

Inhibidores selectivos de la monoamino oxidasa 1. Hidracinas de formilimidazoles 1-sustituidos

Selective inhibitors of monoamine oxidase. 1. Hydrazinomethylimidazole 1-sustituted

BARRERO, A. F.; HERRADOR DEL PINO, M. M.; MARÍN GODOY, A.; POYATOS
GARCÍA, J. A.

Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada. 18071-Granada, España.

SUÁREZ ORTEGA, M. D.

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada.

RESUMEN

Se ha preparado una serie de hidracinometilimidazoles 1-sustituidos y estudiado su actividad IMAO. Los ensayos *in vitro* revelan que los 1-arilimidazoles son inhibidores selectivos de la MAO A a bajas concentraciones.

Palabras clave: Monoaminoxidasa. Hidracinometilimidazoles. Inhibidores de monoaminoxidasa.

ABSTRACT

A series of hydrazinomethylimidazole 1-sustituted was prepared and evaluated for their monoamine oxidase (MAO) inhibitory activity. *In vitro* testing revealed that the 1-arylimidazole derivatives were selectively inhibitors of MAO A at low concentrations.

Key words: Monoamine oxidase. Monoaminoxidase inhibitors. Hydrazinomethylimidazole.

Recibido: 11-3-1994.

Aceptado: 5-4-1994.

BIBLID: [0004-2427(1994) 35:1; 107-118]

INTRODUCCIÓN

La enzima monoaminoxidasa [MAO; EC.1.4.3.4.] se presenta como dos formas enzimáticas denominadas MAO A y MAO B, que difieren en su especificidad de sustrato, sensibilidad hacia los inhibidores y distribución entre distintos órganos y especies (1). La MAO A oxida preferentemente a serotonina y

noradrenalina y es muy sensible a la inhibición por clorgilina; en cambio, la MAO B es activa preferentemente sobre bencilamina y b-fenil etilamina, y sensible a bajas concentraciones de l-deprenyl (1-3).

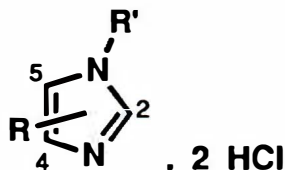
La importancia de la MAO en la regulación de los niveles de neurotransmisores y la disminución de la actividad serotoninérgica observada en pacientes depresivos y suicidas, hace que la inhibición de esta enzima sea un blanco adecuado en los tratamientos antidepresivos (4). Bajo este estímulo, se han desarrollado numerosas estructuras con capacidad IMAO (arilalquilhidracinas, arilpropargilaminas, b-carbolinas, oxazolidinonas, fluoroalilaminas, ...) (5-8).

El tratamiento clínico de la depresión exige el desarrollo de inhibidores que muestren selectividad hacia la forma A del enzima, mientras que los IMAOs-B son efectivos antiparkinsonianos (9, 10).

Las arilalquilhidracinas conforman uno de los grupos de inhibidores irreversibles de la MAO; entre ellas, destacan fenelzina y feniprazina, con aplicación en clínica. En este tipo de compuestos, la potencia inhibidora se ve notablemente afectada por la sustitución en el anillo o la modificación del tipo de anillo (11, 12).

El objetivo de este trabajo es la síntesis y ensayo enzimático de 2- y 4-hidracinometil imidazoles-1-sustituidos (Tabla I) con el fin de examinar la influencia de la posición del grupo hidracinometil y de los sustituyentes del anillo imidazólico sobre la potencia y/o selectividad hacia las formas A y B de la MAO; además de obtener datos experimentales para el análisis de la relación estructura-actividad de este tipo de compuestos.

Tabla I.—Diclorhidratos de 1-aril(alquil)-4-hidracinometilimidazol (4a-4e) y 1-aril-2-hidracinometilimidazol (4f, 4g).



Comp	R	R'	mp (°C)	Rend (%)	Fórmula ^a
4a	4-CH ₂ NHNH ₂	4-MeO-Ph	106-109	20	C ₁₁ H ₁₄ N ₄ O
4b	4-CH ₂ NHNH ₂	4-EtO-Ph	205-207	20	C ₁₂ H ₁₆ N ₄ O
4c	4-CH ₂ NHNH ₂	4-Me-Ph	190-193	15	C ₁₁ H ₁₄ N ₄
4d	4-CH ₂ NHNH ₂	Ph	164	40	C ₁₀ H ₁₂ N ₄

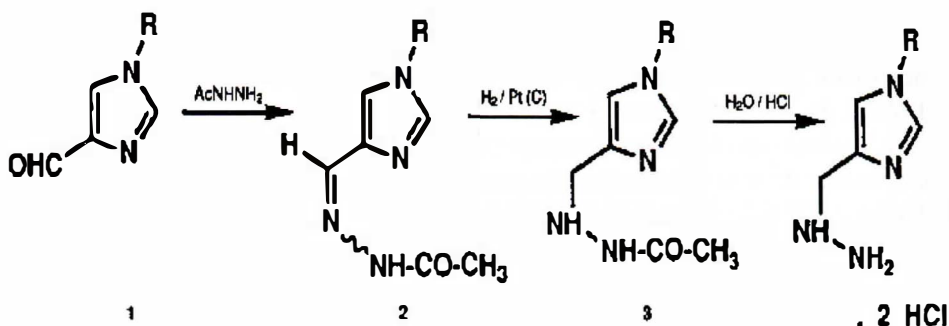
Continuación

Comp	R	R'	mp (°C)	Rend (%)	Fórmula ^a
4e	4-CH ₂ NHNH ₂	Et	173-175	43	C ₆ H ₁₂ N ₄
4f	2-CH ₂ NHNH ₂	Ph	175-177	30	C ₁₀ H ₁₂ N ₄
4g	2-CH ₂ NHNH ₂	Ph-CH ₂	173-175	32	C ₁₁ H ₁₄ N ₄

^a El análisis elemental se indica únicamente por los símbolos de los elementos, los resultados analíticos están en el rango de 0.4% de los valores teóricos.

MÉTODOS Y RESULTADOS

Las hidracinas **4a-e** se han sintetizado según la ruta descrita en el esquema 1.



a, R: 4-CH₃O-C₆H₄

b, R: 4-CH₃CH₂O-C₆H₄

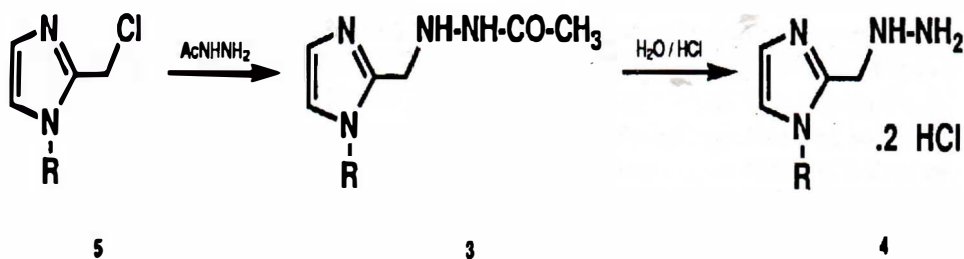
c, R: 4-CH₃-C₆H₄

d, R: -C₆H₅

e, R: -CH₂CH₃

La condensación de los apropiados 4-formilimidazoles (**1a-e**) (13,14) con acetilhidracina (15) en medio etanólico origina 1-aryl(alquil)-4-acetilhidrazonometilimidazol (**2a-e**). Por hidrogenación catalítica de las hidracidonas **2a-e** a 5 atm de presión y temperatura ambiente utilizando Pt(C) al 5% como catalizador, se obtienen las hidracidas correspondientes (**3a-e**). La hidrólisis de los compuestos **3** con HCl 4N conduce a 1-aryl(alquil)-4-hidrazinometilimidazol (**4a-e**).

Los compuestos **4f** y **4g** no fueron accesibles mediante este procedimiento, ya que la reducción de las hidracidonas **2f** y **2g** mediante hidrogenación catalítica con Pt(C), Pd(C) o PtO₂, o bien reducción química con AlLiH₄ conduce únicamente a productos resultantes de la hidrogenólisis de los enlaces C-N y/o N-N. Su obtención se realiza a través de los derivados halogenados **5** (16) (esquema 2).



f, R: $-\text{C}_6\text{H}_5$

g, R: $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$

La reacción de **5** con acetilhidracina en DMF, a temperatura ambiente y en condiciones anhidras conduce a 1-aryl-2-acetilhidracinometilimidazol (**3f-g**). La hidrólisis de los compuestos **3** origina **4f** y **4g**.

La caracterización de los compuestos sintetizados mediante RMN muestra la coexistencia de estereoisómeros geométricos *E* y *Z* y de rotámeros *E/Z* en las hidracidonas **2** y de rotámeros *E/Z* en las hidracidas **3**. La existencia de rotámeros *E/Z* en este tipo de moléculas es debido al carácter de doble enlace parcial del enlace C-N del grupo amido (17-19).

En el caso de **2a-c** y **2f-g** los estereoisómeros geométricos son separados por cristalización fraccionada en EtOH, y su configuración se determina con sus espectros de ^1H y ^{13}C -RMN (20). En la tabla II se recogen las señales más significativas.

Tabla II.— ^1H y ^{13}C -RMN de (*Z*)- y (*E*)-hidracidonas (**2a-g**)

Comp ^a	Isómero	^1H -RMN, δ (ppm) ^b		^{13}C -RMN, δ (ppm) ^b
		CH=N (<i>Z,E</i>) ^c	NH (<i>Z,E</i>) ^c	
2a	<i>Z</i>	7.3, 7.2	13.0, 12.7	138.1, 130.8
	<i>E</i>	8.1, 7.9	11.2, 11.0	141.1, 138.1
2c	<i>Z</i>	7.3, 7.2	12.7	133.1, 130.8
	<i>E</i>	8.3	11.1	140.8, 138.0
2d	<i>Z</i>	7.4, 7.3	12.6	133.0, 130.7
2e	<i>E</i>	8.0, 7.9	11.0, 10.9	141.8, 138.8
2f	<i>Z</i>	7.1, 6.9	13.7, 13.3	126.3, 123.3
	<i>E</i>	7.8	9.6	133.5
2g	<i>Z</i>	7.2, 6.9	13.8, 13.4	125.7, 122.7
	<i>E</i>	8.1	10.7	136.0

^a **2b**, ver ref 20.^b **2a-e** (DMSO), **2f-g** (CDCl₃).^c Rotámero *Z*, rotámero *E*.

Las propiedades inhibitoras de los compuestos **4a-g** hacia la MAO se han evaluado mediante el método radioquímico de Ekstedt (21), utilizando sustratos selectivos para ambas formas enzimáticas. Los valores aproximados de IC_{50} recogidos en la Tabla III se han calculado gráficamente a partir de las curvas de inhibición obtenidas con concentraciones de inhibidor de 10^{-3} a 10^{-7} M.

Todos los compuestos ensayados presentan una mayor inhibición hacia la forma A de la MAO, lo que puede explicarse en función de los efectos estéricos del sustituyente en la posición 1 del anillo imidazólico. Para la MAO A, este sustituyente interacciona más fácilmente con un entorno hidrófobo de la enzima y favorece el acoplamiento enzima-inhibidor para la formación del enlace covalente y, por tanto, la inhibición del enzima. En cambio, para la MAO B se ha descrito (22-24) que la zona de interacción hidrófoba en las proximidades del centro activo es mucho más restrictiva, por lo que se ve afectada la unión con el inhibidor a través del sustituyente en posición 1, disminuyéndose la formación de aducto enzima-inhibidor y, en consecuencia, la inhibición del enzima.

Tabla III.—Inhibición *in vitro* de la MAO por los compuestos **4a-g**

Comp	IC_{50} in vitro		Max inhibición (%), (10^{-6} M) ^b	
	5-HT	PEA	5-HT	PEA
4a	$7 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-5}$	78.72 ± 5.13 ^c	3.94 ± 1.15 ^c
4b	$8 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-5}$	58.79 ± 14.08	27.30 ± 15.37
4c	$1 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-5}$	53.50 ± 4.22	8.17 ± 1.65
4d	$2 \cdot 10^{-5}$	$4.5 \cdot 10^{-5}$	21.71 ± 2.69	6.05 ± 1.42
4e	—	$3.5 \cdot 10^{-3}$	18.64 ± 9.39	10.42 ± 6.16
4f	$6 \cdot 10^{-3}$	—	29.03 ± 3.38	—
4g	—	—	10.01 ± 7.10	—

^a Determinado a partir de las curvas log c - % inhibición utilizando un homogenado de hígado de rata como fuente de enzima y ^{14}C -serotonina (5-HT) (455 mM) y ^{14}C -feniletilamina (PEA) (12.57 mM) como sustratos (ver experimental).

^b Estos valores son medias de 6 experiencias.

^c SEM.

Los compuestos **4f** y **4g**, con grupo hidracinometil en la posición 2 del anillo imidazólico, son inhibidores mucho más débiles que **4a-e**, con grupo hidracinometil en posición 4. Esta diferencia de actividad puede ser debida a un efecto estérico negativo del sustituyente en posición 1, que dificulta la formación del aducto enzima-inhibidor (25).

En el caso de **4a-e**, la actividad inhibitora se ve afectada por la naturaleza del sustituyente en posición 1 del anillo, estando favorecida por la presencia de mitades arílicas 4-sustituidas.

EXPERIMENTAL

Los puntos de fusión están sin corregir. Los espectros de masas se han registrado en un espectrofotómetro Hewlett-Packard 5988 A. Los espectros de IR se han realizado en un espectrómetro Perkin-Elmer 983 G. Los espectros de RMN se registraron en espectrómetros Bruker WP 80 SY (80 MHz) y Bruker AM-300 (300 MHz para ^1H y 75 MHz para ^{13}C) utilizando TMS como patrón interno.

l-aril(alquil)-4-acetilhidrazonometilimidazol (**2**)

l-*p*-metoxifenil-4-acetilhidrazonometilimidazol (**2a**): Una mezcla de **1a** (2 g), acetilhidracina (0.8 g) y EtOH (20 ml) se refluje durante 7 h. Después de enfriar, aparece un precipitado que se filtra y recristaliza de EtOH, aislando en primer lugar el estereoisómero *Z*.

Compuesto (Z)-2a: 42%, pf 168°C. IR (KBr, cm^{-1}) 3197, 1663, 1620. EIMS, 70 eV, *m/z* (int rel): 258 [M]⁺ (21), 215 (24), 200 (14), 187 (14), 160 (100). ^1H -RMN (80 MHz, DMSO) δ : 1.97 (3H, s, CH_3CO , *Z*), 2.17 (3H, s, CH_3CO , *E*), 3.80 (3H, s, OCH_3), 7.10-7.63 (4H, m, H-2', 3', 5', 6'), 7.22 (1H, s, $\text{CH}=\text{N}$, *E*), 7.33 (1H, s, $\text{CH}=\text{N}$, *Z*), 8.12 (1H, d, $J=2$ Hz, H-5), 8.45 (1H, d, $J=2$ Hz, H-2), 12.70 (1H, sa, NH-CO , *E*), 13.05 (1H, sa, NH-CO , *Z*). ^{13}C -RMN (75 MHz, DMSO) δ : 19.5 (q, CH_3CO , *E*), 22.0 (q, CH_3CO , *Z*), 55.4 (q, CH_3O), 114.9 (d, C-3', 5'), 121.9 (d, C-5), 122.5 (d, C-2', 6'), 129.1 (s, C-1'), 130.8 (d, $\text{CH}=\text{N}$, *E*), 133.1 (d, $\text{CH}=\text{N}$, *Z*), 136.3 (s, C-4), 136.7 (d, C-2), 158.7 (s, C-4'), 165.2 (s, CH_3CO , *Z*), 171.9 (s, CH_3CO , *E*).

Compuesto (E)-2a: 38%, pf 205°C. IR (KBr, cm^{-1}): 3195, 1663, 1630, 1614. EIMS, 70 eV, *m/z* (int rel): 258 [M]⁺ (18), 215 (26), 200 (14), 187 (14), 160 (100). ^1H -RMN (80 MHz, DMSO) δ : 1.91 (3H, s, CH_3CO , *Z*), 2.14 (3H, s, CH_3CO , *E*), 3.79 (3H, s, OCH_3), 7.05-7.61 (4H, m, H-2', 3', 5', 6'), 7.93 (1H, s, $\text{CH}=\text{N}$, *E*), 8.01 (1H, d, $J=2$ Hz, H-5), 8.07 (1H, s, $\text{CH}=\text{N}$, *Z*), 8.20 (1H, d, $J=2$ Hz, H-2), 11.04 (1H, sa, NH-CO , *E*), 11.16 (1H, sa, NH-CO , *Z*). ^{13}C -RMN (75 MHz, DMSO) δ : 20.0 (q, CH_3CO , *E*), 21.5 (q, CH_3CO , *Z*), 55.4 (q, CH_3O), 114.9 (d, C-3', 5'), 117.8 (d, C-5), 122.1 (d, C-2', 6'), 129.7 (s, C-1'), 136.5 (s, C-4), 136.5 (d, C-2), 138.1 (d, $\text{CH}=\text{N}$, *E*), 141.1 (d, $\text{CH}=\text{N}$, *Z*), 158.4 (s, C-4'), 165.5 (s, CH_3CO , *Z*), 171.7 (s, CH_3CO , *E*).

Los compuestos **2b-e** fueron preparados según el método descrito para **2a**.

Compuesto 2b: ver ref. 20.

Compuesto 2c: ver ref. 20.

Compuesto (Z)-2d: 70%, pf 170°C. IR (KBr, cm^{-1}): 3197, 1670, 1624. EIMS, 70 eV, *m/z* (int rel): 228 [M]⁺ (14), 185 (24), 170 (15), 157 (17), 130 (100), 77 (24). ^1H -RMN (80 MHz, DMSO) δ : 2.02 (3H, s, CH_3CO , *Z*), 2.20 (3H, s, CH_3CO , *E*), 7.27 (1H, s, $\text{CH}=\text{N}$, *E*), 7.35 (1H, s, $\text{CH}=\text{N}$, *Z*), 7.40-7.80 (5H, m, -Ph), 8.21 (1H, d, $J=2$ Hz, H-5), 8.60 (1H, d, $J=2$ Hz, H-2), 12.65 (1H, sa, NH-CO). ^{13}C -RMN (75 MHz, DMSO) δ : 19.5 (q, CH_3CO , *E*), 22.0 (q, CH_3CO , *Z*),

120.9 (d, C-2', 6'), 121.5 (d, C-5), 127.9 (d, C-4'), 129.9 (d, C-3', 5'), 130.7 (d, CH=N, E), 133.0 (d, CH=N, Z), 135.9 (s, C-4), 136.3 (d, C-2), 136.9 (s, C-1'), 165.3 (s, CH₃C=O, Z), 172.0 (s, CH₃C=O, E).

Compuesto (E)-2e: 92%, pf 95°C. IR (KBr, cm⁻¹): 3191, 3124, 1674, 1626. ¹H-RMN (80 MHz, DMSO) δ: 1.35 (3H, t, J=6 Hz, H-2'), 1.90 (3H, s, CH₃CO, Z), 2.12 (3H, s, CH₃CO, E), 4.00 (2H, q, J=6 Hz, H-1'), 7.57 (1H, sa, H-5), 7.70 (1H, sa, H-2) 7.87 (1H, s, CH=N, E), 8.00 (1H, s, CH=N, Z), 10.90 (1H, sa, NH-CO, E), 11.03 (1H, sa, NH-CO, Z). ¹³C-RMN (75 MHz, DMSO) δ: 16.1 (q, C-2'), 20.0 (q, CH₃CO, E), 21.5 (q, CH₃CO, Z), 41.4 (t, C-1'), 118.9 (d, C-5), 137.0 (s, C-4), 137.8 (d, C-2), 138.8 (d, CH=N, E), 141.8 (d, CH=N, Z), 165.3 (s, CH₃C=O, Z), 171.5 (s, CH₃C=O, E).

1-aril-2-acetilhidrazonometilimidazol (2)

Los compuestos **2f** y **2g** se prepararon como se describe para **2a**.

Compuesto (Z)-2f: 63%, pf 99-100 °C. IR (KBr, cm⁻¹): 3127, 1670, 1589. EIMS, 70 eV, m/z (int rel): 228 [M]⁺ (17), 185 (100), 157 (55), 156 (79), 130 (43), 77 (32). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: 2.18 (3H, s, CH₃CO, Z), 2.27 (3H, s, CH₃CO, E), 6.94 (1H, s, CH=N, E), 7.09 (1H, d, J=1.2 Hz, H-5, E), 7.14 (1H, d, J=1.2 Hz, H-5, Z), 7.15 (1H, s, CH=N, Z), 7.27 (1H, d, J=1.2 Hz, H-4, E), 7.31 (1H, d, J=1.2 Hz, H-4, Z), 7.31-7.35 (2H, m, H-2',6'), 7.48-7.54 (3H, m, H-3',4',5'), 13.30 (1H, sa, NH-CO, E), 13.70 (1H, sa, NH-CO, Z). ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃) δ: 19.9 (q, CH₃CO, E), 22.2 (q, CH₃CO, Z), 122.0 (d, C-5), 123.3 (d, CH=N, E), 126.0 (d, C-2',6'), 126.3 (d, CH=N, Z), 129.2 (d, C-4'), 129.5 (d, C-4), 130.0 (d, C-3',5'), 136.0 (s, C-1'), 140.6 (s, C-2), 167.5 (s, CH₃C=O, Z), 174.0 (s, CH₃C=O, E).

Compuesto (E)-2f: 22%, pf 165-166 °C. IR (KBr, cm⁻¹): 3137, 1686, 1612. EIMS, 70 eV, m/z (int rel): 228 [M]⁺ (13), 185 (100), 157 (55), 156 (65), 130 (37), 77 (29). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: 1.69 (3H, s, CH₃CO), 7.09 (1H, d, J=1 Hz, H-5), 7.23 (1H, d, J=1 Hz, H-4), 7.31-7.35 (2H, m, H-2',6'), 7.48-7.54 (3H, m, H-3',4',5'), 7.83 (1H, s, CH=N), 9.64 (1H, sa, NH-CO). ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃) δ: 19.8 (q, CH₃CO), 124.4 (d, C-5), 126.5 (d, C-2',6'), 128.8 (d, C-4'), 129.3 (d, C-3',5'), 130.1 (d, C-4), 133.5 (d, CH=N), 138.2 (s, C-1'), 141.5 (s, C-2), 173.8 (s, CH₃C=O).

Compuesto (Z)-2g: 42%, pf 129-130 °C. IR (KBr cm⁻¹): 3108, 1675, 1562. EIMS, 70 eV, m/z (int rel): 242 [M]⁺ (8), 199 (64), 184 (14), 171 (38), 170 (34), 169 (100), 91 (98). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: 2.18 (3H, s, CH₃CO, Z), 2.30 (3H, s, CH₃CO, E), 5.27 (2H, s, CH₂Ph), 6.95 (1H, s, CH=N, E), 7.10 (1H, s, H-5), 7.15 (1H, s, CH=N, Z), 7.25 (1H, s, H-4), 7.20-7.40 (5H, m, CH₂Ph), 13.40 (1H, sa, NH-CO, E), 13.77 (1H, sa, NH-CO, Z). ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃) δ: 19.8 (q, CH₃CO, E), 22.1 (q, CH₃CO, Z), 50.2 (t, CH₂Ph), 121.5 (d, C-5), 122.7 (d, CH=N, E), 125.7 (d, CH=N, Z), 126.7 (d, C-2',6'), 128.5 (d, C-4')*, 129.0 (d, C-4)*, 129.3 (d, C-3',5'), 135.3 (s, C-1'), 140.4 (s, C-2), 167.6 (s, CH₃C=O, Z), 174.0 (s, CH₃C=O, E). *Valores intercambiables.

Compuesto (E)-2g: 47%, pf 131-132 °C. IR (KBr, cm^{-1}): 3111, 1690, 1598. EIMS, 70 eV, m/z (int rel): 242 [$\text{M}]^+$ (6), 199 (84), 184 (14), 171 (41), 170 (31), 169 (79), 91 (100). ^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3) d: 2.00 (3H, s, CH_3CO), 5.56 (2H, s, CH_2 Ph), 6.94 (1H, d, $J=1$ Hz, H-5), 7.03-7.18 (2H, m, H-2',6'), 7.15 (1H, d, $J=1$ Hz, H-4), 7.27-7.39 (3H, m, H-3',4',5'), 8.05 (1H, s, $\text{CH}=\text{N}$), 10.67 (1H, sa, NH-CO). ^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3) d: 20.3 (q, CH_3CO), 50.9 (t, CH_2 Ph), 123.9 (d, C-5), 126.5 (d, C-2',6'), 127.8 (d, C-4'), 128.8 (d, C-3',5'), 129.8 (d, C-4), 136.0 (d, $\text{CH}=\text{N}$), 136.4 (s, C-1'), 141.3 (s, C-2), 173.6 (s, CH_3CO).

l-aril(alquil)-4-acetilhidracinometilimidazol (3)

l-*p*-metoxifenil-4-acetilhidracinometilimidazol (3a): 2a (2g) disuelto en MeOH (250 ml) se hidrógena a 5 atm y temperatura ambiente durante 50-60 h usando 5% Pt(C) como catalizador. El catalizador se filtra y el filtrado se evapora bajo presión reducida, obteniéndose un residuo que se cristaliza de EtOH-Et₂O. 30%, pf 116-119 °C. IR (KBr, cm^{-1}): 3278, 3128, 1661 (CO). EIMS, 70 eV, m/z (int rel): 260 [$\text{M}]^+$ (3), 202 (88), 188 (100), 187 (93), 160 (33). ^1H -RMN (300 MHz, DMSO) d: 1.77 (3H, s, CH_3CO , Z), 1.84 (3H, s, CH_3CO , E), 3.44 (1H, sa, CH_2 NH-NH), 3.77 (3H, s, OCH_3), 3.77 (2H, s, CH_2 NH), 7.03-7.50 (4H, m, H-2',3',5',6'), 7.48 (1H, d, $J=2$ Hz, H-5), 8.04 (1H, d, $J=2$ Hz, H-2), 9.35 (1H, sa, NH-NH-CO). ^{13}C -RMN (75 MHz, DMSO) d: 19.5 (q, CH_3CO , E), 20.6 (q, CH_3CO , Z), 48.9 (t, CH_2 NH , Z), 49.0 (t, CH_2 NH , E), 55.3 (q, CH_3O), 114.8 (d, C-3',5'), 115.6 (d, C-5), 121.6 (d, C-2',6'), 130.2 (s, C-1'), 134.8 (d, C-2), 139.8 (s, C-4), 157.8 (s, C-4'), 168.1 (s, CH_3CO , Z), 173.5 (s, CH_3CO , E).

Los compuestos 3b-e fueron preparados según el método descrito para 3a
Compuesto 3b: ver ref 20.

Compuesto 3c: ver ref 20. ^{13}C -RMN (75 MHz, DMSO) d: 19.5 (q, CH_3CO , E), 20.3 (q, CH_3CO , Z), 20.6 (q, 4'- CH_3), 48.9 (t, CH_2 NH , Z), 49.0 (t, CH_2 NH , E), 115.3 (d, C-5), 119.9 (d, C-2',6'), 130.2 (d, C-3',5'), 134.6 (s, C-1'), 134.8 (d, C-2), 136.1 (d, C-4'), 136.1 (d, C-4'), 139.7 (s, C-4), 168.2 (s, CH_3CO , Z), 174.0 (s, CH_3CO , E).

Compuesto 3d: 55%, pf 142 °C. IR (KBr, cm^{-1}): 3275, 3126, 1670. EIMS, 70 eV, m/z (int rel): 230 [$\text{M}]^+$ (3), 172 (93), 158 (99), 157 (100), 130 (48). ^1H -RMN (80 MHz, DMSO) d: 1.75 (3H, s, CH_3CO , Z), 1.80 (3H, s, CH_3CO , E), 3.77 (2H, s, CH_2 NH), 5.00 (1H, sa, CH_2 NH-NH), 7.30-7.70 (6H, m, -Ph y H-5), 8.20 (1H, d, $J=2$ Hz, H-2), 9.30 (1H, sa, NH-NH-CO). ^{13}C -RMN (75 MHz, DMSO) d: 19.6 (q, CH_3CO , E), 20.7 (q, CH_3CO , Z), 48.7 (t, CH_2 NH , Z), 49.1 (t, CH_2 NH , E), 115.3 (d, C-5), 120.1 (d, C-2',6'), 126.8 (s, C-4'), 129.8 (d, C-3',5'), 134.9 (d, C-2), 136.7 (s, C-1'), 139.8 (s, C-4), 168.4 (s, CH_3CO , Z), 174.4 (s, CH_3CO , E).

Compuesto 3e: 70%, aceite. IR (película, cm^{-1}): 3253, 3107, 1670. ^1H -RMN (300 MHz, DMSO) d: 1.30 (3H, t, $J=6$ Hz, H-2'), 1.75 (3H, s, CH_3CO), 3.70 (2H, s, CH_2 NH), 3.95 (2H, q, $J=6$ Hz, H-1'), 4.85 (1H, sa, CH_2 NH-NH), 7.05 (1H, sa, H-5), 7.55 (1H, sa, H-2), 9.30 (1H, sa, NH-NH-CO). ^{13}C -RMN (75

MHz, DMSO) d: 16.2 (q, C-2'), 20.6 (q, $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{CO}$), 40.9 (t, C-1'), 49.2 (t, CH_2NH), 116.3 (d, C-5), 136.1 (d, C-2), 138.4 (s, C-4), 168.1 (s, CH_3CO).

1-aril-2-acetilhidracinometilimidazol (3)

1-fenil-2-acetilhidracinometilimidazol (3f): Una mezcla de 1-fenil-2-clorometilimidazol (**5f**) (1.2 g) y acetilhidracina (0.6 g) en DMF (4 ml) se mantiene a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla de reacción se concentra bajo presión reducida, obteniéndose un residuo que se disuelve en H_2O . La disolución se alcaliniza con NaOH 10% y se extrae con CHCl_3 , eliminándose el disolvente bajo presión reducida, después de lavar con H_2O y secar sobre Na_2SO_4 . El residuo obtenido se cromatografía en columna de sílica gel para dar **3f** (650 mg), 65%, aceite. IR (película, cm^{-1}): 3250, 3190, 1660. EIMS, 70 eV, m/z, (int rel): 230 $[\text{M}]^+$ (0.1), 172 (13), 157 (51), 130 (12), 77 (19), 43 (100). ^1H -RMN (80 MHz, CDCl_3) d: 1.95 (3H, s, CH_3CO), 3.57 (1H, sa, $\text{CH}_2\text{NH-NH}$), 4.02 (2H, s, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{NH}$), 7.10 (1H, s, H-5), 7.12 (1H, s, H-4), 7.30-7.55 (5H, m, Ph), 8.35 (1H, sa, NH-NH-CO). ^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3) d: 21.3 (q, $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{CO}$), 47.5 (t, CH_2NH), 121.6 (d, C-5), 125.7 (d, C-2',6'), 127.9 (d, C-4), 128.8 (s, C-4'), 129.7 (d, C-3',5'), 137.2 (s, C-1'), 145.0 (s, C-2), 169.4 (s, CH_3CO).

Compuesto 3g: Se obtiene siguiendo un procedimiento análogo al descrito para **3f**. 65%, aceite. IR (película, cm^{-1}): 3251, 3030, 3190, 1655. EIMS, 70 eV, m/z (int rel): 243 $[\text{M} + 1]^+$ (0.6), 186 (20), 171 (32), 169 (12), 91 (91), 43 (100). ^1H -RMN (80 MHz, CDCl_3) d: 1.95 (3H, s, CH_3CO), 3.80 (1H, sa, $\text{CH}_2\text{NH-NH}$), 4.02 (2H, s, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{NH}$), 5.18 (2H, sa, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$), 6.88 (1H, d, J=2 Hz, H-5), 6.98 (1H, d, J=2 Hz, H-4), 7.07 (2H, m, H-2',6'), 7.22-7.33 (3H, m, H-3',4', 5'), 8.37 (1H, sa, NH-NH-CO). ^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3) d: 20.9 (q, $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{CO}$), 47.2 (t, CH_2NH), 49.6 (t, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$), 120.9 (d, C-5), 120.9 (d, C-4'), 126.9 (d, C-3',5'), 127.1 (d, C-4), 128.8 (d, C-2',6'), 136.1 (s, C-1'), 144.5 (s, C-2), 127.1 (d, C-4), 169.8 (s, CH_3CO).

Diclorhidratos de 1-aril(alquil)-4-hidracinometilimidazol (4)

1-p-metoxifenil-4-hidracinometilimidazol (4a): Una mezcla de **3a** (2g) y HCl 4N (24 ml) se refluje durante 2 h. Se elimina el disolvente y el residuo obtenido se cristaliza de EtOH-Et₂O. 80%, pf 106-109 °C. IR (KBr, cm^{-1}): 3252, 2971. ^1H -RMN (80 MHz, DMSO) d: 3.80 (3H, s, OCH_3), 4.22 (2H, s, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{NH}$), 5.77 (sa, NH, $\text{NH}_3^+\text{-NH}^+$, H_2O), 7.15-7.55 (4H, m, H-2',3',5',6'), 8.15 (1H, d, J=2 Hz, H-5), 9.61 (1H, d, J=2 Hz, H-2). ^{13}C -RMN (75 MHz, DMSO) d: 42.7 (t, CH_2NH), 55.7 (q, OCH_3), 115.0 (d, C-3',5'), 120.3 (d, C-5), 123.5 (d, C-2',6'), 128.0 (s, C-1'), 129.6 (d, C-2), 134.2 (d, C-4), 159.7 (s, C-4'). *Anal.*: Calcd para $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2\text{HCl}\cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$: C, 41.64; H, 5.99; N, 17.66. Encontrado: C, 41.95; H, 5.99; N, 17.99.

Los compuestos **4b-e** se han preparado siguiendo el procedimiento descrito para **4a**.

Compuesto 4b: ver ref 20.

Compuesto 4c: 45 %, pf 190-193 °C. IR (KBr, cm^{-1}): 3239, 3125. ^1H -RMN (80

MHz, DMSO) d: 2.35 (3H, s, 4'-CH₃), 4.22 (2H, s, CH₂NH), 5.50 (sa, NH, NH₃⁺·NH⁺, H₂O), 7.41-7.68 (4H, m, H-2',3',5',6'), 8.20 (1H, d, J=2 Hz, H-5), 9.67 (1H, d, J=2Hz, H-2). ¹³C-RMN (75 MHz, DMSO) d: 20.6 (q, 4'-CH₃), 42.6 (t, CH₂NH), 120.2 (d, C-5), 121.7 (d, C-2',6'), 129.7 (d, C-2), 130.4 (d, C-3',5'), 132.5 (s, C-1'), 134.2 (d, C-4), 139.4 (s, C-4'). *Anál*: Calcd para C₁₁H₁₄N₄·2HCl·H₂O: C, 45.05; H, 6.14; N, 19.01. Encontrado: C, 45.37; H, 6.38; N, 19.01.

Compuesto 4d: 97%, pf 164 °C. IR (KBr, cm⁻¹): 3228, 3101.¹H-RMN (80 MHz, DMSO) d: 4.25 (2H, s, CH₂NH), 5.90 (sa, NH, NH₃⁺·NH⁺, H₂O), 7.50-7.90 (5H, m, Ph), 8.21 (1H, d, J=2 Hz, H-5), 9.72 (1H, d, J=2Hz, H-2). ¹³C-RMN (75 MHz, DMSO) d: 42.7 (t, CH₂NH), 120.1 (d, C-5), 121.8 (d, C-2',6'), 129.5 (d, C-4'), 129.9 (d, C-2), 130.1 (d, C-3',5'), 134.4 (s, C-1'), 134.8 (d, C-4), 129.5 (d, C-4'). *Anál*: Calcd para C₁₀H₁₂N₄·2HCl·H₂O: C, 43.01; H, 5.73; N, 20.07. Encontrado: C, 42.90; H, 5.89; N, 20.40.

Compuesto 4e: 66%, pf 173-175 °C. IR (KBr, cm⁻¹): 3421, 3120.¹H-RMN (80 MHz, DMSO) d: 1.30 (t, J=6 Hz, CH₃CH₂), 4.18 (2H, s, CH₂NH), 4.20 (2H, q, J=6 Hz, CH₃CH₂), 5.70 (sa, NH, NH₃⁺·NH⁺), 7.75 (1H, d, J=2 Hz, H-5), 9.22 (1H, d, J=2Hz, H-2). ¹³C-RMN (75 MHz, DMSO) d: 16.2 (q, CH₃CH₂), 38.8 (t, CH₃CH₂), 43.0 (t, CH₂NH), 121.5 (d, C-5), 130.8 (d, C-2), 133.3 (s, C-4). *Anál*: Calcd para C₆H₁₂N₄·2HCl: C, 33.80; H, 6.57; N, 33.33. Encontrado: C, 33.90; H, 6.60; N, 33.30.

Diclorhidratos de 1-aril-2-hidracinometilimidazol (4)

Los compuestos **4f-g** se han preparado según el procedimiento descrito para **4a**.

Compuesto 4f: 72%, pf 175-177 °C. IR (película, cm⁻¹): 3211, 2703.¹H-RMN (80 MHz, DMSO) d: 4.40 (2H, s, CH₂NH), 6.10 (sa, NH₂⁺, NH₂·NH⁺, H₂O), 7.62 (5H, m, -Ph), 7.85 (1H, d, J=2 Hz, H-5), 7.92 (1H, d, J=2Hz, H-4). ¹³C-RMN (75 MHz, DMSO) d: 43.1 (t, CH₂NH), 119.3 (d, C-5), 123.8 (d, C-4), 126.0 (d, C-2',6'), 129.8 (d, C-3',5'), 130.3 (d, C-4'), 134.3 (s, C-1'), 143.3 (s, C-2). *Anál*: Calcd para C₁₀H₁₂N₄·2HCl·0.5H₂O: C, 44.45; H, 5.22; N, 20.74. Encontrado: C, 44.16; H, 5.21; N, 21.11.

Compuesto 4g: 65% , pf 173-175 °C. IR (película, cm⁻¹): 3211, 3145, 2701.¹H-RMN (80 MHz, DMSO) d: 3.75 (sa, NH₂⁺, NH₂·NH⁺, H₂O), 4.55 (2H, s, CH₂NH), 5.52 (2H, s, CH₂Ph), 7.39 (5H, m, -Ph), 7.55 (1H, s, H-5), 7.70 (1H, s, H-4).¹³C-RMN (75 MHz, DMSO) d: 42.0 (t, CH₂NH), 50.2 (t, CH₂Ph), 119.3 (d, C-5), 122.9 (d, C-4), 128.2 (d, C-2',6'), 128.4 (d, C-4'), 128.8 (d, C-3',5'), 134.6 (s, C-1'), 142.1 (s, C-2). *Anál*: Calcd para C₁₁H₁₄N₄·2HCl·0.5H₂O: C, 46.49; H, 5.67; N, 19.71. Encontrado: C, 46.04; H, 5.57; N, 19.63.

Preparación del extracto hepático: Seis ratas (raza Wistar, 200-250 g) fueron sacrificadas por dislocación cervical y sus hígados escindidos y homogeneizados en una *potter* mecánico con tampón fosfato potásico 0.01 M, pH 7.4 (0.05/1, peso/vol.) y mantenidos en un baño de hielo. Los núcleos y restos celulares se separan por centrifugación a 1000g durante 15 min., tomando el sobrenadante para los ensayos enzimáticos.

Determinación de la actividad IMAO: Se utiliza el método radioactivo descrito por Ekstedt (21), con pequeñas modificaciones. Los sustratos radioactivos: clorhidrato de 2-fenil-[1-¹⁴C]-etilamina (55.0 mC / mmol) y creatinina sulfato 5-hidroxi-[2-¹⁴C]-triptamina, se obtienen del Centro Radioquímico Amersham, UK.

La inhibición enzimática se realiza por preincubación de 1 ml de extracto hepático con 0.5 ml de tampón fosfato potásico 0.01 M, pH 7.4 y 0.5 ml de disolución acuosa de inhibidor (10^{-7} - 10^{-3} M) a 37 °C durante 30 min. Después de la preincubación, se añaden alícuotas de 25 ml a 0.25 ml de sustrato radioactivo y 25 ml de tampón, obteniéndose concentraciones finales de 0.455 mM en serotonina y 12.40 mM en b-feniletilamina. La mezcla de reacción se incuba a 37 °C durante 20 min. La reacción se detiene por adición de 0.2 ml de HCl 2N y 0.5 ml de agua. El producto de reacción se extrae añadiendo 1 ml de EtOAc en el caso de serotonina y 1 ml de tolueno en el caso de b-feniletilamina. Después de centrifugar para separar las capas, se añaden 0.5 ml de fase orgánica a 3 ml de líquido de centelleo (5 g de PPO y 0.3 g POPOP en 66 ml de EtOAc y 934 ml de tolueno) y se mide la radioactividad en un contador de centelleo líquido Beckman LS6000 TA.

En cada experiencia se utiliza un blanco y dos controles preparados según el método anterior, pero sustituyendo el extracto hepático por tampón fosfato potásico 0.01 M, pH 7.4 en los blancos y suprimiendo la adición de disolución acuosa de inhibidor en los controles. El tubo control nos muestra la actividad enzimática máxima.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) SINGER, T. P.; VON KORFF, P. W.; MURPHY, D. L.: *Monoamine oxidase: Structure, function and altered functions*; Academic Press, New York, 1979.
- (2) JOHNSTON, P. J.: *Biochem Pharmacol*, 1968, **17**, 1285.
- (3) KNOLL, J.; MAGYAR, K.: *Adv Biochem Psychopharmacol*, 1972, **5**, 393.
- (4) FOWLER, C. I.; ROSS, S. B.: *Med Res Rev*, 1984, **4**, 323.
- (5) BIEL, J. H.; HORITA, A.; DRUKKER, A. E.: *Med Chem Ser Monogr*, 1964, **4**(1), 359.
- (6) ZIRKE, C. L.; KAISER, C.: *Med Chem Ser Monogr*, 1964, **4**(1), 445.
- (7) DOSTERT, P.; STROLIN BENEDETTI, M.; JALPRE, M.: *Monoamine oxidase-basic and clinical frontiers*, Kamijo, K.; Usdin, E.; Nagatsa, T., Ed. Excerpta Medica: Amsterdam, 1982, p. 197.
- (8) ZREIKA, M.; FOZARD, J. R.; DUDLEY, M. W.; BEY, P.; McDONALD, J. A.; PALFREYMAN, M. G.: *Drugs of the future*, 1991, **16**, 428.
- (9) SANDLER, M.: *Acta Neurol Scand Suppl*, 1983, **95**, 37.
- (10) ZREIKA, M.; FOZARD, J. R.; DULEY, M. W.; BEY, P.; McDONALD, J. A.; PALFREYMAN, M. G.: *J Neurall transm [P-D select]*, 1981, **1**, 243.
- (11) FUJITA, T.: *J Med Chem*, 1973, **16**, 923.
- (12) JOHNSON, C. L.: *J Med Chem*, 1976, **19**, 600.

- (13) GARCÍA, F.; FERNÁNDEZ, J.; MENÉNDEZ, M.: *Anal Real Soc Esp Fis y Quim*, 1964, **60-B**, 653.
- (14) FERNÁNDEZ, J.; MORENO, A.; TRUJILLO, C.: *Anal Real Soc Esp Fis y Quim*, 1964, **65-B**, 411.
- (15) KOST, A. N.; SAGITULLIN, R. S.: *Zh Obshch Khim*, 1957, **27**, 3338.
- (16) BIRKER, P. J. L. W.; GODOFREI, E. F.; HELDER, J.; REEDIJK, J.: *J Am Chem Soc*, 1982, **104**, 7556.
- (17) ANTHONI, U.; LARSEN, C.; NIELSEN, P. H.: *Acta Chem Scand*, 1969, **23**, 3513.
- (18) WALTER, W.; REUBKE, K. J.: *Chem Ber*, 1970, **103**, 2197.
- (19) BOUCHET, P.; ELGUERO, J.; JACQUIER, R.; PEREILLO, J. M.: *Bull Soc Chim*, 1972, 2264.
- (20) HERRADOR, M. M.; LÓPEZ DE GREGORIO, J. M.; SÁENZ DE BURUAGA, J.: *Ars Pharmaceutica*, 1985, **26**, 11.
- (21) EKSTEDT, B.: *Biochem Pharmacol*, 1976, **25**, 1133.
- (22) SEVERINA, I. S.: *Biokhimiya*, 1976, **41**, 955.
- (23) SEVERINA, I. S.: *Eur J Biochem*, 1973, **38**, 239.
- (24) SMITH, R. A.; WHITE, L. R.; KRANTZ, A.: *J Med Chem*, 1988, **31**, 1588.
- (25) SINGER, T. P.: *Monoamine Oxidase: structure, function and altered functions*, Singer, T. P.; Von Korff, R. W.; Murphy, D. L. Eds. Academic Press: New York, 1979, p. 7.