCl 6M	H ₂ O	100	15	Descompone
5	HCL 3M	H ₂ 0:MeOH (4:1)	100	15	33
6	HCL 3M	H ₂ 0:MeOH (1:4)	100	25	No reacciona
7	TFA 1,5M	DMF	100	15	No reacciona
8	HCl 3M NaN₃ (2.0 eq.)	H ₂ O	100	10	30 ^b
9	HCl 3M PrSH (10 eq.)	H ₂ O	100	10	38 ^b

Tabla 4.2 Optimización de las condiciones de ruptura de voacamina (4) en medio ácido. En todos los casos se utilizó calentamiento asistido por microondas, con una potencia de 100W y calentando hasta observar el consumo total de material de partida por TLC, salvo que se indique lo contrario. ^a La conversión no fue completa, luego de 90 min de calentamiento se obtiene 11% de voacangina (2), y parte de voacamina (4) sin reaccionar. ^b La conversión no fue completa, tiempos prolongados de reacción redundaron en menor rendimiento de voacangina (2).

La adición de pequeñas cantidades de metanol, para aumentar la solubilidad de **4** en el medio, hizo que la reacción fuera más lenta sin una mejora significativa en el rendimiento (entrada 5). Por otro lado, cuando metanol fue empleado como solvente principal (entrada 6), no se observó avance ninguno, lo que indica la importancia de la presencia de un medio acuoso para que la transformación ocurra. Esto se confirmó al realizar la reacción en un solvente orgánico anhidro como DMF y ácido trifluoroacético (TFA), donde no se observó avance de reacción (entrada 7). Buchi *et al.* reportaron la síntesis de voacamina (**4**) reaccionando **2** y vobasinol (**9**) con HCl en metanol anhidro,¹¹ lo que permite suponer que la transformación se trata de un equilibrio, donde medios anhidros favorecen la dimerización (Figura 4.1.15).





Considerando un mecanismo estándar de S_EAr para la escisión del dímero (Figura 4.1.15), se necesita un nucleófilo (como agua) para atrapar el catión voabasinílico resultante de la ruptura, y así desplazar el equilibrio.¹² Se propuso entonces ensayar nucleófilos auxiliares, como azida de sodio (NaN₃) o propanotiol (PrSH) en la reacción (entradas 8 y 9). Se observó un ligero aumento del rendimiento utilizando PrSH, y no con azida de sodio. Esto podría ser explicado por el carácter blando del grupo tiol, adecuado para el ataque de un carbocatión altamente estabilizado por resonancia. La conversión no fue completa (para ambas reacciones), pero un aumento en el tiempo de calentamiento no redundó en mejores rendimientos.

Teniendo en cuenta las conclusiones alcanzadas en el estudio con calentamiento asistido por microondas (temperatura, necesidad de agua, cantidad de metanol, presencia de nucleófilos auxiliares), se continuó con la optimización, pero utilizando un sistema de calentamiento convencional en tubo sellado, apto para reacciones a presión (110 °C), debido a la capacidad limitada de volumen a ser utilizada en el horno de microondas (volumen de reacción máximo: 1 mL) (Tabla 4.3). Así, en HCl acuoso 3M se requirió 5 horas para consumir completamente **4** y produjo el mismo rendimiento del 30% (comparar entradas 1 de Tablas 4.2 y 4.3). Se ensayaron ácidos orgánicos alternativos como tricloroacético (TCA) y trifluoroacético (TFA) en medio acuoso (entradas 2 y 3), para los cuales no se observó avance de reacción. Otro ácido mineral alternativo: HBr (entrada 4), provocó descomposición del material de partida, al igual que el empleo de solventes alternativos como dioxano (entrada 5). Por tanto, se prosiguió el trabajo con HCl 3M para el ensayo de nuevos nucleófilos auxiliares.

	Ácido	Solvente	Aditivo	Tiempo (h)	Voacangina 2 (%)
1	HCl 3M	H ₂ O	-	5	30
2	TCA 3M	H ₂ O	-	7	No reacciona
3	TFA 3M	H ₂ O	-	7	No reacciona
4	HBr 3M	H ₂ 0/Ac0H	-	2	Descompone
5	HCl 3M	Dioxano	-	7	Descompone
6	HCl 3M	H_2O	TIPS (50 eq)	1	41
7	HCl 3M	H ₂ O	TIPS-SH (50 eq)	2	44
8	HCl 3M	H ₂ O	TIPS (3,0 eq)	4	39 ª
9	HCl 3M	H ₂ O	TIPS (3,0 eq)	2	51 ^b
10	HCl 3M	H ₂ O	TIPS (3,0 eq)	1	48 ^c

Tabla 4.3 Optimización de la ruptura de voacamina (**4**) en medio ácido, empleando calentamiento convencional en tubo sellado. En todos los casos: se calentó a 110 °C; [voacamina] = 0,015 M. ^a 17% de norvoacangina (10), y 20% de ibogaína (1). ^b 7% de norvoacangina (10). ^c 8% de norvoacangina (10).

Siguiendo con el uso de nucleófilos auxiliares capaces de atacar cationes (Figura 4.1.15), se evitó el uso de grandes cantidades de PrSH (debido a su penetrante olor), y se ensayó en su lugar triisopropilsilano (TIPS) y triisopropilsinanotiol (TIPS-SH) en exceso (entradas 6 y 7), lo que implicó una leve mejora en los rendimientos de reacción en tiempos menores. Mediante el seguimiento de la reacción a distintos tiempos (4, 2 y 1 h), empleando 3,0 equivalentes de TIPS (entradas 8, 9 y 10) se logró una mejora del rendimiento de reacción (mejor condición: 51%, entrada 9). En estas condiciones se observó también la aparición de productos de desmetilación como norvoacangina (**10**) (Figura 4.1.16), lo que está de acuerdo con reportes previos de la literatura, donde trietilsilano se utiliza en condiciones drásticas (100-165 °C) para la desprotección selectiva de aril-éteres.¹³ También se observó la aparición de ibogaína (**1**) cuando el tiempo de calentamiento se extendió a 4 h (entrada 8), lo que denota una descarboxilación en el medio de reacción (ver 4.2.1.1).

Al constatar que el rendimiento es sensible al tiempo de reacción se procedió a determinar el tiempo óptimo mediante un seguimiento minucioso, tomando alícuotas cada 15 minutos, y analizándolas por HPLC-DAD. Esto permitió estimar cantidades relativas de voacamina (4), voacangina (2) y su análogo desmetilado 10 (Figura 4.1.16) mediante comparación de áreas. De esta forma, se determinó que 10 se produce de forma apreciable a partir de 90 min de reacción, y que la concentración de 2 permanece estable luego de los primeros 60 min de calentamiento. La reacción se escaló a 1 g de material de partida (4), manteniendo un período de calentamiento de 90 min, aislándose un 47% de voacangina (2).



Figura 4.1.16 Perfiles de seguimiento de reacción. En azul curva de desaparición de voacamina (4), en naranja curva de producción de voacangina (2). En gris curva de producción de norvoacangina (10).

Por último, estas condiciones de ruptura se aplicaron a una mezcla de voacamidina (**5**) y voacamina (**4**) en proporción (4:1) (procedentes del sobrenadante en el proceso de cristalización de voacamina (**4**)), obteniéndose un 47% de voacangina (**2**) como producto. Entonces, si se parte de 100 g de raíz de *V. africana*, se aísla aproximadamente 1,1 g de voacangina (**2**) y 2,9 g de alcaloides bis-indólicos. Si la totalidad de estos alcaloides bis-indólicos se trata en estas condiciones de ruptura, se obtiene —de acuerdo al rendimiento molar establecido (50 %)— una cantidad de aproximada de 0,76 g de **2**, lo que sumado a la cantidad aislada inicialmente da un total de 1,86 g de voacangina (**2**), prácticamente duplicando el contenido existente en la raíz.

En resumen, en la sección 4.1 se muestra el trabajo de obtención de voacangina (2) y voacristina (3) a partir de corteza de raíz de *Voacanga africana*. Esto no sólo incluyó el desarrollo y optimización de protocolos de extracción y purificación, sino también promover una estrategia de ruptura de alcaloides bis-indólicos (4 y 5) para maximizar la cantidad de 2 que se obtiene. El proceso en su conjunto —que fue patentado con éxito en Uruguay (UY39291) y Argentina (AR122741 A1)— permite obtener un total aproximado de 2,0 % de voacangina (2) y un 0,45 % de voacristina (3) del peso seco de la corteza de la raíz (Figura 4.1.17). Este trabajo también resultó en la publicación de una artículo en la revista ACS Omega.¹⁴ De esta forma, con un procedimiento puesto a punto a escala de gramo, y la cantidad suficiente de material vegetal, el proyecto de generación de una biblioteca de alcaloides de la iboga mediante una estrategia semisintética resultó viable.



Figura 4.1.17 Resumen de 4.1, obtención de alcaloides de *Voacanga africana*. Los resultados porcentuales son para una escala de extracción de 100 g de material vegetal.

4.2 Modificaciones estructurales del esqueleto de alcaloides de la iboga

Para la generación de una quimioteca con la diversidad estructural necesaria para el estudio de relación estructura-actividad (SAR) de los alcaloides de la iboga en su interacción con transportadores de monoaminas (MAT), el siguiente paso fue el desarrollo de las transformaciones químicas a partir de voacangina (2) y voacristina (3) extraídas de *Voacanga africana* (sección 4.1). Los cambios propuestos no estuvieron basados en un diseño racional, sino en la generación de análogos con la mayor diversidad estructural posible. En este sentido se pretendió contar con una biblioteca amplia de compuestos para, luego de la obtención de los datos de evaluación biológica, guiar nuevos diseños en base a perfiles de estructura/actividad en ciclos sucesivos de química medicinal. Es importante destacar que este proyecto fue llevado a cabo en colaboración con el grupo del Prof. Dalibor Sames de la Universidad de Columbia en Nueva York- EEUU, donde se realizó la evaluación biológica de los compuestos (sección 4.3). El grupo del Prof. Sames también participó en la generación de análogos, focalizándose exclusivamente en reacciones sobre la porción indólica de la molécula, en especial utilizando protocolos de funcionalización C-H (en los que el grupo cuenta con vasta experiencia) en las posiciones 9, 11 y 12. Desde nuestro lado, mediante el desarrollo de esta tesis se estudiaron tres grupos de modificaciones estructurales que se describen en los tres apartados siguientes, según la región de la molécula que fue modificada (Figura 4.2.1).





4.2.1 Modificaciones en N1, C10 y C16

Inicialmente se trabajó en modificaciones sobre las posiciones N1, C10 y C16 utilizando voacangina (2) y voacristina (3) como materiales de partida. Esto permitió, además de generar diversidad estructural en estas posiciones, obtener alcaloides de la iboga ya reportados de gran relevancia biológica, como ibogaína, noribogaína e ibogamina, para los cuales la caracterización sobre su actividad sobre los transportadores de monoaminas y hERG en las condiciones de estudio es importante (para su comparación con los nuevos análogos generados y para definir perfiles de SAR). A su vez, la obtención de ibogaína y noribogaína es de suma importancia para llevar a cabo

estudios en curso con colaboradores que permiten profundizar sobre el mecanismo de acción de estos compuestos (ver abajo).

4.2.1.1 Modificaciones sobre el éster metílico (sobre C16)

Inicialmente se comenzó explorando condiciones para sintetizar ibogaína (1), que puede obtenerse a partir de voacangina (2) mediante hidrólisis básica y posterior descarboxilación en medio ácido, remplazando el éster metílico sobre C16 por un protón. En este sentido, se procedió a la hidrólisis básica de voacangina (2), que requiere condiciones drásticas y calentamientos prolongados, para las cuales se ensayaron múltiples condiciones (Tabla 4.4). Cuando etanol fue utilizado como solvente (entrada 1) se observó la transesterificación del éster metílico a etílico. Dicho producto de transesterificación resultó ser más resistente que la propia voacangina a la hidrólisis.

MeO				MeQ			
	MeO O 2		i) Conc hidrólis ii) HC (5	liciones iis básica ★ 5M, ∆ min)			
#	Eq KOH	Solvente	[2]	T (°C)	T (h)	1 (%)	
1	20	EtOH	0,10M	78	5	51%	
2	30	MeOH	0,07M	65	18	67%	
3	10	Dioxano:H ₂ O (8:2)	0,04M	87	5	Descompone	
4	10	EtOH:H ₂ O (3:2)	0,04M	78	15	95-99%	

Tabla 4.4 Condiciones de hidrólisis básica y descarboxilación en medio ácido de 2.

Para minimizar los eventos de transesterificación, se empleó metanol como solvente (entrada 2), lo que redundó en una necesidad de aumentar los equivalentes de KOH (30 eq) y tiempo de calentamiento (18 h) para consumir el material de partida, con un rendimiento sensiblemente mayor. Al utilizar dioxano con un 20% de agua para mejorar la solubilidad de la base, se obtuvo descomposición, probablemente debido al aumento de temperatura. Los mejores resultados (entrada 4), se obtuvieron aplicando el protocolo reportado por Han *et al.*¹⁵ para el análogo natural catarantina (Figura 2.3). Con una mezcla EtOH:H₂O (3:2) y 10 eq de KOH fueron necesarias 15 h para el consumo total de material de partida. Se observó el producto de transesterificación en muy baja proporción comparado con la entrada 1 (vía TLC) y se obtuvo un rendimiento de ibogaína aislada del 95-99%, altamente reproducible.

La etapa de descarboxilación es muy rápida y transcurre sin mayores inconvenientes, son necesarios apenas 5 minutos de calentamiento a reflujo para completar la transformación una vez

acidificado el medio. Por ello, no resultó necesario ensayar condiciones alternativas al agregado de HCl 5M. En la Figura 4.2.2 se propone un mecanismo de descarboxilación que implica múltiples pasos de tautomería en el sistema imina-enamina del anillo indólico. Se intentó adicionalmente la hidrólisis de **2** en medio ácido acuoso, con el fin de obtener **1** en un único paso de reacción; pero el calentamiento a reflujo con HCl 3 M resultó en descomposición, sin producción de ibogaína.



Figura 4.2.2 Propuesta de mecanismo de descarboxilación de voacangina (2).

La ibogaína (1) producida mediante esta metodología ha sido y es utilizada por nuestros colaboradores en ensayos de caracterización de su actividad biológica, lo que incluye: ensayos neuroquímicos, electrofisiológicos, comportamentales e imagenológicos en roedores, lo que ha permitido ahondar en el estudio del mecanismo de acción de ibogaína.¹⁶⁻¹⁹ En dichos ensayos se emplea el clorhidrato, y no la base libre del alcaloide, debido a que la sal tiene mejor solubilidad en los vehículos acuosos para la administración del compuesto activo. El clorhidrato se obtiene disolviendo la base libre en éter etílico anhidro, y posterior agregado de una solución 3 M de HCl en éter anhidro. La sal precipita instantáneamente y es filtrada por placa de vidrio sinterizado. La recristalización de este clorhidrato en etanol permitió la obtención de un monocristal apto para ser analizado por difracción de rayos-X, obteniéndose la estructura de la Figura 4.2.3.



Figura 4.2.3 Diagrama ORTEP de clorhidrato de ibogaína, análisis de difracción de rayos-X de monocristal. Los elipsoides están representados con un 30% de probabilidad.

La aplicación de las mejores condiciones encontradas para la hidrólisis (Tabla 4.4, entrada 4) y posterior descarboxilación en medio ácido de voacristina (**3**) (Figura 4.2.4), dio como resultado un 76% de **12**, un análogo hidroxilado de ibogaína en posición C19. Éste se encontraba ya reportado en literatura bajo el nombre de iboxigaína (o 19-hidroxiibogaína).²⁰ A pesar que el rendimiento para **12** es sensiblemente menor que el observado para la producción de **1** (95-99 %) utilizando las mismas condiciones, es destacable que la hidrólisis de **3** se completa en menor tiempo (2 h) que la de **2** (15 h, Tabla 4.4, entrada 4). Para explicar esta observación, sería tentador argumentar que el OH en posición C19 podría formar una lactona mediante ataque al éster en C16, la cual presentaría alta reactividad y podría ser hidrolizada rápidamente. Sin embargo, la inspección del modelo estructural para **3** muestra que no es factible el acercamiento en el espacio de estos grupos. Otra explicación posible sería postular que la presencia del OH en C19 genera un microentorno de mayor polaridad en la molécula de voacristina en comparación con voacangina, que favorece la reacción de hidrólisis al involucrar un nucleófilo cargado. De todas maneras, esta explicación es especulativa y experimentos adicionales serían necesarios para confirmarla, por ejemplo, realizar la hidrólisis sobre análogos de **3** protegidos en el OH.



Figura 4.2.4 La hidrólisis y descarboxilación de voacristina (**3**), produce iboxigaína (19-hidroxiibogaína) (**12**).

Prosiguiendo con las modificaciones sintéticas del éster metílico presente en voacangina (2), se propuso la preparación de análogos con diferente estado de oxidación a este nivel. Para ello, 2 se redujo por tratamiento con hidruro de litio y aluminio (Figura 4.2.5) dando lugar al alcohol primario 13 (ya reportado en literatura con el nombre voacanginol) en muy buen rendimiento.²¹ Luego el alcohol primario 13 fue oxidado a aldehído 14 con muy buen rendimiento, utilizando el complejo trióxido de azufre-piridina en presencia de DMSO (oxidación de Parikh-Doering). Esta reacción, constituye una de las tantas variantes de la oxidación de alcoholes basada en especies activas de DMSO donde se produce sulfuro de dimetilo como producto secundario.²²



Figura 4.2.5 Reducción del éster metílico de voacangina (**2**). Modificaciones sintéticas para la oxidación y bencilación de voacanginol (**13**).

A su vez, se buscó la generación de un grupo éter desde el alcohol **13** mediante la reacción de Williamson. Para ello, **13** fue tratado en condiciones básicas (NaH en DMF) para generar un alcóxido, al que se agregó un agente alquilante como bromuro de bencilo. Sorprendentemente, el único producto aislado del medio de reacción fue **15**, que corresponde a la alquilación en posición C7 con la consecuente formación de una estructura tipo indolenina en el anillo indólico. La estereoquímica de C7 en **15** fue propuesta en base a la reactividad encontrada para reacciones similares (ver punto 4.2.2.2), donde encontramos que los grupos siempre se aproximan al anillo indólico desde el lado opuesto al grupo isoquinuclidina. En la Figura 4.2.6 se propone un mecanismo posible para esta transformación, donde, tras la generación del alcóxido, éste reacciona con el protón del NH indólico, promoviendo el ataque nucleofílico por el anillo (posición C7), en vez de por el oxígeno de la cadena en C16.





Tanto el alcohol **13** como el aldehído **14** se plantearon inicialmente como potenciales materiales de partida para la construcción de series de análogos; en el caso de **13** sometiéndolo a reacciones de eterificación de Williamson, y para **14** mediante reacciones de aminación reductiva. Sin embargo, dicho objetivo no se llevó a cabo, luego de conocer que la presencia de grupos funcionales voluminosos sobre la posición C16 resultan deletéreos para la actividad inhibitoria sobre el

transportador de serotonina (SERT), (ver sección 4.3), por lo que se redirigieron los esfuerzos sintéticos a otros objetivos, abandonando la generación de análogos en C16.

4.2.1.2 Modificaciones sobre el metoxilo indólico (C10)

Continuando con las modificaciones estructurales a nivel del indol, se buscó trabajar inicialmente sobre la desprotección del metil éter de ibogaína (1) (Tabla 4.5). Esta transformación adquiere especial importancia porque el producto desmetilado 16 (noribogaína), es el único metabolito conocido de ibogaína (ver apartado *2.1.1*). La desmetilación se llevó a cabo por tratamiento con ácidos de Lewis, en presencia de nucleófilos (Tabla 4.5). Inicialmente se ensayaron tribromuro de boro en complejo con sulfuro de dimetilo (entrada 1), y tricloruro de aluminio en presencia de un exceso de propanotiol (entrada 2), pero no se observó reacción, incluso con calentamiento a reflujo, recuperándose el material de partida 1 incambiado. El empleo de triioduro de aluminio produjo buen resultado (entrada 3), permitiendo aislar 16 en 76 % de rendimiento; en este caso el nucleófilo es un ion ioduro del propio ácido de Lewis. Dicha reacción presentó baja reproducibilidad, asociada probablemente al proceso de preparación del triioduro de aluminio *in situ* a partir de iodo y aluminio metálico, por lo que se siguió ensayando condiciones alternativas.



	Condiciones	Solventes	T (°C)	t(h)	16 (%)
1	Me₂S·BBr₃ (6 eq)	DCM	40	4	No reacciona
2	AlCl₃, PrSH (9 eq)	Tolueno	110	2	No reacciona
3	All₃ (2 eq)	MeCN	82	4	76 %
4	BBr ₃ , EtSH (4 eq)	1,2-DCE	84	2,5	95 %

Tabla 4.5 Desmetilación de ibogaína (1) para la síntesis de noribogaina (16), metabolito activo.

El mejor resultado se obtuvo utilizando tribromuro de boro sin estabilizar, en presencia de un exceso de etanotiol y 1,2-dicloroetano como solvente, lo que permitió el calentamiento a 84 °C (reflujo)(entrada 4). El mecanismo de reacción propuesto (Figura 4.2.7) implica la coordinación del ácido de Lewis con la nube electrónica del oxígeno, lo que aumenta la electrofilia del metilo, que puede ser atacado por un nucleófilo blando como etanotiol. Como producto secundario se produce etilmetilsulfuro; el fenol libre se genera por protonación durante el *work up* de la reacción.



Figura 4.2.7 Mecanismo propuesto para la desmetilación de ibogaína (1).

La noribogaína (**16**), obtenida en su forma de base libre o clorhidrato, fue utilizada por nuestros colaboradores en ensayos comportamentales en animales, lo que contribuyó al entendimiento de su actividad biológica (ver *2.1.1*).^{16,18,23}

Las mismas condiciones de reacción fueron empleadas para la desmetilación de **12** (Figura 4.2.8), donde se obtuvo el compuesto dihidroxilado **17** en buen rendimiento. El fenol **17** exhibe una mayor polaridad, que se comprueba experimentalmente mediante análisis de cromatografía en capa fina (TLC).



Figura 4.2.8 Desmetilación de 19-hidroxiibogaína (**12**), para producir 10,19-dihidroxiibogamína (**17**).

Ibogamina (18) es el alcaloide más simple de la serie de alcaloides de la iboga, y se encuentra presente en la corteza de raíz de *Tabernanthe iboga*, donde se identificó inicialmente ibogaína (1). Para su síntesis se partió de noribogaina (16), y se generaron diferentes ésteres sulfónicos (tosilato, mesilato y triflato) que fueron tratados en condiciones reductivas para remplazar la función oxigenada por un átomo de hidrógeno (Tabla 4.6). Los ésteres sulfónicos se prepararon mediante condiciones estándar: cloruro de tosilo o mesilo, o anhídrido tríflico en medio básico (piridina o trietilamina), obteniendo rendimientos moderados (40-56%) del producto aislado por cromatografía en columna. Luego de confirmar la estructura, y habiendo comprobado la labilidad del producto frente al proceso de purificación, se optó por proceder a la reducción con el material crudo sin purificar.

Tanto el tosilato como el mesilato no dieron el producto esperado al ser tratados con Ni Raney[®] a reflujo en etanol y metanol, respectivamente (entradas 1 y 2).²⁴ Incluso se observó la hidrólisis del éster sulfónico, detectada por la presencia de **16** en el medio de reacción. Como alternativa, se planteó la hidrogenación del mesilato, utilizando catálisis heterogénea (Pd/C 10%) a presión atmosférica (entrada 3).²⁵ No se observó reacción alguna, lo que podría deberse el envenenamiento del catalizador, por coordinación del sustrato al centro metálico a través de nitrógenos básicos.



Tabla 4.4.6 síntesis de ibogamina (**18**). ^a se observa aparición de noribogaina (**16**). ^b no hay avance de reacción, se recupera 45-56 % de material de partida sin reaccionar.

El catalizador de Pearlman (hidróxido de paladio al 20% sobre carbono) encuentra especial aplicabilidad en la hidrogenación de moléculas que contienen N, incluso en aquellos casos donde otros catalizadores de paladio fallan.²⁶ El uso de este catalizador en la hidrogenación del mesilato a presión atmosférica, permitió la obtención de ibogamina (**18**) con un 22 % de rendimiento. La reacción parece no avanzar luego de las primeras horas (análisis por TLC), mostrando un estancamiento en el consumo de material de partida. La presurización a 4 atm de hidrógeno en un hidrogenador de Parr (entrada 5) no implicó una mejoría, incluso luego de 48 horas. Fue necesario cambiar el grupo saliente por trifluorometanosulfonato, un mejor grupo saliente, para obtener una conversión completa. El mejor resultado se obtuvo tras 24 h en atmósfera de hidrógeno a presión atmosférica, lo que permitió el aislamiento del producto deseado (**18**) en un 76% de rendimiento en dos pasos (entrada 6). La Figura 4.2.9 muestra la secuencia completa; adicionalmente, el triflato **19** puede ser aislado con un rendimiento del 56 %.



Figura 4.2.9 Síntesis de ibogamina (18) a partir de noribogaina (16)

La aplicación de la misma secuencia sintética sobre el sustrato dihidroxilado **17** (Figura 4.2.10), no produjo resultados satisfactorios, ya que se observó la competencia entre el fenol y el alcohol secundario evidenciada por la aparición de múltiples productos por TLC. El cambio en el agente acilante (*bis*(trifluorometanosulfonil)anilina) respecto a la síntesis de **19** responde a la no disponibilidad de anhidrido tríflico en el momento de llevar a cabo la reacción. La generación previa del fenóxido por tratamiento con KOH, y posterior agregado del agente triflante tampoco resolvió los problemas de regioselectividad. La variedad de polaridad entre los múltiples productos de reacción (no aislados) se podría explicar porque un buen grupo saliente en posición C19 lleva al ataque intramolecular y la formación de un ciclo de cuatro miembros (azetidina), con el nitrógeno isoquinuclidínico cargado positivamente (ver apartado 4.2.3).



Figura 4.2.10 Estrategia sintética para la síntesis de 19-hidroxiibogamína (21).

4.2.1.3 Sustituciones sobre el N-indólico (N1)

En cuanto a la obtención de derivados *N*-indol sustituidos, se observó una notoria diferencia de reactividad entre ibogaína (1) y voacangina (2), (Figura 4.2.11). Por ejemplo, durante la protección con Boc (*t*-butoxicarbonilo), 2 requiere un exceso de reactivo acilante, calentamiento (para lo cual se agrega tolueno como disolvente) y mayor tiempo para completar la reacción en comparación con condiciones similares para 1, donde la reacción transcurre sin problemas a temperatura ambiente con cantidades estequiométricas de Boc₂O. Estas diferencias de reactividad pueden deberse a factores estéricos, ya que el N indólico se encuentra cercano en el espacio al grupo éster de C16 en el caso de voacangina (2), lo que dificultará el acercamiento del agente acilante. A su vez, también hay diferencias electrónicas entre voacangina e ibogaína que pueden explicar esta diferencia de reactividad. Cálculos teóricos —que serán desarrollados más adelante, en el punto 4.2.2.5— indican que el *N* indólico posee más carga en ibogaína que en voacangina (Tabla 4.12), contribuyendo a su mayor reactividad.



Figura 4.2.11 Modificaciones en el N del indol a partir de ibogaína (1) y voacangina (2).

Durante la obtención de los derivados *N*-metilados (**24** y **25**) se observó una tendencia similar, aunque menos marcada, lo que podría ser explicado por el volumen del agente metilante (CH₃I) que es significativamente menor a Boc₂O, usado en la síntesis de los carbamatos **22** y **23**. En todas las transformaciones de la Figura 4.2.11 se obtuvieron rendimientos moderados a buenos.

Se observó una dependencia muy marcada con las condiciones de reacción (solvente y base) en este tipo de reacciones, por ejemplo, el cambio de solvente de diclorometano a tetrahidrofurano para la síntesis del carbamato **23** (Figura 4.2.12), implicó una conversión nula incluso con calentamiento a 50 °C, recuperándose el material de partida (**1**). Asimismo, cuando la reacción de metilación se ensayó en DMF con hidruro de sodio como base, se obtuvo una mezcla de **25** y **26** en proporción 1 : 1,3 (determinada por RMN), no separable por cromatografía en columna. El producto secundario **26** (Figura 4.2.12) se obtiene por oxidación de ibogaína (**1**) y posterior metilación del alcohol terciario; la oxidación de **1** y **2** se trata en detalle más adelante (ver apartado 4.2.2); la estereoquímica de **26** se determinó mediante experimentos de nOe (ver punto 4.2.2.2, Figura 4.2.19). En este caso, la diferencia en la reactividad respecto a la síntesis de **25** (Figura 4.2.11) se atribuye a la fuerza de la base utilizada (NaH vs. KOH); el hidruro desprotona completamente al N indólico, promoviendo la deslocalización de la carga y la oxidación en C7.

Por otro lado, en las reacciones de alquilación es importante considerar la dureza relativa del par electrófilo-nucleófilo, ya que determinará la selectividad del ataque al existir varios centros nucleófilos en el esqueleto de la iboga. Así, las reacciones usando CH₃I tienen lugar mayoritariamente sobre el N indólico, más duro que C7 (Figuras 4.2.11 y 4.2.12).



Figura 4.2.12 Condiciones no exitosas para la N sustitución de ibogaina (1).

Para las reacciones de bencilación, donde se usa un electrófilo más blando (bromuro de bencilo), tiene lugar la competencia entre el N indólico y C7, predominando el ataque de C7 cuando el N está desprotonado (ver formación de **15**, Figura 4.2.5). Complementariamente, si en lugar de hidruro de sodio se usa una base más débil (que no desprotone completamente al N indólico), este centro será más blando y dará lugar a la *N*-bencilación., como se observa en la Figura 4.2.13. donde se sintetizó selectivamente el derivado *N*-bencilado **27** en condiciones de reflujo y exceso de agente alquilante, con una base débil como carbonato de cesio.



Figura 4.2.13 N-bencilación de ibogaína (1).

Estas consideraciones sobre el carácter duro-blando en las alquilaciones, encuentran aplicación en la reactividad de los análogos hidroxilados voacristina (**3**) e iboxigaína (**12**). Por tanto, la metilación de **12** usando una base fuerte (Figura 4.2.14), produjo **28** de forma selectiva; no se observaron productos secundarios correspondientes a la *O*-metilación del hidroxilo en C19, ni a la alquilación en posición C7. En esas condiciones, el N indólico se desprotona con mayor facilidad al hidroxilo, que forma un enlace de H con el N isoquinuclidínico, por lo que el N indólico es el centro más duro y se metila. En cambio, cuando voacristina (**3**) fue tratada en medio básico fuerte con bromuro de bencilo (un electrófilo blando), se obtuvieron dos productos de alquilación, **29** y **30**, correspondientes a la *N*-bencilación y la alquilación en C7, respectivamente. La indolenina **30** es el producto mayoritario en esta transformación, de acuerdo con que C7 sea el centro nucleófilo más blando del sustrato.



Figura 4.2.14 Substitución N del indol en análogos C19 hidroxilados (voacristina (**3**), iboxigaína (**12**)). La estereoquímica de **30** se propone en base a reactividad de reacciones similares (ver punto 4.2.2.2).

En resumen, en 4.2.1 se describen las modificaciones sintéticas más sencillas con foco en tres regiones de la molécula: el éster metílico (sobre C16), el metoxilo indólico (sobre C10) y el nitrógeno indólico (N1). Se optimizaron condiciones de reacción para las síntesis "troncales", es decir aquellas que permiten obtener compuestos que son base para otras modificaciones estructurales. Esto refiere específicamente a la hidrólisis y descarboxilación de voacangina (2) para obtener ibogaína (1); y a la desmetilación de ibogaína (1) para producir noribogaína (16), único metabolito activo conocido.

Como fue mencionado anteriormente, se planificó la construcción de series homólogas de compuestos, con largo de cadena variable a partir del fenol **16**, alcohol primario **13**, y *N*-indólico de ibogaína (**1**). Sin embargo, teniendo en cuenta resultados de relación estructura-actividad por parte de nuestros colaboradores (Prof. Dalibor Sames, Universidad de Columbia) decidimos cambiar dichas estrategias sintéticas por otras más prometedoras, que se encuentran en los próximos apartados.²⁷

4.2.2 Reacciones de oxidación en C3, N4 y C7.

Con el objetivo de introducir modificaciones estructurales para producir análogos oxigenados en C7, C3 y N4, se decidió someter a ibogaína (1) y voacangina (2) a reacciones de oxidación. Diversas condiciones se encontraban reportadas para ambos sustratos; con 1 se encontraron en literatura oxidaciones utilizando oxígeno o aire,²⁸⁻³⁰ óxido crómico,³⁰ ácido *m*-cloroperbenzoico,^{30,31} iodo,^{30,32} y más recientemente, dimetildioxirano.³² En el caso de voacangina (2), reportes anteriores incluyen oxidaciones utilizando aire u oxígeno,³³⁻³⁷ iodo,^{11,33} y tetraacetato de plomo.³⁷ Sin embargo, dichos reportes no incluyen rendimientos aislados para los productos de oxidación y, además, los resultados de diferentes informes son inconsistentes o contradictorios, probablemente debido a una asignación estructural incorrecta causada por las limitadas herramientas espectroscópicas disponibles en los estudios más antiguos. Por lo tanto, se realizaron oxidaciones en paralelo para 1 y 2 utilizando oxígeno, ácido *m*-cloroperbenzoico, iodo y dimetildioxirano para, además de los fines preparativos de análogos para los productos de oxidación (junto con una caracterización estructural profunda y una asignación detallada de su estereoquímica). Por último, se realizaron cálculos computacionales con el fin de racionalizar las diferencias de reactividad observada (ver 4.2.2.5).

4.2.2.1 Oxidaciones con oxígeno

Primero, se estudió la oxidación de 1 y 2 utilizando oxígeno en ausencia de luz (Tabla 4.7). Se eligió tolueno considerando informes anteriores que mostraban que la autooxidación de la ibogaína (1) dependía altamente del solvente, siendo rápida en medios no polares como el benceno.³⁰ No se observó reacción con voacangina (2) a temperatura ambiente, ni calentando a 50 °C (entrada 1). Por el contrario, ibogaína reacciona rápidamente (entrada 2), para producir la 7-hidroxiindolenina 32a con un rendimiento del 46% (producto ya reportado anteriormente)³⁸ y la cetolactama **33**, resultante de la escisión del doble enlace C2-C7, como un producto minoritario (10% de rendimiento aislado). El compuesto 33 no se encontraba reportado en la literatura, sin embargo, su formación era esperable considerando el trabajo de Witkop et al sobre la oxidación mediada por oxígeno de indoles 2,3-disustituidos.^{39,40} Así, la formación de ambos productos puede racionalizarse mediante un mecanismo (Figura 4.2.15) que considera la formación inicial de una 7-hidroperoxiindolenina (31a), que se reduce a la 7-hidroxindolenina correspondiente (32a) (una transformación que puede ocurrir espontáneamente en el medio de reacción).⁴¹ Alternativamente, **31a** puede generar un intermedio dioxetano C, que rápidamente evoluciona a la cetolactama 33.42 Aunque trabajos anteriores indicaban la viabilidad de aislar la 7-hidroperoxiindolenina **31a**,^{28,29} en nuestro caso no fue posible, probablemente debido a su rápida descomposición durante el proceso de purificación.


	R1	R ₂	Condiciones	т	31 (%)	32 (%)	33 (%)
1	COOMe	Н	Oscuridad, t.a.→50 °C [°]	72 h	-	-	-
2	н	Н	Oscuridad, t.a.	13 h	-	46%	10%
3	н	Me	Oscuridad, t.a. ^ª	13 h	-	-	-
4	COOMe	Н	Rosa de Bengala (1mol%), Luz LED, t.a.	17 h	44% ^b	21% 6	-
5	н	Н	Rosa de Bengala (1mol%), Luz LED, t.a.	3 h	-	33%	14%
6	н	Н	i) Rosa de Bengala (1mol%), Luz LED, t.a. ii) Na S 2 2 4	3 h	_	45%	15%

Tabla 4.7 Reacciones basadas en oxidación con oxígeno gas. ^a no se observa reacción, ^b se aísla como una mezcla inseparable de **31b** y **32b** (7:3) con 65 % de rendimiento global.

Así, **1**, pero no **2**, reacciona con oxígeno en estado fundamental en tolueno, probablemente a través de un mecanismo radicalario (intermedio **A**, Figura 4.2.15), dada la posibilidad que el enlace N-H del indol experimente una ruptura homolítica. Para probar este hecho, *N*-metilibogaína (**25**) fue tratada en las mismas condiciones de reacción (entrada 3). En dicho caso, no se observó reacción alguna, y el material de partida se recuperó sin cambios, lo que sugiere que el protón N-H del indol es necesario para que la reacción con oxígeno en la oscuridad proceda. El hecho de que **2** permanezca inalterada bajo estas condiciones se podría racionalizar por la estabilidad diferencial de un radical sobre el N indólico entre **1** y **2**; lo que estaría mediado por el efecto electrónico del éster metílico sobre C16 (ver apartado 4.2.2.5).



Figura 4.2.15 Mecanismo propuesto para la oxidación de ibogaína (**1**) y voacangina (**2**) usando oxígeno en estado fundamental (triplete) y en estado excitado (singulete).

A continuación, se ensayó la oxidación de **1** y de **2** mediada por oxígeno singulete, usando irradiación con luz LED y Rosa de Bengala como fotosensibilizador, manteniendo el tolueno como solvente de reacción (Tabla 4.7, entradas 4-6). Bajo estas condiciones, voacangina (**2**) produce la 7-hidroperoxiindolenina **31b** y la 7-hidroxiindolenina **32b** en una proporción de 7:3, con un rendimiento total del 65% (entrada 4). En este caso, el hidroperóxido **31b** resulta estable en el proceso de purificación (a diferencias de **31a**). Además, no se detectó la producción de cetolactama, lo que sugiere que no tiene lugar la formación del intermedio dioxetano **C** (Figura 4.2.15) al verse obstaculizada por el impedimento estérico de la unidad éster metílico sobre C16.

Para el caso de ibogaína (1), la oxidación con fotosensibilizador ocurrió más rápidamente que en condiciones previas en la oscuridad, para dar los mismos productos de oxidación (entradas 5 vs. 2). Además, 1 reaccionó mucho más rápido con el oxígeno singulete que la voacangina (2) (entradas 5 vs. 4), hecho que se racionaliza en detalle más adelante (4.2.2.5). Con el fin de promover la reducción *in situ* del hidroperóxido **31a** potencialmente formado, se realizó el *work up* de la reacción con ditionito de sodio, lo que resultó en un ligero aumento en el rendimiento aislado de **32a** al 45% (entrada 6).

4.2.2.2 Sobre la configuración absoluta de voacangina 7-hidroxiindolenina (32b)

Existe una discusión extensa en la literatura sobre la configuración en C7 de la 7-hidroxindolenina de la voacangina (32b); la Figura 4.2.16 resume los puntos clave para su entendimiento. Inicialmente, dos publicaciones diferentes, de Biemann et al. y de Hootele et al., aportaron evidencia de un enlace de hidrógeno entre el grupo hidroxilo en C7 y el éster metílico de 32b, detectado por espectroscopía IR, que sólo se puede formar asumiendo una configuración 7S (Figura 4.2.16A).^{35,43} Además, Wenkert *et al.* informaron, tras un análisis de RMN utilizando un reactivo de lantánido sobre iboluteína (34a) y voaluteína (34b) (los derivados conocidos de pseudoindoxilo obtenidos por rearreglo catalizado por ácido de las correspondientes 7-hidroxindoleninas 32a y 32b), que el carbono cuaternario de dichos compuestos presenta una configuración S la cual debe de mantenerse en C7 en los materiales de partida previos al rearreglo (Figura 4.2.16B).⁴⁴ A pesar de esta evidencia sólida, Madinaveitia et al. informaron que la configuración de la 7-hidroxindolenina de la voacangina obtenida por oxidación en aire es 7R (**32b**').³⁷ El argumento principal se basó en las diferencias en los desplazamientos químicos de RMN de los hidrógenos metilénicos en C17 para la 7-hidroxindolenina de la voacangina (32b') y su derivado acetilado, la 7-acetoxiindolenina (35b') (Figura 4.2.16C). Los autores señalaron que las diferencias observadas en los desplazamientos químicos sólo podían explicarse por un efecto anisotrópico del grupo 7-acetoxi ubicado en la proximidad de estos hidrógenos, lo que ocurriría únicamente si C7 tiene una configuración R.³⁷



Figura 4.2.16 Resumen de reportes previos que conciernen a la determinación de la configuración absoluta de **32b**. (A) Evidencias de un enlace de hidrógeno intramolecular entre el hidroxilo y el éster metílico, únicamente posible en una configuración *syn* de ambos grupos funcionales, lo que apoya una configuración *S* en C7.^{35,43} (B) La síntesis de los derivados pseudoindoxilo (iboluteína (**34a**) y voaluteína (**34b**)) mediante un rearreglo de Wagner

Meerwein, y el posterior análisis de su espectroscopía de RMN y desplazamiento de señales por adición de sales de Yb, apoya una configuración S en C7.⁴⁴ (C) Madinaveitia *et al* argumentan una configuración R en C7, basados en el desplazamiento químico de señales de la 7-hidoxiindolenina y su derivado acetilado.³⁷

Dados estos reportes contradictorios, se decidió determinar experimentalmente la configuración absoluta en C7 en la 7-hidroxindolenina (**32b**) obtenida a partir de **2** en condiciones oxidativas (Tabla 4.7). Para ello, se realizaron experimentos de nOe) y cálculos computacionales utilizando teoría funcional de densidad electrónica (DFT). Mediante los experimentos de nOe, se observó un realce clave entre el protón H21 del anillo isoquinuclidínico y el protón del hidroxilo (Figura 4.2.17A). Esta interacción sólo es posible considerando una configuración *S* para el centro quiral C7, en la cual el grupo OH está posicionado de manera *syn* al grupo éster metílico, como se muestra en la Figura 4.2.17A.



Figura 4.2.17 Configuración absoluta de voacangina 7-hidroxiindolenina (**32b**). (A) Realce nOe observado entre las señales de protón OH y H_{21} . (B) Estructuras minimizadas por DFT de los dos posibles epímeros 7*S* and 7*R*. La distancia se determinó experimentalmente, de forma precisa, mediante la cuantificación del realce nOe; ésta concuerda con la calculada para el epímero 7*S* en su conformación más estable.

Además, fueron estimadas las distancias interatómicas entre protones para el producto **32b** usando NOESY de alta resolución (Figura 4.2.18), mediante una colaboración con el Dr. Gonzalo Hernández (Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, UdelaR). Para dicho cálculo de las distancias internucleares, se asumió válida la Aproximación de Tasa Inicial,^{45,46} ya que los compuestos bajo estudio son moléculas rígidas, que giran isotrópicamente en un disolvente de baja viscosidad (CDCl₃) y, por lo tanto, se encuentran en el régimen de giro rápido. Las distancias entre protones fueron determinadas en función de la intensidad relativa de sus nOe, calibrando previamente con el nOe entre protones geminales de un CH₂ diastereomérico (por ej. C5), tomando

su distancia internuclear como 1,76 Å (tomada de las estructuras minimizadas Figura 4.2.17B). Para cada señal de interés, se extrajeron trazas (en el eje t2) del experimento NOESY correspondiente y se integraron sus señales (Figura 4.2.18). Al comparar la distancia OH-H21 calculada en las estructuras minimizadas por DFT de ambos epímeros (2,58 Å para 7*S*, y 4,85 Å para 7*R*) con la distancia experimental estimada a partir de experimentos de NOESY de alta resolución (2,55±0,03 Å), ésta concuerda perfectamente con la calculada para el isómero 7S (Figura 4.2.17B).



Figura 4.2.18 2D-NOESY del compuesto **32b**. Marcadas con círculos en verde de identifican los realces de nOe (*cross-peaks*) que fueron clave para la determinación de la configuración absoluta en C7. Para la determinación de la distancia mediante cuantificación del efecto nOe, trazas del eje t2 fueron extraídas de este experimento 2D para las señales H21, H5α y H5β.

Finalmente, se calcularon los desplazamientos químicos de ¹H-RMN para las estructuras minimizadas por DFT de ambos posibles epímeros (7*S* y 7*R*) de la 7-hidroxindolenina de la voacangina (**32b**), y se compararon con los valores tomados experimentalmente (Tabla 4.8). Se observó que la desviación cuadrática media (RMSD) entre los desplazamientos químicos calculados y experimentales es apreciablemente menor para el epímero 7*S* (RMSD = 0,083) que para la contraparte 7*R* (RMSD = 0,233), en concordancia con la configuración propuesta. De esta manera, concluimos que el compuesto **32b** presenta una configuración *S* en C7, lo cual está en concordancia con los informes iniciales de Biemann *et al.*, Hootele *et al.* y Wenkert *et al.* (Figura 4.2.16).^{35,43,44}

	Valor evo RMN	Valor ca	alculado			
H#	(ppm)	C7-S (32b)	C7-R (32b')			
	(PP)	(ppm)	(ppm)	MeO 10 9		
18	0,87	0,94	0,89		10 6 5 A	
19	1,43	1,48	1,45	11 0 >>		
20	1,43	1,50	1,56		$\frac{7}{2} = 21 \sum_{i=1}^{3}$	19
15eq	1,1	1,16	0,95	12 13 N	1 16.	18
15ax	1,77	1,76	1,78		14	15
14	1,89	1,83	1,78	32b MeC		
17eq	2,48	2,68	2,19		0	
17ax	2,72	2,68	2,81			_
16				RM	SD]
21	3,77	3,84	3,73	epímero S	epimero R]
3	2,72	2,81	3,44	0.092	0.333]
5b	2,97	2,98	3,25	0,085	0,235	
5a	3,49	3,66	3,54			-
6b	1,89	1,90	2,13			
6a	1,96	1,98	2,05			

Tabla 4.8 Comparación de desplazamientos químicos en ¹H-RMN para el compuesto **32b**. La primera columna lista los valores experimentales, la segunda y tercera son valores calculados para ambos epímeros **32b** y **32b'**. La RMSD es significativamente menor para el epímero C7-*S*.

A diferencia de **32b**, no existe controversia respecto a la configuración absoluta de la 7-hidroxiindolenina de la ibogaína (**32a**), debido a que se asignó de manera inequívoca (como 7*S*) mediante análisis de difracción de rayos X de monocristal.³⁸ Esta información nos permitió validar nuestra metodología de cálculo de distancias internucleares mediante NOESY cuantitativo. De manera análoga a lo realizado para **32b**, se trabajó con el derivado metilado **32a-Me**, debido a que el alcohol terciario en **32a** se deutera rápidamente y no permite ver la correlación buscada (Figura 4.2.19).

Es interesante analizar por qué **32a** se deutera mucho más rápidamente que **32b**; una posible explicación es que **32b** genera un enlace de hidrógeno intramolecular entre el OH y el carbonilo del éster metílico (OH-O=C), lo que disminuye significativamente su velocidad de intercambio con el solvente. La medida de la distancia entre el O carbonílico y el H del hidroxilo en la estructura minimizada por DFT (Figura 4.2.17) es de 2,008Å, lo que es coherente con una interacción de este tipo.

Las distancias calculadas en este caso para las estructuras minimizadas por DFT de ambos epímeros fueron 3,04 Å para 7S, y 5,28 Å para 7*R*, y la distancia experimental a partir de experimentos de NOESY de alta resolución (3,02±0,04 Å) concuerda con la calculada para el isómero 7*S* (Figura 4.2.19B). Esto permitió la validación de la metodología utilizada.



Figura 4.2.19 Configuración absoluta de ibogaína 7-metoxiindolenina (**32aMe**). (A) Realces nOe observados entre las señales de protón H21 con OCH₃ y H16. (B) Estructuras minimizadas por DFT de los dos posibles epímeros de este compuesto, 7*S* and 7*R*. La distancia se determinó experimentalmente, de forma precisa, mediante la cuantificación del realce nOe; ésta concuerda con la calculada para el epímero 7*S* en su conformación más estable, lo que valida la metodología de trabajo.

Al haber determinado que la configuración absoluta para **32b** es 7*S*, queda pendiente explicar las afirmaciones de Madinaveitia *et al.*, referidas a las diferencias en los desplazamientos químicos de los protones geminales en C17 para **32b** y **35b**. Evidentemente, dichas diferencias no se deben a un efecto anisotrópico directo del grupo acetilo, como se afirma en ese trabajo, sino a otros cambios conformacionales. En efecto, como se muestra en la Figura 4.2.20, también se observan cambios similares en los desplazamientos químicos para **35a**, el derivado acetilado de **32a**, el cual —como se mencionó anteriormente— tiene su estereoquímica definida como 7*S* mediante técnicas cristalográficas.³⁸ Esto confirma que no es el grupo acetoxilo el que genera estas diferencias de desplazamientos por cercanía a los protones de C17.



Figura 4.2.20 Diferencias de desplazamiento químico en 7-hidroxiindoleninas y sus derivados acetilados.

Cabe aclarar que los datos espectroscópicos de ¹H y ¹³C RMN obtenidos para el compuesto **32b**, así como los de su análogo acetilado **35b**, concuerdan completamente con los reportados por Madinaveitia *et al.*, lo que confirma la asignación estereoquímica errónea de dicho trabajo.³⁴ En el mismo trabajo, el grupo de investigación afirma que, por tratamiento de voacangina (**2**) con tetraacetato de plomo se obtiene el epímero de la 7-acetoxiindolenina de voacangina preparada previamente por ese grupo, en un 2% de rendimiento, acompañada de 42% del hemiaminal **36b** (Figura 4.2.21A).³⁴ En este caso, la 7-acetoxiindolenina se asignó como 7*S* (evidentemente de forma errónea) y los datos de RMN reportados para este compuesto no coinciden con los de ninguna de las indoleninas aisladas y caracterizadas en esta tesis. Frente a este hecho, se buscó reproducir el experimento, que en nuestras manos proporcionó **36b**, como una mezcla epimérica de proporción 1 : 0,3, y el aldehído **37**, producto de apertura de **36b**. No se logró identificar ningún compuesto cuya asignación estructural coincidiera con la de una 7-acetoxiindolenina.

(A) Helv. Chim. 1998, 81, 1645–1653



Compuesto asignado como el epímero de 35b

(B) Reproducción del experimento en el laborarorio



Figura 4.2.21 Oxidación de voacangina (**2**) utilizando tetraacetato de plomo. (A) Resultados descritos por Madinaveitia et al.,³⁴ (B) Reproducción de este experimento en el laboratorio. (C) Acetilación de la 7-hidroperoxiindolenina **31b**, el producto (**31b-Ac**) no coincide con el compuesto aislado por Madinaveitia *et al*. en (A).

Se propuso la hipótesis que el producto aislado por Madinaveitia *et al.* podría ser en realidad el derivado acetilado del hidroperóxido **31b**. Por esto, se procedió a acetilar el mismo con anhídrido acético, usando DMAP como catalizador (Figura 4.2.21C). El producto (**31b-Ac**) logró aislarse y purificarse a pesar de su escasa estabilidad. Sin embargo, los datos de ¹H y ¹³C-RMN tampoco coinciden con los datos proporcionados en el trabajo original. De esta manera, se desconoce la estructura correcta del compuesto aislado en el reporte mencionado, y ninguna indolenina pudo obtenerse tras varios intentos de reproducción de las condiciones de reacción reportadas.

4.2.2.3 Reacciones de oxidación mediadas por peroxo-compuestos

Ibogaína (1) y voacangina (2) fueron oxidadas utilizando dos agentes de tipo peróxido diferentes: ácido *m*-cloroperbenzoico (mCPBA) y dimetildioxirano (DMDO). Cuando se utilizó *m*CPBA como agente oxidante, se observa una competencia entre la oxidación del indol, que produce las 7-hidroxindoleninas **32a** y **32b**, y la del núcleo isoquinuclidina para producir los *N*-óxidos **38a** y **38b** (Tabla 4.9, entradas 1-7).

MeO	N R	MeO mCPBA 1.1eq DCM	HONR	MeO N H	+N,O
ibogain voacan	a (1), R= H gina (2), R= COOMe		32a , R= H 32b, R= COOMe	38a, 38b,	, R= H , R= COOMe
	R	Condiciones	t	32 (%)	38 (%)
1	COOMe	$0 \; ^{\circ}\text{C} \rightarrow \text{t.a.}$	4 h	26 %	24 %
2	Н	$0~^{\circ}C \rightarrow t.a.$	20 min	30 %	-
3	COOMe	-55 °C	4 h	43 %ª	31 % ª
4	Н	-55 °C	2 h	38 %	trazas ^b
5	Н	-78 °C	2,5 h	trazas °	33 % ^c
6	COOMe	TFA (1 eq), -55 °C	2 h	76 %	-
7	Н	TFA (1 eq), -55 °C	20 min	13 %	-

Tabla 4.9 Oxidaciones con ácido *m*-cloroperbenzoico (*m*-CPBA). ^a se recupera también 23% de material de partida, ^b *N*-óxido detectado por TLC, que se descompone en el medio de reacción, ^c se recupera también 44% de material de partida.

Los rendimientos aislados fueron bajos al realizar las reacciones a 0°C y a temperatura ambiente (entradas 1 y 2), debido a una descomposición en el medio de reacción, evidenciada por TLC (múltiples manchas de alta polaridad). Temperaturas más bajas (-55°C) permitieron alguna mejora en los rendimientos de reacción (entradas 3 y 4), pero persistió la falta de selectividad entre la oxidación del indol y de la isoquinuclidina. Para ambas temperaturas, sólo se aislaron cantidades apreciables de N-óxido en el caso de voacangina (38b). Aunque la formación de N-óxido de ibogaína (38a) se detectó mediante análisis de TLC (comparación con patrón del material puro), éste se descompuso antes de completarse la reacción, lo que sugiere la alta sensibilidad de este producto en medio ácido (entradas 4 y 7). Para aislar 38a con el fin de caracterizar la estructura, fue necesario realizar y detener la reacción a -78°C (entrada 5), en cuyo caso la conversión no fue completa. Con el objetivo de mejorar la selectividad del proceso, se agregó un equivalente de un ácido orgánico fuerte (TFA) antes del agente oxidante (mCPBA), para protonar la isoquinuclidina y evitar la formación del N-óxido. Estas condiciones permitieron la síntesis de la 7-hidroxiindolenina 32b, con un buen rendimiento (76%) (entrada 6), pero en el caso de 1, sólo se aisló una pequeña cantidad de 32a (13%) después de completarse la reacción, indicando que 32a también es inestable en condiciones ácidas (entrada 7). La Figura 4.2.22 muestra dos mecanismos posibles para la formación de las 7hidroxiindoleninas y los N-óxidos por el mCPBA.



Figura 4.2.22 Mecanismos de oxidación con mCPBA.

En todas las condiciones estudiadas, la ibogaína (1) reaccionó más rápido que voacangina (2). Sin embargo, dado que ambos productos de oxidación de ibogaína, **32a** y **38a**, resultaron ser inestables en el medio de reacción, no podemos sacar conclusiones claras sobre la preferencia de oxidación al comparar ambos materiales de partida. Para abordar el punto de la regioselectividad, se llevaron a cabo oxidaciones mediadas por dimetildioxirano (DMDO), que tienen lugar en medio neutro (Tabla 4.10).



Tabla 4.10 Oxidaciones con dimetildioxirano (DMDO). El agente oxidante se preparó y utilizó como solución 0,092M en acetona.

La ibogaína (1) fue oxidada utilizando DMDO bajo condiciones previamente reportadas,³² (Tabla 4.10, entrada 1) para producir exclusivamente el producto **32a** en un rendimiento del 99%. En comparación, cuando la voacangina (2) fue tratada en las mismas condiciones (entrada 2) se aisló, además de la 7-hidroxindolenina **32b**, el hemiaminal **39**, donde la isoquinuclidina fue oxidada en la

posición C3. En ambos casos, no se detectó la formación de *N*-óxidos, lo que indica una diferencia entre los mecanismos de oxidación por mCPBA (Figura 4.2.22) y por DMDO (Figura 4.2.23). Estos resultados muestran que el núcleo de isoquinuclidina de **2** es más propenso a oxidarse en estas condiciones, si se compara con **1**. Esto concuerda con reportes previos que utilizan la reacción con oxígeno (O₂) catalizada por platino para oxidar **1** y **2**,^{35,47} donde el anillo de indol se oxidó selectivamente en la ibogaína (**1**) para dar lugar a **32a**, mientras que para la voacangina, la oxidación tuvo lugar en la isoquinuclidina para producir la lactama **40**, resultante de la oxidación en C3. Esta tendencia fue racionalizada mediante cálculos de DFT (ver apartado 4.2.2.5).

(A) DMDO-oxidación del indol (C7)





4.2.2.4 Oxidaciones mediadas por iodo

Informes previos muestran que al utilizar iodo (1,5 a 1,8 equivalentes) como agente oxidante en medio básico acuoso, tanto la ibogaína (1) como voacangina (2) pueden oxidarse en tiempos de reacción cortos (hasta treinta minutos) en la posición C3, para dar lugar a las lactamas 40a/40b, respectivamente.^{11,30,47} En nuestras manos, la reacción para ambos alcaloides bajo estas condiciones produjo los hemiaminales 36a/36b junto con cantidades significativas de los materiales de partida (Tabla 4.11, entradas 1 y 2); es decir, en estos cortos tiempos de reacción, las conversiones son bajas.

La configuración absoluta de **36a** y **36b** en C3 se estableció como *R* al detectar un acoplamiento en W entre H3 y H15, con una constante de acoplamiento J_{3-15} = 2,8 Hz para ambos compuestos (Figura 4.2.24). Esto coincide con datos reportados en literatura para acoplamientos en W en este tipo de sistemas bicíclicos (⁴*J*= 2 - 3 Hz).⁴⁸



Figura 4.2.24 Acople a larga distancia (en W) entre H3 y H15. Éste permitió confirmar estereoquímica absoluta de C3 de los hemiaminales **36a** y **36b** (nuevo centro estereogénico).



Tabla 4.11 Oxidaciones con iodo en medio básico. ^a se recupera 75% de **2**; ^b se recupera 28% de **1**; ^c mezcla.

De acuerdo con un mecanismo posible para esta reacción (Figura 4.2.25) en concordancia con reportes anteriores,⁴⁹ estos hemiaminales son productos intermedios en el proceso de oxidación para dar lugar a las lactamas **40a/40b**, que requerirían al menos dos equivalentes de iodo. En consecuencia, se repitió la reacción utilizando un exceso del agente oxidante (3,0 eq) y se extendieron los tiempos de reacción hasta el consumo total del material de partida (entradas 3 y 4). En estas condiciones, se obtuvieron **40a** y **40b** en rendimientos moderados, junto con la formación del aldehído **37**, exclusivamente en la oxidación de **2** (entrada 3). La formación de este producto puede explicarse por la apertura preferencial del anillo del núcleo de isoquinuclidina en el hemiaminal **36b**, como

forma de liberar la tensión estérica, que es mayor en la estructura de voacangina (**2**) debido a la presencia del éster metílico sobre C16 (Figura 4.2.25). La formación de este compuesto podría interferir en el curso de la reacción, ralentizando la velocidad de formación de la lactama **40b**. En discrepancia con un reporte anterior,³² el cual utiliza tiempos de reacción más largos (12 horas) y más equivalentes de iodo (4,5 eq), en nuestras condiciones no se detectaron productos que exhiban oxidación en el anillo de indol, como se describe en dicho trabajo.





Sorprendentemente, la oxidación de voacristina (**3**) en las mismas condiciones, únicamente produjo la 7-hidoxiindolenina **41** en un rendimiento bajo de 30% (Figura 4.2.26). Esto demuestra un nitrógeno isoquinuclidínico muy poco reactivo, posiblemente debido a interacciones intramoleculares entre dicho nitrógeno y el hidroxilo en C19.





4.2.2.5 Racionalización de la regio-reactividad de reacciones de oxidación mediante cálculos computacionales

Mediante una colaboración que nuestro grupo lleva a cabo con el Dr. Nicolás Veiga (Departamento Estrella Campos- Facultad de Química- UdelaR) se realizaron estudios computacionales para racionalizar los resultados obtenidos. Como primer enfoque para evaluar y comparar la reactividad de ibogaína (1) y voacangina (2), se calcularon índices globales como: potencial químico (μ), dureza (η) e índice de nucleofilia (N.I.) (Tabla 4.12 columna 1). En términos generales, el potencial químico electrónico (μ) indica que la ibogaína (1) está menos estabilizada por la adición de electrones, ya que μ ibogaína > μ voacangina. Esto concuerda con los resultados experimentales donde 1 reacciona más rápido que 2 en las oxidaciones basadas en oxígeno (Tabla 4.7). Además, según los índices de dureza (η), ibogaína (1) muestra un valor sensiblemente menor, lo que implica una mayor polarizabilidad en comparación con voacangina (2). Entonces, 1 sería más propensa a actuar como nucleófilo, dando lugar a un índice de nucleofilia (N.I.) más alto. Por lo tanto, en comparación con 2, ibogaína no sólo se oxida más fácilmente, sino que también sería más reactiva en reacciones como nucleófilo.



20. 244		a 1	Contribución por átomo (%)							
Descriptores globales	Átomo	Carga atòmica Hirshfeld	Nucleofilicidad	Fukui f-	Fukui f ^a	Blandura Local 8 ⁻	Blandura Local S ⁰	HOMO-1	номо	LUMO
Ibogaina	C13	0.000	0.110	0.024	0.041	0.106	0.179	0.84	41.7	40.2
	Ca	0.038	-0.156	-0.034	-0.104	-0.151	-0.456	4.21	40.3	41.8
(1)	Nt	-0.768	-0.842	-0.185	-0.089	-0.813	-0.390	3.34	3.73	3.69
	Ca	0.091	1.406	0.309	0.167	1.358	0.732	38.5	0.88	0.45
$\mu = -2.00 \text{ eV}$	C7	0.107	-0.513	-0.113	-0.100	-0.495	-0.438	43.2	3.84	3.93
n = 6.19 eV N.I.=4.55 eV	N4	-0.421	2.003	0.440	0.220	1.935	0.969	0.05	0.00	0.00
	H ₁	0.430	1.065	0.234	0.147	1.028	0.648	0.13	0.15	0.18
	C13	0.003	0.035	0.008	-0.048	0.035	-0.208	6.39	41.4	0.02
	Ca	0.016	-0.008	-0.002	-0.080	-0.001	-0.346	0.49	40.7	0.01
Voacangina	Nı	-0.324	-0.010	-0.002	-0.006	-0.010	-0.028	79.3	3.70	0.26
(2)	C ₂	-0.030	0.001	0.000	0.016	0.001	0.069	6.10	0.88	1.05
	C7	-0.010	0.039	0.009	-0.036	0.038	-0.156	0.47	3.88	0.05
$\mu = -3.14 \text{ eV}$	Na	-0.406	2.546	0.581	0.292	2.515	1.262	0.01	0.00	0.01
η=0.29 eV	C22	0.673	0.005	0.001	0.162	0.005	0.699	0.28	0.01	54.3
N.I4.38 6V	O ₂₃	-0.517	0.078	0.018	0.176	0.077	0.762	0.08	0.00	33.1
	Hr	0.233	0.036	0.008	0.019	0.036	0.083	5.43	0.14	0.13

Tabla	4.12	Descriptores	globales	у	descriptores	condensados	por	átomo	calculados	para
ibogai	na (1)) y voacangina	ι (2). (μ): μ	oot	tencial químic	o, (η): dureza,	(N.I.)): índice	de nucleofi	lia.

Para explorar más estas características, la Figura 4.2.27 muestra las estructuras optimizadas por DFT en tolueno y el potencial electrostático para ambas moléculas. La presencia del grupo éster metílico provoca cambios estructurales notorios, principalmente relacionados con la conformación del anillo de isoquinuclidina. Este fenómeno, junto con el efecto inductivo del grupo éster metílico, afecta significativamente la densidad electrónica, quitando electrones del anillo indólico y del nitrógeno isoquinuclidínico hacia el grupo éster. De hecho, el potencial electrostático de superficie mínimo (V_s, min) es mayor para ibogaína (**1**) tanto en el nitrógeno isoquinuclidínico, como sobre el anillo indólico (comparar valores Figura 4.2.27).



Figura 4.2.27 Estructuras de ibogaina (**1**) a la izquierda y voacangina (**2**) a la derecha, optimizadas por DFT. Se mapea el potencial electrostático en una superficie de isodensidad $(0,001 \text{ e}^{-}/\text{Å}^{3})$, escala de colores: del rojo (-0,05 V) al azul (+0,05 V). Se incluye el valor de potencial electrostático mínimo (V_{S,min}) sobre el nitrógeno de la isoquinuclidina y sobre el anillo indólico.

Para entender mejor cómo este fenómeno influye en la ubicación y fuerza de los centros nucleofílicos, se calcularon los descriptores condensados-por-átomos (Tabla 4.12 columna 3 en adelante). Esto incluyó: carga atómica de Hirshfeld, nucleofilicidad, función f⁻ y f⁰ de Fukui, al igual que la suavidad local s⁻ y s⁰, definidos dentro del marco conceptual de la teoría del funcional de la densidad (DFT).⁵⁰ Según las cargas atómicas de Hirshfeld, ambos átomos de nitrógeno (N1 y N4) tienen carga negativa, aunque los valores son más bajos para **1**, en concordancia con su menor potencial electrostático.

Como se esperaba desde el punto de vista químico, el N4 (isoquinuclidínico) debería ser un centro mucho más nucleófilo/básico que N1 (indólico) en ambos alcaloides, ya que se trata de una amina alifática terciaria, que a diferencia de N1 no tiene su par de electrones libres comprometidos en la aromaticidad del núcleo aromático. Esto se refleja en los valores del descriptor condensado "Nucleofilicidad" mostrado en la Tabla 4.12. Curiosamente, los valores para este descriptor en N4 son más altos para 2 que para 1, sugiriendo que, aunque la molécula de ibogaína (1) es un nucleófilo más fuerte en su conjunto, N4 es un centro nucleófilo más fuerte en la voacangina (2). En este sentido, 2 sería más propensa a reaccionar en la porción de la isoquinuclidina con especies deficientes en electrones. Esto concuerda con nuestros resultados de la Tabla 4.10 donde en las oxidaciones con DMDO, únicamente voacangina (2) produce el producto hidroxilado en C3 (38b), y con reportes previos que utilizan la oxidación con oxígeno catalizada por platino. ^{35,47}

El análisis se extendió hacia la disposición espacial de los sitios reactivos. La Figura 4.2.28 muestra una representación gráfica de la función f^- de Fukui, mapeada como una superficie de isodensidad sobre las estructuras optimizadas de ibogaína (1) y voacangina (2). Este descriptor de Fukui evalúa la probabilidad de que un sitio en una molécula actúe como un nucleófilo en una reacción química. Específicamente se relaciona con la susceptibilidad a la adición de un electrón en un punto particular; entonces cuanto más positivo sea el valor de f^- , mayor será la capacidad de esta posición para actuar como nucleófila.

Para ibogaína (1) las zonas nucleofílicas se encuentran principalmente sobre el indol y el átomo de nitrógeno isoquinuclidínico (N4) (Figura 4.2.28 izquierda); pero en voacangina (2), con la presencia de del grupo éster metílico, las zonas nucleófilas se desplazan completamente hacia el nitrógeno isoquinuclidínico (N4) (Figura 4.2.28 derecha). Esto, concuerda con los índices condensados de nucleofilicidad (compare Fukui *f* ⁻ y nucleofilicidad en la Tabla 4.12). En resumen, los cambios conformacionales y electrónicos observados al pasar de 1 a 2 provocan el desplazamiento de la densidad electrónica, dando lugar a un valor de índice de nucleofilicidad más alto en N4 de 2 (Tabla 4.10), aunque la suma de sitios nucleofílicos para 1 asegura que ésta sea, en forma global, un nucleófilo más fuerte (lo que concuerda con las velocidades de reacción de las oxidaciones basadas en oxígeno, Tabla 4.7).



Figura 4.2.28 Función f^- de Fukui. Representada como una superficie de isodensidad. (0,001 e⁻/Å³, violeta = positivo, cyan = negativo). Ibogaina (**1**) a la izquierda y voacangina (**2**) a la derecha.

Además, para completar la discusión de la reactividad con oxígeno descrita en la Tabla 4.7, se calculó los índices de Fukui para reacciones de radicales, función f^0 . En la Figura 4.2.29 se observa una representación gráfica, mapeada como una superficie de isodensidad para las geometrías optimizadas de **1** y **2**. Se puede ver en la Tabla 4.12, que el valor f^0 para el átomo de hidrógeno unido al nitrógeno indólico (H1) es aproximadamente diez veces mayor en **1** que en **2**, lo que indica que ibogaína (**1**) es mucho más propensa a sufrir la abstracción de H en la posición indólica, a través de una ruptura homolítica. Esto concuerda con el mecanismo radicalario propuesto en la Figura 4.2.15, donde sólo ibogaína (**1**) reacciona con el oxígeno en estado fundamental (triplete).



Figura 4.2.29 Función f^{0} de Fukui. Representada como una superficie de isodensidad. (0,01 e⁻/Å³, violeta = positivo, cyan = negativo). Ibogaína (**1**) a la izquierda y voacangina (**2**) a la derecha.

Experimentalmente se observó una notable selectividad hacia la oxidación de C3 frente a C5 en las reacciones con iodo (Tabla 4.11) y DMDO (Tabla 4.10), lo que motivó un estudio más detenido. La oxidación con ambos reactivos posiblemente procede a través de un mecanismo que implica la formación de iminio (Figuras 4.2.23 y 4.2.25). Para explicar la regioselectividad hacia C3 se realizaron estudios computacionales basados en DFT, donde se encontró una gran diferencia de energía libre (Δ G), de más de 20 kcal/mol, entre los dos iminios intermedios posibles (N=C3 y N=C5) (Figura 4.2.30). De esta forma se constata que la formación del iminio N=C3 está claramente favorecida. Para revelar la base estructural y electrónica detrás de este fenómeno, se identificaron y analizaron las interacciones débiles mediante el método de interacción no covalente (NCI) (Figura 4.2.30 código de color); las cuales se calculan como el producto sign(λ 2)· ρ ; siendo ρ : la densidad electrónica y λ 2: el segundo mayor autovalor de la matriz Hessiana de la densidad electrónica. Los resultados sugieren que al pasar del iminio N=C3 al N=C5, la conformación espacial del biciclo isoquinuclidínico se distorsiona, aumentando significativamente la repulsión estérica en el anillo de 7 miembros (tetrahidroazepina).

En el apartado 4.2.2 se describió de forma detallada y comparativa el comportamiento de oxidación de ibogaína (1) y voacangina (2), donde el éster metílico en C16 presente en 2 estabiliza toda la molécula frente a la oxidación con oxígeno y mCPBA, en comparación con 1. Sin embargo, mientras que la presencia del grupo éster disminuye la velocidad de oxidación de la porción indólica, también desencadena un cambio en la nucleofilia de la molécula, haciéndola más propensa a reaccionar a través del nitrógeno isoquinuclidínico (N4), por ejemplo, para obtener productos oxidados en C3 con DMDO.



Figura 4.2.30 Estructuras de intermedios imino hipotéticos optimizadas por DFT. ⁵¹ Se incluye una representación visual de interacciones no covalentes de baja energía (NCI). Las interacciones se representan en diferentes colores, de acuerdo con un gradiente de densidad reducido (RDG) en una superficie de isodensidad (= 0,5). Código de color: enlaces de hidrógeno (azul), Van der Waals (verde) y repulsión estérica (rojo). Las flechas punteadas señalan las interacciones desfavorables más significativas para ambas estructuras.

Los cálculos computacionales permitieron racionalizar parte de la reactividad diferencial entre los dos alcaloides ($1 ext{ y 2}$), así como la regioselectividad C3 frente a C5. En cuanto a la estereoquímica del proceso de oxidación, todas las reacciones procedieron de manera estereoselectiva, acercándose el agente oxidante opuesto al biciclo isoquinuclidínico, independientemente de su voluminosidad; en ningún caso se observaron mezclas epiméricas. Además, utilizando experimentos cualitativos y cuantitativos de RMN combinados con cálculos teóricos, se revisó la configuración absoluta en C7 para la 7-hidroxindolenina de la voacangina (32b). Se asignó, con suficiente evidencia experimental, una configuración *S*, lo que implicó corregir reportes anteriores que proponían una configuración *R*. Nuestros resultados sugieren que para almacenar alcaloides de iboga que no tengan el grupo éster metílico en C16 como parte de su estructura (por ejemplo, ibogaína), las condiciones óptimas de conservación deben incluir la ausencia de aire y protección contra la luz, para evitar la oxidación espontánea mediada por el oxígeno atmosférico.

En cuanto a los objetivos de ampliación de la diversidad estructural, la sección 4.2.2 describió cómo la oxidación de alcaloides de la iboga puede dar lugar a variedad de estructuras. Por ejemplo,

la oxidación puede ocurrir en el anillo indólico para producir 7-hidroxi o 7-hidroperoxi-indoleninas, o en el núcleo isoquinuclidínico, para generar *N*-óxidos o productos oxidados en C3, como lactamas o hemiaminales. Se encontró que la regioquímica del proceso de oxidación puede ser dirigida, dependiendo del oxidante utilizado. Así, mientras que el oxígeno oxida exclusivamente la porción indólica, el iodo lo hace selectivamente en el núcleo isoquinuclidínico, y los agentes peroxo (mCPBA y DMDO) dan mezclas.

4.2.3 Análogos funcionalizados en la cadena etílica lateral del esqueleto de la iboga (C18 y C19)

Como fue cubierto en el punto 2.3.1.1, los análogos estructurales funcionalizados en la cadena etílica (posiciones C18-C19) son interesantes por su similitud al compuesto 18-MC (18-metoxicoronaridina)(Figura 4.2.31A), un derivado sintético de ibogaína (1) desarrollado como candidato para el tratamiento del trastorno por consumo problemático de sustancias.^{52,53} Como fuera mencionado en el capítulo 2 de Antecedentes, actualmente, se están desarrollando ensayos clínicos fase II con este compuesto, que además presenta una interesante actividad antiparasitaria.⁵⁴ Según datos de bibliografía, 18-MC resuelve —al menos de forma parcial— el problema de la toxicidad cardíaca (apartado 2.1.4), ya que produce menor inhibición del canal hERG que ibogaína (1).⁵⁵

Para la preparación de estos análogos se utilizan dos estrategias, una descripta en los puntos 4.2.3.1 a 4.2.3.3, que sigue el enfoque semisintético utilizando voacristina (**3**) y 19-hidroxiibogaína (iboxigaína, **12**) como materiales de partida; y una segunda estrategia de aproximación por síntesis total, punto 4.2.3.4. En la primera, resulta de especial interés la función alcohol en C19 presente en el producto natural, porque permite introducir funciones orgánicas variadas en la cadena de etilo del núcleo estructural de los alcaloides de la iboga; lo que de otra manera implicaría complejos desafíos de funcionalización C-H. La segunda estrategia estuvo motivada por el bajo stock del producto natural voacristina (**3**), y nos permitió ensayar condiciones de reacción no exitosas sobre el producto natural sobre sistemas más sencillos, sin la porción indólica de la molécula. Además, resultó satisfactoria como primera aproximación a la ruta para la síntesis de derivados con cambios estructurales en la cadena etílica lateral.

Algunas modificaciones puntuales sobre **3** y **12** ya se abordaron anteriormente en las Figuras 4.2.4, 4.2.8, 4.2.10, 4.2.14 y 4.2.26.

4.2.3.1 Transformaciones de grupo funcional sobre el hidroxilo en C19

Inicialmente se ensayaron reacciones de protección del alcohol en C19 con diferentes grupos para alcanzar análogos novedosos en esta posición. Al acetilar **3** y **12**, voacristina (**3**) presentó una menor reactividad, siendo necesario el agregado de un exceso de anhídrido acético y tiempos extendidos de reacción; por el contrario, **12** se acetila rápidamente y con un rendimiento mayor (Figura 4.2.31B). Se hipotetizó que esta diferencia de reactividad podría deberse a la formación de un enlace de hidrógeno entre el *N*-isoquinuclidínico y el hidroxilo en C19 con distinto grado de

intensidad. La presencia del grupo éster metílico sobre C16 genera cambios en la distribución electrónica del esqueleto de la iboga, ya descritos en el punto 4.2.2.5 (Tabla 4.12), donde se observa una mayor basicidad del nitrógeno isoquinuclidínico en ibogaína vs. voacangina. En forma similar, la mayor basicidad del nitrógeno de iboxigaína (**12**) vs. voacristina (**3**) produce una mayor capacidad de formación de enlace de hidrógeno en **12**. Esto activa al grupo hidroxilo, por un mecanismo de catálisis general básica,^{56,57} permitiendo la acetilación más eficiente de **12** vs. **3**.





Como se mencionó anteriormente (punto 4.2.1.3), los intentos de proteger el alcohol mediante la generación de un grupo éter metílico o bencílico (condiciones de Williamson) no dieron buenos resultados, ya que existe una regioselectividad pronunciada hacia la reacción del indol, incluso tras la generación del alcóxido en condiciones básicas fuertes (Figura 4.2.14).

Luego se ensayó la oxidación del alcohol en C19 con el fin de obtener una cetona, que además de ser un análogo estructuralmente interesante, puede ser material de partida tanto para reacciones de olefinación tipo Wittig, que permitan homologar e introducir ramificaciones en la cadena lateral del núcleo isoquinuclidínico, como para la adición de reactivos organometálicos que generen alcoholes terciarios. Frente a condiciones suaves de oxidación de alcoholes a carbonilo utilizando DMSO (reacción de Swern), voacristina (**3**) reaccionó dando la cetona correspondiente (**44**), como una mezcla epimérica de proporción (1 : 0,54), (*syn:anti*) respecto del nitrógeno del biciclo isoquinuclidínico, N4 (Figura 4.2.32). La mezcla resulta inseparable por cromatografía en columna y la proporción de epímeros, y su asignación, se estableció por espectroscopía de RMN. La epimerización ocurre porque, una vez producida la cetona, los protones en posición a son enolizables en el medio básico de reacción. Como alternativa, se ensayó la oxidación de Parikh–Doering (una variante de la reacción de Swern) que utiliza el complejo trióxido de azufre-piridina (S0₃·py) en DMSO

y en un medio menos básico.^{58,59} Estas condiciones permitieron la obtención de la cetona **syn-44**, sin eventos de epimerización, en un 60% de rendimiento.²²



Figura 4.2.32 Oxidación del hidroxilo en C19 de voacristina (3) e iboxigaína (12).

Un resultado diferente se obtuvo cuando 12 se trató en las mismas condiciones de reacción, produciendo el metiltiometil éter 45 como único producto, en bajo rendimiento, pero en menor tiempo de reacción (2 h vs. 5 h para 3). Este tipo de productos secundarios está descrito para reacciones con DMSO activado, como-Swern y sus variantes.²² El mecanismo propuesto en la Figura 4.2.33 busca explicar su formación. Así, una vez formado el catión alcoxisulfonio (por ataque del alcohol al DMSO activado), éste es desprotonado por una base para formar el iluro de alcoxisulfonio, el cual puede abstraer el protón de la base del alcohol para formar una cetona (syn-44) (flechas rojas) o, alternativamente, puede disociarse para producir el catión metilmetilensulfonio (flechas azules), que puede ser atacado por el O del alcohol, produciendo el metiltiometiléter **45**. En el mecanismo de oxidación estándar, el iluro se forma por acción de una base externa (TEA o py), pero en nuestro caso existe la posibilidad de ataque por el N secundario del anillo isoquinuclidínico, lo que podría explicar la selectividad encontrada en función de las diferencias de basicidad entre los sustratos 3 y 12 (y los alcoxisulfonios correspondientes, 46 y 47). De esta forma, por analogía con sus análogos deshidroxilados ibogaína (1) y voacangina (2), donde el N isoquinuclidínico de **1** es más básico que el de **2**,⁶⁰(ver punto 4.2.2.5) se puede suponer que este N en 12 (y 47) es más básico que en 3 (y 46). Esta diferencia podría hacer competitiva la abstracción del H para formar el iluro por parte de ese N en 47, mientras que para 46 se requiriría la base externa. En consecuencia, la desprotonación intramolecular en 47 aumenta la velocidad de formación del iluro pero genera restricciones espaciales, dada la conformación requerida para la desprotonación (mediante un ciclo de 8 miembros). En esta conformación, la carga negativa del iluro no puede acercarse lo suficiente al H base del alcohol en C19 y, por tanto, no se completa la oxidación a cetona



(*syn-48*), sino que el iluro se disocia para formar catión metilmetilensulfonio, que es atacado rápidamente para dar **45**.

Figura 4.2.33 Mecanismo propuesto para la oxidación de Parikh-Doering de 3 y 12.

Con el fin de obtener la cetona *syn-48*, se sometió la mezcla epimérica 44 a condiciones de hidrólisis básica y descarboxilación (Figura 4.2.34), dando como resultado un 13 % de *syn-48* y un 48 % de su epímero *anti-48*, compuestos separables por cromatografía en columna. La disposición de la cadena etílica lateral se asignó inequívocamente mediante experimento de NOESY. Es importante destacar que la proporción de epímeros cambia respecto al material de partida, donde el isómero *syn* era mayoritario, lo que es factible ya que la epimerización es esperable en las condiciones drásticas de la reacción. Es probable que, sin la presencia del éster metílico sobre C16, el isómero *anti* resulte más estable debido a la ausencia de impedimento estérico entre ambos residuos.



Figura 4.2.34 Hidrólisis y descarboxilación de **44.** Las interacciones nOe claves para la determinación de la configuración de la cadena lateral se marcan en flechas rojas.

Con la cetona *syn*-44 como material de partida, se ensayó la adición de residuos alquilo mediante reactivos organolitiados (Figura 4.2.35). El tratamiento con una solución de metillitio en THF dio como resultado una mezcla epimérica de alcoholes terciarios 49, cuya proporción fue establecida mediante ¹H-RMN. La mezcla es muy similar en proporción (*syn*-49: *anti*-49, 1 : 0,56) a la de 44, a pesar de haber realizado la reacción con un epímero único (*syn*-44); esto podría indicar que dicha proporción (encontrada tanto en 44 como en 49), podrían representar la composición de equilibro alcanzada en las condiciones de reacción (epimerización). Una vez más, la explicación del epímero mayoritario podría estar dada, en parte, por el alivio en el isómero *syn* de la repulsión estérica entre el residuo del éster metílico (C16) y la cadena lateral al grupo isoquinuclidinico.



Figura 4.2.35 Adición de organolitiados a la cetona syn-44.

Por último, el tratamiento con un gran exceso (6 eq) de acetiluro de litio (en complejo estabilizado con etilendiamina) no produjo reacción alguna. Una posible explicación, es que el reactivo organometálico al estar estabilizado por etilendiamina, disminuye su carácter nucleófilo ya

que mientras que la adición con metillitio es extremadamente rápida (conversión total en cuestión de minutos), con acetiluro no se observa reacción incluso tras horas de calentamiento a 50 °C.

Como se mencionó anteriormente, se ensayaron reacciones de Wittig sobre **syn-44**, con el objetivo de homologar y ramificar la cadena lateral, (Tabla 4.13). Lamentablemente, ninguna de las condiciones empleadas permitió la síntesis de **51**, a pesar de haber ensayado tres bases distintas para la generación del iluro de fósforo, así como tetrahidrofurano y dimetilsulfóxido como solventes. Los intentos por encontrar condiciones de reacción favorables se discontinuaron, por contar con una masa limitada de **syn-44**; esfuerzos adicionales fueron realizados sobre sistemas isoquinuclidínicos más simples obtenidos por síntesis total, a modo de modelo (ver punto 4.2.3.4).



Tabla 4.13 Reacción de Wittig sobre la cetona syn-44.

4.2.3.2 Eliminación del hidroxilo (C19)

Con el fin de manipular sintéticamente el hidroxilo en C19 de voacristina (**3**) e iboxigaína (**12**) para obtener otros grupos funcionales, se ensayaron condiciones de eliminación para obtener alquenos, los que, además de ser análogos interesantes *per se*, permitirían posteriores reacciones (adición electrofílica, ruptura oxidativa y otras transformaciones de grupos funcionales) para ampliar la diversidad estructural. Para ello, se ensayaron múltiples condiciones para la eliminación del alcohol presente en la cadena etílica (C19), siguiendo dos estrategias (Figura 4.2.36): tratamiento en medio ácido para deshidratación del alcohol y generación de productos tipo Saytzeff **52**, (vía un mecanismo E1), o la generación de un buen grupo saliente mediante la síntesis de ésteres sulfónicos y posterior tratamiento con bases fuertes, para producir una β -eliminación.



Figura 4.2.36 Estrategias para la eliminación del alcohol en C19.

Para la *estrategia* 1, de eliminación en medio ácido, voacristina (**3**) se trató en las condiciones de la Tabla 4.14, pero en ninguno de los casos se obtuvo el producto deseado **52**; el material de partida resultó ser muy poco reactivo en la mayoría de las condiciones ensayadas, incluso frente a un gran exceso del ácido. Se trataron condiciones a alta temperatura, de forma de favorecer la eliminación, lo que provocó descomposición cuando se trabajó con ácido sulfúrico (entrada 1). Este comportamiento es esperable debido al carácter oxidante del ácido.⁶¹ Tampoco fue efectivo el tratamiento con ácido *p*-toluensulfónico soportado en sílica (entrada 2), técnica que se encontraba reportada para sustratos complejos como esteroides,⁶² ni la solvólisis con calentamiento en ácido trifluoroacético (entrada 3).¹⁵ Únicamente el calentamiento a reflujo en una solución de ácido fórmico permitió aislar un producto de menor polaridad, que se caracterizó como el éster **56** (entrada 4).⁶³ La repetición de esta reacción a 150 °C en tubo sellado, en busca de la eliminación del formiato, resultó en descomposición (entrada 5).

MeQ		MeO	M	leO O
<	N OH H H 3	(N + + + + + + + + + + + + + + + + + + +	
#	Ácido	T (°C)	Solvente	Resultado
1	H_2SO_4	110	Tolueno	Descompone
2	pTsOH / SiO ₂	110	Tolueno	No reacciona
3	TFA	100	TFA	No reacciona
4	НСООН	101	НСООН	42% de 56 ª
5	нсоон	150	НСООН	Descompone

Tabla 4.14 Eliminación en medio ácido. ^a se recupera 25% de material de partida

Con el producto formilado **56** se intentó una eliminación pirolítica en un vial sellado (Figura 4.2.37),⁶¹ calentando progresivamente en solución de tolueno hasta 200°C, pero no se observó el producto deseado **54**. Las condiciones reportadas en literatura para esta transformación requieren temperaturas más altas (300 °C) y por lo general se realizan en fase vapor, con la metodología de Flash-Vacuum-Pyrolysis (FVP).⁶¹



Figura 4.2.37 Eliminación del formiato a alta temperatura en tubo sellado. Mecanismo demostrativo de la reacción buscada.

Sin éxito en la eliminación propuesta en medio ácido, se abordó la *estrategia 2* (Figura 4.2.36), que propone la generación de un buen grupo saliente y posterior tratamiento básico para una β -eliminación. Frente a cloruro de tosilo en diclorometano (Figura 4.2.38), **3** produce el correspondiente éster sulfónico **57**, cuya presencia se evidencia por análisis de cromatografía en capa fina (producto de menor polaridad que **3**). El tosilato **57** no es aislable, y reacciona en el proceso de aislamiento (*work up* acuoso) para dar lugar a un compuesto de alta polaridad (TLC (SiO₂): Rf \approx 0,15, fase móvil DCM:MeOH (9:1)), que fue caracterizado como el producto de ciclación intramolecular **58a**. Este producto se obtiene como la sal de amonio con un residuo de tosilato como contraión, en un 35% de rendimiento, y resulta del ataque del N-isoquinuclidínico al C19 para formar un ciclo nitrogenado de 4 miembros (azetidina) (Figura 4.2.38). El bajo rendimiento podría explicarse por la pérdida en la fase acuosa de este compuesto cargado. Este tipo de ciclación intramolecular ya se encontraba reportada en literatura, tanto para análogos sintéticos de la serie de 18-MC,⁶⁴ como para los productos naturales iboxigaina (**12**)^{20,65} y heynianina.⁶⁶



Figura 4.2.38 Tosilación de voacristina **(3)**. El tosilato **57** no resulta aislable, en contacto con solventes polares, produce el azetidonio **58a** (producto de ciclación intramolecular).

Teniendo en cuenta que el nitrógeno cargado positivamente en **58a** podría actuar como un grupo saliente en una eliminación de tipo-Hofmann, se utilizó el azetidonio (**58a**) como sustrato, calentando en presencia de *ter*-butóxido de potasio (Figura 4.2.39B). Sin embargo, no se obtuvo el producto de eliminación **54**. Las sales de amonio cuaternario son muy utilizadas en procesos de eliminación

tipo-Hofmann, mediante un mecanismo que involucra la generación de un carbanión por la deprotonación de una de las posiciones α al nitrógeno cargado (Figura 4.2.39A) y posterior eliminación concertada. En nuestro caso, la gran distancia existente entre el carbanión formado y los hidrógenos del metilo que serían eliminados durante el transcurso de la reacción (Figura 4.2.39B), impiden geométricamente un mecanismo de eliminación concertado.

A/ Mecanismo general eliminación tipo-Hoffman



Figura 4.2.39 **A/** Esquema del mecanismo general tomado de *March´s Advanced Organic Chemistry 6th edition*. **B/** La eliminación tipo-Hofmann sobre **58a** está impedida por la geometría del sistema policíclico.

En condiciones de acilación similares usando cloruro de mesilo, se observó que el ataque intramolecular del nitrógeno isoquinuclidínico es favorecido en presencia de solventes polares como metanol o acetonitrilo (Figura 4.2.40). Por otra parte, si la reacción se realiza en diclorometano o THF se obtiene un producto nuevo de menor polaridad que el material de partida. La purificación directa del crudo de reacción (sin *work up* acuoso) mediante cromatografía en columna con alúmina neutra, permitió aislar **60** en 42% de rendimiento. El mismo fue identificado como el producto de



sustitución por cloro, en base a los desplazamientos de ¹H-RMN y a la identificación por LC-MS del ion molecular [M+H]⁺= 403, con el perfil característico de la presencia de cloro.

Figura 4.2.40 Mesilación de 3 en diferentes disolventes.

En la Figura 4.2.40 no se especifica la configuración del carbono C19 que soporta al halógeno, ya que el mismo podría producirse por ataque del cloruro al mesilato **59** (produciendo inversión de la configuración, **60**_s) o bien al amonio cuaternario **58b** (produciéndose una doble inversión, y por ende retención de la configuración, **60**_R)(ver Figura 4.2.41 para un mecanismo posible). El seguimiento exhaustivo de la reacción por cromatografía en capa fina (TLC) muestra, a tiempos cortos (10–15min), la formación inicial de un compuesto polar (atribuido a **58b**), que luego se consume dando lugar a una única mancha de menor polaridad (producto **60**), transcurrida una hora de reacción. Estas observaciones apuntan a que el producto **60** se obtiene con una configuración absoluta *R*, resultado de una doble inversión. Experimentos adicionales fueron realizados para confirmar esta estereoquímica (*vide infra*, punto 4.2.3.3).



Figura 4.2.41 Propuesta de mecanismo para la obtención de **60.** Las flechas azules indican un mecanismo con inversión de la configuración (**60**_s). Las flechas rojas indican un mecanismo con doble inversión y retención de la configuración (**60**_s).

Bajo las mismas condiciones de reacción, iboxigaina (12) dio como resultado un 15% de 19-cloroibogaína (61) (Figura 4.2.42), lo que indica una mayor inestabilidad durante el proceso de purificación que su análogo, 60. Tanto 60 como 61 demostraron ser estables en solventes apolares; por ejemplo 61, cuya caracterización por RMN se realizó en benceno-*d*6, mantuvo su integridad incluso tras veinticuatro horas en solución a temperatura ambiente (Figura 4.2.42). La misma muestra fue evaporada y retomada en DMSO-*d*6, donde se registró, mediante experimentos de RMN, la ciclación espontánea de 61 para producir 62. Por esta razón, a pesar de que la inclusión de un halógeno implica una modificación estructural interesante para evaluar la relación estructura-actividad de los alcaloides de la iboga, no fue posible incluirlos dentro del panel para la evaluación biológica, ya que la generación de una solución de los azetidonios correspondientes.



Figura 4.2.42 Caracterización de 19-cloroibogaína (**61**); en medios polares como DMSO se produce una ciclación intramolecular espontánea, que da lugar al azetidonio **62**. Se muestran los espectros de ¹H-RMN para los dos compuestos totalmente asignados.

A fin de proseguir con el objetivo de obtener el alqueno **54**, la estrategia fue promover la β -eliminación directamente sobre el halogenuro **60** sin purificar, realizando la reacción en dos pasos. Para ello, se evaporó el solvente de mesilación (THF) y se trató con un exceso de base (Tabla 4.15). Las bases ensayadas fueron: DBU, *t*-BuOK, KOH, NaHMDS, LDA y metóxido de sodio.

Las solvólisis y calentamiento en DBU,⁶⁷ dio lugar a descomposición (entrada 1), indicando que las condiciones fueron muy drásticas. Reformulando estas condiciones de reacción, utilizando como solvente tolueno y 1,5 equivalentes de la base, no se obtuvo reacción, incluso luego de 48 horas y calentamiento a temperatura de reflujo (entrada 2).



#	Base	Solvente	T (°C)	Resultado
1	DBU	DBU	140	Descompone
2	DBU (1,5 eq)	Tolueno	110	No reacciona
3	KOH (2 eq)	MeOH	120	58 ª
4	MeONa	MeOH	68	58 °
5	<i>t-</i> BuOK : éter 18- <i>c</i> -6 (6 eq)	t-BuOH	50	58 ª
6	<i>t</i> -BuOK : éter 18− <i>c</i> −6 (6 eq)	THF	66	53% de 63
7	NaHMDS (5 eq)	THF	66	Descompone
8	LDA (5 eq)	THF	25	No reacciona

Tabla 4.15 Condiciones para la eliminación en medio básico de **61.** Reacciones one-pot, utilizando **60** crudo como material de partida. ^a resultado cualitativo, presencia de **58** evidenciada por TLC.

Al utilizar las condiciones de eliminación que involucran solventes próticos (entradas 3, 4 y 5) se observa una rápida evolución hacia el azetidonio **58**, que está imposibilitado de eliminar independientemente de la base utilizada, por lo ya explicado en la Figura 4.2.39. En el medio de reacción **58** puede variar su contraión, lo que se observa como una mancha de alta polaridad con Rf

similar ((SiO₂): Rf \approx 0,15, fase móvil DCM:MeOH (9:1)) al de un patrón de **58**a, por tanto el resultado se informa cualitativamente como: "presencia de **58** evidenciada por TLC" (Figura 4.2.38). La mezcla *t*-butóxido de potasio y éter 18-*c*-6 en cantidades equimoleculares fue propuesta inicialmente por Pankova *et al.*⁶⁸ para la β-eliminación de tosilatos en *t*-butanol. El éter corona forma un complejo con el catión potasio, lo que incrementa la basicidad del *t*-butóxido; de esta forma los autores reportan eliminación con resultados similares al uso de LDA.

Se realizó una modificación de este protocolo, utilizando THF como solvente, tratando de evitar la aparición de azetidonios tipo-**58** (entrada 6), pero luego de un prolongado tiempo de reacción, no se obtuvo eliminación sino el producto de oxidación 7-hidroxiindolenina **63**, probablemente por reacción con oxígeno. Por último, se utilizaron bases más fuertes como NaHMDS y LDA (entradas 7 y 8), pero los resultados fueron negativos. En el primer caso se observó descomposición, mientras que con LDA se evitó el calentamiento, pero no se observó reacción incluso luego de 24 h a temperatura ambiente. Como conclusión preliminar, los resultados de la Tabla 4.15 evidencian que 19-clorovoacangina (**60**) no es un buen sustrato para promover una β-eliminación. Como alternativa, se podría utilizar un mejor saliente que cloruro (por ejemplo, ioduro), pero ello disminuye la estabilidad del compuesto favoreciendo la ciclación intramolecular para dar estructuras tipo-**58**.

Otro reactivo empleado para promover β -eliminaciones es el reactivo de Burgess (Figura 4.2.43A), que fue desarrollado para la deshidratación de alcoholes secundarios en medios suaves.⁶⁹ Es un zwitterion que reacciona inicialmente con el alcohol, para dar un éster sulfónico aniónico que luego abstrae un protón en posición α para dar una eliminación concertada, en medio neutro y promovida por calor. Se planificó emplear dicho reactivo con ambos sustratos (**3** y **12**) con el fin de obtener los alquenos **54** y **55**, procurando seleccionar un solvente apolar que evite la ciclación intramolecular.

Lamentablemente, el tratamiento de **3** en tolueno dio como único producto el conocido producto 19-clorovoacangina (**60**)(Figura 4.2.43B), lo cual se explica por la presencia de clorhidrato de trietilamina como impureza de síntesis del reactivo (Figura 4.2.43C). La reacción se repitió con dos lotes distintos de reactivo de Burguess, uno preparado en el laboratorio a partir del clorosulfonil isocianato,⁷⁰ que contenía 42% (en peso) de clorhidrato de trietilamina determinado por RMN; y un reactivo comercial que demostró tener también la misma impureza tras su análisis por RMN. Curiosamente, la sustitución por cloro en C19, se dio aún más rápidamente que en las condiciones con cloruro de mesilo (ver Figura 4.2.40). El producto **60** aislado mostró ser igual al compuesto aislado de la reacción con cloruro de mesilo.



Figura 4.2.43 (A) Estrategia de eliminación suave utilizando reactivo de Burgess. (B) Reacción con voacristina (**3**) en tolueno. (C) Síntesis del reactivo de Burgess a partir de clorosulfonilisocianato.

Teniendo en cuenta todos los resultados negativos encontrados en los intentos de eliminación del hidroxilo en C19 de voacristina (**3**), y debido a que iboxigaína (**12**) ha demostrado ser más reactiva en experimentos previos, decidimos probar condiciones de eliminación utilzándola como material de partida (Figura 4.2.44). Gratamente, el tratamiento de **12** para generar **61**, y posterior exposición a etóxido de sodio en etanol, originó el alqueno buscado (**55**) en un 27% de rendimiento y un 20% del éter **64**, obtenido por sustitución nucleofílica. Por seguimiento de la reacción mediante TLC se observó una rápida ciclación intramolecular tras la disolución en etanol (solvente polar) del crudo de mesilación, para dar lugar a un compuesto tipo-**62**.





Si se compara el resultado del experimento con el resultado expuesto en la Tabla 4.15 entrada 4, donde una solución de metóxido en metanol falló en promover la eliminación (condiciones similares), resulta apropiado señalar que la presencia del éster metílico en C16 (sustrato con el cual se realizó toda la exploración de la Tabla 4.15) impide la reacción de eliminación. Esto posiblemente responde a cambios conformacionales dentro de la molécula, que no fueron estudiados en detalle.

4.2.3.3 Sustitución del hidroxilo sobre C19

Observando detenidamente los resultados expuestos hasta el momento, la obtención de productos sustituidos en C19 como **60**, **61** o **64**, plantea la posibilidad de manipular las condiciones de reacción del sistema, para así generar diversidad estructural mediante el uso de nucleófilos. La Figura 4.2.45 muestra de forma genérica la estrategia de trabajo; se propone llevar a cabo reacciones de sustitución sobre **60/61**, donde el mecanismo podría funcionar mediante una reacción de S_N2 desplazando directamente al cloro, o mediante formación inicial del azetidonio **58/62** (por ataque intramolecular del N isoquinuclidinico) y posterior apertura de éste por el ataque del nucleófilo (Figura 4.2.45). El protocolo propuesto utiliza voacristina (3) o iboxigaína (12) como materiales de partida para —mediante las condiciones ya descritas con MsCl— obtener *in situ* los cloruros correspondientes **60/61**, los cuales son tratados por los nucleófilos adicionados al medio de reacción.



Figura 4.2.45 Estrategia general de generación de análogos sustituidos en C19 (**65, 66**). Nuc: nucleófilo.

El estudio se inició con voacristina (**3**) y se ensayó la sustitución con un grupo ciano (Tabla 4.16), como forma de explorar condiciones de reacción con un nucleófilo fuerte y cargado. Se ensayaron tres condiciones, comenzando por un protocolo en dos pasos (entrada 1) donde el nucleófilo se agrega una vez consumido el material de partida, para dar **60** (como aditivo, se adicionó agua para la mejor solubilidad de la sal). Esto permitió identificar el compuesto buscado (**67**) en un bajo rendimiento (8%). Luego se probó un protocolo en un solo paso, utilizando condiciones anhidras (entradas 2 y 3), en ambos se utilizó acetonitrilo seco como disolvente. Fue necesaria la inclusión de aditivos para desplazar la reacción a una conversión total. En la entrada 2 se ensayó el agregado de éter corona (18-c-6) para incrementar la nucleofilia del cianuro por complejación del contraión (potasio); en el caso de la entrada 3, se adicionó nitrato de plata para formar cloruro de plata, que resulta insoluble y desplaza el equilibrio. Ambas estrategias tuvieron resultados favorables para la obtención de **67**, con un rendimiento similar (50-52%), pero la más efectiva fue la adición de éter corona, ya que la reacción se completa en apenas dos horas de calentamiento a reflujo.



	Condiciones	Solvente	T (°C)	t (h)	67 %
1	i) MsCl, DMAP ii) KCN (10 eq)	i)THF ii)THF:H20	50	9	8
2	MsCl, DMAP, KCN (10 eq) Éter 18- <i>c</i> -6 (1,5 eq)	MeCN	82	2	52
3	MsCl, DMAP, KCN (10 eq) AgNO3 (1,5 eq)	MeCN	82	7	50

Tabla 4.16. Sustitución por cianuro en C19 de voacristina (3).

Por el contrario, cuando se trabajó con azida de sodio (Figura 4.2.46), se obtuvo un buen resultado realizando la reacción con un protocolo análogo al de Tabla 4.16, entrada 1, pero con acetonitrilo como solvente (en dos pasos, con medio acuoso para la sustitución) obteniendo **68** con un 50% de rendimiento. Éste se trató en condiciones de reducción de Staüdinger, obteniendo la amina primaria **69** en excelente rendimiento



Figura 4.2.46 Sustitución con azida de sodio y reducción de Staüdinger.

En todos los casos planteado (Tabla 4.16 y Figura 4.2.46) se observa por TLC que el compuesto cloro-sustituido **60** formado en el primer paso, rápidamente se transforma en el azetidonio tipo-**58** correspondiente, tras el cambio de disolvente (MeCN o THF:H₂O). Lo más probable es que las reacciones se den sobre el azetidonio tipo-**58** y no sobre el cloro compuesto **60**. Esto indicaría que el nuevo sustituyente estaría dispuesto en el mismo sentido que el hidroxilo en el material de partida, manteniendo la configuración; esto se confirmó experimentalmente (ver Figura 4.2.50 y su discusión).

Se ensayaron dos nucleófilos más utilizando el protocolo en dos pasos a partir de **3**, sin aislar el derivado **60** (Figura 4.2.47). Se utilizó una solución de metóxido en metanol con el objetivo de sustituir el Cl por un grupo OMe; de nuevo se observó una rápida desaparición de **60** para formar un producto polar (tipo-**58**) (evidenciado por TLC). Sin embargo, a diferencia del cianuro y la azida, el metóxido no dio el producto de sustitución buscado (**70**). Algo similar ocurre al utilizar bromuro de metil-magnesio (reactivo de Grignard) como nucleófilo en THF (5 eq), donde no se observa reacción. La


mayor dureza de estos nucleófilos puede estar relacionada con su menor reactividad para la apertura de azetidonios tipo-**58**.

Figura 4.2.47 Estrategias de sustitución sobre 3 sin buenos resultados.

La estrategia de sustitución también se realizó sobre el hidroxilo de iboxigaína (**12**), dando resultados positivos (Figura 4.2.48). En este caso, el mejor resultado se obtuvo con un protocolo de dos pasos, obteniéndose la azida **73** en 70% de rendimiento. Por el contrario, la sustitución con cianuro de potasio en acetonitrilo dio un rendimiento moderado de **75** (35%), sensiblemente menor que el dado para la síntesis de **67** (ver Tabla 4.16, entrada 2).



Figura 4.2.48 Sustituciones sobre 12.

Cuando se utilizó el tiometóxido de sodio como nucleófilo, se obtuvo **74** en muy buen rendimiento (84%); este resultado contrasta con el obtenido con metóxido de sodio para el derivado de voacangina (**3**) (ver Figura 4.2.47). Esto podría deberse al mayor carácter nucleófilo del tiolato, ya que el azufre tiene una nube electrónica más polarizable (más blando que metóxido). El tioeter **74** no es estable en solución, y evoluciona mediante una transformación muy limpia hacia **76** por oxidación en contacto con oxígeno atmosférico (Figura 4.2.49). El sulfóxido **76** demostró ser una mezcla epimérica inseparable por cromatografía, ya que el azufre tetraédrico conforma un nuevo centro quiral dentro de la molécula.



Figura 4.2.49 El tioeter **74** se oxida espontáneamente en solución en contacto con el aire, produciendo una mezcla de epímeros del sulfóxido **76**.

Todas las reacciones de sustitución ensayadas transcurren de manera diasteroselectiva, obteniéndose un único producto. Con el fin de determinar la configuración absoluta en C19, y a su vez saldar la discusión en cuanto al mecanismo mediante el cual se rigen estas novedosas reacciones de sustitución, se realizó el experimento descrito en la Figura 4.2.50, donde el grupo OH sobre C19 es desplazado en última instancia por otro grupo OH, y se compara la estereoquímica del producto final.



Figura 4.2.50 Prueba experimental de sustitución con hidróxido demuestra que el mecanismo transcurre a través de una doble inversión, con retención de la configuración.

Asi, se llevó a cabo una reacción de sustitución en pasos, empleando hidróxido como nucleófilo sobre **12**. De esta manera si el producto obtenido fuera el epímero del material de partida en C19, entonces el nucleófilo estaría atacando directamente sobre **61** mediante una reacción de $S_N 2$. Por el contrario, si el producto obtenido, luego de la conversión completa de **12** para dar **61** (evidenciado por TLC) fuera idéntico al material de partida, entonces ocurrió una doble inversión, y la reacción se lleva a cabo por la apertura de **58** por el nucleófilo. La reacción en las condiciones de la Figura 4.2.50 origina como producto un material indistinguible por RMN del material de partida, lo que confirma el mecanismo de formación de azetidonio y doble inversión. Por tanto, la configuración absoluta de todos los productos obtenidos (**60, 61, 64, 67-69, 73-76**) es *R*, considerando que el nuevo sustituyente es prioritario según las reglas de Cahn-Ingold-Prelog.

El reactivo de Burgess empleado con el objetivo de producir la eliminación del hidroxilo en C19 (Figura 4.2.43), probó ser eficiente en la activación de **12**, en remplazo del cloruro de mesilo

(Tabla 4.17). La reacción produce el mismo intermedio cargado tipo-**58** (Figura 4.2.45) tras la sulfonación del alcohol secundario. Esto permitió la síntesis de **73** en medio anhidro con un rendimiento del 67% (entrada 1), del mismo orden que el obtenido anteriormente al utilizar el cloruro como intermedio, (comparar con Figura 4.2.48). Afortunadamente, tras el tratamiento con un exceso de fluoruro de cesio (entrada 2), se obtuvo 19-fluoroibogaína (**77**) con un 51% de rendimiento, un análogo interesante desde el punto de vista de la química medicinal. A diferencia de su análogo clorado **61** (Figura 4.2.43), **77** demostró ser estable en solución; probablemente debido a que el fluoruro es peor saliente que el cloruro, lo que evita el ataque intramolecular. Por último, se ensayó una vez más la sustitución con metóxido, esta vez, mediante la adición de metóxido de sodio seco sobre la reacción en acetonitrilo (entrada 3). Una vez más, el alcóxido probó ser insuficiente para obtener el producto deseado (**78**).

Reactivo de Burgess

	Meo N H H 12	i) $\underbrace{Et_{3}}_{ii}$ $\underbrace{Et_{3}}_{ii}$ \underbrace{V}_{ii} V	D MeO N H	N X	X: N ₃ = 73 F = 77 OMe = 78
	Condiciones	Solvente	T (°C)	t (h)	Producto
1	NaN₃ (10 eq)	MeCN	82	2	73 , 67%
2	CsF (10 eq)	MeCN	82	3	77 , 51%
3	MeONa seco (10 eq)	MeCN	82	4	No reacciona

Tabla 4.17 Sustituciones sobre 12, con Reactivo de Burgess como activador.

En resumen, los resultados presentados hasta el momento (puntos 4.2.3.1-4.2.3.3) muestran la síntesis de una variedad considerable de análogos con modificaciones en la cadena etílica lateral. Las mismas incluyen sustituyentes en posición C19 que contienen heteroátomos (CN, NH₂, F, N₃, etc.), cadenas alquílicas con mayor volumen (OEt, S(0)CH₃, OCH₂SCH₃). al igual que el alqueno **55** (18,19-dehidroibogaína), todos ellos muy interesantes para ser ensayados en su actividad biológica (sección 4.3). Por el contrario, no se pudo obtener derivados con homologación y ramificación de la cadena etílica lateral (mediante reacciones de Wittig (Tabla 4.13)) y análogos C19 metoxilados (como **70**) con mayor similitud con 18-MC (Figura 4.2.31). Por ello, se decidió explorar la posibilidad de obtener este tipo de derivados mediante síntesis total.

4.2.3.4 Estrategia de aproximación por síntesis total

Dado el escaso rendimiento de obtención de voacristina (**3**) de fuentes naturales –se obtiene aproximadamente 4 veces menos que de voacangina (**2**) a partir de *V. africana* (ver 4.1 resumen final)– se propuso la obtención de análogos por síntesis total, generando isoquinuclidinas mediante reacciones de Diels Alder (Figura 4.2.51A). El esquema sintético propuesto se muestra en la Figura 4.2.51B, y sigue la estrategia publicada en literatura.⁷¹ De forma resumida: es necesario desproteger la amina que se obtiene en forma de carbamato (**81**) en la reacción de Diels-Alder, para luego unir el grupo etilindol mediante una reacción de sustitución nucleófila. Las estructuras tipo **83** son, *per se*, análogos interesantes para ser evaluados como inhibidores de SERT (sección 4.3), pero para completar el esqueleto tipo iboga hace falta generar el ciclo de siete miembros (tetrahidroazepina). Esto se consigue halogenando la posición α del indol y utilizando **84** para un acople reductivo mediado por paladio, entre la posición bromada y el alqueno que forma parte del sistema bicíclico, (generando **85**). Adicionalmente, la aproximación por síntesis total permite explorar la reactividad en modelos de **3** y de **12**, ensayando y optimizando condiciones de reacción y preservando la masa de producto natural extraído.



Figura 4.2.51 Síntesis total de análogos con modificación en la cadena etílica lateral. (A) Síntesis racémica de isoquinuclidina **80**, funcionalizada en la cadena etílica lateral. (B) Ruta sintética para la generación de análogos a partir de isoquinuclidinas modificadas en la cadena etílica.

La estrategia sintética empleada utiliza una reacción de Diels Alder entre metilvinilcetona y la dihidropiridina **79**, generada *in situ* a partir de piridina y cloroformiato de metilo.⁷¹ Como se encuentra descrito en la literatura, la temperatura de la reducción del ion piridonio debe ser estrictamente controlada (no mayor a -50° C), para evitar eventos de "doble reducción" e isomerización del doble enlace en medio básico, impulsada por la conjugación del sistema π (Figura 4.2.52).



Figura 4.2.52 Posibles productos secundarios, que se aprecian si la temperatura de la reacción supera los –50 °C.

La isoquinuclidina **80** se obtiene como una mezcla de epímeros en proporción 72:28 (*endo:exo*) establecida por GC-MS (Figura 4.2.53). No se observa la aparición de productos donde la cetona se coloque en una posición relativa "para", ya que nos encontramos en condiciones de demanda normal en reacciones de Diels Alder, con un dieno activado y un dienófilo con un grupo atractor de electrones (cetona). En cuanto a la proporción epimérica, era de esperar una mayor proporción del isómero *endo*, el cual es favorecido por interacciones orbitales secundarias, entre su nube π y el sistema conjugado del dieno.



Figura 4.2.53 Estados de transición en la reacción de Diels-Alder entre la dihidropiridina **79** y metilvinilcetona.

El isómero *endo* tiene una configuración no deseada, ya que difiere de la observada en el producto natural. Pero, tras el tratamiento en condiciones básicas (MeONa/MeOH), en virtud de la acidez de los protones enolizables, la proporción se revierte dando como mayoritario el epímero *exo* (*exo*-80), de igual configuración al del producto natural, (35:65, *endo:exo*). Esto evidencia que, en el

equilibrio este epímero tiene una mayor estabilidad termodinámica que **endo-80**. Muy convenientemente, esta ruta sintética proporciona una isoquinuclidina funcionalizada con una cetona en la posición equivalente a C19 del producto natural **(3)**.

4.2.3.4.1 Reacciones de Wittig sobre la cetona 80

La cetona **80** fue utilizada como modelo en la búsqueda de condiciones efectivas para reacciones de Wittig, de forma de poder homologar y ramificar el residuo alquílico en posición C19. Estas reacciones se ensayaron para obtener alquenos que no pudieron lograrse mediante reacciones de Wittig sobre **44** (Tabla 4.13). Los iluros utilizados se generaron por tratamiento de la sal de fosfonio correspondiente con hexametildisilazano de potasio a temperatura ambiente (Figura 4.2.54). Al tratar **80** con metilentrifenilfosforano, la conversión fue total luego de dos horas a temperatura ambiente, para producir el alqueno **86** en buen rendimiento, como una mezcla epimérica con las mismas proporciones que el material de partida. Al utilizar etilentrifenilfosforano, se obtiene una mezcla compleja de cuatro compuestos (**87**), que corresponde a ambos epímeros y sus correspondientes isómeros geométricos *Z/E*. Por último, la variante de la misma reacción con un residuo isopropilidénico no reaccionó en las condiciones ensayadas.



Figura 4.2.54 Reacciones de Wittig sobre la isoquinuclidina sintética 80.

Resulta claro que el rendimiento de la reacción disminuye con el aumento del volumen del residuo alquílico del iluro de fósforo empleado, lo que podría indicar efectos estéricos que ralentizan la reacción. En el caso de **88**, debería emplearse un exceso del reactivo, o calentar y esperar un tiempo de reacción más extendido con el fin de detectar aparición de producto.

4.2.3.4.2 Reducción de la cetona 80

Con el fin de obtener un alqueno en la cadena etílica lateral, producto que se busca intensamente a partir del producto natural (punto 4.2.3.2), se procedió a la reducción de la cetona **80**, para luego eliminar el hidroxilo. La reducción de **80** por tratamiento con borohidruro de sodio (Figura 4.2.55A), produce los alcoholes epímeros **89** y **90**, que resultan separables por cromatografía en columna. La disposición del residuo hidroxietilo fue establecida de forma inequívoca mediante experimentos de NOESY, en la Figura 4.2.55B se especifican los realces clave. Para **89** (*endo*), se identificó la señal de H_{15a} por realce con H_{3a}; ambas señales ven a H₂₀ lo que asegura una disposición *syn*, lo que indica que la posición de la cadena es *anti*. Además, se vio un realce entre la señal de H_{15b} y el metilo terminal de la cadena etílica. Para el alcohol **90**, se distinguieron los protones H_{15a} y H_{15b} por cercanía con H_{3a}; luego se observó un realce entre H₂₀ y H_{15b}, lo que indica una disposición *syn*, indicando que la cadena etílica está espacialmente en la misma posición que el producto natural (*exo*), lo cual genera mayor interés.



Figura 4.2.55 Reducción de 80, separación de epímeros exo y endo.

Curiosamente, el alcohol **89**, pero no **90**, se obtiene como una mezcla de epímeros en el alcohol secundario. Esto indica que, mientras la cetona **80***endo* se reduce sin preferencia de ataque por el hidruro, el isómero **80***exo*, lo hace de forma diastereoselectiva. Una idea sobre el origen de la diastereoselectividad puede hallarse en la Figura 4.2.56, donde se muestran representaciones estructurales de los epímeros **80** *(exo* y *endo)* minimizadas mediante mecánica molecular (Chem3D); en ella se observa una apreciable diferencia en la accesibilidad a ambas caras del carbonilo en uno y otro epímero, resultando en un ataque no selectivo del agente reductor sobre la cetona **80***endo* (ambas caras son accesibles) y en un ataque diastereoselectivo sobre la cetona **80***exo* (una cara está impedida por el sustituyente del N isoquinuclidínico) El bloqueo de una cara también afecta la reactividad de la cetona, que se ve disminuida frente al epímero *endo*, que puede ser atacado sin

mayor impedimento. Esto se tradujo en un rendimiento de reducción similar para ambas cetonas (29% al cabo de 1h), aunque las cantidades de partida fueron significativamente distintas.





Figura 4.2.56 Estructuras minimizadas por mecánica molecular de los epímero *exo/endo* de la cetona **80.** Las flechas anaranjadas indican el sentido de aproximación del agente reductor en ambas caras de la cetona. Una de las caras está fuertemente impedida en el diasterómero exo, lo que resulta en la reducción diasteroselectiva de *exo-80*.

4.2.3.4.3 Eliminación del OH sobre C19

La generación de un buen grupo saliente a partir del alcohol **90**, mediante la introducción de un éster sulfónico (catalizada por DMAP), resultó exitosa, con un 73% de rendimiento (Figura 4.2.57). El tosilato **91** fue tratado con *t*-butóxido de potasio, en un solvente polar como DMSO a temperatura ambiente, obteniéndose una mezcla de alquenos no separable por cromatografía en columna. Tras el análisis del complejo espectro de ¹H-RMN —que además presenta señales duplicadas debido a rotámeros del carbamato— se postuló la presencia del alqueno trisustituido **92-(Z/E)** y del alqueno terminal **92'** en una proporción 1 : 0,23. A su vez, se estableció una proporción de **92-(Z/E)** (0,58:0,42) sin poder identificar cual configuración resulta mayoritaria. Es necesario disponer de mayor cantidad de muestra para poder optimizar la separación y proceder a la identificación de los compuestos aislados.



Figura 4.2.57 Generación de alqueno a partir de 90.

Nótese que, a pesar de utilizar una base voluminosa como *t*-butóxido, el tratamiento de **91** da como resultado mezclas de productos Saytzeff/Hoffman, generando una compleja mezcla de isómeros (**92**-*Z/E y* **92**'). También podría explicarse la formación de **92**-(Z/E) mediante la isomerización del doble enlace terminal en el medio básico (producto *tipo Hoffman*, **92**'), que estaría

promovida por la formación de un alqueno más sustituido y estable; aunque resulta improbable en las condiciones de reacción debido a la baja temperatura y al corto tiempo de reacción. Podría controlarse el proceso con el uso de una base aún más voluminosa, agregando la cantidad estequiométrica de equivalentes, y a una menor temperatura.

4.2.3.4.4 Protección del OH y desprotección de la amina

El siguiente paso en la construcción de análogos, tras modificar la cadena etílica lateral, es la remoción del carbamato, para obtener la amina libre. La cetona **80** no produjo el resultado esperado frente a las condiciones de desprotección con ioduro de trimetilsililo (TMSI), un ácido de Lewis fuerte (Figura 4.2.58A). Se observa, por el contrario, la aparición de la enona **93**, en la cual se ha perdido el biciclo isoquinuclidínico. Un mecanismo posible para la obtención de **93** se presenta en la Figura 4.2.58B; la apertura del biciclo se ve favorecida porque el carbocatión resultante de la ruptura del enlace N-C está estabilizado por conjugación al alqueno (es un carbocatión alílico).

En las mismas condiciones, las isoquinuclidinas **89** y **90** que poseen un alcohol libre, tampoco dieron los productos desprotegidos de interés. Se obtuvieron productos secundarios donde se constató la pérdida del biciclo isoquinuclidínico mediante análisis de RMN del crudo de reacción. Se propuso a continuación ensayar la reacción sobre sustratos con el alcohol protegido.



Figura 4.2.58 Desprotección de la amina con TMSI, sobre la cetona 80.

Se protegió de forma exitosa el alcohol **90** (Figura 4.2.59) como un éter metílico (**94**), y como un sililéter (**95**). El éter **94** se obtuvo mediante la generación del alcóxido con hidruro de sodio y posterior alquilación con ioduro de metilo (Williamson). Si se compara este resultado con el obtenido para el producto natural (Figura 4.2.14), se observa que en este caso no hay indol que compita por la metilación, lo que resulta una vía efectiva para la síntesis de 19-metoxiibogamina, análogo buscado de 18-MC (Figura 4.2.31).



Figura 4.2.59 Protección del alcohol **90** mediante metilación o formación de sililéter.

La remoción del carbamato ensayada sobre el sililéter **95** no demostró ser eficiente, ya que en las condiciones de reacción se observa la desprotección selectiva del alcohol, sin afectación del carbamato (Figura 4.2.60). Por el contrario, el metiléter **94** dio lugar a la amina de interés (**96**) con un 50% de rendimiento. Tiempos extendidos de reacción (12 h) fueron necesarios para la conversión completa.



Figura 4.2.60 Desprotección de la amina con TMSI, sobre 95 y 94.

La base libre **96** se utilizó como nucleófilo en una reacción de sustitución bimolecular (S_N2) sobre 3-(2-bromoetil)indol (Figura 4.2.61), obteniéndose el análogo **97** con un 63% de rendimiento. En esta reacción se utilizó un calentamiento por encima del punto de ebullición en vial sellado, logrando el consumo total de material de partida en minutos. En un intento de simplificar la ruta sintética, se ensayó un protocolo en dos pasos sin purificación intermedia, a partir de la isoquinuclidina **86**. En este caso la reacción de sustitución nucleófila llevó un tiempo prolongado de calentamiento, pues se hizo a temperatura de reflujo. Se aislaron dos productos de reacción, **98** y **99**, que corresponden a isómeros de posición del alqueno (Figura 4.2.61). El alqueno terminal **99**, se obtiene como una mezcla epimérica no separable por cromatografía en columna, la proporción relativa de los epímeros se estableció por ¹H-RMN, pero no pudo asignarse la identidad *exo/endo* dentro del espectro complejo de la mezcla.



Figura 4.2.61 Reacciones de S_N2 entre las isoquinuclidinas 96 y 86 con 3-(2-bromoetil)indol.

Se observa la isomerización *in situ* del doble enlace terminal, para la generación de un alqueno tetrasustituido de mayor estabilidad. La reacción no se completa, y se recupera un 37% de la amina secundaria en forma de base libre, donde se observa también isomerización del doble enlace. Esto sugiere que el evento de isomerización puede darse sobre la isoquinuclidina previo a la unión del indol, tanto en el paso de desprotección con TMSI, como en la reacción de sustitución nucleófila en medio básico. Para confirmarlo, debería realizarse el proceso en dos pasos —como se realizó para **94**— aislando la base libre y confirmando la posición del doble enlace antes de la reacción de S_N2.

Por último, **98** fue tratado con tribromuro de feniltrimetilamonio, para obtener el producto halogenado en posición α del indol **100**, el cual, al ser un producto inestable, se utilizó sin purificación para la reacción de acople mediada por paladio (Heck reductiva)(Figura 4.2.62). Únicamente fue posible detectar la formación de **101** mediante GC-MS, observando un pico minoritario con la apropiada relación m/z: 292. A futuro, se debería intentar purificar **100** antes de la reacción de acople, o introducir un átomo de iodo en lugar de bromo en el indol **98**.



Figura 4.2.62 Formación de anillo de tetrahidroazepina. Bromación en α del indol, y acople Heck reductivo con paladio(0) como catalizador.

En resumen, el trabajo presentado en el punto 4.2.3.4 difiere en gran medida con la estrategia de generación semisintética de análogos del resto de la sección 4.2. El principal aporte radica en consolidar las bases para un trabajo futuro que permita obtener por síntesis total análogos funcionalizados en la cadena etílica lateral, sin depender del escaso stock de voacristina (**3**). Adicionalmente, se pudo comprobar que algunas de las estrategias sintéticas que fallaron sobre el

producto natural, funcionan en sistemas químicos más sencillos. Por último, el compuesto **97** fue incluido dentro del panel de compuestos a ser evaluados *in vitro* sección 4.3.

4.3 Evaluación biológica de alcaloides semisintéticos de la iboga

En la presente Sección se discuten los resultados obtenidos en ensayos de actividad biológica *in vitro* para los compuestos sintetizados durante la tesis. Como indicador del potencial antidepresivo se evaluó la capacidad de los compuestos de inhibir el transportador de serotonina humano (hSERT). Adicionalmente, se evaluó la inhibición sobre otros transportadores de monoaminas, como el de dopamina (hDAT) y el transportador vesicular (hVMAT2). Como se mencionó en antecedentes, tanto ibogaína y noribogaína presentan actividad sobre estos transportadores lo que hace probable que compuestos análogos, con el esqueleto de alcaloides de la iboga, también lo tengan.

La inhibición de DAT provoca un aumento de la transmisión dopaminérgica, lo que puede generar efectos en la regulación del estado de ánimo, el control motor y los fenómenos de recompensa.⁷² A su vez, la inhibición de VMAT2, impide el almacenamiento de monoaminas como serotonina, dopamina, y noradrenalina en vesículas intracelulares lo que lleva a la destrucción de las mismas por las monoaminooxidasas (MAOs) mitocondriales.⁷³ Buscamos trazar perfiles de relación estructura-actividad para estos tres transportadores en base a los análogos preparados, y estudiar la posibilidad de obtener inhibidores con cierto grado de selectividad modulando el esqueleto estructural de los alcaloides de la iboga. En ese sentido, nuestro objetivo central implica la búsqueda de líderes con potencial antidepresivo que maximicen la interacción con SERT y resulten de poca afinidad por DAT y VMAT2, de forma de minimizar el impacto en la transmisión dopaminérgica, y en la concentración de monoaminas en las vesículas intracelulares (lo que disminuiría el contenido de intracelular de serotonina, afectando el potencial antidepresivo). Sin embargo, identificar potenciales inhibidores selectivos de DAT puede tener importancia para el desarrollo de fármacos para el trastorno por déficit de atención e hiperactividad y antidepresivos no selectivos;74 así como la identificación de inhibidores selectivos de VMAT2 pueden tener potencial aplicación clínica en el tratamiento del síndrome de Tourette o de la enfermedad de Huntington.73

El ensayo utilizado se realizó en el transcurso de una pasantía en el laboratorio del Prof. Dalibor Sames en la Universidad de Columbia en Nueva York, Estados Unidos. El mismo fue desarrollado y optimizado en este laboratorio, y se emplea de forma rutinaria para la evaluación de distintos grupos de moléculas (no únicamente alcaloides de la iboga) (ver apartado 4.3.1). En este contexto, se seleccionaron compuestos preparados en sección 4.2, teniendo en cuenta reglas de relación estructura actividad (SAR) generales, ya establecidas por nuestros colaboradores para el esqueleto de la iboga.²⁷

Por otro lado, la inhibición del canal de potasio hERG por los compuestos preparados, se toma como principal predictor de la actividad cardiotóxica. Para ello, se empleó una técnica electrofisiológica de alta complejidad (*patch clamp* automático) que requiere equipamiento especializado (ver detalles en apartado 4.3.2). El ensayo se tercerizó llevándose a cabo en la empresa Eurofins Discovery (St. Charles, MO, EEUU). Debido al alto costo del ensayo, el mismo no fue realizado

para toda la biblioteca de análogos sino que únicamente se evaluó la actividad (dosis-respuesta) para un total de siete compuestos, seleccionados por sus características estructurales más relevantes.

4.3.1 Inhibición de transportadores de monoaminas

Como ya se mencionó en el capítulo de Antecedentes, los transportadores de monoaminas ensayados hSERT, hDAT y hVMAT2 son proteínas transmembrana especializadas en el transporte de neurotransmisores desde la hendidura sináptica al citosol de la neurona presináptica (hSERT y hDAT), y del citosol a la vesícula sináptica (hVMAT2). Cumplen un rol principal en la regulación de los niveles extracelulares de serotonina (5-HT) y dopamina (DA), lo que modula la excitabilidad de neuronas corticales. Moléculas con probada actividad antidepresiva se especializan en la inhibición de este tipo de transportadores (con variada selectividad), lo que aumenta las concentraciones extracelulares de neurotransmisor, traduciéndose en una mayor excitabilidad de los tejidos neuronales. El grupo de los antidepresivos "inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS)" —como su nombre lo indica— inhiben en mayor medida hSERT. Este grupo incluye a los fármacos fluoxetina, citalopram, paroxetina y sertralina.

El ensayo basado en cultivo de células animales, utiliza una línea inmortalizada (HEK293 o EM4) que ha sido transfectada y expresa de forma estable el transportador (hSERT o hDAT) en la membrana plasmática, o en vesículas internas (hVMAT2) (Figura 4.3.1A).⁷⁵ Para abreviar, llamaremos a las líneas celulares con los acrónimos HEK293-hSERT, EM4-hDAT y HEK293-hVMAT2. El grupo de Sames ha desarrollado sondas fluorescentes (APP+ y FFN206, Figura 4.3.1B) que son sustrato del transportador y se internalizan en la célula, de la misma forma que el neurotransmisor natural (DA o 5-HT).⁷⁵ Estos "falsos neurotransmisores fluorescentes (FFN)" han sido desarrollados con el propósito de visualizar la sinapsis neuronal en tejidos vivos, ya que se bioacumulan en las células; pero han encontrado especial aplicación en el desarrollo de experimentos *in vitro* para el cribado de bibliotecas de compuestos.

La incubación con inhibidores del transportador de monoaminas bloquea el transporte del fluoróforo a través de la membrana, lo que genera una bioacumulación menor en el interior de la célula. Esto, permite la obtención de una curva dosis respuesta y la posibilidad de calcular una concentración inhibitoria 50 (IC50) del compuesto ensayado (Figura 4.3.1A). Se trata de un ensayo funcional que, a diferencia del clásico desplazamiento de ligando marcado radiactivamente, no sólo brinda información respecto a la fuerza de unión ligando-receptor, sino sobre el rol biológico de la molécula ensayada.



Figura 4.3.1 Ensayo de inhibición transportadores de monoaminas. (A) Las líneas HEK293 o EM4 transfectadas con los transportadores de interés (hSERT, hDAT, hVMAT2) bioacumulan sustratos fluorescentes. (B)/ Estructuras de los sustratos fluorescentes utilizados APP+ y FFN206 con sus respectivas longitudes de onda de absorción y emisión.

La estructura de los sustratos fluorescentes empleados se muestra en la Figura 4.3.1B, APP+ se emplea en el ensayo de inhibición de hSERT y hDAT; FFN206 fue utilizado en el ensayo de inhibición de *hVMAT2*. Los controles positivos utilizados en cada caso se listan en la Tabla 4.18. Imipramina es un conocido antidepresivo tricíclico inhibidor de SERT y del transportador de norepinefrina NET; reserpina es un producto natural con alta selectividad en la inhibición del transportador vesicular VMAT2. Indatralina es un agente antidepresivo que bloquea la recaptación de serotonina, dopamina y norepinefrina de forma inespecífica, en este caso se utiliza como control positivo en el ensayo de inhibición de hDAT; para este último, su potencia es comparable a la de cocaína.



Línea celular	Fluoróforo	Control positivo	IC50 (nm)
HEK293-hSERT	APP+	Imipramina	21 ± 3 ^{75,76}
HEK293-hVMAT2	FFN 206	Reserpina	13.7 ± 2.8 ²⁷
HEK293-hDAT	APP+	Indatralina	21 ± 3 ⁷⁶

Tabla 4.18 líneas celulares, fluoróforos y controles positivos empleados en ensayos de inhibición.

La Figura 4.3.2 presenta un diagrama del ensayo *in vitro* en 7 pasos: 1) inicialmente se siembran las células en placas de 96 pocillos a una densidad apropiada (ver detalle experimental 7.3), se permite el crecimiento celular hasta 90% de confluencia (1 a 3 días) en estufa 37 °C y 5 % de dióxido de carbono. 2) el ensayo comienza con el agregado de medio de cultivo conteniendo el inhibidor a ensayar (curva de 0,1 nM – 100 μ M), 3) las células se mantienen 55 minutos en estas condiciones dentro de la estufa. 4) se agrega una segunda alícuota de medio conteniendo el fluoróforo e inhibidor (en el mismo nivel de concentración que el paso 2); 5) se deja un tiempo de exposición de 30 minutos. 6) se descarta el sobrenadante, y las células se lavan exhaustivamente con buffer fosfato. 7) Se mide la fluorescencia de la monocapa de células tratada.



Figura 4.3.2 Descripción gráfica del protocolo del ensayo de inhibidores de transportadores de monoaminas (hSERT, hDAT, hVMAT2) basado en sustratos fluorescentes.

Para la obtención de datos consistente, resultan de especial importancia durante el transcurso del ensayo las etapas de lavado exhaustivo para eliminar el exceso de fluoróforo en el sobrenadante, así como el estricto control de los tiempos de incubación con las soluciones conteniendo inhibidor e inhibidor+fluoróforo. De esta forma, se busca minimizar la absorción inespecífica del fluoróforo en la membrana celular y el plástico de la placa. Para todos los compuestos se realizaron, al menos, dos réplicas genuinas (n=2), incluyendo 4 réplicas experimentales intraensayo para cada condición. Cada placa de 96 pocillos (12 columnas) incluyó un control negativo (DMSO), una curva completa del

control positivo en el rango (0,1 nM a 100 μM) (Tabla 4.18), y cuatro compuestos a ser evaluados, en una serie de dilución (0,1 nM a 100 μM)(utilizando 2 columnas por condición, duplicado).

El análisis de datos se realiza restando la señal del control negativo (DMSO) a todas las medidas de la placa, para obtener el valor de diferencia respecto al control sin considerar los eventos de absorción inespecífica del fluoróforo por difusión pasiva o adhesión al plástico. Se obtiene de esta forma, una serie de valores con una métrica de "desaparición de señal", a mayor inhibición, menor señal fluorescente. Un modelo de ajuste no lineal de 3 parámetros (análisis: dosis-respuesta inhibitoria, llevado a cabo en el software GraphPad Prism 6) permite obtener curvas sigmoideas (en escala logarítmica) (Figura 4.3.3). Para cada inhibidor, se informa su concentración inhibitoria del 50 % (IC50) junto con el error estándar de la media (95% intervalo de confianza): IC50 ± SEM.

Los compuestos se clasifican según se observa en la Figura 4.3.3 como: i) compuestos activos (línea naranja) que alcanzan una inhibición >90% del valor del control positivo, para ellos se obtiene una curva sigmoidea completa y es posible informar su IC50 con certeza. ii) compuestos con IC50>20µM (línea triángulos grises), son aquellos que incluso a la concentración más alta ensayada (100 µM) no producen un porcentaje de inhibición >90% respecto al control positivo; para informar un dato de IC50 certero, debería extenderse la curva de concentración buscando completar la sigmoidea. Se trata de compuestos muy poco activos, que presentan poco interés por tanto su IC50 se informa de manera aproximada como mayor como >20µM. iii) compuestos no activos (N.A.) (línea cuadrados blancos), aquellos que presentan una inhibición <20% a 100 µM, por lo general presentan una curva plana igual a la línea de base.



Curvas representativas - clasificación de compuestos ensayados



En etapas iniciales del desarrollo de este ensayo biológico, fue evaluada la citotoxicidad de compuestos tipo-iboga sobre las líneas celulares utilizadas (Tabla 4.18) por parte de nuestros colaboradores. Con este fin, se empleó una metodología colorimétrica basada en el uso de sales de tetrazolio (MTT), que mide la aptitud metabólica de las células. No se observó citotoxicidad en el rango de concentraciones de trabajo para los análogos de ibogaína ensayados, por lo que se consideró el ensayo apto. De todas formas, a futuro, debería considerarse repetir el ensayo de citotoxicidad con los compuestos más prometedores (*hits*).

4.3.1.1 Inhibición del transportador de serotonina humano (hSERT)

Nuestros colaboradores en este proyecto en la Universidad de Columbia centraron sus esfuerzos sintéticos en generar análogos de ibogaína sobre el núcleo indólico, los cuales fueron evaluados como potenciales inhibidores de SERT en el ensayo descrito anteriormente (Figura 4.3.2). Se obtuvieron interesantes resultados detectando compuestos prometedores que derivaron en una patente publicada en el año 2022.²⁷ Esto permitió establecer perfiles de relación estructura actividad, los cuales se discuten a continuación, y fueron importantes antecedentes que se fueron desarrollando a medida que nosotros avanzábamos en nuestros esfuerzos sintéticos. Dentro de este panel de compuestos evaluados, cuyos resultados se muestran en la Tabla 4.19, se encuentran análogos cuya síntesis se presentó en la sección 4.2 (**1, 16, 18, 25**).

Del análisis de la Tabla 4.19 se desprende que:

• La desmetilación o la remoción total del residuo metoxilo en posición C10, aumenta la actividad inhibitoria unas 10 veces (1 vs 16 y 18).

Por el contrario, la incorporación de grupos más voluminosos como éteres de etilo, propilo o un grupo carbamato (**102**, **103**, **105**) no afecta, o ligeramente disminuye la actividad (respecto a **1**).

 La metilación del nitrógeno indólico (posición N1) aumenta la actividad inhibitoria sobre SERT unas 10 veces en ibogamina (18 vs 106) y noribogaína (16 vs 107). Aunque en ibogaína no presenta un efecto tan marcado (1 vs 25). La homologación de esta cadena alquílica implica una pérdida de actividad, ya que 110

tiene una actividad similar a la de **1**, y revierte lo que había ganado al tener el fenol libre (**110** vs **16** y **107**).

La sustitución del metoxilo en C10, por un grupo ciano resultó en el incremento de la actividad en unas 100 veces (104 vs 1), siendo el cambio reportado con más incidencia. Este rotundo aumento de actividad no puede explicarse según el efecto del sustituyente en la distribución electrónica del sistema aromático (electrón-atrayente), pues el carbamato en 103 también es un grupo electrón-atrayente, y no genera un cambio en la actividad. Además, un grupo electrón-dador como el fenol en 16, que da mayor densidad electrónica al anillo que el metoxilo, también aumenta la actividad con respecto a ibogaína (1). Se puede concluir entonces, que el gran efecto observado sobre la actividad

no se debe a un cambio en la distribución electrónica del anillo aromático, sino probablemente a la formación de interacciones de baja energía (π - π , π -catiónico, o enlace de H) entre el nitrilo y los residuos aminoacídicos del sitio activo (*vide infra*, Figura 4.3.5).

- El compuesto más activo de la serie se obtuvo combinando dos cambios estructurales, un ciano en C10 y la metilación del N1 (108 vs 1), teniendo una actividad del orden nanomolar.
- Por último, la incorporación de un bromo en posición orto al metoxilo (posiciones C9 y C11) aumenta muy ligeramente la actividad (112 y 113 vs 1). La sustitución es menos efectiva si se incorpora un cloro (114 vs 112).

Como parte de nuestra colaboración con la Universidad de Columbia para explorar el espacio químico de la iboga con respecto a su actividad en transportadores de monoaminas, nuestro grupo en la Universidad de la República se focalizó en la obtención de análogos funcionalizados en la porción isoquinuclidínica de la molécula. Para ello se prepararon análogos descritos en las secciones anteriores, mediante modificaciones en N1, C10 y C16 (apartado4.2.1) (Tabla 4.20), oxidación regioselectiva de las posiciones C3, C7 y N4 (apartado 4.2.2) (Tabla 4.20 y 4.21) y mediante funcionalizaciones en la cadena etílica C18-C19 lateral (apartado 4.2.3) (Tabla 4.21). En particular, esta última aborda cambios estructurales en una porción poco explorada dentro del esqueleto de la iboga, lo que resulta especialmente interesante.

Del análisis de la Tabla 4.20 se desprende que:

- La presencia del grupo éster en posición C16 resulta deletérea para la actividad inhibitoria de SERT (**2** vs **1**).
- Los compuestos 40b, 29, 30, 6 y 56 —que también cuentan con un éster metílico sobre C16— tampoco presentan actividad. Para estudiar si la ausencia de actividad se debe a ello, y evaluar el impacto de las otras modificaciones estructurales, deberían evaluarse sus derivados descarboxilados. A su vez, 15 también resultó inactivo lo que sugiere que cualquier sustitución (polar) en C16 no sería tolerada.
- La pérdida del carácter básico del nitrógeno isoquinuclidínico, como en la lactama **40a** o el *N*-óxido **38a**, resulta en la pérdida pronunciada de la actividad inhibitoria de SERT.
- La 7-hidroxiindolenina 32a que implica la pérdida del indol es completamente inactiva. Esto sugiere que la integridad del sistema indólico, así como la ausencia de sustituyentes en la posición 7, son características necesarias para el reconocimiento por parte del transportador.

Del análisis de la Tabla 4.21 se desprende que:

• El alqueno presente en la 18,19-deshidroibogaina **55**, no afecta la capacidad inhibitoria de SERT, teniendo una actividad idéntica a la del compuesto de referencia **1**.

- La 18-metoxiibogamina (115) presenta 10 veces menos actividad que ibogamina (18) (el alcaloide natural, Tabla 4.20), por lo que se deduce que la sustitución de la posición C18 por un metoxilo afecta negativamente la inhibición de SERT. Hay que destacar que 115 es una mezcla racémica ya que se obtiene por síntesis total, por lo que la comparación con 18 es sobre simplificada.
- Algo similar ocurre con la presencia del hidroxilo en C19, ya que disminuye unas 5 veces la actividad respecto al compuesto de referencia (**12** vs **1**).
- Tanto la incorporación de un metilo en N1, como la desmetilación para dar el fenol en C10 tuvieron el mismo efecto de aumentar la capacidad inhibitoria de SERT ya descrito anteriormente por nuestros colaboradores. El mismo efecto se observa para los análogos hidroxilados en C19, teniendo actividades comparables a la de ibogaína (12 vs 17 y 28, en comparaciones con 1).
- Con una cetona en C19 los compuestos resultan 3 a 5 veces menos activos que ibogaína ((48syn y 48anti) vs. 1). Para nuestra sorpresa, ambos epímeros 48syn y 48anti, resultaron igualmente activos, lo que indica que la posición relativa de la cadena etílica lateral no afecta sensiblemente la capacidad inhibitoria del transportador.
- El resto de la serie de compuestos sustituidos en C19 se ven afectados negativamente en su habilidad de inhibir SERT; ninguno fue más activo que el compuesto de referencia (1). Sin embargo, se podrían clasificar en dos grupos principales: aquellos que vieron afectados con mayor medida 75 (-CN), 64 (-OEt), 73 (-N₃), 77 (-F) y el metil-sulfóxido 76, todos con una actividad ≥20µM. Y un segundo grupo: 43 (-OAc), 45 (-OCH₂SCH₃) y 116 (-NH₂) que conservan una actividad del orden bajo-µM, comparable al del compuesto de referencia (1).
- Por último, resultó sorprendente constatar que 62, un amonio cargado —con sustantivas diferencias estructurales con el resto de los compuestos— conserva la actividad inhibitoria sobre el transportador en un rango similar al de ibogaína (1). La característica de molécula cargada de 62, puede resultar interesante para limitar su penetrabilidad por la barrera hematoencefálica e impedir su entrada al SNC, limitando su acción a nivel periférico. En ese sentido el transportador de serotonina (SERT) se expresa también en plaquetas del sistema sanguíneo, donde su función es retirar la serotonina del plasma y está vinculada al control del proceso de coagulación. Es generalmente aceptado que la estructura proteica de SERT expresado en las plaquetas es idéntica a la del expresado a nivel central.⁷⁷ Por ello, 62 podría ser un interesante punto de partida para ser estudiado como un bloqueante de SERT a nivel periférico, si su lipofilia no es suficiente para atravesar la barrera hematoencefálica.



Tabla 4.19 Resultados de inhibición SERT, de análogos iboga publicados en la patente W02022/020352A1: de Sames *et at.*



Tabla 4.20 Resultados de inhibición SERT (n=2), de análogos semisintéticos (obtenidos en 4.2.1 y 4.2.2). Todos los valores expresan IC50±SEM (μM). N.A.: No Activo. * Las estructuras "repetidas" respecto a Tabla 4.19 (**1**, **16**, **18**) indican la réplica del experimento biológico, con el fin de obtener concordancia con los datos publicados en (W02022/020352A1).



Tabla 4.21 Resultados de inhibición SERT (n=2), de análogos preparados 4.2.2 y 4.2.3. Todos los valores expresan IC50±SEM (µM). N.A.: No Activo.



Figura 4.3.4 Resumen gráfico de relación estructura actividad (SAR), de alcaloides de la iboga y hSERT. El código de color indica: Verde: cambios estructurales que mejoran la actividad inhibidora; amarillo: cambios estructurales que no afectan o implican una pérdida leve de actividad, anaranjado: cambios estructurales que implican una pérdida moderada de actividad, rojo: pérdida total de capacidad de actividad. Los valores numéricos en negrita informan el valor de IC50 en unidad micromolar (μM) para el compuesto con el cambio estructural señalado respecto a la estructura de ibogaína. * caída respecto al compuesto desmetilado en posición C10.

Los perfiles de relación estructura-actividad para inhibir SERT se resumen de forma gráfica en la Figura 4.3.4, utilizando un código de color. El verde muestra aquellos cambios estructurales que mejoran la actividad inhibidora; el amarillo aquellos que no afectan o implican una pérdida leve de actividad; el anaranjado muestra cambios que implican una pérdida moderada de actividad; y por último el rojo señala una gran pérdida de capacidad inhibitoria. Podemos concluir que el espacio químico explorado por nuestro grupo, es decir las posiciones de oxidación de N4 y en C3, y la cadena lateral (C18-C19), son sensibles para modular la capacidad inhibitoria por SERT de forma negativa. Todos los cambios propuestos en esta porción del espacio químico resultaron en una disminución de la actividad. Por lo tanto, para incrementar la capacidad inhibitoria en SERT hay que centrar cambios estructurales en el anillo indólico; especialmente en C10, N1, y en menor medida en C9 y C11.

Como forma de racionalizar estos resultados, se utilizó un modelo computacional para simular la interacción de ibogaína (1) en el sitio activo de SERT (Figura 4.3.5)(modelo introducido en el apartado 2.2.2); para de esta manera plantear hipótesis que expliquen los cambios observados en relación con las principales interacciones con residuos aminoacídicos a nivel molecular. Como ya fue señalado en el capítulo de antecedentes, este modelo utiliza la estructura del complejo ibogaína-SERT publicada por Coleman *et al.*, con el transportador en su conformación ocluida.⁷⁸ La estructura se visualizó con la ayuda del programa MOE 2015.10 (Figura 4.3.5). Es importante resaltar que este modelo únicamente muestra una posible conformación del transportador SERT con ibogaína, lo que es una limitación importante en el momento de discutir los resultados. El sitio activo mostrado es en

realidad dinámico, formándose desde la conformación "abierta hacia afuera", evolucionando hacia la conformación "abierta hacia adentro". Por lo tanto, la discusión que se desarrollará a continuación considera a la conformación "ocluida" como la más importante para las interacciones moleculares con los inhibidores, una suposición que puede no ser válida. Un estudio completo debería estimar la energía de diferentes conformaciones del transportador con el sustrato, lo que excede los objetivos de este trabajo. De todas maneras, el modelo permite formular hipótesis de trabajo interesantes.



Figura 4.3.5 Diagrama 3D de ibogaína en el sitio activo de hSERT en su conformación ocluida publicada por Coleman et al. (código PBD: 6DZV).⁷⁸ Se destacan los residuos aminoacídicos más relevantes, próximos al sitio activo. En líneas punteadas se marcan las principales interacciones de baja energía con Asp98 y Phe341. La superficie se representa en un gradiente de color, donde verde representa áreas hidrofóbicas y el violeta áreas polares-hidrofílicas de la superficie proteica.

La interacción iónica entre el nitrógeno isoquinuclidínico y el aspartato-98 (Asp98) es señalada como una de las interacciones más relevantes, suponemos que cambios estructurales que lleven a la pérdida de basicidad de este centro, irán contra la actividad inhibitoria; como es el caso del *N*-óxido **38a** o la lactama **40a**.

En cuanto a los compuestos con sustituyentes en posición C19, que se clasificaron en dos grupos según su grado de pérdida de actividad, en la Figura 4.3.6 se ilustra una hipótesis que explica la diferencia de actividad biológica observada. Para los compuestos del primer grupo **73**, **75** y **76**, los sustituyentes pueden interaccionar electrostáticamente con el N isoquinuclidínico, que a pH fisiológico se encuentra cargado positivamente. Como se describió anteriormente (Figura 4.3.5), este

amonio interactúa con el carboxilato del Asp98 del transportador, a través de una interacción que es clave para la estabilidad del complejo proteína-ligando. Para estos compuestos, la interacción intramolecular podría limitar la disponibilidad de la carga positiva para interactuar con la proteína, causando una inhibición más débil.

Por otro lado, los compuestos del segundo grupo poseen residuos voluminosos que buscarán permanecer alejados del biciclo isoquinuclidínico, para minimizar interacciones estéricas desfavorables. En el caso del compuesto **116**, que posee una amina primaria, es de esperar que a pH fisiológico ésta se encuentre cargada positivamente, por lo que el cambio conformacional en este caso podría estar causado por la minimización de la repulsión de cargas de igual signo. Este cambio puede ocurrir porque la cadena etílica lateral tiene libre rotación y derivaría en una menor afectación de la interacción N4-Asp98, por lo que la actividad biológica se vería menos comprometida.

Cálculos computacionales preliminares (minimización de estructuras mediante mecánica molecular [MM2]) sugieren que la hipótesis planteada en la Figura 4.3.6A es plausible, ya que el modelo coloca el centro de carga negativa del sustituyente en C19, próximo al N4 cargado positivamente a efectos de para minimizar la energía del sistema. Las distancias medidas para estas estructuras son: 2,69 Å para la azida **73**, 2,85 Å para el nitrilo **75**, y 2,40 Å para el sulfóxido **76**; lo que concuerda con la idea de una interacción electrostática de baja energía. Por el contrario, la minimización del compuesto **116** con la misma metodología, coloca el centro -NH₃⁺ cargado positivamente lo más alejado de la isoquinuclidina posible, lo que apoya esta teoría.

En cuanto a los compuestos restantes del primer grupo, **64** y **77**, se trata de casos intermedios y se discuten a continuación. El compuesto **64**, que posee un OEt en posición C19, presenta una IC50 que pudo ser determinada con certeza (lo que implica que alcanzó una inhibición >90% del control positivo). Esto, sumado a que su intervalo de confianza es amplio, posibilitaría considerarlo dentro del segundo grupo, como sería lo esperado (Figura 4.3.6B)



Figura 4.3.6 (A) Los análogos sustituidos en C19 que ven más afectada su actividad sobre SERT tienen residuos que pueden formar interacciones polares con el N4 de la isoquinuclidina. (B) Los análogos sustituidos en C19 cuya actividad sobre SERT se vio menos afectada tienen

sustituyentes voluminosos (o cargados positivamente, como **116**) que buscaran una disposición más alejada al N4.

En cuanto a la actividad de **77** (19-fluoroibogaína), resulta llamativo que el cambio de un protón por flúor resulte en un compuesto 10 veces menos activo. Posiblemente, dada la alta electronegatividad del flúor, éste disminuye, por efecto inductivo, la basicidad del N4 isoquinuclidínico (Figura 4.3.7). En consecuencia, si **77** es menos básica que **1** su equilibrio de protonación estaría menos desplazado, lo que provocaría una menor interacción con SERT, ya que la base libre no interaccionaría con el Asp98. Alternativamente, una potencial formación de enlace de H del flúor con el H del grupo amonio, podría disminuir la carga positiva de este grupo, alterando su interacción con el carboxilato presente en el sitio activo.



Figura 4.3.7 Protonación de N4 en ibogaína vs 19-fluoroibogaína (77).

En cuanto a las modificaciones en el metoxilo indólico (C10), la Figura 4.3.5 muestra el metilo dentro de un bolsillo no ocupado dentro del sitio activo. Esto explicaría, en parte, que sustituyentes más voluminosos (etilo **102**, propilo **105**, carbamato **103**) sean aceptados y no impliquen gran pérdida de la actividad. De acuerdo con este modelo, no habría una explicación evidente para la gran influencia sobre la actividad que ejerce el grupo nitrilo (**104**); pero en términos especulativos podría decirse que el sustituyente generaría un nuevo tipo de interacción con un aminoácido polar cercano, como Ser438 o Thr439.

Lo contrario ocurre con la posición C16, donde la presencia del éster metílico es deletérea para la actividad biológica (ej. **2**, **3** y **15**), posiblemente porque no hay espacio dentro del sitio activo para acomodar un residuo tan voluminoso. Además, limitaría la interacción entre el N1 indólico y Phe341 (H-πAreno) que está indicada en el modelo como una de las principales entre ibogaína y SERT. En relación con las sustituciones en N1, es difícil explicar la tendencia mediante este modelo, ya que la sustitución por etilo disminuye la actividad (**110** vs. **16**) pero la metilación la aumenta (**107** vs. **16**).

4.3.1.2 Inhibición del transportadore vesicular humano (hVMAT2)

En cuanto a la acción sobre el transportador vesicular, nuestro objetivo fue obtener análogos de ibogaína con menor actividad sobre este transportador, ya que teóricamente la inhibición de éste

impediría la acumulación de serotonina/dopamina en vesículas intracelulares, lo que provocaría su degradación por las MAOs neuronales. De esta manera, un descenso en contenido de neurotransmisores disponibles para ser exocitados a la hendidura sináptica, disminuiría la transmisión serotoninérgica, generando un efecto pro-depresivo.⁷⁹

Del análisis de los resultados obtenidos de los compuestos ensayados por nuestros colaboradores (Tabla 4.22),²⁷ se conocían los siguientes perfiles de relación estructura-actividad para el espacio químico de los alcaloides de la iboga y su capacidad de inhibición de VMAT2:

- La actividad inhibitoria observada para ibogaína (1) en este ensayo, es unas 5 veces mayor que la reportada en literatura anteriormente (2,23 μM).⁸⁰ Este hallazgo es muy importante, ya que al ser ibogaína más activa para inhibir a VMAT2 que a SERT (aproximadamente unas 8 veces), se podría incrementar su efecto antidepresivo diseñando compuestos que conserven su actividad sobre SERT pero que la disminuyan sobre VMAT2 (estrategia utilizada en esta tesis). Sin embargo, es importante considerar que esta alta actividad por VMAT2 también podría estar sugiriendo un mecanismo de acción más complejo (ver sección 4.3.2).
- El metabolito noribogaína (18) con un fenol libre en C10 no afecta la actividad inhibitoria sobre el transportador vesicular. El valor obtenido también difiere de lo reportado en literatura (4,99 μM).⁸⁰ Este resultado indica que noribogaína tiene IC50 comparables entre SERT y VMAT2 (ver punto 4.3.1.4, para el análisis de selectividad entre transportadores).
- La sustitución por un protón en C10 (ibogamina **18**) disminuye unas 10 veces la actividad sobre el transportador vesicular.
- La homologación de la cadena alquílica en C10 a un grupo etilo, aumenta considerablemente la actividad sobre VMAT2 unas 100 veces (102 vs 1). La incorporación de sustituyentes más voluminosos desactivantes del anillo (ciano 104 y carbamato 103) disminuye una 10 veces la actividad respecto a ibogaína. Esto sugiere que el cambio en la actividad no responde al contenido electrónico del anillo de indol ni al volumen del sustituyente en posición C10, sino a un mayor carácter apolar de la molécula. Sería muy interesante contar con el valor de actividad para el análogo sustituido con un grupo propilo, pero el mismo no ha sido ensayado hasta el momento.
- La metilación del N1 indólico no tiene en este caso un efecto claro sobre la actividad inhibitoria, provocando a veces una caída leve en la actividad (25 vs 1) o un leve aumento (106 vs 18; 107 vs 16; 108 vs 104). La homologación de esta cadena alquílica a un residuo etilo resulta en una pérdida leve de actividad (110 vs 107 vs 16).
- La sustitución con halógenos en posición C9 (**112**, **114**) disminuye la actividad sobre VMAT2; en cambio en la posición C11 la disminución no es tan drástica (**113**).



Tabla 4.22 Resultados de inhibición VMAT2, de análogos de iboga publicados en la patente WO2022/020352A1: de Sames *et al.*

En cuanto al análisis de los resultados obtenidos para los compuestos preparados y ensayados en esta tesis, del análisis de la Tabla 4.23, que contiene principalmente los compuestos preparados en las secciones 4.2.1 y 4.2.2, se obtiene:

- La 7-hidroxiindolenina de ibogaína (32a) presenta actividad, aunque unas 20 veces menor que el compuesto de referencia. Se diferencia de lo que ocurre en SERT donde se ve una pérdida total de actividad.
- La pérdida del nitrógeno básico en la isoquinuclidina resulta en una gran pérdida de actividad (**40a, 40b, 38a**), al igual que en SERT.
- La presencia del éster metílico en C16 provoca una pérdida total de la actividad biológica (2 vs 1), al igual que en SERT. Esto también se observa para los compuestos sustituidos en C16: 29, 15, 30, 56 y 6.
- Voacristina (3), a pesar de presentar el éster metílico en C16, conserva parte de la actividad inhibitoria, lo que sugiere que la presencia del OH en C19 es un cambio a favor de la actividad sobre el transportador vesicular.

Asimismo, del análisis de la Tabla 4.24, que contiene los compuestos preparados en la sección 4.2.3 con cambios en los carbonos C18 y C19 de la cadena etílica lateral se desprende:

- El alqueno presente en la 18,19-deshidroibogaína (55), disminuye levemente la capacidad inhibitoria de VMAT2, teniendo una actividad comparable a la del compuesto de referencia, 1.
- La 18-metoxiibogamina (115), obtenida por descarboxilación de 18-MC, mostró una leve caída de actividad respecto a ibogamina (18). Cabe mencionar que se trata de un compuesto racémico obtenido por síntesis total.
- El análogo 97 obtenido por síntesis total resultó tener una actividad comparable a 115, lo que sugiere que el enlace C2-C16 que cierre el ciclo de tetrahidroazepina no es estrictamente necesario para mantener la actividad biológica sobre VMAT2.
- El hidroxilo en C19 provoca una pérdida importante de actividad (12 vs. 1), en este caso la desmetilación en C10 o la metilación en N1 no provoca la recuperación de la actividad, lo que era esperable según el perfil de SAR mencionado anteriormente para SERT (17, 28 vs. 12).
- Las cetonas 48-anti y 48-syn, tienen mismo nivel de actividad, por lo que se deduce que la posición relativa de la cadena etílica no afecta la interacción de forma relevante. Además, 48-anti y 48-syn son sensiblemente más activas que 12, lo que sugiere que una menor polaridad de la molécula se relaciona a una mayor actividad.
- El resto de las sustituciones sobre la cadena etílica lateral no sigue un patrón claro de relación estructura-actividad. Se observan compuestos con gran pérdida de actividad

para los cuales no fue posible determinar su IC50 (**75**, **76**); otros cuya pérdida de actividad los coloca en el rango de 10-20 μ M (**45**, **64**, **73**); y algunos para los cuales re registraron actividades micromolares más bajas (1-10 μ M) (**43**, **77**, **116**). No se observa una tendencia clara con la polaridad o el tamaño del residuo, pero se puede decir que todos mostraron menor actividad que el compuesto de referencia (**1**) para inhibir VMAT2, lo cual es en principio positivo si se quiere obtener un candidato a antidepresivo con mayor actividad sobre SERT.

 El amonio cargado 62 demostró ser muy poco activo, al igual que los análogos con sustituyentes más polares (75, 76). Considerando que el transportador VMAT2 está localizado en vesículas internas de la célula, y el compuesto debe atravesar la membrana plasmática por difusión pasiva para llegar a él, es lógico que moléculas con menor lipofilia tengan menor actividad. Esto no se cumple para 116, probablemente porque esta amina primaria está en un equilibrio de protonación, donde la forma neutra podría pasar la membrana por difusión pasiva.



Tabla 4.23 Resultados de inhibición VMAT2 (n \leq 2), de análogos semisintéticos preparados en 4.2.1 y 4.2.2. Todos los valores expresan IC50±SEM (μ M). N.A.: No Activo. * Las estructuras "repetidas" respecto a Tabla 4.18 (**1**, **16**, **18**) indican la réplica del experimento biológico, con el fin de obtener concordancia con los datos publicados en (W02022/020352A1).



Tabla 4.24 Resultados de inhibición VMAT2 (n≤2), de análogos semisintéticos preparados en 4.2.2 y 4.2.3. Todos los valores expresan IC50±SEM (μM). N.A.: No Activo.



Figura 4.3.8 Resumen gráfico de relación estructura actividad (SAR), de alcaloides de la iboga y VMAT2. El código de color indica: Verde: cambios estructurales que mejoran la actividad inhibidora; amarillo: cambios estructurales que no afectan o implican una pérdida leve de actividad, anaranjado: cambios estructurales que implican una pérdida moderada de actividad, rojo: pérdida total de capacidad de actividad. Los valores numéricos en negrita informan el valor de IC50 en unidad micromolar (μM) para el compuesto con el cambio estructural señalado respecto a la estructura de ibogaína. * respecto a noribogaína.

Los perfiles de relación estructura-actividad para inhibir VMAT2 se resumen de forma gráfica en la Figura 4.3.8, utilizando el mismo código de color ya explicado para el caso de SERT. En resumen, el cambio de metoxilo por etoxilo en C10 implicó un gran aumento de la actividad biológica. La alquilación del N indólico es tolerada, pero a diferencia de lo que ocurre con SERT no implica un aumento de la actividad. Por el contrario, la presencia del éster metílico en C16 tiene el mismo efecto que en SERT, llevando a una pérdida muy importante de actividad. Algo similar ocurre con los cambios estructurales en la isoquinuclidina que comprometen la basicidad del nitrógeno (lactama y N-óxido). Por último, las sustituciones en la cadena etílica lateral implican una perdida de actividad que puede variar entre moderada y muy alta según el sustituyente.

Desafortunadamente no se encuentra en la literatura la estructura de VMAT2 cristalizada con inhibidores del transportador, que permita hacer un análisis detallado de las interacciones entre el ligando y los residuos aminoacídicos de la proteína.⁷³ Existen modelos creados por homología a otras proteínas transmembrana, pero los mismos deben ser considerados como una aproximación inicial a la macroestructura de la proteína. Por lo general no resultan representativos del sitio activo donde pequeñas diferencias en la posición de los residuos aminoacídicos (2–3Å) implica grandes cambios en la interacción con el ligando. En el punto 4.3.1.4 se realiza un análisis de la selectividad entre

transportadores, así como una comparación de la actividad y los motivos estructurales más relevantes.

4.3.1.3 Inhibición del transportador recaptador de dopamina humano (hDAT)

Para la actividad sobre el transportador de dopamina, los compuestos preparados en el laboratorio de nuestros colaboradores no presentaron una actividad apreciable, por lo que estos datos no se encuentran publicados en la patente ya mencionada.²⁷

Del análisis de la Tabla 4.25, que incluye los compuestos preparados en la sección 4.2.1 y 4.2.2, se observa:

- Ibogaína (1) y noribogaína (16) son igual de activas, en el rango micromolar, como inhibidores de DAT. En este caso la desmetilación no implica cambios en la actividad. Es importante notar que ambos compuestos son menos activos en comparación a los transportadores de SERT y VMAT2. Esto era esperado según la literatura, que muestra una menor actividad de los alcaloides de la iboga sobre este transportador.⁸¹
- Ibogamina (18) resulta unas 5 veces más activa que 1 y 16. Como se menciona más adelante (punto 4.3.1.4), esta mayor actividad inhibitoria sobre hDAT, en conjunto con las ya mencionadas mayor actividad sobre SERT y menor sobre VMAT2, hacen de 18 un compuesto interesante como antidepresivo dual.
- Al igual que sobre los transportadores anteriores, la pérdida de basicidad del nitrógeno isoquinuclidínico, como en la lactama 40a o el N-óxido 38a, implica una pérdida total de actividad.
- La presencia del éster sobre C19 también elimina la actividad sobre este transportador, como ocurre también en SERT y VMAT2. (Tabla 4.25 fila 2 y 3).

Para los análogos con modificaciones en la cadena etílica lateral (Tabla 4.26), se observó que todas las sustituciones en posición C19 resultaron en una abrupta pérdida de capacidad inhibitoria del transportador, independientemente del volumen, polaridad o distribución electrónica.

En resumen, ninguno de los análogos, obtenidos por reacciones de oxidación y por modificaciones en la cadena etílica lateral, mostró una actividad significativa como inhibidores de DAT. Esto es un resultado interesante en términos de búsqueda de nuevas moléculas bioactivas, ya que la pérdida de actividad sobre DAT permite la generación de moléculas con un perfil de selectividad mayor.

El único caso donde se observó un aumento de la actividad inhibitoria de DAT fue para ibogamina. Este caso es muy interesante, pues en comparación a ibogaína, la ibogamina tiene una mayor actividad inhibitoria de SERT (~10 veces) y DAT (~5 veces más activa), pero menor capacidad de inhibir VMAT2 (~10 veces menos). Esto sugiere una potencial actividad como antidepresivo dual siendo inhibidor simultáneo de la recaptación de serotonina y dopamina, que merece ser estudiada en futuros ensayos preclínicos


Figura 4.3.9 Resumen gráfico de relación estructura actividad (SAR), de alcaloides de la iboga y DAT. El código de color indica: Verde: cambios estructurales que mejoran la actividad inhibidora; amarillo: cambios estructurales que no afectan o implican una pérdida leve de actividad, anaranjado: cambios estructurales que implican una pérdida moderada de actividad, rojo: pérdida total de capacidad de actividad. Los valores numéricos en negrita informan el valor de IC50 en unidad micromolar (μM) para el compuesto con el cambio estructural señalado respecto a la estructura de ibogaína. * respecto a noribogaína.

MeO N H 1	HO N HO 16	N N H 18	MeO N+ 38a H	MeO N H 40a
6.64 ± 1.40	6.76 ± 2.44	1.05 ± 0.16	N.A.	N.A.
		MeO N H H_3CO 45		MeO N 40b H MeO O
>20	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
MeO N H ₃ CO O 29	MeO N H 6 MeO O		MeO N 15 OH	
N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	

Tabla 4.25 Resultados de inhibición hDAT (n≤2), de análogos semisintéticos preparados en 4.2.1 y 4.2.2. Todos los valores expresan IC50±SEM (µM).

N.A.: No Activo.



Tabla 4.26 Resultados de inhibición hDAT (n≤2), de análogos semisintéticos preparados en 4.2.2 y 4.2.3. Todos los valores expresan IC50±SEM (μM). N.A.: No Activo.

4.3.1.4 Análisis de la selectividad entre transportadores

Prosiguiendo con el análisis de los resultados de inhibición sobre transportadores de monoaminas, y como se expuso en 4.3, es de interés observar y comparar la preferencia de acción entre las distintas dianas para cada compuesto. Teniendo en cuenta que, salvo para ibogamina, todos los análogos preparados durante este trabajo perdieron su capacidad inhibitoria sobre hDAT, el análisis se centrará únicamente en el estudio de la selectividad para hSERT y hVMAT2. Para ello, se calculó un índice de selectividad como el cociente de la concentración inhibitoria 50 sobre hVMAT2 (IC50-hVMAT2) y la de hSERT (IC50-hSERT) (Tablas 4.27 y 4.28).

La limitante de este análisis es que se puede obtener un valor de selectividad muy bueno, pero eso no refiere a una actividad destacable en términos absolutos; son deseadas actividades del orden nanomolar (nM), o al menos micromolar bajo (1–10 μ M). Un segundo inconveniente se presenta en el caso de compuestos donde la IC50 no ha sido determinada con exactitud, donde se informa >20 μ M, porque no se cuenta con un valor numérico para calcular el cociente, en este caso se informa cualitativamente la selectividad "hSERT" o "hVMAT2", indicando la preferencia.

La Tabla 4.27 muestra los resultados obtenidos por nuestros colaboradores. Inicialmente se observa que ibogaína (1) tiene una selectividad aproximadamente 10 veces mayor por el transportador vesicular que por hSERT. En contraste, su metabolito activo, noribogaína (16), es dos veces más activo como inhibidor de hSERT que de hVMAT2, lo cual resulta de importancia para entender los efectos antidepresivos de ibogaína (1). En modelos preclínicos de depresión (test de nado forzado) nuestro grupo encontró un efecto de tipo-antidepresivo para noribogaína i.p. más potente que para ibogaína.¹⁸ Esto resalta la importancia de obtener compuestos que presenten una mayor actividad inhibitoria frente a SERT que a VMAT2.

En este sentido, nuestros colaboradores desarrollaron varios compuestos con muy buena selectividad para hSERT, tres de ellos en el rango nanomolar (**104, 108** y **106**). Para estas tres estructuras se encuentra la sustitución de la posición C10, cambiando el metoxilo presente en ibogaína por un protón (**106**) o un ciano (**104, 108**), y la *N*-metilación del indol (**106, 108**). Estos compuestos presentan un alto potencial para ser evaluados en modelos preclínicos de depresión.

Por otro lado —aunque no es lo deseado en la búsqueda de actividad antidepresiva— resulta interesante el compuesto **102**, con mayor selectividad para VMAT2 que ibogaína, que presenta actividad del orden nanomolar. Los inhibidores VMAT2 selectivos tienen aplicación terapéutica en el tratamiento sintomático de la enfermedad de Huntington y la discinesia tardía, patologías que provocan movimientos musculares involuntarios, por lo que este compuesto podría ser plataforma para la búsqueda de nuevas moléculas con esta finalidad.⁷³

Compuesto	IC50 hVMAT2	IC50 hSERT	Selectividad
104	3,3	0,023	143,48
108	0,44	0,0051	86,27
106	1,5	0,08	18,75
114	18	1,2	15,00
18	3,0	0,33	9,09
112	4,9	0,67	7,31
113	1,0	0,20	5,00
107	0,17	0,059	2,88
16	0,57	0,28	2,04
103	3,0	2,5	1,20
109	0,75	0,91	0,82
25	0,74	1,5	0,49
110	0,70	1,9	0,37
1	0,39	2,98	0,13
102	0,08	9,0	0,01

Tabla 4.27 Índice de selectividad calculado para los compuestos sintetizados y evaluados por nuestros colaboradores. Se calcula como el cociente: (IC50-hVMAT2/IC50-hSERT), valores numéricos más grandes indican compuestos más activos sobre hSERT, valores más cercanos a 0 indican compuestos con mayor actividad hVMAT2. Las filas resaltadas en amarillo corresponden a ibogaína (**1**) y su metabolito activo noribogaína (**16**).

La *N*-metilibogaína (**25**) y *N*-metilnoribogaína (**107**), si bien aumentan su actividad inhibitoria sobre SERT (en comparación con **1** y **16** respectivamente), llegando en el caso de **107** a una actividad del orden nanomolar, su selectividad es pobre, comparable a la de noribogaína (**16**).

Es interesante destacar nuevamente el caso del alcaloide ibogamina (**18**) que, teniendo la estructura más simple dentro de los alcaloides de la iboga, resulta cerca de 9 veces más activa sobre hSERT que sobre hVMAT2. Ibogamina se encuentra presente como alcaloide minoritario dentro del extracto de raíz de *T. iboga*, lo que lleva a conjeturar si los efectos anti-adictivos descritos originalmente para el preparado vegetal no estarán mediados, al menos en parte, por **18**. Además, en modelos preclínicos de adicción, basados en la autoadministración de sustancias (morfina y cocaína), ibogamina demostró interrumpir la autoadministración de forma más persistente que el resto de los alcaloides ensayados (incluyendo a ibogaína y coronaridina, entre otros).⁸²

El mismo índice de selectividad se calculó para los compuestos preparados en la sección 4.2 de la presente tesis (Tabla 4.28). Se categorizaron tres compuestos (**17**, **28** y **62**) como "SERT selectivos" de forma cualitativa (sin el cálculo de índice, porque su IC50 sobre VMAT2 es >20 μ M). Los compuestos **17** y **28** poseen una IC50 sobre SERT comparable a la de ibogaína (**1**); en su estructura tienen un hidroxilo en posición C19 e incorporan las modificaciones conocidas de desmetilación en C10 (**17**) y *N*-metilación del indol (**28**). Sería interesante evaluar un análogo que combine ambos cambios

estructurales (*N*-metilnoriboxigaína) con el fin de obtener mayor actividad y selectividad sobre SERT, lo que daría lugar a moléculas con un mayor perfil antidepresivo.

Por otro lado, el amonio **62** presenta una IC50 sensiblemente menor que **17** y **28**, y como se explicó anteriormente su relevancia como posible fármaco con potencial antidepresivo (activo a nivel del SNC) es cuestionable, debido a aspectos farmacocinéticos.

Compuesto	IC50 hVMAT2	IC50 hSERT	Selectividad
17	>20	3,73	hSERT
28	>20	3,81	hSERT
62	>20	9,08	hSERT
18	3,0	0,33	9,09
(±)- 115	5,84	2,21	2,64
16	0,57	0,28	2,04
45	19,3	11,5	1,68
48-syn	11,5	10,4	1,11
12	18,8	16,9	1,11
48-anti	12,2	12,3	0,99
64	17,4	20,8	0,84
116	5,58	7,46	0,75
43	6,28	8,82	0,71
97	3,82	11,5	0,33
55	0,75	2,86	0,26
77	4,19	18,1	0,23
1	0,39	2,98	0,13
73	12,5	>20	hVMAT2

Tabla 4.28 Índice de selectividad calculado para los compuestos sintetizados y evaluados en esta tesis. Se calcula como el cociente: (IC50-hVMAT2/IC50-hSERT), valores numéricos más grandes indican compuestos más activos sobre hSERT, valores más cercanos a 0 indican compuestos con mayor actividad hVMAT2. Las filas resaltadas en amarillo corresponden a ibogaína (1), su metabolito activo noribogaina (16) e ibogamina (18).

La sustitución de la posición C18 en 18-metoxiibogamina (**115**) en comparación con ibogamina (**18**), lleva a una mayor caída en la actividad sobre SERT que sobre VMAT2, lo que disminuye la selectividad, teniendo **115** una actividad comparable a la de noribogaína (**16**).

La Tabla 4.28 exhibe un número de compuestos (**45**, **48-syn**, **12**, **48-anti**, **64**, **116** y **43**) con un índice de selectividad pobre (1,68 a 0,71), que por estar próximo a 1 indica que el compuesto no "distingue" entre inhibición de SERT o VMAT2. Se trata en su totalidad de compuestos que incluyen sustituciones en posición C19 de la cadena etílica lateral, por lo que se concluye que sustituir esta

posición no es cambio estructural suficiente para revertir la selectividad de ibogaína sobre VMAT2, debe combinarse con otros cambios estructurales como en **17** y **28**.

El alqueno **55** y la 19-fluoroibogaina (**77**) conforman un grupo con una selectividad por VMAT2 comparable a la de ibogaína (**1**), lo que se puede explicar por su alta similitud estructural.

El análogo **97**, obtenido por síntesis total en 4.2.3.4, demostró ser 3 veces más activo en VMAT2 que es SERT por lo que podría asemejarse al grupo anterior (**1**, **55** y **77**), aunque en este caso, la diferencia estructural es sustancial. Como se mencionó anteriormente en la discusión, **97** demuestra que no es necesaria la presencia del enlace C2-C16 y el ciclo de tetrahidroazepina para obtener compuestos activos sobre transportadores de monoaminas. Este hecho brinda un buen punto de partida para el estudio del motivo estructural mínimo-necesario para obtener compuestos activos a partir del núcleo iboga (farmacóforo). El riesgo de esta metodología —en este caso particular— sería que la sobre-simplificación estructural llevara a buenos inhibidores (actividad nM), pero que estos "pierdan" el caracter no-competitiva que caracteriza a ibogaína, por estabilizar SERT en su conformación abierta hacia el interior celular (ver Sección 4.3.2).

Por último, la azida **73** fue clasificada como "VMAT2 selectivo" de forma cualitativa ya que su IC50 sobre SERT es >20 y no fue determinado con exactitud. Este compuesto no reviste mayor interés porque su actividad sobre VMAT2 no está en el rango micromolar bajo.

4.3.2 Sobre el mecanismo de acción antidepresivo de ibogaína y noribogaína

En la sección anterior se mostraron ejemplos sobre cómo se puede modificar estructuralmente el esqueleto de los alcaloides de la iboga para obtener análogos con alta selectividad sobre SERT, que funcionen como antidepresivos del tipo de los inhibidores selectivos de recaptación de serotonina (ISRS). Un ejemplo de esto es el compuesto **104** (10-cianoibogamina), que presenta una mayor capacidad inhibitoria sobre SERT en comparación a ibogaína y noribogaína, y una notable pérdida de actividad a VMAT2. A su vez, algunos ejemplos de análogos con selectividad aumentada para VMAT2, podrían ser estudiados como potenciales fármacos para diferentes patologías ya mencionadas. Éste es el caso del compuesto **102** (10-etoxiibogaína) que podría presentar una actividad biológica similar a reserpina. Por último, el interesante caso de ibogamina (**18**) plantea la posibilidad de encontrar una tercera familia de compuestos, que generan inhibición apreciable de SERT y DAT pero tienen un bajo impacto sobre VMAT2; al igual que los antidepresivos duales de la familia de los inhibidores de serotonina y dopamina (ej. Bupropion, ver 2.2.2).

Esto indica que el esqueleto de la iboga es una plataforma molecular con destacado potencial para el desarrollo de diferentes tipos de fármacos, al permitir una modulación selectiva de su actividad sobre diferentes blancos farmacológicos mediante pequeños cambios estructurales.

Sin embargo, es necesario destacar algunos aspectos sobre la farmacología de ibogaína y noribogaína, para las cuales nuestro grupo encontró un pronunciado efecto del tipo antidepresivo en el test de nado forzado (TNF), como se ha mencionado anteriormente. En este trabajo publicado en el 2020,¹⁸ se encontraron diferencias sustantivas entre el efecto del tipo antidepresivo generado en el TNF por la administración de ibogaína o noribogaína; en comparación a fluoxetina (un ISRS prototípico). Observamos que, mientras que la administración de una única dosis de ibogaína o noribogaína produjo un efecto del tipo antidepresivo en el TNF, una única dosis equivalente de fluoxetina no tiene efecto (es conocido que se requieren administraciones múltiples de un ISRS para obtener un resultado positivo en el TNF). Esto sugiere que el efecto inducido por los alcaloides de la iboga es más potente y/o rápido que el provocados por la administración de un ISRS. Estas diferencias deben responder a una base farmacológica, y si consideramos el aumento de la transmisión serotoninérgica como el mecanismo neuroquímico que explica los efectos antidepresivos encontrados en humanos y en roedores luego de la administración de ibogaína/noribogaína, debemos encontrar diferencias a nivel molecular con el mecanismo de acción de un ISRS.

En este sentido, los valores de actividad sobre VMAT2 encontrados para ibogaína y noribogaína en el ensayo biológico utilizado en este proyecto, difieren notablemente de los valores que estaban reportados en la literatura;^{80,83} lo que dispara nuevas reflexiones sobre el mecanismo de acción antidepresivo de estos compuestos. En nuestro ensayo, ibogaína y noribogaína presentan una IC50 para VMAT2 en el orden de ~0,5 µM, lo que constituye una actividad destacable en comparación con otros blancos farmacológicos del SNC (Tabla 2.3). Inclusive, como se discutió anteriormente, ibogaína presenta una mayor actividad frente a VMAT2 que a SERT; y noribogaina un efecto comparable en

ambos transportadores. Esta es una gran diferencia encontrada con los ISRSs, los cuales presentan una actividad marginal frente VMAT2 en comparación a SERT, sobre el cual su destacada selectividad le da nombre a esta familia de fármacos.⁷⁴

Como se discutió al inicio de la sección 4.3 y en la Figura 2.5 (antecedentes), la inhibición de VMAT2 impide el almacenamiento de los neurotransmisores en las vesículas sinápticas, dejándolos en el citoplasma donde pueden ser rápidamente metabolizados por MAOs mitocondriales. Esto provoca una disminución aguda de la concentración intracelular de neurotransmisores en la terminal presináptica, lo que tiene como consecuencia una disminución de la neurotransmisión, como ocurre durante el mecanismo de acción de la reserpina.⁸³ En el caso de la transmisión serotoninérgica, su disminución generaría efectos pro-depresivos, lo que no es compatible con el efecto encontrado en el TNF.

¿Cómo se compatibiliza entonces el destacable efecto del tipo antidepresivo encontrado para ibogaína y noribogaína en el TNF con su notoria actividad sobre el transportador vesicular VMAT2? A continuación, se plantea una hipótesis para estos alcaloides que establece que su actividad simultánea sobre el transportador plasmático SERT y el vesicular VMAT2, produce un mecanismo neuroquímico que es capaz de aumentar la transmisión serotoninérgica, pero de una forma diferente a los ISRSs.

Los ISRSs bloquean la recaptación de serotonina desde la hendidura sináptica al inhibir al transportador SERT, que actúa de forma normal pasando desde una conformación "abierta hacia afuera" (OF) donde la serotonina presente en la hendidura puede unirse a el mismo, hacia una conformación "abierta hacia adentro" (IF), desde donde la serotonina puede liberarse al citosol de la neurona presináptica (ver apartado 2.2.2, antecedentes). La inhibición de este proceso mediante la estabilización de la conformación del transportador "abierta hacia afuera" por los ISRSs, provoca un aumento de la concentración de serotonina en la hendidura sináptica (ya que no se puede recaptar, pero puede seguir liberándose desde la terminal presináptica por exocitosis), (Figura 4.3.10A). La inhibición de los ISRSs es competitiva con el ligando natural (5HT), ya que en cultivos celulares que expresan SERT, se evidencia que un aumento de la concentración de serotonina reconcentración de serotonina en la concentración de serotonina extracelular logra desplazar al inhibidor de su sitio de acción.⁷⁹

Como se discutió en la sección de antecedentes (apartado 2.2.2), ibogaína y noribogaína pueden inhibir SERT, pero a diferencia de los ISRSs, lo hacen estabilizando la conformación "abierta hacia adentro" y de forma no competitiva, ya que dicha conformación no es sensible a un aumento de la concentración de serotonina extracelular.⁸⁴ Hasta el momento, no se conocen las consecuencias funcionales de este tipo de estabilización diferencial, ya que el efecto neto también es una inhibición de la recaptación de serotonina desde la hendidura sináptica por inhibición del transportador (y no pareciera ser importante que la inhibición sea en una u otra conformación del transportador). Sin embargo, proponemos que si la concentración intracelular de serotonina aumenta (por ej. como consecuencia de una inhibición de VMAT2), la misma podrá competir por el sitio de unión de

ibogaína/noribogaína a SERT, que se encuentra expuesto al interior celular debido a que la conformación estabilizada es la "abierta hacia adentro". Es decir, proponemos que ibogaína y noribogaína sí son inhibidores competitivos, pero esto sólo puede ser evidenciado frente a un aumento de la serotonina intracelular. De esta manera, la serotonina intracelular puede unirse al transportador desplazando al inhibidor, revirtiendo el sentido de su transporte natural, provocando su eflujo al exterior celular. Nos encontraríamos entonces frente a un mecanismo diferente al de los ISRSs donde, además de una inhibición de la recaptación, ocurre una liberación de la serotonina almacenada por reversión del transporte en SERT; lo que impactará en un aumento pronunciado de la transmisión serotoninérgica. (Figura 4.3.10B)



Figura 4.3.10 (A) Mecanismo de acción de los ISRSs inhibiendo la conformación "abierta hacia afuera" de SERT, lo que impide la recaptación de serotonina desde la hendidura sináptica al interior de la terminal presináptica. (B) Mecanismo propuesto para ibogaína y noribogaína, que inhiben SERT en su conformación "abierta hacia adentro". Al inhibir a su vez a VMAT2, la serotonina en el citoplasma puede competir por el sitio de unión en SERT y ser transportada hacia el exterior celular invirtiendo el sentido de funcionamiento del transportador.

De esta manera la serotonina, que no pudo almacenarse en las vesículas sinápticas (por inhibición de VMAT2) y que queda en el citoplasma celular, tendrá dos destinos posibles: escapar a la hendidura sináptica mediante su eflujo mediado por SERT; o su destrucción por las MAOs mitocondriales. Por lo tanto, el aumento neto de la transmisión serotoninérgica será estimado por la relación entre la velocidad de eflujo de SERT (relacionada a la capacidad del inhibidor de estabilizar la conformación "abierta hacia adentro"), y la velocidad de degradación de la serotonina libre por las MAOs. En este sentido el mecanismo propuesto se diferencia al de la anfetamina o el MDMA, los cuales son sustratos de SERT y DAT (pudiendo invertir su modo de funcionamiento), inhibidores de VMAT2, y al mismo tiempo inhibidores de la MAO; lo que provoca un gran aumento de la serotonina y dopamina liberada a la hendidura sináptica (produciendo en muchos casos depleción

del neurotransmisor en la terminal presináptica, lo que puede generar neurotoxicidad).⁸⁵ Ibogaína y noribogaína no son inhibidoras de la MAO, por lo que parte del neurotransmisor en el citoplasma será destruida, y otra liberada; provocando una liberación menor a la de anfetaminas.

La confirmación de este mecanismo de acción para ibogaína y noribogaína, requiere de nuevos experimentos, tanto *in vitro* como *in vivo*, y de comprobarse constituiría una nueva aproximación para el desarrollo de antidepresivos. En este sentido, los compuestos desarrollados durante esta tesis adquieren especial importancia, ya que la mayoría presenta actividad sobre ambos transportadores SERT y VMAT2; y en vista de la hipótesis planteada, pueden tener potencial antidepresivo. De esta forma, el objetivo se desplazaría desde buscar inhibidores selectivos de SERT a buscar compuestos que pueden accionar simultáneamente sobre SERT y VMAT2 para producir el novedoso efecto de una liberación mediante un eflujo controlado a través de SERT.

4.3.3 Inhibición del canal de potasio hERG

El canal hERG (Kv 11.1), o canal de potasio rectificador tardío, es una proteína que juega un papel crucial en la regulación de la actividad eléctrica en el corazón; es responsable por la corriente rectificadora de potasio "IKr" lo que repolariza las células del miocardio antes de iniciar un nuevo potencial de acción. Esto es esencial para mantener un ritmo cardíaco normal y evitar arritmias. La inhibición del canal hERG por pequeñas moléculas (como alcaloides de la iboga) puede dar lugar a consecuencias clínicas graves, como la inducción de arritmias ventriculares.

La evaluación de la actividad del canal hERG es crucial durante la fase de desarrollo de nuevos fármacos, ya que la inhibición del canal puede ser un efecto secundario no deseado que afecta la seguridad cardiovascular del medicamento, lo cual es el caso con los alcaloides de la iboga. Es importante destacar que la inhibición del canal hERG no es necesariamente un efecto secundario indeseado en todos los contextos. Por ejemplo, algunos medicamentos antiarrítmicos —como el Verapamilo que se utiliza como control positivo en el ensayo más adelante— están diseñados para bloquear selectivamente el canal hERG y se utilizan para tratar trastornos del ritmo cardíaco (antiarritmicos). Sin embargo, cuando se investigan compuestos para otros propósitos —en nuestro caso, el tratamiento de afecciones del SNC— la inhibición no deseada del canal hERG puede ser problemática.⁸⁶

La técnica de patch clamp (Figura 4.3.11), es la técnica de referencia para evaluar el desempeño y actividad de canales iónicos responsables de la actividad eléctrica de las células, especialmente en neuronas y células cardíacas. Consiste en generar un pequeño parche de membrana celular utilizando una micropipeta de vidrio en contacto con la superficie celular, luego tras la aplicación de una diferencia de presión, este parche se rompe, quedando en contacto el citoplasma con el contenido de la pipeta (metodología whole cell). La solución de la pipeta contiene un electrodo que permite medir corrientes iónicas con alta resolución temporal. Existen dos modos principales de patch clamp: manual y automatizado. En el modo manual, un investigador realiza directamente todas las etapas del experimento, desde la formación del sello del parche hasta la medición de las corrientes. Esto proporciona un control preciso, pero puede variar en eficiencia y reproducibilidad entre operadores. En cambio, el modo automatizado implica el uso de sistemas robóticos para realizar varias etapas del proceso de manera más eficiente y estandarizada. Aunque puede haber algunas diferencias en los resultados entre los modos manual y automatizado, se espera que el modo automatizado minimice la variabilidad intraoperatoria y permita analizar mayor número de compuestos en etapas tempranas del descubrimiento de fármacos (cribado). Los detalles experimentales se encuentran en el apartado 7.3.2.



Figura 4.3.11 Diagrama de metodología *patch clamp*, es su variante whole-cell (diseño del experimento realizado). Las proteínas transmembrana azules representan el canal de potasio hERG.

Debido al alto costo del ensayo se evaluó un número reducido de compuestos (Figura 4.3.12), con características estructurales que se identificaron como relevantes para modular la interacción hERG. Se incluyó noribogaína (16) como referencia, ya que existían impedimentos legales para el envío de ibogaína (1) al laboratorio de análisis. Se escogieron dos compuestos con sustitución en la cadena etílica lateral (posición C19) con distinta selectividad, 17 con (19-OH) para comparar con 16, y 77 (19-F). Además, se ensayó la 7-hidroxiindolenina 32a, que resultó inactiva como inhibidor de transportadores de monoaminas. Por último, se incluyó el alcaloide natural coronaridina (117), con un éster metílico en C16, y el análogo sintético 18-metoxicoronaridina (118) y su derivado descarboxilado (115).





Compuesto	IC50-hERG (µM)		
Verapamilo (control +)	0,27		
77	1,25		
32a	1,47		
17	1,63		
115	1,63		
16	2,33		
118	4,18		
117	4,45		

Tabla 4.29 Verapamilo (control positivo). 0.33% DMSO (control negativo, vehículo).

En la evaluación biológica para la inhibición del canal de potasio hERG se utilizó verapamilo como control positivo. Los resultados revelaron que todos los compuestos evaluados inhiben hERG de forma completa (> 90% del control positivo), con un IC50 en el rango de actividad micromolar (Tabla 4.29).

Coronaridina (**117**) y 18-MC (**118**) muestran valores de IC50 sensiblemente más altos, lo que sugiere que el éster metílico en posición C16 podría tener una marcada influencia sobre la inhibición del canal. Pero lamentablemente el éster metílico en esa posición no es compatible con la actividad inhibidoras de SERT, como ya se estableció de forma clara en la Figura 4.3.2 y la Tabla 4.20.

Resulta curioso que la indolenina **32a**, que demostró pérdida de actividad sobre todos los transportadores ensayados en el apartado 4.3.1, tenga una actividad inhibitoria comparable a **77**, **17**, **118** y **16**. Esto demuestra que la integridad del núcleo indólico no forma parte del motivo estructural esencial para la unión a hERG.

Los datos obtenidos discrepan con los reportes previos de la literatura (Tabla 4.30); algunos informes sugieren que 18-MC (**118**) es menos potente como inhibidor de hERG (con un IC50>50 μ M),⁸⁷ lo que llevó al impulso de su desarrollo clínico como un análogo de ibogaína con mayor perfil de seguridad. Nuestros datos no respaldan completamente esta afirmación, ya que **118** alcanzó una inhibición >90% a una concentración de 30 μ M; curiosamente, se observa que a 100 μ M esta inhibición disminuye ligeramente (~ 70%). Tras una revisión exhaustiva de la literatura, se encontró que algunos autores reportaban precipitación del compuesto en el medio del ensayo,⁸⁷ lo que podría explicar también lo errático de los datos reportados en literatura. En nuestro experimento el vehículo utiliza un tensoactivo, por lo que suponemos que los valores de IC50 anormalmente altos reportados anteriormente en la literatura para 18-MC responden a un error metodológico, y el compuesto tiene un rango de actividad micromolar bajo. Es necesario una corrección de esta información en literatura, ya que sería un insumo importante para el perfil de toxicidad de **118**.

lbogaína (1)	Noribogaína (16)	18-MC (118)	Voacangina (2)	Coronaridina (117)	Línea Celular	Artículo
4	-	15	-	-	TSA-201	Koenig <i>et al</i> (2013) ⁸⁸
4	-	-	-	-	TSA-201	Koenig <i>et al</i> (2014) ⁸⁹
4	4,09	>50	2,2	-	HEK	Alper <i>et al</i> (2016) ⁸⁷
1,8	2,3	2,6	-	4,9	CHO-K1	Esta tesis

Tabla 4.30 Alcaloides de la iboga y su IC50 sobre hERG (μM), comparación de resultados con la literatura. ">" indica que la concentración es mayor que la mencionada

En resumen, todos los compuestos ensayados fueron inhibidores de hERG con IC50 en el rango de 1,25-4,45 µM, lo que hace muy difícil establecer perfiles de relación estructura actividad. La presencia del éster metílico en C16 podría explicar una sensible baja en la capacidad inhibitoria de los alcaloides de la iboga; característica estructural que, desafortunadamente, limita la acción de estas moléculas sobre SERT y otros transportadores de monoaminas (proteínas diana). Es necesario explorar otras modificaciones estructurales dentro del esqueleto de la iboga, que puedan dar indicio de cómo disminuir esta interacción no deseada, a sabiendas de que un gran número de compuestos requiere un cribado, que resulta inviable en estas condiciones de ensayo. Es indispensable entonces buscar alternativas desde lo biológico, generando ensayos que permitan el procesado de gran número de compuestos de forma automatizada, utilizando por ejemplo otros sistemas biológicos.

Referencias bibliográficas, capítulo 4. Resultados y discusión

- Sisko, B. The Vanishing World of Iboga The Global Ibogaine Therapy Alliance https://www.ibogainealliance.org/conferences/vancouver-2012/archive/bob-sisko/ (accessed Sep 18, 2017).
- (2) Jenks, C. Nat. Prod. Lett. **2002**, 16 (1), 71–76.
- (3) Dickel, D. F.; Holden, C. L.; Maxfield, R. C.; Paszek, L. E.; Taylor, W. I. J. Am. Chem. Soc. 1958, 80
 (1), 123–125.
- Krengel, F.; Chevalier, Q.; Dickinson, J.; Herrera Santoyo, J.; Reyes Chilpa, R. *Chem. Biodivers.* **2019**, 16 (4).
- (5) Bouso, J. C.; Fornís, I.; Vilamala, M. V.; De Loenen, B.; Sainz-Cort, A.; Jiménez-Garrido, D. F.;
 Dos Santos, R. G.; Hallak, J. E. C.; Alcázar-Córcoles, M. Á.; Jenks, C. W. *Rev. Psiquiatr. Clin.*2020, 47 (2), 51–54.
- (6) Chemat, F.; Rombaut, N.; Sicaire, A. G.; Meullemiestre, A.; Fabiano-Tixier, A. S.; Abert-Vian, M. Ultrason. Sonochem. 2017, 34, 540–560.
- Bao, M.-F.; Yan, J.-M.; Cheng, G.-G.; Li, X.-Y.; Liu, Y.-P.; Li, Y.; Cai, X.-H.; Luo, X.-D. J. Nat. Prod. 2013, 76 (8), 1406–1412.
- (8) OKUYAMA, E.; GAO, L.-H.; YAMAZAKI, M. Chem. Pharm. Bull. 1992, 40 (8), 2075–2079.
- Ramanitrahasimbola, D.; Rasoanaivo, P.; Ratsimamanga-Urverg, S.; Federici, E.; Palazzino, G.;
 Galeffi, C.; Nicoletti, M. *Phyther. Res.* 2001, *15* (1), 30–33.
- (10) Chen, Y.; Yang, J.; Zuo, Y.; Zhang, C.; Pu, Y.; Ren, Q.; Li, X.; Huang, Y.; Huang, H.; Yang, H.; You, O.;
 Xia, X.; Lu, A.; Shi, S.; Deng, Y.; Lu, J. *Pharmacol. Res.* **2022**, *184* (August), 106415.
- (11) Büchi, G.; Manning, R. E.; Monti, S. A. J. Am. Chem. Soc. 1964, 86 (21), 4631–4641.
- (12) Magnus, P.; Ladlow, M.; Elliott, J. 1987, 7929–7930.
- (13) Fedorov, A.; Toutov, A. A.; Swisher, N. A.; Grubbs, R. H. Chem. Sci. 2013, 4 (4), 1640.
- González, B.; Fagúndez, C.; Peixoto de Abreu Lima, A.; Suescun, L.; Sellanes, D.; Seoane, G. A.;
 Carrera, I. ACS Omega 2021, 6 (26), 16755–16762.
- (15) Seong, S.; Lim, H.; Han, S. Chem **2019**, 5 (2), 353–363.
- González, J.; Prieto, J. P.; Rodríguez, P.; Cavelli, M.; Benedetto, L.; Mondino, A.; Pazos, M.;
 Seoane, G.; Carrera, I.; Scorza, C.; Torterolo, P. *Front. Pharmacol.* **2018**, *9*, 374.
- González, J.; Cavelli, M.; Castro-Zaballa, S.; Mondino, A.; Tort, A. B. L.; Rubido, N.; Carrera, I.;
 Torterolo, P. ACS Pharmacol. Transl. Sci. 2021, 4 (2), 517–525.
- (18) Rodríguez, P.; Urbanavicius, J.; Prieto, J. P.; Fabius, S.; Reyes, A. L.; Havel, V.; Sames, D.; Scorza,
 C.; Carrera, I. ACS Chem. Neurosci. 2020, 11 (11), 1661–1672.

- (19) Marton, S.; González, B.; Rodríguez-Bottero, S.; Miquel, E.; Martínez-Palma, L.; Pazos, M.; Pedro Prieto, J.; Rodríguez, P.; Sames, D.; Seoane, G.; Scorza, C.; Cassina, P.; Carrera, I. Front. Pharmacol. 2019, 10, 1–13.
- (20) Renner, U.; Prins, D. A. Experientia 1959, 15 (12), 456-457.
- (21) Taylor, W. I. In The Alkaloids: Chemistry and Physiology; 1965; pp 203–235.
- (22) Tidwell, T. T. Synthesis (Stuttg). **1990**, 1990 (10), 857–870.
- (23) Villalba, S.; González, B.; Junge, S.; Bernardi, A.; González, J.; Fagúndez, C.; Torterolo, P.;
 Carrera, I.; Urbano, F. J.; Bisagno, V. Int. J. Mol. Sci. 2024, 25 (2), 687.
- (24) Lipshutz, B. H.; Frieman, B. A.; Butler, T.; Kogan, V. Angew. Chemie Int. Ed. 2006, 45 (5), 800–803.
- Mori, A.; Mizusaki, T.; Ikawa, T.; Maegawa, T.; Monguchi, Y.; Sajiki, H. *Tetrahedron* 2007, 63 (5), 1270–1280.
- (26) King, A. O.; Shinkai, I. Encycl. Reagents Org. Synth. 2001, No. Ii, 1–2.
- (27) Sames, D.; Havel, V.; Hwu, C. Ibogaine analogs as therapeutics for neurological and psychiatric disorders. W02022020352A1, 2022.
- (28) Taylor, W. I. In Alkaloids: Chemistry and Physiology; 1965; Vol. 8, pp 203–235.
- (29) Goutarel, M.; Janot, M.-M.; Mathys, F.; Prelog, V. Helv. Chim. Acta 1956, 39 (3), 742–748.
- (30) Bartlett, M. F.; Dickel, D. F.; Taylor, W. I. J. Am. Chem. Soc. 1958, 80 (1), 126–136.
- (31) Low, Y. Y.; Lim, K. H.; Choo, Y. M.; Pang, H. S.; Etoh, T.; Hayashi, M.; Komiyama, K.; Kam, T. S. Tetrahedron Lett. 2010, 51 (2), 269–272.
- (32) Zhao, G.; Xie, X.; Sun, H.; Yuan, Z.; Zhong, Z.; Tang, S.; She, X. Org. Lett. 2016, 18 (10), 2447–2450.
- (33) Guise, G.; Ritchie, E.; Taylor, W. Aust. J. Chem. 1965, 18 (8), 1279.
- (34) Madinaveitia, A.; de la Fuente, G.; González, A. Helv. Chim. Acta 1998, 81 (9), 1645–1653.
- (35) Thomas, D. W.; Biemann, K. Tetrahedron 1968, 24 (11), 4223–4231.
- (36) Goldblatt, A.; Hootele, C.; Pecher, J. *Phytochemistry* **1970**, *9* (6), 1293–1298.
- (37) Madinaveitia, A.; Reina, M.; de la Fuente, G.; Gonzalez, A. G.; Valencia, E. J. Nat. Prod. 1996, 59
 (2), 185–189.
- (38) Tang, B. Q.; Wang, W. J.; Huang, X. J.; Li, G. Q.; Wang, L.; Jiang, R. W.; Yang, T. T.; Shi, L.; Zhang, X. Q.; Ye, W. C. J. Nat. Prod. 2014, 77 (8), 1839–1846.
- (39) Witkop, B.; Patrick, J. B.; Rosenblum, M. J. Am. Chem. Soc. **1951**, 73 (6), 2641–2647.
- (40) Witkop, B.; Patrick, J. B. J. Am. Chem. Soc. 1951, 73 (5), 2196–2200.

- (41) SUNDBERG, R. J. In Organic Chemistry; Elsevier, 1970; Vol. 18, pp 282–315.
- (42) Mentel, M.; Breinbauer, R. Curr. Org. Chem. 2007, 11 (2), 159–176.
- (43) Hootele, C.; Levy, R.; Kaisin, M.; Pecher, J.; Martin, R. H. Bull. des Sociétés Chim. Belges 1967, 76 (5–6), 300–307.
- (44) Wenkert, E.; E. Gottlieb, H. *Heterocycles* **1977**, 7 (2), 753.
- (45) Neuhaus, D.; Williamson, M. P. *The nuclear Overhauser effect in structural and conformational analysis*, 2nd ed.; Wiley, 2000.
- (46) Butts, C. P.; Jones, C. R.; Towers, E. C.; Flynn, J. L.; Appleby, L.; Barron, N. J. Org. Biomol. Chem.
 2010, 9 (1), 177–184.
- (47) Guise, G.; Ritchie, E.; Taylor, W. Aust. J. Chem. 1965, 18 (8), 1279.
- (48) Gunther, H.; Jlkell, G. **1976**, *1976*.
- (49) Griffiths, R. J.; Burley, G. A.; Talbot, E. P. A. Org. Lett. 2017, 19 (4), 870–873.
- (50) Lewars, E. G. Computational chemistry: Introduction to the theory and applications of molecular and quantum mechanics; Springer Netherlands: Dordrecht, 2011.
- (51) Johnson, E. R.; Keinan, S.; Mori-Sánchez, P.; Contreras-García, J.; Cohen, A. J.; Yang, W. J. Am. Chem. Soc. 2010, 132 (18), 6498–6506.
- (52) Kuehne, M. E.; He, L.; Jokiel, P. A.; Pace, C. J.; Fleck, M. W.; Maisonneuve, I. M.; Glick, S. D.; Bidlack, J. M. 2003, 2716–2730.
- (53) Glick, S. D.; Maisonneuve, I. M.; Szumlinski, K. K. Ann. N. Y. Acad. Sci. 2000, 914 (518), 369–386.
- (54) A Study to Assess 18-Methoxycoronaridine (18-MC HCl) in Healthy Volunteers Full Text View
 ClinicalTrials.gov https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04292197 (accessed Nov 11, 2021).
- (55) Glick, S. D.; Kuehne, M. E.; Maisonneuve, I. M.; Bandarage, U. K.; Molinari, H. H. Brain Res. 1996, 719 (1–2), 29–35.
- (56) Madder, A.; De Clercq, P. J.; Maskill, H. J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2 1997, No. 5, 851–852.
- (57) Storz, T.; Dittmar, P.; Grimler, D.; Testa, M.; Potgeter, H.; Chappel, D.; Hartmann, O.; Niederer, D.; Trüby, M. Org. Process Res. Dev. 2006, 10 (6), 1184–1191.
- (58) Nicolaou, K. C.; Peng, X. S.; Sun, Y. P.; Polet, D.; Zou, B.; Chek, S. L.; Chen, D. Y.-K. J. Am. Chem. Soc. 2009, 131 (30), 10587–10597.
- (59) Parikh, J. R.; Doering, W. von E. J. Am. Chem. Soc. 1967, 89 (21), 5505–5507.
- (60) González, B.; Veiga, N.; Hernández, G.; Seoane, G.; Carrera, I. J. Nat. Prod. 2023.
- (61) Kostikov, E. R. R. R.; Introduction, S. G.; Oxidative, D. E.; Decarboxylation, O.; Owing, C. A. In *Category 6, Compounds with All-Carbon Functions*; de Meijere, Ed.; Georg Thieme Verlag:

Stuttgart, 2010.

- (62) D'Onofrio, F.; Scettri, A. Synthesis (Stuttg). 1985, 1985 (12), 1159–1161.
- (63) Husbands, S. M.; Breeden, S. W.; Grivas, K.; Lewis, J. W. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* 1999, 9
 (6), 831–834.
- (64) Bandarage, U. K.; Kuehne, M. E.; Glick, S. D. Tetrahedron 1999, 55 (31), 9405–9424.
- (65) Biemann, K.; Friedmann-Spiteller, M. Tetrahedron Lett. 1961, 2 (2), 68-71.
- (66) Kupchan, S. M.; Cassady, J. M.; Telang, S. A. Tetrahedron Lett. 1966, 7 (12), 1251–1254.
- (67) Xu, G.; Renaud, P. Angew. Chemie Int. Ed. 2016, 55 (11), 3657–3661.
- (68) Pánková, M.; Závada, J. Collect. Czechoslov. Chem. Commun. 1980, 45 (11), 3150–3159.
- (69) Taibi, P.; Mobashery, S.; Hart, A. C. In *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK, 2008; Vol. 1.
- (70) Moni, L.; Banfi, L.; Basso, A.; Carcone, L.; Rasparini, M.; Riva, R. J. Org. Chem. 2015, 80 (7), 3411–3428.
- (71) Kruegel, A. C.; Rakshit, S.; Li, X.; Sames, D. J. Org. Chem. 2015, 80 (4), 2062–2071.
- Kouhnavardi, S.; Ecevitoglu, A.; Dragačević, V.; Sanna, F.; Arias-Sandoval, E.; Kalaba, P.;
 Kirchhofer, M.; Lubec, J.; Niello, M.; Holy, M.; Zehl, M.; Pillwein, M.; Wackerlig, J.; Murau, R.;
 Mohrmann, A.; Beard, K. R.; Sitte, H. H.; Urban, E.; Sagheddu, C.; Pistis, M.; Plasenzotti, R.;
 Salamone, J. D.; Langer, T.; Lubec, G.; Monje, F. J. *Biomolecules* **2022**, *12* (7), 881.
- (73) Støve, S. I.; Skjevik, Å. A.; Teigen, K.; Martinez, A. Commun. Biol. 2022, 5 (1), 1–14.
- (74) Yasumoto, S.; Tamura, K.; Karasawa, J.; Hasegawa, R.; Ikeda, K.; Yamamoto, T.; Yamamoto, H.
 Neurosci. Lett. 2009, 454 (3), 229–232.
- (75) Henke, A.; Kovalyova, Y.; Dunn, M.; Dreier, D.; Gubernator, N. G.; Dincheva, I.; Hwu, C.; Šebej, P.;
 Ansorge, M. S.; Sulzer, D.; Sames, D. ACS Chem. Neurosci. 2018, 9 (5), 925–934.
- (76) Cunningham, M. J.; Bock, H. A.; Serrano, I. C.; Bechand, B.; Vidyadhara, D. J.; Bonniwell, E. M.;
 Lankri, D.; Duggan, P.; Nazarova, A. L.; Cao, A. B.; Calkins, M. M.; Khirsariya, P.; Hwu, C.; Katritch,
 V.; Chandra, S. S.; McCorvy, J. D.; Sames, D. ACS Chem. Neurosci. 2023, 14 (1), 119–135.
- (77) Beikmann, B. S.; Tomlinson, I. D.; Rosenthal, S. J.; Andrews, A. M. ACS Chem. Neurosci. 2013, 4
 (1), 161–170.
- (78) Coleman, J. A.; Yang, D.; Zhao, Z.; Wen, P.-C.; Yoshioka, C.; Tajkhorshid, E.; Gouaux, E. *Nature* 2019, 569 (7754), 141–145.
- (79) Baumann, M. H.; Rothman, R. B.; Pablo, J. P.; Mash, D. C. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2001, 297 (2), 531–539.

- (80) Staley, J. K.; Ouyang, Q.; Pablo, J.; Hearn, W. L.; Flynn, D. D.; Rothman, R. B.; Rice, K. C.; Mash,
 D. C. *Psychopharmacology (Berl)*. **1996**, *127* (1), 10–18.
- (81) Ona, G.; Reverte, I.; Rossi, G. N.; dos Santos, R. G.; Hallak, J. E. C.; Colomina, M. T.; Bouso, J. C. J. Psychopharmacol. 2023.
- (82) Glick, S. D.; Kuehne, M. E.; Raucci, J.; Wilson, T. E.; Larson, D.; Keller, R. W.; Carlson, J. N. Brain Res. 1994, 657 (1–2), 14–22.
- (83) Baumann, M. H.; Pablo, J.; Ali, S. F.; Rothman, R. B.; Mash, D. C. In *THE ALKALOIDS*; 2001; Vol. 56, pp 79–113.
- (84) Jacobs, M. T.; Zhang, Y.; Campbell, S. D.; Rudnick, G. 2007, 282 (40), 29441–29447.
- (85) Sulzer, D.; Sonders, M. S.; Poulsen, N. W.; Galli, A. Prog. Neurobiol. 2005, 75 (6), 406–433.
- (86) Kratz, J. M.; Grienke, U.; Scheel, O.; Mann, S. A.; Rollinger, J. M. Natural Product Reports. 2017, pp 957–980.
- (87) Alper, K.; Bai, R.; Liu, N.; Fowler, S. J.; Huang, X.-P.; Priori, S. G.; Ruan, Y. *Cardiovasc. Toxicol.* **2016**, *16* (1), 14–22.
- (88) Koenig, X.; Kovar, M.; Rubi, L.; Mike, A. K.; Lukacs, P.; Gawali, V. S.; Todt, H.; Hilber, K.; Sandtner, W. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2013, *273* (2), 259–268.
- (89) Koenig, X.; Kovar, M.; Boehm, S.; Sandtner, W.; Hilber, K. Addict. Biol. 2014, 19 (2), 237–239.



5. Conclusiones y perspectivas futuras

5 Conclusiones y perspectivas futuras

De forma general se logró establecer una vía de acceso eficiente a los alcaloides de la iboga a partir de la extracción en el laboratorio de la corteza de raíz de *Voacanga africana*. La optimización del proceso permitió contar con un stock del producto natural suficiente para desarrollar el proyecto de química medicinal planteado. El trabajo sintético llevó a la construcción de una biblioteca de 47 análogos estructurales de ibogaína, con funcionalizaciones en sitios específicos de la molécula, algunos de ellos no explorados anteriormente. Por último, la evaluación *in vitro* de los compuestos sintetizados permitió identificas nuevas moléculas inhibidoras del transportador de serotonina SERT y el transportador vesicular de monoaminas VMAT2 con distintos perfiles de selectividad, las cuales tienen un potencial terapéutico interesante.

El presente trabajo de tesis involucró diversas áreas de la química orgánica como son: productos naturales, síntesis orgánica y química medicinal, e incluyó también la incorporación de herramientas de la neurofarmacología para lograr la evaluación de los compuestos preparados. Para el correcto desarrollo del proyecto fue necesario desarrollar habilidades en todas estas disciplinas mencionadas. Se desarrolló conocimiento básico original, que dio lugar a publicaciones en revistas internacionales arbitradas (Ver Anexo II).

Detalle de las conclusiones por objetivo específico:

5.1 Voacanga africana como fuente viable de alcaloides de la iboga

→ Se optimizó el proceso de extracción de alcaloides de la corteza de raíz de *Voacanga africana*, desarrollando un protocolo más corto y eficiente que los reportados previamente en la literatura, cambiando una extracción clásica en medio acuoso por la extracción directa con solvente orgánico acetona. Se logró escalar el proceso a 0,5 kg de material vegetal, lo que probó su aplicación preparativa, obteniéndose rendimientos muy satisfactorios para los alcaloides de interés.

→ La caracterización del extracto indicó que sus componentes mayoritarios son los alcaloides indólicos diméricos voacamina (4) y voacamidina (5) (iboga-vobasina), lo que motivó la búsqueda de condiciones sintéticas para la obtención de más voacangina (2) mediante la ruptura de estos dímeros. Se logró optimizar satisfactoriamente las condiciones de reacción que permiten la obtención de 2 a partir de 4 y 5, en un 57% de rendimiento; lo que redunda en duplicar (aproximadamente) la cantidad de voacangina extraída desde *V. africana* (Figura 5.1)

→ Se identificó voacristina (3) como alcaloide minoritario del extracto, lo cual no era esperado. Su aislamiento tuvo especial relevancia para el desarrollo de un grupo de análogos con la cadena etílica

lateral funcionalizada, de gran interés para la modulación de la actividad biológica (ver más adelante Figura 5.2 grupo C).



Figura 5.1 Resumen de resultados, *Voacanga africana* como fuente viable de alcaloides de la iboga.

→ El conjunto de resultados obtenidos durante la concreción de este objetivo fue publicado en la revista ACS Omega.¹ Adicionalmente, se obtuvo una patente de invención regional que abarca la extracción de alcaloides y la ruptura de alcaloides indólicos diméricos para maximizar la cantidad de voacangina obtenida (Argentina (AR122741 A1) y Uruguay (UY39291)).

→ A futuro sería interesante establecer vías de obtención de alcaloides de la iboga a partir de especies autóctonas, americanas o de la región, que tengan alcaloides de la iboga, por ejemplo *Tabernaemontana catharinensis.*^{2,3} En ese sentido, hemos identificado esta especie en nuestro país y cultivado algunos especímenes en Facultad de Química, para aplicar el procedimiento ya optimizado a la corteza de su raíz. Pretendemos continuar con esta línea de investigación de forma de encontrar nuevas fuentes naturales del motivo estructural de la iboga.

5.2 Construcción de una biblioteca de análogos

→ Logramos manipular satisfactoriamente la estructura de voacangina y voacristina para construir una biblioteca de compuestos que cuenta con 47 análogos de ibogaína (Figura. 5.2). Los compuestos muestran similitud estructural con ibogaína, no cambian de forma drástica su esqueleto carbonado e introducen múltiples cambios puntuales. La Figura 5.2 muestra los compuestos preparados organizados en 5 grupos principales:

A. **Compuestos con modificaciones en el indol**, que se encuentran sustituidos en N1 con residuos alquílicos de distinto tamaño, y/o incorporan modificaciones en el metoxilo de C10.

- B. Indoleninas, que pueden estar hidroxiladas (productos de oxidación) o alquiladas en posición
 C7
- C. Compuestos con la cadena etílica lateral funcionalizada, que se sintetizaron a partir de voacristina (3). Este es el grupo más numeroso, donde se fijó especial interés por ser un área de la molécula poco explorada. El éxito en la diversificación estuvo dado por el desarrollo de condiciones de sustitución del hidroxilo C19 presente en el producto natural.
- D. Compuestos funcionalizados en C3, obtenidos principalmente mediante reacciones de oxidación con iodo.
- E. **N-óxidos**, obtenidos por oxidación con mCPBA.



Figura 5.2 Biblioteca de análogos de ibogaína LSO-FQ.

→ Sería interesante, a futuro, ampliar los grupos de análogos menos diversificados (D y E), en especial la funcionalización en C3, tratando con otros nucleófilos (además de OH) en condiciones de formación de iminio sobre C3 (Figura 5.3). Esto requeriría la exploración de nuevas condiciones de reacción probando distintos oxidantes que generen el iminio de forma eficiente. Se incluiría una variedad de nucleófilos que contenga aminas, alcóxidos, halógenos y nucleófilos carbonados, entre otros. Esta ruta sintética promete tener éxito, considerando que los compuestos **6** y **7**, que se proponen como artefactos del proceso de extracción en el punto 4.1.1.3 del capítulo de Resultados, se obtienen de manera espontánea (Figura 4.1.13).



Figura 5.3 Propuesta de síntesis de análogos C3 sustituidos.

→ Asimismo, sería interesante seguir ampliando la diversidad estructural del grupo C, incorporando cambios en la cadena que no contengan heteroátomos, buscando aumentar la ramificación de la cadena alquílica. Por otra parte, teniendo en cuenta que la cantidad de voacristina resulta limitante, se propone cumplir este objetivo a través de síntesis total (ver apartado 5.2.4)

→ Como parte de los esfuerzos sintéticos llevados a cabo durante la tesis surgieron nuevos desafíos, que conformaron objetivos específicos nuevos, no incluidos originalmente en el plan de trabajo, que se describen a continuación:

5.2.1 Establecimiento de una línea de producción de ibogaína y noribogaína

El Laboratorio de Síntesis Orgánica produce hoy ibogaína y noribogaína por vía semisintética a partir de voacangina, en su forma de base libre o clorhidrato, con pureza definida. La misma es utilizado por colaboradores que investigan con estas sustancias principalmente en modelos preclínicos, en laboratorios pertenecientes a instituciones nacional (CUDIM, FMed, IIBCE, FCien). Con esta finalidad, se optimizó y escaló su síntesis de forma exitosa, obteniéndose cantidades de gramos con muy buenos rendimientos (85-95%).

Específicamente, se lograron múltiples publicaciones con ibogaína y noribogaína preparadas en el trascurso de la presente tesis, que describieron distintos aspectos del mecanismo de acción: modulación de la expresión de factores neurotróficos,⁴ alteración del ciclo sueño vigilia,^{5,6} caracterización de un efecto antidepresivo,⁷ estudio de la expresión génica y electrofisiológica en ratones *knock out* para 5HT2A.⁸ Además, se encuentra en preparación un manuscrito que estudia la metabolización de análogos deuterados de ibogaína en el metoxilo indólico, trabajo que se realizó en colaboración con el laboratorio del Prof. Dalibor Sames (Universidad de Columbia, NY, EEUU).

5.2.2 Estudio de reactividad comparada entre ibogaína y voacangina

El objetivo de funcionalizar diferentes posiciones del esqueleto derivó en un meticuloso estudio de oxidación de ibogaína y voacangina. Observamos cómo un pequeño cambio estructural, como es la presencia de un éster metílico en la posición C16, puede cambiar drásticamente la reactividad de los alcaloides de la iboga frente a condiciones de oxidación. Se concluyó que la presencia de este éster metílico —en términos generales— confiere estabilidad a la molécula frente a las condiciones de oxidación; esto se ejemplifica con la oxidación de ibogaína y voacangina mediada por oxígeno en oscuridad, donde ibogaína reacciona rápidamente y voacangina permanece incambiada, incluso luego de 72 h. Es un importante hallazgo en términos de conocimiento de la degradación de estos compuestos y sugiere condiciones de almacenamiento en atmósfera inerte para ibogaína y otros análogos sin éster metílico en C16.

En cuanto a la regio-especificidad de los agentes oxidantes (Figura 5.4) se estableció: a) el oxígeno modifica únicamente la región indólica de la molécula, generando indoleninas sustituidas en C7; b) el iodo actúa únicamente sobre la isoquinuclidina, produciendo oxidación selectivamente en posición C3 (y no C5) para dar lugar a hemiaminales y lactamas, y c) los peroxo compuestos (DMDO y mCPBA) pueden actuar en ambos lugares dando lugar a indolenina o *N*-óxidos, en el caso del perácido. Se logró demostrar —mediante el empleo de herramientas computacionales— que los cambios observados en términos de regioselectividad se deben a una alteración de la distribución electrónica de la molécula.



Figura 5.4 Resumen de la regioselectividad de los agentes oxidantes, y las estructuras de los productos obtenidos clasificados según el *locus* de reacción.

5.2.3 Determinación de la configuración absoluta de la 7-hidroxiindolenina de voacangina.

Se logró saldar una discusión en torno a la configuración absoluta de la 7-hidroxiindolenina de voacangina, **32b** Para ello se realizaron experimentos de nOe, NOESY de alta resolución para el cálculo experimental de la distancia interatómica, y cálculos computacionales basados en DFT. Se pudo establecer de forma inequívoca la configuración del C7 como *S*, lo que permitió la corrección de la literatura científica. El estudio de reactividad comparada (5.2.2), junto con la corrección estereoquímica de **32a** fue publicado recientemente en la revista *Journal of Natural Products*.⁹



Figura 5.5 Resumen sobre la corrección estereoquímica de la 7-hidroxiindolenina 32b.

5.2.4 Síntesis total de análogos con modificados definidas en la cadena etílica

Se consolidaron las bases de una ruta de síntesis total para obtener análogos funcionalizados en la cadena etílica lateral, sin depender del escaso stock de voacristina (**3**). Hasta el momento fue posible sintetizar 3 análogos simplificados, como los que muestra la Figura 5.6. Para completar la síntesis y obtener análogos de estructura completa es necesaria la formación del ciclo de siete miembros mediante catálisis con reactivos organometálicos.



Figura 5.6 Resumen de resultados sobre la síntesis total de análogos funcionalizados en la cadena etílica lateral.

Como punto negativo, la síntesis es racémica y los productos a los que se llega **no** son enantioméricamente puros como los derivados del producto natural, lo cual es de importancia en proyectos de química medicinal. Como punto a favor, los materiales de partida son muy económicos (piridina, cloroformiato de metilo) y se obtienen con rendimientos globales aceptable (4% en 5 pasos) para proyectos de esta índole.



Figura 5.7 Perspectivas a futuro en la construcción de análogos por síntesis total.

A/

Para continuar con el trabajo sintético y la obtención de análogos vía síntesis total (Figura 5.7A) se propone la diversificación química a partir de la cetona **80**. Se buscaría utilizar reacciones de probada eficiencia en química medicinal, como la aminación reductiva, para generar grupos de isoquinuclidinas modificadas en la cadena etílica lateral. Es necesario optimizar las condiciones de desprotección del carbamato con TMSI, para la cual se obtuvieron rendimientos moderados (4.2.3.4). Luego del acople a la función etilindólica debería trabajarse en la optimización de las condiciones de reacción para la formación del ciclo de tetrahidroazepina (Figura 5.7B), llegando así a análogos de estructura completa con modificaciones en C19.

En vista de que todos los sustituyentes en C19 ensayados contienen heteroátomos y que esto afectó de forma negativa la actividad sobre SERT (en algunos casos de forma leve), se propone la síntesis de análogos con cadenas carbonadas (sin heteroátomos) (Figura 5.8). Los análogos en cuestión deberían ser obtenidos por hidrogenación de los productos de olefinación (Wittig), luego de ser acoplados y ciclados; de no ser así la hidrogenación afectaría al alqueno de la isoquinuclidina necesario para el cierre del ciclo de 7 miembros (Figura 5.7).



Figura 5.8 Perspectivas a futuro en la obtención de análogos ramificados.

Sería interesante contar con una aproximación sistemática en la generación de análogos ramificados, que considere los aspectos estéricos de longitud y volumen de la cadena tras su homologación, así como el ángulo relativo al puente de la isoquinuclidina del sustituyente lateral, lo cual estaría determinado por la hibridación del carbono de unión al biciclo. Esto plantea un estudio sistemático de la influencia de la posición de la cadena etílica sobre la actividad biológica de ibogaína. El cambio de la lipofilia de los compuestos sería un aspecto fisicoquímico para considerar.

5.3 Nuevos inhibidores no-competitivos de SERT y VMAT2

Se evaluó con éxito la actividad de 32 compuestos sintetizados en esta tesis como inhibidores de transportadores de monoaminas humanos en modelos *in vitro*, en un ensayo fluorimétrico empleando células transfectadas con los transportadores de interés,. Desafortunadamente, ninguno de ellos fue más activo que el compuesto de referencia sobre SERT, pero varios de ellos presentaron un interesante y mejorado perfil de selectividad entre SERT y VMAT2.

Junto con el trabajo de nuestros colaboradores (17 compuestos), se completó un panel con adecuada diversidad estructural, que permitió la identificación de algunas reglas de SAR (Figura 5.9), siendo las más relevantes:

- La presencia del éster metílico en C16 disminuye la actividad tanto en SERT como en VMAT2.
- La desmetilación en C10 (noribogaína y otros) favorece la acción sobre SERT, pero no VMAT2.
- Para la actividad en SERT, el mejor cambio estructural fue la incorporación de un CN en C10, obteniéndose un compuesto <u>130 veces más activo</u> que ibogaína.
- Para la actividad en VMAT2, el mejor cambio estructural fue la incorporación de un OEt en C10, obteniéndose un compuesto <u>5 veces más activo</u> que ibogaína.
- La metilación del N-indólico aumenta la actividad por SERT, pero grupos más voluminosos (Et) tienen el efecto contrario.
- En VMAT2 la influencia de la *N*-alquilación no es clara, en la mayoría de los compuestos se observa un leve aumento de la actividad o permanece sin cambios.
- Si el N4 isoquinuclidínico no es básico, hay una pérdida total de actividad en ambos transportadores.



Figura 5.9 Resumen genérico SAR para SERT y VMAT2.

→ Se concluyó que los compuestos **17** y **28** sintetizados en este trabajo (Figura 5.10), resultan muy interesantes por su perfil de selectividad. La incorporación de un hidroxilo en la posición C19 implica una pérdida importante de la actividad VMAT2, mientras que mantienen una actividad del orden micromolar sobre SERT, similar a la de ibogaína. Sería interesante combinar características estructurales de estos compuestos con las de **108** (incorporar ciano en C10), tratando de obtener compuestos más activos y selectivos.



Figura 5.10 Resumen de los compuestos más interesantes.

→ Se destaca también el perfil de selectividad de 73, que mantuvo una actividad micromolar media sobre VMAT2 pero perdió gran parte de su actividad sobre SERT. En analogía a lo propuesto para 17 y 28, podrían combinarse las características estructurales de 73 y 102 para obtener compuestos más activos y selectivos para VMAT2, con sustituyentes en la cadena etílica.

→ Como fue mencionado como parte de la discusión (4.3.1.1), el azetidonio **62** podría ser interesante para el estudio de inhibidores de SERT únicamente con acción periférica (ya que es de esperar que al estar cargado no pase la BHE). Es interesante saber qué consecuencias biológicas tiene la inhibición de SERT presente en las plaquetas sanguíneas por parte de los alcaloides de la iboga; en este sentido, **62** resulta una sonda apropiada para aislar estos efectos de los ejercidos en el SNC y en consecuencia poder estudiarlos mejor.

→ A pesar de que las modificaciones en la cadena lateral no tuvieron mayor impacto en la actividad inhibitoria sobre SERT, DAT, NET, antecedentes en literatura muestran que puede tener impacto en el perfil NMDA, por lo que la biblioteca será ensayada a futuro en ensayos de desplazamiento de radioligando para este receptor. El antagonismo NMDA puede ser parte fundamental de los efectos antidepresivos, sobre tondo explicando los aspectos de rapidez de acción (como se explicó en 2.1.3.2).

→ El desarrollo de este proyecto permitió corregir el valor de IC50 que estaba reportado para VMAT2 en la literatura, el cual es unas 10 veces más bajo que lo esperado (0,39 vs. ~4µM).^{10,11} Esto trae como consecuencia una revisión de los efectos de ibogaína/noribogaína sobre la transmisión serotoninérgica y dopaminérgica. Como se planteó en 4.3.2, se propone que la liberación de 5HT causada por los alcaloides de la iboga, difiere de aquella causada por los ISRS. Esto se debe a que, además de una inhibición de la recaptación, ocurriría una liberación de la serotonina citosólica por reversión del transporte en SERT. La misma sería una liberación por eflujo similar a la observada para anfetaminas, pero con una magnitud moderada debido a dos factores: i) ibogaína/noribogaína no inhibe la MAO citosólica (como sí lo hace el MDMA), por lo que parte del neurotransmisor se destruiría; y ii) existe una inhibición de VMAT2, pero no hay un efecto de reversión del funcionamiento del canal (como sí lo hay para MDMA) que provoque la rápida depleción de la serotonina almacenada. En este sentido, en necesario seguir trabajando en la caracterización biológica, sobre todo midiendo cantidades extracelulares del NT por microdiálisis, y comprobando las hipótesis planteadas.

5.3.1 Evaluación preliminar de la cardiotoxicidad por inhibición hERG

Nuestros resultados sobre este canal muestran una discrepancia en la acción de 18-MC con lo reportado en literatura.¹² Siendo que este análogo sintético tiene una perspectiva de desarrollo clínico muy importante, el resultado obtenido es de peso, pues compromete su seguridad como futuro fármaco.

Si bien no fue posible determinar cambios estructurales que modulen a la baja la acción de la iboga sobre hERG (pues todos los análogos evaluados fueron igual de activos que el compuesto de referencia (noribogaína)), esto no implica que la actividad tóxica y terapéutica no puedan ser desacopladas. En análogos como **104** (10-cianoibogamina), que tienen una actividad muy grande sobre el blanco molecular, es posible que la dosis terapéutica a utilizar sea muy baja. Por tanto, si la acción inhibitoria sobre el canal hERG permanece en el orden micromolar, las concentraciones en el tejido cardíaco no alcanzarían estos guarismos y por tanto serían más seguros. Sería determinante, en este sentido, estudiar la actividad hERG de **104** y **108** (derivados más activos encontrados sobre SERT).

Como reflexión final, la presente tesis abarca una pequeña porción del universo de la iboga, el cual es asombrosamente complejo e intrigante tanto en sus aspectos químicos como bio-farmacológicos. El potencial para el desarrollo de nuevas terapias farmacológicas para desórdenes neuro-psiquiátricos, a partir de este motivo estructural, es gigantesco, porque tiene afinidad por múltiples receptores de interés como diana molecular. La ibogaína podría considerarse como una llave maestra con el potencial de generar una variedad de ligandos para diversos receptores.

Referencias Bibliográficas

- González, B.; Fagúndez, C.; Peixoto de Abreu Lima, A.; Suescun, L.; Sellanes, D.; Seoane, G. A.; Carrera, I. ACS Omega 2021, 6 (26), 16755–16762.
- (2) Krengel, F.; Mijangos, M. V; Reyes-Lezama, M.; Reyes-Chilpa, R. Chem. Biodivers. 2019, 16 (7).
- Krengel, F.; Herrera Santoyo, J.; Olivera Flores, T. de J.; Chávez Ávila, V. M.; Pérez Flores, F. J.;
 Reyes Chilpa, R. Chem. Biodivers. 2016, 13 (12), 1730–1737.
- Marton, S.; González, B.; Rodríguez-Bottero, S.; Miquel, E.; Martínez-Palma, L.; Pazos, M.; Pedro Prieto, J.; Rodríguez, P.; Sames, D.; Seoane, G.; Scorza, C.; Cassina, P.; Carrera, I. *Front. Pharmacol.* 2019, *10* (MAR).
- (5) González, J.; Cavelli, M.; Castro-Zaballa, S.; Mondino, A.; Tort, A. B. L.; Rubido, N.; Carrera, I.; Torterolo, P. ACS Pharmacol. Transl. Sci. 2021, 4 (2), 517–525.
- (6) González, J.; Prieto, J. P.; Rodríguez, P.; Cavelli, M.; Benedetto, L.; Mondino, A.; Pazos, M.; Seoane,
 G.; Carrera, I.; Scorza, C.; Torterolo, P. *Front. Pharmacol.* 2018, *9*, 374.
- (7) Rodríguez, P.; Urbanavicius, J.; Prieto, J. P.; Fabius, S.; Reyes, A. L.; Havel, V.; Sames, D.; Scorza,
 C.; Carrera, I. ACS Chem. Neurosci. 2020, 11 (11), 1661–1672.
- (8) Villalba, S.; González, B.; Junge, S.; Bernardi, A.; González, J.; Fagúndez, C.; Torterolo, P.; Carrera,
 I.; Urbano, F. J.; Bisagno, V. Int. J. Mol. Sci. 2024, 25 (2), 687.
- (9) González, B.; Veiga, N.; Hernández, G.; Seoane, G.; Carrera, I. J. Nat. Prod. 2023.
- (10) Staley, J. K.; Ouyang, Q.; Pablo, J.; Hearn, W. L.; Flynn, D. D.; Rothman, R. B.; Rice, K. C.; Mash, D. C.
 Psychopharmacology (Berl). 1996, 127 (1), 10–18.
- (11) Baumann, M. H.; Pablo, J.; Ali, S. F.; Rothman, R. B.; Mash, D. C. In *THE ALKALOIDS*; 2001; Vol. 56, pp 79–113.
- (12) Alper, K.; Bai, R.; Liu, N.; Fowler, S. J.; Huang, X.-P.; Priori, S. G.; Ruan, Y. *Cardiovasc. Toxicol.* 2016, 16 (1), 14–22.



6. Experimental

6 Experimental

Consideraciones generales:

Todos los solventes se destilaron antes de usar, los solventes anhidros se secaron según la literatura y se destilaron bajo atmósfera inerte; los productos químicos y reactivos se compraron en Sigma-Aldrich y se usaron tal como se recibieron. Todas las reacciones se realizaron bajo atmósfera inerte, utilizando el protocolo estándar para la eliminación de aire y humedad del sistema, salvo que se indique lo contrario. La TLC analítica se realizó en placas de sílica gel 60F-254 y se visualizó con luz UV (254 nm); exposición a vapores de iodo; solución etanólica ácida de *p*-anisaldehído (2%) o solución acuosa básica de KMnO₄ (0,75%), ambas con calentamiento. La cromatografía en columna se realizó utilizando sílica gel (Kieselgel 60, reactivo EM, 230-400 mesh), o alúmina neutra (Brockmann actividad tipo 1, 0,05-0,15mm) según se especifique en la técnica.

Análisis instrumental:

La Rotación Óptica específica **[a]**_D se determinó en un polarímetro JASCO P-2000. Los espectros infrarrojos (**IR**) se registraron en muestras puras (disco de NaCl) en un espectrofotómetro Shimadzu FT-IR 8101A. Los espectros de masas (**MS**) se registraron en uno de los siguientes equipos: 1) espectrómetro de masas LC/MS/MS Shimadzu LCMS 8040 (con bomba HPLC LC-20AD, detector DAD SPD-M20A, horno CTO-20^a e inyector SIL-20^a); 2) espectrómetro de masas GC/MS Shimadzu, GCMS-QP2010 Ultra, con columna HP-5MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm) y He como gas portador; o 3) espectrómetro de masas APCI (Q)CMS Advion expression-L, equipado con un módulo Plate Express TLC para la toma de muestra. Para los análisis de masa de alta resolución (**HRMS**), se utilizó un equipo LC-HRMS, Sciex X500R QTOF LC: Sciex ExionLC AC (bomba AC, autosampler AC y horno de columna AC).

Los espectros de RMN se obtuvieron en CDCl₃ (salvo que se especifique lo contrario) en un instrumento Bruker Avance Neo 400 operando a una frecuencia de ¹H de 400 MHz, o en un instrumento Bruker Avance III 500 operando a una frecuencia de ¹H de 500 MHz. Los desplazamientos químicos del protón (δ) se informan en ppm hacia el campo de CHCl₃ (7,260 ppm) como referencia interna, y los desplazamientos químicos del carbono se informan en ppm en relación con la línea central del triplete de CDCl₃ (77,0 ppm). En un espectro típico de ¹H, se adquirieron 64 mil puntos de datos utilizando un ancho de banda de 20,485 ppm centrado en 6,175 ppm durante un tiempo de adquisición de 4 segundos. Se utilizó un retardo de relajación de 1 segundo junto con un pulso de 30° de 4,33 µs. Los FIDs se procesaron con una apodización exponencial utilizando un factor de ampliación de línea de 0,30 Hz. De manera similar, en un espectro típico de ¹³C, se adquirieron 64 mil puntos de datos utilizando un ancho de banda de 236,6215 ppm centrado en 100,0 ppm durante un tiempo de adquisición de 1,376 segundos. Se utilizó un retardo de relajación de pulso de desacoplamiento de potencia junto con un pulso de 30° de 3,33 µs y un retardo de relajación de 2 segundos. Los FIDs se
procesaron con una apodización exponencial utilizando un factor de ampliación de línea de 1,0 Hz. Para las medidas cuantitativas de distancias entre protones, se realizaron experimentos 2D-NOESY con un tiempo de mezcla de 500 ms empleando un elemento de filtro de cuantos cero (secuencia de pulso estándar de Bruker noesygpphzs). Típicamente, se adquirieron 16384 puntos t2 con un ancho de banda espectral de 8 KHz, centrado alrededor de 4,7 ppm, para un tiempo de adquisición t2 de 2,06 segundos y un tiempo de relajación de 4 segundos. Se adquirieron ocho escaneos para cada uno de los 256 puntos de incremento t1 en la dimensión indirecta. Los datos crudos se procesaron con una función de apodización de seno al cuadrado en ambas dimensiones y se transformaron de Fourier a una matriz 2D de 16384 x 4096 puntos. Se aplicaron correcciones manuales de fase y línea junto con reducción de ruido t1 mediante la sustracción de una proyección t2 de una región ruidosa.

6.1 Obtención de alcaloides de la corteza de Voacanga africana

La corteza de raíz de *Voacanga africana* seca y pulverizada fue amablemente donada por la compañía Bulk African Trade (ANP Farm Ltd Co.) (www.botanicdreams.net).

6.1.1 Extracción Ácido-Base.

En un matraz Erlenmeyer (500 mL), se colocaron 50 g de polvo seco de corteza de raíz de *Voacanga africana*, seguido de 250 mL de HCl 1%. La suspensión se agitó mecánicamente durante 30 minutos y luego se filtró a través de un textil no tejido de base celulósica (TNT). Tras recuperar el residuo vegetal, este se volvió a extraer añadiendo un nuevo volumen de 250 mL de HCl (1%); este procedimiento se repitió seis veces. Los extractos ácidos combinados se trataron con NH₄OH concentrado bajo agitación magnética constante hasta alcanzar un pH ~10-11. Los alcaloides precipitan formando una suspensión opaca de color marrón la cual fue centrifugada a 5000 rpm durante 15 minutos a 10 °C. Se descartó el sobrenadante, y el residuo sólido se secó a 60 °C durante la noche (12-14 horas). El sólido amorfo marrón seco se disolvió en acetona y se filtró a través de papel para obtener una solución límpida. Se añadió sílica-gel y se eliminó el solvente orgánico por destilación a vacío. El sólido resultante se utilizó para la siembra sólida de una columna de cromatografía preparativa (gradiente de fase móvil: (9:1) \rightarrow (8:2) \rightarrow (6:4) \rightarrow (1:1) \rightarrow (3:7) (Hex:AcoEt) + 1% NH₄OH). Como resultado, se obtuvieron 429 mg (0,85%) de voacangina (**2**), 192 mg (0,38%) de voacristina (**3**) y 1203 mg (2,41%) de una mezcla de voacamina (**4**): voacamidina (**5**) : dímero desconocido (3,5 : 1 : 0,3), la cual fue tratada para aislar sus componentes (ver sección 7.1.2)



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.81 (bs, 1H), 7.13 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 6.93 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.80 (dd, J = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.70 (s, 3H), 3.55 (s, 1H), 3.39 (ddd, J = 12.2, 7.2, 3.7 Hz, 1H), 3.26 – 3.08 (m, 2H), 3.03 – 2.86 (m, 2H), 2.81 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 2.58 (d, J = 14.0 Hz, 1H), 1.93 – 1.83 (m, 2H), 1.73 (t, J = 11.1 Hz, 1H), 1.57 (dt, J = 13.2, 3.8 Hz, 1H), 1.49–1.39 (m, 1H), 1.31 (dt, J = 14.4, 7.3 Hz, 1H), 1.16 – 1.08 (m, 1H), 0.90 (t, J = 7.3 Hz, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 175.71, 153.98, 137.51, 130.53, 129.19, 116.62, 111.81, 111.07, 110.12, 100.77, 57.52, 56.04, 55.14, 53.13, 52.59, 51.52, 39.15, 36.56, 32.03, 27.35, 26.76, 22.22, 11.68.¹



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.76 (bs, 1H), 7.15 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.91 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.83 (dd, *J* = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 4.16 (q, *J* = 6.2 Hz, 1H), 3.85 (s, 4H), 3.73 (s, 3H), 3.49 – 3.40 (m, 1H), 3.19 – 3.08 (m, 2H), 3.08 – 3.02 (m, 1H), 2.99 (dt, *J* = 9.0, 3.1 Hz, 1H), 2.81 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 2.60 (dt, *J* = 13.3, 1.8 Hz, 1H), 2.05 (s, 1H), 2.02 (bs, 1H), 1.97 (dt, *J* = 13.5, 3.4 Hz, 1H), 1.92 – 1.86 (m, 1H), 1.55 (tdd, *J* = 12.5, 3.8, 1.7 Hz, 1H), 1.49 – 1.41 (m, 1H), 1.10 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 174.93, 154.14, 136.63, 130.59, 128.89, 112.26, 111.27, 109.62, 100.64, 71.39, 59.86, 56.01, 54.13, 53.01, 52.23, 51.13, 39.51, 37.02, 26.75, 22.92, 21.60, 20.37.²

6.1.2 Separación y caracterización de alcaloides diméricos del indol

Purificación de voacamina (4): Una mezcla de alcaloides diméricos del indol no separables por cromatografía en columna (1,85 g) (sólido amarronado) se disolvió por completo en MeCN a ebullición (15 mL). Sobre dicha solución se añadió agua a ebullición (17 mL) con agitación constante y luego se filtró para remover impurezas insolubles. La solución se enfrío a temperatura ambiente observándose la aparición de un precipitado, el cual se filtró por papel y se secó a vacío a 50 °C hasta peso constante. Se obtuvo un sólido blanco-grisáceo (843 mg) que se recristalizó de MeOH, para obtener cristales de color violeta, los cuales se filtraron, lavaron con MeOH frío y secaron a vacío hasta peso constante, obteniéndose 540 mg de voacamina (4) pura.

Purificación de voacamidina (**5**): el sobrenadante de la primera cristalización del procedimiento anterior se evaporó a vacío para obtener 1 g de una mezcla de 3 compuestos, que se purificó mediante cromatografía en columna (SiO₂, Hex: AcOEt, 1:1 /1% NH₄OH) para obtener 450 mg de una mezcla de voacamina:voacamidina (1:4). Una porción (50 mg) de esta mezcla se purificó por TLC preparativa utilizando como fase móvil CHCl₃:AcOEt:MeOH, 1:4:0.5/ 0.5% ácido acético, lo que permitió aislar 31 mg de voacamidina (**5**) pura, como un sólido blanco-amarillento.



¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.71 (bs, 1H), 7.56 – 7.51 (m, 1H), 7.46 (bs, 1H), 7.09 – 7.01 (m, 3H), 6.92 (s, 1H), 6.74 (bs, 1H), 5.31 (q, J = 6.6 Hz, 1H), 5.13 (bd, J = 9.7 Hz, 1H), 4.06 – 3.95 (m, 4H), 3.79 – 3.69 (m, 2H), 3.64 (bs, 3H), 3.50 (s, 1H), 3.46 (d, J = 11.5 Hz, 1H), 3.36 (ddd, J = 15.6, 8.6, 5.9 Hz, 1H), 3.22 (dd, J = 14.7, 8.1 Hz, 1H), 3.18 – 3.05 (m, 2H), 3.00 – 2.91 (m, 1H), 2.89 (d, J = 13.8 Hz, 1H), 2.89 – 2.83 (m, 1H), 2.73 – 2.68 (m, 2H), 2.58 (s, 3H), 2.58–2.53 (m, 1H), 2.50–2.44 (m, 1H), 2.46 (s, 3H), 1.98 (bd, J = 14.8 Hz, 1H), 1.83 (bs, 1H), 1.79 (bs, 1H), 1.73 (bd, J = 13.0 Hz, 1H), 1.66 (d, J = 6.4 Hz, 3H), 1.53 (dq, J = 14.7, 7.4 Hz, 1H), 1.41 (dp, J = 14.1, 7.2 Hz, 1H), 1.28 (p, J = 7.1 Hz, 1H), 1.07 (dd, J = 12.5, 7.2 Hz, 1H), 0.87 (t, J = 7.4 Hz, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 175.2, 171.6, 150.8, 138.1, 137.9, 137.1, 135.8, 130.2, 129.9, 129.8, 127.3, 121.5, 118.9, 118.8, 118.5, 117.4, 110.4, 110.3, 109.9, 109.9, 109.8, 99.2, 77.3, 77.0, 76.7, 59.9, 57.1, 56.1, 54.9, 53.1, 52.5, 52.4, 51.8, 49.9, 47.0, 42.4, 39.0, 37.3, 36.4, 33.6, 32.0, 27.3, 26.7, 22.2, 19.4, 12.3, 11.6. ³



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.77 (bs, 1H), 7.57 – 7.48 (m, 1H), 7.39 (bs, 1H), 7.09 – 6.95 (m, 4H), 6.75 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 5.54 (dd, J = 12.7, 2.1 Hz, 1H), 5.31 (q, J = 6.4 Hz, 1H), 4.11 – 4.05 (m, 3H), 4.03 – 3.96 (m, 1H), 3.88 – 3.70 (m, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.62 – 3.33 (m, 5H), 3.29 – 3.13 (m, 3H), 3.03–2.97 (m, 2H), 2.95–2.86 (m, 1H), 2.78 – 2.64 (m, 2H), 2.62 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 2.02 – 1.91 (m, 3H), 1.76 (dd, *J* = 17.6, 7.8 Hz, 1H), 1.71 – 1.56 (m, 4H), 1.50 – 1.41 (m, 1H), 1.34 (dd, *J* = 15.3, 8.3 Hz, 1H), 1.20 – 1.11 (m, 1H), 0.89 (t, J = 7.4 Hz, 3H).¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃): 175.9, 171.9, 152.7, 138.5, 138.1, 138.1, 135.

132.6, 131.9, 130.2, 126.8, 126.5, 120.7, 118.7, 118.2, 117.1, 112.8, 111.1, 109.6, 109.5, 59.9, 58.4, 58.0, 56.0, 54.0, 52.7, 52.0, 51.0, 49.9, 47.3, 42.4, 39.0, 37.2, 33.6, 32.9, 32.7, 31.9, 27.2, 26.8, 25.1, 21.0, 12.3, 11.7.¹

6.1.3 Cribado de Solventes Orgánicos para optimizar la extracción de V. africana

Se añadieron 0,3 g de polvo seco de corteza de raíz de Voacanga africana a un vial de 5 mL, seguido de 30 mg (10% en peso) de NaHCO₃ sólido y 4 mL del solvente a ensayar (MeOH, AcOEt, Hexano, Acetona, DCM). La suspensión resultante se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente y luego se filtró a través de papel de filtro Whatman. El proceso se repitió cuatro veces con el mismo material vegetal. Los extractos orgánicos combinados se evaporaron al vacío para obtener un extracto crudo que se disolvió en CDCl₃ (0,7 mL) con 5 µL de tricloroetileno (TCE) a ser utilizado como estándar interno. Los extractos fueron analizados por ¹H-RMN; la comparación con el espectro de ¹H de los compuestos puros voacangina (**2**) y voacamina (**4**) permitió la selección de señales características, resueltas para cuantificar la cantidad de alcaloides en la muestra, utilizando como referencia el singulete del TCE (6,49 ppm). Se seleccionaron señales para voacangina (**2**): (s, 3,71 ppm), (s, 3,84 ppm), (d, 6,93 ppm) y (dd, 6,80 ppm) y voacamina (**4**): (q, 5,31 ppm), (bd, 5,12 ppm), (s, 2,58 ppm) y (s, 2,46 ppm). La acetona fue seleccionada como el solvente son el mejor perfil de extracción según los datos en la Tabla 4.1.

6.1.4 Extracción con acetona en medio básico

A un matraz Erlenmeyer (1000 mL) conteniendo 100 g corteza de raíz de Voacanga africana seca y pulverizada, se le agregaron 10 g de NaHCO₃ y 800 mL de acetona. La suspensión se sonicó a temperatura ambiente durante 30 minutos y se filtró a través de papel Whatman, decantando el material vegetal. Se recuperó el residuo vegetal y se repitió el mismo procedimiento con 400 mL de acetona destilada, hasta que no se detectaron alcaloides en el sobrenadante mediante análisis de TLC [SiO₂, (8:2 Hex: AcOEt) + 1% NH₄OH]. Los extractos orgánicos combinados se concentraron a vacío para obtener un sólido marrón oscuro que representó el 9-10% de la masa inicial del material vegetal. El extracto se adsorbió en sílica-gel, y fue utilizado para la siembra sólida de una columna de cromatografía preparativa (gradiente: (95:5) \rightarrow (9:1) \rightarrow (8:2) \rightarrow (6:4) \rightarrow (1:1) \rightarrow (3:7) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH). Como resultado, después de tres replicaciones independientes de este procedimiento, se obtuvo 1,06 ± 0,17 % de voacangina (**2**), 0,46 ± 0,02 % de voacristina (**3**) y 2,92 ± 0,21 % de una mezcla de dímeros voacamina (**4**) : voacamidina (**5**) : dímero no identificado (1,75 : 1 : 0,24).

6.1.5 Escalado a 0,5 kg de material vegetal

Se cargaron 0,5 kg de corteza de raíz de *Voacanga africana* seca y pulverizada en un reactor encamisado de 10 L, seguido de 50 g de NaHCO₃ y 4 L de acetona. La suspensión resultante se agitó mecánicamente a 200 rpm y se calentó a 40 °C por 45 minutos; pasado este período se detuvo la agitación, se decantó el material vegetal y el sobrenadante se filtró a través de papel Whatman. Se recuperó el residuo vegetal, y se volvió a extraer con el mismo volumen de acetona destilada 5 veces.

Los extractos orgánicos combinados se concentraron a vacío para obtener un sólido marrón oscuro que representaba el 10-11% de la masa inicial del material vegetal. El extracto se adsorbió en sílicagel, y se utilizó como siembra sólida en una columna de cromatografía preparativa (gradiente de fase móvil: (95:5) \rightarrow (9:1) \rightarrow (8:2) \rightarrow (6:4) \rightarrow (1:1) \rightarrow (3:7) \rightarrow (0:1) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH). Se obtienen siete fracciones de variada composición (F_{A-6}), para las cuales se siguió un esquema de purificación que implicó sucesivas separaciones cromatográficas (ver Figura 4.1.12). Como resultado se obtuvo 4,1 g de voacangina (**2**)(0,82%), 2,2 g de voacristina (**3**) (0,45%) y 11,1 g de voacamina (**4**)(2,20%), 4,72 g de una mezcla de alcaloides bis-indólicos no separables por cromatografía de voacamina (**4**) : voacamidina (**5**) : dímero minoritario no identificado en proporción de 1,7 : 1 : 0,4, (0,94%); 0,15 g (0,03%) de 3-(2-oxopropil)voacangina (**6**), y 0,07 g (0,01%) de Tabernaricatina G (**7**).



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.84 (s, 1H), 7.13 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 6.91 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.80 (dd, J = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.57 (s, 1H), 3.34 (dd, J = 8.6, 4.4 Hz, 1H), 3.31 – 3.17 (m, 2H), 3.17 – 3.10 (m, 1H), 2.98 – 2.91 (m, 1H), 2.70 (dd, J = 16.4, 3.7 Hz, 1H), 2.65 (dd, J = 13.6, 1.8 Hz, 1H), 2.51 (dd, J = 16.2, 8.5 Hz, 1H), 2.11 (s, 3H), 1.96 (ddd, J = 13.5, 4.0, 2.2 Hz, 1H), 1.69 (bs, 1H), 1.65 – 1.51 (m, 1H), 1.49 – 1.37 (m, 1H), 1.35 – 1.19 (m, 2H), 0.89 (t, J = 7.4 Hz, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 208.8, 175.6, 154.0, 137.5, 130.7, 129.1, 111.9, 111.2, 109.9, 100.8, 58.3, 56.0, 55.2, 54.9, 52.7, 51.5, 46.7, 38.5, 37.7, 31.0, 30.8, 27.0, 26.8, 22.2, 11.7.⁴



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.52 (s, 1H), 7.13 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 6.91 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.80 (dd, *J* = 8.5, 2.5 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.63–3.57 (m, 1H), 3.43–3.30 (m, 2H), 3.06–2.97 (m, 1H), 2.93–2.87 (m, 1H), 2.86 (s, 1H), 2.73 (dd, *J* = 16.0, 4.9 Hz, 1H), 2.65–2.51 (m, 2H), 2.17 (s, 3H), 2.14–2.03 (m, 1H), 1.74–1.52 (m, 4H), 1.51–1.39 (m, 2H), 1.35–1.24 (m, 1H), 0.89 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 209.2, 154.0, 142.4, 130.1, 129.8, 110.8, 110.7, 108.8, 100.5, 58.7, 56.0, 53.6, 52.3, 47.6, 41.5, 41.3, 36.0, 31.1, 29.8, 27.4, 26.9, 20.8, 12.0.⁵

6.2 Procedimientos de síntesis y caracterización de compuestos

6.2.1 Ibogaína, (1).⁶

En un balón de dos bocas se coloca 2 (0,547 g, 1,486 mmol) y se disuelve en una mezcla (EtOH:H₂O) (3:2) (37 mL, 0,04 M). Posteriormente se adicionan KOH (0,832 g, 14,86 mmol, 10 eq). La solución se somete a una corriente de argón durante 15 minutos a temperatura ambiente, y durante 5 minutos durante una vez alcanzada la temperatura de reflujo. El sistema se mantiene en calentamiento en estas condiciones durante toda la noche (12-15 h), o hasta constatar el consumo del material de partida mediante análisis por TLC (FM: 8:2 (Hex:AcOEt) + 1% NH4OH), donde el producto se observó como una mancha en el origen de siembra de color violeta mediante revelado con anisaldehído (correspondiente al respectivo carboxilato de sodio). La solución se enfría hasta temperatura ambiente, y se agrega HCl 5 M (11,3 mL, 56,47 mmol, 37 eq). El sistema se calienta nuevamente a temperatura de reflujo durante 15 minutos, cuando se constata la desaparición de la mancha en el origen de siembra en el análisis por TLC (FM: 8:2 (Hex:AcOEt). El sistema se enfría a temperatura ambiente y la solución se neutraliza por agregado de NaHCO₃ sólido, hasta no observar desprendimiento de gas. El etanol se evapora a presión reducida, hasta volumen constante y la fase acuosa se extrae con AcOEt (x4). Las fases orgánicas combinadas se secan con Na₂SO₄, se evapora el disolvente bajo presión reducida y el crudo resultante es purificado por columna cromatográfica FM: 8:2 (Hex:AcOEt) + 1%NH₄OH. Ibogaina (1) se obtiene como un sólido blanco (414 mg, 90% de rendimiento).



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.52 (bs, 1H), 7.14 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.93 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 6.76 (dd, *J* = 8.7, 2.5 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.42 – 3.27 (m, 2H), 3.15 (d, *J* = 13.5 Hz, 1H), 3.07 (dt, *J* = 9.2, 2.4 Hz, 1H), 2.97 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H), 2.90 (dd, *J* = 11.6, 3.7 Hz, 1H), 2.85 (s, 1H), 2.60 (d, *J* = 17.1 Hz, 1H), 2.10 – 1.98 (m, 1H), 1.84 (s, 1H), 1.79 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H), 1.65 (ddd, *J* = 13.3, 6.7, 3.3 Hz, 1H), 1.55 – 1.41 (m, 3H), 1.22 – 1.16 (m, 1H), 0.89 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 154.0, 142.8, 130.1, 129.7, 110.7, 110.7, 109.1, 100.4, 57.5, 56.0, 54.2, 49.9, 41.9, 41.5, 34.2, 32.0, 27.8, 26.4, 20.6, 11.9.¹

6.2.2 19-hidroxi ibogaína (iboxigaina, 12).

En balón de dos bocas se coloca voacristina (**3**) (150mg, 0.390mmol) y se disuelve en una mezcla EtOH:H₂O (3:2) (9,75mL, 0,04M). La solución resultante es sometida a agitación magnética y a un flujo de argón (durante 10–15min) con el objetivo de eliminar oxígeno disuelto en el medio de reacción. Se agrega KOH sólido (219mg, 3.90mmol, 10eq) a temperatura ambiente para luego iniciar el calentamiento, y detener el flujo de argón antes de alcanzar la temperatura de ebullición. La reacción se controla mediante TLC el consumo total de material de partida (FM: (1:1) (Hex:AcOEt) + NH₄OH), lo que ocurre aproximadamente a las 2 horas. El sistema se deja alcanzar temperatura ambiente, se acidifica con HCl 5M (2,9mL, 14.43mmol, 37eq), y se vuelve a calentar para llevar a cabo la reacción de descarboxilación. La misma se controla por TLC, retirando una muestra de la reacción y realizando un reparto AcOEt/NaHCO₃ saturado, donde se observa el consumo total de la mancha en el origen de siembre. El crudo de reacción se neutraliza por el agregado de bicarbonato de sodio sólido, hasta que no se observa desprendimiento de gas, y se rotaevapora el etanol hasta un volumen constante de fase acuosa. La misma se extrae con AcOEt (x3) y el conjunto de las fases orgánicas combinadas se seca con Na₂SO₄, se evapora el solvente a vacío y se purifica el crudo por cromatografía en columna, FM: $(8:2) \rightarrow (7:3) \rightarrow (6:4)$ (Hex:AcOEt) + 1% NH40H. Se obtiene iboxigaina **12** como un sólido blanco (90mg, 70% de rendimiento).



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.70 (s, 1H), 7.14 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.92 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.78 (dd, *J* = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 4.16 (qd, *J* = 6.3, 1.6 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.38 – 3.25 (m, 2H), 3.25 – 3.14 (m, 1H), 3.11 (s, 1H), 3.08 (d, *J* = 9.7 Hz, 2H), 3.04 – 2.96 (m, 2H), 3.00 – 2.92 (m, 2H), 2.73 – 2.63 (m, 1H), 2.13 – 2.00 (m, 1H), 1.98 (ddt, *J* = 7.5, 4.7, 2.5 Hz, 2H), 1.71 – 1.53 (m, 3H), 1.13 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H). ¹³**C NMR (**100 MHz, CDCl₃) δ 154.1, 141.8, 129.9, 129.9, 111.1, 110.9, 108.4, 100.4, 71.6, 60.9, 56.0, 52.9, 49.3, 42.3, 40.5, 34.4, 26.0, 23.1, 20.3, 20.2.³

6.2.3 16-hidroximetil ibogaína (voacanginol, 13).

En un sistema anhidro y bajo atmósfera inerte (N₂), se coloca una solución de voacangina (108,0mg, 0,293mmol) en THF seco (1,2mL, 0,25M). La solución se enfría en baño de hielo, y se agrega gota a gota una solución 1,0M de LiAlH₄ en THF (0,3mL, 0,293mmol, 1,5eq). Una vez completado el agregado, el baño de hielo se retira y se deja llegar a temperatura ambiente, la agitación se mantiene durante 45min. Se constata el consumo total de material de partida mediante análisis por TLC (FM: (7:3) (Hex:AcOEt) + 1%NH₄OH) y la reacción se detiene enfriando en baño de hielo y agregando AcOEt gota a gota, seguido de luego agua fría. El crudo de reacción se filtra por celite, para eliminar aluminatos suspendidos, que se lavan sucesivamente con porciones de AcOEt y MeOH. La solución filtrada se evapora a presión reducida hasta volumen constante y se extrae con AcOEt (x4). El conjunto de las fases orgánicas se seca con Na₂SO₄, se evapora el solvente a presión reducida y el crudo se purifica por cromatografía en columna FM: (8:2) (Hex:AcOEt) + 1%NH₄OH. Voacanginol (5) se obtiene como un sólido blanco (88,2mg, 89% de rendimiento).



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 8.42 (s, 1H), 7.14 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 6.93 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.78 (dd, J = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.77 (d, J = 11.3 Hz, 1H), 3.66 (d, J = 11.3 Hz, 1H), 3.41 – 3.25 (m, 1H), 3.08 (s, 1H), 3.05 – 2.86 (m, 4H), 2.80 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 1.96 (s, 1H), 1.86 – 1.71 (m, 3H), 1.64 (t, J = 11.3 Hz, 1H), 1.60 – 1.46 (m, 2H), 1.37 (d, J = 12.9 Hz, 1H), 1.15 (dd, J = 12.6, 5.9 Hz, 1H), 0.91 (t, J = 7.4 Hz, 3H).¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 153.8, 142.1, 130.5, 128.7, 111.1, 111.1, 100.4, 68.3, 56.1, 54.1, 53.7, 53.4, 47.7, 36.6, 36.2, 32.5, 27.8, 27.5, 21.8.⁷

6.2.4 16-formilibogaína (voacanginal, 14).8

En un balón de dos bocas bajo atmósfera inerte (N₂), se coloca una solución de **5** (33.5mg, 0,099mmol) en una mezcla de DCM:DMSO (3:1) anhidro (1,15mL, 0,086M). Se agrega trietilamina (150 μ L, 1,084mmol, 11,0eq) y se enfría a 0°C con baño de hielo. El complejo SO₃Py (126.0mg, 0,792mmol, 8,0eq), se agrega en porciones sucesivas, a lo largo de 10 minutos. Una vez completado el agregado, el baño de hielo se retira y se deja llegar a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se constata el consumo total de material de partida por TLC (FM: (7:3) (Hex:AcOEt) + 1%NH₄OH) yla reacción se detiene enfriando la solución en baño de hielo y agregando agua y Et₂O. La fase acuosa se extra con Et₂O (x4), y las fases orgánicas combinadas se secan con Na₂SO₄ anhidro. Se filtra y se evapora a presión reducida para obtener un crudo que se purifica por cromatografía en columna FM: (8:2) (Hex:AcOEt) + 1%NH₄OH. Voacanginal (**6**) se obtiene como un aceite incoloro (30,1g, 90% de rendimiento), el cual debe almacenarse a baja temperatura ya que, de lo contrario el aceite toma color amarillo con los días.



¹**H** NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.57 (s, 1H), 7.45 (bs, 1H), 7.13 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 6.95 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.82 (dd, J = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.48 – 3.35 (m, 2H), 3.31 – 3.16 (m, 2H), 3.07 – 2.95 (m, 2H), 2.92 (dt, J = 8.7, 1.9 Hz, 1H), 2.52 (dt, J = 13.4, 2.0 Hz, 1H), 1.92 (s, 1H), 1.80 – 1.62 (m, 2H), 1.53 (dtt, J = 20.6, 13.4, 7.3 Hz, 2H), 1.35 – 1.23 (m, 1H), 1.19 – 1.08 (m, 1H), 0.88 (t, J = 7.4 Hz, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 201.2, 154.1, 134.4, 130.9, 129.4, 112.7, 112.3, 111.3, 100.6, 59.5, 56.7, 55.9, 53.4, 52.3, 38.6, 32.1, 31.7, 27.3, 27.0, 22.1, 11.5.⁹

6.2.5 7-bencilindolenina del voacanginol (15).

En un sistema anhidro y bajo atmósfera inerte (N₂), se coloca una solución de **5** (36,6mg, 0,107mmol) en DMF seco (1mL, 0,08M). La solución se enfría a -10°C en baño de hielo y sal, y se agrega hidruro de sodio (3,5mg, 0,110mmol, 1,1eq) en una única vez. La solución se agita durante 5-10 minutos, retirando el baño de hielo, y se agrega bromuro de bencilo (107µL, 0,320mmol, 4,0eq). Se agita a temperatura ambiente durante 2hs, y luego, habiendo constatado el consumo del material de partida por TLC (FM: (7:3) (Hex:AcOEt) + 1%NH₄OH), la reacción se detiene con el agregado de agua. Se extrae con Et₂O (x4), y las fases orgánicas combinadas se secan con sulfato de sodio. Se evapora a presión reducida para obtener un crudo de reacción, que se purifica por cromatografía en columna utilizando gradiente FM: (9:1) \rightarrow (8:2) \rightarrow (7:3) (Hex:AcOEt) agregando siempre un 1% de NH₄OH_(cc) a la fase móvil. El producto sustituido en C7 se obtiene como un sólido amorfo gris (15,2mg, 33% de rendimiento).



¹H NMR (400 MHz, CDCl3) δ 7.45 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.25 (d, J = 3.1 Hz, 3H), 6.89 (dd, J = 6.6, 2.9 Hz, 2H), 6.81 (dd, J = 8.4, 2.5 Hz, 1H), 5.76 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 3.82 – 3.69 (m, 3H), 3.63 (tt, J = 12.0, 4.2 Hz, 1H), 3.58 (s, 3H), 3.36 (d, J = 9.7 Hz, 1H), 3.23 (ddd, J = 15.2, 4.3, 2.2 Hz, 1H), 3.07 (s, 1H), 2.71 (s, 2H), 2.60 (d, J = 13.8 Hz, 1H), 2.38 (ddd, J = 13.6, 5.0, 2.5 Hz, 1H), 1.89 (d, J = 14.0 Hz, 1H), 1.85 (s, 1H), 1.80 – 1.68 (m, 3H), 1.56 (d, J = 7.0 Hz, 2H), 1.18 – 1.12 (m, 1H), 0.95 (t, J = 7.4 Hz, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl3) δ 193.6, 157.3, 146.1, 144.7, 136.4, 130.7, 128.0, 127.0, 120.4, 113.4, 109.2, 67.7, 63.8, 57.4, 55.4, 52.8, 50.9, 49.1, 39.7, 36.7, 36.5, 32.8, 29.0, 27.2, 27.0, 11.8.

6.2.6 10-hidroxi ibogamina, (Noribogaína, 16).¹⁰

En un sistema anhidro y bajo atmósfera de argón, se colocó ibogaína sólida (420mg, 1,353mmol) y se disolvió en 1,2-DCE seco (13,5mL, 0,1M). A la solución se agregó etanotiol (390µL, 5,41mmol, 4,0eq) con agitación magnética constante, y la solución se enfrió en baño de hielo. Se agregó gota a gota una solución 1M de tribromuro de boro en DCM (2,0mL, 2,03mmol, 1,5eq) en el correr de 10 minutos. Pasado este tiempo el baño de hielo se retiró y el sistema se calentó a reflujo por 1,5 horas. Habiendo constatado el consumo del material de partida por TLC (FM: (1:1) (Hex:AcOEt) + 1%NH₄OH), la solución se enfría en baño de agua, y se agrega MeOH gota a gota hasta la disolución total del

precipitado marrón. Se agrega solución saturada de NaHCO₃ (hasta alcanzar pH = 9) y la capa acuosa se extrae con AcOEt (x4). Las fases orgánicas combinadas se secan con Na₂SO₄ y se evapora el solvente a presión reducida para obtener un crudo que se purifica por cromatografía en columna FM: (1:1) (Hex:AcOEt) + 1%NH₄OH. Se obtiene noribogaína como un sólido blanco (390mg, 95% de rendimiento).



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.53 (bs, 1H), 7.09 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.86 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.67 (dd, J = 8.5, 2.4 Hz, 1H), 3.38 – 3.31 (m, 1H), 3.31 – 3.23 (m, 1H), 3.17 – 3.06 (m, 1H), 3.05 (dt, J = 9.0, 1.7 Hz, 1H), 2.97 (dt, J = 9.3, 2.8 Hz, 1H), 2.88 (ddd, J = 11.7, 4.1, 1.9 Hz, 1H), 2.85 (s, 1H), 2.58 – 2.48 (m, 1H), 2.09 – 1.97 (m, 1H), 1.84 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 1.83 – 1.74 (m, 1H), 1.63 (dq, J = 13.2, 3.4 Hz, 2H), 1.60 – 1.38 (m, 2H), 1.21 (ddt, J = 12.8, 5.3, 2.5 Hz, 1H), 0.89 (t, J = 7.1 Hz, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 149.3, 143.1, 130.4, 129.8, 110.6, 110.3, 108.7, 102.8, 57.5, 54.2, 49.9, 42.0, 41.5, 34.1, 32.0, 27.8, 26.4, 20.6, 11.9.¹¹

6.2.7 10,19-dihidroxi ibogamina (Noriboxigaina, 17).

Se realizó un procedimiento análogo al descrito anteriormente (7.2.6) utilizando iboxigaína sólida (30mg, 0,092mmol), etanotiol (27μL, 0,368mmol, 4,0eq) y solución 1M de tribromuro de boro en DCM (139μL, 0,139mmol, 1,5eq). El consumo del material de partida se controló por TLC (FM: (1:1) (Hex:AcOEt) + 1%NH₄OH); el producto se purificó por cromatografía en columna FM: (1:1) (Hex:AcOEt) + 1%NH₄OH; se obtiene noribogoxigaína como un sólido blanco (23mg, 80% de rendimiento).



¹**H NMR** (500 MHz, CD₃OD) δ 7.0 (dd, *J* = 8.6, 0.6 Hz, 1H), 6.8 (dd, *J* = 2.3, 0.6 Hz, 1H), 6.6 (dd, *J* = 8.5, 2.3 Hz, 1H), 4.1 (dd, *J* = 6.2, 1.9 Hz, 1H), 3.3 (dd, *J* = 16.7, 4.7 Hz, 1H), 3.2 – 3.1 (m, 2H), 3.1 – 3.0 (m, 2H), 2.9 (dt, *J* = 9.8, 3.1 Hz, 1H), 2.7 – 2.6 (m, 1H), 2.1 (ddt, *J* = 14.0, 11.6, 2.7 Hz, 1H), 2.0 (s, 1H), 1.9 – 1.8 (m, 1H), 1.7 – 1.7 (m, 1H), 1.7 (ddd, *J* = 12.1, 3.3, 1.9 Hz, 1H), 1.6 (dq, *J* = 13.2, 3.4 Hz, 1H), 1.1 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (126 MHz, CD₃OD) δ 151.1, 143.4, 131.5, 131.5, 111.6, 111.3, 107.7, 103.1, 73.1, 62.0, 54.2, 50.4, 43.5, 40.9, 35.3, 27.4, 24.5, 21.2, 20.3. **TLC-MS(APCI+) (m/z):** 313.3 [M+H]^{+.12}

6.2.8 Ibogamina (**18**).

En un sistema anhidro y bajo atmósfera inerte (Ar), se coloca una solución de noribogaína (66,0mg, 0,222mmol) en DCM anhidro (1,2mL, 0,2M), se agrega trietilamina (75 μ L, 0,035mmol, 2,0eq) y la solución se enfría a 0°C con baño de hielo. Se añade anhidrido tríflico (47 μ L, 0,268mmol, 1,2eq) gota a gota. Una vez completado el agregado, el baño de hielo se retira y se deja llegar a temperatura ambiente, la agitación se mantiene por 15 minutos. Se constata el consumo total de material de partida por TLC (FM: (6:4) (Hex:AcOEt) + 1%NH4OH), el producto de reacción revela al UV pero no con anisaldehido (se recomienda revelado con permanganato de potasio). La reacción se detiene enfriando la solución en baño de hielo y agregando agua fría y AcOEt. La fase acuosa se extrae (AcOEtx4) y el conjunto de las fases orgánicas se seca con Na₂SO₄. Se evapora el disolvente a presión reducida y el crudo de reacción conteniendo el triflato de noribogaína se utiliza sin purificación.

En balón de dos bocas equipado con una salida de gases, se coloca una solución del crudo anterior en una mezcla AcOEt:MeOH (1:3) (6,0mL, 0,03M). Se agrega el catalizador Pd(OH)₂/C (Pearlman's Catalyst) (10,5mg) y la suspensión se agita a temperatura ambiente. Se burbujea la solución con H₂ gaseoso primero con un flujo alto, para saturar la solución y el sistema, y luego con un flujo mínimo durante toda la noche. Luego de 48hs, y habiendo constatado el consumo de material de partida por TLC (FM: (7:3) (Hex:AcOEt) + 1%NH₄OH), la suspensión se filtra por papel plegado, lavando el catalizador con sucesivas porciones de AcOEt y MeOH. El catalizador se destruye con agua, y la solución filtrada se evapora a presión reducida, el crudo de reacción se purifica por cromatografía en columna FM: (6:4) (Hex:AcOEt) + 1%NH₄OH. Ibogamina se obtiene como sólido blanco (40,2mg, 78% de rendimiento). Se aíslan también cantidades traza de noribogaina correspondientes a la hidrólisis del material de partida.



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.62 (s, 1H), 7.47 (dd, J = 6.6, 1.9 Hz, 1H), 7.28 – 7.22 (m, 1H), 7.15 – 7.04 (m, 2H), 3.43 – 3.30 (m, 2H), 3.20 – 3.08 (m, 1H), 3.07 (dt, J = 9.2, 2.3 Hz, 1H), 2.98 (dt, J = 6.5, 2.9 Hz, 1H), 2.93 (ddd, J = 11.6, 4.1, 1.9 Hz, 1H), 2.86 (s, 1H), 2.73 – 2.63 (m, 1H), 2.10 – 1.98 (m, 1H), 1.87 – 1.76 (m, 2H), 1.65 (dq, J = 13.2, 3.2 Hz, 2H), 1.54 (dt, J = 14.1, 7.5 Hz, 1H), 1.46 (dd, J = 11.4, 4.2 Hz, 1H), 1.24 – 1.16 (m, 1H), 0.90 (t, J = 7.1 Hz, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 141.8, 134.6, 129.7, 120.9, 119.1, 117.9, 110.0, 109.2, 57.5, 54.1, 49.9, 41.9, 41.5, 34.2, 32.1, 27.8, 26.5, 20.6, 11.9.²

6.2.9 N1-(tert-butoxicarbonil) voacangina (22)

En un sistema anhidro y bajo atmósfera inerte (Ar), se coloca voacangina (55,8mg, 0,151mmol), y se disuelve en tolueno seco (1,5mL, 0,08M). Posteriormente se agrega dicarbonato de di-terc-butilo (Boc₂O) (198mg, 0,906mmol, 6,0eq) y 4- dimetilaminopiridina (DMAP) (56mg, 0,362mmol, 3,0eq), y la solución se calienta a 80°Cpor 10 horas bajo agitación magnética. La reacción se monitorea por TLC FM: (9:1)(Hex:AcOEt) + 1%NH₄OH, y se detiene llevando el sistema a temperatura ambiente y agregando agua y AcOEt. La fase acuosa se extrae con AcOEt (x4), se seca con Na₂SO₄ y el solvente se evapora a presión reducida. El crudo obtenido se purifica por columna cromatográfica FM (95:5)(Hex:AE) + 1%NH₄OH. El producto protegido se obtiene como un aceite incoloro (32mg, 55% de rendimiento).



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.8 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 6.9 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 6.9 (dd, *J* = 9.1, 2.6 Hz, 1H), 3.9 (s, 3H), 3.6 (s, 3H), 3.6 – 3.5 (m, 1H), 3.5 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 3.2 (ddd, *J* = 15.4, 13.4, 6.3 Hz, 1H), 3.0 (ddd, *J* = 8.1, 3.5, 2.6 Hz, 1H), 2.9 – 2.8 (m, 1H), 2.8 – 2.8 (m, 1H), 2.7 (td, *J* = 13.0, 5.1 Hz, 1H), 2.6 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 2.0 (dt, *J* = 13.2, 6.2 Hz, 1H), 1.9 – 1.8 (m, 1H), 1.8 – 1.8 (m, 1H), 1.7 (dt, *J* = 13.8, 3.2 Hz, 2H), 1.6 (s, 8H), 1.5 (tt, *J* = 13.0, 6.4 Hz, 3H), 1.1 – 1.0 (m, 1H), 0.9 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 174.1, 155.7, 150.3, 140.8, 130.5, 130.0, 117.7, 116.4, 112.3, 101.0, 83.7, 57.3, 55.8, 55.7, 54.8, 53.0, 52.1, 37.1, 36.4, 31.9, 28.3, 28.2, 27.6, 22.1, 11.7.¹³

6.2.10 N1-(tert-butoxicarbonil) ibogaína (23).

Se siguió un protocolo análogo al descrito en 7.2.9, utilizando las siguientes cantidades ibogaína (37,3mg, 0,120mmol), DCM seco (1,5mL, 0,08M) como solvente, anhídrido Boc (39mg, 0,181mmol, 1,5eq) y (DMAP) (23mg, 0,181mmol, 1,5eq). A diferencia del protocolo anterior la solución se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, la purificación por columna cromatográfica empleó FM: (9:1)(Hex:AE) + 1%NH₄OH. Como producto se como un aceite incoloro (33,7mg, 70% de rendimiento).



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.42 – 7.34 (m, 1H), 6.87 – 6.80 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.40 (ddd, J = 15.4, 12.4, 3.3 Hz, 1H), 3.14 (d, J = 2.9 Hz, 1H), 3.01 (d, J = 11.4 Hz, 1H), 2.97 – 2.88 (m, 1H), 2.77 (dt, J = 8.9, 3.3 Hz, 1H), 2.73 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 2.39 (ddt, J = 13.5, 4.8, 2.2 Hz, 1H), 2.16 – 2.05 (m, 1H), 1.95 (dt, J = 14.7, 2.6 Hz, 1H), 1.91 – 1.78 (m, 2H), 1.78 – 1.70 (m, 1H), 1.56 – 1.40 (m, 4H), 1.37 (s, 9H), 1.14 (dd, J = 12.6, 6.1 Hz, 1H), 0.93 (t, J = 7.1 Hz, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 187.6, 158.4, 150.6, 145.9, 140.2, 120.7, 113.6, 107.6, 92.0, 83.3, 55.7, 53.5, 49.5, 49.3, 43.6, 40.3, 32.6, 32.4, 32.0, 27.5, 27.1, 26.6, 11.8.¹⁴

6.2.11 N1-metil voacangina (24).

En un sistema anhídro y bajo atmósfera inerte (Ar), se coloca voacangina (44 mg, 0,108 mmol) y se disuelve en DMF anhidra (0,3 mL, 0,4 M). La solución se enfría en baño de hielo, y se agrega hidruro de sodio (5 mg, 0,142 mmol, 1,3 eq), se deja con agitación constante 10–15minutos, retirando baño de hielo. Luego se agrega ioduro de metilo (9 µL, 0,142 mmol, 1,3 eq) y pasadas 1,5hs se controla el consumo de material de partida por TLC (9:1)(Hex:AE) + 1%NH₄OH, y la reacción se diluye en agua y se agrega dietiléter. La fase acuosa se extrae con dietiléter (x3), el conjunto de las fases orgánicas se seca con Na₂SO₄, y el solvente se evapora a presión reducida. El crudo se purifica por cromatografía en columna FM: (95:5)(Hex:AE) + 1%NH₄OH. El producto se obtiene como un aceite incoloro (30,5mg, 66% de rendimiento).



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.10 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.98 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.84 (dd, J = 8.8, 2.4 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.73 (s, 1H), 3.63 (s, 3H), 3.58 (ddd, J = 12.2, 6.0, 2.2 Hz, 1H), 3.50 (s, 3H), 3.18 (ddd, J = 15.7, 12.8, 6.0 Hz, 1H), 3.10 (dt, J = 8.5, 2.8 Hz, 1H), 2.99 – 2.88 (m, 2H), 2.76 (td, J = 12.5, 5.2 Hz, 1H), 2.62 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 1.87 – 1.78 (m, 3H), 1.52 (ddd, J = 14.9, 8.2, 3.5 Hz, 1H), 1.48 – 1.40 (m, 2H), 1.14 – 1.06 (m, 1H), 0.89 (t, J = 7.0 Hz, 3H).¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 175.4, 153.9, 139.9, 132.4, 127.7, 111.2, 110.4, 109.4, 100.6, 57.4, 56.1, 54.6, 54.5, 54.3, 52.6, 37.6, 35.7, 31.7, 31.0, 27.9, 27.3, 22.1, 11.7.¹⁵

6.2.12 N1-metilibogaína (25).

En sistema anhidro y bajo atmosfera inerte (Ar), se disuelve ibogaina (101 mg, 0,326 mmol) en DMSO seco (1,2 mL, 0,30 M). Agitando a temperatura ambiente se agrega KOH (56 mg, 1,109 mmol, 3,4eq) recién molido, pasados 5 minutos se agrega ioduro de metilo (31 μ L, 0,489 mmol, 1,5 eq). La solución se agita a temperatura ambiente durante 50 minutos, y se constata el consumo de material de partida por TLC FM: (9:1)(Hex:AcOEt) + 1%NH₄OH. Se diluye la reacción con agua y se extra con dietiléter (x3), el conjunto de las fases orgánicas se seca con Na₂SO₄, y el solvente se evapora a presión reducida. El crudo se purifica por cromatografía en columna FM: (9:1)→(8:2) (Hex: AcOEt) + 1%NH₄OH. El producto se obtiene como un aceite incoloro (80,1mg, 75% de rendimiento).



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.11 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 6.93 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.81 (dd, J = 8.8, 2.5 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.60 (s, 3H), 3.33 (td, J = 15.8, 14.5, 4.5 Hz, 2H), 3.18 (d, J = 13.0 Hz, 1H), 3.08 (dd, J = 12.2, 4.6 Hz, 1H), 3.04 – 2.95 (m, 2H), 2.86 (s, 1H), 2.69 (d, J = 16.5 Hz, 1H), 2.06 (t, J = 12.3 Hz, 1H), 1.90 – 1.76 (m, 2H), 1.56 – 1.41 (m, 3H), 1.24 – 1.21 (m, 1H), 0.91 (t, J = 7.2 Hz, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 153.8, 143.9, 131.4, 128.4, 110.4, 109.3, 108.5, 100.4, 57.3, 56.1, 54.3, 50.3, 42.4, 38.6, 33.6, 32.0, 29.7, 27.8, 26.5, 21.0, 11.9.¹⁶

6.2.13 7-metoxi indolenina de ibogaína (26)

Se realizó un procedimiento análogo al descrito en 7.2.11 pero con las siguientes cantidades: ibogaína (101 mg, 0,326 mmol), DMF seco (3,2 mL, 0,1 M), NaH (12 mg, 0,489 mmol, 1,5 eq) y ioduro de metilo (31µL, 0,489mmol, 1,5eq). Luego de 30 minutos, a diferencia del protocolo anterior, se realizó un segundo agregado de 1,5 eq más de base y de agente metilante. El consumo de material de partida se realizó por TLC con FM: (9:1)(Hex:AE) + 1%NH₄OH, luego de un tiempo de reacción de 30 minutos. Para la purificación cromatográfica se empleó FM: (9:1)→(8:2) (Hex:AE) + 1%NH₄OH. Se obtuvo una mezcla de N-metilibogaína e ibogaína 7-metoxiindolenina en proporción (1 : 1,3) como un aceite incoloro (53mg, 51% de rendimiento). Una segunda separación por cromatografía en columna permitió obtener una fracción pura de la indolenina para su identificación estructural.



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.4 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 6.8 (dd, *J* = 8.3, 2.6 Hz, 1H), 6.8 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 3.8 (s, 3H), 3.4 (ddd, *J* = 15.3, 12.1, 3.7 Hz, 1H), 3.3 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 3.0 (s, 3H), 3.0 (dd, *J* = 8.5, 4.9 Hz, 0H), 2.9 (ddd, *J* = 14.7, 4.5, 2.1 Hz, 1H), 2.8 (dt, *J* = 9.2, 2.9 Hz, 1H), 2.7 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 2.2 (dt, *J* = 9.5, 2.2 Hz, 2H), 1.9 (ddd, *J* = 15.1, 12.1, 4.3 Hz, 1H), 1.9 – 1.8 (m, 2H), 1.8 – 1.7 (m, 0H), 1.5 (q, *J* = 7.7 Hz, 3H), 1.2 (dd, *J* = 13.1, 5.3 Hz, 1H), 0.9 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 189.8, 158.6, 146.5, 140.0, 120.5, 113.8, 108.6, 93.8, 55.7, 53.5, 53.1, 49.6, 49.1, 44.2, 40.5, 33.5, 32.5, 31.9, 27.2, 27.0, 11.7. **IR** v_{max} 2930, 2855, 1599, 1560, 1474, 1358, 1281, 1213, 1155, 1119, 1030, 822 cm⁻¹; **[a]**_D +8.9 (c 0.27, DCM).

6.2.14 N1-bencil ibogaína (27).17

En un sistema anhidro y bajo atmósfera inerte (Ar), se coloca ibogaína (30mg, 0,096mmol), se disuelve en MeCN seco (1,5mL, 0,06M) y se agrega CsCO₃ (168mg, 0,480mmol, 5eq). La solución se enfría en baño de hielo, y se agrega bromuro de bencilo (47µL, 0,392mmol, 4,0eq), se deja con agitación constante 8 horas retirando baño de hielo. Pasado este tiempo se controla el consumo de material de partida por TLC (7:3)(Hex:AE) + 1%NH₄OH, la reacción se diluye en agua (15mL) y se agrega AcOEt. La fase acuosa se extrae con AcOEt (x3), el conjunto de las fases orgánicas se seca con Na₂SO₄ anhidro, y el solvente se evapora a presión reducida. El crudo se purifica por cromatografía en columna FM: (8:2)(Hex:AE) + 1%NH₄OH. La N1-bencil ibogaína se obtiene como un sólido blanco (25mg, 65% de rendimiento).



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.3 – 7.2 (m, 7H), 7.1 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.0 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.0 – 6.9 (m, 2H), 6.8 (dd, *J* = 8.8, 2.5 Hz, 1H), 5.3 (s, 2H), 3.9 (s, 3H), 3.5 – 3.4 (m, 1H), 3.4 – 3.3 (m, 2H), 3.2 – 3.1 (m, 1H), 3.1 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), 3.0 (dt, *J* = 9.4, 2.6 Hz, 1H), 2.9 (dd, *J* = 11.5, 4.8 Hz, 1H), 2.8 (s, 1H), 2.7 (dt, *J* = 17.0, 3.3 Hz, 1H), 1.8 (s, 1H), 1.7 – 1.7 (m, 1H), 1.5 – 1.4 (m, 3H), 1.1 (dd, *J* = 12.6, 3.3 Hz, 1H), 0.8 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).¹⁶

6.2.15 N1-metil-19-hidroxi ibogaina (28)

Se realizó un protocolo análogo al descrito en 7.2.11 pero con las siguientes cantidades: iboxigaína (30mg, 0,091mmol), THF (1,5mL, 0,08M) como disolvente, NaH (6,6mg, 0,276mmol, 3,0eq), y ioduro de metilo (24,3µL, 0,408mmol, 4,0eq). A diferencia del protocolo anterior, el sistema se calienta a 50°C por 4 horas. El consumo de material de partida por TLC empleó FM: (7:3)(Hex:AE) + 1%NH40H. Para la purificación cromatográfica se empleó FM: (8:2)(Hex:AE) + 1%NH40H. La N-metiliboxigaína se obtiene como un sólido blanco (18mg, 58% de rendimiento).



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.1 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.9 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 6.8 (dd, *J* = 8.8, 2.4 Hz, 1H), 4.2 (qd, *J* = 6.6, 1.3 Hz, 2H), 3.9 (s, 3H), 3.6 (s, 3H), 3.4 – 3.2 (m, 2H), 3.3 – 3.2 (m, 1H), 3.2 (ddd, *J* = 11.8, 4.0, 2.0 Hz, 2H), 3.1 (s, 1H), 3.1 (d, *J* = 9.7 Hz, 2H), 3.0 (dt, *J* = 9.7, 2.8 Hz, 2H), 2.8 – 2.7 (m, 1H), 2.1 (t, *J* = 12.4 Hz, 2H), 2.0 (dh, *J* = 8.3, 2.7 Hz, 2H), 1.7 (dd, *J* = 11.0, 5.6 Hz, 3H), 1.6 (ddd, *J* = 13.1, 4.0, 1.9 Hz, 1H), 1.6 (dq, *J* = 13.0, 3.5 Hz, 1H), 1.1 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 153.9, 142.9, 131.5, 128.3, 110.9, 109.5, 107.8, 100.4, 71.5, 60.7, 56.1, 52.9, 49.5, 42.7, 37.7, 33.8, 29.8, 26.0, 23.0, 20.5, 20.3. **GCMS (IE)** (m/z): 340,15 [M]⁺, 325,15 [M–Me]⁺.

6.2.16 N1-bencil voacristina (29), y

6.2.17 7-bencil indolenina de voacristina (30)

Se realizó un procedimiento análogo al descrito en 7.2.5 pero con las siguientes cantidades: voacristina (32mg, 0,082mmol), DMF seco (2,0mL, 0,05M) como solvente, NaH (5mg, 0,196mmol, 2,5eq), y bromuro de bencilo (30µL, 0,246mmol, 3,0eq). A diferencia del protocolo anterior, el sistema se calientó a 50°C; el tiempo de reacción fue de 12 horas, el consumo de material de partida por TLC empleó FM: (6:4)(Hex:AE) + 1%NH40H. Para la purificación por cromatografía en columna se empleó FM: (8:2)(Hex:AcOEt) + 1%NH40H. Se obtuvo como producto N-bencili voacristina (10,5mg, 27%) y voacristina 7-bencilindolenina (ver abajo= (17,5mg, 45% de rendimiento), ambos como aceites incoloros.



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.2 – 7.1 (m, 3H), 7.0 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.8 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.8 – 6.7 (m, 3H), 6.4 (s, 1H), 5.3 (d, J = 17.7 Hz, 1H), 5.2 (d, J = 17.7 Hz, 1H), 4.1 – 4.0 (m, 2H), 3.9 (s, 3H), 3.6 (ddd, J = 12.5, 5.8, 2.0 Hz, 1H), 3.4 – 3.3 (m, 1H), 3.2 – 3.2 (m, 1H), 3.1 (s, 3H), 3.1 – 2.9 (m, 2H), 2.8 – 2.7 (m, 1H), 2.6 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 2.0 – 1.9 (m, 2H), 1.9 – 1.8 (m, 0H), 1.6 – 1.5 (m, 1H), 1.4 (dd, J = 10.5, 6.4 Hz, 1H), 1.1 (d, J = 6.4 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 173.9, 154.2, 138.7, 137.3, 132.1, 128.5, 127.7, 126.9, 125.7, 112.0, 111.1, 110.7, 100.4, 71.4, 57.5, 56.9, 55.9, 53.7, 53.6, 52.6, 47.7, 38.4, 36.2, 27.4, 22.5, 21.8, 20.3.



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.52 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.30 – 7.25 (m, 6H), 6.95 – 6.90 (m, 2H), 6.80 (dd, J = 8.5, 2.6 Hz, 1H), 6.20 (s, 1H), 5.65 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 4.19 (qd, J = 6.2, 1.1 Hz, 1H), 4.05 (s, 1H), 3.98 (d, J = 14.2 Hz, 1H), 3.80 (td, J = 14.3, 13.2, 2.8 Hz, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.55 (s, 3H), 3.18 – 3.10 (m, 1H), 2.90 – 2.83 (m, 2H), 2.84 – 2.78 (m, 1H), 2.70 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 2.62 (d, J = 14.2 Hz, 1H), 2.56 (dt, J = 14.0, 3.5 Hz, 1H), 2.06 (s, 1H), 1.95 – 1.85 (m, 2H), 1.72 – 1.67 (m, 1H), 1.64 – 1.57 (m, 1H), 1.56 – 1.50 (m, 1H), 1.11 (d, J = 6.3 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 187.4, 172.4, 157.5, 146.4, 144.4, 136.4, 131.0, 128.0, 126.9, 121.2, 113.7, 109.3, 71.7, 63.9, 60.5, 58.6, 55.4, 52.9, 49.8, 48.7, 39.1, 38.6, 36.9, 28.4, 26.7, 23.0, 20.4.

6.2.18 Procedimiento general para oxidación con oxígeno en oscuridad. Obtención de los compuestos (**32a**) y (**33**).¹⁸

En un balón de dos bocas, previamente secado y purgado con O₂ se coloca el alcaloide de la iboga (0,10mmol) en tolueno seco (2mL, 0,05M). Se ajusta el flujo de oxígeno (1 burbuja cada 2 segundos) y se cubre la totalidad del sistema con aluminio para evitar la incidencia de radiación lumínica. Se constata consumo de material de partida por TLC (FM: (7:3) x2 (Hex:AcOEt) + NH₄OH), se evapora el tolueno y el crudo se purifica directamente por cromatografía en columna utilizando sílica gel como fase estacionaria.

Cuando ibogaína (1) se utilizó como material de partida la purificación cromatográfica se realizó empleando FM: (8:2) \rightarrow (7:3) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH. Se obtuvo ibogaina 7-hidroxiindolenina **32a** como un sólido amarillo palido (14mg, 46%) y la amidocetona (desoxy-ervaoffines D) **33** (3mg, 10%) como un aceite incoloro.

Cuando voacangina (**2**) se utilizó como material de partida, la solución se calentó a 50 °C luego de ser cubierta de la radiación lumínica. No se observó reacción en el período de 12 horas.

7-hidroxi indolenina de ibogaína (32a)



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.15 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.86 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.76 (dd, J = 8.4, 2.6 Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.52 (s, 1H), 3.50 – 3.38 (m, 1H), 3.07 – 2.99 (m, 1H), 2.96 (bd, J = 13.8 Hz, 1H), 2.79 (bd, J = 7.5 Hz, 1H), 2.72 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 2.18 (t, J = 12.5 Hz, 1H), 2.06 (bd, J = 11.4 Hz, 1H), 1.93 (td, J = 13.7, 12.4, 4.3 Hz, 1H), 1.88 – 1.79 (m, 2H), 1.80 – 1.69 (m, 1H), 1.57 – 1.38 (m, 3H), 1.16 (dd, J = 12.1, 5.7 Hz, 1H), 0.93 (t, J = 7.2 Hz, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 191.36, 158.59, 145.68, 143.26, 120.41, 113.68, 108.21, 87.44, 55.76, 53.63, 49.56, 49.11, 43.44, 40.53, 33.87, 32.14, 31.82, 27.22, 27.20, 11.76.¹⁹

3-deoxo-ervaoffina D (33)



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 12.29 (s, 1H), 7.96 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.03 (dd, J = 8.9, 3.0 Hz, 1H), 6.80 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.52 – 3.41 (m, 1H), 3.43 – 3.31 (m, 2H), 3.12 (ddd, J = 8.9, 4.4, 2.2 Hz, 1H), 3.03 (s, 1H), 2.86 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 2.40 (dd, J = 10.5, 7.3 Hz, 1H), 2.20 (ddd, J = 13.7, 4.2, 1.8 Hz, 1H), 2.08 – 1.96 (m, 1H), 1.95 – 1.90 (m, 1H), 1.79 – 1.66 (m, 3H), 1.66 – 1.55 (m, 1H), 1.54 – 1.41 (m, 1H), 1.38 (ddd, J = 10.4, 4.2, 2.7 Hz, 1H), 0.97 (t, J = 7.3 Hz, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 208.25,

174.11, 155.26, 132.94, 130.30, 122.45, 118.77, 111.47, 55.67, 54.81, 53.54, 52.47, 46.46, 42.41, 40.92, 31.08, 30.47, 28.87, 26.75, 12.36. **IR vmax** 2955, 2931, 2866, 1682, 1612, 1556, 1493, 1163, 1036 cm⁻¹; **HRMS** m/z 343.2014 [M + H]+ (Calc. C₂₀H₂₆N₂O₃, 343.2016); **[α]D** -0.98 (c 2.02, DCM).

6.2.19 Procedimiento general para la oxidación de alcaloides de la iboga con con oxígeno, utilizando Rosa de Bengala como fotosensibilizador. Obtención de los compuestos (32a) (31b) (32b) y (33).¹⁸

En un balón de dos bocas, previamente secado y purgado con O₂ se coloca el alcaloide de la iboga respectivo (0,071mmol), se disuelve en tolueno seco (1,5mL, 0,05M) y se agrega el fotosensibilizador Rosa de Bengala sólido (1mol%). La suspensión se agita a temperatura ambiente y se ajusta el flujo de oxígeno (1 burbuja cada 2 segundos), se coloca luz LED blanca (25W) a 1cm del balón de reacción y se cubre la totalidad del sistema con aluminio. Una vez constatado el consumo de material de partida por TLC (FM: (7:3) (Hex:AcOEt) + 1 % NH₄OH), se evapora el tolueno y se purifica el crudo por cromatografía en columna.

Cuando voacangina se usa como material de partida, el tiempo de reacción fue de 17 h, y se utilizó FM: (8:2) (Hex:AcOEt) + 1% NH4OH, para la purificación cromatográfica. Se obtuvo voacangina 7-hidroperoxiindolenina **31b** como un aceite incoloro **(**7mg, 23%**)** y una mezcla de **31b** con la 7-hidroxiindolenina **32b** en proporción (1:1) (21% de **31b**, 21% de **32b**) como un aceite incoloro. El espectro de **32b** puro, obtenido por oxidación con ácido *m*-cloroperbenzoico (más adelante), coincide con las señales en el RMN de la mezcla.

Cuando ibogaína (**1**) se utilizó como material de partida (62mg, 0,201mmol), el crudo se purificó por cromatografía en columna utilizando FM: (8:2) \rightarrow (1:1) (HEX:AcOEt) + 1% NH₄OH. Se obtuvo ibogaina 7-hidroxiindolenina **32a** como un sólido amarillo pálido (20mg, 33%) y 3-desoxo-ervaoffines D **33** (9mg, 15%) como un aceite incoloro.

7-peroxi indolenina de voacangina (31b)



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10.72 (s, 1H), 7.39 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.95 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.84 (dd, J = 8.4, 2.6 Hz, 1H), 3.88 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.34 (ddd, J = 15.7, 10.5, 5.3 Hz, 1H), 2.97 – 2.87 (m, 1H), 2.89 – 2.81 (m, 1H), 2.81 – 2.70 (m, 2H), 2.40 (dt, J = 14.1, 3.2 Hz, 1H), 2.08 – 1.99 (m, 3H), 1.93 (s, 1H), 1.82 – 1.70 (m, 0H), 1.46 (ddt, J = 24.2, 13.6, 6.8 Hz, 2H), 1.34 – 1.20 (m, 2H), 1.17 – 1.06 (m, 1H), 0.89 (t, J = 7.4 Hz, 4H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 184.17, 175.61, 159.36, 145.20, 140.28,

121.54, 114.22, 108.10, 98.87, 59.20, 57.79, 55.76, 53.69, 48.95, 48.69, 38.66, 35.90, 32.38, 31.78, 27.16, 26.76, 11.53. No se caracteriza en profundidad por la falta de estabilidad.

6.2.20 7-acetoxiindolenina de la ibogaína (**35a**).

En un balón de dos bocas equipado con atmósfera de nitrógeno, se añadió la 7-hidroxindolenina de ibogaína (**32a**) (16 mg, 0,049 mmol) y se disolvió en CH_2Cl_2 (2 mL, 0,02 M). A la solución a temperatura ambiente y bajo agitación constante, se añadió DMAP (9 mg, 1,5 eq) y luego anhídrido acético (7 µL, 1,5 eq). La reacción se monitoreó mediante TLC ((1:1) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH), hasta consumo total de material de partida. Después de 1h, la reacción se diluyó con CH_2Cl_2 , se lavó con una solución saturada de NaHCO₃, y la capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄. Se eliminó el solvente por destilación a presión reducida. El crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna [FM:(2:8) (AcOEt:Hex) + 1% NH₄OH], obteniéndose la 7-acetoxiindolenina de la ibogaína **35a** como un sólido blanco amorfo (18 mg, 99%).



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.4 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.8 (dd, *J* = 8.4, 2.6 Hz, 1H), 6.8 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 3.8 (s, 3H), 3.3 (ddd, *J* = 15.3, 12.5, 3.1 Hz, 1H), 3.0 – 2.9 (m, 3H), 2.8 – 2.7 (m, 1H), 2.7 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 2.4 – 2.3 (m, 1H), 2.1 (s, 3H), 2.1 – 2.1 (m, 0H), 2.0 – 1.9 (m, 1H), 1.9 – 1.8 (m, 2H), 1.8 – 1.7 (m, 0H), 1.5 – 1.4 (m, 3H), 1.1 (dd, *J* = 12.9, 5.5 Hz, 1H), 0.9 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H). ¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 187.5, 168.7, 158.4, 146.2, 140.1, 120.7, 113.3, 107.8, 91.0, 55.7, 54.0, 49.6, 49.5, 43.6, 40.2, 32.6, 32.4, 32.0, 27.1, 26.8, 20.9, 11.8.²⁰

6.2.21 7-acetoxiindolenina de la voacangina (35b).

En un balón de dos bocas equipado con atmósfera de nitrógeno, se añadió la 7-hidroxindolenina de la voacangina **35b** (44 mg, 0,114 mmol), seguido de 1,2-DCE seco (2 mL, 0,05 M). A la solución a temperatura ambiente y bajo agitación constante, se añadió DMAP (56 mg, 4,0 eq) y luego anhídrido acético (0,5 mL, 43 eq), y la mezcla se calentó a 65°C. La reacción se monitoreó mediante TLC ((7:3) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH) hasta consumo total del material de partida. Después de 2 h, la reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente, se diluyó con CH_2Cl_2 , se lavó con una solución saturada de NaHCO₃, la capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y el solvente se eliminó por destilación a presión reducida. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna [(2:8) (AcOEt:Hex) + 1% NH₄OH]. Se obtuvo la 7-acetoxiindolenina de la voacangina 35b como un sólido blanco amorfo (43,3 mg, 70%).



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.5 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.8 (dd, *J* = 8.4, 2.6 Hz, 1H), 6.7 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 3.8 (s, 3H), 3.6 (s, 4H), 3.4 (ddd, *J* = 15.4, 12.8, 3.1 Hz, 1H), 3.0 (ddd, *J* = 15.0, 4.7, 1.7 Hz, 1H), 2.8 – 2.7 (m, 3H), 2.5 (d, *J* = 14.0 Hz, 1H), 2.1 (s, 3H), 2.0 (ddd, *J* = 15.1, 3.1, 1.8 Hz, 1H), 1.9 (s, 1H), 1.8 (ddd, *J* = 15.1, 12.7, 4.7 Hz, 1H), 1.7 – 1.7 (m, 2H), 1.6 – 1.5 (m, 1H), 1.5 – 1.3 (m, 3H), 1.1 – 1.0 (m, 1H), 0.9 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 180.7, 171.7, 168.2, 158.9, 145.1, 141.8, 121.9, 112.8, 107.1, 90.6, 57.8, 56.5, 55.7, 52.4, 49.4, 48.7, 38.4, 37.1, 33.6, 31.9, 27.4, 26.5, 21.0, 11.5.²⁰

6.2.22 7-peracetoxiindolenina de la voacangina (**31b-Ac**)

En un balón de dos bocas equipado con atmósfera de nitrógeno, se añadió la 7-hidroperoxindolenina de la voacangina **31b** (16 mg, 0,039 mmol), seguido de DCM seco (4 mL, 0,01M). A la solución a temperatura ambiente y bajo agitación constante, se añadió DMAP (7 mg, 1,5 eq) y luego anhídrido acético (6 μ L, 1,5 eq). La reacción se monitoreó mediante TLC ((7:3) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH) hasta consumo total del material de partida. Después de 1 h, la reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente, se diluyó con CH₂Cl₂, se lavó con una solución saturada de NaHCO₃, y luego con NaOH 5% frío. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y el solvente se eliminó por destilación a presión reducida. El producto crudo (10mg , 58%) se obtiene como un aceite incoloro, el cual se analizó por RMN con el fin de realizar una identificación estructural.



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.43 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 6.85 (dd, J = 8.4, 2.6 Hz, 1H), 3.90 (s, 1H), 3.81 (s, 4H), 3.68 (s, 3H), 3.43 (ddd, J = 15.6, 12.5, 3.5 Hz, 1H), 2.95 (ddd, J = 15.0, 4.6, 2.0 Hz, 1H), 2.81 – 2.68 (m, 4H), 2.44 – 2.35 (m, 1H), 2.20 – 2.03 (m, 3H), 1.91 (s, 1H), 1.80 (s, 3H), 1.77 – 1.69 (m, 1H), 1.61 – 1.48 (m, 1H), 1.47 – 1.33 (m, 2H), 1.15 – 1.02 (m, 1H), 0.90 (t, J = 7.2 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 190.1, 182.5, 172.3, 159.0, 145.2, 138.7, 121.6, 114.5, 108.5, 98.1, 58.1, 55.9, 55.8, 52.5, 49.2, 48.8, 38.4, 37.8, 31.8, 31.7, 27.4, 26.9, 17.5, 11.6.

El resto de la espectroscopía no se adquiere porque el compuesto no es estable.

6.2.23 Procedimiento general para la oxidación de alcaloides de la iboga con mCPBA. Obtención de los productos (**32a**) (**38a**) (**38b**)

a) Oxidación a temperatura ambiente: En un balón de dos bocas bajo atmósfera de argón, se añadió el alcaloide correspondiente, seguido de CH₂Cl₂ seco. La solución se enfrió en un baño de hielo, y se añadió el mCPBA (77% de pureza) en una sola porción. Se permitió que la solución alcanzara la temperatura ambiente, y el consumo de material de partida se monitoreó mediante TLC. Luego del tiempo de reacción estipulado, la reacción (solución violeta intenso) se diluyó con CH₂Cl₂ y se neutralizó con una solución saturada de NaHCO₃. La fase acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (3x), las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, y el solvente se eliminó bajo presión reducida. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna utilizando sílica-gel desactivada con 10% de agua como fase estacionaria.

Cuando ibogaína (**1**) se utilizó como material de partida (96 mg, 0,31 mmol), se agregó 2 mL del disolvente (0,15 M) y mCPBA (173 mg, 0,31 mol), y la reacción se agitó a t.a. durante 20 minutos. La FM del análisis por TLC fue [(6:4) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH)] y la empleada para la purificación en columna FM: [(7:3) Hex:AcOEt + 1% NH₄OH]. Se obtuvo ibogaína 7-hidroxindolenina **32a** (30,3 mg, rendimiento del 30%) como un sólido amarillento.

Cuando voacangina (1) se utilizó como material de partida (101 mg, 0,27 mmol), se agregó 2 mL del disolvente (0,12 M) y mCPBA (61 mg, 0,30 mol), y la reacción se agitó a t.a. durante 4 horas. La FM del análisis por TLC fue [(7:3) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH)] y la empleada para la purificación en columna FM: [(7:3) \rightarrow (1:99) Hex:AcOEt + 1% NH₄OH]. Se obtuvo voacangina 7-hidroxindolenina **32b** (25 mg, rendimiento del 26%) como un aceite incoloro y N-óxido de voacangina **38a** (24 mg, rendimiento del 24%) como un sólido amarronado.

b) Oxidaciones a -78°C o -55°C. En un balón de dos bocas bajo atmósfera de Ar, se añadió el alcaloide correspondiente y se disolvió en CH₂Cl₂ seco (0,07M) y la solución se enfrió a -78 °C o -55 °C según corresponda en un baño de hexanos con la ayuda de un Cryo-cool. Se añadió gota a gota una solución de mCPBA en CH₂Cl₂ (0,15M) a la solución fría (en el correr de 15 minutos). La reacción se monitoreó mediante TLC. Después del tiempo estipulado, se realiza el *quench* de la reacción por el agregado rápido a un sistema bifásico de CH₂Cl₂ y solución saturada de NaHCO₃. La fase acuosa se extrajo tres veces con CH₂Cl₂, las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y el solvente se eliminó bajo presión reducida. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna con sílica-gel desactivado conteniendo 10% de agua.

A -55 °C y con ibogaína (1) como material de partida (102 mg, 0,329 mmol) se emplearon 4,7 mL del solvente, y mCPBA (78 mg, 0,369 mol), la FM utilizada tanto para el seguimiento por TLC como para la purificación por cromatografía en columna fue [(9:1) ($CH_2Cl_2:MeOH$) + 1% NH_4OH)]. La reacción se agito a -55 °C durante 2 horas. Se obtuvo N-óxido de ibogaína **38a** (30,3 mg, 33% de rendimiento) como un sólido marrón, junto con un 44% del material de partida sin reaccionar.

A -55 °C y con voacangina (**2**) como material de partida (50 mg, 0,136 mmol) se emplearon 2 mL del solvente, y mCPBA (76 mg, 0,149 mol) la FM utilizada tanto para el seguimiento por TLC como para la purificación por cromatografía en columna fue [(9:1) ($CH_2Cl_2:MeOH$) + 1% NH_4OH)]. La reacción se agito a -55 °C durante 4 horas. Se obtuvo N-óxido de voacangina **38b** (16 mg, 31% de rendimiento) como un sólido marrón y voacangina 7-hidroxiindolenina **32b** (22 mg, 43% de rendimiento) junto con un 23% del material de partida sin reaccionar.

A -78 °C y con ibogaína (**1**) como material de partida (52 mg, 0,168 mmol) se emplearon 2,3 mL del solvente, y mCPBA (39 mg, 0,170 mol), la FM utilizada tanto para el seguimiento por TLC como para la purificación por cromatografía en columna fue [(9:1) ($CH_2Cl_2:MeOH$) + 1% NH_4OH)]. La reacción se agito a -55 °C durante 2,5 horas. Se obtuvo N-óxido de ibogaína **38a** (18 mg, 33% de rendimiento) como un sólido marrón, junto con un 44% del material de partida sin reaccionar.

7-hidroxiindolenina de voacangina (32b)



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.36 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.91 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.81 (dd, J = 8.4, 2.6 Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.77 (s, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.61 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 3.55 – 3.43 (m, 1H), 2.97 (ddd, J = 14.8, 4.5, 1.6 Hz, 1H), 2.77 – 2.68 (m, 3H), 2.48 (ddd, J = 13.8, 4.5, 2.4 Hz, 1H), 1.96 (ddd, J = 14.9, 3.5, 1.7 Hz, 1H), 1.93 – 1.82 (m, 2H), 1.77 (ddd, J = 12.7, 9.1, 4.6 Hz, 1H), 1.54 – 1.33 (m, 3H), 1.12 – 1.06 (m, 1H), 0.87 (t, J = 7.2 Hz, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 186.86, 173.93, 159.16, 144.83, 144.44, 121.35, 113.72, 107.96, 88.35, 58.57 (d, J = 5.7 Hz), 55.75, 53.21, 49.09, 48.66, 37.59, 34.53, 34.17, 32.07, 27.00, 26.51, 11.56. ²⁰

N-óxido de ibogaína (38a)



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 9.6 (s, 1H), 7.2 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.8 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.8 (dd, *J* = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 4.0 – 3.9 (m, 1H), 3.8 (s, 3H), 3.8 – 3.8 (m, 1H), 3.8 – 3.7 (m, 1H), 3.6 (dt, *J* = 12.3, 2.6 Hz, 1H), 3.5 (s, 1H), 3.3 (dd, *J* = 11.4, 4.9 Hz, 2H), 3.2 – 3.1 (m, 2H), 3.0 – 2.9 (m, 1H), 2.3 – 2.1 (m, 4H), 2.0 (d, *J* = 11.7 Hz, 0H), 1.9 (dd, *J* = 12.6, 6.9 Hz, 1H), 1.7 (dq, *J* = 14.3, 7.1 Hz, 2H), 1.6 – 1.5 (m, 1H), 1.0 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 154.1, 139.4, 130.0, 128.2, 111.7, 111.5, 107.5, 100.0, 76.9, 72.3,

70.1, 56.0, 43.3, 37.3, 31.8, 31.0, 30.3, 26.0, 21.2, 13.0. **IR** v_{max} 2954, 2366, 1593, 1458, 1217, 1143, 1031, 935 cm⁻¹; **HRMS** *m/z* 327.2057 [M + H]⁺ (Calc. C₂₀H₂₆N₂O₂, 327.2067).²¹





¹**H NMR** (400 MHz, CDCl3) δ 7.8 (s, 1H), 7.2 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), 6.9 – 6.8 (m, 2H), 4.3 (dt, *J* = 13.9, 5.0 Hz, 1H), 4.2 (s, 1H), 4.2 – 4.1 (m, 1H), 3.8 (s, 3H), 3.8 (s, 3H), 3.7 – 3.6 (m, 2H), 3.3 (dt, *J* = 17.9, 4.5 Hz, 1H), 3.1 (ddd, *J* = 17.4, 11.2, 5.4 Hz, 1H), 2.8 (dt, *J* = 14.0, 2.0 Hz, 1H), 2.3 (s, 1H), 2.2 (td, *J* = 13.6, 13.1, 6.5 Hz, 1H), 2.2 – 2.1 (m, 1H), 2.0 (dt, *J* = 13.8, 7.2 Hz, 1H), 2.0 – 1.9 (m, 1H), 1.8 (ddd, *J* = 13.9, 4.3, 2.3 Hz, 1H), 1.4 (ddd, *J* = 16.6, 9.0, 7.2 Hz, 1H), 0.9 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl3) δ 173.9, 154.6, 134.6, 130.2, 128.0, 113.5, 111.7, 107.3, 100.4, 75.9, 72.6, 66.5, 56.0, 53.6, 52.4, 41.0, 35.7, 30.0, 29.3, 26.1, 21.4, 12.6. **IR** v_{max} 2953, 1738, 1485, 1456, 1217, 1033 cm⁻¹; **HRMS** *m/z* 385.2107 [M + H]⁺ (Calc. C₂₂H₂₈N₂O₄, 385.2122); **[a]**_D – 5.6 (c 0.32, DCM).

6.2.24 Procedimiento general para las oxidaciones con DMDO.

La solución de DMDO (dimetildioxirano) se prepara siguiendo un protocolo experimental publicado.²² La solución resultante se titula utilizando una cantidad conocida tioanisol; el título de la solución se calcula mediante la relación de las señales características (-CH3 del material de partida, sulfoxido y sulfona) en el espectro de RMN de ¹H de la mezcla. La molaridad de la solución obtenida es de (0,092 M); la solución se almacenó a -20 °C hasta el momento de su uso.

En un balón se coloca una solución del alcaloide en custión en acetona (0,7M), se enfrió a 0 °C y con agitación constante se añadió una solución de DMDO recién preparada y titulada (92 mM, 1,5 eq). La reacción se monitoreó por TLC, pasadas 1,5 h, se eliminó el solvente bajo presión reducida. El crudo se purificó por cromatografía en columna.

Cuando ibogaína se utilizó como material de parida (22 mg, 0,071 mmol), 1,0 mL, de acetona fue utilizado para disolverlo, y se agregó 1,2 mL de la solución de DMDO. La fase móvil para el seguimiento de la reacción por TLC fue [FM:(7:3) (Hex:AcOEt) + 1% NH4OH)] y la empleada para la purificación por cromatografía en columna [FM: (99:1) (DCM:MeOH) + 1% NH4OH]. Se obtiene la 7-hidroxindolenina de ibogaina **32a** (23,1 mg; 99%) como un aceite amarillento que solidifica al dejarlo durante la noche a -18 °C.

Cuando voacangina se utilizó como material de parida (22 mg, 0,060 mmol), 1,0 mL, de acetona fue utilizado para disolverlo, y se agregó 1,0 mL de la solución de DMDO. La fase móvil para el seguimiento de la reacción por TLC fue [FM:(7:3) (Hex:AcOEt) + 1% NH40H)] y la empleada para la

purificación por cromatografía en columna [FM: (1:1) (Hex:AcOEt) + 1% NH4OH)]. Se obtiene la 7-hidroxindolenina de voacangina **32b** (16 mg; 77%) y la 7-hidroxindolenina de la 3-hidroxi voacangina **39** (4,2 mg, 17%), ambas como un aceite amarillento que solidifica al dejarlo durante la noche a -18 °C.

(3R,7S)-voacangina-3,7-dihidroxiindolenina (39)



¹**H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 7.4 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 6.9 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 6.8 (dd, *J* = 8.4, 2.5 Hz, 1H), 4.4 (s, 1H), 4.0 (s, 1H), 3.8 (s, 3H), 3.7 (s, 2H), 3.4 – 3.3 (m, 2H), 3.2 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 2.9 (dd, *J* = 14.3, 2.1 Hz, 1H), 2.4 (ddd, *J* = 14.5, 4.3, 2.5 Hz, 1H), 2.1 – 2.0 (m, 2H), 1.9 (s, 1H), 1.8 – 1.7 (m, 1H), 1.7 – 1.6 (m, 1H), 1.6 – 1.4 (m, 2H), 1.4 – 1.3 (m, 1H), 0.9 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 186.4, 173.2, 159.3, 144.8, 143.8, 121.5, 113.9, 108.1, 88.0, 81.7, 58.6, 57.7, 55.8, 53.3, 45.8, 36.6, 35.1, 34.1, 33.9, 26.8, 24.5, 11.6. **IR** ν_{max} 3408, 2954, 2872, 2359, 1736, 1601, 1555, 1476, 1433, 981, 734 cm⁻¹; **[a]**_D –54.7 (c 0.46, DCM).

6.2.25 Procedimiento general para las oxidaciones de alcaloides de la iboga con iodo. Preparación de los compuestos (**36a**), (**36b**), (**37**), (**40a**) y (**40b**).

En un balón de dos bocas, previamente secado y purgado con N₂ se coloca el alcaloide en cuestión y se disuelve en una mezcla THF:H₂O (5:4) (0,072M), con agitación constante se agrega NaHCO₃ sólido (4,5eq), se enfría la solución en baño de agua hielo, luego se agrega gota a gota una solución de iodo en THF (0,14 M). La reacción se monitorea por TLC y se agita a temperatura ambiente durante el tiempo indicado. Pasado este tiempo, la reacción se diluye con DCM, se agrega solución saturada de Na₂S₂O₃, se observa la decoloración de la solución marrón intensa. La fase acuosa se extrae con DCM (x3), el conjunto de las fases orgánicas se lava con solución saturada de NaCl y se seca con Na₂SO₄. El solvente se evapora a presión reducida y el crudo de reacción se purifica por cromatografía en columna

Con ibogaína como material de partida (43 mg, 0,137mmol), y iodo (103 mg, 0,411 mmol, **3.0eq**) la cantidad de base utilizada fue NaHCO₃ (58 mg, 0,616 mmol). Para TLC (FM: (3:7) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH), la reacción se agitó 5 h, la cromatografía en columna empleó (FM: (1:1)→ (3:7) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH). Se obtuvo 3-oxoibogaina **40a** (13 mg, 30% de rendimiento) como un sólido blanco.

Con ibogaína como material de partida (43 mg, 0,137mmol), y iodo (53 mg, 0,209 mmol, **1.5eq**) la cantidad de base utilizada fue NaHCO₃ (58 mg, 0,616 mmol). Para TLC (FM: (3:7) (Hex:AcOEt) + 1%

NH₄OH), la reacción se agitó 30 min, la cromatografía en columna empleó (FM: (1:1) \rightarrow (3:7) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH). Se obtuvo 3-hidroxiibogaína (hemiaminal) (**36a**) (16 mg, 35% de rendimiento) como un aceite incoloro que solidifica luego de 12 h a -18 °C (solido amorfo), junto con 28 % del material de partida sin reaccionar.

Con voacangina (2) como material de partida (59 mg, 0,160 mmol), y iodo (115 mg, 0,480 mmol, **3.0eq**) la cantidad de base utilizada fue NaHCO₃ (61 mg, 0,720 mmol). Para TLC (FM: (1:1) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH), la reacción se agitó 4,5 h, la cromatografía en columna empleó (FM: (1:1) \rightarrow (3:7) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH). Se obtiene una mezcla de 3-oxovoacangina (lactama) (**40b**) y el aldehído **37** en una proporción 0,7:1 (33 mg, 54%). Se obtuvieron fracciones puras de ambos compuestos, para su análisis experimental mediante sucesivas cromatografías en columna de la mezcla.

Con voacangina (2) como material de partida (59 mg, 0,160 mmol), y iodo (57 mg, 0,240 mmol, 1.5eq) la cantidad de base utilizada fue NaHCO₃ (30 mg, 0,360 mmol). Para TLC (FM: (1:1) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH), la reacción se agitó 30min, la cromatografía en columna empleó (FM: (1:1) \rightarrow (3:7) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH). Se obtuvo 3-hidroxivoacangina (hemiaminal) (**36b**) (14,5 mg, 24% de rendimiento) como un aceite incoloro que solidifica luego de 12 h a -18 °C (solido amorfo), junto con 75 % del material de partida sin reaccionar.

(3R)-3-hidroxiibogaína (36a)



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.6 (s, 1H), 7.1 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.9 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.8 (dd, *J* = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 4.8 (dd, *J* = 7.3, 2.9 Hz, 1H), 3.8 (s, 3H), 3.7 (ddd, *J* = 14.3, 4.6, 2.5 Hz, 1H), 3.2 (ddd, *J* = 16.7, 12.5, 4.6 Hz, 1H), 3.1 (dd, *J* = 14.2, 3.8 Hz, 1H), 3.0 (s, 1H), 2.8 (ddd, *J* = 11.3, 4.4, 1.6 Hz, 1H), 2.7 (ddd, *J* = 16.2, 3.8, 2.5 Hz, 1H), 2.1 (ddd, *J* = 13.9, 11.2, 3.0 Hz, 1H), 2.0 (q, *J* = 2.9 Hz, 1H), 1.7 – 1.5 (m, 3H), 1.5 – 1.4 (m, 3H), 0.9 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 154.1, 142.2, 130.0, 129.6, 111.0, 110.9, 108.5, 100.3, 82.8, 59.0, 56.0, 52.0, 41.0, 40.2, 33.0, 32.7, 27.6, 24.2, 21.4, 12.0.²³

(3R)-3-hidroxivoacangina (36b)



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.8 (s, 1H), 7.1 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.9 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 6.8 (dd, *J* = 8.7, 2.5 Hz, 1H), 4.4 (s, 1H), 3.8 (s, 4H), 3.8 (s, 1H), 3.7 (s, 3H), 3.4 (dt, *J* = 13.7, 5.8 Hz, 1H), 3.4 – 3.3 (m, 1H), 3.1 – 3.0 (m, 2H), 2.7 (dd, *J* = 13.8, 2.2 Hz, 1H), 2.0 (ddd, *J* = 13.7, 4.0, 2.4 Hz, 1H), 1.9 (d, *J* = 2.0 Hz, 0H), 1.7 – 1.4 (m, 3H), 1.4 – 1.3 (m, 1H), 0.9 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 174.9, 154.1, 137.0, 130.7, 128.7, 112.1, 111.2, 109.8, 100.6, 86.1, 56.3, 56.0, 54.2, 52.7, 51.3, 37.8, 35.5, 34.5, 26.9, 24.7, 21.9, 11.7. IR v_{max} 3302, 2957, 2936, 1737, 1651, 1473, 1355, 1269, 1028, 970, 823, 734 cm⁻¹; [**a**]_D: –11.1 (c 0.16, DCM). Reportado anteriormente como una mezcla de epimeros en C3 (R/S),²⁴

3,N4-secovoacangina (37)



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.5 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 8.1 (s, 1H), 7.2 (dd, J = 8.8, 1.2 Hz, 1H), 6.9 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.8 (dd, J = 8.7, 2.5 Hz, 1H), 3.9 (s, 3H), 3.8 (s, 3H), 3.4 – 3.2 (m, 2H), 3.1 (t, J = 8.9 Hz, 1H), 3.0 – 2.8 (m, 2H), 2.5 – 2.4 (m, 2H), 2.2 – 2.1 (m, 1H), 2.1 – 2.1 (m, 1H), 2.0 – 1.9 (m, 1H), 1.9 – 1.7 (m, 1H), 1.7 – 1.6 (m, 1H), 1.6 – 1.5 (m, 1H), 1.5 – 1.4 (m, 1H), 0.9 (td, J = 7.4, 1.4 Hz, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 204.9, 204.8, 173.8, 154.1, 132.4, 131.4, 127.2, 112.4, 111.9, 111.8, 110.6, 110.5, 100.6, 100.6, 67.5, 67.5, 56.0, 55.1, 54.7, 52.8, 52.5, 52.2, 43.9, 43.8, 43.6, 43.2, 34.2, 34.0, 33.5, 33.4, 22.5, 22.2, 15.8, 15.8, 11.4, 11.4. IR v_{max} 3367, 2932, 2361, 1730, 1663, 1458, 1215, 1151 cm⁻¹; HRMS *m/z* 385.2125 [M + H]⁺ (Calc. for C₂₂H₂₈N₂O₄, 385.2122); **[α]**_P – 126.7 (c 0.15, DCM).

3-oxoibogaína (40a)



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 8.2 (s, 1H), 7.1 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.9 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.7 (dd, *J* = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 4.6 (ddd, *J* = 13.0, 6.4 Hz, 1H), 3.9 (s, 1H), 3.8 (s, 3H), 3.3 (ddd, *J* = 15.7, 7.2, 6.0 Hz, 1H), 3.2 (dt, *J* = 10.0, 2.5 Hz, 1H), 3.1 (ddd, *J* = 12.9, 7.2, 5.4 Hz, 1H), 2.9 (ddd, *J* = 15.7, 7.0, 5.6 Hz, 1H), 2.6 (s, 1H), 2.1 (ddd, *J* = 13.2, 10.0, 2.0 Hz, 1H), 1.9 (ddd, *J* = 13.3, 10.2, 3.3 Hz, 1H), 1.8 (ddd, *J* = 13.3, 3.2 Hz, 1H), 1.7 - 1.6 (m, 1H), 1.5 (dt, *J* = 14.3, 7.1 Hz, 1H), 1.4 - 1.3 (m, 3H), 0.9 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 176.7, 154.0, 139.0, 130.2, 129.3, 111.4, 111.0, 107.6, 100.5, 59.3, 56.0, 46.3, 40.5, 38.9, 38.3, 33.2, 30.5, 27.7, 22.0, 11.5. ²⁵



¹**H** NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.9 (s, 1H), 7.1 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.9 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.8 (dd, *J* = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 4.6 – 4.4 (m, 2H), 3.8 (s, 3H), 3.7 (s, 3H), 3.2 – 3.2 (m, 1H), 3.2 – 3.1 (m, 2H), 2.7 – 2.5 (m, 3H), 2.3 – 2.3 (m, 1H), 2.0 – 1.9 (m, 1H), 1.7 (dd, *J* = 9.9, 6.7 Hz, 1H), 1.5 (dq, *J* = 14.6, 7.3 Hz, 1H), 1.5 – 1.3 (m, 3H), 1.0 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H). ¹³**C** NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 175.8, 173.0, 154.2, 134.7, 130.8, 128.2, 112.6, 111.4, 109.2, 100.5, 72.8, 56.1, 56.0, 53.0, 42.7, 38.2, 36.0, 35.5, 31.0, 27.6, 21.2, 11.4. ²⁶

6.2.26 (7S)-7-hidroxiindolenina de la voacristina (41).

En un procedimiento análogo al descrito en 6.2.26 pero empleando voacristina (35 mg, 0,092mmol) como material de partida, se utilizaron las siguientes cantidades: NaHCO₃ sólido (23 mg, 0,414 mmol, 4,5eq) y iodo (66 mg, 0,276 mmol, 3,0 eq). La reacción se sigue por TLC (FM: (3:7) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH), la purifica por cromatografía en columna empleó (FM: (1:1) \rightarrow (3:7) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH). Se obtiene 7-hidroxiindolenina de la voacristina **41** (10 mg, 30% de rendimiento) como un sólido blanco.



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.4 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.9 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 6.8 (dd, *J* = 8.4, 2.6 Hz, 1H), 4.1 – 4.1 (m, 2H), 3.8 (s, 3H), 3.7 (s, 3H), 3.6 (ddd, *J* = 15.6, 13.0, 3.4 Hz, 1H), 3.4 (s, 1H), 2.9 (ddd, *J* = 14.9, 4.6, 1.8 Hz, 1H), 2.8 (dt, *J* = 9.2, 3.2 Hz, 1H), 2.8 (dd, *J* = 14.0, 2.0 Hz, 1H), 2.7 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H), 2.5 (ddd, *J* = 14.0, 4.7, 2.7 Hz, 1H), 2.1 – 2.1 (m, 2H), 2.0 – 2.0 (m, 2H), 1.9 – 1.9 (m, 1H), 1.8 (dd, *J* = 14.8, 4.0 Hz, 0H), 1.6 – 1.6 (m, 1H), 1.6 – 1.5 (m, 1H), 1.1 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 186.2, 173.1, 159.3, 144.7, 143.8, 121.5, 114.0, 108.0, 87.9, 71.3, 60.1, 57.5, 55.8, 53.5, 48.1, 47.9, 38.3, 35.3, 33.2, 26.5, 22.9, 20.4.²⁷

6.2.27 (19R)-19-acetoxi voacangina (42).

En balón de dos bocas previamente secado y bajo nitrógeno, se coloca voacristina **3** (25mg, 0,065mmol) y se disuelve en DCM seco (3mL, 0,02M). Posteriormente se agrega trietilamina (95 μ L, 0,650mmol, 10eq); anhidrido acético (40 μ L, 0.392mmol, 6eq) y por último una cantidad catalítica de DMAP. Se constata el consumo de material de partida por TLC (FM: (6:4) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH), luego de 24 horas de reacción a temperatura ambiente. Se agrega solución de NaHCO₃ saturada, y la fase acuosa se extrae tres veces con DCM. Las fases orgánicas combinadas se secan con Na₂SO₄, se evapora el solvente y se purifica el crudo por cromatografía en columna, con alúmina neutra como fase estacionaria, FM: (8:2) (Hex:AcOEt). Se obtiene el producto de acetilación como un sólido grisáceo (15mg, 53% de rendimiento).



¹**H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 7.6 (s, 1H), 7.1 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 6.9 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.8 (dd, J = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 5.1 (dq, J = 8.7, 6.2 Hz, 1H), 3.8 (s, 3H), 3.7 (s, 3H), 3.7 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 3.3 (tt, J = 10.6, 5.5 Hz, 1H), 3.2 – 3.1 (m, 2H), 3.0 – 2.9 (m, 2H), 2.8 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 2.6 – 2.5 (m, 1H), 2.0 (s, 3H), 1.9 – 1.9 (m, 2H), 1.7 (t, J = 12.2 Hz, 1H), 1.6 – 1.6 (m, 1H), 1.3 (dd, J = 12.8, 6.7 Hz, 1H), 1.3 (d, J = 6.2 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 175.2, 171.0, 154.1, 137.1, 130.5, 129.2, 112.0, 111.1, 110.2, 100.8, 74.2, 56.0, 55.7, 54.9, 52.9, 52.7, 51.0, 42.7, 36.6, 28.7, 26.9, 22.1, 21.4, 18.5.²⁸

6.2.28 (19R)-19-acetoxi ibogaina (43).

En balón de dos bocas previamente secado y bajo nitrógeno, se coloca iboxigaina **12** sólida (15 mg, 0,044 mmol) y se disuelve en DCM seco (2mL, 0,02M), se agrega trietilamina (26 μ L, 0,178 mmol, 4.0eq) y luego anhidrido acético (13 μ L, 0,088 mmol, 2.0eq) de una sola vez, por último se agrega una cantidad catalítica de DMAP. Se controla consumo de material de partida por TLC (FM: (1:1) (Hex:AcOEt) + NH₄OH) luego de 2 horas de agitación. Se agrega solución de NaHCO₃ saturada, y la fase acuosa se extrajo tres veces con DCM, el conjunto de las fases orgánicas se seca con Na₂SO₄, y

se evapora el solvente a presión reducida, el crudo se purifica por cromatografía en columna, con alúmina neutra como fase estacionaria, FM: (8:2) (Hex:AcOEt). Se obtiene el producto de acetilación **43** como un aceite incoloro (10mg, 66%).



¹**H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 7.5 (s, 1H), 7.1 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.9 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 6.8 (dd, *J* = 8.6, 2.4 Hz, 1H), 5.1 (dq, *J* = 8.6, 6.2 Hz, 1H), 3.9 (s, 3H), 3.4 – 3.2 (m, 2H), 3.1 – 3.0 (m, 2H), 3.0 – 3.0 (m, 2H), 2.9 (ddd, *J* = 11.7, 4.6, 1.7 Hz, 1H), 2.6 – 2.5 (m, 1H), 2.1 – 2.0 (m, 4H), 1.9 (bs, 1H), 1.8 – 1.6 (m, 3H), 1.4 (ddt, *J* = 12.8, 5.1, 2.8 Hz, 1H), 1.2 (d, *J* = 6.2 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 171.2, 154.1, 142.5, 130.1, 129.6, 110.9, 110.8, 109.4, 100.4, 75.2, 56.0, 55.5, 54.0, 49.7, 45.3, 41.1, 34.3, 28.7, 26.1, 21.4, 20.6, 18.7.

6.2.29 19-oxo voacangina (44) mezcla syn:anti..²⁹

En un balón de dos bocas previamente secado y con atmósfera de argón, se agregó una solución de cloruro de oxalilo (26 μ L, 0,339 mmol, 1,5eq) en DCM (1,2 mL), y enfríó a -78 °C en un baño de hielo seco-acetona. A la solución fría se agrega gota a gota DMSO seco (49 μ L, 0,678 mmol, 3eq) disuelto en DCM (1,0mL). Pasados 5 minutos, se agrega sobre la solución anterior voacristina (87 mg, 0,226 mmol) disuelta en DCM (1,2 mL, 0,2M), gota a gota y con agitación constante. Luego de 5 minutos, se agrega DIPEA (236 μ L, 0,742 mmol, 6eq), se retira el baño y la solución se agita a temperatura ambiente El consumo del material de partida se verificó mediante TLC (FM: (6:4)(Hex:EtOAc) + 1% NH₄OH). Posteriormente, la solución se diluyó con DCM, se añadió una solución saturada de NaHCO₃, y la fase acuosa se extrajo tres veces con DCM. Las capas orgánicas combinadas se secaron con Na₂SO₄ anhidro, y el solvente se evaporó a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía en columna (FPM: (7:3)(Hex:EtOAc) + 1% NH₄OH, FE: sílica). Se obtiene como producto la mezcla epimérica **44** con proporción 1:0,54 (syn:anti) (69 mg, 79% de rendimiento).

El isómero syn se obtuvo puro mediante oxidación con de Parikh-Doering (ver siguiente procedimiento 6.2.30).

6.2.30 19-oxo voacangina (syn-44).8

En balón de una boca seco y bajo atmósfera de argón, se coloca voacristina (41mg, 0,107mmol) se disuelve en DCM (1,8mL, 0,06M), se agrega la trietilamina (148 µL, 1,070mmol, 10eq) y se coloca la solución en baño de agua para mantener la temperatura durante el agregado del oxidante. Se agrega una solución recién preparada de SO₃Py (88mg, 0,552mmol, 6.0eq) en DMSO (0,55mL, 1,0M) en alícuotas de 100µL en el correr de 5 minutos. Se monitorea el consumo del material de partida por TLC (FM: (Hex:AcOEt) (6:4) + 1% NH₄OH), el producto revela amarillo pálido con reactivo de Brady a temperatura ambiente. La reacción se detiene con el agregado de una solución 5% de NaHCO₃, y se

extrae con AcOEt x3, las fases orgánicas combinadas se secan con Na₂SO₄ anhidro, se evapora el solvente a presión reducida y se purifica el crudo por cromatografía en columna (FM: (7:3) (Hex:AcOEt) + 1% NH4OH). Se obtiene la cetona como un sólido amarillo (15mg, 60% de rendimiento).



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.67 (s, 1H), 7.15 (dd, *J* = 8.7, 0.6 Hz, 1H), 6.92 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.82 (dd, *J* = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 4.25 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.43 – 3.31 (m, 1H), 3.21 – 3.05 (m, 2H), 3.02 – 2.87 (m, 2H), 2.79 (dt, *J* = 9.0, 2.0 Hz, 1H), 2.64 (dt, *J* = 13.6, 2.4 Hz, 1H), 2.47 (ddd, *J* = 10.4, 6.1, 1.8 Hz, 1H), 2.24 (s, 4H), 2.02 (d, *J* = 4.2 Hz, 1H), 2.00 – 1.90 (m, 1H), 1.64 – 1.52 (m, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 207.5, 174.3, 153.5, 136.4, 129.8, 128.5, 111.5, 110.6, 109.9, 100.1, 55.6, 55.4, 53.5, 52.7, 52.3, 50.3, 50.2, 36.5, 27.1, 26.2, 24.0, 21.2.³⁰

6.2.31 (19R)-19-(metiltio)metoxi ibogaína (46)

En balón de una boca bajo atmósfera de argón, se coloca iboxigaína **12** (30mg, 0,092mmol), se disuelve en DCM (1,5mL, 0,06M), se agrega la trietilamina (128 µL, 0,920mmol, 10eq) y se coloca la solución en baño de agua para mantener la temperatura durante el agregado del oxidante. Se agrega una solución recién preparada de S0₃Py (88mg, 0,552mmol, 6.0eq) en DMSO (0,55mL, 1,0M), en alícuotas de 100µL, en el correr de 5 minutos. Se monitorea el consumo de material de partida por TLC (FM: (Hex:AcOEt) (6:4) + 1% NH₄OH. La reacción se detiene con el agregado de una solución 5% de NaHCO₃, y se extrae con AcOEt x3, el conjunto de las fases orgánicas se seca con Na₂SO₄ anhidro, se evapora el solvente a presión reducida y se purifica el crudo por cromatografía en columna (FM: (7:3) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH). Se obtiene el S,O-acetal **46** (13 mg, 37% de rendimiento), como un sólido blanco.



¹**H NMR** (500 MHz, CD₃OD) δ 7.11 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.69 (dd, J = 8.7, 2.5 Hz, 1H), 4.70 (d, J = 11.4 Hz, 1H), 4.57 (d, J = 11.4 Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.79 – 3.74 (m, 0H), 3.30 – 3.23 (m, 1H), 3.09 – 3.00 (m, 3H), 2.94 (s, 0H), 2.89 (ddd, J = 11.7, 4.6, 1.7 Hz, 1H), 2.63 – 2.51 (m, 1H), 2.18 (s, 3H), 2.05 (ddd, J = 13.8, 8.6, 5.8 Hz, 1H), 1.92 – 1.87 (m, 1H), 1.83 – 1.73 (m, 1H), 1.64 (tdd, J = 14.4, 6.0, 3.7 Hz, 3H), 1.12 (d, J = 6.0 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (126 MHz, CD₃OD) δ 153.6, 142.8, 129.8, 129.6, 111.0, 110.4, 108.4, 100.1, 78.0, 73.3, 56.0, 55.9, 54.3, 50.0, 46.3, 40.3, 34.0, 29.0, 26.0, 20.3, 17.3, 14.3. **LCMS (APCI)** [M+H]⁺: 387,2.

6.2.32 19-oxo ibogaina syn y anti (*syn-48*)(*anti-48*)

En un balón de dos bocas, se coloca **44** (69 mg, 0,180mmol) como una mezcla epimérica en C20 de proporción (1 : 0,5) y se disuelve en una mezcla (EtOH:H₂O) (3:2) (4,5 mL, 0,04 M). Posteriormente se agrega KOH (101 mg, 1,80 mmol, 10 eq) y se burbujea argón en la solución durante 15 minutos a temperatura ambiente, y durante 5 minutos durante su calentamiento a temperatura de reflujo. El sistema cerrado se calienta a ebullición durante 2-3hs, cuando se constata el consumo del material de partida por TLC (FM: 6:4 (Hex:AcOEt) + 1%NH₄OH. La solución se enfría hasta temperatura ambiente, y se agrega HCl 5 M (1,34 mL, 6,68 mmol, 37 eq). para luego llevarla a ebullición nuevamente durante 5 minutos para promover la descarboxilación. El sistema se enfría a temperatura ambiente y la solución se neutraliza por agregado de NaHCO₃ sólido, hasta no observar desprendimiento de gas. El etanol se evapora a presión reducida, hasta volumen constante y la fase acuosa se extrae con AcOEt (x4). Las fases orgánicas combinadas se secan con Na₂SO₄ anhidro, se evapora el disolvente a presión reducida y el crudo resultante se purifica por cromatografía en columna FM: 7:3 (Hex:AcOEt) + 1%NH₄OH. Se obtienen dos isómeros: 44syn (6,9mg, 13%) como un aceite incoloro y 44 anti (25mg, 48% de rendimiento) como un aceite amarillo, la posición relativa de la cadena etílica se estableció para ambos isómeros mediante experimentos de NOESY.



¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.62 (s, 1H), 7.16 (dd, J = 8.7, 0.5 Hz, 1H), 6.93 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.78 (dd, J = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.60 (dd, J = 2.6, 1.6 Hz, 1H), 3.34 – 3.26 (m, 1H), 3.26 – 3.20 (m, 1H), 3.12 (ddd, J = 14.3, 12.5, 3.2 Hz, 1H), 3.06 – 3.03 (m, 1H), 3.03 – 2.98 (m, 2H), 2.68 (ddd, J = 10.6, 4.4, 2.6 Hz, 1H), 2.57 (dt, J = 16.0, 2.8 Hz, 1H), 2.48 (ddt, J = 13.4, 4.4, 3.0 Hz, 1H), 2.20 (s, 3H), 2.16 – 2.08 (m, 1H), 1.99 (dq, J = 6.8, 3.9, 3.4 Hz, 1H), 1.73 (ddt, J = 13.3, 5.5, 2.8 Hz, 1H), 1.51 (ddt, J = 13.3, 10.6, 2.5 Hz, 1H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 208.9, 154.1, 142.3, 130.0, 129.5, 111.0, 109.8, 100.2, 56.7, 56.0, 54.4, 53.9, 49.3, 39.9, 34.6, 27.8, 26.1, 23.8, 20.3³¹



¹**H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 7.71 (s, 1H), 7.12 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.92 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 6.76 (dd, *J* = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.43 – 3.27 (m, 4H), 3.22 (ddd, *J* = 11.0, 6.1, 2.8 Hz, 1H), 3.14 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 3.14 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 3

2H), 2.82 (ddd, *J* = 11.6, 5.4, 1.5 Hz, 1H), 2.68 – 2.58 (m, 1H), 2.20 (s, 3H), 2.15 – 2.07 (m, 2H), 2.02 – 1.98 (m, 1H), 1.75 (ddt, *J* = 13.7, 10.8, 3.2 Hz, 1H), 1.62 (ddt, *J* = 13.0, 5.5, 2.8 Hz, 1H). ¹³**C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 209.5, 154.0, 142.1, 129.7, 129.4, 111.1, 110.9, 109.6, 100.2, 56.0, 55.4, 54.6, 49.5, 35.5, 34.4, 29.1, 25.9, 24.6, 20.2. ³¹

6.2.33 (19R)-19-formiloxi voacangina (56).

En un vial cerrado de fondo cónico previamente purgado con argón, se coloca voacristina (41mg, 0,106mmol), se disuelve en ácido fórmico 99% (4,0mL, 0,02M) a temperatura ambiente y se coloca una tapa rosca apta para soportar presión.- El sistema cerradose calienta a 110°C. El avance de la reacción se monitorea por TLC (FM (6:4)(Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH) tomando una alícuota de la solución y realizando un reparto NaHCO₃/AcOEt,; el material de partida no se consume por completo. Luego de 4 horas de calentamiento, el sistema se enfría a temperatura ambiente, se agrega agua y AcOEt, se neutraliza con NaHCO₃ sólido hasta no observar desprendimiento de gas. Se extrae con AcOEt la fase acuosa (x3), el conjunto de las fases orgánicas se seca con Na₂SO₄ anhidro, se evapora el solvente a presión reducida y se purifica por cromatografía en columna, FM: (8:2) \rightarrow (6:4) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH. Se obtiene el producto formilado como un sólido blanco (13,5mg, 31%), y se recupera un 27% de material de partida sin reaccionar.



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 8.10 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.14 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 6.92 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.81 (dd, *J* = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 5.27 – 5.10 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.70 – 3.65 (m, 1H), 3.39 – 3.27 (m, 1H), 3.18 (ddd, *J* = 6.3, 4.6, 1.7 Hz, 1H), 3.17 – 3.09 (m, 1H), 2.99 – 2.88 (m, 2H), 2.85 – 2.78 (m, 1H), 2.58 (dt, *J* = 14.6, 3.3 Hz, 1H), 1.92 (ddd, *J* = 12.3, 3.5, 2.1 Hz, 2H), 1.72 (dddd, *J* = 12.0, 9.7, 3.9, 1.9 Hz, 1H), 1.70 – 1.58 (m, 1H), 1.32 (d, *J* = 6.2 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 175.1, 161.1, 154.0, 136.9, 130.4, 129.1, 112.0, 111.1, 110.1, 100.7, 74.4, 56.0, 55.6, 54.7, 52.9, 52.7, 51.0, 42.5, 36.5, 28.7, 26.8, 22.1, 18.5.

6.2.34 Tosilato de voacangina-amonio (58a).

En un balón de dos bocas bajo atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente, se coloca voacristina **3** (14mg, 0,038mmol) que se disuelve en DCM seco (1,0mL, 0,04M). A continuación, se agrega trietilamina (11 μ L, 0,076mmol, 2eq),seguida de cloruro de tosilo (11mg, 0,057mmol, 1,5eq) y una cantidad catalítica de DMAP. Se monitorea el consumo de material de partida por TLC (FM (7:3) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH), y luego de 3hs de agitación a temperatura ambiente se observa un producto

mayoritario en un Rf (0,90). La reacción se diluye con DCM, se agrega solución saturada de NaHCO₃, y se agita enérgicamente 10–15min a temperatura ambiente. Se extrae la fase acuosa con DCM x4, y el conjunto de las fases orgánicas se analiza por TLC para evidenciar la desaparición de la mancha mayoritaria, la cual se transforma en un producto de mayor polaridad. El disolvente se evapora y el crudo se purifica por cromatografía en columna. FM: (DCM) \rightarrow (95:5) \rightarrow (9:1) (DCM:MeOH) + 1% NH₄OH. Se obtiene el producto de ciclación intramolecular como un sólido blanco (7mg, 35%).



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 8.72 (s, 1H), 7.79 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.26 (s, 8H), 7.18 – 7.08 (m, 2H), 6.89 (d, *J* = 8.8, 2.4 Hz, 1H), 6.84 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 5.09 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 4.72 (q, *J* = 6.9 Hz, 1H), 4.68 – 4.61 (m, 1H), 3.97 (dt, *J* = 12.8, 6.0 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.84 (s, 4H), 3.80 (dd, *J* = 13.1, 5.4 Hz, 1H), 3.54 – 3.44 (m, 1H), 3.28 – 3.21 (m, 2H), 2.69 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 2.59 – 2.51 (m, 2H), 2.44 (d, *J* = 14.0 Hz, 1H), 2.33 (s, 4H), 2.31 – 2.23 (m, 2H), 1.89 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H), 1.87 – 1.81 (m, 1H). ¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 171.6, 139.2, 133.2, 130.2, 128.6, 125.9, 114.0, 112.1, 106.7, 100.1, 82.6, 64.7, 62.1, 55.9, 55.7, 54.0, 46.0, 36.9, 25.2, 21.3, 20.4.³²

6.2.35 (19R)-19-cloro voacangina (60).

A temperatura ambiente, en balón de dos bocas seco y purgado con argón, se coloca voacristina **3** (33mg, 0,087mmol) que se disuelve en THF seco (1,8 mL). Posteriormente se adiciona DMAP (21mg, 0.173mmol, 2.0eq) y cloruro de mesilo (7,5µL, 0,097mmol, 1,1eq), evidenciando la precipitación instantánea de un sólido blanco para dar una suspensión homogénea. Se calienta el sistema a 50°C y se monitorea el consumo de material de partida por TLC (40–50 minutos) (FM (7:3) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH). Se detiene el calentamiento y la solución se enfría a temperatura ambiente, se agrega solución saturada de NaHCO₃ y la fase acuosa se extrae con AcOEt (x3). Se seca el conjunto de las fases orgánicas con Na₂SO₄ anhidro y se evapora el solvente a presión reducida. El crudo se purifica por cromatografía en columna, utilizando alúmina neutra como fase estacionaria, FM: (8:2) \rightarrow (7:3) (Hex:AcOEt). Se obtiene 19-clorovoacangina como un aceite incoloro (15mg, 42%), el compuesto resulta inestable en solución de cloroformo, por lo que solo se registró ¹H NMR, y LC-MS.

Para las reacciones de sustitución, e intentos de eliminación descritas más adelante: una vez constatado el consumo de material de partida por TLC el THF se evapora, y el producto crudo es utilizado sin purificar (sin someterlo a un reparto acuoso).



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.73 (s, 1H), 7.15 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.91 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 6.81 (dd, *J* = 8.7, 2.5 Hz, 1H), 4.20 (dq, *J* = 9.7, 6.5 Hz, 1H), 3.91 (s, 1H), 3.84 (s, 4H), 3.75 (s, 3H), 3.36 – 3.21 (m, 2H), 3.21 – 3.10 (m, 2H), 2.99 – 2.88 (m, 2H), 2.82 (dt, *J* = 8.7, 1.8 Hz, 1H), 2.57 (dq, *J* = 13.5, 2.0 Hz, 2H), 1.97 – 1.94 (m, 1H), 1.94 – 1.91 (m, 0H), 1.83 (q, *J* = 2.1 Hz, 0H), 1.68 – 1.60 (m, 1H), 1.58 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H), 1.54 – 1.47 (m, 1H). **LCMS(ESI)** [M+H]⁺: 403. No se completa la caracterización espectroscópica porque el compuesto resulta inestable.

6.2.36 (19R)-19-cloro ibogaína (61).

En un balón de dos bocas seco y bajo atmósfera de argón, se coloca iboxigaína (15mg, 0,046mmol), se disuelve en THF seco (1 mL) y se agrega DMAP (11mg, 0,091mmol, 2.0eq). A la solución a temperatura ambiente se agrega cloruro de mesilo (7,9mg, 0,069mmol, 1,5eq) con microjeringa sobre la solución, se observa la precipitación de un sólido blanco instantáneamente y se obtiene una suspensión homogénea. Se calienta el sistema a 50°C y se sigue el consumo de material de partida por TLC (40-50 minutos) (FM (7:3) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH). Se detiene el calentamiento y la solución se enfría a temperatura ambiente, se agrega solución saturada de NaHCO₃ y la fase acuosa se extrae con AcOEt (x3). Se seca el conjunto de las fases orgánicas con Na₂SO₄ anhidro y se evapora el solvente a presión reducida. El crudo se purifica por cromatografía en columna, FM: (9:1) \rightarrow (7:3) (Hex:AcOEt). Se obtiene 19-cloroibogaina como un aceite incoloro (2mg, 15%), se registra ¹H NMR en benceno-d6, y LC-MS.

Para las reacciones de sustitución y eliminación descritas más adelante: una vez constatado el consumo de material de partida por TLC el THF se evapora, y el producto crudo es utilizado sin purificar (sin reparto acuoso).



¹**H NMR** (400 MHz, $C_{b}D_{b}$) δ 7.08 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.01 – 6.93 (m, 1H), 6.32 (s, 1H), 4.20 (dq, J = 9.4, 6.4 Hz, 1H), 3.63 (s, 3H), 3.23 – 3.01 (m, 2H), 2.88 – 2.78 (m, 3H), 2.77 (s, 1H), 2.50 – 2.35 (m, 1H), 2.20 (ddd, J = 11.6, 4.6, 1.7 Hz, 1H), 1.88 – 1.80 (m, 1H), 1.77 (ddd, J = 9.8, 4.6, 1.9 Hz, 1H), 1.73 – 1.62 (m, 2H), 1.56

(dq, *J* = 6.2, 3.1 Hz, 1H), 1.45 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H), 1.37 (ddt, *J* = 10.4, 4.7, 2.9 Hz, 1H). **LCMS (APCI)** [M+H]⁺: 345,4. No se completa la caracterización espectroscópica porque el compuesto resulta inestable.

6.2.37 Cloruro de ibogaina-amonio (62)

Una muestra muestra se rotaevapora y retoma en DMSO-d6, se registra ¹H NMR y se observó que la identidad de la muestra cambia, produciendo de forma cuantitativa el cloruro del amonio producto de la ciclación intramolecular.



¹**H** NMR (500 MHz, DMSO) δ 10.88 (d, J = 4.3 Hz, 1H), 7.23 – 7.14 (m, 1H), 6.97 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.80 – 6.64 (m, 1H), 4.97 (dd, J = 5.8, 2.3 Hz, 1H), 4.04 (q, J = 6.8 Hz, 1H), 3.85 (d, J = 12.3 Hz, 1H), 3.75 (s, 4H), 3.67 (dt, J = 12.4, 3.2 Hz, 1H), 3.60 – 3.43 (m, 3H), 3.23 (ddd, J = 17.4, 5.1, 2.5 Hz, 1H), 3.13 (ddd, J = 17.5, 12.2, 5.7 Hz, 1H), 2.56 (d, J = 6.2 Hz, 1H), 2.40 (s, 1H), 2.24 – 2.11 (m, 2H), 1.92 (dd, J = 14.1, 5.4 Hz, 1H), 1.65 (d, J = 6.8 Hz, 3H). ¹³**C** NMR (126 MHz, DMSO) δ 153.8, 139.8, 129.6, 111.9, 111.6, 105.0, 100.7, 82.1, 66.3, 59.1, 55.9, 53.5, 37.3, 34.0, 30.0, 29.9, 24.5, 19.7, 13.6.³³

6.2.38 (7S,19R)-7-hidroxiindolenina de la 19-cloro voacangina (63).

Este producto se obtuvo de forma exclusiva en las siguientes condiciones de eliminación, sin detectar presencia del alqueno deseado. Se realizó el procedimiento descrito en 7.2.33 con voacristina (8 mg, 0,021mmol) para obtener un crudo de reacción (19-clorovoacangina) que se disuelve en 1,0mL de una solución 0,11M de (tBuOK : éter 18-c-6)(1:1). El sistema se calienta a temperatura de reflujo, por 4 horas. Luego, se deja llegar a temperatura ambiente, se diluye con AcOEt y se realiza un reparto acuoso con solución saturada de NaHCO₃. La fase acuosa se extrae con AcOEt x3, el conjunto de las fases orgánicas se seca con Na₂SO₄ anhidro, se evapora el solvente a presión reducida, y el crudo se purifica por cromatografía en columna FM: (8:2) \rightarrow (7:3) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH. Se obtiene la 7-hidroxiindolenina correspondiente como un aceite incoloro, (3,8mg, 52% de rendimiento).



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.37 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.90 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 6.82 (dd, *J* = 8.4, 2.6 Hz, 1H), 4.17 – 4.11 (m, 2H), 4.06 (s, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.50 – 3.41 (m, 2H), 2.92 (ddd, *J* = 14.7,
4.5, 1.4 Hz, 2H), 2.77 (dt, J = 8.8, 3.2 Hz, 2H), 2.74 – 2.67 (m, 3H), 2.49 (ddd, J = 13.9, 4.4, 2.7 Hz, 2H), 2.02 – 1.93 (m, 3H), 1.93 – 1.80 (m, 1H), 1.69 (q, J = 9.0 Hz, 1H), 1.55 (d, J = 6.4 Hz, 8H), 1.45 (dd, J = 13.1, 7.6 Hz, 1H).¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 186.1, 173.4, 159.2, 144.7, 144.1, 121.4, 113.7, 108.0, 88.2, 62.8, 60.4, 58.3, 56.3, 55.7, 53.3, 48.8, 48.3, 45.2, 34.3, 34.0, 31.5, 29.7, 26.9, 23.4, 21.0, 14.2. **GCMS**(IE) (m/z): 382 [M]^{*}, 365, 323.

6.2.39 18,19-dehidroibogaína (55) y 19-etoxiibogaína (64).34

Se realiza el procedimiento descrito en 7.2.34 con iboxigaína (50 mg, 0,153 mmol), el producto crudo (19-cloroibogína) se retoma en una solución de etóxido en etanol recién preparada a partir de 2mL de etanol y sodio metálico (35mg, 10eq). La solución se calentó a 50 °C durante 2,5 horas, y se monitorea el progreso de la reacción por TLC FM: (7:3) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH. Pasado este tiempo la solución se enfria a temperatura ambiente, se diluye con AcOEt y se agrega solución saturada de NaHCO₃. La fase acuosa se extrae con AcOEt (x3), el conjunto de las fases orgánicas se seca con Na₂SO₄, y se evapora el solvente a presión reducida. El crudo obtenido se purifica por cromatografía en columna FM: (8:2) \rightarrow (7:3) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH para obtener 18,19-dehidroibogaína como un aceite incoloro (13 mg, 27% de rendimiento) y 19-etoxiibogaína como un sólido blanco (11 mg, 20% de rendimiento).³⁴

18,19-dehidroibogaína (55)



¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 7.10 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.67 (dd, J = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 6.11 (ddd, J = 17.6, 10.3, 7.7 Hz, 1H), 5.08 (d, J = 17.3 Hz, 1H), 5.00 (dd, J = 10.2, 1.0 Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.40 – 3.32 (m, 1H), 3.31 – 3.23 (m, 1H), 3.19 – 3.04 (m, 3H), 2.99 (dt, J = 9.6, 3.0 Hz, 1H), 2.94 (s, 1H), 2.73 – 2.60 (m, 1H), 2.47 (q, J = 8.9, 8.1 Hz, 1H), 2.15 (ddt, J = 14.0, 11.8, 2.5 Hz, 1H), 1.99 – 1.89 (m, 1H), 1.90 (s, 2H), 1.65 (dq, J = 13.3, 3.3 Hz, 1H), 1.51 (ddd, J = 11.6, 6.0, 3.1 Hz, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, MeOD) δ 154.9, 144.4, 143.5, 131.9, 131.0, 114.0, 111.8, 111.3, 108.8, 101.1, 61.5, 56.3, 55.7, 50.8, 45.5, 41.2, 34.9, 31.9, 27.4, 21.4.³⁴

19-etoxiibogaína (64)



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.68 (s, 1H), 7.14 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.92 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 6.76 (dd, *J* = 8.6, 2.4 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.69 (dq, *J* = 9.3, 6.9 Hz, 1H), 3.51 – 3.38 (m, 1H), 3.38 – 3.27 (m, 2H), 3.16

- 3.08 (m, 2H), 3.03 (d, J = 9.8 Hz, 1H), 2.96 (s, 1H), 2.87 (d, J = 11.3 Hz, 1H), 2.60 (d, J = 15.9 Hz, 1H), 2.11 - 2.01 (m, 1H), 1.90 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 1.88 - 1.77 (m, 1H), 1.67 (ddt, J = 15.0, 4.8, 2.4 Hz, 1H), 1.62 - 1.51 (m, 1H), 1.22 (t, J = 7.0 Hz, 3H), 1.13 (d, J = 6.0 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 153.0, 128.9, 128.6, 128.3, 109.9, 109.8, 99.3, 78.3, 63.4, 55.0, 53.3, 49.1, 46.3, 43.2, 33.2, 28.5, 25.0, 19.4, 16.7, 14.7. ³⁴

6.2.40 (19R)-19-ciano voacangina (67).

En un balón de dos bocas seco y bajo atmósfera de argón, se coloca voacristina (15mg, 0,039mmol), KCN seco (25mg, 0,390mmol, 10eq), DMAP (9,5mg, 0,078mmol, 2,0eq), éter 18-c-6 (12,5mg, 0,047mmol) y por último MeCN seco (2mL). La suspensión se agita a temperatura ambiente y se agrega cloruro de mesilo (4,0µL, 0,047mmol, 1,2eq) lo que provoca la aparición instantánea de un precipitado blanco. El sistema se calienta a 50°C y la reacción se monitorea por TLC FM (7:3) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH. El sistema se lleva a reflujo por 2 horas, luego se enfría a temperatura ambiente, la reacción se diluye con AcOEt y se agrega solución saturada de NaHCO₃. La fase acuosa se extrae con AcOEt (x4). El conjunto de las fases orgánicas se seca con Na₂SO₄ anhidro, se evapora el solvente a presión reducida, y el crudo se purifica por cromatografía en columna, FM: (8:2) \rightarrow (75:25) \rightarrow (7:3) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH. Se obtiene **27** (8mg, 52%) como un sólido blanco.



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.69 (s, 1H), 7.15 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.91 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.82 (dd, *J* = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.61 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 3.33 (ddd, *J* = 15.2, 8.9, 5.8 Hz, 1H), 3.25 – 3.10 (m, 2H), 3.01 – 2.89 (m, 3H), 2.83 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 2.60 – 2.52 (m, 1H), 1.99 – 1.96 (m, 2H), 1.96 – 1.89 (m, 1H), 1.69 – 1.58 (m, 1H), 1.47 – 1.38 (m, 1H), 1.34 (d, *J* = 7.1 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 174.7, 154.1, 136.5, 130.4, 129.0, 123.0, 112.2, 111.2, 110.0, 100.7, 56.0, 55.3, 54.4, 52.9, 52.8, 51.0, 40.7, 36.4, 30.6, 29.2, 26.9, 22.0, 16.2.

6.2.41 (19R)-19-azido voacangina (68).

Se lleva a cabo el procedimiento descrito en 7.2.33 con voacristina (15 mg, 0,039mmol), para obtener un crudo de reacción (19-clorovoacangina) que se disuelve en una mezcla MeCN:H₂O (1:1) (2mL). Posteriormente se agrega NaN₃ (25mg, 0,390mmol, 10eq) y el sistema se lleva a temperatura de reflujo. La reacción se monitorea por TLC FM (7:3) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH durante 2 horas horas de calentamiento. Pasado este tiempo, el sistema se enfría a temperatura ambiente, se agrega solución saturada NaHCO₃ y AcOEt, y la fase acuosa se extrae con AcOEt (x4). El conjunto de las fases orgánicas se seca con Na₂SO₄ anhidro, se destila el solvente a presión reducida, y el crudo se purifica por cromatografía en columna, FM: (8:2) \rightarrow (75:25) \rightarrow (7:3) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH. Se obtiene el azido compuesto como un sólido blanco (8mg, 50%).



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.67 (s, 1H), 7.14 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 6.91 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.82 (dd, J = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.63 (s, 1H), 3.65 – 3.56 (m, 1H), 3.33 (ddd, J = 15.3, 9.0, 5.6 Hz, 1H), 3.23 – 3.11 (m, 2H), 2.98 – 2.90 (m, 2H), 2.82 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 2.56 (d, J = 13.5 Hz, 1H), 1.98 – 1.88 (m, 2H), 1.79 (t, J = 11.1 Hz, 1H), 1.50 – 1.44 (m, 1H), 1.44 – 1.38 (m, 1H), 1.34 (d, J = 6.5 Hz, 3H).¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 175.0, 154.0, 136.9, 130.4, 129.1, 112.0, 111.1, 110.0, 100.8, 61.7, 56.0, 55.9, 54.7, 53.0, 52.7, 51.0, 43.3, 36.4, 29.7, 26.9, 22.1, 17.8. LCMS: [M+H]⁺: 410. IR vmax: 3385, 2934, 2863, 2101, 1719, 1489, 1454, 1252, 734 (cm⁻¹).

6.2.42 (19R)-19-amino voacangina (69).

En un balón de una boca bajo atmósfera de argón, se coloca una solución de la azida **68** (8mg, 0,019mmol) en THF seco (0,5mL, 0,20M), se agrega trifenilfosfina (26mg, 0,097mmol) y se agita a temperatura ambiente durante la noche. Luego de que se evidencia el consumo del material de partida por TLC FM (7:3) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH, se agrega agua en exceso (0,5mL), y el sistema se calienta a reflujo por 2 horas. Luego, la solución se enfría a temperatura ambiente, se agrega AcOEt. El disolvente se evapora a presión reducida, para obtener un crudo se purifica por cromatografía en columna, FM: (9:1) (AcOEt:MeOH) + 1% NH₄OH. Se obtiene la amina primaria como un sólido amarillo (7,5mg, 90% de rendimiento).



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.87 (s, 1H), 7.15 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.92 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.81 (dd, *J* = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.73 (s, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.45 – 3.31 (m, 1H), 3.20 (dd, *J* = 12.4, 6.1 Hz, 1H), 3.17 – 3.08 (m, 1H), 3.04 – 2.96 (m, 1H), 2.93 (dd, *J* = 7.7, 4.7 Hz, 1H), 2.81 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 2.58 (d, *J* = 13.4 Hz, 1H), 1.97 – 1.87 (m, 1H), 1.71 (t, *J* = 12.3 Hz, 1H), 1.54 (dt, *J* = 13.5, 7.5 Hz, 1H), 1.34 – 1.27 (m, 0H), 1.14 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H). ¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 175.1, 154.0, 136.9, 130.6, 128.9, 112.0, 111.2, 109.9, 100.7, 57.4, 56.0, 54.9, 53.0, 52.7, 52.6, 51.4, 50.3, 43.2, 36.4, 27.0, 26.9, 21.9, 21.2.

6.2.43 (19R)-19-ciano ibogaína (75).

En balón de dos bocas bajo atmósfera de argón, se coloca iboxigaína (30mg, 0,092mmol), KCN seco (65mg, 0,920mmol, 10eq), DMAP (23mg, 0,184mmol, 2,0eq), éter 18-c-6 (30mg, 0,111mmol, 1,2eq), por último, se agrega MeCN seco (3,7mL) y la suspensión se agita a temperatura ambiente. Se agrega cloruro de mesilo (9µL, 0,111 mmol, 1,2eq) a la solución a temperatura ambiente, se observa la aparición instantánea de un precipitado blanco. El sistema se calienta a reflujo y la reacción se sigue por TLC FM (1:1) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH. Pasadas 3 horas se enfría a temperatura ambiente, la reacción se diluye con AcOEt y se agrega solución saturada de NaHCO₃, la fase acuosa se extrae con AcOEt (x4). El conjunto de las fases orgánicas se seca con Na₂SO₄ anhidro, se evapora el solvente a presión reducida, y el crudo se purifica por cromatografía en columna, FM: (7:3) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH. Se obtiene el producto como un aceite incoloro, que solidifica a -18°C (10,6mg, 35% de rendimiento).



¹**H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 7.61 (s, 1H), 7.18 (dd, *J* = 8.7, 0.5 Hz, 1H), 6.95 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 6.81 (dd, *J* = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.41 – 3.31 (m, 2H), 3.15 – 3.06 (m, 2H), 3.03 (ddt, *J* = 9.6, 5.8, 3.4 Hz, 1H), 2.99 – 2.96 (m, 1H), 2.95 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 2.91 (ddd, *J* = 11.6, 4.5, 1.7 Hz, 1H), 2.64 (ddd, *J* = 15.6, 3.7, 1.5 Hz, 1H), 2.14 – 2.04 (m, 1H), 2.04 – 1.99 (m, 1H), 1.97 (p, *J* = 2.9 Hz, 1H), 1.86 (tdd, *J* = 10.4, 5.1, 2.0 Hz, 1H), 1.72 (ddt, *J* = 13.3, 4.6, 3.0 Hz, 1H), 1.55 (ddt, *J* = 13.3, 5.2, 2.7 Hz, 1H), 1.30 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 154.1, 142.0, 130.0, 129.6, 123.8, 111.1, 110.9, 109.2, 100.4, 56.0, 54.7, 54.1, 49.6, 43.3, 40.5, 34.1, 30.9, 30.0, 26.1, 20.5, 16.4. **LCMS (APCl)**(m/z): 336,6 [M+H]⁺.

6.2.44 (19R)-19-azido ibogaína (73).

Se realizó el procedimiento descrito en 7.2.34 con iboxigaína (28 mg, 0,086 mmol), el producto crudo (19-cloroibogína) se disolvió en una mezcla MeCN:H₂O (1:1) (3mL) y se agregó NaN₃ (56mg, 0,860mmol, 10eq). El sistema se lleva a reflujo, se observa la disolución completa de los reactivos, el desarrollo de la reacción se monitoreó por TLC FM (6:4) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH. El calentamiento se mantuvo por 2 horas, pasado este tiempo, el sistema se enfrió a temperatura ambiente, se agrega solución saturada NaHCO₃ y AcOEt, la fase acuosa se extrae con AcOEt (x4). El conjunto de las fases orgánicas se seca con Na₂SO₄ anhidro, se destila el solvente a presión reducida, y el crudo se purifica por cromatografía en columna, FM: (8:2) \rightarrow (75:25) \rightarrow (7:3) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH. Se obtiene el azido compuesto como un aceite incoloro (21mg, 70% de rendimiento).



¹**H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 7.59 (s, 1H), 7.17 (dd, *J* = 8.7, 0.5 Hz, 1H), 6.96 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.81 (dd, *J* = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.58 (dq, *J* = 9.8, 6.4 Hz, 1H), 3.40 – 3.31 (m, 2H), 3.16 – 3.07 (m, 2H), 3.03 (dt, *J* = 9.5, 2.9 Hz, 1H), 2.98 (s, 1H), 2.87 (ddd, *J* = 11.6, 4.6, 1.7 Hz, 1H), 2.65 – 2.58 (m, 1H), 2.12 – 2.04 (m, 1H), 1.95 (p, *J* = 2.9 Hz, 1H), 1.90 – 1.81 (m, 1H), 1.74 – 1.68 (m, 1H), 1.68 – 1.58 (m, 2H), 1.32 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 154.1, 142.5, 130.0, 129.6, 110.9, 110.9, 109.3, 100.4, 62.9, 56.0, 55.7, 54.2, 49.9, 45.8, 40.9, 34.1, 29.8, 26.1, 20.6, 18.0. **LCMS (APCI)(**m/z): 351,4 [M+H]⁺.

6.2.45 (R,S)-19-metilsulfoxi ibogaína. (76)

Se lleva a cabo el procedimiento descrito en 7.2.34 con iboxigaína (30 mg, 0,091 mmol), para producir un crudo de reacción (19-cloroibogína) que se disuelve en una mezcla MeCN seco (1,8mL). Posteriormente se agrega CH₃SNa (64mg, 0,919mmol, 10eq) y el sistema se lleva a temperatura de reflujo, lo que provoca la disolución completa de los reactivos. La conversión de la reacción se monitorea por TLC FM (6:4) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH. El calentamiento se mantiene por 1,5 horas, y pasado este tiempo, el sistema se enfria a temperatura ambiente, se diluye con AcOEt, y se adiciona sílica-gel. El solvente se destila a presión reducida, y el crudo adsorbido en sílica fue utilizado para la siembra sólida de una columna cromatográfica, FM: $(8:2) \rightarrow (75:25) \rightarrow (7:3)$ (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH. Se obtiene el tiol como un aceite incoloro (27mg, 84% de rendimiento), el cual se oxida espontáneamente (con oxígeno atmosférico) al sulfóxido correspondiente (mezcla epimérica); luego de 72 horas la conversión es completa.



¹**H NMR** (400 MHz, MeOD) δ 7.10 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.89 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 6.67 (dd, *J* = 8.6, 2.5 Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.38 – 3.22 (m, 3H), 3.18 – 3.09 (m, 2H), 3.09 – 3.02 (m, 2H), 2.99 (ddd, *J* = 9.4, 6.1, 2.9 Hz, 1H), 2.69 – 2.61 (m, 1H), 2.18 – 2.07 (m, 1H), 1.94 (s, 3H), 1.90 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H), 1.88 – 1.79 (m, 1H), 1.65 (d, *J* = 10.2 Hz, 2H), 1.28 (d, *J* = 6.8, 3H). ¹³**C NMR** (100 MHz, MeOD) δ 154.9, 143.5, 131.8, 131.2, 111.8, 111.3, 108.9, 101.1, 62.9, 57.2, 56.3, 55.1, 50.6, 49.6, 49.4, 49.2, 49.0, 48.8, 48.6, 48.4, 42.4, 41.5, 34.9, 31.5 – 31.3 (m), 27.6, 22.1, 21.6, 8.1.

6.2.46 (19R)-19-fluoro ibogaína (77).

En un tubo sellado seco y purgado con argón, se coloca iboxigaína (35mg, 0,107mmol), se disuelve en MeCN seco (2,7mL, 0,04M) y la solución se agita a temperatura ambiente. Se agrega el reactivo de Burgess (hidróxido de (metoxicarbonilsulfamoil)trietil-amonio) (30mg, 0,128mmol, 1,2eq) y el sistema se calienta a 40 °C por una hora. Pasado este tiempo el sistema se enfría, se agrega CsF (162 mg, 1,070 mmol, 10 eq), y luego se vuelve a calentar pero esta vez a 90 °C durante 3 horas. La reacción se monitorea por TLC FM (1:1) (Hex:AcOEt) + 1% NH4OH y pasadas las 3 horas, se enfría a temperatura ambiente, se diluye con AcOEt y se agrega solución saturada de NaHCO₃. La fase acuosa se extrae con AcOEt (x4) y el conjunto de las fases orgánicas se seca con Na₂SO₄ anhidro. Se evapora el solvente a presión reducida, y el crudo se purifica por cromatografía en columna, FM: (9:1) (Hex:AcOEt) + 1% NH4OH. Se obtiene el producto como un sólido amorfo incoloro (18mg, 51% de rendimiento).



¹**H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 7.58 (s, 1H), 7.17 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 6.95 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 6.80 (dd, *J* = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 4.73 (ddq, *J* = 48.4, 9.0, 6.1 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.40 – 3.28 (m, 2H), 3.18 – 3.02 (m, 3H), 2.93 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 2.90 (ddd, *J* = 11.5, 4.7, 1.6 Hz, 1H), 2.65 – 2.56 (m, 1H), 2.11 (ddt, *J* = 14.3, 11.9, 3.0 Hz, 1H), 1.96 (t, *J* = 2.9 Hz, 1H), 1.84 (ddd, *J* = 8.1, 5.9, 2.3 Hz, 2H), 1.74 (tdd, *J* = 13.1, 4.8, 2.5 Hz, 1H), 1.37 (dd, *J* = 24.7, 6.1 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 154.1, 142.6, 130.0, 129.6, 110.9, 109.4, 100.3, 96.1, 94.8, 56.0, 55.7, 55.6, 54.2, 50.0, 46.6, 46.5, 40.8, 34.3, 28.6, 28.6, 25.9, 20.5, 19.7, 19.6. **LCMS (APCI)**(m/z): 329,6 [M+H]⁺.

6.2.47 7-acetil-2-azabiciclo[2.2.2]oct-5-en-2-carboxilato de metilo (80).35

En un balón seco y bajo atmosfera inerte de argón, en baño de hielo se coloca MeOH (calidad HPLC)(700mL), y se adiciona NaBH₄ (37,8g, 1mol) en porciones, teniendo en cuenta que la disolución es exotérmica y produce liberación de gas (hidrógeno). Luego, se agrega piridina (79g, 1mol), y el sistema se enfría a -70 °C (hielo seco + acetona), controlando la temperatura interna de la solución, para que no supere los -55 °C. Finalmente se agrega cloroformiato de metilo (94,5g, 1mol) gota a gota. La agitación magnética vigorosa se mantiene durante el período de agregado

(aproximadamente 3 horas), y se observa la aparición de precipitado blanco. Finalizada la adición, la agitación se mantiene durante 1 hora, con un control estricto de la temperatura. Posteriormente, la mezcla de reacción se vierte en H₂O (500 mL), y el MeOH se evapora parcialmente de la mezcla por destilación a presión reducida. La fase acuosa se extrae con Et₂O (3x 500 mL), y el combinado de fases orgánicas se lava con solución saturada de NaCl (3 x 500 mL), se seca con Na₂SO₄ anhidro, y se destila el disolvente a presión reducida. El crudo conteniendo mayoritariamente la dihidropiridina, se filtra por sílica gel utilizando una mezcla (1:1) (Hex:AcOEt) como eluyente. Se obtiene el producto como un aceite incoloro (95g, 68% de rendimiento) que fue utilizado en el siguiente paso sin otra purificación.

La dihidropiridina obtenida (95g, 0,682mol) se coloca en un tubo sellado seco y purgado con argón junto con metilvinilcetona (90mL, 1,08mol, 1,6eq), el sistema se calienta a 75-79 °C por 48 horas, el consumo de dihidropiridina se monitorea por GCMS. Pasado este tiempo la reacción se enfría a temperatura ambiente se destila la metilvinilcetona a presión reducida y el crudo (aceite naranja) se disuelve en MeOH 500mL, y se agrega MeONa (18,4g, 0,34mol, 0,5eq). La solución se agita a temperatura ambiente por 2 horas, para producir la interconversión de epímeros que se monitorea por GCMS. Pasado este tiempo, se agrega agua destilada (100mL) y el MeOH se destila a presión reducida, el residuo se retoma en DCM (800mL) y se lava con agua (2x 500mL), y solución saturada de NaCl (500mL). La fase orgánica se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y el solvente se evapora a presión reducida. El crudo se purifica por cromatografía en columna FM: (9:1) \rightarrow (7:3) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH, para obtener el producto como un aceite amarillo (99g, 70% de rendimiento), es una mezcla epimérica de proporción (35:65)(endo:exo). La asignación de la proporción epimérica se hizo en base a lo reportado en la referencia,³⁵ la proporción relativa de los epímeros se estableció por GCMS.



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.56 – 6.38 (m, 3H), 6.30 (ddd, J = 7.9, 6.0, 1.6 Hz, 1H), 5.22 – 4.93 (m, 2H), 3.70 (s, 3H), 3.62 (s, 3H), 3.29 (dd, J = 10.0, 2.3 Hz, 2H), 3.17 – 3.06 (m, 1H), 2.92 (dt, J = 10.0, 2.7 Hz, 2H), 2.89 – 2.73 (m, 2H), 2.31 (s, 3H), 1.98 – 1.66 (m, 2H). **GCMS**(IE) (m/z): 209 [M]⁺. ³⁵

6.2.48 7-(propen-2-il)-2-azabiciclo[2.2.2]oct-5-en-2-carboxilato de metilo (86).³⁶

En un balón seco y bajo atmosfera de argón, se coloca la sal de bromuro de metiltrifenilfosfonio (1,2g, 3,35mmol, 1,4eq) previamente secada a vacío durante 15 minutos a 50°C, y se disuelve en una mezcla THF:HMPA (4,5:0,5) (12mL). La solución se agita vigorosamente y se agrega lentamente una solución 1M de hexametildisilazano de potasio (3,1mL, 3,1mmol, 1,3eq) lo que genera un color rojo intenso. El sistema se agita durante 15 minutos a temperatura ambiente, y luego se enfría a -78°C en un baño de hielo seco/acetona. Se agrega una solución de la cetona (0,5g, 2,39mmol) en THF seco (2 mL), gota a gota, y finalizada la adición, se retira el baño y la solución se lleva a temperatura ambiente durante un período de dos horas. El consumo total del material de partida fue controlado por TLC, FM: (8:2) (Hex:EtOAc). Una vez finalizada la reacción, se agrega agua destilada (30mL), y la fase acuosa se extrae con AcOEt (x3). Luego, la combinación de las capas orgánicas se lava con una solución saturada de NaHCO3 y luego de NaCl. Se seca con Na2SO4 anhidro, y el solvente se destila a presión reducida. El crudo de reacción se purifica por cromatografía en columna FM: (95:5) (Hex:AcOEt), para obtener el alqueno correspondiente como un aceite incoloro (0,39g, 80% de rendimiento). Se trata de una mezcla epimérica de proporción (36:64)(endo:exo), la asignación se realizó asumiendo que la proporción original del material de partida no cambia, por tanto se mantiene el mayoritario (exo).



¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 6.52 (dddd, J = 27.0, 7.9, 6.2, 1.5 Hz, 1H), 6.45 – 6.23 (m, 2H), 4.89 – 4.83 (m, 2H), 4.80 – 4.73 (m, 1H), 4.70 – 4.55 (m, 1H), 3.71 (d, J = 13.2 Hz, 2H), 3.67 (d, J = 2.1 Hz, 3H), 3.36 – 3.22 (m, 2H), 3.01 (dddd, J = 23.9, 11.1, 7.0, 2.7 Hz, 2H), 2.84 – 2.74 (m, 2H), 2.72 (d, J = 7.8 Hz, 0H), 2.22 (dt, J = 11.6, 6.0 Hz, 1H), 1.91 (tdd, J = 12.5, 9.9, 3.3 Hz, 1H), 1.82 (d, J = 15.8 Hz, 3H), 1.71 (d, J = 5.8 Hz, 2H), 1.63 (qt, J = 12.2, 3.2 Hz, 1H), 1.52 (dddd, J = 18.7, 13.0, 5.6, 2.2 Hz, 1H), 1.39 – 1.27 (m, 1H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 145.9, 134.1, 134.0, 133.7, 133.7, 133.2, 133.1, 131.2, 130.6, 129.6, 110.7, 110.5, 110.4, 110.3, 52.3, 52.2, 49.1, 48.9, 48.5, 48.4, 48.4, 48.2, 46.8, 46.5, 45.8, 45.6, 45.3, 31.3, 31.0, 30.7, 30.5, 29.2, 29.1, 27.0, 26.7, 22.4, 22.3. LCMS (APCl)(m/z): 208 [M+H]⁺.

6.2.49 7-(but-2-en-2-il)-2-azabiciclo[2.2.2]oct-5-en-2-carboxilato de metilo, (**87**) mezcla de isómeros.³⁶

En un balón seco y bajo atmosfera de argón, se colocó bromuro de etiltrifenilfosfonio (745mg, 2,0mmol, 1,4eq) previamente secada a vacío durante 15 minutos a 50°C, la sal se disolvió en una mezcla THF:HMPA (4,5:0,5) (7mL), la solución se agitó vigorosamente y se agrega una solución 1M de hexametildisilazano de potasio (1,86mL, 1,86mmol, 1,3eq) lentamente. La solución toma un color marrón intenso, se agitó durante 15 minutos a temperatura ambiente, y luego se enfrió a -78°C en un baño de hielo seco/acetona. A la mezcla de reacción se agrega una solución de la cetona (300mg, 1,43mmol) en THF seco (2 mL), gota a gota, finalizada la adición, se retira el baño y la solución se lleva a temperatura ambiente durante el período de dos horas. El consumo total del material de partida fue controlado por TLC, FM: (8:2) (Hex:EtOAc). Una vez finalizada, se agrega agua destilada (25mL), y la fase acuosa se extrae con EtOAc (x3). Luego, la combinación de las capas orgánicas se lavó con una solución saturada de NaHCO₃ y NaCl, se secó con Na₂SO₄ anhidro, y el solvente se destiló a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna FM: (95:5) (Hex:AcOEt), se obtiene una mezcla de alquenos como un aceite incoloro (161mg, 51% de rendimiento) que corresponde a los isómeros geométricos Z/E de cada epímero exo/endo, no separables por cromatografía en columna.



¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.40 – 7.04 (m, 4H), 6.20 – 5.52 (m, 2H), 4.94 (d, J = 107.3 Hz, 1H), 4.39 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 3.72 (s, 3H), 3.39 – 3.06 (m, 1H), 2.69 – 2.11 (m, 1H), 2.08 – 1.98 (m, 3H), 1.84 – 1.76 (m, 2H), 1.76 – 1.65 (m, 1H), 1.60 (dd, J = 7.0, 1.7 Hz, 2H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 157.1, 144.6, 142.3, 138.2, 136.5, 135.2, 135.2, 128.5, 128.4, 127.3, 127.2, 126.6, 126.5, 125.6, 124.8, 122.9, 121.9, 121.4, 121.0, 117.9, 52.3, 52.1, 45.2, 44.5, 34.3, 27.4, 25.4, 22.6, 15.5, 15.1, 14.9, 14.4, 14.3, 13.2. LCMS (APCI)(m/z): 222 [M+H]⁺.

6.2.50 7-(1-hidroxietil)-2-azabiciclo[2.2.2]oct-5-en-2-carboxilato de metilo. Epímeros (**89**) y (**90**). ³⁷

En un balón seco y bajo atmosfera de argón, se coloca una solución de la cetona **80** (1,97g, 9,41mmol) en MeOH seco (12mL, 0,8M). La solución se enfría en baño de hielo, y se agrega NaBH₄ (178mg, 4,71mmol) en porciones en el correr de 20 minutos. Finalizado el agregado se retira el baño de hielo y la agitación se mantiene a temperatura ambiente por una hora. El consumo total del material de partida se controla por TLC, FM: (1:1) (Hex:EtOAc). Una vez pasado este tiempo, se agrega

agua destilada (10mL), y el MeOH se destila a presión reducida hasta un volumen constante. La fase acuosa se extrae con EtOAc (x3); las fases orgánicas combinadas se lavan con una solución saturada de NaCl, y se secan con Na₂SO₄ anhidro. El solvente se destila a presión reducida. El crudo de reacción se purifica por cromatografía en columna FM: (9:1) \rightarrow (7:3) (Hex:EtOAc), para obtener dos productos de reducción: el alcohol con configuración *exo* (574mg, 29% de rendimiento) y una mezcla de diasteromeros con configuración *endo* (578mg, 29% de rendimiento), ambos como aceites incoloros. La posición relativa del residuo etílico fue establecida por experimentos de NOESY (ver ANEXO I espectros seleccionados).



¹**H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 6.61 – 6.23 (m, 2H), 5.16 – 4.84 (m, 1H), 3.74 – 3.63 (m, 4H), 3.34 – 3.18 (m, 1H), 3.18 – 3.11 (m, 1H), 3.05 – 2.93 (m, 1H), 2.75 (s, 1H), 2.05 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H), 1.86 – 1.71 (m, 1H), 1.14 (t, *J* = 5.9 Hz, 3H), 0.94 – 0.82 (m, 1H). ¹³**C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 135.0, 134.6, 130.8, 130.3, 70.7, 52.4, 47.5, 47.0, 46.7, 31.1, 30.8, 27.2, 27.1, 21.1.³⁸



exo

¹**H** NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.46 (dq, *J* = 8.1, 6.4 Hz, 2H), 4.87 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 3.76 (s, 0H), 3.73 (s, 2H), 3.35 (dq, *J* = 9.6, 6.1 Hz, 1H), 3.24 (dd, *J* = 10.1, 2.5 Hz, 1H), 2.99 (dt, *J* = 10.1, 2.5 Hz, 1H), 2.71 (ddt, *J* = 5.8, 3.7, 2.1 Hz, 1H), 1.61 (dddd, *J* = 12.5, 10.7, 3.6, 2.8 Hz, 1H), 1.50 (tdd, *J* = 10.8, 4.3, 1.7 Hz, 1H), 1.22 (d, *J* = 6.2 Hz, 3H), 0.94 (ddd, *J* = 12.6, 4.3, 2.2 Hz, 1H). ¹³**C** NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 157.7, 134.9, 132.4, 70.4, 52.8, 48.5, 47.6, 46.6, 30.7, 27.1, 20.5.³⁸

6.2.51 7-etilidien-2-azabiciclo[2.2.2]oct-5-en-2-carboxilato de metilo (92' y 92(Z/E)).

En un balón seco y bajo atmosfera de argón, se coloca una solución del alcohol **90** (500mg, 2,37mmol) en DCM seco (12mL, 0,2M). La solución se enfría en baño de hielo, y se agrega trietilamina (1mL, 7,10mmol, 3eq) y cloruro de tosilo (676mg, 3,55mmol, 1,5eq). Por último, se adiciona una cantidad catalítica de DMAP. Finalizado el agregado se retira el baño de hielo y la solución se calienta a 40 °C por 4 horas. El consumo total del material de partida fue controlado por TLC, FM: (1:1) (Hex:EtOAc). Una vez pasado este tiempo, se agrega solución saturada de NaHCO₃, y la fase acuosa

se extrae con DCM (x3). La combinación de las capas orgánicas se lava con una solución saturada de NaCl, se seca con Na₂SO₄ anhidro, y el solvente se destila a presión reducida. El crudo de reacción se filtra por sílica gel con un eluyente de: (9:1) (Hex:EtOAc), obteniéndose el tosilato crudo (630mg, 73% de rendimiento) el cual es utilizado para el siguiente paso de reacción sin otra purificación.

A temperatura ambiente en un balón seco y bajo atmosfera de argón con agitación constante, se coloca una solución del tosilato obtenido según la técnica anterior (112mg, 0,307mmol) en DMSO (1mL, 0,3M), seguida de t-BuOK (69mg, 0,613mmol, 2eq). El consumo total del material de partida fue controlado por TLC, FM: (7:3) (Hex:EtOAc), pasada una hora la reacción se diluye con el agregado de éter etílico y se adiciona 10mL de agua destilada. La fase acuosa se extrae con éter etílico (x3), la combinación de las capas orgánicas se lava con una solución saturada de NaCl, se seca con Na₂SO₄ anhidro. El solvente se destila a presión reducida para obtener un crudo de reacción que se purifica por cromatografía en columna FM: (7:3) (Hex:AcOEt). Se obtienen como productos una mezcla de 3 alquenos (isómeros) no separable por cromatografía en columna (50mg, 84% de rendimiento). La relación entre alqueno terminal **92'** y alqueno trisustituído **92-(Z/E)** (0,23:1) se estableció por la integración relativa de las señales en 1H-RMN correspondientes a los protones del alqueno. De la misma forma, se estableció una proporción relativa (0,58:0,42) para los dos isómeros de posición **92-Z y 92-E**, pero —con la información disponible— no pudo establecerse cuál es el mayoritario.



¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 6.48 (dddd, J = 25.7, 8.0, 6.1, 1.7 Hz, 2H), 6.43 – 6.33 (m, 2H), 5.82 (dddd, J = 18.6, 17.1, 10.3, 7.9 Hz, 1H), 5.53 – 5.36 (m, 1H), 5.16 – 4.99 (m, 2H), 4.96 (dd, J = 6.1, 1.4 Hz, 1H), 4.72 – 4.37 (m, 1H), 3.68 (s, 6H), 3.28 (td, J = 10.1, 2.2 Hz, 2H), 3.07 (ddt, J = 20.7, 10.1, 2.5 Hz, 1H), 2.92 (dt, J = 8.6, 3.8 Hz, 1H), 2.34 – 2.22 (m, 1H), 2.25 – 2.05 (m, 2H), 1.70 (ddd, J = 13.9, 8.6, 3.2 Hz, 1H), 1.53 (dd, J = 6.8, 1.6 Hz, 3H) 1.32 (ddd, J = 13.0, 4.6, 2.3 Hz, 1H). **13C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 155.6, 155.2, 140.8, 140.6, 136.4, 136.1, 135.0, 134.5, 134.3, 134.0, 133.9, 133.6, 133.4, 132.8, 132.6, 132.1, 131.0, 130.4, 117.3, 117.0, 114.8, 114.7, 54.0, 53.4, 52.4, 52.3, 52.3, 50.7, 50.1, 50.1, 49.6, 48.4, 48.1, 47.7, 47.3, 47.1, 46.8, 43.4, 43.1, 43.0, 42.7, 31.8, 31.5, 31.0, 30.8, 30.7, 30.5, 29.7, 29.7, 29.7, 28.8, 28.8, 13.2. ³⁸

6.2.52 ((3-acetil-6-iodociclohex-3-en-1-il)metil)carbamato de metilo. (93)

En un balón de dos bocas seco y bajo atmósfera inerte (Ar), se coloca el carbamato 80 (98mg, 0,468mmol) y se disuelve en DCM (4,7mL, 0,10M). Con agitación constante y en baño de hielo se agrega TMSI (134µL, 0,133mmol, 2,0eq) y el consumo de material de partida se monitorea por TLC (1:1)(Hex:AcOEt) + 1%NH4OH. Pasadas 2 horas, se agrega MeOH (1mL) con el fin de destruir el TMSI remanente y el solvente se reduce a presión reducida. El crudo se purifica por cromatografía en

columna FM: (1:1)(Hex:AcOEt) + 1%NH4OH, se obtiene como producto la cetona 93 (28mg, 18% de rendimiento) como un aceite incoloro.



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.79 – 6.65 (m, 1H), 5.01 (s, 1H), 4.53 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.34 (dtt, J = 20.6, 4.9, 2.6 Hz, 1H), 3.22 (dt, J = 14.1, 6.3 Hz, 1H), 3.11 – 3.02 (m, 1H), 2.93 (dt, J = 14.2, 7.1 Hz, 1H), 2.56 (d, J = 18.4 Hz, 1H), 2.31 (s, 3H), 1.84 (dddt, J = 17.9, 11.0, 4.6, 2.3 Hz, 1H), 1.01 (s, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 198.4, 157.2, 137.8, 136.4, 52.3, 47.4, 38.5, 38.1, 32.6, 26.0, 25.4. GCMS (IE)(m/z): 210.1 [M-I]^{*}.

6.2.53 7-(1-metoxietil)-2-azabiciclo[2.2.2]oct-5-en-2-carboxilato de metilo (94).

En un balón de dos bocas seco y bajo atmósfera inerte (Ar), se coloca el alcohol 90 (100mg, 0,473mmol) y se disuelve en DMF (4,7mL, 0,1M). La solución se enfría en baño de hielo, y se agrega NaH (24mg, 0,615mmol, 1,3eq). Se deja reaccionar con agitación constante durante 20 minutos retirando baño de hielo (se observa desprendimiento de gas). Luego, se agrega ioduro de metilo (44 μ L, 0,710mmol, 1,5eq). El sistema se agita a temperatura ambiente por 1,5 horas, una vez que se evidencia el consumo de material de partida por TLC (6:4)(Hex:AcOEt) + 1%NH4OH, la reacción se diluye en agua (20mL) y se agrega éter etílico. La fase acuosa se extrae con éter etílico (x3), el conjunto de las fases orgánicas se seca con Na₂SO4, y el solvente se evapora a presión reducida. El crudo se purifica por cromatografía en columna FM: (8:2)(Hex:AcOEt) + 1%NH4OH, se obtiene como producto el metileter (92mg, 86%) como un aceite incoloro.



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 6.43 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H), 6.32 (dt, *J* = 13.9, 7.2 Hz, 1H), 4.86 (dd, *J* = 6.2, 1.7 Hz, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.30 (s, 3H), 3.19 (t, *J* = 9.2 Hz, 1H), 3.03 – 2.90 (m, 2H), 2.73 – 2.63 (m, 1H), 1.63 – 1.39 (m, 2H), 1.13 (d, *J* = 6.1 Hz, 3H), 0.95 (dq, *J* = 12.2, 2.2 Hz, 1H). ¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 156.4, 134.1, 133.7, 133.3, 133.1, 78.5, 78.3, 56.7, 56.3, 52.2, 49.0, 48.9, 46.7, 46.4, 46.3, 46.2, 30.7, 30.5, 26.4, 26.2, 16.9, 16.8.

6.2.54 7-(1-terbutildimetilsililoxi)-2-azabiciclo[2.2.2]oct-5-en-2-carboxilato de metilo. (**95**)

En un balón de dos bocas seco y bajo atmósfera inerte (Ar), se coloca el alcohol 90 (212mg, 1,0mmol), junto con imidazol (273mg, 4,01mmol, 4eq) y se disuelve en DMF (6,7mL, 0,15M). Con agitación constante y a temperatura ambiente se agrega TBSCl (302mg, 2,01mmol, 2,0eq) y el sistema se deja agitando toda la noche. Pasadas 20 horas, y habiendo constatado el consumo de material de partida por TLC (1:1)(Hex:AcOEt) + 1%NH₄OH, la reacción se diluye en agua (35mL) y se agrega éter etílico. La fase acuosa se extrae con éter etílico (x3), el conjunto de las fases orgánicas se seca con Na₂SO₄, y el solvente se evapora a presión reducida. El crudo se purifica por cromatografía en columna FM: (9:1)(Hex:AcOEt) + 1%NH₄OH, se obtiene como producto el sililéter (260mg, 80%) como un aceite incoloro.



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 6.47 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 6.29 (t, J = 7.0 Hz, 1H), 4.76 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.23 – 3.11 (m, 1H), 3.04 – 2.89 (m, 1H), 2.69 (s, 1H), 1.58 – 1.40 (m, 2H), 1.16 (dd, J = 8.1, 5.9 Hz, 3H), 1.10 – 0.95 (m, 1H), 0.91 (d, J = 1.6 Hz, 12H), 0.13 – 0.03 (m, 6H). ¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 157.1, 156.5, 134.7, 134.1, 133.0, 132.8, 70.1, 69.8, 52.2, 49.4, 48.9, 48.0, 47.4, 47.1, 46.4, 30.8, 30.6, 26.3, 26.1, 26.0, 25.7, 22.2, 21.9, 18.1, 18.0, -3.6, -4.8.

6.2.55 7-(1-metoxietil)-2-azabiciclo[2.2.2]oct-5-eno. (96)

En un balón de dos bocas seco y bajo atmósfera inerte (Ar), se coloca el carbamato 94 (92mg, 0,408mmol) y se disuelve en DCM (4mL, 0,10M). Con agitación constante y en baño de hielo se agrega TMSI (64 μ L, 0,449mmol, 1,1eq) y el sistema se deja agitando a temperatura ambiente toda la noche. Pasadas 20 horas, y habiendo constatado el consumo de material de partida por TLC (1:1)(Hex:AcOEt) + 1%NH4OH, se agrega MeOH (1mL) con el fin de destruir el TMSI remanente y el solvente se reduce a presión reducida. El crudo se purifica por cromatografía en columna FM: (99:1) \rightarrow (9:1)(AcOEt:MeOH) + 1%NH4OH, se obtiene como producto la amina 96 (29mg, 50% de rendimiento) como un aceite incoloro.



¹**H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 8.76 (s, 1H), 7.57 (s, 1H), 6.65 – 6.55 (m, 1H), 6.52 (ddd, *J* = 8.0, 6.1, 1.4 Hz, 1H), 4.54 (d, *J* = 6.1 Hz, 1H), 3.75 – 3.64 (m, 1H), 3.45 (s, 3H), 3.34 – 3.20 (m, 1H), 3.02 (td, *J* = 9.8, 8.4, 3.0 Hz, 1H), 2.93 (dt, *J* = 4.2, 2.1 Hz, 1H), 1.71 (tt, *J* = 12.0, 3.3 Hz, 1H), 1.60 (dt, *J* = 11.7, 4.4 Hz, 1H),

1.48 (ddd, J = 12.4, 5.0, 2.2 Hz, 1H), 1.30 (d, J = 6.3 Hz, 3H). ¹³**C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 137.0, 129.5, 77.8, 57.4, 46.8, 44.4, 40.6, 28.0, 25.6, 16.8.

6.2.56 2-(2-(1H-indol-3-il)etil)-7-(prop-1-en-2-il)-2-azabiciclo[2.2.2]oct-5-eno (97).

En un tubo sellado, se coloca la amina 94 (29mg, 0,173mmol), 3-(2-bromoetil)indol (46mg, 0,208mmol, 1,2eq), MeCN seco (1,16 mL, 0,15 M) y NaHCO₃ (58 mg, 0,694 mmol, 4 eq). La suspensión se calienta a 110°C con agitación constante durante 15 minutos, o hasta constatar el consumo del material de partida por TLC (FM: 9:1 (AcOEt:MeOH) + 1%NH₄OH). El sistema se enfría a temperatura ambiente, y se agregan 10mL de agua destilada y la fase acuosa se extrae con AcOEt (x4). Las fases orgánicas combinadas se secan con Na₂SO₄, se evapora el disolvente bajo presión reducida y el crudo resultante es purificado por columna cromatográfica FM: (9:1) \rightarrow (8:2) \rightarrow (1:1) (Hex:AcOEt) + 1%NH₄OH. El producto 97 se obtiene como un sólido blanco (34mg, 63% de rendimiento).



exo

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.91 (s, 1H), 7.59 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.34 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.17 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.10 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.01 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 6.39 – 6.25 (m, 2H), 3.69 (s, 1H), 3.55 – 3.42 (m, 1H), 3.28 (s, 3H), 3.13 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 2.96 – 2.77 (m, 2H), 2.57 – 2.50 (m, 1H), 2.46 (s, 1H), 1.97 (dt, J = 8.7, 2.1 Hz, 2H), 1.47 – 1.29 (m, 3H), 1.12 (d, J = 6.1 Hz, 3H), 0.89 (dd, J = 11.2, 4.4 Hz, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 136.2, 133.3, 132.3, 127.7, 121.8, 121.5, 119.1, 118.8, 114.8, 111.0, 78.2, 58.9, 56.6, 56.4, 52.9, 46.9, 31.3, 26.3, 24.3, 17.3.

6.2.57 (2-(2-(1H-indol-3-il)etil)-7-(1-metoxietil)-2-azabiciclo[2.2.2]oct-5-eno, (98) y 2-(2-(1H-indol-3-il)etil)-7-(propan-2-iliden)-2-azabiciclo[2.2.2]oct-5-eno (99).

En un balón de dos bocas seco y bajo atmósfera inerte (Ar), se coloca el carbamato 86 (340mg, 1,66mmol) que se disuelve en DCM (13mL, 0,12M). Con agitación constante y en baño de hielo se agrega TMSI (470µL, 3,22mmol, 2,0eq) y el sistema se deja agitando a temperatura ambiente toda la noche. Pasadas 12 horas, y habiendo constatado el consumo de material de partida por TLC (9:1)(Hex:AcOEt) + 1%NH₄OH, se agrega MeOH (1mL) con el fin de destruir el TMSI remanente y el solvente se destila a presión reducida. El crudo (aceite amarronado) se seca a vacío dando lugar a un sólido pegajoso (iodhidrato), el cual fue utilizado para la siguiente reacción sin otra purificación.

El crudo de la reacción anterior (461mg, 1,66mmol) se disuelve en MeCN seco (16,6mL, 0,1M) y la solución se coloca en un tubo sellado junto con 3-(2-bromoetil)indol (447mg, 2,0mmol, 1,2eq) y NaHCO₃ (558mg, 6,65mmol, 4eq). El sistema se calienta a 82 °C y la agitación se mantiene por 19 horas, o hasta constatar el consumo del material de partida por TLC (FM: 9:1 (AcOEt:MeOH) + 1%NH₄OH). El sistema se enfría a temperatura ambiente, y el solvente se destila a presión reducida, el crudo se retoma en 10mL de agua destilada y la fase acuosa se extrae con AcOEt (x4). Las fases orgánicas combinadas se secan con Na₂SO₄, se evapora el disolvente bajo presión reducida y el crudo resultante es purificado por columna cromatográfica FM: (9:1) \rightarrow (8:2) \rightarrow (1:1) (Hex:AcOEt) + 1%NH₄OH. Se obtienen dos productos de N alquilación (isómeros de posición); el alqueno tetrasustituído 98 (90mg, 29% de rendimiento) y el alqueno terminal 99 (55mg, 18% de rendimiento) así como 92mg de la amina de partida en su forma de base libre sin reaccionar.



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.95 (s, 1H), 7.61 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.35 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.18 (ddd, J = 8.2, 7.0, 1.3 Hz, 1H), 7.15 – 7.08 (m, 1H), 7.00 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.41 (dd, J = 4.4, 3.2 Hz, 1H), 4.25 – 4.20 (m, 1H), 3.03 – 2.87 (m, 1H), 2.82 – 2.74 (m, 1H), 2.74 – 2.69 (m, 1H), 2.66 (td, J = 11.3, 6.0 Hz, 1H), 2.56 (dd, J = 9.6, 2.9 Hz, 1H), 2.15 (d, J = 15.9 Hz, 1H), 2.00 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 1.74 (s, 3H), 1.59 (s, 3H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 136.2, 133.9, 132.1, 127.5, 121.9, 121.4, 119.2, 119.0, 114.6, 111.1, 58.3, 55.2, 54.7, 32.5, 31.3, 24.6, 20.4, 19.7. LCMS (APCl)(m/z): 293.4 [M+H]⁺.



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.11 (s, 1H), 7.64 (dd, J = 7.9, 1.1 Hz, 1H), 7.37 (dt, J = 8.1, 1.0 Hz, 1H), 7.21 (ddd, J = 8.2, 7.0, 1.3 Hz, 1H), 7.14 (ddd, J = 8.0, 7.0, 1.2 Hz, 1H), 7.02 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.44 (ddd, J = 8.0, 6.5, 1.4 Hz, 1H), 6.23 (ddd, J = 8.2, 5.4, 1.4 Hz, 1H), 4.74 (t, J = 1.6 Hz, 1H), 4.66 – 4.59 (m, 1H), 3.61 (dq, J = 3.9, 1.2 Hz, 1H), 3.09 (dd, J = 9.9, 1.9 Hz, 1H), 3.03 – 2.84 (m, 5H), 2.73 – 2.57 (m, 1H), 2.23 (dt, J = 9.8, 2.8 Hz, 1H), 1.89 (ddd, J = 12.6, 9.7, 3.0 Hz, 1H), 1.73 (s, 3H), 1.32 – 1.19 (m, 2H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 148.1, 136.2, 133.0, 130.7, 127.6, 121.9, 121.5, 119.2, 118.9, 114.7, 111.1, 109.7, 58.8, 56.6, 54.0, 45.0, 31.5, 29.8, 24.6, 22.6. LCMS (APCl)(m/z): 293.4 [M+H]⁺.

6.2.58 18-metoxiibogamina (115).

En un balón de dos bocas, se coloca (±)-18-MC adquirida comercialmente (20mg, 0,054mmol) y se disuelven en una mezcla (EtOH:H₂O) (3:2) (2,7 mL, 0,02 M) y se agrega KOH (30 mg, 0,542 mmol, 10 eq). La solución es barbotada con argón durante 15 minutos a temperatura ambiente, y durante 5 minutos durante su calentamiento a reflujo. El sistema se refluja durante toda la noche (12hs), o hasta constatar el consumo del material de partida por TLC (FM: 8:2 (Hex:AcOEt) + 1%NH4OH). La solución se enfría a temperatura ambiente, y se agrega HCl 5 M (0,40 mL, 2,01 mmol, 37 eq). La solución se calienta nuevamente a reflujo durante 15 minutos. El sistema se enfría a temperatura ambiente nuevamente y la solución se neutraliza por agregado de NaHCO₃ sólido, hasta no observar desprendimiento de gas. El etanol se evapora a presión reducida, hasta volumen constante y la fase acuosa se extrae con AcOEt (x4). La fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se evapora el disolvente bajo presión reducida y el crudo resultante es purificado por columna cromatográfica FM: 8:2 (Hex:AcOEt) + 1%NH4OH. 18-metoxiibogamina se obtiene como un sólido blanco (9,2mg, 55% de rendimiento).



¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.66 (s, 1H), 7.47 (dd, J = 7.2, 1.6 Hz, 1H), 7.25 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.15 – 7.05 (m, 2H), 3.45 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 3.42 – 3.34 (m, 2H), 3.34 (s, 3H), 3.19 – 3.12 (m, 1H), 3.09 (dt, J = 9.3, 2.1 Hz, 1H), 3.01 – 2.93 (m, 2H), 2.84 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 2.73 – 2.61 (m, 1H), 2.05 (ddt, J = 14.0, 11.8, 2.7 Hz, 1H), 1.92 – 1.79 (m, 4H), 1.73 (q, J = 7.7, 6.2 Hz, 1H), 1.65 (dq, J = 13.1, 3.4 Hz, 1H), 1.30 – 1.20 (m, 1H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 141.7, 134.7, 129.7, 121.0, 119.1, 117.9, 110.1, 109.2, 70.9, 58.7, 57.9, 54.1, 49.9, 41.3, 36.3, 34.8, 34.1, 31.9, 26.5, 20.7.³⁹

6.2.59 (19R)-19-aminoibogaína (116).

En un balón de una boca seco y purgado con argón, a temperatura ambiente y con agitación, se coloca una solución de la azida **73** (21mg, 0,059mmol) en THF seco (0,5mL, 0,10M), y se agrega trifenilfosfina (75mg, 0,285mmol). Se monitorea el consumo de material de partida por TLC FM (3:7) (Hex:AcOEt) + 1% NH₄OH, luego de 12 horas se agrega agua en exceso (0,5mL), y el sistema se calienta a reflujo por 1 hora. Luego, la solución se enfría a temperatura ambiente y el solvente se evapora a presión reducida, para obtener un crudo que se evapora sucesivamente de AcOEt para eliminar el agua. El crudo se purifica por cromatografía en columna, FM: (9:1) (AcOEt:MeOH) + 1% NH₄OH. Se obtiene la amina primaria como un sólido amarillo (11mg, 68% de rendimiento).



¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.68 (s, 1H), 7.15 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.91 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.78 (dd, *J* = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.38 – 3.31 (m, 1H), 3.28 (dd, *J* = 13.1, 4.9 Hz, 2H), 3.12 – 3.05 (m, 2H), 3.02 (d, *J* = 10.5 Hz, 2H), 2.94 (dd, *J* = 12.6, 4.1 Hz, 1H), 2.66 – 2.57 (m, 1H), 2.08 (dd, *J* = 14.1, 11.0 Hz,

1H), 2.00 (s, 1H), 1.81 (d, J = 6.2 Hz, 1H), 1.75 (t, J = 11.9 Hz, 1H), 1.71 – 1.61 (m, 1H), 1.23 (d, J = 6.3 Hz, 3H). ¹³**C** NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 154.1, 141.7, 129.9, 129.8, 111.1, 110.9, 108.8, 100.4, 59.0, 56.0, 53.2, 51.6, 49.2, 41.0, 34.2, 29.7, 25.9, 25.5, 20.3, 20.1. LCMS (APCI)(m/z): 326,3 [M+H]⁺.

6.3 Cálculos computacionales

La estructuras de los compuestos fueron optimizadas inicialmente mediante mecánica molecular (campo de fuerza MMFF94x) en MOE.⁴⁰ Para explorar la superficie de energía potencial, se realizó una búsqueda conformacional con el método LowModeMD15 implementado en MOE,⁴¹ utilizando el mismo campo de fuerza sin cortes y empleando los siguientes ajustes: gradiente RMS = 0.005 kcal/mol Å², límite de rechazo = 100, límite RMSD = 0.25 Å, ventana de energía = 7 kcal/mol y límite de iteración = 10000. El solvente (tolueno) se modeló implícitamente mediante el modelo de solvatación Born generalizado (ε = 2.4). El número de conformaciones estables (mínimos) encontrados para cada molécula fue: 12 (ibogaína) y 28 (voacangina).

El conformero más estable en cada caso fue seleccionado y sometido a pasos de optimización adicionales mediante la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT)^{42,43} como se implementa en Gaussian 09.⁴⁴ Los cálculos se ejecutaron en el nivel de teoría M06-2x/6-31+G(d,p),⁴⁵ utilizando una rejilla de integración ultrafina y bajo solvatación implícita simulada por un método IEFPCM, con radios y términos no electrostáticos del modelo de solvatación SMD de Truhlar y colaboradores. ⁴⁶ Para la predicción computacional de los valores de pKb, estas geometrías y sus análogos protonados fueron reoptimizados en agua a nivel de teoría ωB97X-D/cc-pVDZ – SMD, y se manipularon de acuerdo con el procedimiento reportado por Barroso-Flores et al.⁴⁷ Para confirmar que todas las geometrías optimizadas corresponden a mínimos energéticos, se verificó la naturaleza de los puntos estacionarios mediante un análisis de frecuencia. Los parámetros termodinámicos se calcularon a partir de las frecuencias vibratorias no escaladas. Los desplazamientos químicos de RMN se calcularon a nivel de teoría B3LYP/6-311+G(2d,p), partiendo de las geometrías optimizadas en CHCl₃ con M06-2x/6-31+G(d,p) y utilizando los desplazamientos químicos teóricos de tetrametilsilano como referencia.

El análisis estructural y electrónico, incluido el cálculo de descriptores de reactividad (cargas atómicas, composiciones orbitales, funciones de Fukui, dureza, suavidad, índice de nucleofilicidad y sus análogos condensados), se realizó en las estructuras optimizadas por DFT utilizando las cargas Hirshfeld (corregidas por dipolo) y particiones con el programa Multiwfn (versión 3.7).⁴⁸ El índice de nucleofílicidad se refirió al tetracianoetileno (TCE),⁴⁹ para el cual se calculó la energía HOMO utilizando el mismo nivel de teoría (M06-2x/6-31+G(d,p)). Las interacciones débiles se identificaron y analizaron mediante el método de interacción no covalente (NCI).⁵⁰ La energía de unión de enlace de hidrógeno se estimó a partir de la densidad electrónica en el punto crítico del enlace (pBCP), según Emamian et al.⁵¹ Los resultados se representaron con Gaussview 6.0,⁵² VMD 1.9.3⁵³ y Multiwfn.⁴⁸

6.4 Caracterización biológica de análogos de ibogaina

6.4.1 Ensayo de inhibición transportadores de monoaminas (hSERT, hVMAT2 y hDAT)

Mantenimiento básico de las líneas celulares: los cultivos celulares de las líneas transfectadas estables HEK293-hSERT, HEK293-hVMAT2 y EM4-hDAT se mantuvieron en estufa 37 °C con un 5% de dióxido de carbono, en Medio Esencial Mínimo de Dulbecco (DMEM) con GlutaMAX® (Gibco) con las siguientes adiciones: 10 % (v/v) de Suero Fetal Bovino (FBS, Atlanta Biologicals), 100 U/mL de Penicilina y 10 pg/mL de Estreptomicina (Gibco). Únicamente para la línea celular HEK293-hSERT, se incluyó un ingrediente adicional, 500 pg/mL de Geneticina (G418) (Sigma) para preservar el transgén respectivo.

Ensayos de inhibición de hSERT, hVMAT2, hDAT: para todos los experimentos se sembraron células transfectadas en placas de 96 pocillos con fondo transparente, pretratadas con poli-D-lisina (Sigma), a una densidad de 0,09x10⁶ células/pocillo. Las células se incubaron por aproximadamente 44 horas a 37 °C y una atmósfera de 5 % de dióxido de carbono, permitiendo su crecimiento. Al inicio del experimento, se constató confluencia de la monocapa celular; se aspiró el medio de crecimiento celular y se lavaron las células con 150 μL de buffer fosfato sódico (PBS Dulbecco al 1X (HyClone)). Se añadieron 63 µL de Medio Experimental a los pocillos respectivos, que consiste en: DMEM sin rojo fenol pero con 4,5 g/L de D-Glucosa (Gibco), 1 % (v/v) de FBS (Atlanta Biologicals), 100 U/mL de Penicilina y 10 pg/mL de Estreptomicina (Gibco), con concentraciones escalonadas del inhibidor (0,1 nm – 100 µM)(o DMSO, el vehículo, control negativo). Los inhibidores que se utilizaron como control positivo en estos estudios fueron: Imipramina para los experimentos de inhibición de hSERT,⁵⁴ Reserpina para los experimentos con hVMAT2,⁵⁵ e Indatralina para los experimentos con hDAT.⁵⁶ Se incubaron las células en este medio por 55 minutos, y se añadieron 63 μL más de Medio Experimental conteniendo una cantidad especificada de sustrato fluorescente, APP+ (concentración final: 1.1 µM para experimentos de hSERT y hDAT),⁵⁷ o FFN206 (concentración final: 0.75 pM para experimentos de hVMAT2),⁵⁸ a la solución presente en los pocillos. Tras un período de incubación de 30 minutos para una correcta absorción de la sonda fluorescente, se aspiró el contenido de cada pocillo y, consecuentemente, se lavaron las células dos veces con 120 µL de PBS; finalmente, se añadió una alícuota de 120 µL de PBS a todos los pocillos. La medida de fluorescencia se realizó en un lector de placas BioTek H1MF, las longitudes de onda de excitación y emisión de APP+ se establecieron en 488 y 525 nm, respectivamente. Alternativamente, las longitudes de onda de excitación y emisión de FFN206 se diseñaron a 369 y 464 nm, respectivamente.

En cada placa de 96 pocillos (12 columnas) se utilizaron 2 columnas por inhibidor (control positivo o vehículo), incluyendo 4 compuestos ensayados por placa. Se realizaron 4 réplicas experimentales (4 placas) en simultaneo. Y dos réplicas genuinas (n=2) (como mínimo), en días diferentes para cada compuesto.

Análisis de datos: en primer lugar, se restaron los valores de medida de los inhibidores a los valores del vehículo (línea de base), para obtener los valores decrecientes de fluorescencia relativa. Esta métrica se analizó luego utilizando el modelo de ajuste de curva no lineal dosis-respuestainhibidor ([inhibidor] vs respuesta (tres parámetros)) proporcionado por el software GraphPad Prism 6. Para cada inhibidor, el modelo proporcionó un valor respectivo de IC50 ± SEM (con un intervalo de confianza del 95%). Una vez completado el número de replicas genuinas para cada compuesto, los datos se normalizaron a % de inhibición, definiendo el 0 y 100% de inhibición respecto al control positivo, y armonizaron para obtener un valor final de IC50 ± SEM (con un intervalo de confianza del 95%) para cada compuesto.

6.4.2 Ensayo de inhibición hERG

Se contrataron los servicios de la empresa Eurofins Discovery (Nro. catálogo: CYL8038QB2DR).

Para el ensayo se emplearon células CHO-K1 transfectadas de manera estable con el canal de potasio hERG y metodología de *patch clamp* automatizado (APC). Con una micropipeta de vidrio en contacto con la membrana celular, se realiza una aspiración rápida a modo de romper la membrana plasmática y lograr una configuración de célula completa (*whole-cell patch clamp*), la célula se mantiene polarizada a -80 mV. Para probar la corriente hERG, la célula se despolariza a +40 mV durante 500 ms y luego a -80 mV durante una rampa de 100 ms y se observa la corriente rectificadora de potasio. Este procedimiento se repite una vez cada 8 segundos para monitorear la amplitud de la corriente, y chequear la integridad de la membrana celular.

El tratamiento se realiza por aplicación de la solución de concentración definida (6 puntos: 0,1-100 µM) a través de la micropipeta. El parámetro medido para constatar la inhibición fue la amplitud máxima de la corriente de repolarización evocada al cambiar a +40 mV y regresar a -80 mV desde el pulso de prueba. La amplitud máxima de la corriente se calculó antes y después de la adición del compuesto, y la cantidad de bloqueo se evaluó dividiendo la amplitud de corriente con el tratamiento, por la amplitud de corriente del control. La amplitud de corriente definida como control, fue la recopilada durante 15 segundos previo a la aplicación del tratamiento; la amplitud de corriente definida para el compuesto ensayado, es la recopilación de 15 segundos de medida, posteriores a la aplicación de la solución de prueba. Todos los datos fueron filtrados tras evaluar la calidad del sellado, la caída del sellado y la amplitud de la corriente. Todos los compuestos se probaron a temperatura ambiente en presencia del 0,1% de Pluronic F-68, un surfactante no iónico. Como control positivo se empleó el fármaco Verapamilo (IC50=143.0 nM).⁵⁹

Referencias bibliográficas

- González, B.; Fagúndez, C.; Peixoto de Abreu Lima, A.; Suescun, L.; Sellanes, D.; Seoane, G. A.; Carrera, I. ACS Omega 2021, 6 (26), 16755–16762.
- Pereira, P. S.; França, S. D. C.; De Oliveira, P. V. A.; Breves, C. M. D. S.; Pereira, S. I. V.; Sampaio,
 S. V.; Nomizo, A.; Dias, D. A. *Quim. Nova* 2008, *31* (1), 20–24.
- Babiaka, S. B.; Simoben, C. V.; Abuga, K. O.; Mbah, J. A.; Karpoormath, R.; Ongarora, D.; Mugo,
 H.; Monya, E.; Cho-Ngwa, F.; Sippl, W.; Loveridge, E. J.; Ntie-Kang, F. *Molecules* 2021, 26 (1),
 1–19.
- Bao, M.-F.; Yan, J.-M.; Cheng, G.-G.; Li, X.-Y.; Liu, Y.-P.; Li, Y.; Cai, X.-H.; Luo, X.-D. J. Nat. Prod. 2013, 76 (8), 1406–1412.
- (5) OKUYAMA, E.; GAO, L.-H.; YAMAZAKI, M. Chem. Pharm. Bull. **1992**, 40 (8), 2075–2079.
- (6) Seong, S.; Lim, H.; Han, S. *Chem* **2019**, *5* (2), 353–363.
- (7) Terada, Y.; Kitajima, M.; Taguchi, F.; Takayama, H.; Horie, S.; Watanabe, T. *J. Nat. Prod.* 2014, 77
 (8), 1831–1838.
- (8) Nicolaou, K. C.; Snyder, S. A.; Nalbandian, A. Z.; Longbottom, D. A. J. Am. Chem. Soc. 2004, 126
 (20), 6234–6235.
- (9) Taylor, W. I. In *The Alkaloids: Chemistry and Physiology*; 1965; pp 203–235.
- (10) Revial, G.; Jabin, I.; Lim, S.; Pfau, M. J. Org. Chem. 2002, 67 (7), 2252–2256.
- Rodríguez, P.; Urbanavicius, J.; Prieto, J. P.; Fabius, S.; Reyes, A. L.; Havel, V.; Sames, D.; Scorza,
 C.; Carrera, I. ACS Chem. Neurosci. 2020, 11 (11), 1661–1672.
- (12) Shi, B. B.; Chen, J.; Bao, M. F.; Zeng, Y.; Cai, X. H. *Phytochemistry* **2019**, *166* (June), 112060.
- (13) Mash, D. C.; Moriarty, R. M.; Gless, R. D. METHODS AND COMPOSITIONS FOR PREPARING NORIBOGAINE FROM COACANGINE. US 9.403,817 B2, 2016.
- (14) Jana, G. K.; Sinha, S. Tetrahedron 2012, 68 (35), 7155–7165.
- (15) Ahond, A.; Bui, A. M.; Potier, P.; Hagaman, E. W.; Wenkert, E. J. Org. Chem. 1976, 41 (10), 1878– 1879.
- (16) Van Binst, G.; Dewaersegger, L.; Martin, R. H. J. Chromatogr. A **1966**, 25 (C), 15–28.
- (17) Gim, H. J.; Li, H.; Jeong, J. H.; Lee, S. J.; Sung, M.-K.; Song, M.-Y.; Park, B.-H.; Oh, S. J.; Ryu, J.-H.; Jeon, R. *Bioorg. Med. Chem.* 2015, *23* (13), 3322–3336.
- (18) González, B.; Veiga, N.; Hernández, G.; Seoane, G.; Carrera, I. J. Nat. Prod. 2023.
- (19) Tang, B. Q.; Wang, W. J.; Huang, X. J.; Li, G. Q.; Wang, L.; Jiang, R. W.; Yang, T. T.; Shi, L.; Zhang, X. Q.; Ye, W. C. J. Nat. Prod. 2014, 77 (8), 1839–1846.

- (20) Madinaveitia, A.; de la Fuente, G.; González, A. Helv. Chim. Acta 1998, 81 (9), 1645-1653.
- (21) Low, Y. Y.; Lim, K. H.; Choo, Y. M.; Pang, H. S.; Etoh, T.; Hayashi, M.; Komiyama, K.; Kam, T. S. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51* (2), 269–272.
- (22) Kanda, Y.; Nakamura, H.; Umemiya, S.; Puthukanoori, R. K.; Murthy Appala, V. R.; Gaddamanugu,
 G. K.; Paraselli, B. R.; Baran, P. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142* (23), 10526–10533.
- (23) Zhang, J.; Ao, Y. L.; Yao, N.; Bai, W. X.; Fan, C. L.; Ye, W. C.; Zhang, X. Q. Chem. Biodivers. 2018, 15 (10).
- (24) Madinaveitia, A.; Reina, M.; de la Fuente, G.; Gonzalez, A. G.; Valencia, E. J. Nat. Prod. 1996, 59
 (2), 185–189.
- (25) Bartlett, M. F.; Dickel, D. F.; Taylor, W. I. J. Am. Chem. Soc. 1958, 80 (1), 126–136.
- (26) Büchi, G.; Manning, R. E.; Monti, S. A. J. Am. Chem. Soc. 1964, 86 (21), 4631–4641.
- Bitombo, A. N.; Zintchem, A. A. A.; Atchadé, A. D. T.; Mbabi Nyemeck, N.; Bikobo, D. S. N.;
 Pegnyemb, D. E.; Bochet, C. G. *Fitoterapia* **2021**, *153* (April), 1–9.
- (28) Kutney, J. P.; Perez, I. Helv. Chim. Acta 1982, 65 (7), 2242–2250.
- (29) Martin, S. F.; Humphrey, J. M.; Ali, A.; Hillier, M. C. J. Am. Chem. Soc. 1999, 121 (4), 866–867.
- (30) Koroch, A. R.; Juliani, H. R.; Kulakowski, D.; Arthur, H.; Asante-Dartey, J.; Simon, J. E. In ACS Symposium Series; 2010; Vol. 1021, pp 363–380.
- (31) Zhao, G.; Xie, X.; Sun, H.; Yuan, Z.; Zhong, Z.; Tang, S.; She, X. Org. Lett. 2016, 18 (10), 2447–2450.
- (32) Stauffacher, D.; Seebeck, E. Helv. Chim. Acta 1958, 41 (1), 169–180.
- (33) Biemann, K.; Friedmann-Spiteller, M. Tetrahedron Lett. 1961, 2 (2), 68–71.
- (34) Renner, U.; Prins, D. A. *Experientia* **1959**, *15* (12), 456–457.
- (35) Kruegel, A. C.; Rakshit, S.; Li, X.; Sames, D. J. Org. Chem. 2015, 80 (4), 2062–2071.
- (36) Sreekumar, C.; Darst, K. P.; Still, W. C. J. Org. Chem. 2002, 45 (21), 4260–4262.
- (37)
- (38) Moriarty, R. M.; Kinch, M. WO 2015/195673 A2. WO 2015/195673 A2, 2015.
- (39) Bandarage, U. K.; Kuehne, M. E.; Glick, S. D. Tetrahedron 1999, 55 (31), 9405–9424.
- (40) Labute, P. Chemical Computing Group Inc.: 1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada 2014.
- (41) Labute, P. J. Chem. Inf. Model. 2010, 50 (5), 792-800.
- (42) Koch, W.; Holthausen, M. C. A Chemist's Guide to Density Functional Theory; Wiley, 2001.
- (43) Lewars, E. G. Computational chemistry: Introduction to the theory and applications of

molecular and quantum mechanics; Springer Netherlands: Dordrecht, 2011.

- (44) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.;
 Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.;
 Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenb, D. J. Gaussian, Inc.: Wallingford,
 CT, USA, 2009. 2009.
- (45) Zhao, Y.; Truhlar, D. G. Theor. Chem. Acc. 2008, 120 (1-3), 215-241.
- (46) Marenich, A. V.; Cramer, C. J.; Truhlar, D. G. J. Phys. Chem. B 2009, 113 (18), 6378–6396.
- (47) Sandoval-Lira, J.; Mondragón-Solórzano, G.; Lugo-Fuentes, L. I.; Barroso-Flores, J. J. Chem.
 Inf. Model. 2020, 60 (3), 1445–1452.
- (48) Lu, T.; Chen, F. J. Comput. Chem. 2012, 33 (5), 580–592.
- (49) Domingo, L. R.; Chamorro, E.; Pérez, P. J. Org. Chem. 2008, 73 (12), 4615–4624.
- (50) Johnson, E. R.; Keinan, S.; Mori-Sánchez, P.; Contreras-García, J.; Cohen, A. J.; Yang, W. J. Am. Chem. Soc. 2010, 132 (18), 6498–6506.
- (51) Emamian, S.; Lu, T.; Kruse, H.; Emamian, H. J. Comput. Chem. 2019, 40 (32), 2868–2881.
- (52) Dennington, R.; Keith, T. A.; Millam, J. M. Semichem Inc.: Shawnee Mission, KS 2016.
- (53) Humphrey, W.; Dalke, A.; Schulten, K. J. Mol. Graph. 1996, 14 (1), 33–38.
- (54) Sette, M.; Briley, M. S.; Langer, S. Z. J. Neurochem. 1983, 40 (3), 622–628.
- (55) Eiden, L. E.; Weihe, E. Ann N Y Acad Sci **2014**, 86–98.
- (56) Hyttel, J.; Larsen, J. -J. J. Neurochem. **1985**, 44 (5), 1615–1622.
- (57) Solis, E.; Zdravkovic, I.; Tomlinson, I. D.; Noskov, S. Y.; Rosenthal, S. J.; De Felice, L. J. J. Biol. Chem. 2012, 287 (12), 8852–8863.
- Hu, G.; Henke, A.; Karpowicz, R. J.; Sonders, M. S.; Farrimond, F.; Edwards, R.; Sulzer, D.; Sames,
 D. ACS Chem. Biol. 2013, 8 (9), 1947–1954.
- (59) Zhang, S.; Zhou, Z.; Gong, Q.; Makielski, J. C.; January, C. T. Circ. Res. 1999, 84 (9), 989–998.

ANEXO I – Espectros seleccionados

A continuación, se presentan los espectros de ¹H-RMN y ¹³C-RMN para los compuestos en orden correlativo según su numeración en el capítulo 4. Resultados y discusión.









Voacamina (4):



Voacamidina (5):





Tabernaricatine G (7):





Norvoacangina (10):





8.6 8.4 8.2 8.0 7.8 7.6 7.4 7.2 7.0 6.8 6.6 4.0 3.8 3.6 3.4 3.2 3.0 2.8 2.6 2.4 2.2 2.0 1.8 1.6 1.4 1.2 1.0 0.8 0.6 0.4 0.2 0.4 f1 (ppm)



16-formilibogaína (14):














N1-(tert-butoxicarbonil) voacangina (22):

H₃C⁻ 27 O CH₃ 15 Ó 5' (m) 2.93 17" (ddt) 2.39 J(13.47, 4.81, 2.22) 15" (dd) 1.14 J(12.57, 6.10) 5" (ddd) 3.40 J(15.44, 12.45, 3.28) 6',14 (m) 1.85 21 (d) 3.14 3 (d) 2.73 18 (t) 0.93 12 (m) 7.38 11,9 (m) 27 (s) 3.81 17 (m) 15' (m) 25,25,25 (s) 6.83 2.11 1.73 .37 J(2.93) J(8.82) J(7.13) 20,19 (m) 16 (d) 3.01 J(11.37) 6" (dt) 1.95 J(14.71, 2.60) 1.49 3" (dt) 2.77 J(8.86, 3.27) Ŵ 1.01 - 13.10-1.10 1.09 0.99 0.99 3.56-8.68- 1.12^{-1} 1.09-1.07 1.05 2.06 2.04 3.09-1.20-7.2 7.0 6.8 6.6 4.0 3.8 3.6 3.4 2.8 2.6 1.2 7.8 7.6 7.4 3.2 3.0 2.4 2.2 2.0 1.8 1.6 1.4 1.0 0.8 0.0 -0.2 f1 (ppm) H₃C⁻ 27 CH₃ 18 H. ° 6 17 14 21 5 20 22 10 12 11 7 23 15 g.9 2 q 8 9 27 3 16 18 25,26,24 107.695 11.879 120.760 113.647 83.310 27.126 26.627 10.391 · 32.688 · 32.472 32.043 55.1 547 541 .306 .628 158.482 150.621 145.964 140.278 92.040 187.647 0.005 10 0 190 180 170 160 150 140 130 120 110 100 70 60 50 40 30 20 90 80 f1 (ppm)

N1-(tert-butoxicarbonil) ibogaína (23):



N1-metil voacangina (24):









Alcaloides de la iboga: modificaciones estructurales y evaluación de su potencial antidepresivo





(7S)-7-bencil indolenina de voacristina (30)





(7S)-7-peroxi indolenina de voacangina acetilado(**31b-Ac**)











(7S) 7-acetoxiindolenina de la ibogaína (**35a**)



(7S)-7-acetoxiindolenina de la voacangina (35b)





3,N4-secovoacangina (37)











(3R,7S)-voacangina-3,7-dihidroxiindolenina (**39**)















(7S)-7-hidroxiindolenina de la voacristina (41)









7.6 7.4 7.2 7.0 6.8 6.6 6.4 6.2 6.0 5.8 5.6 5.4 5.2 5.0 4.8 4.6 4.4 4.2 4.0 3.8 3.6 3.4 3.2 3.0 2.8 2.6 2.4 2.2 2.0 1.8 1.6 1.4 1.2 1.(f1 (ppm)



Alcaloides de la iboga: modificaciones estructurales y evaluación de su potencial antidepresivo










Alcaloides de la iboga: modificaciones estructurales y evaluación de su potencial antidepresivo



(19S)-Tosilato de voacangina-amonio (58a)



La solución de **60** en CDCl₃ no es estable. La degradación impide registrar C¹³-RMN





(19S)-Cloruro de ibogaína-amonio (**62**)



(7S,19R)-7-hidroxiindolenina de la 19-cloro voacangina (63)













(19R)-19-ciano ibogaína (75)



7.2 7.1 7.0 6.9 6.8 6.7 6.6 6.5 3.9 3.8 3.7 3.6 3.5 3.4 3.3 3.2 3.1 3.0 2.9 2.8 2.7 2.6 2.5 2.4 2.3 2.2 2.1 2.0 1.9 1.8 1.7 1.6 1.5 1.4 1.3 1.2 f1 (ppm)







7-acetil-2-azabiciclo[2.2.2]oct-5-en-2-carboxilato de metilo (80)

No se registró ¹³C-RMN, porque se trata de una mezcla compleja de epímeros con rotámeros del carbamato. El espectro coincide con el reportado en literatura.¹



7-(propen-2-il)-2-azabiciclo[2.2.2]oct-5-en-2-carboxilato de metilo (86)

Mezcla epimérica (en C20), con dos rotámeros por compuesto

(4 conjuntos de señales en ¹³C-RMN).



En la zona ampliada de 5,3 a 6,2 ppm, se observa un conjunto de señales correspondiente al protón 22 o 22b de la cadena lateral, se observan al menos 8 señales, correspondientes a 8 especies isoméricas. Se esperan 2 epímeros, con 2 posibles isómeros Z/E de la reacción de olefinación, con dos rotámeros del carbamato distinguibles por RMN (cada uno), por tanto 8 especies diferentes, lo que concuerda con el RMN observado.





7-(1-hidroxietil)-2-azabiciclo[2.2.2]oct-5-en-2-carboxilato de metilo (89)



7-(1-hidroxietil)-2-azabiciclo[2.2.2]oct-5-en-2-carboxilato de metilo (90)







En el alqueno terminal 90' con dos rotámeros posible en el carbamato, por tanto se observan conjuntos de 4 señales en el ¹³C-RMN.



Metil ((3-acetil-6-iodociclohex-3-en-1-il)metil)carbamato de metilo (**93**)

H₃C 1\ O-CH Ø CH3 15 17 (dt) 6.32 J(13.87, 7.24) 3' (t) 3.19 J(9.25) 15" (dq) 0.95 J(12.22, 2.15) 16 (t) 6.43 J(7.10) 21 (dd) 4.86 J(6.19, 1.70) 18 (d) 2 (s) 3.30 1 (s) 3.71 14 (m) 1.13 J(6.05) 2.69 1 2 3",19 (m) 2.97 15',20 (m) 1.52 18 3",19 3' 15',20 16 17 21 15 Mm MM M 2.94 1.11 0.98 3.00-2.96/ 1.05/ 1.98/ 1.05/ 2.59 1.00-7.5 6.5 5.0 3.0 2.5 1.0 7.0 6.0 5.5 4.5 3.5 2.0 1.5 0.5 0.0 4.0 f1 (ppm) H₃C 1∖ ò CH O СӉ₃ 、 15 20 16 21 17 22 3 14 15 18 17 2 14 15 18 5 1 3 16 21 20 52.246 78.544 78.335 133.679
133.307
133.065 46.726 379 - 46.266 .203 r 56.726 ₇ 56.294 16.751 49.003 134.052 16.873 730 30.1 194 156.423 0.002 0 160 150 70 50 40 30 20 10 140 130 120 110 100 90 80 60 f1 (ppm)

7-(1-metoxietil)-2-azabiciclo[2.2.2]oct-5-en-2-carboxilato de metilo (94)



7-(1-terbutildimetilsililoxi)-2-azabiciclo[2.2.2]oct-5-en-2-carboxilato de metilo (**95**)



7-(1-metoxietil)-2-azabiciclo[2.2.2]oct-5-eno (96)







2-(2-(1H-indol-3-il)etil)-7-(propan-2-iliden)-2-azabiciclo[2.2.2]oct-5-eno (99)







http://pubs.acs.org/journal/acsodf



Efficient Access to the Iboga Skeleton: Optimized Procedure to Obtain Voacangine from *Voacanga africana* Root Bark

Bruno González,^{||} Catherine Fagúndez,^{||} Alejandro Peixoto de Abreu Lima, Leopoldo Suescun, Diver Sellanes, Gustavo A. Seoane,* and Ignacio Carrera*



ABSTRACT: Iboga alkaloids are a group of monoterpenoid indole alkaloids with promising and intriguing biological activities. Ibogaine is the representative member of the series and has become widely known as a potent atypical psychedelic with promising effects to treat substance use disorder. Nowadays, an efficient and scalable enantioselective total synthesis of ibogaine and related iboga alkaloids is still lacking, so direct extraction from natural sources or semi-synthetic schemes are the methods of choice to obtain them in a preparative scale. In particular, ibogaine can be obtained either by a low yielding direct isolation from *Tabernanthe iboga* or using a semi-synthetic procedure from voacangine, an iboga alkaloid occurring in a higher yield in the root bark of *Voacanga africana*. In this work, we describe an optimized process to obtain voacangine from *V. africana* root bark as a precursor of the iboga scaffold. Using a direct acetone-based extraction procedure (0.5 kg of root bark), voacangine was isolated in ~0.8% of root bark dried weight, while the major alkaloids contain the voacangine moiety in their structure, the cleavage of the dimers was further optimized, affording an extra amount of voacangine in ~50% isolated molar yield. In this manner, the total amount of voacangine obtained by application of the whole procedure to the plant material (extraction and dimer cleavage) could almost duplicate the content originally found in the root bark.

■ INTRODUCTION

Iboga alkaloids are a group of monoterpenoid indole alkaloids (MIA) chemically characterized by the presence of a fused isoquinuclidine-tetrahydroazepine ring system.^{1,2} They are usually found in plants of several genera of the Apocynaceae family such as Tabernanthe, Voacanga, Tabernaemontana, Catharanthus, Coryanthe, and Aspidosperma. Ibogaine (1), originally isolated in 1901 as the main alkaloid from the root bark of Tabernanthe iboga (Figure 1), is the representative member of the series and has become widely known as a potent and atypical psychedelic with promising effects to treat substance use disorder (SUD).³ As found in anecdotal reports and observational studies, ibogaine reduces withdrawal symptoms and cravings to drugs of abuse such as heroin and cocaine.4-These effects were also found in extensive preclinical work in rodents' models for SUD (such as selfadministration and withdrawal paradigms).⁸ As mentioned in a recent review,² there are many unsolved problems regarding the chemistry and neuropharmacology of ibogaine, which are of high importance considering the increased interest of psychedelic compounds as promising experimental therapeutics in neuropsychiatric disorders. Our group has recently published new findings regarding the intriguing neuropharmacology of ibogaine: its ability to induce the expression of neurotrophic factors in the brain,⁹ its antidepressive-like effect in rodents models,¹⁰ and the characterization of its

Received: February 9, 2021 Accepted: May 26, 2021





Figure 1. Iboga alkaloids from natural sources. Isolation of ibogaine and voacangine from *Tabernanthe iboga* and *Voacanga africana*, respectively. (Plant's drawings are courtesy of Juan Pablo Rodríguez)

unusual oneirogenic psychedelic effects through electrophysiological studies in the rat brain.^{11,12} From a chemical standpoint, ibogaine and other structurally related iboga alkaloids still lack efficient and scalable enantioselective total syntheses despite the vast amount of outstanding synthetic studies found in the field.² Thus, direct extraction from natural sources or semi-synthetic preparations are the methods of choice to obtain ibogaine and related analogues in a preparative scale.

Regarding extraction from natural sources, ibogaine direct isolation from T. iboga has become problematic because of the low content of the alkaloid in the root bark (~0.3% isolated yield)^{13,14} and its high demand by the growing ibogaine medical subculture (global community of people who provide ibogaine therapy for SUD in medical, alternative, or underground settings).¹⁵ These facts have negatively impacted on the availability of the plant in West Africa because of an uncontrolled exploitation.¹⁶ In addition to these environmental concerns, T. iboga is also considered sacred in the traditional spiritual discipline of Bwiti, where it plays an important cultural role, especially in Gabon where the access to the plant has been threatened.^{16,17} As an alternative source, Voacanga africana a plant that has been cultivated in a larger scale in Africa, contains voacangine (2), another iboga alkaloid that is found in a high content in its stem and root barks.^{13,16} Voacangine allows for the commercial preparation of ibogaine in a semi-synthetic procedure that involves basic hydrolysis followed by acid decarboxylation.¹³ This process, although lengthy, affords a method for the easier purification and production of highly pure ibogaine, in contrast to the direct extraction from T. iboga where other structural related alkaloids (e.g., ibogamine and ibogaline) are present, making it difficult to achieve ibogaine of high purity. Although the qualitative composition of alkaloids in the stem and root barks of V. africana has been previously described, 18-21 fewer studies show a quantitative analysis of its composition. An estimation of voacangine content using analytical methods afforded $\sim 1.7\%$ of the dry weight in the root bark and $\sim 0.8\%$ in the dry stem bark.¹⁷ On the other hand, only a few studies actually report isolated yields for voacangine (e.g., ~0.5% of the dry weight of the stem bark) and detailed extraction procedures.^{13,14,22} Recently, voacangine was also detected in high amounts in some Tabernaemontana species, but again no isolated yields in a preparative scale were reported.^{17,23,24}

So, it was decided to carry out an optimization study of the extraction of alkaloids from *Voacanga africana* root bark with the two-fold objective of using voacangine as a building block for our medicinal chemistry program (aimed at mapping the structure–activity relationship of iboga-inspired analogs) and obtaining ibogaine of pharmaceutical grade for future clinical

and basic research projects. To this end, two extraction strategies were tested: a traditional acid/base method and a direct organic solvent-solid extraction. Voacangine (2) was isolated in ~0.9% from both protocols (50-100 grams scale), while the major alkaloids of both extracts were identified as iboga-vobasine dimers such as voacamine (3) and voacamidine (4) (see Figure 2 for structures). Since these alkaloids present the voacangine moiety in their structure, a process for the cleavage of these dimers in acid media was further optimized to increase the isolated amount of voacangine available as a precursor to the iboga scaffold.

RESULTS AND DISCUSSION

Isolation of Alkaloids Using Acid-Base vs Direct Organic Solvent Extraction. Initially, an acid-base extraction procedure inspired in the pioneer work by Jenks^{14,22} was used to isolate alkaloids from ground V. africana root bark (see the Supporting Information for experimental details and Figure S1). In short, 50 g of the ground of root bark was extracted with a 1% aqueous solution of HCl (6×250 mL) until no more voacangine was detected by HPLC-DAD. The combined filtered aqueous extracts were made alkaline by adding concentrated NH4OH, and the resulting brown precipitate was separated by centrifugation and dried. This solid was taken in acetone and filtered to discard root impurities. The solvent was evaporated in vacuo to afford a total alkaloid crude (\sim 3.7% of root bark dried weight), which was subjected to column chromatography to obtain voacangine (2) accounting for $\sim 0.85\%$ of the root bark dried weight, voacristine (5) in ~0.38%, which constitutes another interesting highly valuable building block containing the iboga moiety, and an inseparable mixture of three dimeric iboga-vobasine alkaloids ($\sim 2.4\%$ of root bark dried weight in a ratio of 3.5:1:0.3). Crystallization of the mixture rendered pure voacamine (3) as the major component, while further purification of the remaining alkaloids in the mother liquor allowed for identification of voacamidine (4) as the second major component. The minor alkaloid of the mixture remained unidentified (LC-MS analysis revealed the same molecular weight for the minor alkaloid, voacamine, and voacamidine, see the Supporting Information for details). Although these dimeric alkaloids were previously detected in V. africa-na,^{18,19,21,25-27} to our knowledge this is the first report to indicate quantitative data including isolated yields, showing them as the major alkaloids present in the root bark (\sim 65% of the total alkaloids found in the extract). All the alkaloids were fully characterized by ¹H and ¹³C NMR using 2D NMR techniques as COSY, HSQC, and HMBC. A single-crystal Xray diffraction analysis was carried out for voacamine, allowing for a stereochemistry confirmation which complements

http://pubs.acs.org/journal/acsodf

Article



Figure 2. Alkaloids isolated in this study from Voacanga africana root bark.



Figure 3. (A) ORTEP view of the voacamine molecule. The ellipsoids are represented with 30% probability. Crystallization water molecules were excluded for clarity. (B) ORTEP view of the ibogaine hydrochloride molecule. The ellipsoids are represented with 30% probability. Color code: H = gray, O = red, N = blue, Cl = green.

recently reported structural data for this alkaloid (Figure 3A).²⁸ According to our second objective, voacangine was converted to ibogaine using a modification of previously published decarboxylation conditions²⁹ (see the Supporting Information for details) and crystallized as its hydrochloride to afford a solid suitable for single-crystal X-ray diffraction analysis (Figure 3B).

In order to simplify the isolation procedure and to avoid the troublesome sequence of precipitation, filtration, and centrifugation steps, a direct extraction method with organic solvents was tried. Thus, a solvent screening using methanol, ethyl acetate, acetone, and hexane was carried out to extract 0.3 g of root bark in the presence of solid NaHCO₃. The crude extracts were analyzed by NMR using an internal standard to estimate the amounts of voacangine and voacamine recovered by each solvent (see Supporting Information, Table S1). Acetone was selected since it recovered the highest amount of voacamine and voacangine, which accounted for \sim 86% of the mass of the total extract. The process was scaled up to 100 g of root bark under ultrasound-assisted extraction conditions in order to maximize the performance.³⁰ The combined acetone extracts were evaporated in vacuo to afford a crude material that was subjected to column chromatography to detect the

same alkaloids as in the acid base extraction procedure. Average isolated yields and standard deviation (for three replicates) expressed as % of the root bark dried weight were: 1.1 ± 0.2 for voacangine, 0.46 ± 0.02 for voacristine, and 2.9 ± 0.2 for the mixture of dimers (voacamine, voacamidine, and the minor unidentified dimer) in a ratio of 1.9:1:0.5. Although the alkaloid isolated yields were just slightly higher than those for the acid—base extraction process, the ratio obtained for the dimers was different since more voacamidine was isolated in the acetone-based methodology.

Since the latter protocol is easier to perform (consisting in fewer practical steps), it was chosen for scaling up in a 10 L reactor using 0.5 kg of root bark. No sonication was possible in the reactor setup, so the temperature was set to 40 °C to facilitate the extraction process. The root bark was extracted in batch (5×4 L), and the combined acetone extracts were concentrated *in vacuo* to afford 40 g of crude extract, which was subjected to several chromatography columns (see the Supporting Information for experimental details). A mixture of 4.1 g of voacangine (0.82% of root bark dried weight), 2.2 g (0.45%) of voacristine, and 18.5 g (3.7%) of a mixture of voacamine, voacamidine, and the minor unidentified dimer in a relation of 1.7:1:0.4 was obtained. In addition, small amounts

Table 1. Conditions for Voacamine Cleavage Using Microwave-Assisted Heating



entry	conditions	solvent	temperature (°C)	time (min)	voacangine (%)
1	HCl 3 M	H ₂ O	100	9	30
2	HCl 3 M	H ₂ O	80	30	23 ^{<i>a</i>}
3	HCl 3 M	H ₂ O	60	60	no reaction
4	HCl 6 M	H ₂ O	100	15	decomposition
5	HCl 3 M	H ₂ O/MeOH (4:1)	100	15	33
6	HCl 3 M	H ₂ O/MeOH (1:4)	100	25	no reaction
7	TFA 1.5 M	DMF	100	15	no reaction
8	HCl 3 M, NaN ₃ (2.0 equiv.)	H ₂ O	100	10	30 ^b
9	HCl 3 M, PrSH (10 equiv.)	H ₂ O	100	10	38 ^b

^{*a*}Conversion was not complete, prolonged heating time (90 min) rendered 11% of voacangine without voacamine consumption. ^{*b*}Conversion was not complete, prolonged heating times also reduced the yield of voacangine. ^{*c*}In all cases, reactions were run using 100 W and heated until no more voacamine was detected by TLC analysis.

Table 2. Conditions for Vocamine Cleavage Using Conventional Heating in a Round-Bottom Pressure Flask^d

entry	acid	solvent	additive	time (h)	voacangine (%)
1	HCl 3 M	H ₂ O		5	30
2	TCA 3 M	H ₂ O		7	no reaction
3	TFA 3 M	H ₂ O		7	no reaction
4	HBr 3 M	H ₂ O/acetic acid		2	decomposition
5	HCl 3 M	dioxane		7	decomposition
6	HCl 3 M	H ₂ O	TIS (50 equiv)	3	41
7	HCl 3 M	H ₂ O	TIS-SH (50 equiv)	2	44
8	HCl 3 M	H ₂ O	TIS (3.0 equiv.)	4	39 ^a
9	HCl 3 M	H ₂ O	TIS (3.0 equiv.)	2	51 ^b
10	HCl 3 M	H ₂ O	TIS (3.0 equiv.)	1	48 ^c

^a17% of norvoacangine and 20% of ibogaine were also obtained. ^b7% of norvoacangine. ^c8% of norvoacangine. ^dIn all cases, reactions were run at 110 °C using a voacamine concentration of 0.015 M, until no more starting material was detected by TLC analysis, except entry 10 where the reaction was stopped after 1 h. All reactions were carried out using 34 mg of voacamine except entries 8, 9, and 10 where 500 mg of voacamine was used.

of 3-(2-oxopropyl)voacangine (6) (0.15 g, 0.03% of root bark dried weight) and tabernaricatine G (7) (0.07 g, 0.01%) were found. Although these alkaloids were previously described in *Tabernaemontana* specimens but not in *V. africana*,^{31,32} the possibility of their production as artifacts of the acetone extraction process cannot be ruled out.

Voacamine and Voacamidine Cleavage. After identifying the dimers voacamine (3) and voacamidine (4) as the major alkaloids present in the root bark, we immediately envisioned the possibility of substituting the vobasine moiety in the dimers for a proton (using aromatic electrophilic substitution conditions) in order to produce higher quantities of voacangine. In the initial publication by Buchi regarding the structure elucidation for iboga-vobasine dimers,²⁶ voacamine was treated with hydrogen chloride in deuterium oxide at reflux temperature to obtain voacangine- d_3 . Despite the lack of a reported molar yield, this precedent indicated the feasibility of the transformation. This condition was repeated using pure voacamine (0.02 M) in a 3:2 mixture of aqueous HCl and methanol (final concentration of HCl of 3 M). The reaction was completed after 6 h at reflux temperature to produce voacangine in 31% molar yield (no vobasine derived product was detected). In order to increase the yield in voacangine and

reduce the reaction time, microwave-assisted heating was tried (Table 1). Upon irradiation at 100 W of potency the reaction was completed after only 9 min at 100 °C rendering the same molar yield of 30% for voacangine (entry 1). To avoid the potential decomposition of voacangine that could explain the low yield obtained, it was decided to run the reaction at lower temperatures. At 80 °C longer reaction times were required, which decreased the isolated molar yield of voacangine to 23% (entry 2), and at 60 °C no reaction was observed (entry 3). Higher concentrations of HCl produced decomposition of the starting material (entry 4).

The addition of small amounts of methanol to increase the solubility of voacamine in the reaction media made the reaction slower without significant improvement in the yield (entry 5), and using methanol as the main solvent produced no reaction (entry 6), indicating the importance of the presence of water in the reaction media. This was confirmed by running the reaction in an organic solvent as DMF with trifluoroacetic acid, resulting in no reaction (entry 7). Considering a standard S_EAr mechanism for the dimer cleavage, a nucleophile (as water) is needed to trap the resulting voabasinyl cation. In order to provide stronger nucleophiles the transformation was carried out using sodium azide or propylthiol as additives
(entries 8 and 9). No significant differences in the voacangine yield was found for both conditions, although a small increase was observed using 1-propanethiol.

Given the limited capacity of the microwave oven (1 mL, 0.05 M), it was decided to run the reaction with conventional heating using a round-bottom pressure flask in order to use higher amounts of voacamine and to increase the reaction temperature beyond the boiling point of the reaction mixture (110 °C) (Table 2). Thus, aqueous 3 M HCl required 5 h to completely consume voacamine and rendered the same 30% molar yield as before. Alternative acids (such as trichloroacetic, trifluoroacetic, and aqueous HBr, entries 2–4) and solvents (e.g., dioxane, entry 5) were assayed without good results.

The addition of cation scavengers as triisopropylsilane (TIS) and triisopropilsilanethiol (TIS-SH) in a molar excess (50 equivalents) allowed for an increase in reaction yields (~40%) with significant reduction in the reaction time (entries 6 and 7). The reaction at a 500 mg scale of voacamine was tested using TIPS (3.0 equivalents, entry 8) to afford 39% molar yield for voacangine and other byproducts as norvoacangine (8) in 17% and ibogaine in 20% yield. Since the latter products were probably produced from voacangine, an optimization of the reaction time was undertaken in order to select an optimum reaction time to obtain the maximum concentration of voacangine. Figure 4 shows the time profiles for voacamine



Figure 4. Time profile for voacamine consumption and voacangine and norvoacangine formation. Although vocamine is not totally consumed after 60 min, voacangine formation is not further increased until 120 min. The formation of other products, as norvoacangine, can explain this reaction profile.

consumption and vocangine/norvoacangine formation in the first 2 h of reaction, determined by HPLC-DAD. As can be seen, norvoacangine formation starts after the first hour of reaction, when voacamine has not been completely consumed. No ibogaine was detected in the recorded time, and voacangine concentration remained almost constant after the first hour of reaction. It was decided to run the reaction for 1 and 2 h, and a similar voacangine isolated yield was obtained (48% and 51%, entries 10 and 9). The whole process was scaled up to convert 1 g of voacamine to render a similar molar yield of 49% of voacangine. Finally, in order to test that voacamidine could be also cleaved, the same reaction conditions were applied to a mixture of voacamidine:voacamine (4:1) to render after 1.5 h of heating, voacangine in a 47% isolated molar yield. In this manner, this optimized procedure allows for the transformation of the iboga-vobasinyl dimers mixture in order to increase the amount of voacangine

available (thus giving an amount that could almost duplicate the amount of this alkaloid originally found in the root bark).

A procedure for the isolation of the major alkaloids from the root bark of Voacanga africana was developed in order to optimize voacangine production and gain better access to the iboga scaffold. The direct acetone-based extraction protocol simplified the operational steps of the classical acid-base alkaloid extraction methodology, allowing to isolate (in a 0.5 kg scale): voacangine in 0.82% of root bark dried weight, voacristine in 0.45%, and 3.7% of a mixture of voacamine, voacamidine, and a minor unidentified dimer. Also, a cleavage reaction in acid media for voacamine and voacamidine was optimized (using up to 1 g of voacamine) to produce voacangine in ~50% isolated yield. This allows us to obtain an extra amount of voacangine through the transformation of the iboga-vobasinyl dimers present as the main alkaloid fraction of the root bark. In this manner, the total amount of voacangine obtained by application of the whole procedure to the plant material (extraction and dimer cleavage) could almost duplicate (\sim 2.0% of voacangine) the content originally found in the root bark. Finally, the total amount of ibogaine that could potentially be obtained using this protocol is approximately 1.8 g per 100 g of Voacanga africana root bark. This represents a six-fold increase compared to the isolated yield that is currently obtained using direct extraction from Tabernanthe iboga root bark.

EXPERIMENTAL SECTION

General Experimental Methods. All solvents were distilled prior to use; chemicals and reagents were purchased from Sigma-Aldrich and used as received. Voacanga africana root bark was purchased from CapeLabs, Cape Analytical Services Laboratories (Cape Town, South Africa). Mass spectra (MS) were recorded on a HPLC MS/MS Shimadzu LCMS 8040, with LC-20AD HPLC pump, DAD SPD-M20A detector, CTO-20A oven, and SIL-20A injector; the software used to process data was LabSolutions LCMS. NMR spectra were obtained in CDCl₃ on a Bruker Avance DPX-400 instrument. Proton chemical shifts (δ) are reported in ppm downfield from TMS as an internal reference, and carbon chemical shifts are reported in ppm relative to the center line of the CDCl₃ triplet (77.0 ppm). Analytical TLC was performed on silica gel 60F-254 plates and visualized with UV light (254 nm) and/or p-anisaldehyde in acidic ethanolic solution. Flash column chromatography was performed using silica gel (Kieselgel 60, EM reagent, 230-400 mesh). Centrifugation was performed in a Thermo Sorvall RC6 plus Centrifuge, using the conditions specified in the protocol. The extraction of 0.5 kg was carried out in a 10 L Reactor GR-10 Greatwall equipped with a high temperature circulator Greatwall SY series. Microwave reactions were made in a CEM Discovery reactor. The voacamine/voacamidine cleavage of 1 g was carried out in a Synthware round bottom pressure vessel with PTFE bushing (150 mL, O.D. \times L 60 mm \times 139 mm, bushing #15). Sonication was applied using a Jeio Tech ultrasonic bath (Labcompanion).

Acid-Base Extraction. A 50 g dry *Voacanga africana* root bark powder was added to an Erlenmeyer flask (1000 mL) followed by 250 mL of HCl (1%). The suspension was mechanically stirred for 30 min and then filtered through cellulose-based NWF (Nonwoven fabric), and the plant residue was recovered and another 250 mL of fresh HCl (1%) were added; this procedure was repeated six times. The combined acidic extracts were treated with concentrated NH₄OH under constant stirring until pH 10–11 was reached. The alkaloids precipitated forming an opaque suspension, which was centrifuged at 5000 rpm during 15 min at 10 °C. The supernatant was discarded, while the solid residue was dried at 60 °C overnight (12-14 h). The dried brown amorphous solid was dissolved in acetone and filtered through paper to afford a clear solution. Silica gel was added and the organic solvent was removed in vacuo; the resulting solid was used to load a preparative chromatography column (mobile phase gradient: $(9:1) \rightarrow (8:2) \rightarrow (6:4) \rightarrow (1:1) \rightarrow (3:7)$ (Hex:EtOAc) + 1% NH₄OH). As a result, 429 mg (0.85%) of voacangine (2), 192 mg (0.38%) of voacristine, and 1203 mg (2.41%) of a mixture voacamine:voacamidine:unknown dimer (3.5:1:0.3) were obtained (see Figure S1).

Organic Solvent Screening. A 0.3 g dry Voacanga africana root bark powder was added to a 5 mL vial followed by with 30 mg (10% w/w) of solid NaHCO₃ and 4 mL of the chosen solvent. The resulting suspension was stirred 1 h at room temperature and then filtrated through Whatman filter paper. The process was repeated four times with the same plant material. The combined organic extracts were evaporated in vacuo to afford a crude extract that was dissolved in CDCl₃ (0.7 mL) with 5 μ L of trichloroethylene (TCE) as an internal standard. The extracts were analyzed by ¹H NMR; the comparison with the ¹H spectrum of the pure compounds voacangine (2) and voacamine (3) allowed for the selection of characteristic and well-resolved signals to quantify the amount of alkaloids in the sample, using TCE as an internal standard. Selected signals: (s, 3.71 ppm), (s, 3.84 ppm), (d, 6.93 ppm, J = 2.3 Hz), and (dd, 6.80 ppm, J = 8.7, 2.4 Hz). Ethyl acetate and acetone show the best results (see Figure S3 and Table S1).

Acetone-Based Extraction (100 g Scale). A 100 g dry Voacanga africana root bark powder was added to an Erlenmeyer flask (1000 mL) followed by 10 g of NaHCO₃ and 800 mL of acetone. The suspension was sonicated at room temperature for 30 min and filtrated through paper. The plant residue was recovered, and the same procedure was repeated until no alkaloids were detected in the supernatant by TLC analysis $[SiO_2, (8:2 \text{ Hex:EtOAc}) + 1\% \text{ NH}_4\text{OH}(\text{cc})]$. The combined organic extracts were concentrated in vacuo to afford a dark brown solid, which accounts for 9-10% of the initial mass of the plant material. The extract was loaded on silica gel to run a preparative chromatography column (mobile phase gradient: $(95:5) \rightarrow (9:1) \rightarrow (8:2) \rightarrow (6:4) \rightarrow (1:1) \rightarrow (3:7)$ (Hex: EtOAc) + 1% NH₄OH). As a result, after three independent replicates of this procedure, $1.06 \pm 0.17\%$ of voacangine (2), $0.46 \pm 0.02\%$ of voacristine (5), and $2.92 \pm$ 0.21% of a mixture of dimers voacamine (3):voacamidine (4):unidentified dimer (1.9:1:0.5) were obtained.

Acetone-Based Extraction (0.5 kg Scale). A 0.5 kg dry *Voacanga africana* root bark powder was added to a 10 L reactor followed by 50 g of NaHCO₃ and 4 L of acetone (see Figure S5). The resulting suspension was stirred and heated at 200 rpm and 40 °C. After 45 min, the suspension was filtrated through paper. The plant residue was recovered, and the same procedure was repeated five times. The combined organic extracts were concentrated *in vacuo* to afford a dark brown solid, which accounts for 9–10% of the initial mass of the plant

material. The extract was loaded on silica gel to run a preparative chromatography column (mobile phase gradient: $(95:5) \rightarrow (9:1) \rightarrow (8:2) \rightarrow (6:4) \rightarrow (1:1) \rightarrow (3:7) \rightarrow (0:1)$ (Hex:EtOAc) + 1% NH₄OH). After several chromatographic separations (see Figure S4), it was obtained 0.82% of voacangine (2), 0.45% of voacristine (5), and 3.70% of a mixture voacamine (3):voacamidine (4):unidentified dimer (1.7:1:0.4) were obtained (see Figure S4).

Cleavage of Voacamine Using Microwave-Assisted Heating (30–100 mg) (Optimization of Reaction Conditions): General Technique. Voacamine (35 mg, 0.049 mmol) followed by 1 mL of HCl 3 M (or the appropriate solvent) were added to a CEM Discovery reactor's tube (6 mL). The heating program was set on the equipment [100 °C, 100 W, 9 min] (or the appropriate conditions), and the tube was sealed and kept with constant stirring. After the irradiation was completed, the system was allowed to reach room temperature, and the solution was neutralized with the addition of solid NaHCO₃, extracted with EtOAc (×3), and the combined organic phases dried over Na₂SO₄. The solvent was removed *in vacuo*, and the resulting crude was purified by column chromatography (mobile phase gradient: (8:2) \rightarrow (6:4) \rightarrow (1:1) \rightarrow (3:7) (Hex:EtOAc) + 1% NH₄OH).

Cleavage of Voacamine Using Conventional Heating (0.5–1.0 g): General Technique. Voacamine (0.5 g, 0.709 mmol) was added followed by triisopropylsilane (0.43 mL, 2.12 mmol), and a HCl aqueous solution (3 M, 50 mL) to a 150 mL round-bottom pressure flask. The suspension was heated at 110 °C for the indicated time under constant stirring. Then, the mixture was cooled to room temperature and basified by adding solid NaHCO₃. The resulting suspension was extracted exhaustively with ethyl acetate. Combined organic layers were dried using Na₂SO₄, and the solvent was distilled in vacuo to obtain a crude reaction mixture, which was purified using column chromatography (SiO₂, Hex:EtOAc, 9:1/1% NH₄OH) to obtain voacangine as a pure solid with 51% molar yield. The same protocol was used to convert 1.0 g of voacamine (voacangine molar yield: 49%) and for 34 mg of a voacamidine/voacamine (4:1) mixture (voacangine molar yield: 47%).

Ibogaine (1): Hydrolysis and Decarboxylation of Voacangine (2). In a two-neck round-bottom flask, voacangine (0.547 g, 1.486 mmol) followed by (EtOH:H₂O) (3:2) (37 mL, 0.04 M) and KOH (0.832 g, 14.860 mmol, 10 eq) were added. The solution was bubbled with argon for 15 min at room temperature and then heated at reflux temperature over 12-15 h. Consumption of the starting material was verified by TLC (8:2) (Hex:EtOAc) + 1% NH₄OH). The solution was allowed to cool down to room temperature, and ethanol was removed in vacuo. Then, HCl 5 N (11.3 mL, 56.47 mmol, 37 eq) was added, and the solution was refluxed for 15 min. The solution was allowed to cool down to room temperature and was neutralized by adding solid NaHCO₃. The aqueous phase was extracted with EtOAc $(\times 4)$, and the combined organic layers were dried over Na₂SO₄, the solvent was removed in vacuo and purified by column chromatography (8:2) (Hex:EtOAc) + 1% NH₄OH. Ibogaine free base was obtained as a white solid (414 mg, 90% yield).

ASSOCIATED CONTENT

Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge at https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsomega.1c00745.

X-ray crystal details of ibogaine hydrochloride (CIF)

X-ray crystal details of voacamine (CIF)

Experimental details, NMR compound characterization, X-ray analysis details, and HPLC methodology and chromatograms (PDF)

AUTHOR INFORMATION

Corresponding Authors

Gustavo A. Seoane – Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República, 11800 Montevideo, Uruguay; orcid.org/0000-0003-2126-8551; Email: gseoane@ fq.edu.uy

Ignacio Carrera – Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República, 11800 Montevideo, Uruguay; orcid.org/0000-0002-6053-3162; Email: icarrera@ fq.edu.uy

Authors

- Bruno González Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República, 11800 Montevideo, Uruguay; orcid.org/0000-0003-2854-0714
- Catherine Fagúndez Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República, 11800 Montevideo, Uruguay
- Alejandro Peixoto de Abreu Lima Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República, 11800 Montevideo, Uruguay
- Leopoldo Suescun Laboratorio de Cristalografía, Química del Estado Sólido y Materiales, Departamento de Experimentación y Teoría de la Estructura de la Materia y sus Aplicaciones, Facultad de Química, Universidad de la República, 11800 Montevideo, Uruguay; orcid.org/0000-0002-7606-8074
- **Diver Sellanes** Siquimia SRL, Instituto Polo Tecnológico de Pando, Facultad de Química, Universidad de la República, 91000 Montevideo, Uruguay

Complete contact information is available at: https://pubs.acs.org/10.1021/acsomega.1c00745

Author Contributions

^{II}B.G and C.F. contributed equally to this work. The manuscript was written through the contributions of all authors. All authors have given approval to the final version of the manuscript.

Funding

This research was supported by Agencia Nacional de Investigacion e Innovación (ANII-Uruguay, Fondo María Viñas FMV_1_2014_1_103488), Comisión Sectorial de Investigacion Científica (Universidad de la Republica, CSIC-Grupos I+D 1063), Programa de Desarrollo de las Ciencias Basicas (PEDECIBA - Uruguay), and Espacio Interdisciplinario, Universidad de la República. B.G. and C.F. wish to thank Comisión Académica de Posgrado – UdelaR for Ph.D. and postdoctoral scholarships, respectively.

Notes

The authors declare the following competing financial interest(s): Diver Sellanes is the CEO of SIQUIMIA S.R.L. The rest of the authors declare no competing financial interest.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Luisina Rodríguez and Dr. Danilo Davyt for the LC-MS analysis and Horacio Pezaroglo and Dr. Gonzalo Hernandez for the NMR spectra. We also thank Prof. Graciela Mahler for discussions regarding the voacamine cleavage using microwave irradiation and Lic. Paola Rodríguez for her contributions to the acetone-based extraction optimization. Finally, we thank Juan Pablo Rodríguez Carrera for the original drawings of *Tabernanthe iboga* and *Voacanga africana* in Figure ¹ and in the Graphical Abstract.

REFERENCES

(1) Lavaud, C.; Massiot, G. The Iboga Alkaloids. Prog. Chem. Org. Nat. Prod. 2017, 105, 89–136.

(2) Iyer, R. N.; Favela, D.; Zhang, G.; Olson, D. E. The Iboga Enigma: The Chemistry and Neuropharmacology of Iboga Alkaloids and Related Analogs. *Nat. Prod. Rep.* **2021**, *38*, 307.

(3) Alper, K. R. Ibogaine: A Review. *Alkaloids Chem. Biol.* **2001**, *56*, 1–38.

(4) Alper, K. R.; Lotsof, H. S.; Frenken, G. M.; Luciano, D. J.; Bastiaans, J. Treatment of Acute Opioid Withdrawal with Ibogaine. *Am. J. Addict.* **1999**, *8*, 234–242.

(5) Schenberg, E. E.; de Castro Comis, M. A.; Chaves, B. R.; da Silveira, D. X. Treating Drug Dependence with the Aid of Ibogaine: A Retrospective Study. *J. Psychopharmacol.* **2014**, *28*, 993–1000.

(6) Brown, T. K.; Alper, K. Treatment of Opioid Use Disorder with Ibogaine: Detoxification and Drug Use Outcomes. *Am. J. Drug Alcohol Abuse* **2018**, *44*, 24–36.

(7) Mash, D. C.; Duque, L.; Page, B.; Allen-Ferdinand, K. Ibogaine Detoxification Transitions Opioid and Cocaine Abusers Between Dependence and Abstinence: Clinical Observations and Treatment Outcomes. *Front. Pharmacol.* **2018**, *9*, 529.

(8) Belgers, M.; Leenaars, M.; Homberg, J. R.; Ritskes-Hoitinga, M.; Schellekens, A. F.; Hooijmans, C. R. Ibogaine and Addiction in the Animal Model, a Systematic Review and Meta-Analysis. *Transl. Psychiatry* **2016**, *6*, No. e826.

(9) Marton, S.; González, B.; Rodríguez-Bottero, S.; Miquel, E.; Martínez-Palma, L.; Pazos, M.; Pedro Prieto, J.; Rodríguez, P.; Sames, D.; Seoane, G.; Scorza, C. Ibogaine Administration Modifies GDNF and BDNF Expression in Brain Regions Involved in Mesocorticolimbic and Nigral Dopaminergic Circuits. *Front. Pharmacol.* 2019, *10*, 193.

(10) Rodríguez, P.; Urbanavicius, J.; Prieto, J. P.; Fabius, S.; Reyes, A. L.; Havel, V.; Sames, D.; Scorza, C.; Carrera, I. A Single Administration of the Atypical Psychedelic Ibogaine or Its Metabolite Noribogaine Induces an Antidepressant-Like Effect in Rats. *ACS Chem. Neurosci.* **2020**, *11*, 1661–1672.

(11) Gonzalez, J.; Prieto, J. P.; Rodriguez, P.; Cavelli, M.; Benedetto, L.; Mondino, A.; Pazos, M.; Seoane, G.; Carrera, I.; Scorza, C.; Torterolo, P. Ibogaine Acute Administration in Rats Promotes Wakefulness, Long-Lasting REM Sleep Suppression, and a Distinctive Motor Profile. *Front. Pharmacol.* **2018**, *9*, 374.

(12) Gonzalez, J.; Cavelli, M.; Castro-Zaballa, S.; Mondino, A.; Tort, A. B.; Rubido, N.; Carrera, I.; Torterolo, P. EEG Gamma Band Alterations and REM-like Traits Underpin the Acute Effect of the Atypical Psychedelic Ibogaine in the Rat. *ACS Pharmacol. Transl. Sci.* **2021**, 517.

(13) Janot, M.-M.; R, G. Derivatives of the Ibogaine Alkaloids. United States Patent Office 2,813,879, 1956.

(14) Jenks, C. W. Extraction Studies of Tabernanthe Iboga and *Voacanga Africana. Nat. Prod. Lett.* 2002, 16, 71–76.

(15) Alper, K. R.; Lotsof, H. S.; Kaplan, C. D. The Ibogaine Medical Subculture. *J. Ethnopharmacol.* **2008**, *115*, 9–24.

(16) Dickinson, J. Iboga Root: Dynamics of Iboga's African Origins and Modern Medical Use. *HerbalGram* **2016**, *109*, 48–57.

(17) Krengel, F.; Dickinson, J.; Jenks, C.; Reyes-Chilpa, R. Quantitative Evaluation of a Mexican and a Ghanaian Tabernaemontana Species as Alternatives to *Voacanga Africana* for the Production of Antiaddictive Ibogan Type Alkaloids. *Chem. Biodiversity* **2020**, *17*, No. e2000002.

(18) Koroch, A. R.; Juliani, H. R.; Kulakowski, D.; Arthur, H.; Asante-Dartey, J.; Simon, J. E. *Voacanga Africana*: Chemistry, Quality and Pharmacological Activity. *ACS Symp. Ser.* **2009**, *1021*, 363–380.

(19) Hussain, H.; Hussain, J.; Al-Harrasi, A.; Green, I. R. Chemistry and Biology of the Genus Voacanga. *Pharm Biol* **2012**, *50*, 1183–1193.

(20) Harada, M.; Asaba, K. N.; Iwai, M.; Kogure, N.; Kitajima, M.; Takayama, H. Asymmetric Total Synthesis of an Iboga-Type Indole Alkaloid, Voacangalactone, Newly Isolated from *Voacanga Africana*. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 5800–5803.

(21) Chen, H. M.; Yang, Y. T.; Li, H. X.; Cao, Z. X.; Dan, X. M.; Mei, L.; Guo, D. L.; Song, C. X.; Dai, Y.; Hu, J.; Deng, Y. Cytotoxic Monoterpenoid Indole Alkaloids Isolated from the Barks of *Voacanga Africana* Staph. *Nat. Prod. Res.* **2016**, *30*, 1144–1149.

(22) Jenks, C. Voacanga Extraction Manual. 2015.

(23) Krengel, F.; Mijangos, M. V.; Reyes-Lezama, M.; Reyes-Chilpa, R. Extraction and Conversion Studies of the Antiaddictive Alkaloids Coronaridine, Ibogamine, Voacangine, and Ibogaine from Two Mexican Tabernaemontana Species (Apocynaceae). *Chem. Biodiversity* **2019**, *16*, No. e1900175.

(24) Krengel, F.; Chevalier, Q.; Dickinson, J.; Herrera Santoyo, J.; Reyes Chilpa, R. Metabolite Profiling of Anti-Addictive Alkaloids from Four Mexican Tabernaemontana Species and the Entheogenic African Shrub Tabernanthe Iboga (Apocynaceae). *Chem. Biodiversity* **2019**, *16*, No. e1800506.

(25) Manu, A.; Sofoklis, R.; Ahijo, M.; Song, R. Isolation of Voacangine and Voacamine from *Voacanga Africana* and Their Activities against the Onchocerca Ochengi Worm. *Glob. J. Med. Plants Res.* **2016**, *2*, 169–176.

(26) Buchi, G.; Manning, R. E.; Monti, S. A. Voacamine and Voacorine. J. Am. Chem. Soc. **1964**, 86, 4631–4641.

(27) Babiaka, S. B.; Simoben, C. V.; Abuga, K. O.; Mbah, J. A.; Karpoormath, R.; Ongarora, D.; Mugo, H.; Monya, E.; Cho-Ngwa, F.; Sippl, W.; Loveridge, J.; Ntie-Kang, F. Alkaloids with Anti-Onchocercal Activity from *Voacanga Africana* Stapf (Apocynaceae): Identification and Molecular Modeling. *Molecules* **2021**, *26*, 70.

(28) Li, H. X.; Liu, R. Q.; Zhang, H. M.; Cao, Z. X.; Zhu, L. X.; Li, Y. Y.; Ding, W. J.; Chen, Y. H.; Deng, Y. In Vitro Anti-HIV Effect of Voacamine from *Voacanga Africana* Stapf, Based on the SPRi Experiment. *Russ. J. Bioorg. Chem.* **2020**, *46*, 306–311.

(29) Seong, S.; Lim, H.; Han, S. Biosynthetically Inspired Transformation of Iboga to Monomeric Post-Iboga Alkaloids. *Chem* **2019**, *5*, 353–363.

(30) Chemat, F.; Rombaut, N.; Sicaire, A. G.; Meullemiestre, A.; Fabiano-Tixier, A. S.; Abert-Vian, M. Ultrasound Assisted Extraction of Food and Natural Products. Mechanisms, Techniques, Combinations, Protocols and Applications. A Review. *Ultrason. Sonochem.* **2017**, 540–560.

(31) Bao, M. F.; Yan, J. M.; Cheng, G. G.; Li, X. Y.; Liu, Y. P.; Li, Y.; Cai, X. H.; Luo, X. D. Cytotoxic Indole Alkaloids from Tabernaemontana Divaricata. *J. Nat. Prod.* **2013**, *76*, 1406–1412.

(32) Okuyama, E.; Gao, L. H.; Yamazaki, M. Analgesic Components from Bornean Medicinal Plants, Tabernaemontana Pauciflora Blume and Tabernaemontana Pandacaqui Poir. *Chem. Pharm. Bull.* **1992**, *40*, 2075–2079.



pubs.acs.org/jnp

Reactivity of the Iboga Skeleton: Oxidation Study of Ibogaine and Voacangine

Bruno González, Nicolás Veiga, Gonzalo Hernández, Gustavo Seoane,* and Ignacio Carrera*



ABSTRACT: The iboga alkaloids scaffold shows great potential as a pharmacophore in drug candidates for the treatment of neuropsychiatric disorders. Thus, the study of the reactivity of this type of motif is particularly useful for the generation of new analogs suitable for medicinal chemistry goals. In this article, we analyzed the oxidation pattern of ibogaine and voacangine using dioxygen, peroxo compounds, and iodine as oxidizing agents. Special focus was placed on the study of the regio- and stereochemistry of the oxidation processes according to the oxidative agent and starting material. We found that the C_{16} -carboxymethyl ester present in voacangine stabilizes the whole molecule toward oxidation in comparison to ibogaine, especially in the indole ring, where 7-hydroxy- or 7-peroxy-indolenines can be obtained as oxidation products. Nevertheless, the ester moiety enhances the reactivity of the isoquinuclidinic nitrogen to afford C_3 -oxidized products through a regioselective iminium formation. This differential reactivity between ibogaine and voacangine was rationalized using computational DFT calculations. In addition, using qualitative and quantitative NMR experiments combined with theoretical calculations, the absolute stereochemistry at C_7 in the 7-hydroxyindolenine of voacangine was revised to be *S*, which corrects previous reports proposing an *R* configuration.

I bogaine, 1, is a monoterpene indole alkaloid (MIA) originally isolated as the major alkaloid in *Tabernanthe iboga* root bark (Figure 1).¹ It is a potent atypical psychedelic compound that attracted the attention of the scientific community due to its potential to treat substance use disorders $(SUD)_{1}^{2,3}$ evidenced in preclinical animal models⁴ and in observational studies in humans.⁵⁻⁸ The mechanism of action for these intriguing antiaddictive effects is not well established. Ibogaine has affinity for a wide variety of CNS receptors in the micromolar range,⁹ which suggests a polypharmacological mechanism.³ Significant contributions have been made in the last years, by our group and others, to understand the neuropharmacology of ibogaine concerning its ability to alter neurotrophic factors' expression in the rat's brain¹⁰ and induce neuroplasticity¹¹ and to characterize its antidepressant-like effect¹² and oneirogenic properties using rodents.^{13,14} Nevertheless, ibogaine exhibits arrhythmogenic properties related with its ability to inhibit the hERG potassium channel in the heart, which has been related with case-reported fatalities.^{15,16}

In order to access safer compounds as potential drugs for SUDs, different medicinal chemistry approaches have been employed to explore the iboga chemical space, including the preparation of structurally related analogs^{17–24} and structure simplification studies.^{25–30} Our group is working on a program aimed at mapping the structure–activity relationship of iboga-inspired analogs using ibogaine (1), voacangine (2), and other iboga alkaloids as parent compounds.³¹ Voacangine (2) is obtained in good yield by our recently published protocol from the root bark of *Voacanga africana*,³² while ibogaine is produced by a well-established methodology through decarboxylation of voacangine (direct isolation form *T. iboga* is

Received: March 8, 2023



© XXXX American Chemical Society and American Society of Pharmacognosy Article



Figure 1. Natural source of ibogaine and voacangine. Standard numeration of the iboga skeleton used by Taylor et al. is shown in the ibogaine structure, 1. Hydrolysis and decarboxylation of voacangine, 2, is a well-known process for semisynthetical production of ibogaine in good yields.





^aNo reaction observed. ^bIsolated as an inseparable mixture of 4 and 5 (7:3) with a 65% overall yield.

avoided because of low purification yields and limited availability of the shrub) (see Figure 1).³³ Toward this aim, insights into the reactivity of the iboga skeleton are needed, especially regarding its stability under oxidative conditions and the positions of the skeleton that are able to be functionalized.

In this article we describe a comparative study of the oxidation of ibogaine and voacangine using a variety of reagents in order to selectively functionalize either the indole moiety to produce 7-substituted indolenines or the isoquinuclidine skeleton to afford iboga-oxo analogs. Our results reveal that the reactivity of the iboga skeleton is highly influenced by the presence of the carboxymethyl ester at C_{16} in voacangine, which stabilizes the whole molecule toward oxidation in comparison to ibogaine, especially in the indole ring, where 7-hydroxy- or 7-peroxy-indolenines can be obtained as oxidation

products. Nevertheless, the ester moiety enhances the reactivity of the isoquinuclidinic nitrogen to afford C_3 -oxidized products through a regioselective iminium formation. In addition, the absolute stereochemistry for the 7-hydroxyindolenine of voacangine was revised to be *S*, which corrects previous reports proposing an *R* configuration.

RESULTS AND DISCUSSION

A variety of oxidation reactions for 1 were previously reported employing oxygen or air,^{34–36} chromic oxide,³⁶ *m*-chloroperbenzoic acid,^{36,37} iodine,^{36,38} and, more recently, dimethyldioxirane.³⁸ In the case of **2**, previous reports include oxidations using air or oxygen,^{39–43} lead tetraacetate,⁴³ and iodine.^{44,45} Nevertheless, many of these previous communications do not include isolated yields for the oxidation products, and,



Figure 2. Proposed mechanisms for oxidation of ibogaine (1) and voacangine (2) using triplet and singlet oxygen.

furthermore, the results from different reports are inconsistent or contradictory, probably due to an incorrect structural assignment caused by the limited spectroscopic tools available in the older studies. Thus, we carried out simultaneous oxidations for 1 and 2 using oxygen, *m*-chloroperbenzoic acid, dimethyldioxirane, and iodine in order to compare the reactivity of both alkaloids and report isolated yields for the oxidation products (along with an in-depth structural characterization and detailed assignment of their stereochemistry).

Oxidations Using Dioxygen. First, we studied the oxidation of 1 and 2 using dioxygen in the absence of light (Table 1). Toluene was chosen as the solvent considering previous reports showing that ibogaine 1 autoxidation was solvent-dependent, being fast in nonpolar solvents such as benzene.³⁶ No reaction occurred using voacangine (2) at room temperature, and even heating the solution to 50 °C rendered no product (entry 1). Conversely, 1 reacts rapidly (entry 2), to produce the known 7-hydroxyindolenine (5a) in 46% yield⁴⁶ and the keto lactam 6 as a secondary product (10% yield), resulting from the cleavage of the C_2-C_7 double bond. Compound 6 was not previously reported in the literature; however its formation was expected considering the seminal work by Witkop regarding dioxygen-mediated oxidation of 2,3disubstituted indoles.^{47,48} Thus, the formation of both products can be rationalized considering an initial formation of indolenyl hydroperoxide 4a, which can be reduced to the corresponding 7-hydroxyindolenine 5a (a transformation that can occur spontaneously in the reaction medium)⁴⁹ or further rearranged to the keto lactam 6 via a dioxetane intermediate (for a possible mechanism see Figure 2).⁵⁰ Although previous work indicated the feasibility of isolation of the indolenyl hydroperoxide 4a,^{35,34} we could not isolate it under these conditions, probably because of its rapid decomposition during the purification process.

Thus, ibogaine, but not voacangine, reacts with dioxygen in a fundamental state in toluene, probably through a radical mechanism (intermediate **A**, Figure 2). Since the N–H bond of the indole ring is plausible to undergo homolytic cleavage, we tested the same reaction conditions using *N*-methyl ibogaine 3 (entry 3). No reaction was found, and the starting material was recovered unchanged, suggesting that the indole N-H proton is necessary for the reaction with oxygen in the dark to proceed. Therefore, since 2 remained unaltered under these conditions, we propose a differential stability of a radical at the indolic N in 1 and 2, which could be explained by the electronic effect of the carboxymethyl ester at C₁₆. (See the Molecular Modeling Studies section for density functional theory (DFT) calculations regarding the electronic distribution of both alkaloids.)

We next tested the photocatalyzed singlet oxygen-mediated oxidation of 1 and 2 using Rose Bengal as photosensitizer and irradiation with LED light, maintaining toluene as the solvent (entries 4–6). Under these reaction conditions, voacangine (2) gives the indolenyl hydroperoxide 4b and the 7-hydroxyindolenine 5b in a 7:3 ratio, with 65% overall yield (entry 4). For compound 5b, it is worth noting that the stereochemistry at C_7 was assigned as 7*S*, based on NOE experiments, which is in discrepancy with some previous reports (*vide infra* for an extensive discussion).⁴⁰ No keto lactam was detected in this case, which suggests that the formation of the intermediate dioxetane C (Figure 2) is hampered by the presence of the methyl ester moiety at C_{16} .

For the case of ibogaine (1), a photocatalyzed oxidation occurred faster than previous conditions in the dark to give the same oxidation products (entries 5 vs 2). Also, 1 turned out to react much faster with singlet oxygen than voacangine (2)(entries 5 vs 4). In order to promote the *in situ* reduction of a potentially formed hydroperoxide 4a, quenching of the



"Plus 23% recovered SM. "N-Oxide detected by TLC, which decomposed before completion. "Plus 44% recovered SM.



Figure 3. Configuration at C_7 of voacangine 7-hydroxyindolenine (**5b**). (A) NOE correlations observed for OH and H_{21} proton signals. (B) DFTminimized structures for 7S and 7R hydroxy indolenines. Distance was accurately determined using quantitative NOE methodology and matches with the calculated one in the optimized DFT structure for the 7S epimer.

reaction with sodium dithionite was performed, resulting in a slight increase of the isolated yield of 5a to 45% (entry 6).

Absolute Configuration of Voacangine 7-Hydroxyindolenine (5b). Extensive discussion exists in the literature concerning the configuration at C7 of voacangine 7hydroxyindolenine, 5b. Initially, two different publications by Biemann et al. and Hootele et al. reported evidence of an Hbond between the C7-hydroxyl group and the carboxymethyl ester of 5b, detected by IR spectroscopy, which can only be formed by assuming a 7S configuration (Scheme S1,A).^{41,51} Also, Wenkert et al. reported an NMR analysis upon treatment with a lanthanide reagent of iboluteine and voaluteine (the known pseudoindoxyl derivatives obtained by acid-catalyzed rearrangement of the corresponding 7-hydroxyindolenines) that points toward an S configuration at C_7 (Scheme S1,B).⁵² Despite this sound evidence, Madinaveitia and co-workers reported the configuration of the 7-hydroxyindolenine of voacangine obtained by air oxidation to be 7R.43 The core argument was based on the ¹H NMR chemical shift differences for the methylene groups in C_{17} for voacangine 7hydroxyindolenine and its acetylated derivative, 7-acetoxyindolenine (Scheme S1,C). The authors pointed out that the observed differences in chemical shifts could only be explained by an anisotropic effect of the 7-acetyloxy group located in the near proximity of these protons, which can only occur if C_7 has an *R* configuration.⁴³

Given these contradictory reports, we decided to experimentally determine the absolute configuration at C7 in the 7hydroxyindolenine 5b obtained from 2 under oxidative conditions. To this aim, we performed NOE experiments and DFT computational calculations. A key NOE was observed between the proton at C₂₁ of the isoquinuclidine ring and the hydroxyl proton (Figure 3). This interaction is only possible considering an S configuration for the chiral center at C_7 , in which the OH group is positioned syn to the carboxymethyl group, as shown in Figure 3. In addition, internuclear proton distances in product 5b were estimated from high-resolution NOESY experiments (for experimental details about distance calculations see Supporting Information Section 2.1). Upon comparison of the OH-H₂₁ distance found in the minimized DFT structures of both possible epimers (7S and 7R), the experimentally estimated distance from high-

Article



^aDMDO: dimethyldioxirane (0.092 M solution in acetone).





^{*a*}75% recovered SM 2. ^{*b*}28% recovered 1. ^{*c*}Mixture, pure fractions were obtained for each product, which allowed separate spectroscopic identification.

resolution NOESY experiments matches perfectly with the calculated one for the 7*S* isomer, Figure 3. Finally, ¹H NMR chemical shifts were calculated for the minimized DFT structures of both possible isomers (7*S* and 7*R*) of voacangine 7-hydroxyindolenine, **5b**, and compared with the values taken from the experimental spectra (see Supporting Information, Section 2.2). It was observed that the RMSD (root-mean-square deviation) between calculated and experimental chemical shifts is appreciably minor for the 7*S* epimer (RMSD = 0.083) than for the 7*R* counterpart (RMSD = 0.233), in agreement with the proposed configuration.

In this manner, we conclude that compound **5b** presents an *S* configuration at C_7 , which is in accordance with the seminal reports by Biemann et al., Hootele et al., and Wenkert et al.^{41,51,52} Regarding the publications from Madinaveitia and coworkers, we propose that the chemical shift differences for the methylene groups in C_{17} for voacangine 7-hydroxyindolenine and its acetylated derivative are not due to a direct anisotropic effect of the acetyl moiety as claimed in that work, but to other conformational changes (see Supporting Information, Section 2.3). Knowing that **5a** had an unequivocally assigned configuration as 7*S* by X-ray monocrystal diffraction analysis,⁴⁶ similar NOE studies for **5a** were carried out to validate the

methodology used for **5b** (see Supporting Information Section 2.1).

Oxidations Using Peroxo Reagents. Voacangine and ibogaine were oxidized using two different peroxo agents: *m*-chloroperbenzoic acid (*m*CPBA) and dimethyldioxirane (DMDO). When using *m*CPBA as the oxidizing agent, we found a competition between the oxidation of the indole, to afford the 7-hydroxyindolenines **5a** and **5b**, and of the isoquinuclidine core to produce the *N*-oxides **7a** and **7b** (see Table 2, entries 1-7).

Isolated yields were low when performing the reactions at 0 °C to room temperature (entries 1 and 2), because of unspecific decomposition. Lower temperatures $(-55 \ ^{\circ}C)$ allowed some improvement in reaction yields (entries 3 and 4), but a lack of selectivity between indole- and isoquinuclidine-oxidation persisted. At both temperatures, appreciable amounts of the *N*-oxide were isolated only for voacangine. Although the formation of ibogaine *N*-oxide, 7a, was detected by TLC analysis, it decomposed before completion, suggesting the high sensitivity of this product to the acidic reaction medium (entry 4). To isolate 7a for structure characterization, it was necessary to perform and quench the reaction at $-78 \ ^{\circ}C$ (entry 5), in which case conversion was not complete. Aiming to improve the selectivity of the process, one equivalent of a

Article

pubs.acs.org/jnp

Figure 4. DFT-optimized structures in toluene for ibogaine (left) and voacangine (right). The electrostatic potential is mapped on the isodensity surfaces (0.001 e) from red (-0.05 V) to blue (+0.05 V). Atom color code: C (gray), N (blue), O (red), H (white). The values of the minimum surface electrostatic potential ($V_{s,min}$) on the isoquinuclidine nitrogen and over the indole ring are also included.

strong organic acid (TFA) was added prior to *m*CPBA, to prevent *N*-oxide formation because of isoquinuclidine protonation. These conditions enabled the synthesis of voacangine 7-hydroxyindolenine, **5b**, in good yield (76%) (entry 6), but in the case of ibogaine, only a small amount of 7hydroxyindolenine was isolated (13%) after completion of reaction, indicating that **5a** is also unstable in acidic conditions (entry 7).

In all the studied conditions, ibogaine reacted faster than voacangine. Nevertheless, since both ibogaine oxidation products, **5a** and **7a**, were found to be unstable in the reaction media, we cannot draw clear conclusions regarding the oxidation preference for the indole ring or the isoquinuclidine core when comparing both starting materials. To address this point, DMDO-mediated oxidations were undertaken, which take place in neutral media.

Ibogaine was oxidized using DMDO under previously reported conditions³⁸ (Table 3, entry 1) to produce exclusively product 5a in 99% yield. In contrast, when voacangine 2 was treated in the same conditions (entry 2), the hemiaminal 8, where the isoquinuclidine was oxidized in position C_{3} , was isolated in addition to 7-hydroxyindolenine 5b. In both cases formation of N-oxides was not detected, which indicates a contrast between mCPBA and DMDO oxidation mechanisms (see Schemes S2 and S3 for proposed mechanisms). These results show that the isoquinuclidine core of voacangine is more prone to be oxidized under these conditions than the corresponding one in ibogaine. This is in agreement with previous reports using Pt/O2-mediated oxidation of ibogaine and voacangine,^{39,41} where the indole ring was selectively oxidized in ibogaine to afford 4a, while for voacangine, oxidation took place in the isoquinuclidine to produce the lactam 9b (Table 4), resulting from oxidation at C_3 . This tendency was rationalized by DFT calculations (vide infra).

lodine-Based Oxidations. Previous reports show that when using iodine (1.5 to 1.8 equiv) as an oxidant in aqueous basic medium, both ibogaine and voacangine can be oxidized in short reaction times (up to 30 min) in position C_3 to afford lactams 9.^{36,44,45} In our hands, reaction for both alkaloids under these conditions afforded the hemiaminals **10a/10b** along with significant amounts of the starting materials (Table 4, entries 1 and 2). The absolute configuration of **10a** and **10b** at C_3 was established as *R* on the basis of a long-distance W coupling between H_3 and H_{15} (see SI, Figures S60 and S63). According to a plausible mechanism for this reaction (see Scheme S4, proposed in agreement with a previous report),⁴³ these hemiaminals are intermediate products in the oxidation process to afford the lactams, which would require at least two equivalents of iodine. In consequence, we used an excess of

iodine (3.0 equiv) and extended reaction times up to complete consumption of starting material (entries 3 and 4). In these conditions, lactams 9a and 9b were obtained in moderate yields, along with the formation of the aldehyde 11 exclusively in the oxidation of voacangine 2 (entry 3). The formation of this product can be explained by the ring opening of the isoquinuclidine core in hemiaminal 10b, probably as the result of the release of steric tension, which is higher in the voacangine structure due to the presence of the ester at C_{16} . The formation of this compound could interfere with the course of the reaction, dramatically slowing down the speed of lactam formation. In contrast with a previous report,³⁸ which uses longer reaction times (12 h) and more iodine equivalents (4.5 equiv), in our conditions we did not find products exhibiting oxidation at the indole ring such as 3-oxo ibogaine 7-hydroxyindolenine.

Molecular Modeling Studies. As a first approach to assess the reactivity of ibogaine and voacangine, we calculated global indices (chemical potential μ , hardness η , and nucleophility index N.I.) and condensed-to-atoms indices (atomic charge, nucleophilicity, Fukui, local softness) defined within the conceptual density functional theory (CDFT) framework (Supporting Information, Section 4.1, Table S4).53 In general terms, the electronic chemical potential (μ) indicates that ibogaine is less stabilized by the addition of electrons since $\mu_{ibogaine} > \mu_{voacangine}$. This is in agreement with the experimental results where ibogaine reacts faster than voacangine in oxygen-based oxidations. In addition, according to the hardness indices (η) , ibogaine displays higher polarizability. In this regard, compared to voacangine, ibogaine would be more prone to act as a nucleophile, giving rise to a higher nucleophilicity index. Therefore, compared to voacangine, ibogaine not only oxidizes easily, but also would be more reactive in nucleophilic reactions.

To further explore these features, Figure 4 depicts the DFToptimized structures in toluene and the electrostatic potential for both molecules. The presence of the methyl ester moiety triggers structural changes, mainly related to the conformation of the isoquinuclidine ring. This phenomenon, in conjunction with the inductive effect of the methyl ester group, significantly affects the electron density, draining electrons from the indole ring and the isoquinuclidinic nitrogen toward the ester moiety. In fact, the minimum surface electrostatic potential ($V_{\rm S,min}$) on the isoquinuclidinic nitrogen and over the indole ring increases from ibogaine to voacangine (Figure 4). To evaluate how this phenomenon influences the location and strength of nucleophilic centers, we calculated the condensed-to-atoms descriptors.

Figure 5. Fukui f^- function mapped on an isodensity surface (0.001 e, purple = positive, cyan = negative) for ibogaine (left) and voacangin (right). Atom color code: C (gray), N (blue), O (red), H (white).

Figure 6. Fukui f^0 function mapped on an isodensity surface (0.01 e, purple = positive, cyan = negative) for ibogaine (left) and voacangine (right). Atom color code: C (gray), N (blue), O (red), H (white).

Figure 7. DFT-optimized geometries for the iminium intermediates.⁵⁷ A visual representation of the weak interactions using the noncovalent interaction (NCI) method⁵⁷ is also shown. The values of the product $sign(\lambda_2)\rho$ are represented with different colors and mapped on a reduced density gradient (RDG) isosurface (isovalue = 0.5), revealing the different weak interactions involved: H-bonds (blue), van der Waals (green), and steric repulsion (red). Atom color code: C (cyan), H (white), O (red), N (blue). λ_2 = second largest eigenvalue of the Hessian matrix of electron density. ρ = electron density.

According to the Hirshfeld atomic charges, both nitrogen atoms (N_1 and N_4) are negatively charged, although the values are lower for ibogaine, in agreement with its lower electrostatic potential. As expected from chemical grounds, N_4 should be a much more nucleophilic/basic center than N_1 in both alkaloids, which agrees with the condensed nucleophilicity descriptor shown in Table S4. Interestingly, the values for this descriptor at N_4 are higher for voacangine than for ibogaine, suggesting that, even though the ibogaine molecule is a stronger nucleophile as a whole, N_4 is a stronger nucleophilic center in voacangine. In this regard, voacangine would be more prone to react at the isoquinuclidine moiety toward electrondeficient species. This is in accordance with our results using DMDO (Table 3, where only voacangine gives the hydroxylated product in C_3) and with previous reports using Pt/O₂-mediated oxidation.^{27,29}

We extended the analysis toward the spatial arrangement of reactive sites. Figure 5 shows the Fukui f function mapped on an isodensity surface for ibogaine and voacangine optimum geometries. As can be observed, the nucleophilic zones in ibogaine are mainly located over the indole and the isoquinuclidinic nitrogen atom, but the addition of the methyl ester group completely shifts the nucleophilic zones toward the isoquinuclidine ring, which is in accordance with the

condensed nucleophilicity indexes (compare Fukui f^- and nucleophilicity in Table S4). In summary, the conformational and electronic changes observed when going from ibogaine to voacangine lead to the shift of the electron density, giving rise to a higher nucleophilicity index value of N₄ of voacangine (see DMDO-mediated oxidation Table 3), although the sum of nucleophilic sites in ibogaine ensures that it is, globally, a stronger nucleophile (which is in agreement with the reaction rates of the oxygen-based oxidations, Table 1).

Although it was not necessary to rationalize the observed outcome, a complete regioselectivity analysis could also consider concepts of Pearson's HSAB theory. This is exemplified by the fact that although N₄ is more nucleophilic in voacangine than ibogaine, it is known that the latter is about ~2.4 pK_a units more basic than voacangine,⁵⁴ which is explained by hard-hard, soft-soft preferences (see Supporting Information, Section 4.2).^{55,56}

Also, to get insight into the reactivity toward dioxygen described in Table 1, we calculated the Fukui indices for radical reactions, f^0 , and mapped the Fukui f^0 function on an isodensity surface for ibogaine and voacangine optimum geometries (Figure 6). It can be seen in Table S4 that the f^0 value for the hydrogen atom attached to the indolic N (H₁) is about 10 times larger for ibogaine than for voacangine, indicating the former is much more prone to suffer H abstraction at the indolic position. This agrees with the radical mechanism proposed in Figure 2, where only ibogaine reacts with dioxygen in the fundamental state via a radical mechanism.

Finally, the remarkable selectivity found toward C_3 vs C_5 in the oxidation reactions using iodine and DMDO deserves further study. The oxidation with both reagents plausibly proceeds through a mechanism involving iminium formation (see Figure 7 and Schemes S3 and S4 for proposed mechanisms). To explain the exclusive regioselectivity at C_{3} we undertook DFT computational studies. A large free energy difference (ΔG) of more than 20 kcal/mol was found between the two possible iminium intermediaries (N= C_3 and N= C_5), demonstrating that formation of iminium $N=C_3$ is clearly favored. To reveal the structural and electronic basis behind this phenomenon, the weak interactions were identified and analyzed by means of the noncovalent interaction (NCI) method (Figure 7).⁵⁷ The results suggest that when going from the $N=C_3$ to the $N=C_5$ iminium, the spatial conformation of the isoquinuclidine ring is distorted, significantly increasing the steric repulsion on the seven-membered ring.

CONCLUSIONS

As described above, oxidation of the iboga alkaloid scaffold can occur at the indole ring to produce 7-hydroxy- or 7-peroxyindolenines or at the isoquinuclidinic core to generate Noxides or C₃-oxidized products. The regiochemistry of the oxidation process was found to be dependent on the oxidant used. Thus, while dioxygen exclusively oxidized the indole ring, iodine selectively oxidized the isoquinuclidine core, and peroxo agents gave mixtures. Also, we found differences between the oxidation behavior of ibogaine and voacangine. The C₁₆carboxymethyl ester present in voacangine stabilizes the whole molecule toward oxidation with oxygen and *m*CPBA, in comparison to ibogaine. However, whereas the presence of the ester moiety decreases the oxidation rate of the indole ring, it also triggers a change in the nucleophilicity of the molecule, making it more prone to react through the isoquinuclidinic nitrogen (N_4) of voacangine, to afford C_3 -oxidated products with DMDO. Computational DFT calculations were used to address the differential reactivity between ibogaine and voacangine as well as the selective oxidation at C_3 vs C_5 . Regarding the stereoselectivity of the oxidation process, all reactions proceeded in a stereoselective manner, irrespective of the bulkiness of the oxidant used. In addition, using qualitative and quantitative NMR experiments combined with theoretical calculations, the absolute stereochemistry at C₇ in the 7hydroxyindolenine of voacangine was revised to be S, which corrects previous reports proposing an R configuration. Finally, our results suggest that for storing iboga alkaloids that do not have the C₁₆-carboxymethyl ester moiety in the scaffold (e.g., ibogaine), optimal conservation conditions should include the absence of air and protection from light, to avoid spontaneous dioxygen-mediated oxidation.

EXPERIMENTAL SECTION

General Experimental Procedures. Optical rotations were measured on a JASCO P-2000 polarimeter. Infrared spectra (IR) were recorded on neat samples (NaCl disk) on a Shimadzu FT-IR 8101A spectrophotometer. NMR spectra were obtained in CDCl₃ on a Bruker Avance Neo 400 instrument operating at a ¹H frequency of 400 MHz. Proton chemical shifts (δ) are reported in ppm downfield from TMS (0.000 ppm) as an internal reference, and carbon chemical shifts are reported in ppm relative to the center line of the CDCl₃ triplet (77.0 ppm). In a typical ¹H spectrum, 64K data points were acquired using a spectral width of 20.485 ppm centered at 6.175 ppm for an acquisition time of 4 s. A relaxation delay of 1 s was used together with a 30° pulse of 4.33 ms. FIDs were processed with an exponential apodization using a line broadening factor of 0.30 Hz. Similarly, in a typical ¹³C spectrum, 64K data points were acquired using a spectral width of 236.6215 ppm centered at 100.0 ppm for an acquisition time of 1.376 s. A power gated decoupling pulse sequence was used together with a 30° pulse of 3.33 ms and a relaxation delay of 2 s. FIDs were processed with an exponential apodization using a line broadening factor of 1.0 Hz. For quantitative measurements of interproton distances, 2D-NOESY experiments with a 500 ms mixing time were acquired employing a zero-quantum filter element (Bruker standard pulse sequence noesygpphzs). Typically, 16 384 t2 points were acquired with a spectral width of 8 kHz, centered around 4.7 ppm, for a t2 acquisition time of 2.06 s and a relaxation time of 4 s. Eight scans were acquired for each of the 256 t1 increment points in the indirect dimension. The raw data were processed with a sine squared apodization function in both dimensions and Fourier transformed to a 2D matrix of $16\,384 \times 4096$ points. Manual phase and baseline correction were applied together with t1 noise reduction by subtracting a t2 projection of a noisy region. Individual traces were extracted from the 2D data and used as indicated in Section 2 of the Supporting Information. Mass spectra (MS) were recorded on a HPLC MS/MS Shimadzu LCMS 8040 (with an LC-20AD HPLC pump, DAD SPD-M20A detector, CTO-20A oven, and SIL-20A injector). The software used to process data was LabSolutions. HRMS analysis were recorded on a LC-HRMS, Sciex X500R QToF LC: Sciex ExionLC AC (AC pump, AC autosampler, and AC column oven).

All solvents were distilled prior to use, and anhydrous solvents were dried according to literature and distilled under an inert atmosphere; chemicals and reagents were purchased from Sigma-Aldrich and used as received. All reactions were performed in an inert atmosphere, using a standard protocol for the elimination of air and humidity from the system. Analytical TLC was performed on silica gel 60F-254 plates and visualized with UV light (254 nm) and/or 2% *p*-anisaldehyde in acidic ethanolic solution. Flash column chromatography was performed using silica gel (Kieselgel 60, EM reagent, 230–400 mesh). Voacangine, **2**, was isolated and purified from *V. africana* rootbark, and ibogaine, **1**, was prepared through decarboxylation of voacangine according to our previously published protocol.³²

Complete NMR spectra of the natural products are shown in Section 2 of the Supporting Information. *V. africana* rootbark was kindly donated by Bulk African Trade company.

EXPERIMENTAL PROCEDURES

General Procedure for the Dioxygen-Based Oxidations. In a two-neck round-bottom flask with the alkaloid (i.e., ibogaine 1 (30 mg, 0.096 mmol)) was added dry toluene (2 mL, 0.05 M). To this solution was added Rose Bengal (1 mg, 1 mol %) with constant stirring. A constant flow of oxygen from a balloon was bubbled into the suspension, and an LED white color 25 W lamp was used to irradiate the reaction mixture. The whole system was covered with aluminum foil, and the reaction monitored by TLC [(1:1) Hex:EtOAc + 1% NH₄OH]. After TLC analysis revealed consumption of starting material (3–17 h), toluene was removed *in vacuo*, and the crude mixture was purified by column chromatography (5% deactivated silica gel).

For ibogaine 1 as starting material [eluent: (7:3) Hex:EtOAc + 1% NH₄OH], ibogaine 7-hydroxyindolenine (5a) (10.4 mg, 33% yield) was obtained as a yellowish oil, and compound 6 (4.5 mg, 14% yield) was obtained as a colorless oil.

For voacangine 2 as starting material [eluent: (8:2) Hex:EtOAc + 1% NH₄OH], a 32:68 mixture of voacangine 7-hydroperoxyindolenine (4b) and voacangine 7-hydroxyindolenine (5b) (18.2 mg, 65% yield) was obtained as a colorless oil. Analytical samples were obtained upon further chromatographic separation, allowing spectroscopic characterization.

General Procedure for the mCPBA-Mediated Oxidations. a. Room-Temperature Oxidation. In a two-neck round-bottom flask under a nitrogen atmosphere was added the alkaloid (i.e., ibogaine 1 (96 mg, 0.31 mmol)) followed by dry CH_2Cl_2 (2 mL, 0.15 M). The solution was cooled in an ice bath, and mCPBA (77%, 173 mg, 0.31 mol) was added in a single portion. The solution was allowed to reach room temperature, and the consumption of starting material was monitored by TLC [(6:4) (Hex:EtOAc) + 1% NH₄OH)]. After 20 min the reaction was diluted with CH2Cl2 and quenched with a saturated NaHCO3 solution. The aqueous phase was extracted with CH_2Cl_2 (3x), the combined organic phases were dried over anhydrous Na2SO4, and the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography using deactivated silica [(7:3) Hex:EtOAc + 1% NH₄OH]. Ibogaine 7-hydroxy-indolenine (5a) (30.3 mg, 30% yield) was obtained as a yellowish oil.

b. -78 or -55 °C Oxidations. In a two-neck round-bottom flask under an Ar atmosphere, the alkaloid (i.e., ibogaine 1 (48 mg, 0.155 mmol)) and CH₂Cl₂ (2 mL, 0.07 M) were added, and the solution was cooled down to -78 °C. A solution of *m*CPBA (77%, 39 mg, 0.155 mol) in CH₂Cl₂ (1 mL) at room temperature was added slowly to the cold solution (over 15 min). The reaction was monitored by TLC [(9:1) (CH₂Cl₂:MeOH) + 1% NH₄OH)]. After 2.5 h the reaction solution was rapidly added in portions to a biphasic system of CH₂Cl₂ and saturated NaHCO₃ solution. The aqueous phase was extracted three times with CH₂Cl₂, the combined organic phases were dried over Na₂SO₄, and the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography over 5% deactivated silica gel [eluent: (95:5) CH₂Cl₂:MeOH + 1% NH₄OH].

For ibogaine 1 as starting material, ibogaine N-oxide (7a) (30.3 mg, 33% yield) was obtained as a brownish solid, along with 44% of unchanged starting material.

For voacangine 2 as starting material (50 mg), voacangine *N*-oxide (7b) (16.0 mg, 31% yield) was obtained as a brownish solid, along with voacangine 7-hydroxyindolenine (5b) (22.0 mg, 43% yield).

General Procedure for the DMDO-Mediated Oxidations. The DMDO solution was prepared following a published experimental protocol.⁵⁸ The resulting solution was titrated using a thioanisole. The identity of the solution was calculated by the ratio of characteristic signals (-CH₃ of the starting material, sulfoxide, and sulfone) in the ¹H NMR spectrum of the mixture. The molarity of the obtained

pubs.acs.org/jnp

solution was 0.092 M; the solution was stored at $-20\ ^\circ C$ until the time of use.

In a round-bottom flask, to a solution of ibogaine 1 (22 mg, 0.071 mmol) in acetone (1.0 mL, 0.07 M) stirred at 0 $^{\circ}$ C was added a freshly prepared and titrated DMDO solution (1.17 mL of 92 mM, 1.5 equiv). The reaction was monitored by TLC [(7:3) (Hex:EtOAc) + 1% NH₄OH)], and, once the starting material was consumed, the solvent was removed under reduced pressure and the crude was purified by column chromatography [(99:1) (CH₂Cl₂:MeOH) + 1% NH₄OH]. Ibogaine 7-hydroxyindolenine (5a) (23.1 mg; 99%) was obtained as a yellowish oil that turned into an amorphous solid upon standing overnight in the freezer (-18 $^{\circ}$ C).

For voacangine 2 as starting material (22 mg), voacangine 7hydroxyindolenine (**5b**) (15.7 mg, 77% yield) and voacangine 3,7dihydroxyindolenine (**8**) (4.2 mg, 17%) were obtained as colorless oils that turned into an amorphous solid upon standing overnight in the freezer (-18 °C).

General Procedure for the lodine-Mediated Oxidations. In a two-neck round-bottom flask equipped with a nitrogen atmosphere and in an ice bath, ibogaine 1a (43 mg, 0.138 mmol) followed by a 5:4 mixture of THF/H₂O (2 mL, 0.07 M) and solid NaHCO₃ (58 mg, 0.621 mmol) were added. Iodine (105 mg, 0.414 mmol) was dissolved in THF (3 mL, 0.14 M), and the resulting solution was added dropwise over 10 min to the reaction mixture. Once the addition was finished, the ice bath was removed, and the solution was allowed to reach room temperature. The reaction was monitored by TLC ((3:7) (Hex:EtOAc) + 1% NH₄OH). After completion (ca. 5 h), water and CH₂Cl₂ were added to dilute the reaction, in addition to a saturated solution of Na2S2O3, and vigorous stirring was maintained for 10–15 min. The aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (3 × 20 mL), the combined organic layer was dried over Na2SO4, and the solvent was removed by distillation at reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography [(7:3) (EtOAc:Hex) + 1% NH₄OH]. Ibogaine lactam 9a (13 mg, 30% yield) was obtained as a white solid.

When 1.5 equiv of iodine (53 mg, 0.209 mmol) was used and the reaction time was reduced to 30 min, the major product was 3-hydroxyibogaine (hemiaminal) (10a) (16 mg, 35% yield), obtained as a colorless oil that turned into an amorphous solid upon standing overnight in the freezer (-18 °C).

For voacangine **2** as starting material (59 mg, 0.160 mmol), a 0.7:1 mixture of voacangine lactam **9b** and aldehyde **11** (33 mg, 54% overall yield) was obtained. Pure fractions of each compound allowed spectral recording and unequivocal assignment of signals (see Supporting Information, Section 3).

Acetylation of 7-Hydroxyindolenines (5a, 5b). In a two-neck round-bottom flask equipped with a nitrogen atmosphere, ibogaine 7hydroxyindolenine (5a) (16 mg, 0.049 mmol), followed by CH_2Cl_2 (2 mL, 0.02 M), was added. To the solution at room temperature and under constant stirring was added *N*,*N*-dimethylaminopyridine (9 mg, 1.5 equiv) and then acetic anhydride (7 μ L, 1.5 equiv). The reaction was monitored by TLC ((1:1) (Hex:EtOAc) + 1% NH₄OH). After 1 h the reaction was diluted with CH₂Cl₂ and washed with a saturated solution of NaHCO₃, the organic layer was dried over Na₂SO₄, and the solvent was removed by distillation at reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography [(2:8) (EtOAc:Hex) + 1% NH₄OH]. Ibogaine 7-acetoxyindolenine (S2) was obtained as an amorphous white solid (18 mg, 99%).

In a two-neck round-bottom flask equipped with a nitrogen atmosphere, voacangine 7-hydroxyindolenine (**5b**) (44 mg, 0.114 mmol), followed by 1,2-DCE (2 mL, 0.05 M), was added. To the solution at room temperature and under constant stirring, N_i ,N-dimethylaminopyridine (56 mg, 4.0 equiv) was added and then acetic anhydride (0.5 mL, 43 equiv), and the mixture was heated up to 65 °C. Reaction was monitored by TLC ((7:3) (Hex:EtOAc) + 1% NH₄OH). After 2 h the reaction was allowed to cool to room temperature, diluted with CH₂Cl₂, and washed with a saturated solution of NaHCO₃, the organic layer was dried over Na₂SO₄, and the solvent was removed by distillation at reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography [(2:8)

(EtOAc:Hex) + 1% NH₄OH]. Voacangine 7-acetoxyindolenine, S1, was obtained as an amorphous white solid (43.3 mg, 70%).

N-Methyl Ibogaine (3). In a two-neck round-bottom flask under an argon atmosphere, a solution of ibogaine (1) (101 mg, 0.326 mmol) in anhydrous DMSO (1.2 mL, 0.3 M) was stirred at room temperature. To this solution was added potassium hydroxide (62 mg, 3.4 equiv), and, after 1 h of constant stirring, methyl iodide (31 μ L, 1.5 equiv) was added in one portion. The reaction was monitored by TLC ((9:1) (Hex:EtOAc) + 1% NH₄OH). After 1 h the reaction was diluted with H₂O (10 mL) and extracted with Et₂O (20 mL ×3). The organic layer was dried over Na₂SO₄, and the solvent removed by distillation at reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography [(9:1) (Hex:EtOAc) + 1% NH₄OH]. *N*-Methyl ibogaine (3) was obtained as a colorless oil that turned into an amorphous solid upon standing overnight in the freezer (-18 °C) (80 mg, 75%).

Computational Calculations. The initial structures of both molecules were built and pre-optimized by means of molecular mechanics (force field MMFF94x) in MOE.⁵⁹ In order to explore the potential energy surface, a conformational search was carried out with the LowModeMD method⁶⁰ implemented in MOE, using the same force field without cutoffs and employing the following settings: RMS gradient = 0.005 kcal/mol Å², rejection limit = 100, RMSD limit = 0.25 Å, energy window = 7 kcal/mol, and iteration limit = 10 000. The solvent (toluene) was modeled implicitly by the generalized Born solvation model (ε = 2.4). The number of stable conformations (minima) found for each molecule was 12 (ibogaine) and 28 (voacangine).

The most stable conformer in each case was selected and subjected to further optimization steps by means of DFT^{53,61} as implemented in Gaussian $09.^{62}$ The calculations were run at the M06-2x/6-31+G(d,p) level of theory,⁶³ using an ultrafine integration grid and under implicit solvation simulated by an IEFPCM method, with radii and nonelectrostatic terms from Truhlar and co-workers' SMD solvation model.⁶⁴ For the computational prediction of pK_b values, these geometries and their protonated analogues were reoptimized in water at the wB97X-D/cc-pVDZ-SMD level of theory, and they were handled according to the procedure reported by Barroso-Flores et al.⁶⁵ To confirm that all the optimized geometries correspond to energetic minima, the nature of the stationary points was verified by a frequency analysis. Thermodynamic parameters were calculated from the unscaled vibrational frequencies. The NMR chemical shifts were computed at the B3LYP/6-311+G(2d,p) level of theory, starting from the M06-2x/6-31+G(d,p) geometries optimized in CHCl₃ and using the theoretical tetramethylsilane NMR chemical shifts as a reference.

The structural and electronic analysis, including the calculation of reactivity descriptors (atomic charges, orbital compositions, Fukui functions, hardness, softness, nucleophilicity index, and their condensed analogs), was performed on the DFT-optimized structures employing the Hirshfeld charges (dipole corrected) and partitions with the program Multiwfn (version 3.7).⁶⁶ The nucleophilicity index was referred to tetracyanoethylene (TCE),⁶⁷ for which the HOMO energy was calculated using the same level of theory (M06-2x/6-31+G(d,p)). The weak interactions were identified and analyzed by means of the NCI method.⁵⁷ The H-bond binding energy was estimated from the electron density at the bond critical point ($\rho_{\rm BCP}$), according to Emamian et al.⁶⁸ The results were rendered with Gaussview 6.0,⁶⁹ VMD 1.9.3,⁷⁰ and Multiwfn.⁶⁶

ASSOCIATED CONTENT

Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge at https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jnatprod.3c00189.

Additional schemes and figures supporting the discussion; extended revision on the absolute configuration of 7-hydroxyindolenines; high-resolution NOESY experiments for compounds **5b** and **S3**; experimental procedures, compound characterization (¹H NMR, ¹³C NMR, IR, HRMS), and computational calculations (PDF)

AUTHOR INFORMATION

Corresponding Authors

- Gustavo Seoane Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República, 11800 Montevideo, Uruguay; orcid.org/0000-0003-2126-8551; Phone: +598 2924 4066; Email: gseoane@fq.edu.uy
- Ignacio Carrera Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República, 11800 Montevideo, Uruguay; orcid.org/0000-0002-6053-3162; Phone: +598 2924 4066; Email: icarrera@fq.edu.uy

Authors

- Bruno González Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República, 11800 Montevideo, Uruguay; orcid.org/0000-0003-2854-0714
- Nicolás Veiga Química Inorgánica, Departamento Estrella Campos, Facultad de Química, Universidad de la República, 11800 Montevideo, Uruguay; Ocrcid.org/0000-0001-8552-058X
- Gonzalo Hernández Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República, 11800 Montevideo, Uruguay

Complete contact information is available at: https://pubs.acs.org/10.1021/acs.jnatprod.3c00189

Author Contributions

The manuscript was written through contributions of all authors. All authors have given approval to the final version of the manuscript.

Notes

The authors declare no competing financial interest.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank Prof. Oscar Ventura and Prof. Kenneth Irving (Facultad de Química, Universidad de la República) for granting access to a computer cluster to perform theoretical calculations. B.G. thanks Comisión Académica de Posgrado (CAP-UdelaR) for a Ph.D. scholarship.

REFERENCES

(1) Lavaud, C.; Massiot, G. In Progress in the Chemistry of Organic Natural Products; Springer: Cham, 2017; Vol. 105, pp 89–136.

- (2) Alper, K. R. In *The Alkaloids: Chemistry and Biology;* Academic Press, 2001; Vol. 56, pp 1–38.
- (3) Iyer, R. N.; Favela, D.; Zhang, G.; Olson, D. E. Nat. Prod. Rep. **2021**, 38 (2), 307–329.
- (4) Belgers, M.; Leenaars, M.; Homberg, J. R.; Ritskes-Hoitinga, M.; Schellekens, A. F. A.; Hooijmans, C. R. *Transl. Psychiatry* **2016**, *6* (5), e826.
- (5) Alper, K. R.; Lotsof, H. S.; Frenken, G. M.; Luciano, D. J.; Bastiaans, J. Am. J. Addict. 1999, 8 (3), 234-242.
- (6) Mash, D. C.; Duque, L.; Page, B.; Allen-Ferdinand, K. Front. Pharmacol. 2018, 9 (JUN), 1–12.
- (7) Brown, T. K.; Alper, K. Am. J. Drug Alcohol Abuse 2018, 44 (1), 24-36.

(8) Schenberg, E. E.; de Castro Comis, M. A.; Chaves, B. R.; da Silveira, D. X. *J. Psychopharmacol.* **2014**, *28* (11), 993–1000.

(9) Wasko, M. J.; Witt-Enderby, P. A.; Surratt, C. K. ACS Chem. Neurosci. 2018, 9 (10), 2475-2483.

(10) Marton, S.; González, B.; Rodríguez-Bottero, S.; Miquel, E.; Martínez-Palma, L.; Pazos, M.; Pedro Prieto, J.; Rodríguez, P.; Sames, D.; Seoane, G.; Scorza, C.; Cassina, P.; Carrera, I. *Front. Pharmacol.* **2019**, *10*, 1–13.

(11) Ly, C.; Greb, A. C.; Cameron, L. P.; Wong, J. M.; Barragan, E.

V.; Wilson, P. C.; Burbach, K. F.; Zarandi, S. S.; Sood, A.; Paddy, M. R.; Duim, W. C.; Dennis, M. Y.; McAllister, A. K.; Ori-McKenney, K.

M.; Gray, J. A.; Olson, D. E. Cell Rep. **2018**, 23 (11), 3170–3182.

(12) Rodríguez, P.; Urbanavicius, J.; Prieto, J. P.; Fabius, S.; Reyes, A. L.; Havel, V.; Sames, D.; Scorza, C.; Carrera, I. ACS Chem. Neurosci. 2020, 11 (11), 1661–1672.

(13) González, J.; Prieto, J. P.; Rodríguez, P.; Cavelli, M.; Benedetto, L.; Mondino, A.; Pazos, M.; Seoane, G.; Carrera, I.; Scorza, C.; Torterolo, P. *Front. Pharmacol.* **2018**, *9*, 374.

(14) González, J.; Cavelli, M.; Castro-Zaballa, S.; Mondino, A.; Tort, A. B. L.; Rubido, N.; Carrera, I.; Torterolo, P. ACS Pharmacol. Transl. Sci. 2021, 4 (2), 517–525.

(15) Alper, K.; Bai, R.; Liu, N.; Fowler, S. J.; Huang, X.-P.; Priori, S. G.; Ruan, Y. *Cardiovasc. Toxicol.* **2016**, *16* (1), 14–22.

(16) Koenig, X.; Hilber, K. Molecules 2015, 20 (2), 2208-2228.

(17) Glick, S. D.; Maisonneuve, I. M.; Szumlinski, K. K. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2000, 914 (518), 369-386.

(18) Layer, R. T.; Skolnick, P.; Bertha, C. M.; Bandarage, U. K.; Kuehne, M. E.; Popik, P. *Eur. J. Pharmacol.* **1996**, 309 (2), 159–165.

(19) Arias, H. R.; Feuerbach, D.; Targowska-Duda, K. M.; Jozwiak, K. Int. J. Biochem. Cell Biol. **2011**, 43 (9), 1330–1339.

(20) Arias, H. R.; Targowska-Duda, K. M.; Feuerbach, D.; Jozwiak, K. Int. J. Biochem. Cell Biol. **2015**, 65, 81–90.

(21) Paul, S.; Pattanayak, S.; Sinha, S. Tetrahedron Lett. 2011, 52 (46), 6166–6169.

(22) Jana, G. K.; Sinha, S. Tetrahedron 2012, 68 (35), 7155-7165.
(23) Sundberg, R. J.; Cherney, R. J. J. Org. Chem. 1990, 55 (24), 6028-6037.

(24) Sundberg, R. J.; Amat, M.; Fernando, A. M. J. Org. Chem. 1987, 52 (14), 3151–3159.

(25) Cameron, L. P.; Tombari, R. J.; Lu, J.; Pell, A. J.; Hurley, Z. Q.; Ehinger, Y.; Vargas, M. V.; McCarroll, M. N.; Taylor, J. C.; Myers-Turnbull, D.; Liu, T.; Yaghoobi, B.; Laskowski, L. J.; Anderson, E. I.; Zhang, G.; Viswanathan, J.; Brown, B. M.; Tjia, M.; Dunlap, L. E.; Rabow, Z. T.; Fiehn, O.; Wulff, H.; McCorvy, J. D.; Lein, P. J.; Kokel, D.; Ron, D.; Peters, J.; Zuo, Y.; Olson, D. E. *Nature* **2021**, *589* (7842), 474–479.

(26) Gassaway, M. M.; Jacques, T. L.; Kruegel, A. C.; Karpowicz, R. J.; Li, X.; Li, S.; Myer, Y.; Sames, D. ACS Chem. Biol. 2016, 11, 77.

(27) Efange, S. M. N.; Mash, D. C.; Khare, A. B.; Ouyang, Q. J. Med. Chem. 1998, 41 (23), 4486–4491.

(28) Banerjee, T. S.; Paul, S.; Sinha, S.; Das, S. Bioorg. Med. Chem. 2014, 22 (21), 6062-6070.

(29) Kruegel, A. C.; Rakshit, S.; Li, X.; Sames, D. J. Org. Chem. 2015, 80 (4), 2062–2071.

(30) Passarella, D.; Barilli, A.; Efange, S. M. N.; Elisabetsky, E.; Leal, M. B.; Lesma, G.; Linck, V. M.; Mash, D. C.; Martinelli, M.; Peretto, I.; Silvani, A.; Danieli, B. *Nat. Prod. Res.* **2006**, *20* (8), 758–765.

(31) Pazos, M.; Dibello, E.; Mesa, J. M.; Sames, D.; Comini, M. A.; Seoane, G.; Carrera, I. *Molecules* **2022**, *27* (3), 829.

(32) González, B.; Fagúndez, C.; Peixoto de Abreu Lima, A.; Suescun, L.; Sellanes, D.; Seoane, G. A.; Carrera, I. ACS Omega 2021, 6 (26), 16755–16762.

(33) Iboga Root: Dynamics of Iboga's African Origins and Modern Medical Use - American Botanical Council https://www.herbalgram. org/resources/herbalgram/issues/109/table-of-contents/hg109-featiboga/ (accessed Oct 3, 2022).

(34) Taylor, W. I. In *The Alkaloids: Chemistry and Physiology*; Elsevier, 1965; pp 203–235.

(35) Goutarel, M.; Janot, M.-M.; Mathys, F.; Prelog, V. Helv. Chim. Acta **1956**, 39 (3), 742–748.

pubs.acs.org/jnp

(36) Bartlett, M. F.; Dickel, D. F.; Taylor, W. I. J. Am. Chem. Soc. 1958, 80 (1), 126-136.

(37) Low, Y. Y.; Lim, K. H.; Choo, Y. M.; Pang, H. S.; Etoh, T.; Hayashi, M.; Komiyama, K.; Kam, T. S. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51* (2), 269–272.

(38) Zhao, G.; Xie, X.; Sun, H.; Yuan, Z.; Zhong, Z.; Tang, S.; She, X. Org. Lett. **2016**, *18* (10), 2447–2450.

(39) Guise, G.; Ritchie, E.; Taylor, W. Aust. J. Chem. 1965, 18 (8), 1279.

(40) Madinaveitia, A.; de la Fuente, G.; González, A. Helv. Chim. Acta 1998, 81 (9), 1645–1653.

(41) Thomas, D. W.; Biemann, K. Tetrahedron 1968, 24 (11), 4223-4231.

(42) Goldblatt, A.; Hootele, C.; Pecher, J. Phytochemistry 1970, 9 (6), 1293-1298.

(43) Madinaveitia, A.; Reina, M.; de la Fuente, G.; Gonzalez, A. G.; Valencia, E. J. Nat. Prod. **1996**, 59 (2), 185–189.

(44) Guise, G.; Ritchie, E.; Taylor, W. Aust. J. Chem. 1965, 18 (8), 1279.

(45) Büchi, G.; Manning, R. E.; Monti, S. A. J. Am. Chem. Soc. 1964, 86 (21), 4631–4641.

(46) Tang, B. Q.; Wang, W. J.; Huang, X. J.; Li, G. Q.; Wang, L.; Jiang, R. W.; Yang, T. T.; Shi, L.; Zhang, X. Q.; Ye, W. C. *J. Nat. Prod.* **2014**, 77 (8), 1839–1846.

(47) Witkop, B.; Patrick, J. B. J. Am. Chem. Soc. 1951, 73 (5), 2196–2200.

(48) Witkop, B.; Patrick, J. B.; Rosenblum, M. J. Am. Chem. Soc. 1951, 73 (6), 2641–2647.

(49) Sundberg, R. J. In Organic Chemistry; Elsevier, 1970; Vol. 18, pp 282–315.

(50) Mentel, M.; Breinbauer, R. Curr. Org. Chem. 2007, 11 (2), 159–176.

(51) Hootele, C.; Levy, R.; Kaisin, M.; Pecher, J.; Martin, R. H. Bull. des Sociétés Chim. Belges **1967**, *76* (5–6), 300–307.

(52) Wenkert, E.; E. Gottlieb, H. Heterocycles 1977, 7 (2), 753.

(53) Lewars, E. G. Computational Chemistry: Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics; Springer Netherlands: Dordrecht, 2011.

(54) Shamma, M.; Soyster, H. E. *Experientia* 1964, 20 (1), 36–38.
(55) Méndez, F.; Gázquez, J. L. J. Am. Chem. Soc. 1994, 116 (20), 9298–9301.

(56) Roy, R. K.; Krishnamurti, S.; Geerlings, P.; Pal, S. J. Phys. Chem. A **1998**, 102 (21), 3746–3755.

(57) Johnson, E. R.; Keinan, S.; Mori-Sánchez, P.; Contreras-García, J.; Cohen, A. J.; Yang, W. J. Am. Chem. Soc. **2010**, 132 (18), 6498–6506.

(58) Kanda, Y.; Nakamura, H.; Umemiya, S.; Puthukanoori, R. K.; Murthy Appala, V. R.; Gaddamanugu, G. K.; Paraselli, B. R.; Baran, P. S. J. Am. Chem. Soc. **2020**, 142 (23), 10526–10533.

(59) Labute, P. MOE; Chemical Computing Group Inc.: Montreal, QC, Canada, 2014.

(60) Labute, P. J. Chem. Inf. Model. 2010, 50 (5), 792-800.

(61) Koch, W.; Holthausen, M. C. A Chemist's Guide to Density Functional Theory; Wiley, 2001.

(62) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenb, D. J. *Gaussian 09*; Gaussian, Inc.: Wallingford, CT, USA, 2009. 2009.

(63) Zhao, Y.; Truhlar, D. G. Theor. Chem. Acc. 2008, 120 (1-3), 215-241.

(64) Marenich, A. V.; Cramer, C. J.; Truhlar, D. G. J. Phys. Chem. B 2009, 113 (18), 6378-6396.

(65) Sandoval-Lira, J.; Mondragón-Solórzano, G.; Lugo-Fuentes, L.

I.; Barroso-Flores, J. J. Chem. Inf. Model. 2020, 60 (3), 1445–1452.
 (66) Lu, T.; Chen, F. J. Comput. Chem. 2012, 33 (5), 580–592.

- (67) Domingo, L. R.; Chamorro, E.; Pérez, P. J. Org. Chem. 2008, 73 (12), 4615–4624.
- (68) Emamian, S.; Lu, T.; Kruse, H.; Emamian, H. J. Comput. Chem. 2019, 40 (32), 2868–2881.
- (69) Dennington, R.; Keith, T. A.; Millam, J. M. *Gaussview 6.0*; Semichem Inc.: Shawnee Mission, KS, 2016.
- (70) Humphrey, W.; Dalke, A.; Schulten, K. J. Mol. Graph. 1996, 14 (1), 33-38.

Recommended by ACS

Dendrillic Acids A and B: Nitrogenous, Rearranged Spongian Nor-Diterpenes from a *Dendrilla* sp. Marine Sponge

Samuele Sala, Gavin R. Flematti, *et al.* MARCH 16, 2023 JOURNAL OF NATURAL PRODUCTS

READ 🗹

Dothideomins A–D, Antibacterial Polycyclic Bisanthraquinones from the Endophytic Fungus *Dothideomycetes* sp. BMC-101

Lusheng Wang, Meilin Zhu, et al. DECEMBER 08, 2022 JOURNAL OF NATURAL PRODUCTS

READ 🗹

Natural Cannabichromene (CBC) Shows Distinct Scalemicity Grades and Enantiomeric Dominance in *Cannabis sativa* Strains

Andrea Calcaterra, Giovanni Appendino, et al. APRIL 06, 2023 JOURNAL OF NATURAL PRODUCTS

READ 🗹

Comprehensive Characterization of a Systematic Library of Alkyl and Alicyclic Synthetic Cannabinoids Related to CUMYL-PICA, CUMYL-BUTICA, CUMYL-CBMICA, a...

Liesl K. Janssens, Christophe P. Stove, et al. DECEMBER 18, 2022 ACS CHEMICAL NEUROSCIENCE

Get More Suggestions >

t More Suggestions >

Article 5-HT_{2A} Receptor Knockout Mice Show Sex-Dependent Differences following Acute Noribogaine Administration

Sofía Villalba^{1,2}, Bruno González³, Stephanie Junge^{1,2}, Alejandra Bernardi^{1,2}, Joaquín González⁴, Catherine Fagúndez³, Pablo Torterolo⁴, Ignacio Carrera³, Francisco J. Urbano² and Verónica Bisagno^{1,*}

- ¹ Instituto de Investigaciones en Medicina Traslacional, Facultad de Ciencias Biomédicas, CONICET-Universidad Austral, Mariano Acosta 1611, Buenos Aires B1629WWA, Argentina; mvillalba-iimt@austral.edu.ar (S.V.); stephijunge@gmail.com (S.J.)
- ² Departamento de Fisiología, Biología Molecular y Celular Prof. Héctor Maldonado, Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Neurociencias (IFIBYNE-CONICET), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires C1428EGA, Argentina; fjurbano@fbmc.fcen.uba.ar
- ³ Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República, Avenida General Flores 2124, Montevideo 11800, Uruguay; brunogonzalez@fq.edu.uy (B.G.); cfagundez19@gmail.com (C.F.); icarrera@fq.edu.uy (I.C.)
- ⁴ Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Avenida General Flores 2125, Montevideo 11800, Uruguay; joaqgonzar@gmail.com (J.G.); ptortero@fmed.edu.uy (P.T.)
- * Correspondence: vbisagno-iimt@austral.edu.ar or verobisagno@gmail.com

Abstract: Noribogaine (noribo) is the primary metabolite from ibogaine, an atypical psychedelic alkaloid isolated from the root bark of the African shrub *Tabernanthe iboga*. The main objective of this study was to test the hypothesis that molecular, electrophysiological, and behavioral responses of noribo are mediated by the 5-HT_{2A} receptor (5-HT_{2A}R) in mice. In that regard, we used male and female, 5-HT_{2A}R knockout (KO) and wild type (WT) mice injected with a single noribo dose (10 or 40 mg/kg; i.p.). After 30 min., locomotor activity was recorded followed by mRNA measurements by qPCR (immediate early genes; IEG, glutamate receptors, and 5-HT_{2A}R levels) and electrophysiology recordings of layer V pyramidal neurons from the medial prefrontal cortex. Noribo 40 decreased locomotion in male, but not female WT. Sex and genotype differences were observed for IEG and glutamate receptor expression. Expression of 5-HT_{2A}R mRNA increased in the mPFC of WT mice following Noribo 10 (males) or Noribo 40 (females). Patch-clamp recordings showed that Noribo 40 reduced the NMDA-mediated postsynaptic current density in mPFC pyramidal neurons only in male WT mice, but no effects were found for either KO males or females. Our results highlight that noribo produces sexually dimorphic effects while the genetic removal of 5HT_{2A}R blunted noribo-mediated responses to NMDA synaptic transmission.

Keywords: psychedelics; noribogaine; serotonin; NMDA; glutamate receptors; immediate early genes (IEG)

1. Introduction

The potential use of psychedelic compounds in psychiatry has recently generated an extensive body of work regarding the therapeutic actions of these molecules [1]. Several studies suggest that psychedelic compounds such as psylocibin and MDMA might have a place in the treatment of several psychiatric disorders that represent a huge suffering and economic burden given their difficulty of treatment and high relapse rate. Safety, efficacy, and tolerability were found by clinical trials involving psychedelic-assisted psychotherapy for anxiety and depression [2], PTSD [3], alcohol use [4], and depressive disorders in cancer patients [5].

It needs to be noted that unlike many psychiatric medications, this type of treatment requires administration of the compound only once or twice over a few weeks, which are

Citation: Villalba, S.; González, B.; Junge, S.; Bernardi, A.; González, J.; Fagúndez, C.; Torterolo, P.; Carrera, I.; Urbano, F.J.; Bisagno, V. 5-HT_{2A} Receptor Knockout Mice Show Sex-Dependent Differences following Acute Noribogaine Administration. *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, *25*, 687. https:// doi.org/10.3390/ijms25020687

Academic Editor: Alvaro Galli

Received: 6 December 2023 Revised: 27 December 2023 Accepted: 31 December 2023 Published: 5 January 2024

Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https:// creativecommons.org/licenses/by/ 4.0/). preceded and followed by preparation and integration sessions with a trained therapist. Serotonergic neurotransmission, and particularly the one mediated by 5-HT_{2A} receptors (5-HT_{2A}R), has been implicated not only for the sensory and cognitive alterations induced by the acute administration of classical psychedelics but also as a key target for their therapeutic properties [6]. 5-HT_{2A}R are densely expressed in thalamocortical presynaptic and postsynaptic terminals in the V layer of the medial prefrontal cortex [7–10].

Ibogaine is a naturally occurring alkaloid derived from the *Tabernanthe iboga* shrub, which is native to West Africa [11–13]. It has been classified as a potent atypical psychedelic drug capable of inducing oneirogenic effects (waking dream-like states) and vivid memory recall. Ibogaine and noribogaine (10-hydroxyibogamine; noribo, the primary active metabolite of ibogaine produced by a CYP2D6-dependent pathway; [14,15]) have gained increasing attention due to their promising "anti-addictive" properties documented in observational and open-label studies in humans and in pre-clinical models [16–20]. In addition, a rapid antidepressant effect in humans after ibogaine administration was described in previous clinical trials, and both ibogaine and noribogaine have shown antidepressant-like effects in rodents [15].

Nevertheless, the neurobiological mechanism underlying the antiaddictive and antidepressant effects displayed by ibogaine and noribogaine remain unsolved [13]. Initial receptor-binding studies for ibogaine indicated a polypharmacological profile, with binding to numerous targets at the micromolar range, such as nicotinic acetylcholine receptors (nAChR α 3 β 4), the N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR), kappa and mu opioid, sigma-1 and sigma-2, and 5-HT_{2A} and 5-HT₃ receptors, as well as the dopamine and serotonin transporters [21]. Regarding noribogaine, its pharmacological profile is similar to the parent drug but displays some differences: it shows a higher interaction with the serotonin reuptake transporter SERT and the kappa opioid receptor. It also exhibits a lower affinity to NMDAR with no reported affinity for the 5-HT_{2A} and 5-HT₃ receptors [22–24]. Although a recent study using noribogaine at low doses in humans did not observe any psychedelic effects [25], there are currently no reports studying the psychedelic properties of noribogaine at doses equivalent to those recognized for producing oneirogenic effects with ibogaine in humans. Thus, the psychedelic potential of noribogaine needs to be further explored.

In contrast to classic psychedelics, ibogaine and noribogaine present marginal or no affinity to 5-HT_{2A}R, showing pharmacological similarities to other atypical psychedelics such as ketamine (NMDA-R antagonist) [26] and salvinorine A (kappa opioid receptor agonist) [27]. Nevertheless, the potential role of the $5HT_{2A}R$ in mediating ibogaine and noribogaine effects cannot be ruled out. Previous drug discrimination studies suggested that ibogaine administration in rodents could exert some of its actions involving $5-HT_{2A}R$ [28] In fact, activation of $5-HT_{2A}R$ has been linked to an awaked state with features of REM sleep following systemic administration of ibogaine in rats [29,30]. In addition, noribogaine has been shown to induce structural neural plasticity in cultured embryonic rat cortical neurons, an effect probably linked to $5-HT_{2A}R$ activation [31]. Thus, $5-HT_{2A}R$ could be involved in the effects of these alkaloids, but indirectly and not through a direct drug–receptor interaction.

Therefore, we decided to test the hypothesis that molecular, electrophysiological, and behavioral responses of noribogaine in mice might be dependent on the presence of 5HT_{2A}R. Given the significance of sex and gender differences observed in the impact of psychiatric illnesses and the responses to pharmacological treatments [32], we also decided to study those effects of noribogaine in both female and male mice. To the best of our knowledge, information on sex differences in psychedelic effects is extremely limited. In the case of ibogaine, preclinical studies have shown sex-specific effects in rodents. For example, after ibogaine's administration, females showed higher plasma bioavailability and concentration in the brain than male rodents [33,34]. Yet, to our knowledge, there are no previous preclinical reports studying sex differences following noribogaine administration.

In the present study we examined the role of 5-HT_{2A}R on a single noribogaine dose (10 or 40 mg/kg) on 5-HT_{2A} receptor knockout (KO) (5-HT_{2A}^{-/-}) and wild type (WT;

5-HT_{2A}^{+/+}) male and female mice. We quantified locomotor activity as well as mPFC gene expression (the mRNA of immediately early genes, and glutamatergic and serotonergic receptors by qPCR), and locomotor activity following a single administration of noribogaine. We also evaluated sex-dependent effects on noribogaine-mediated changes in glutamatergic excitatory transmission (presynaptic and postsynaptic), using whole-cell patch-clamp recordings of mPFC layer V pyramidal neurons from both genotypes.

2. Results

2.1. A Single Administration of Noribogaine Produced Differential Effects on Locomotion in Male vs. Female Mice

Previous reports found that noribogaine systemic administration can change locomotor activity in rats [35]. In order to investigate whether 5-HT_{2A}R deficiency would alter noribo effects on locomotion we decided to quantify locomotion of male and female 5-HT_{2A}R KO (5-HT_{2A}^{-/-}) and WT (5-HT_{2A}^{+/+}) mice with a 129S6/SvEv background following the administration of psychedelic noribogaine 10 mg/kg (*Noribo 10*) or noribogaine 40 mg/kg (*Noribo 40*). First, we evaluated the basal locomotor activity in the habituation sessions prior to drug injections during 15 min (see Figure 1 for protocol details). Two-way ANOVA (sex x genotype) was performed. Locomotion in the habituation period showed a significant effect for the sex factor ($F_{(1,120)} = 21.11$, p < 0.0001, N = 26–34), but not for genotype ($F_{(1,120)} = 2.72$, p > 0.05, N = 26–34) or interaction ($F_{(1,120)} = 0.90$, p > 0.05, N = 26–34) (Figure 2B,E). According to a previous report, the max brain concentration of noribo after an intraperitoneal administration in rats occurs at 30 min [15]. Therefore, we measured locomotor activity thirty minutes after a single noribo administration, immediately after habituation.

Figure 1. Schematic representation of experimental treatments. Male and female $5-HT_{2A}^{+/+}$ (WT) and $5-HT_{2A}^{-/-}$ (KO) mice were subjected to an open-field test (OFT). The first 15 min corresponds to habituation. Then, they were administered a single intraperitoneal injection of the corresponding treatment: vehicle (saline solution), noribogaine 10 mg/kg, or 40 mg/kg. Mice were recorded for 30 min post-injection. Tissue samples for qPCR were taken immediately after the experiment.

Two-way ANOVA (treatment x genotype) was performed. For male mice (Figure 2A–C), noribo induced significant differences for treatment ($F_{(2,57)} = 8.7$, p < 0.001, N = 9-12), but not for genotype ($F_{(1,57)} = 0.52$, p > 0.05, N = 9-12) or interaction ($F_{(2,57)} = 1.5$, p > 0.05, N = 9-12). As shown in Figure 2A, WT male mice injected with *Noribo 40* showed decreased locomotion, compared to the vehicle (Tukey post-hoc; p < 0.05). Female mice injected with noribo (Figure 2D–F) showed significant effects for treatment ($F_{(2,52)} = 6.42$, p < 0.001, N = 7-11), but not for genotype ($F_{(1,52)} = 0.01$, p > 0.05, N = 7-11), or interaction ($F_{(2,52)} = 1.74$, p > 0.05, N = 7-11). Figure 2D showed that female KO mice injected with *Noribo 40* showed less locomotion compared to vehicle KO (Tukey post-hoc; p < 0.05).

Figure 2. Behavioral changes induced by noribogaine (N10, 10 mg/kg or N40, 40 mg/kg). For males: (**A**) Total distance traveled (cm) by mice post-injection with noribogaine. (**B**) Total distance traveled (cm) by mice during habituation. (**C**) Cumulative track plots (screen-captured from an Ethovision file) of mice during OFT post-injection with noribogaine. For females: (**D**) Total distance traveled (cm) by mice post-injection with noribogaine. (E) Total distance traveled (cm) by mice during oper-injection with noribogaine. (E) Total distance traveled (cm) by mice during habituation. (F) Cumulative track plots (screen-captured from Ethovision files showing openfield arenas used for locomotion measurements, see Methods for details) of mice during OFT post-injection with noribogaine. The values indicate mean \pm SEM. Two-way ANOVA–Tukey: * *p* < 0.05 different from noribogaine (low, N10 vs. high, N40 dose).

In this experimental setting, we did not observe any significant difference for female or male mice treated with the lower dose, *Noribo* 10. Only the highest dose, *Noribo* 40, was able to change locomotion in WT male mice and in KO females. The noribo-mediated decrease in locomotion reported here might be linked to the fact that noribo is a G-protein biased

k-opioid receptor agonist [36]. It is known that k-opioid agonists reduce rearing, motility, and locomotion in mice [37]; therefore, the decrease in locomotion seen in noribo-treated mice might reflect sedative effects induced by the activation of these receptors. Also, we cannot rule out the effect of noribo on the animal's overall motivation to explore.

These results suggest that $5HT_{2A}R$ deficiency does not play a role in noribo locomotor effects for male mice, since both genotypes showed reduced locomotion. Nevertheless, for female mice the reduction of locomotion was observed for KO, but was not evident for WT, suggesting a differential role of $5HT_{2A}R$ in modulating the locomotor and/or exploratory behavior in females.

2.2. 5-HT_{2A} Receptor Deficiency Alters the Gene Expression Profile Induced by Noribogaine in mPFC in a Sex-Dependent Manner

Cortical neurons express several 5-HT receptors, among which the 5-HT_{2A} and 5-HT_{1A} receptors are expressed at high levels [7-10,38].

Therefore, to evaluate the impact of 5-HT_{2A}R deficiency on the mPFC gene expression profile induced by a single administration of noribo injection, we tested the same two noribo doses (*Noribo 10, N10* and *Noribo 40, N40*, see above). Male and female mice were injected with noribo or vehicle, tested in the open field for locomotion activity (for 30 min), and tissue sampling (mPFC) was immediately obtained for qPCR assays (IEGs, glutamate receptors, and 5-HT_{2A} receptors) (see Figure 1 for protocol details).

For male mPFC (Figure 3A), Npas4 showed a significant main effect of treatment ($F_{(2,48)} = 9.00$, p < 0.001, N = 7–11) and interaction ($F_{(2,48)} = 6.32$, p < 0.01, N = 7–11), but not for genotype ($F_{(1,48)} = 1.13$, p > 0.05, N = 7–11). As shown in Figure 3, male KO mice injected with *Noribo 10* showed higher Npas4 expression compared to vehicle KO (Tukey post-hoc, p < 0.001). Egr1 showed significant treatment ($F_{(2,46)} = 3.41$, p < 0.05, N = 7–10), genotype ($F_{(1,46)} = 7.66$, p < 0.01, N = 7–10), and interaction ($F_{(2,46)} = 4.82$, p < 0.05, N = 7–10). Similarly to what we observed for Npas4, administration of *Noribo 10* in male KO mice increased Egr1 expression compared to vehicle KO (Tukey post-hoc, p < 0.05). For cFos, ANOVA showed differences for treatment ($F_{(2,49)} = 9.97$, p < 0.001, N = 7–11) but not genotype ($F_{(1,49)} = 1.76$, p > 0.05, N = 7–11) nor interaction ($F_{(2,49)} = 0.84$, p > 0.05, N = 7–11). cFos expression was increased in KO male mice injected with the higher *Noribo 40* dose compared to vehicle KO (Tukey post-hoc, p < 0.01). We did not observe significant differences in WT mice on IEGs expression following noribo administration.

We also measured the mRNA of two glutamate receptors that are linked to neuroplasticityrelated changes in mPFC circuits in male mice (Figure 3A). The AMPA receptor GRIA1 showed significant effects for interaction ($F_{(2,50)} = 9.82$, p < 0.001, N = 6-11), but not for treatment ($F_{(2,50)} = 2.02$, p > 0.05, N = 6-11) or genotype ($F_{(1,50)} = 0.04$, p > 0.05, N = 6-11). Male KO mice injected with *Noribo 40* showed increased GRIA1 compared to vehicle KO (Tukey post-hoc, p < 0.05). The NMDA receptor GRIN2A showed significant interaction ($F_{(2,45)} = 4.188$, p < 0.05, N = 6-10), but not for treatment ($F_{(2,45)} = 3.035$, p > 0.05, N = 6-10) nor genotype ($F_{(1,45)} = 2.123$, p > 0.05, N = 6-10). WT males injected with *Noribo 10* showed an increase in GRIN2A compared to vehicle WT (Tukey post-hoc, p < 0.05).

As expected, male KO showed a decrease in the 5-HT_{2A}R gene compared to vehicle WT (Tukey pot-hoc, p < 0.05), like in a previous report using this knockout mouse model [39]. 5-HT_{2A}R showed statistical differences for all factors, including treatment ($F_{(2,47)} = 7.40$, p < 0.01, N = 7–10), genotype ($F_{(1,47)} = 47.95$, p < 0.0001, N = 7–10), and interaction ($F_{(2,47)} = 8.27$, p < 0.001, N = 7–10). Interestingly, the lower dose, *Noribo 10*, induced an increase in 5-HT_{2A}R gene expression in WT male mice compared to vehicle WT (Tukey post-hoc, p < 0.01). Our results suggest that noribo has the capacity to regulate the expression of 5-HT_{2A}R mRNA.

Figure 3. Gene expression changes in WT and KO mice in the mPFC following a single injection of noribogaine (10 mg/kg or 40 mg/kg). (**A**) Males: Immediate early genes Npas4, Egr1, and cFos; glutamate receptor GRIA1 and GRIN2A; serotonin receptor Htr2a (5HT_{2A}R). Two-way ANOVA–Tukey: * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001 difference from vehicle (KO injected with noribo vs. vehicle KO and WT injected with noribo vs. vehicle WT); # p < 0.05, ## p < 0.01, ### p < 0.001 difference from noribogaine (comparing low vs. high dose); \$ p < 0.05 difference from vehicle (vehicle WT vs. vehicle KO). (**B**) Females: Immediate early genes Npas4, Egr1, and cFos; glutamate receptor GRIA1 and GRIN2A; serotonin receptor Htr2a. Two-way ANOVA–Tukey: * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001 difference from vehicle (KO injected with noribo vs. vehicle WT); # p < 0.05, ## p < 0.05, ## p < 0.01, ### p < 0.001 difference from vehicle (KO injected with noribo vs. vehicle WT); # p < 0.05, ## p < 0.01, ### p < 0.001 difference from vehicle (KO injected with noribo vs. vehicle WT); # p < 0.05, ## p < 0.01, ### p < 0.001 difference from vehicle (KO injected with noribo vs. vehicle KO and WT injected with noribo vs. vehicle WT); # p < 0.05, ## p < 0.01, ### p < 0.001 difference from noribogaine (comparing low vs. high dose); \$ p < 0.05 difference from vehicle (KO injected with noribo vs. vehicle KO and WT injected with noribo vs. vehicle WT); # p < 0.05, ## p < 0.01, ### p < 0.001 difference from noribogaine (comparing low vs. high dose); \$ p < 0.05 difference from vehicle (vehicle WT vs. vehicle WT); # p < 0.05 difference from vehicle (vehicle WT vs. vehicle KO).

For the female mPFC (Figure 3B), we noted significant changes for Npas4 that were similar to males for treatment ($F_{(2,42)} = 5.04$, p < 0.05, N = 6-10), but not for genotype ($F_{(1,42)} = 3.05$, p > 0.05, N = 6-10) nor interaction ($F_{(2,42)} = 2.45$, p > 0.05, N = 6-10). Like male mice, female KO injected with *Noribo 10* increased Npas4 in mPFC compared to vehicle KO (Tukey post-hoc, p < 0.05). In the case of Egr1, significant differences were found for treatment ($F_{(2,45)} = 6.81$, p < 0.01, N = 7-9), genotype ($F_{(1,45)} = 6.73$, p < 0.05, N = 7-9), and interaction ($F_{(2,45)} = 5.28$, p < 0.01, N = 7-9). WT female mice injected with *Noribo 40* increased its expression compared to vehicle WT (Tukey post-hoc, p < 0.01). Also, cFos showed differences for treatment ($F_{(2,45)} = 4.77$, p < 0.05, N = 7-10) and genotype ($F_{(1,45)} = 9.89$, p < 0.01, N = 7-10), but not for interaction ($F_{(2,45)} = 2.75$, p > 0.05, N = 7-10). Female WT injected with *Noribo 40* increased cFos expression compared to vehicle WT (Tukey pot-hoc, p < 0.05).

GRIA1 showed statistical differences for genotype ($F_{(1,42)} = 6.89$, p < 0.05, N = 7-10), but not for treatment ($F_{(2,42)} = 1.36$, p > 0.05, N = 7-10) nor interaction ($F_{(2,42)} = 1.83$, p > 0.05, N = 7-10). No other significant differences were found (Tukey post-hoc, p > 0.05). GRIN2A showed differences for treatment ($F_{(2,41)} = 11.23$, p < 0.01, N = 6-10) and interaction ($F_{(2,41)} = 4.4$, p < 0.05, N = 6-10), but not for genotype ($F_{(1,41)} = 1.81$, p > 0.05, N = 6-10). KO female mice injected with *Noribo 10* showed increased GRIN2A expression compared to vehicle KO (Tukey post-hoc, p < 0.001).

Similarly to male mice, we found significant differences in the expression of $5HT_{2A}R$, for treatment ($F_{(2,45)} = 4.55$, p < 0.05, N = 6-10) and genotype ($F_{(1,45)} = 41.68$, p < 0.0001, N = 6-10) but not for interaction ($F_{(2,45)} = 3.16$, p > 0.05, N = 6-10). WT female mice injected with *Noribo 40* showed increased 5-HT_{2A}R expression compared to vehicle WT (Tukey post-hoc, p < 0.05). As expected, KO female mice showed decreased expression of $5HT_{2A}R$ expression compared to female vehicle WT (Tukey post-hoc, p < 0.05).

2.3. 5-HT_{2A} Receptor Plays a Role in the NMDA Current Density of Pyramidal mPFC Neurons in Male WT Mice Following Single Administration of Noribogaine

Postsynaptic membrane expression of NMDA receptors in dendrites of layer V pyramidal neurons of mPFC has been described to be finely tuned by the activation of 5-HT_{2A}R activation [38]. Therefore, we studied the effects of systemic *Noribo 40* and genotype (both sexes WT vs. 5HT_{2A} KO mice) on presynaptic (paired-pulse ratio) and postsynaptic NMDA current density during whole-cell patch clamp recordings of layer V pyramidal cells (see Supplementary Figure S1 for methodological details). Figure 4 summarize Noribo 40-mediated (saline vs. N40) changes at a presynaptic (i.e., paired-pulse ratio) and post-synaptic (i.e., NMDA current density; in pA/pF) of layer V pyramidal neurons in mPFC coronal slices from male mice of both genotypes.

Presynaptic changes in the probability of excitatory synaptic transmission were studied using paired-pulse ratios during 10 Hz stimulation, dividing the amplitude of a second post-synaptic response by that of the first [40]. In males, Figure 4A,B show no presynaptic changes after *Noribo* 40 treatment, as observed by the absence of significant differences of mean paired-pulse ratios for either genotype of male mice. Figure 4C,D show a significant reduction in postsynaptic NMDA-mediated current density from male WT mice treated with *Noribo* 40, but not in KO mice.

Figure 4. Systemic noribogaine (*Noribo 40*; N40) treatment reduced NMDA-mediated current density in mPFC pyramidal neurons from male mice. (**A**,**B**) Graphs showing saline (black bars) and N40 (red bars) administration effect on mean EPSC paired-pulse ratio during 10 Hz stimulation (i.e., fraction of EPSC₂/EPSC₁ amplitudes) recorded from layer V mPFC pyramids from male WT (left plot) and 5HT_{2A} KO (right plot) mice, respectively. Individual paired-pulse ratio values are shown for each treatment as overlying (WT), rhombi (5HT_{2A} KO) on each bar. No significant differences were observed comparing PPR values. (**C**,**D**) Graphs showing saline (black) and N40 (red bars) administration effects on mean NMDA-mediated current density (pA/pF) values from male WT (left plot) and 5HT_{2A} KO (right plot) mice. Individual NMDA-mediated current density values are shown for each treatment as overlying circles (WT), rhombi (5HT_{2A} KO) on each bar. Note how N40 was able to significantly reduce the NMDA current density only in pyramidal neurons from WT male mice (see Table 1 for statistical comparisons). ** Mean INMDA current-density values were significantly smaller in KO compared to WT (post-hoc Tukey test; q = 6.2, *p* < 0.01). The values indicate mean \pm SEM. The number of cells recorded for each group were included in brackets on top of each bar.

Table 1 shows statistical comparisons among all synaptic results from male mice, highlighting that significantly smaller NMDA-mediated current density values were observed in pyramidal neurons from KO male mice compared to WT. As expected, the NMDA/AMPA ratio [41] was also significantly smaller after *Noribo* 40 treatment in male WT. Interestingly, KO male mice showed similar low NMDA/AMPA ratios (Table 1).

On the other hand, Figure 5 shows no effect of *Noribo 40* on either presynaptic or postsynaptic parameters measured in females form either WT or KO mice. Table 2 details statistical comparisons among female groups, showing no significant differences.

Table 1. Effects of systemic noribogaine administration (*Noribo 40*) on paired-pulse ratio and NMDA current density in mPFC pyramidal cells from male wildtype and 5HT_{2A} knockout (KO) mice.

	Paired-Pulse Ratio (PPR)		I _{NMDA} (pA/pF)		NMDA/AMPA Ratio	
	Wildtype	5HT _{2A} Knockout	Wildtype	5HT _{2A} Knockout	Wildtype	5HT _{2A} Knockout
Vehicle	1.03 ± 0.06 (13)	1.19 ± 0.05 (7)	6.02 ± 1.37 (11)	2.35 ± 0.45 (11) **	0.75 ± 0.04 (10)	0.55 ± 0.04 (10) ^{&&}
Noribo 40	1.00 ± 0.08 (12)	1.09 ± 0.07 (14)	1.48 ± 0.56 (8) $^{\$}$	1.95 ± 0.22 (17)	0.56 ± 0.03 (8) $^{\#}$	0.60 ± 0.04 (10)

No significant differences were observed comparing PPR values; one-way ANOVA, $F_{(3,40)} = 0.9$, p = 0.4. One-way ANOVA showed significantly different NMDA current densities: $F_{(3,42)} = 7.6$, p < 0.001. ^{\$} Mean I_{NMDA} current-density values in WT were significantly reduced by *Noribo* 40 (post-hoc Tukey test; q = 6.2, p < 0.01). ^{**} Mean I_{NMDA} current-density values were significantly smaller in KO compared to WT (post-hoc Tukey test; q = 6.2, p < 0.01). [#] MMDA/AMPA ratios in WT were significantly reduced by *Noribo* 40, according to one-way ANOVA $F_{(1,17)} = 12.9$, p = 0.002; post-hoc Tukey test; q = 5.1, p = 0.003. ^{&&} NMDA/AMPA ratios in WT were significantly larger compared to KO; one-way ANOVA $F_{(1,19)} = 11.9$, p = 0.003.

Figure 5. Systemic noribogaine (*Noribo 40*; N40) did not alter synaptic parameters of mPFC pyramidal neurons from female mice. (**A**,**B**) Graphs showing the effects of saline (black bars) and N40 (grey bars) administration on the mean EPSC paired-pulse ratio during 10 Hz stimulation (i.e., fraction of EPSC2/EPSC1 amplitudes) recorded from layer V mPFC pyramid neurons from female WT (left plot) and 5HT_{2A} KO (right plot) mice. Individual paired-pulse ratio values are shown for each treatment as overlying (WT), rhombi (5HT_{2A} KO) on each bar. The number of cells included in each bar is shown in brackets. (**C**,**D**) Graphs showing the effects of saline (black bars) and noribogaine (grey bars) administration on mean NMDA-mediated current density (pA/pF) values from female WT (left plot) and 5HT_{2A} KO (right plot) mice. Individual I_{NMDA}-density pulse values are shown on each bar for each treatment (see overlying circles for WT, and rhombi for 5HT_{2A} KO). The number of cells included in each bar is shown in brackets. No significant differences were observed comparing PPR values (see Table 2 for statistical comparisons). The values indicate mean ± SEM. The number of cells recorded for each group were included in brackets on top of each bar.

Table 2. Effects of systemic noribogaine administration (*Noribo 40*) on paired-pulse ratio and NMDA current density in mPFC pyramidal cells from female wildtype and 5HT_{2A} knockout (KO) mice.

	Paired-Pulse Ratio (PPR)		I _{NMDA} (pA/pF)		NMDA/AMPA Ratio	
	Wildtype	5HT _{2A} Knockout	Wildtype	5HT _{2A} Knockout	Wildtype	5HT _{2A} Knockout
Vehicle	1.09 ± 0.03 (12)	$1.09 \pm 0.05 \ (11)$	2.20 ± 0.49 (11)	2.90 ± 0.45 (11)	0.49 ± 0.04 (7)	0.62 ± 0.05 (10)
Noribo 40	1.10 ± 0.07 (11)	0.95 ± 0.06 (11)	1.59 ± 0.38 (11)	1.87 ± 0.35 (11)	0.51 ± 0.05 (8)	0.60 ± 0.11 (7)

No significant differences were observed comparing PPR values comparing all conditions: one-way ANOVA, $F_{(3,45)} = 1.7$, p = 0.2. NMDA current density values were not significantly different comparing all conditions: one-way ANOVA, $F_{(3,45)} = 1.4$, p = 0.2. NMDA/AMPA ratios were not significantly different comparing all conditions: one-way ANOVA, $F_{(3,31)} = 0.8$, p = 0.5.

3. Discussion

The mPFC and other cortical brain regions are involved in functions such as emotional regulation, cognitive processing, and introspection, and it has been shown that psychedelics can influence the activity in specific "hub" cortical regions of the brain, affecting the ability to coordinate neural activity in downstream brain regions [42]. High psychedelic doses induce vivid perceptual experiences that are associated with a therapeutic benefit, but there have also been anecdotal reports of these drugs being used in a lower dose to improve cognitive functions. Recently, in a preclinical model, Higgins et al. [43] reported that low doses of psilocybin and ketamine enhance motivation and attention in poor-performing rats. These data suggest that even low doses of psychedelics might improve symptoms that rely on mPFC functions.

Immediate early genes (IEG) can become highly expressed within seconds or minutes of endogenous or exogenous stimuli like cFos [44]. IEG have also been linked to learning such as for Egr-1 (early growth response gene; a.k.a. zif268) [45] or synaptic plasticity for Npas4 (neuronal Per-Arnt-Sim domain protein 4) [46]. We found that in mPFC, noribo induced a 5-HT_{2A}R-dependent regulation of gene expression on several IEGs (Npas4, Egr1, cFos), in a sex-dependent manner.

It needs to be noted that to the best of our knowledge this is the first study investigating the effects of psychedelics on Npas4 expression, showing that noribo can increase Npas4 expression mRNA in mPFC. This IEG is expressed throughout the brain at a low level, though it is enriched in the frontal, parietal, and entorhinal cortices [46,47]. The primary signal for inducing Npas4 is an increase in intracellular calcium (Ca²⁺) concentration that, in neurons, is regulated by excitatory neurotransmission [46]. Thus, Npas4 is thought to regulate the balance of excitatory/inhibitory neurotransmission within cortical loops.

Serotonergic neurotransmission and, more particularly, activation of 5-HT_{2A}-Rs in the PFC play a critical role in the regulation of cortical circuits [48]. 5-HT_{2A}R is extensively distributed, particularly in medial frontal cortex, where postsynaptic activation modulates pyramidal glutamatergic neuron activity and participates in various executive functions [49]. Depressive patients commonly suffer from cognitive dysfunction comprising working memory, problem solving, and cognitive flexibility [50]. It has been shown that genetic loss of the 5-HT_{2A}R compromised the activity of chronic treatment with SSRI (selective serotonin reuptake inhibitors), making this receptor a putative marker predicting antidepressant responses [51].

Beyond the previously described NMDA antagonist mechanism for ibogaine [52,53], we took advantage of an available genetically modified mouse model for the 5-HT_{2A} receptor [9,10] in order to characterize the potential contribution of this receptor to postsynaptic NMDA current density following Noribo 40 administration. In male mice, electrophysiological results showed a reduction of NMDA-mediated current density only in WT mice. Similarly, NMDA/AMPA ratios [41] were reduced after Noibo 40 administration only in WT male mice. No changes in presynaptic paired-pulse ratios were observed in any experimental conditions, regardless of the described expression of 5-HT_{2A}R at presynaptic glutamatergic afferents [7]. Our electrophysiology patch-clamp results further suggest the existence of a functional link between postsynaptic 5HT_{2A}R and NMDA that can be

altered by the genetic removal of 5-HT_{2A} receptors in male mice. Since noribo does not interact directly with this receptor, one possible explanation could be related to its effects as a SERT inhibitor, increasing serotonin availability that in turn binds to all serotonin receptors. For some of the effects described in this study, it is not farfetched to expect that lacking 5-HT_{2A}R would interfere with noribo pharmacological responses.

A previous report has described that 5-HT_{2A} receptor activation might counteract the inhibiting effect of 5-HT_{1A} receptor activation on postsynaptic NMDA receptors' membrane expression [38]. 5-HT_{2A} receptors were shown to activate ERK via β -arrestin-dependent pathways, stabilizing dendritic microtubules and NMDA receptors' membrane expression [38]. In agreement with that, our results show less NMDA current density in pyramidal neurons recorded in mPFC slices after systemic treatment with Noribo 40 treatment in WT as wells as from KO, but only in male mice. Yuen et al. [38] used cell cultures and prefrontal cortex slices from male rats. Our results show no synaptic changes in layer V pyramidal neurons from female mice, suggesting a sex-dependent difference in noribo-mediated NMDA-blocking properties (both WT and KO). Considering previous reports [33], the present results observed in female mice should not be due to sex-dependent changes in brain or plasma noribo levels.

*The Neuroprotective and Neuroplastic Potential of Noribogaine at mPFC Pyramidal Neurons: The Contribution of NMDA and 5-HT*_{2A} *Receptors to Rapidly Promoting Plasticity*

Neuroprotection and neuroplasticity can be viewed as continuous adaptations of the neurons to new functional scenarios involving different mechanisms directed against harmful elements. Neuroplasticity involves the active restoration of a new biological baseline following environmental or pharmacological challenges.

Several psychoactive drugs with clinical use regulate the expression of neurotrophic factors, a process called induced plasticity (iPlasticity), which allows network reorganization in the adult brain [54]. This is in accordance with this fact; noribo has been recently classified as a "psychoplastogen" since it can promote rapid and maintained neuritogenesis in cultured rat cortical neurons [31]. In this manner, neuroplastic changes driven by several synaptic modulations might underlie behavioral changes induced by psychedelics. For instance, it is well established that an increase in serotoninergic neurotransmission leads to an increase in BDNF expression/signaling both in vitro and in vivo [55,56]. Thus, sustained enhancement of serotonin transmission due to ibogaine and its long-lasting metabolite noribogaine could account, at least in part, for the observed effect on BDNF and GDNF expression after ibogaine administration [57].

Npas4 plays an important role in protecting neurons against many types of neurodegenerative insults. NPAS4 is selectively expressed in neurons following membrane depolarization-induced intracellular calcium signaling. Pollina et al. [58] proposed that the formation of a complex between NPAS4 and NuA4 may represent a mechanism by which neurons efficiently drive activity-induced transcriptional responses while simultaneously preserving genome stability [58]. Sustaining neuronal "vitality" over time appears to require careful balancing of the proper ratio of excitation and inhibition. The present study shows that Npas4 expression is increased in KO female and male mice post noribo administration, suggesting that Npas4 regulation by noribo needs low levels of 5-HT_{2A}R expression and NMDA-density to occur. This points out that in a context of low neurotransmission at the 5-HT_{2A}R that may favor the susceptibility to major depressive disorder [59], noribo might in turn facilitate the expression of this neuroprotective IEG and contribute to its profile as a potent antidepressive drug.

In postmortem tissue from patients suffering from major depressive disorder, Egr1 levels in the prefrontal cortex are lower when compared to healthy controls [60]. Notably, such a reduction was observed in both unmedicated and medicated subjects not responding to treatment and thus suggests that EGR1 levels in the mPFC are directly associated with a depressive phenotype and could be seen as a marker or mediator of a positive response to antidepressant treatment [60]. In light of the tight link between EGR1 expression and

neuronal plasticity, the downregulation of EGR1 in the mPFC of depressed patients is particularly interesting and could represent one of the substrates for the anatomical and functional alterations observed in major depressive disorders in this brain area [61,62]. Therefore, our results showing that noribo can increase the expression of Egr1 in KO male mice and WT female mice can be interpreted as noribo increasing neuroplastic effectors like Egr1 (in a sex-dependent manner). Low levels of Egr1 expression are linked to depression, but they can also serve as a marker for positive pharmacological treatment outcomes when its expression is increased or restored.

One of the new approaches to the treatment of depression is focused on glutamatergic neurotransmission. It has been shown that a blockade of the NMDA receptor complex creates new opportunities for the treatment of affective disorders [63]. The NR2B subunit selective NMDA antagonist, traxoprodil, co-administered with agents that affect monoaminergic neurotransmission (like SSRI) at inactive doses, produced a significant antidepressant-like effect in the forced swim test in mice [64]. NMDARs are activated in response to neuronal depolarization and Ca^{2+} entry; thus, NMDA antagonism could mediate neuroprotection. It would reduce the amount of Ca²⁺ entry at distal dendrites of layer V pyramidal cells. In cortical networks, NMDA blockage would reduce plastic long-term synaptic events during high-frequency stimulation. Therefore, it can be suggested that some of the beneficial effects of noribo on depression might be associated with a reduction of NMDA receptor activation leading to neuroprotective effects and neuroplastic changes in mPFC networks. This NMDA effect on mPFC induced by noribo seems to be sex-dependent; thus, it might be suggested that female and male subjects may differentially experience noribo's beneficial effects in clinical settings. Our results support the importance of studying sex as a biological variable in preclinical psychedelic research. It needs to be mentioned that when using psychedelics, not only the gonadal axis might be responsible for gender differences, but also the stress response along the HPA axis might play a role. We already know from research outside of psychedelics, that these two axes do impact each other: stress responses can impact sexual hormones and vice versa. Also, we cannot completely rule out that sex differences in noribo pharmacokinetics may also play a role in some of the variables investigated in our study.

4. Material and Methods

4.1. Animals

The 5-HT_{2A} receptor knockout mouse line was kindly provided by Dr. Noelia Weisstaub (Universidad Favaloro, Buenos Aires, Argentina). The generation of genetically modified $5-HT_{2A}^{-/-}$ mice and their control (WT or $5-HT_{2A}^{+/+}$) littermates was described elsewhere [9], and genotypes were confirmed using PCR analysis (see the Supplemental Information for primer sequences). Males and females (8–12-week-old) were housed in a light- and temperature-controlled room throughout the experimental procedures with water and food ad libitum, under a 12 h light/dark cycle (lights on at 8:00 a.m.) at a temperature of 21–23 °C. All efforts were made to minimize animal suffering and to reduce the number of animals used. All animal experiments were conducted in accordance with institutional guidelines in compliance with national and international laws and policies ('Guidelines for the Care and Use of Mammals in Neuroscience and Behavioral Research', National Research Council, 2003, and OLAW and ARENA directives, NIH, Bethesda, USA).

All experiments were approved by the Institutional Animal Care and Use Committees of Universidad de Buenos Aires, UBA, CICUAL-FCEN-UBA #169, 2022–2025 and Universidad Austral, CICUAL-IIMT, 2023-04, 2023–2026.

4.2. Drugs

Noribogaine-HCl was prepared in the Laboratorio de Síntesis Orgánica-Facultad de Química—Universidad de la República (Montevideo, Uruguay) using ibogaine as a starting material. Ibogaine was obtained as described in our previously reported method [12] via the decarboxylation of voacangine (See Supplementary Figures S2 and S3). In brief,

the experimental procedure to obtain noribogaine from ibogaine was as follows: in a two-neck round-bottom flask under an argon atmosphere, ibogaine (493 mg, 1.58 mmol) was dissolved in dry 1,2-dichloroethane (15.8 mL, 0.1 M) using magnetic stirring. Then, ethanetiol (497 μ L, 6.34 mmol, 4.0 eq) was added followed by the addition of a 1.0 M solution of boron tribromide (2.38 mL, 1.5 eq). The system was heated to 55 $^{\circ}$ C for 2 h, when total consumption of the starting material was evidenced by thin-layer chromatography (TLC). The reaction was quenched by adding methanol until all the suspended solids were dissolved. The resulting reaction mixture was diluted with EtOAc and transferred to a separation funnel, where a saturated sodium bicarbonate solution was added. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (EtOAc x3), and the combined organic layers were dried over sodium sulfate. The solvent was removed under vacuum to obtain a crude mixture that was purified using column chromatography (SiO₂; 50% EtOAc in Hexane, 1% NH₄OH(cc)). The noribogaine free base was obtained as a white amorphous solid (420 mg, 89% yield). Structural characterization of this material as pure noribogaine was assessed via nuclear magnetic resonance (1H, COSY, 13C, HSQC and HMBC; see the Supporting Information). To prepare the corresponding hydrochloride, the free base was dissolved in dry diethyl ether and an anhydrous solution of HCl in diethyl ether (3 M, 0.75 mL, 1.5 eq) was added. A white solid was formed, which was filtrated and washed several times with dry diethyl ether. The resulting noribogaine-HCl (425 mg) was dried under vacuum and obtained as a white solid. Dissolution of noribogaine-HCl to prepare the samples for i.p. injection was carried out using a warm saline vehicle that was previously degassed via nitrogen bubbling.

4.3. Behavioral Test

Locomotor Activity

Mice locomotor activity (total distance, in cm) was recorded using a CCD camera (Sony, New York, NY, USA) on custom-designed open-field boxes located in a sound-attenuated room. For acquisition and analysis, we used Ethovision XT 11.0 software (Noldus, Wageningen, The Netherlands). Each box consisted of an open-field plastic compartment (19 cm \times 40 cm \times 40 cm). Animals were placed in open-field boxes for 15 min (recorded as baseline) and later injected with drugs or saline. Total distance traveled (in cm) was quantified for a total of 30 min after injections. Behavioral recordings were made simultaneously in four open-field arenas using Ethovison XT 5.1 multiple-arena features from 9 a.m. to 4 p.m. of the light period of the photocycle (like in a previously published study, see [65]). Injection time and arenas (right and left) were fully counterbalanced among subjects and experimental groups.

4.4. Real-Time qPCR

Prefrontal cortex tissue was extracted immediately after behavioral testing: mouse brains were rapidly removed; striatal tissues were dissected, placed on dry ice, and then stored at -70 °C until further assays. Total RNA was isolated using TRIZOL reagent (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) according to the manufacturer's protocol. Five hundred nanograms of RNA were treated with DNAseI (Invitrogen) and reverse-transcribed in a 20 µL reaction using M-MLV reverse transcriptase (Promega, Madison, WI, USA) and random hexameres (Biodynamics, Ciudad de Buenos Aires, Argentina). For quantitative real-time PCR (qPCR), primers sets were designed for the specific amplification of murine genes and actin-B as a housekeeping control gene (sequences listed in Table 3). Each sample was assayed in duplicate using 4 pmol of each primer, 1X SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) and 2–20 ng of cDNA in a total volume of 13 µL. Amplification was carried out in an ABI PRISM 7500 sequence detection system (Applied Biosystems). See Table 3 for the primers sequence.

Gene	Gene Symbol	Primer Forward	Primer Reverse	
Beta Actin	Act B	TGACGTTGACATCCGTAAAG	GAGGAGCAATGATCTTGATCT	
Neuronal PAS Domain Protein 4	Npas4	CATCTGGGCCACTCTATGGT	GAGGGACTTGGAGGTGTTGA	
Early Growth Response 1	Egr1	GATGGTGGAGACGAGTTAT	GATTGGTCATGCTCACG	
Fos Proto-Oncogene, AP-1 Transcription Factor Subunit	cFos	TCCCCAAACTTCGACCATGA	AGTTGGCACTAGAGACGGAC	
Glutamate Ionotropic Receptor AMPA Type Subunit 1	GRIA1	CTGTGAATCAGAACGCCTCA	TCACTTGTCCTCCACTGCTG	
Glutamate Ionotropic Receptor NMDA Type Subunit 2A	GRIN2A	TTGTCTCTGCCATTGCTGTC	CAAAGAAGGCCCACACTGAT	
Serotonin Receptor 2A	Htr2a	CGTGTCCATGTTAACCATCC	TCAGGAAGGCTTTGGTTCTG	

Table 3. Quantitative PCR primers.

4.5. Single-Cell Electrophysiological Recordings in Slices

The researcher in charge of electrophysiological recordings, analysis of data, and statistical comparisons was blind to the mice genotype. Half an hour after saline or noribogaine (40 mg/kg, i.p.), mice were deeply anesthetized (ketamine and xylazine) followed by decapitation. A group of 16 WT (11 males and 5 females) and 17 KO (11 males and 6 females) of 4–8-week-old mice was used for whole-cell patch clamp recordings. Coronal brain slices, including mPFC (300 μ m), were obtained by gluing both hemispheres with the caudal part onto a vibratome stage (PELCO, EasiSlicer, Ted Pella Inc., Redding, CA, USA), and submerged in a chamber containing chilled low-sodium/high-sucrose solution (composition in mM: 250 sucrose, 2.5 KCl, 3 MgCl₂, 0.1 CaCl₂, 1.25 NaH₂PO₄, 0.4 ascorbic acid, 3 myo-inositol, 2 pyruvic acid, 25 D-glucose, and 25 NaHCO₃). Slices were cut sequentially and transferred to an incubation chamber at 35 °C for 30 min containing a stimulant-free, low Ca²⁺/high Mg²⁺ normal artificial cerebrospinal fluid (ACSF) (composition in mM: 125 NaCl, 2.5 KCl, 3 MgCl₂, 0.1 CaCl₂, 1.25 NaH₂PO₄, 0.4 ascorbic acid, 2 pyruvic acid, 25 d-glucose, and 25 NaH₂PO₄, 0.4 ascorbic acid, 3 myo-inositol, 2 pyruvic acid, 25 NaH₂PO₄, 0.4 ascorbic acid, 3 myo-inositol, 2 pyruvic acid, 25 NaH₂PO₄, 0.4 ascorbic acid, 3 myo-inositol, 2 pyruvic acid, 25 NaH₂PO₄, 0.4 ascorbic acid, 3 myo-inositol, 2 pyruvic acid, 25 NaH₂PO₄, 0.4 ascorbic acid, 3 myo-inositol, 2 pyruvic acid, 25 NaH₂O₃ and aerated with 95% O₂ + 5% CO₂, pH 7.4). After incubation, slices were allowed to return to room temperature.

Whole-cell patch-clamp recordings were performed in medial prefrontal coronal slices, as previously described [40]. Recordings were made at physiological temperature (36–37 °C). Patch electrodes were made from borosilicate glass (2–3 M Ω) filled with a voltage-clamp high CsCl solution (composition in mM: 110 CsCl, 40 HEPES, 10 TEA-Cl, 12 Na2phosphocreatine, 0.5 EGTA, 2 Mg-ATP, 0.5 Li-GTP, and 1 MgCl2. pH was adjusted to 7.3 with CsOH). To block Na⁺ currents and avoid postsynaptic action potentials, 10 mM N-(2,6-diethylphenylcarbamoylmethyl) triethylammonium chloride (QX-314) was added to the pipette solution. Signals were recorded using a MultiClamp 700 amplifier commanded by pCLAMP 10.0 software (Molecular Devices, San Jose, CA, USA). Cells with series resistance (Rs) < 15 M Ω were used after being compensated online (>80%). Data were filtered at 5 kHz, digitized, and stored for off-line analysis. Visually identified pyramidal layer V neurons of the prelimbic cortex were used in this study [40]. Pyramids were visualized using Nomarski contrast on an upright BX-50WI microscope (Olympus America Inc., Center Valley, PA, USA) ($40 \times$, 0.8 numerical water-immersion objective) using a near-IR light coupled to an IR-sensitive charge-coupled device camera (DMK 23UP1300; Imaging Source, Bremen, Germany).

Evoked excitatory postsynaptic currents (EPSC) were evoked extracellularly (twice the threshold; 40–200 μ s; 200–1000 μ A) using a bipolar concentric electrode (FHC Inc., Bowdoin, ME, USA) located on the deep-layers border of the mPFC. Using a high CsCl/Qx314-intracellular solution described above and an extracellular ACSF solution containing MgCl₂ (1 mM), CaCl₂ (1 mM) and bicuculline (5–10 μ M), eight to twelve stimuli of a 10 Hz paired-pulse protocol were delivered. The EPSC paired-pulse ratio was calculated as the fraction of 2nd EPSC/1st EPSC amplitudes while pyramidal cells were held at -70 mV holding.

NMDA/AMPA were calculated at 50 mV holding as previously described [41]. Average current density was calculated by dividing the mean amplitude by the cell's capacitance values obtained from MultiClamp compensation values.

4.6. Statistical Analysis

Data are expressed as the mean \pm SEM. Statistics were performed using two-way ANOVAs followed by Tukey post-hoc multiple comparisons tests. Calculations were carried out using GraphPad Prism 7 software. All data are presented as mean \pm SEM, and significance was determined at *p* < 0.05.

5. Conclusions

In the present study we demonstrated, for the first time, that noribo administration induced changes in the levels of transcripts of several IEGs and receptors within the mPFC in a sex-dependent manner. In addition, in some cases, this effect was found to involve 5-HT_{2A}R. Differential effects on gene expression and locomotor activity were observed when comparing 10 mg/kg versus 40 mg/kg systemic administration in female and male mice. IEGs, particularly those known to be closely linked to neuroplasticity (i.e., Npas4 and Egr1), were responsive to different doses of noribo and sex. Also, our results show that a single administration of noribo has the ability of increase 5-HT_{2A}R expression in mPFC and this effect might be related to its antidepressive-like properties found in pre-clinical studies.

Additionally, we showed noribo-mediated changes in NMDA synaptic transmission in the mPFC. Using the high noribo dose of 40 mg/kg, electrophysiological recordings showed selective postsynaptic effects on mPFC NMDA-mediated currents in the presence of 5- $HT_{2A}R$ (i.e., WT) of male mice, suggesting a potential functional link between postsynaptic 5 HT_{2A} receptors and NMDA that can be altered by the genetic removal of 5- HT_{2A} receptors in male mice. Noribogaine did not affect presynaptic paired-pulse plasticity for glutamate release. Strikingly, no synaptic effects were observed in female mice.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: https://www.mdpi.com/article/10.3390/ijms25020687/s1.

Author Contributions: Experiments were designed by F.J.U., I.C., P.T. and V.B. Experiments were performed by S.V., S.J., A.B., B.G., F.J.U. and C.F. Data analyses were performed by S.V., S.J. and A.B. Manuscript was written by S.V., B.G., J.G., I.C., P.T., F.J.U. and V.B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work was supported by grants from Universidad Austral, Proyectos categoria Trayectoria 2023, CONICET PIP 112202101 00198CO, FONCYT—Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica; Préstamo BID 1728 OC.AR.PICT (grant numbers: PICT-2021-I-A-00187; PICT-2018-I-A-01744; PICT-2019-I-A-00284), an Argentina–Germany collaboration grant with Prof. Budde's laboratory (Münster, Germany), CONICET-DFG-MINCYT (grant number: 2016-23120160100012CO01), and a grant from the Comisión Sectorial de Investigación Científica de la Universidad de la República, Uruguay (grant number: Grupos I+D 2308).

Institutional Review Board Statement: All animal experiments were conducted in accordance with institutional guidelines in compliance with national and international laws and policies ('Guidelines for the Care and Use of Mammals in Neuroscience and Behavioral Research', National Research Council, 2003, and OLAW and ARENA directives, NIH, Bethesda, USA) and were approved by the Institutional Animal Care and Use Committees of Universidad de Buenos Aires, UBA, CICUAL-FCEN-UBA #169, 2022–2025 and Universidad Austral, CICUAL-IIMT, 2023–04, 2023–2026.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: All data generated in the study are presented in the manuscript.

Acknowledgments: Part of this work was performed at UBA; we would like to thank Lucia Campaner for her excellent technical assistance with the 5- $HT_{2A}^{-/-}$ mice.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

- 1. Inserra, A.; De Gregorio, D.; Gobbi, G. Psychedelics in Psychiatry: Neuroplastic, Immunomodulatory, and Neurotransmitter Mechanisms. *Pharmacol. Rev.* 2021, 73, 202–277. [CrossRef] [PubMed]
- Raison, C.L.; Sanacora, G.; Woolley, J.; Heinzerling, K.; Dunlop, B.W.; Brown, R.T.; Kakar, R.; Hassman, M.; Trivedi, R.P.; Robison, R.; et al. Single-Dose Psilocybin Treatment for Major Depressive Disorder: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2023, 330, 845–853. [CrossRef] [PubMed]
- Mitchell, J.M.; Ot'alora, G.M.; van der Kolk, B.; Shannon, S.; Bogenschutz, M.; Gelfand, Y.; Paleos, C.; Nicholas, C.R.; Quevedo, S.; Balliett, B.; et al. MAPP2 Study Collaborator Group. MDMA-assisted therapy for moderate to severe PTSD: A randomized, placebo-controlled phase 3 trial. *Nat. Med.* 2023, 29, 2473–2480. [CrossRef] [PubMed]
- Bogenschutz, M.P.; Ross, S.; Bhatt, S.; Baron, T.; Forcehimes, A.A.; Laska, E.; Mennenga, S.E.; O'Donnell, K.; Owens, L.T.; Podrebarac, S.; et al. Percentage of Heavy Drinking Days Following Psilocybin-Assisted Psychotherapy vs Placebo in the Treatment of Adult Patients With Alcohol Use Disorder: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Psychiatry* 2022, *79*, 953–962. [CrossRef] [PubMed]
- 5. Shnayder, S.; Ameli, R.; Sinaii, N.; Berger, A.; Agrawal, M. Psilocybin-assisted therapy improves psycho-social-spiritual well-being in cancer patients. *J. Affect. Disord.* 2023, 323, 592–597. [CrossRef]
- Kwan, A.C.; Olson, D.E.; Preller, K.H.; Roth, B.L. The neural basis of psychedelic action. *Nat. Neurosci.* 2022, 25, 1407–1419. [CrossRef] [PubMed]
- Barre, A.; Berthoux, C.; De Bundel, D.; Valjent, E.; Bockaert, J.; Marin, P.; Bécamel, C. Presynaptic serotonin 2A receptors modulate thalamocortical plasticity and associative learning. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2016, *113*, E1382–E1391. [CrossRef]
- 8. Miner, L.A.H.; Backstrom, J.R.; Sanders-Bush, E.; Sesack, S.R. Ultrastructural localization of serotonin 2A receptors in the middle layers of the rat prelimbic prefrontal cortex. *Neuroscience* **2003**, *116*, 107–117. [CrossRef]
- Weisstaub, N.V.; Zhou, M.; Lira, A.; Lambe, E.; González-Maeso, J.; Hornung, J.P.; Sibille, E.; Underwood, M.; Itohara, S.; Dauer, W.T.; et al. Cortical 5-HT_{2A} receptor signaling modulates anxiety-like behaviors in mice. *Science* 2006, 313, 536–540. [CrossRef]
- Weber, E.T.; Andrade, R. Htr2a Gene and 5-HT_{2A} Receptor Expression in the Cerebral Cortex Studied Using Genetically Modified Mice. *Front. Neurosci.* 2010, 4, 36. [CrossRef]
- 11. Lavaud, C.; Massiot, G. The Iboga Alkaloids. In *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2017; Volume 105, pp. 89–136. [CrossRef]
- González, B.; Fagundez, C.; Peixoto de Abreu Lima, A.; Suescun, L.; Sellanes, D.; Seoane, G.A.; Carrera, I. Efficient Access to the Iboga Skeleton: Optimized Procedure to Obtain Voacangine from *Voacanga africana* Root Bark. ACS Omega 2021, 6, 16755–16762. [CrossRef] [PubMed]
- 13. Iyer, R.N.; Favela, D.; Zhang, G.; Olson, D.E. The iboga enigma: The chemistry and neuropharmacology of iboga alkaloids and related analogs. *Nat. Prod. Rep.* **2021**, *38*, 307–329. [CrossRef] [PubMed]
- 14. Obach, R.S.; Pablo, J.; Mash, D.C. Cytochrome P4502D6 catalyzes the O-demethylation of the psychoactive alkaloid ibogaine to 12-hydroxyibogamine. *Drug Metab. Dispos.* **1998**, *26*, 764–768. [PubMed]
- 15. Rodríguez, P.; Urbanavicius, J.; Prieto, J.P.; Fabius, S.; Reyes, A.L.; Havel, V.; Sames, D.; Scorza, C.; Carrera, I. A Single Administration of the Atypical Psychedelic Ibogaine or Its Metabolite Noribogaine Induces an Antidepressant-Like Effect in Rats. *ACS Chem. Neurosci.* **2020**, *11*, 1661–1672. [CrossRef] [PubMed]
- 16. Alper, K.R.; Lotsof, H.S.; Frenken, G.M.; Luciano, D.J.; Bastiaans, J. Treatment of acute opioid withdrawal with ibogaine. *Am. J. Addict.* **1999**, *8*, 234–242. [CrossRef] [PubMed]
- Mash, D.C.; Kovera, C.A.; Pablo, J.; Tyndale, R.F.; Ervin, F.D.; Williams, I.C.; Singleton, E.G.; Mayor, M. Ibogaine: Complex Pharmacokinetics, Concerns for Safety, and Preliminary Efficacy Measures. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2000, 914, 394–401. [CrossRef] [PubMed]
- 18. Schenberg, E.E.; de Castro Comis, M.A.; Chaves, B.R.; da Silveira, D.X. Treating drug dependence with the aid of ibogaine: A retrospective study. *J. Psychopharmacol.* **2014**, *28*, 993–1000. [CrossRef]
- 19. Mash, D.C.; Duque, L.; Page, B.; Allen-Ferdinand, K. Ibogaine Detoxification Transitions Opioid and Cocaine Abusers Between Dependence and Abstinence: Clinical Observations and Treatment Outcomes. *Front. Pharmacol.* **2018**, *9*, 529. [CrossRef]
- 20. Köck, P.; Frölich, K.; Walter, M.; Lang, U.; Dürsteler, K.M. A systematic literature review of clinical trials and therapeutic applications of ibogaine. *J. Subst. Abuse Treat.* **2021**, *138*, 108717. [CrossRef]
- Wasko, M.J.; Witt-Enderby, P.A.; Surratt, C.K. DARK Classics in Chemical Neuroscience: Ibogaine. ACS Chem. Neurosci. 2018, 9, 2475–2483. [CrossRef]
- Mash, D.C.; Staley, J.K.; Pablo, J.P.; Holohean, A.M.; Hackman, J.C.; Davidoff, R.A. Properties of ibogaine and its principal metabolite (12-hydroxyibogamine) at the MK-801 binding site of the NMDA receptor complex. *Neurosci. Lett.* 1995, 192, 53–56. [CrossRef] [PubMed]
- 23. Layer, R.T.; Skolnick, P.; Bertha, C.M.; Bandarage, U.K.; Kuehne, M.E.; Popik, P. Structurally modified ibogaine analogs exhibit differing affinities for NMDA receptors. *Eur. J. Pharmacol.* **1996**, *309*, 159–165. [CrossRef] [PubMed]
- Staley, J.K.; Ouyang, Q.; Pablo, J.; Hearn, W.L.; Flynn, D.D.; Rothman, R.B.; Rice, K.C.; Mash, D.C. Pharmacological screen for activities of 12-hydroxyibogamine: A primary metabolite of the indole alkaloid ibogaine. *Psychopharmacology* 1996, 127, 10–18. [CrossRef] [PubMed]

- Glue, P.; Cape, G.; Tunnicliff, D.; Lockhart, M.; Lam, F.; Hung, N.; Hung, C.T.; Harland, S.; Devane, J.; Crockett, R.S.; et al. Ascending Single-Dose, Double-Blind, Placebo-Controlled Safety Study of Noribogaine in Opioid-Dependent Patients. *Clin. Pharmacol. Drug Dev.* 2016, 5, 460–468. [CrossRef] [PubMed]
- Tyler, M.W.; Yourish, H.B.; Ionescu, D.F.; Haggarty, S.J. Classics in Chemical Neuroscience: Ketamine. ACS Chem. Neurosci. 2017, 8, 1122–1134. [CrossRef] [PubMed]
- 27. Hernández-Alvarado, R.B.; Madariaga-Mazón, A.; Ortega, A.; Martinez-Mayorga, K. DARK Classics in Chemical Neuroscience: Salvinorin A. ACS Chem. Neurosci. 2020, 11, 3979–3992. [CrossRef] [PubMed]
- Helsley, S.; Fiorella, D.; Rabin, R.A.; Winter, J.C. Behavioral and biochemical evidence for a nonessential 5-HT_{2A} component of the ibogaine-induced discriminative stimulus. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1998, 59, 419–425. [CrossRef] [PubMed]
- González, J.; Prieto, J.P.; Rodríguez, P.; Cavelli, M.; Benedetto, L.; Mondino, A.; Pazos, M.; Seoane, G.; Carrera, I.; Scorza, C.; et al. Ibogaine Acute Administration in Rats Promotes Wakefulness, Long-Lasting REM Sleep Suppression, and a Distinctive. Motor Profile. *Front. Pharmacol.* 2018, *9*, 374. [CrossRef]
- González, J.; Cavelli, M.; Castro-Zaballa, S.; Mondino, A.; Tort, A.B.; Rubido, N.; Carrera, I.; Torterolo, P. EEG Gamma Band Alterations and REM-like Traits Underpin the Acute Effect of the Atypical Psychedelic Ibogaine in the Rat. ACS Pharmacol. Transl. Sci. 2021, 4, 517–525. [CrossRef]
- 31. Ly, C.; Greb, A.C.; Cameron, L.P.; Wong, J.M.; Barragan, E.V.; Wilson, P.C.; Burbach, K.F.; Zarandi, S.S.; Sood, A.; Paddy, M.R.; et al. Psychedelics Promote Structural and Functional Neural Plasticity. *Cell Rep.* **2018**, *23*, 3170–3182. [CrossRef]
- 32. Mauvais-Jarvis, F.; Merz, N.B.; Barnes, P.J.; Brinton, R.D.; Carrero, J.J.; DeMeo, D.L.; De Vries, G.J.; Epperson, C.N.; Govindan, R.; Klein, S.L.; et al. Sex and gender: Modifiers of health, disease, and medicine. *Lancet* **2020**, *396*, 565–582. [CrossRef] [PubMed]
- 33. Pearl, S.M.; Hough, L.B.; Boyd, D.L.; Glick, S.D. Sex differences in ibogaine antagonism of morphine-induced locomotor activity and in ibogaine brain levels and metabolism. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **1997**, *57*, 809–815. [CrossRef] [PubMed]
- 34. Tatalović, N.; Vidonja Uzelac, T.; Mijović, M.; Koželj, G.; Nikolić-Kokić, A.; Oreščanin Dušić, Z.; Bresjanac, M.; Blagojević, D. Ibogaine Has Sex-Specific Plasma Bioavailability, Histopathological and Redox/Antioxidant Effects in Rat Liver and Kidneys: A Study on Females. *Life* 2021, 12, 16. [CrossRef] [PubMed]
- 35. Glick, S.D.; Pearl, S.M.; Cai, J.; Maisonneuve, I.M. Ibogaine-like effects of noribogaine in rats. *Brain Res.* **1996**, *713*, 294–297. [CrossRef] [PubMed]
- 36. Maillet, E.L.; Milon, N.; Heghinian, M.D.; Fishback, J.; Schürer, S.C.; Garamszegi, N.; Mash, D.C. Noribogaine is a G-protein biased κ-opioid receptor agonist. *Neuropharmacology* **2015**, *99*, 675–688. [CrossRef] [PubMed]
- Kuzmin, A.; Sandin, J.; Terenius, L.; Ogren, S.O. Dose- and time-dependent bimodal effects of kappa-opioid agonists on locomotor activity in mice. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2000, 295, 1031–1042. [PubMed]
- Yuen, E.Y.; Jiang, Q.; Chen, P.; Feng, J.; Yan, Z. Activation of 5-HT_{2A}/C receptors counteracts 5-HT1A regulation of n-methyl-Daspartate receptor channels in pyramidal neurons of prefrontal cortex. *J. Biol. Chem.* 2008, 283, 17194–17204. [CrossRef]
- Jaggar, M.; Banerjee, T.; Weisstaub, N.; Gingrich, J.A.; Vaidya, V.A. 5-HT_{2A} receptor loss does not alter acute fluoxetine-induced anxiety and exhibit sex-dependent regulation of cortical immediate early gene expression. *Neuronal Signal.* 2019, *3*, NS20180205. [CrossRef]
- González, B.; Rivero-Echeto, C.; Muñiz, J.A.; Cadet, J.L.; García-Rill, E.; Urbano, F.J.; Bisagno, V. Methamphetamine blunts Ca²⁺ currents and excitatory synaptic transmission through D1/5 receptor-mediated mechanisms in the mouse medial prefrontal cortex. *Addict. Biol.* 2016, 21, 589–602. [CrossRef]
- 41. Myme, C.I.O.; Sugino, K.; Turrigiano, G.G.; Nelson, S.B. The NMDA-to-AMPA ratio at synapses onto layer 2/3 pyramidal neurons is conserved across prefrontal and visual cortices. *J. Neurophysiol.* 2003, 90, 771–779. [CrossRef]
- Carhart-Harris, R.L.; Erritzoe, D.; Williams, T.; Stone, J.M.; Reed, L.J.; Colasanti, A.; Tyacke, R.J.; Leech, R.; Malizia, A.L.; Murphy, K.; et al. Neural correlates of the psychedelic state as determined by fMRI studies with psilocybin. *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA 2012, 109, 2138–2143. [CrossRef] [PubMed]
- Higgins, G.A.; Carroll, N.K.; Brown, M.; MacMillan, C.; Silenieks, L.B. Low Doses of Psilocybin and Ketamine Enhance Motivation and Attention in Poor Performing Rats: Evidence for an Antidepressant Property. *Front. Pharmacol.* 2021, 12, 640241. [CrossRef] [PubMed]
- 44. Leslie, J.H.; Nedivi, E. Activity-regulated genes as mediators of neural circuit plasticity. *Prog. Neurobiol.* **2011**, *94*, 223–237. [CrossRef]
- 45. Veyrac, A.; Besnard, A.; Caboche, J.; Davis, S.; Laroche, S. The transcription factor Zif268/Egr1, brain plasticity, and memory. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 2014, 122, 89–129. [CrossRef]
- Spiegel, I.; Mardinly, A.R.; Gabel, H.W.; Bazinet, J.E.; Couch, C.H.; Tzeng, C.P.; Harmin, D.A.; Greenberg, M.E. Npas4 regulates excitatory-inhibitory balance within neural circuits through cell-type-specific gene programs. *Cell* 2014, 157, 1216–1229. [CrossRef] [PubMed]
- Maya-Vetencourt, J.F.; Tiraboschi, E.; Greco, D.; Restani, L.; Cerri, C.; Auvinen, P.; Maffei, L.; Castrén, E. Experience-dependent expression of NPAS4 regulates plasticity in adult visual cortex. *J. Physiol.* 2012, 590, 4777–4787. [CrossRef]
- Zhang, G.; Stackman, R.W., Jr. The role of serotonin 5-HT_{2A} receptors in memory and cognition. *Front. Pharmacol.* 2015, 6, 225. [CrossRef]
- 49. Aznar, S.; Hervig, M.E.S. The 5-HT_{2A} serotonin receptor in executive function: Implications for neuropsychiatric and neurodegenerative diseases. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2016, 64, 63–82. [CrossRef]

- 50. DeBattista, C. Executive dysfunction in major depressive disorder. Expert Rev. Neurother. 2005, 5, 79–83. [CrossRef]
- Qesseveur, G.; Petit, A.C.; Nguyen, H.T.; Dahan, L.; Colle, R.; Rotenberg, S.; Seif, I.; Robert, P.; David, D.; Guilloux, J.P.; et al. Genetic dysfunction of serotonin 2A receptor hampers response to antidepressant drugs: A translational approach. *Neuropharmacology* 2015, 105, 142–153. [CrossRef]
- Popik, P.; Layer, R.T.; Fossom, L.H.; Benveniste, M.; Geter-Douglass, B.; Witkin, J.M.; Skolnick, P. NMDA antagonist properties of the putative antiaddictive drug, ibogaine. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1995, 275, 753–760. [PubMed]
- 53. Chen, K.; Kokate, T.G.; Donevan, S.D.; Carroll, F.I.; Rogawski, M.A. Ibogaine block of the NMDA receptor: In vitro and in vivo studies. *Neuropharmacology* **1996**, *35*, 423–451. [CrossRef] [PubMed]
- 54. Castren, E.; Antila, H. Neuronal plasticity and neurotrophic factors in drug responses. *Mol. Psychiatry* **2017**, *22*, 1085–1095. [CrossRef] [PubMed]
- 55. Rantamäki, T.; Hendolin, P.; Kankaanpää, A.; Mijatovic, J.; Piepponen, P.; Domenici, E.; Chao, M.V.; Männistö, P.T.; Castrén, E. Pharmacologically diverse antidepressants rapidly activate brain-derived neurotrophic factor receptor TrkB and induce phospholipase-C gamma signaling pathways in mouse brain. *Neuropsychopharmacology* **2007**, *32*, 2152–2162. [CrossRef]
- 56. Popova, N.K.; Ilchibaeva, T.V.; Naumenko, V.S. Neurotrophic Factors (BDNF and GDNF) and the Serotonergic System of the Brain. *Biochemistry* **2017**, *82*, 308–317. [CrossRef] [PubMed]
- 57. Marton, S.; González, B.; Rodríguez-Bottero, S.; Miquel, E.; Martínez-Palma, L.; Pazos, M.; Prieto, J.P.; Rodríguez, P.; Sames, D.; Seoane, G.; et al. Ibogaine Administration Modifies GDNF and BDNF Expression in Brain Regions Involved in Mesocorticolimbic and Nigral Dopaminergic Circuits. *Front. Pharmacol.* 2019, 10, 193. [CrossRef] [PubMed]
- 58. Pollina, E.A.; Gilliam, D.T.; Landau, A.T.; Lin, C.; Pajarillo, N.; Davis, C.P.; Harmin, D.A.; Yap, E.L.; Vogel, I.R.; Griffith, E.C.; et al. A NPAS4-NuA4 complex couples synaptic activity to DNA repair. *Nature* **2023**, *614*, 732–741. [CrossRef]
- Petit, A.C.; Quesseveur, G.; Gressier, F.; Colle, R.; David, D.J.; Gardier, A.M.; Ferreri, F.; Lépine, J.P.; Falissard, B.; Verstuyft, C.; et al. Converging translational evidence for the involvement of the serotonin 2A receptor gene in major depressive disorder. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 2014, 54, 76–82. [CrossRef]
- Covington HE 3rd Vialou, V.; Nestler, E.J. From synapse to nucleus: Novel targets for treating depression. *Neuropharmacology* 2010, 58, 683–693. [CrossRef]
- 61. Koenigs, M.; Grafman, J. The functional neuroanatomy of depression: Distinct roles for ventromedial and dorsolateral prefrontal cortex. *Behav. Brain Res.* **2009**, 201, 239–245. [CrossRef]
- Lefaucheur, J.P.; Antal, A.; Ayache, S.S.; Benninger, D.H.; Brunelin, J.; Cogiamanian, F.; Cotelli, M.; De Ridder, D.; Ferrucci, R.; Langguth, B.; et al. Evidence-based guidelines on the therapeutic use of transcranial direct current stimulation (tDCS). *Clin. Neurophysiol.* 2017, 128, 56–92. [CrossRef] [PubMed]
- Diazgranados, N.; Ibrahim, L.; Brutsche, N.E.; Newberg, A.; Kronstein, P.; Khalife, S.; Kammerer, W.A.; Quezado, Z.; Luckenbaugh, D.A.; Salvadore, G.; et al. A randomized add-on trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant bipolar depression. *Arch. Gen. Psychiatry* 2010, *67*, 793–802. [CrossRef] [PubMed]
- Stasiuk, W.; Szopa, A.; Serefko, A.; Wyska, E.; Świąder, K.; Dudka, J.; Wlaź, P.; Poleszak, E. Influence of the selective antagonist of the NR2B subunit of the NMDA receptor, traxoprodil, on the antidepressant-like activity of desipramine, paroxetine, milnacipran, and bupropion in mice. *J. Neural Transm.* 2017, 124, 387–396. [CrossRef] [PubMed]
- Bisagno, V.; Raineri, M.; Peskin, V.; Wikinski, S.I.; Uchitel, O.D.; Llinás, R.R.; Urbano, F.J. Effects of T-type calcium channel blockers on cocaine-induced hyperlocomotion and thalamocortical GABAergic abnormalities in mice. *Psychopharmacology* 2010, 212, 205–214. [CrossRef] [PubMed]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.