



UNIVERSIDAD TÉCNICA
FEDERICO SANTA MARÍA



Universidad
de Valparaíso
CHILE

Universidad Técnica Federico Santa María

Universidad de Valparaíso

PROGRAMA CONJUNTO DOCTORADO EN CIENCIAS
MENCION QUÍMICA

**“ÁCIDO SHIKÍMICO, COMPUESTO DE PARTIDA PARA LA SÍNTESIS DE
QUINONAS CON POTENCIAL ACTIVIDAD BIOLÓGICA”**

Tesis presentada por

Santiago Tomás Hernández Pino

Para optar al grado de

Doctor en ciencias, mención química

Director: Dr. Mauricio Cuellar Fritis

Codirector: Dr. Cristian Salas Sánchez

2019

RESUMEN

Las quinonas tetracíclicas son compuestos de interés farmacológico por sus capacidades para combatir la proliferación de células tumorales. De hecho, en quimioterapia es común el uso de fármacos que posean este núcleo estructural, como lo son las antraciclinas. No obstante, estas antraciclinas presentan diversos efectos negativos, como por ejemplo cardiotoxicidad. Debido a esto, es que se hace imperativo desarrollar nuevos compuestos que carezcan de daños colaterales para el organismo del paciente sometido a quimioterapia.

Las anguciclinonas son compuestos naturales con esqueleto benz[*a*]antraquinona con un amplio grado sustituciones en su esqueleto tetracíclico, lo que sitúa a este grupo de antibióticos, después de las tetraciclinas y antraciclinas, como la tercera clase de antibióticos que presentan un esqueleto carbotetracíclico.

Se sintetizaron diez nuevos 6-aza-análogos de anguciclinona empleando el (-)-ácido shikímico como compuesto de partida. La actividad citotóxica de estos compuestos fue medida *in vitro* en tres líneas tumorales; cáncer de próstata (PC-3), cáncer de colon (HT-29), y cáncer de mama (MCF-7). El compuesto más potente presentó una actividad de $IC_{50} = 0,01 \mu M$ contra la línea MCF-7.

Con los valores de actividad citotóxica se logró desarrollar un modelo 2D-QSAR para la línea MCF-7, y uno 3D-QSAR/CoMFA para la línea PC-3; ambos modelos cumplen con exhaustivos criterios de validación.

Adicionalmente se sintetizó una serie de ocho análogos de aminonaftoquinona; dos de los cuales se sintetizaron a partir del (-)-ácido shikímico, mientras que los seis restantes fueron sintetizado a partir de aminas comerciales. Se midió la actividad citotóxica de estos compuestos; el más potente presentó un valor de $IC_{50} = 1,1 \mu M$ contra la línea HT-29.

Al comparar la citotoxicidad de la serie de 6-aza-anguciclinonas con la serie de aminonaftoquinonas, se concluye que la estructura tetracíclica de las 6-aza-anguciclinonas otorga a estos compuestos una mayor selectividad por las células tumorales, junto con una mayor potencia.

ABSTRACT

Tetracyclic quinones are compounds of pharmacological interest due to their ability to combat the proliferation of tumor cells. In fact, in chemotherapy it is common to use drugs with this structural nucleus, such as anthracyclines. However, these anthracyclines have several negative effects, such as cardiotoxicity. Because of this, it is imperative to develop new compounds without collateral damage to the organism of the patient undergoing chemotherapy.

Angucyclinones are natural compounds with a benz[a]anthraquinone skeleton with a large degree of substitution in its tetracyclic skeleton, which places this group of antibiotics, after tetracyclines and anthracyclines, as the third class of antibiotics with a carbotetracyclic skeleton.

Ten new 6-aza-analogues of angucyclinone were synthesized using shikimic (-)-acid as the starting compound. The cytotoxic activity of these compounds was measured in vitro in three tumor lines; prostate cancer (PC-3), colon cancer (HT-29), and breast cancer (MCF-7). The most potent compound had an activity of $IC_{50} = 0.01 \mu\text{m}$ against the mcf-7 line. With cytotoxic activity values, a 2D-QSAR model was developed for the MCF-7 line, and a 3D-QSAR/COMFA model for the PC-3 line; both models meet exhaustive validation criteria.

Additionally, a series of eight aminaphthoquinone analogues was synthesized; two of which were synthesized from (-)-shikimic acid, while the remaining six were synthesized from commercial amines. The cytotoxic activity of these compounds was measured; the most potent presented a value of $IC_{50} = 1.1 \mu\text{m}$ against the HT-29 line.

When comparing the cytotoxicity of the 6-aza-angucyclinones series with the aminonaphthoquinones series, it is concluded that the tetracyclic structure of the 6-aza-angucyclinones gives these compounds greater selectivity for tumor cells, together with greater potency.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Mauricio Cuellar por aceptar ser mi director de tesis, permitirme trabajar en su laboratorio y ser parte de su proyecto de investigación.

Al Dr. Cristian Salas por ser mi codirector de tesis y facilitarme su laboratorio y reactivos.

Al Dr. Jaime Mella por instruirme con paciencia en las técnicas de QSAR y por facilitarme el uso del computador de su laboratorio.

Al programa de Doctorado en Ciencias, mención Química, de las universidades Técnica Federico Santa María y de Valparaíso por aceptarme como alumno del programa y por las becas de las cuales fui beneficiario.

A la Dirección General de Investigación, Innovación y Postgrado de la Universidad Técnica Federico Santa María por la beca de Programa de Incentivos a la Iniciación Científica (PIIC), por la Beca de Asistencia a Congresos, y por la Beca de Alimentación.

A la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica por la Beca de Doctorado Nacional N° 21150043, la cual fue indispensable para la realización de mis estudios de doctorado.

Quiero agradecer de manera especial a mi esposa, Camila, por el apoyo entregado y por la paciencia que me ha tenido todos estos años.

Finalmente, quiero agradecer a Dios por brindarme la oportunidad de educarme y alcanzar un mayor conocimiento.

Este trabajo de tesis está dedicado a mi esposa, Camila, y a mi hija, Eva.

CONTENIDOS

1. Introducción	7
1.1 (-)-Ácido shikímico.....	7
1.2 La problemática del cáncer	8
1.3 Anguciclinonas	10
1.4 Investigación propuesta.....	23
2. Hipótesis.....	25
3. Objetivos	26
4. Metodología	27
4.1 Materiales y métodos químicos	27
4.2 Materiales y métodos computacionales	28
4.3 Materiales y métodos biológicos	29
5. Resultados y discusión	34
5.1 Síntesis de aza-dienos 56, 60, y 64	34
5.2 Síntesis de 6-aza-análogos de anguciclinona	41
5.3 Evaluación de la citotoxicidad <i>in vitro</i> de las nuevas 6-aza-anguciclinonas	54
5.4 Relaciones estructura-actividad de las 6-aza-anguciclinonas (SAR).....	59
5.5 Estudios de relación estructura-actividad cuantitativa (QSAR)	60
5.6 Síntesis de una amina primaria a partir del (-)-ácido shikímico	99
5.7 Síntesis de nuevas aminonaftoquinonas con fragmento de (-)-ácido shikímico...	105
5.8 Síntesis de aminonaftoquinonas a partir de aminas comerciales	108
5.9 Evaluación de la citotoxicidad de las aminonaftoquinonas sintetizadas.....	115
5.10 Relaciones estructura-actividad de las aminonaftoquinonas	117
5.11 Comparación de citotoxicidad de aminonaftoquinonas y anguciclinonas	118
6. Experimental	119
7. Conclusiones	156
Bibliografía	157
Anexos.....	168

1. INTRODUCCIÓN

1.1 (-)-Ácido shikímico

El (-)-ácido Shikímico (**1**) es un ácido carboxílico cíclico de origen natural. Fue aislado por primera vez por Eijkman en 1885 a partir del fruto de la planta *Illicium religiosum* Sieb.¹ Es un metabolito importante que puede encontrarse en diversas plantas y microorganismos.² Las plantas del género *Illicium* son una buena fuente de (-)-ácido Shikímico, pero hay más de 50 especies que presentan poderosas toxinas. La fuente natural más segura para la aislación de este producto es el fruto anís estrellado (*Illicium verum* Hook. f.), en el que se encuentra con una concentración cercana al 8 %.³ Aunque la presencia de (-)-ácido shikímico en la materia prima vegetal es relativamente abundante, la aislación desde las plantas del género *Illicium* resulta engorrosa y costosa, por lo que impide su aplicación para usos en síntesis a nivel comercial.^{4,5} Por esta razón en la actualidad se emplean cepas de la bacteria *Escherichia coli* modificadas mediante bioingeniería para la producción comercial de este compuesto mediante un proceso de fermentación.⁶ La importancia comercial de este compuesto radica en su patrón estructural, un sistema carbocíclico de seis miembros con tres centros estereogénicos, los cuales han sido claves para la síntesis de compuestos de interés farmacológico, como por ejemplo oseltamivir fosfato (**2**), un inhibidor de neuramidasa GS4104, descubierto por Gilead Sciences y desarrollado por Roche Pharmaceuticals bajo el nombre de Tamiflu® para ser usado como un antiviral oralmente activo en el tratamiento y prevención de la influenza humana.⁷⁻⁹ Otra aplicación es el uso para la síntesis de diversas moléculas con implicación terapéutica como: análogos de la vitamina D₃ (**3**), (-)-Zeilenone (**4**) y el esqueleto 14-*epi*-hidrofenantreno de los alcaloides tipo morfina (**5**) (Figura 1).¹⁰⁻¹²

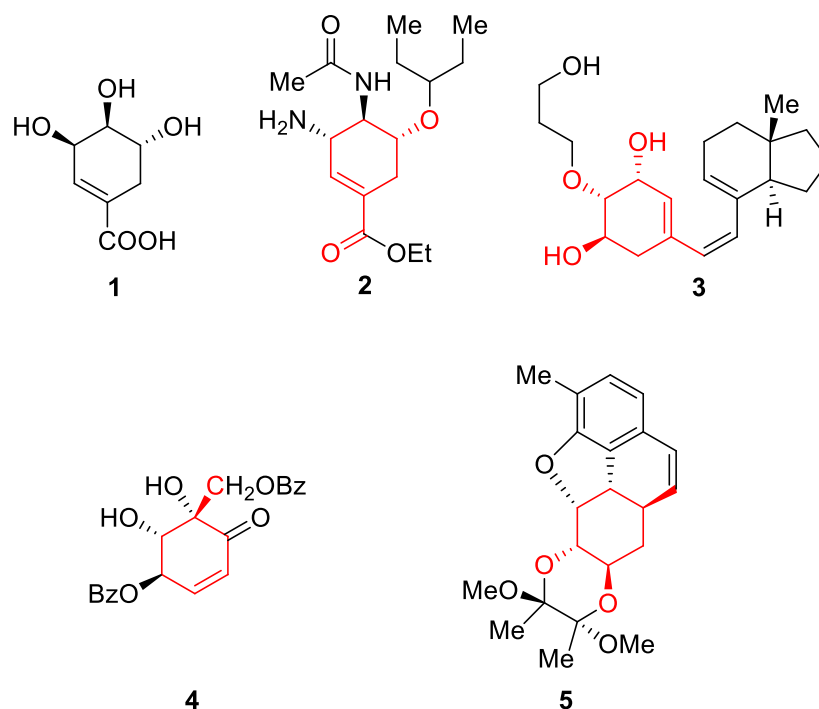


Figura 1. Estructura del (-)-ácido shikímico (**1**), oseltamivir (**2**), análogo de vitamina D3 (**3**), (-)-zeilenone (**4**), y esqueleto 14-*epi*-hidrofenantreno de los alcaloides tipo morfina (**5**). Los enlaces en rojo indican el esqueleto original del (-)-ácido shikímico del cual estos compuestos fueron derivados.

1.2 La problemática del cáncer

El cáncer es una de las principales causas de muerte en el mundo, tanto en países económicamente desarrollados como en países en vías de desarrollo.¹³ Se espera que el problema incremente a nivel mundial debido al crecimiento y envejecimiento de la población, particularmente en los países menos desarrollados donde el acceso a terapias especializadas es menor; y en los cuales reside cerca del 82 % de la población mundial.^{14,15} En cuanto a la situación en Chile, en 1960 las enfermedades cardiovasculares y las defunciones por cáncer, en conjunto, no superaban el 18 % del total de las muertes, mientras que las enfermedades del sistema respiratorio eran responsables de casi el 21 % de los fallecimientos. En 2009 en cambio, esta realidad fue muy diferente, las muertes por

enfermedades respiratorias dan cuenta de menos del 10 % del total de defunciones, mientras que las del sistema circulatorio y cáncer llegan en conjunto al 52 %.^{16,17}

La quimioterapia es una de las formas más frecuentes de tratar el cáncer mediante el uso de fármacos capaces de suprimir la división celular (mitosis) de las células tumorales.^{18,19} Usualmente, la acción de estos fármacos va enfocada a inhibir la actividad de las enzimas topoisomerasas. Estas son enzimas esenciales que controlan el estado topológico del ADN durante la replicación, transcripción, recombinación y la decatenación cromosomal para facilitar la segregación de los cromosomas durante la mitosis.^{20,21} Las topoisomerasas humanas se clasifican en dos categorías: TOP1 y TOP2. TOP1 rompe transitoriamente una sola hebra de una doble hélice de ADN mientras que TOP2 transitoriamente rompe las dos hebras de una doble hélice de ADN.²² La estabilización de complejos covalentes enzima-ADN mediante inhibidores de topoisomerasa produce lesiones en el ADN que conducen a la apoptosis. Los fármacos que tienen como blanco las topoisomerasas, que actualmente se encuentran en uso clínico, incluyen las drogas de topoisomerasa I camptotecina, irinotecan y topotecan, y las drogas de topoisomerasa II daunorubicina, doxorubicina y etopósido.²³ Sin embargo, las células cancerosas varían ampliamente en su susceptibilidad a estos agentes quimioterapéuticos. Muchos de los efectos secundarios de la quimioterapia se deben al daño sufrido por células normales que se dividen rápidamente, por lo que son susceptibles a las drogas anti-mitóticas; como lo son las células de la médula ósea, del tracto digestivo y los folículos capilares. Lo anterior causa que los efectos secundarios más frecuentes de la quimioterapia sean la inmunosupresión (por la producción reducida de células sanguíneas), inflamación del revestimiento del tracto digestivo y alopecia.²⁴ Tomando en consideración la creciente incidencia de esta enfermedad en la población y los efectos adversos que produce el uso de agentes quimioterapéuticos tradicionales, se hace necesaria la búsqueda de nuevos compuestos capaces de combatir la proliferación de células tumorales de manera más selectiva para limitar el daño colateral al organismo.

1.3 Anguciclinonas

Dentro de la familia de las quinonas policíclicas, las anguciclinas, y sus respectivas agliconas (anguciclinonas), son los compuestos más interesantes debido a su variedad estructural y propiedades biológicas.^{25,26} Algunas anguciclinas y anguciclinonas presentan actividad antitumoral, así como inhibición de enzimas hidroxilasa y/o mono-oxigenasa, potentes inhibidores de agregación plaquetaria, y además exhiben actividad antibacterial o antiviral.²⁷⁻³⁰ Estos compuestos corresponden a metabolitos secundarios de un variado número de microorganismos pertenecientes al grupo de bacterias actinomycetes, las cuales son formadoras de esporas.³¹ Desde el punto de vista químico, las anguciclinas contienen un esqueleto benz[*a*]antraquinona con un grado variable de insaturaciones y fragmentos oxigenados.^{32,33} Por lo que este grupo de antibióticos es, después de las tetraciclinas y antraciclinas, la tercera clase de antibióticos que presentan un esqueleto carbotetracíclico. Los patrones estructurales más comunes e importantes de las anguciclinonas son una función oxigenada en C-1 y un centro estereogénico en C-3, tal como se muestra en ocromicinona (**6a**), rubiginona B2 (**6b**), y tetragomicin (**6c**).³⁴⁻³⁶ En el anillo A, se observa un sistema altamente funcionalizado, como es el caso de (+)-rubiginona D2 (**7**), o la aromatización de este anillo en el caso del compuesto **8** (Figura 2).^{37,38}

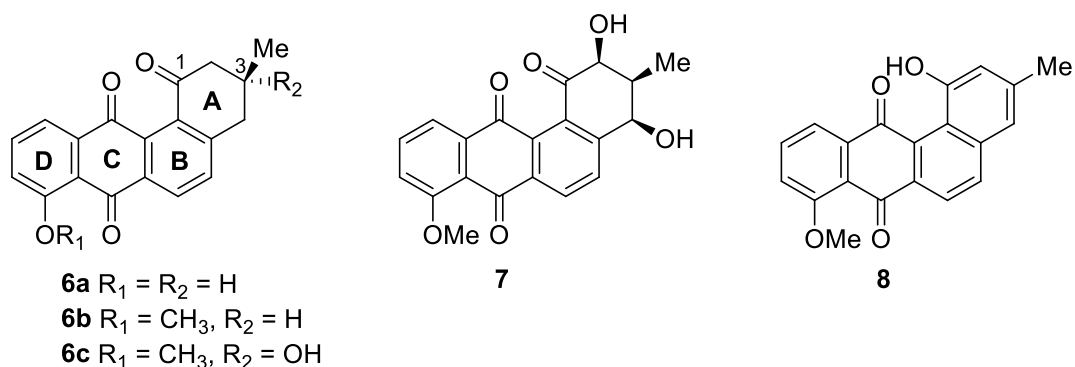


Figura 2. Algunos ejemplos de anguciclinonas de origen natural.

Adicionalmente, en menor grado, se han encontrado en la naturaleza aza-análogos de anguciclinona, que presentan un átomo de nitrógeno formando parte de alguno de los anillos del sistema tetracíclico. Los primeros 6-aza-análogos naturales de anguciclinona reportados

fueron fenantroviridina (**9a**) y una aglicona, fenantroviridona (**9b**) aislados a partir de *Streptomyces murayamaensis*, ambos compuestos con estructura de benzo[*b*]fenantridina, los cuales fueron activos contra el carcinoma de pulmón, MBA9812, en ratones.^{39,40} Adicionalmente, fenantroviridona (**9b**) tiene actividad antibacterial contra *Staphylococcus aureus* y muestra citotoxicidad *in vitro* significativa contra células SF-268 (IC₅₀ = 0,09 μM) y MCF-7 (IC₅₀ = 0,17 μM).^{41,42} Otros 6-aza-análogos de anguciclinonas que han sido estudiados a fondo corresponden a las jadomicinas, las que contienen un fragmento de aminoácido como parte de un esqueleto de fenantridina. Un ejemplo de estos compuestos es jadomicina B (**10**) (Figura 3), la cual exhibe interesantes propiedades antibacteriales y citotóxicas.⁴³⁻⁴⁶

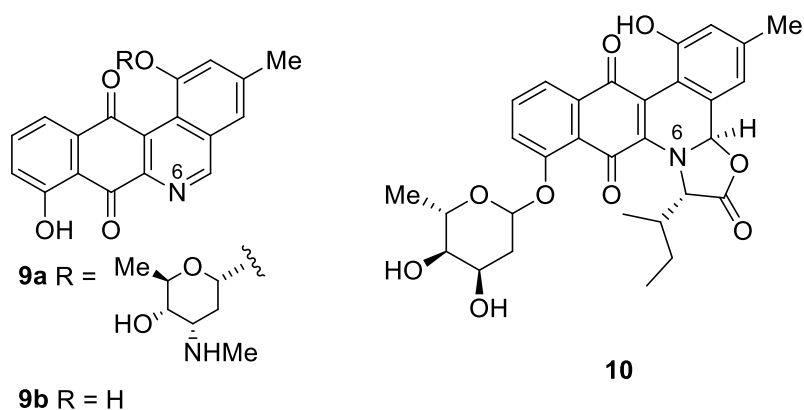


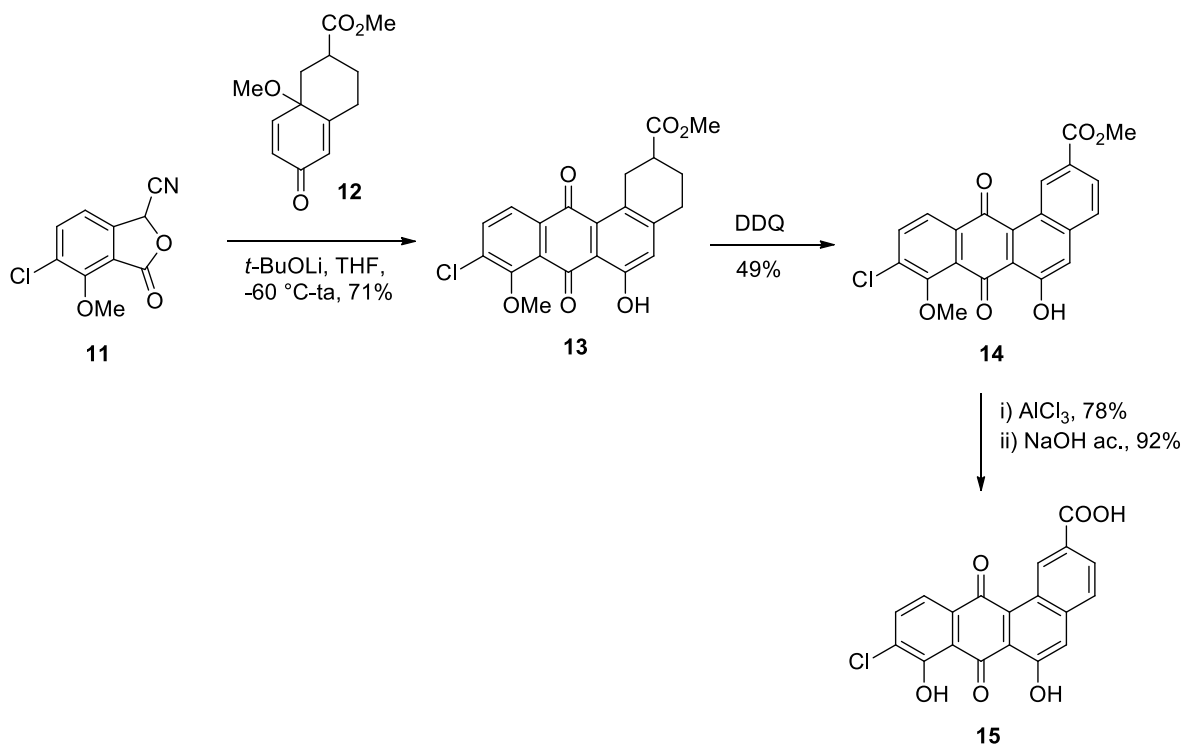
Figura 3. Ejemplos de 6-aza-análogos de anguciclinona naturales.

Considerando estos antecedentes, este tipo de quinonas policíclicas son de gran interés y fuente de inspiración para la búsqueda de nuevos compuestos capaces de actuar como inhibidores de tumores, y así desarrollar nuevas terapias contra el cáncer.

1.3.1 Síntesis de anguciclinonas

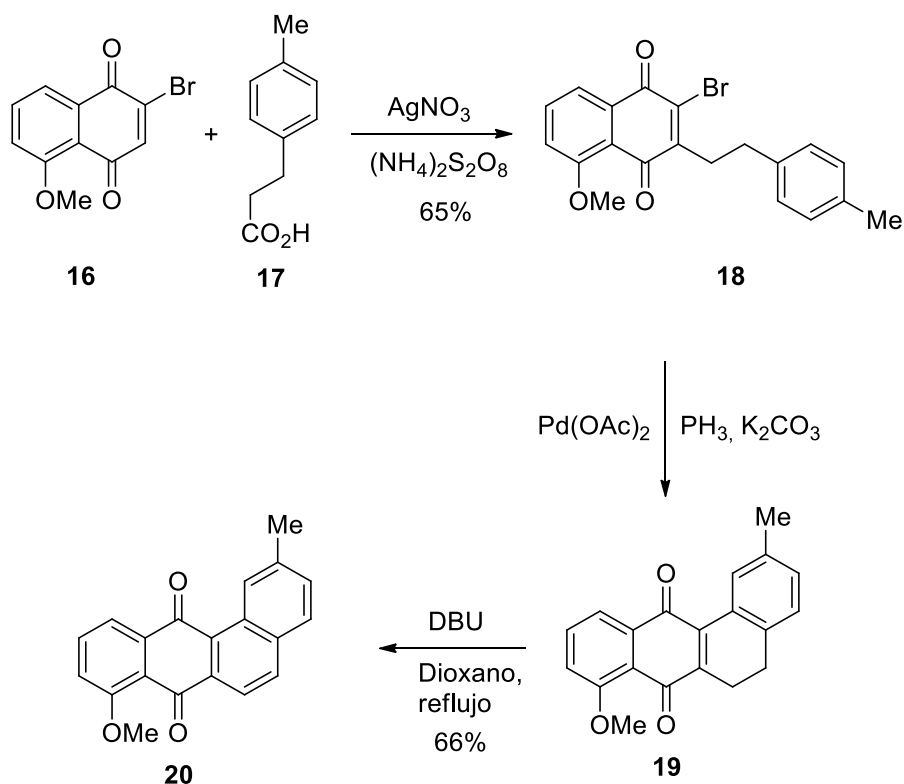
Además de las anguciclinonas de origen natural, existen varios derivados sintéticos obtenidos mediante diversas estrategias de síntesis, entre las cuales podemos encontrar adiciones nucleofílicas, adiciones electrofílicas, acoplamiento cruzado mediado por metales de transición, ciclación intramolecular, y reacciones de Diels-Alder.^{26,47-49} En el año 2006

Mal y colaboradores desarrollaron la síntesis de una anguciclinona clorada (**15**) mediante una cicloadición aniónica tipo [4 + 2] comúnmente llamada anulación de Hauser.⁴⁸ El paso clave de esta reacción consistió en tratar la ftalida **11** con una base fuerte (*tert*-butóxido de litio), lo cual generó un anión que reaccionó con **12**, dando lugar al esqueleto de la anguciclinona. Tras la aromatización del anillo A con DDQ, y la posterior demetilación e hidrólisis del éster, se obtuvo la anguciclinona **15** (Esquema 1).



Esquema 1. Síntesis de anguciclinona mediante anulación de Hauser.

Un ejemplo de acoplamiento cruzado catalizado por metales de transición, es la síntesis llevada a cabo por Ding y colaboradores, en la cual el derivado de naftoquinona **16** se alquila con el compuesto **17** mediante una alquilación radicalaria decarboxilante iniciada por AgNO₃/(NH₄)₂S₂O₈ que da como resultado el compuesto **18** (Esquema 2).⁵⁰ Luego se produce un acoplamiento intramolecular tipo Heck catalizado por Pd(OAc)₂ para dar lugar al anillo B del esqueleto de anguciclinona (compuesto **19**), que tras ser aromatizado genera la anguciclinona **20**.

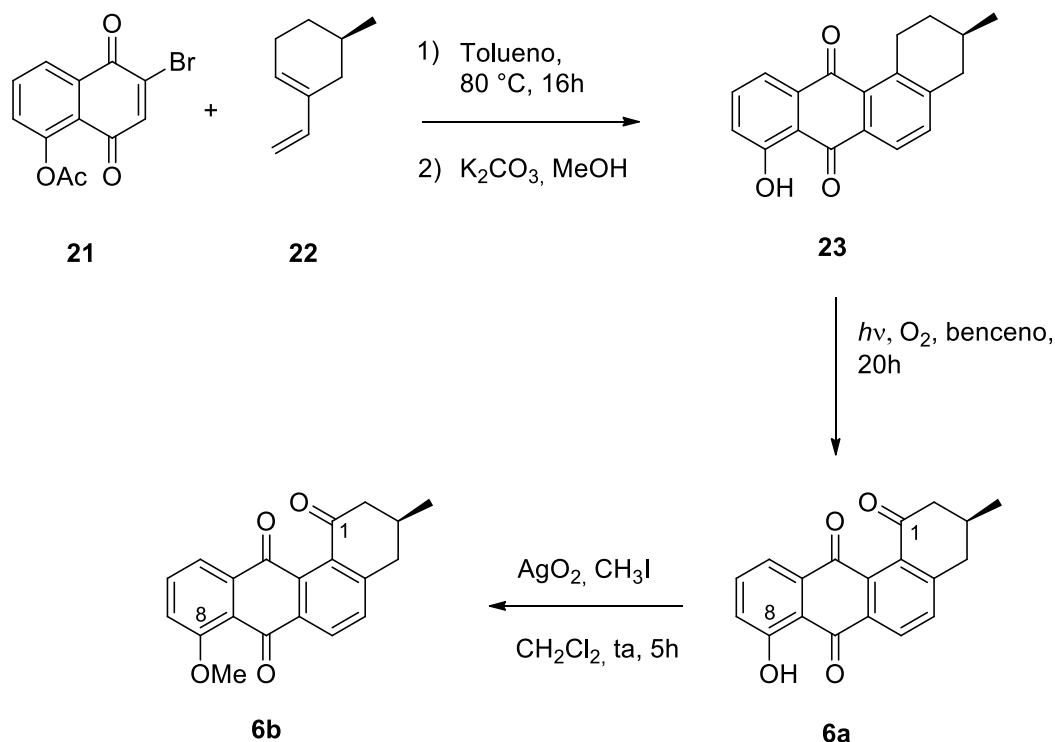


Esquema 2. Síntesis de una anguciclinona mediante un acoplamiento intramolecular tipo Heck.

En cuanto a las reacciones de Diels-Alder, estas destacan por ser las más utilizadas para la síntesis de los esqueletos tetracíclicos de las anguciclinas. Estas reacciones son reacciones pericíclicas concertadas, en las que un dieno y un dienófilo forman un anillo mediante una cicloadición [$\pi 4_s + \pi 2_s$], lo que significa que la reacción procede por una interacción suprafacial/suprafacial de un sistema de 4 electrones Π (diene) con un sistema de 2 electrones Π (dienófilo). Variando la estructura de los dienos y dienófilos, la reacción puede ser utilizada para la construcción regioselectiva y estereoselectiva de los diferentes anillos que conforman la estructura de las anguciclinonas. La síntesis de Guingant y Barreto fue la primera aplicación de esta metodología para la síntesis total de ocromicinona (**6a**), una anguciclinona natural.⁵¹

En el año 2007 Kaliappan y Ravikumar emplearon una reacción Diels-Alder entre 5-acetoxi-2-bromo-1,4-naftoquinona (**21**) y un vinil ciclohexeno quiral (**22**) para la síntesis

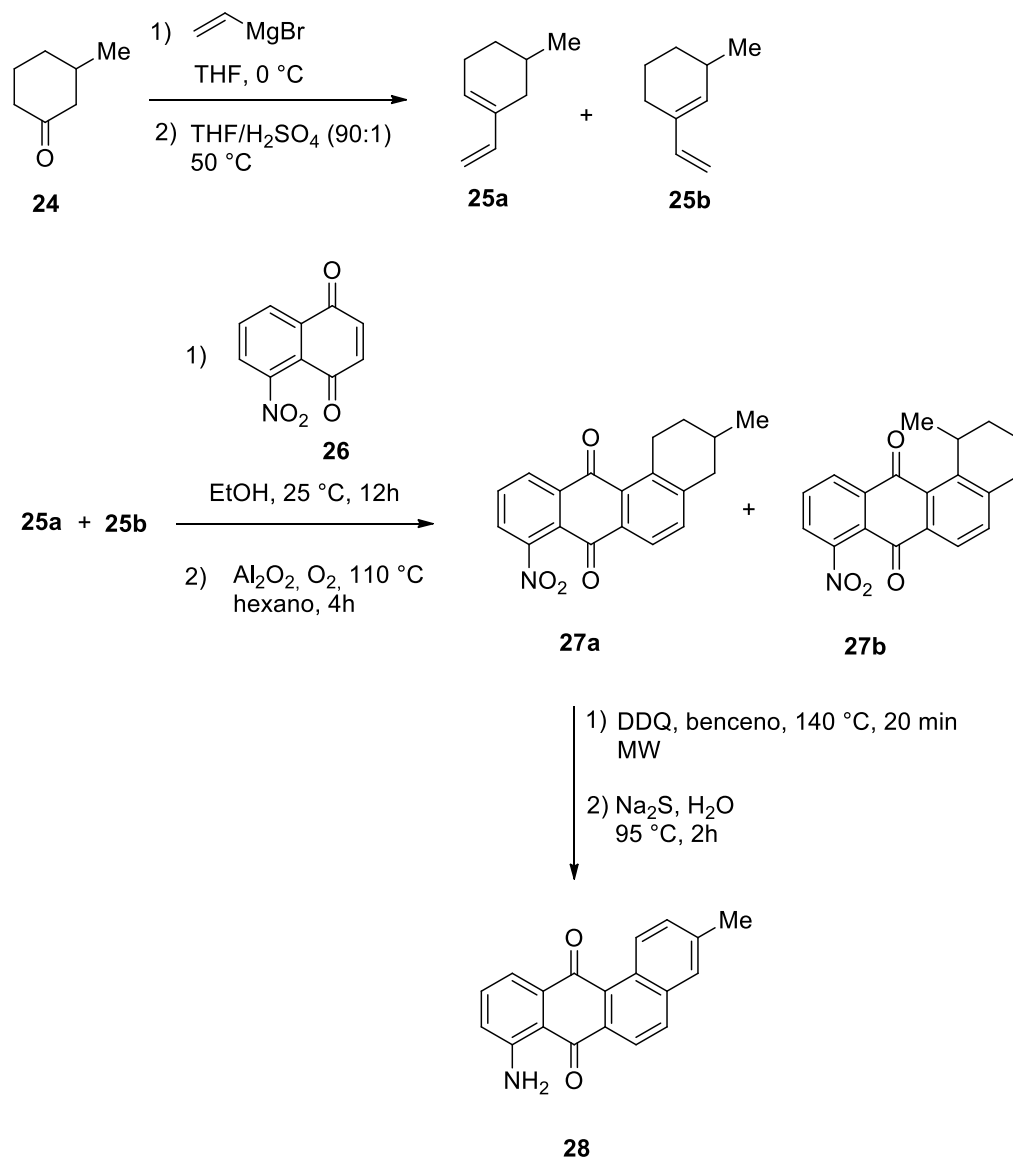
enantioselectiva de dos anguciclinonas naturales estrechamente relacionadas, ocromicinona (**6a**) y rubiginona B2 (**6b**) (Esquema 3).³³ En la primera etapa de la síntesis ocurre la reacción de Diels-Alder entre el dieno **22** y el dienófilo **21**, la cual forma un cicloaducto intermedio que al aromatizarse forma la anguciclinona **23**. Luego se introduce un carbonilo en C-1 mediante una foto oxidación regioselectiva, dando lugar a **6a**. Finalmente se metila el hidroxilo en C-8 para formar **6b**.



Esquema 3. Uso de una reacción de Diels-Alder en la síntesis de ocromicinona y rubiginona B2.

En el año 2009 Maugel y Snider empleando la estrategia de la cicloadición de Diels-Alder, sintetizaron derivados de marmicina A.⁵² Los vinil ciclohexenos **25a** y **25b** se prepararon como una mezcla de regioisómeros (en proporción 1,5:1) a partir de la reacción de un reactivo de Grignard con 3-metilciclohexanona (**24**) seguido de una deshidratación. La mezcla de dienos **25a** y **25b**, sin separar, se hizo reaccionar con la naftoquinona **26**, y los aductos de la reacción de Diels-Alder formados se oxidaron para obtener las anguciclinonas

27a (63 % de rendimiento) y **27b** (7 % de rendimiento). La aromatización del anillo A y la subsecuente reducción del grupo nitro producen la anguciclinona **28** (Esquema 4).



Esquema 4. Uso de una reacción de Diels-Alder para la construcción del esqueleto carbotetracíclico de las anguciclinonas.

1.3.2 Síntesis de aza-análogos de anguciclinonas

Se ha observado que la sustitución de un átomo o parte de la molécula por un isómero, el cual es un grupo químico con tamaño y propiedades electrónicas similares, produce

análogos con igual o mayor potencia al mejorar las interacciones del compuesto con su sitio de acción. Un cambio isostérico común es el reemplazo de uno o más átomos de carbono de un sistema cíclico por átomos de nitrógeno.^{53,54} Las características básicas y de atrayente de electrones de los *N*-heterociclos aumentan su afinidad por dianas biológicas y la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) a través del ciclo redox, lo que en el caso de las angucilinas puede significar un aumento en su actividad citotóxica.⁵⁵

Este tipo de sustitución isostérica se ha llevado a cabo en algunas drogas anticáncer, como los 9-aza-antrapirazoles **29a** y **29b** (Figura 4) sintetizados por Krapcho y colaboradores.^{56,57} Estas modificaciones han producido aza-análogos activos como antitumorales, lo que ha situado a esta modificación como una estrategia efectiva para el diseño de nuevos compuestos con potencial actividad anticáncer.

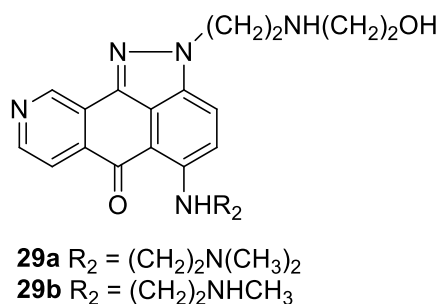
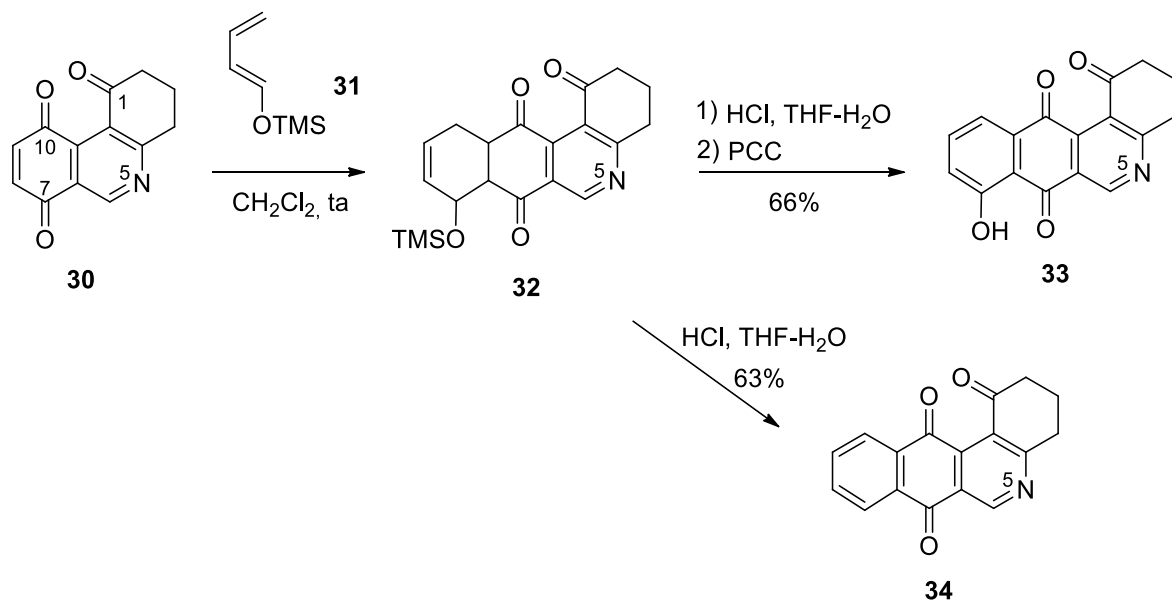


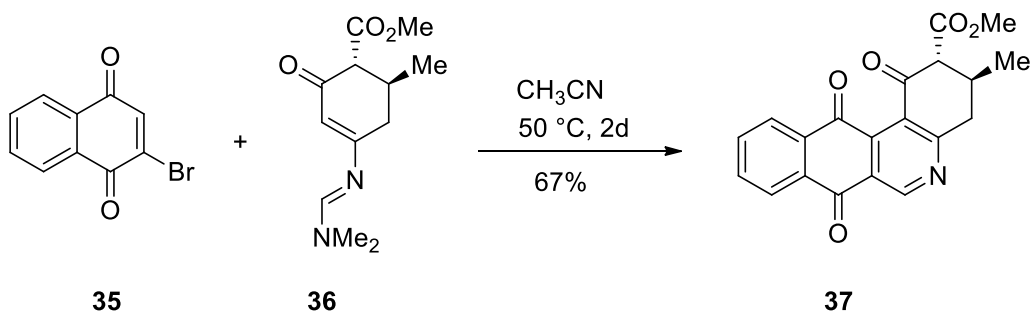
Figura 4. 9-aza-antrapirazoles sintetizados por Krapcho y colaboradores.

En el año 2006, Valderrama y colaboradores sintetizaron una serie de 5-aza-análogos de anguciclina. Los autores emplearon la reacción de Diels-Alder como pilar fundamental en la construcción de estos nuevos compuestos. Por ejemplo, se realizó el acoplamiento entre el dieno (**31**) y fenantridina-1,7,10-triona **30**, por esta vía se obtuvo el compuesto **32** que contiene nitrógeno en la posición 5, el que posteriormente se transformó en los derivados **33** y **34** (Esquema 5).⁵⁸



Esquema 5. Síntesis de una 5-aza-anguciclinona mediante una reacción de Diels-Alder.

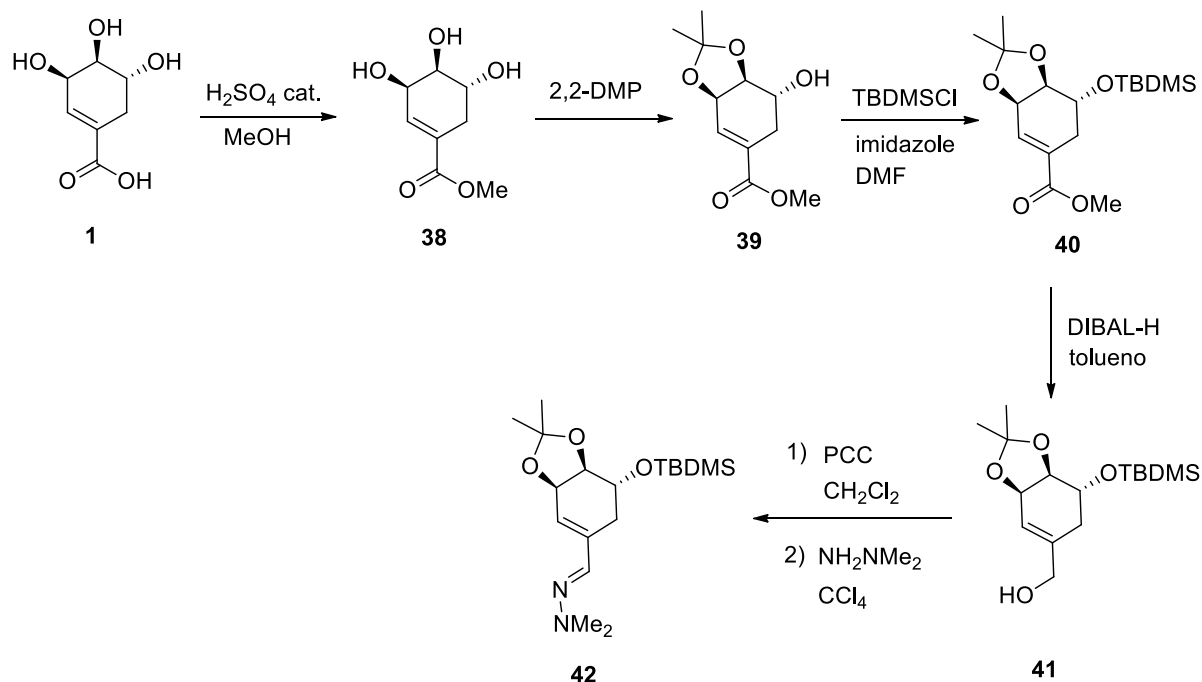
Sissouma y colaboradores sintetizaron 5-aza-análogos de anguciclinona mediante la una reacción hétero Diels-Alder entre 2-bromo-1,4-naftoquinona (**35**) y un dieno *push-pull* (**36**) (Esquema 6).⁵⁹ La reacción se llevó a cabo empleando acetonitrilo como solvente y calentando la mezcla de reacción por dos días. La reacción, que fue regioselectiva, dio como producto, con un 67 % de rendimiento, el 5-aza-análogo de anguciclinona **37** que presenta una aromatización en el anillo B.



Esquema 6. Síntesis de la 5-aza-anguciclinona **37**.

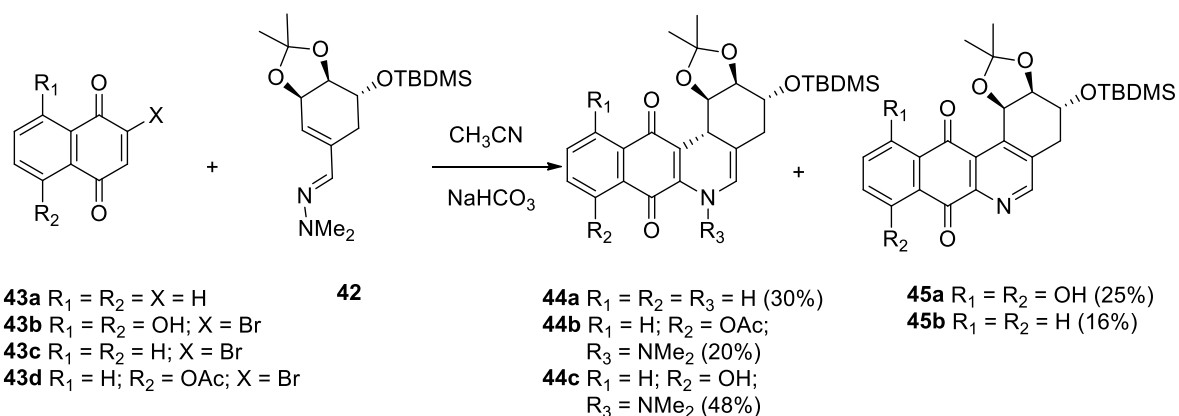
Recientemente, en el año 2015, Cuellar y colaboradores emplearon esta misma estrategia para sintetizar 6-aza-análogos de anguciclinona.⁶⁰ Para lo cual sintetizaron el aza-dieno (**42**) a partir del (-)-ácido shikímico (**1**). El primer paso para la obtención del aza-dieno **42** fue la

esterificación de **1** para obtener el éster de metilo **38**. A continuación, se protegieron los hidroxilos en *cis* dando como producto el éster **39**. Luego se silitó **39** con cloruro de *tert*-butil dimetilsilil para formar el éster **40** que luego fue reducido con DIBAL-H para formar el alcohol **41**. El aza-dieno **42** se obtuvo a partir de la oxidación de **41** con PCC seguido por un tratamiento con 1,1-dimetilhidrazina (Esquema 7).



Esquema 7. Síntesis del aza-dieno **42** a partir de (-)-ácido shikímico.

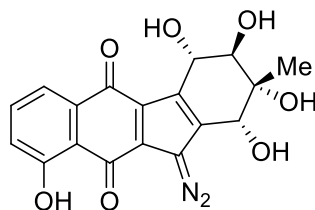
El aza-dieno **42** se hizo reaccionar con cuatro naftoquinonas (**43a-d**) dando como producto cinco nuevos 6-aza-análogos de anguciclinona (**44a-c** y **45a, b**) (Esquema 8). En el caso de los compuestos **44a-c** se formó el aducto de la cicloadición de Diels-Alder, mientras que los compuestos **45a** y **45b** presentan una aromatización completa del anillo B.



Esquema 8. Reacción hetero-Diels-Alder entre el aza-dieno **42** y los derivados de 1,4-naftoquinona **43a**, **43b**, **43c**, **43d**.

1.6 Citotoxicidad de las anguciclinonas

Como se mencionó con anterioridad, las anguciclinonas poseen una amplia variedad de actividades biológicas, entre ellas destaca su actividad antibacteriana y antitumoral.²⁷⁻³⁰ La citotoxicidad de estos compuestos puede deberse a diferentes mecanismos de acción al interior de las células. Por ejemplo, la kinamicina F (**46**), un derivado de anguciclinona que presenta un grupo diazo, induce la apoptosis y desregula la ciclina D3 (proteína implicada en el ciclo celular) en células de leucemia humana K562.⁶¹ También induce la ruptura del ADN e inhibe la actividad de la topoisomerasa II α en la línea celular K562 con un IC₅₀ = 0,33 μ M.⁶² En el año 2006, Feldman y Eastman publicaron un mecanismo para explicar la reactividad de **46** mediante la reducción a semiquinona, que luego por resonancia y un subsecuente ataque intramolecular causa la salida de diazida como gas nitrógeno, formando una especie radicalaria.⁶³



46

Figura 5. Estructura de la kinamicina F.

Las marmicinas **47a** y **47b** (Figura 6), análogos de anguciclinonas producidos por actinomicetes marinos, han mostrado actividad citotóxica destacable contra células de cáncer de colon humano HCT-116. Los compuesto **47a** y **47b** tienen un IC_{50} de 60,5 nM y 1,09 μ M, respectivamente.⁶⁴ Cabe destacar que el derivado clorado fue mucho menos activo que el no halogenado, a pesar que las halogenaciones usualmente mejoran la citotoxicidad de las moléculas bioactivas.⁶⁴

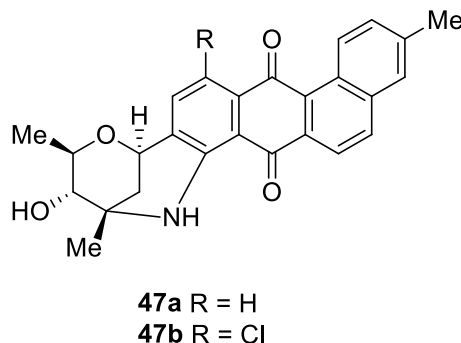


Figura 6. Marmicinas aisladas a partir de actinomicetes marinos.

La landomicina A (**48**), un antibiótico de la familia de las anguciclinas aislado y caracterizado por Henkel y Rohr en 1990 a partir de *Streptomyces cyanogenus* S136, ha mostrado actividad de disrupción del ciclo celular, perturba el consumo de timidina [3 H] en células de músculo liso de murinos, disminuyendo en consecuencia la síntesis de ADN, y ha presentado actividad contra varias líneas celulares de cáncer.⁶⁵⁻⁶⁸ En un estudio realizado en la línea celular de cáncer de mama MCF-7 presentó un $IC_{50} = 2,5 \mu$ M.⁶⁸

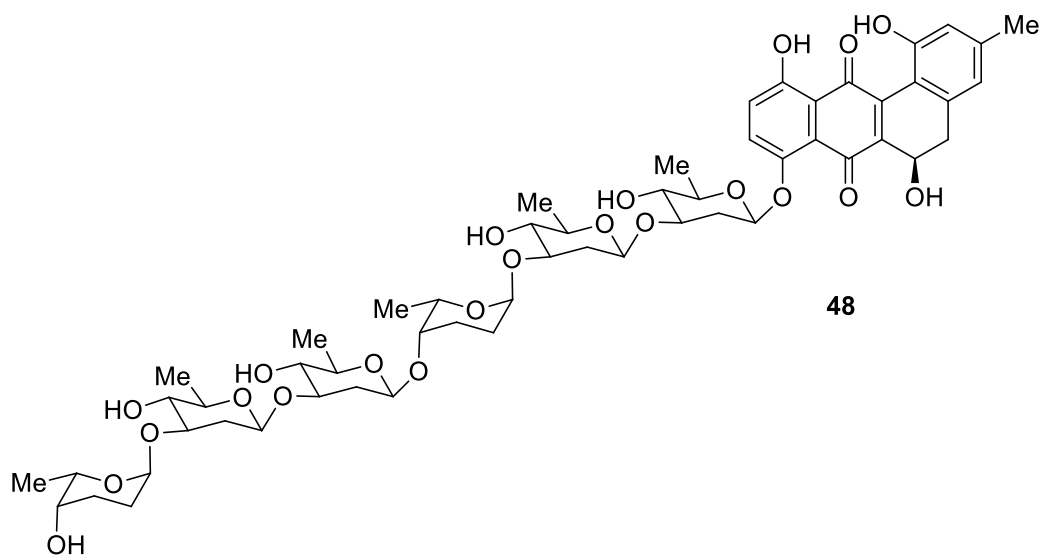


Figura 7. Estructura de landomicina A.

En cuanto a los aza-análogos de anguciclinona, podemos destacar las 5-aza-anguciclinonas sintetizadas por Valderrama y colaboradores, las cuales fueron evaluadas *in vitro* contra varias líneas de células tumorales humanas.^{58,69} La 5-aza-anguciclinona **33** mostró actividad de IC_{50} $1,6 \mu g mL^{-1}$ contra células AGS (adenocarcinoma gástrico). La incorporación de un segundo nitrógeno en el anillo D en la posición 8- produjo el compuesto más prometedor, **49**, el cual presentó un IC_{50} con un rango entre $0,73-2,4 \mu g mL^{-1}$ contra varias líneas celulares, comparable al conocido inhibidor de topoisomerasa II, etopósido ($0,36-2,8 \mu g mL^{-1}$), usado en el tratamiento de varios tipos de cáncer.⁷⁰

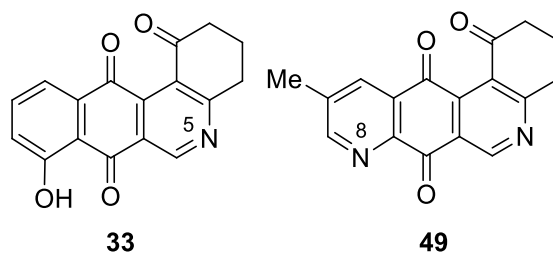


Figura 8. 5-aza-anguciclinonas sintetizadas por Valderrama y colaboradores (**33** y **49**).

En cuanto a los 6-aza-análogos de anguciclinona, podemos mencionar los sintetizados por Jakeman y colaboradores, quienes sintetizaron varios derivados de jadomicina B sustituyendo L- y D- amino ácidos en el fragmento oxazolona.^{71,72} Los compuestos al ser evaluados en la línea celular de cáncer de mama, MDA-MB-435, arrojaron buenos resultados. Por ejemplo, el compuesto **50a** presentó $EC_{50} = 1,06 \mu\text{M}$, **50b** $2,82 \mu\text{M}$, **50c** $1,15 \mu\text{M}$, y **50d** $1,34 \mu\text{M}$ (Figura 9). Ensayos de movilidad de gel demostraron que los derivados de jadomicina pueden actuar como agentes de escisión del ADN.⁷³

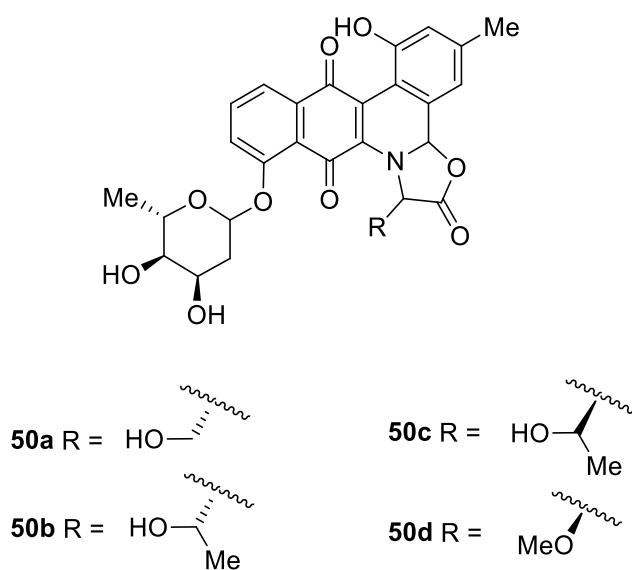
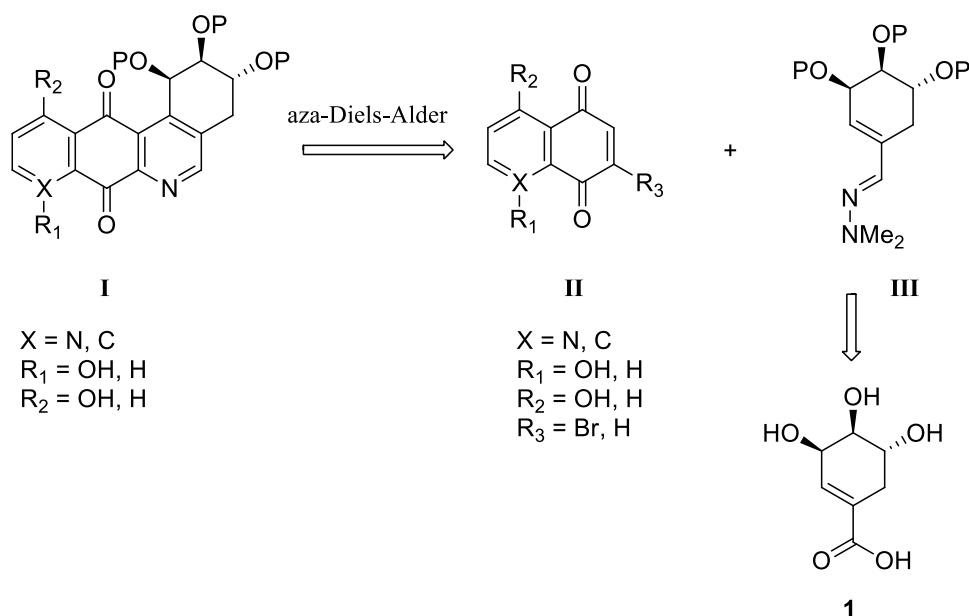


Figura 9. Análogos de jadomicina B.

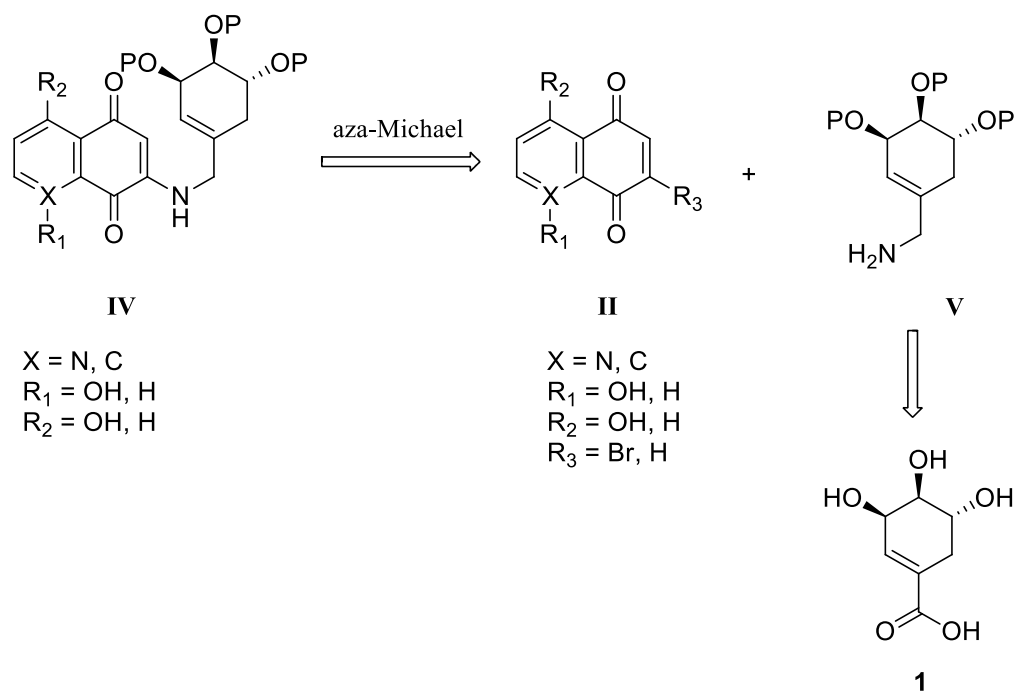
1.7 Investigación propuesta

Considerando los reportes sobre anguciclinonas que presentan actividad citotóxica contra diferentes tipos de cáncer, más el hecho de que los cambios isostéricos C-N pueden potenciar la actividad biológica de los compuestos, se propuso como trabajo de investigación la síntesis de nuevos 6-aza-análogos de anguciclinona. Del análisis retrosintético mostrado en el Esquema 9, se desprende que los 6-aza-análogos de anguciclinona, representados por la estructura general **I**, se obtendrán a partir de una reacción aza-Diels-Alder entre los dienófilos derivados de naftoquinona **II** y un aza-dieno (**III**) derivado del (-)-ácido shikímico **1**. Los nuevos 6-aza-análogos que se obtengan serán evaluados mediante ensayos de viabilidad celular en tres líneas de cáncer humano: cáncer de próstata PC-3, cáncer de colon HT-29, y cáncer de mama MCF-7. Con los datos de viabilidad celular se procederá a construir un modelo de relación estructura-actividad cuantitativa (QSAR, por sus siglas en inglés) que permita relacionar la estructura de los compuestos con su actividad biológica, y de esta forma servir de orientación para la síntesis de nuevos compuestos.



Esquema 9. Esquema retrosintético de la síntesis de 6-aza-anguciclinonas.

Por otra parte, se propone realizar la síntesis de una serie de derivados de aminonaftoquinona a partir del (-)-ácido shikímico, representados por la estructura general **IV** (Esquema 10) con el fin de establecer si la estructura tetracíclica de las anguciclinonas juega un papel importante en el efecto citotóxico. En el análisis retrosintético presentado en el Esquema 10, se muestra que los derivados de aminonaftoquinona se obtendrán mediante una reacción tipo Michael entre una amina primaria (**V**), derivada de **1**, y las naftoquinonas **II**. Las aminonaftoquinonas sintetizadas serán evaluadas *in vitro* en las mismas líneas celulares que los 6-aza-análogos de anguciclinona para efectos comparativos.



Esquema 10. Esquema retrosintético de la síntesis de aminonaftoquinonas.

Se propone el uso de **1** como compuesto de partida debido a sus grupos funcionales que pueden ser sometidos a diversas modificaciones. Los grupos hidroxilos de **1** serán protegidos con diferentes grupos protectores para otorgarle variabilidad estructural.

2. HIPÓTESIS

Dada la potencia que presentan ciertas anguciclinonas en los ensayos biológicos con células cancerosas, se postula que los nuevos derivados de 6-aza-anguciclinonas que se sintetizarán, tendrán actividad biológica contra las líneas celulares de cáncer, y que además dicha actividad dependerá de la estructura tridimensional restringida de estos compuestos, junto con algunas propiedades de sus sustituyentes, como la lipofilia, electronegatividad, volumen, y la orientación espacial de estos.

3. OBJETIVOS

Objetivo general:

- Desarrollar la síntesis y evaluación de citotoxicidad para nuevos 6-aza-análogos de anguciclinona y aminonaftoquinonas obtenidos desde (-)- ácido shikímico y establecer un análisis *in silico* de relación actividad estructura bajo modelos 2D QSAR y 3D QSAR.

Objetivos específicos:

- Desarrollar la síntesis de los dienos **56**, **60** y **64**, a partir del (-)-ácido shikímico. (Esquemas 11,12 y 13)
- Realizar la síntesis de nuevos 6-aza-análogos de anguciclinona, mediante una reacción de cicloadición Diels-Alder entre los dienos **56**, **60** y **64**, y diferentes naftoquinonas sustituidas (Esquemas 14, 15, 17, 18, 20 y 21)
- .Evaluar la citotoxicidad de los nuevos 6-aza-análogos, en 4 líneas celulares: MCF-7 (línea celular de cáncer de mama), HT-29 (línea celular de cáncer de colon), PC-3 (línea celular de cáncer prostático) y CoN (células epiteliales de colon normales; línea de control).
- Desarrollar modelos 2D QSAR y 3D QSAR en base a resultados obtenidos para establecer una relación estructura-actividad de los nuevos derivados sintetizados.
- Realizar la síntesis de la amina primaria **102** desde (-)- ácido shikímico. (Esquema 25)
- Sintetizar nuevas aminonaftoquinonas según esquemas, mediante reacción de adición de Michael entre la amina primaria **102** y diferentes naftoquinonas sustituidas (Esquemas 26 y 27)
- Evaluar la citotoxicidad de las nuevas aminonaftoquinonas, en 4 líneas celulares: MCF-7, HT-29, PC-3 y HEK (células embrionarias de riñón; línea de control).

4. METODOLOGÍA

4.1 Materiales y métodos químicos

Reactivos: Todos los productos químicos como biológicos fueron obtenidos desde Merck[®] y/o Sigma-Aldrich[®].

Puntos de fusión (p.f.): Fueron determinados en triplicado, utilizando el aparato Stuart SMP30[®].

Rotaciones específicas ($[\alpha]_D$): Se determinaron en un polarímetro Polax-2L[®] con una lámpara LED ($\lambda = 589$ nm, en la línea D) en una celda de 1 dm. Las mediciones se realizaron en soluciones de diclorometano o cloroformo, según se indique. Las concentraciones se expresan en gramos por 100 mL.

Espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN-¹H y ¹³C): Se registraron en un espectrómetro de 400 MHz modelo Bruker[®] Avance 400. Los espectros fueron llevados a cabo en una solución de cloroformo deuterado, utilizando como referencia las señales residuales de CHCl₃, $\delta = 7,26$ ppm y $\delta = 77,0$ ppm para ¹H y ¹³C.

Cromatografía en capa fina: Se realizaron en cromatofolios de gel de sílice marca Merck[®] 60F₂₅₄. Se empleó como eluyente mezclas de acetato de etilo/hexano en proporciones adecuadas a cada muestra. Los cromatogramas se revelaron con Hanessian's (solución de sulfato de selenio y molibdato amonio en H₂SO₄ 10 %) y con luz UV (Lámpara UV (254 nm y 365 nm) Viber Loumat[®]).

Cromatografía en columnas: Se realizaron con gel de sílice de Merck 60 (0.040-0.063 mm). Los eluyentes fueron mezclas de Acetato de etilo y hexano aplicadas en gradientes de polaridad. Todos los productos fueron concentrados bajo presión reducida a 40 °C en un Rotavapor Buchi[®] R210.

4.2 Materiales y métodos computacionales

Modelación de estructuras: Se utilizó el software ChemDraw® Ultra 12.0 para los modelos bidimensionales.^{74,75} Para los modelos tridimensionales se empleó el software Chem3D® Pro 12.0.⁷⁶

Minimización de energía: Para minimizar la energía de los conformeros se empleó la herramienta de mecánica molecular MM2 del software Chem3D® Pro 12.0.⁷⁶

Descriptores fisicoquímicos: Los descriptores fisicoquímicos de las moléculas, tales como la lipofilia y la refractividad molar, se calcularon empleando el software ChemDraw® Ultra 12.0.⁷⁴ Mientras que las cargas atómicas de Mulliken se calcularon con el software Gaussian 09.⁷⁷

2D-QSAR: Los análisis de regresión multivariable para la obtención del mejor modelo se hicieron con el software de estadística STATISTICA 12.⁷⁸

3D-QSAR: Los modelos CoMFA y CoMSIA se desarrollaron mediante el software SYBYL-X 1.2.⁷⁹

Análisis estadísticos: Los análisis estadísticos necesarios para determinar la correlación lineal de los modelos y para producir los gráficos, se llevaron a cabo con el software Prism 6.⁸⁰ Los estudios de regresión lineal múltiple se hicieron con el software Statistica 12.⁷⁸ Además se empleó el software Microsoft Excel para uso general y manejo de datos.

4.3 Materiales y métodos biológicos

Líneas celulares: Se utilizaron tres líneas de células tumorales: una de mama (MCF-7), una de colon (HT-29) y una de próstata (PC-3), además se utilizó una línea de células no tumoral como control (epitelio de colon humano, CoN).

Cultivos celulares: Los cultivos celulares experimentales se obtienen de American Type Culture Collection. Las células MCF-7 (línea de cáncer de mama), HT-29 (línea de cáncer de colon), PC-3 (línea de cáncer de próstata) y células epiteliales de colon (CoN) se cultivan en medio DMEM que contiene 10 % de FCS, 100 U/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomina y 1 mM de glutamina. Las células se siembran en placas de microtitulación de 96 pocillos, se siembran 100 µL obteniéndose una densidad de 3×10^3 células por pocillo. Para lograr la fijación de las células, estas son incubadas por 24 horas a 37 °C bajo ambiente humidificado con 5 % de CO₂. Posterior a este proceso, las células son tratadas con los compuestos de prueba a diferentes concentraciones e incubadas por 72 horas bajo las mismas condiciones. La solución madre de los compuestos a probar se prepara en DMSO y la concentración final de este disolvente se mantiene constante a 0,1 %. Los cultivos de control reciben solo DMSO al 0,1 %.

Ensayo de inhibición de la viabilidad celular en líneas de cáncer: El ensayo de sulforrodamina se utiliza de acuerdo con el método de Skehan y colaboradores.⁸¹ En resumen, las células se montan en una densidad de 3×10^3 por pocillo, en una microplaca de fondo plano (200 µL) de 96 pocillos. Las células son incubadas a 37 °C en una mezcla humidificada de 5 % CO₂ y 95 % mezcla de aire y expuestas a los diferentes compuestos y a diferentes concentraciones por 72 horas. Finalizando el tiempo de exposición a las drogas, las células son fijadas con ácido tricloroacético 50 % a 4 °C por una hora. Después de lavar con agua, las células se tiñen con sulforrodamina B (0,4 % en ácido acético 1 % (50 µL/pocillo) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), durante 30 minutos y posteriormente se lava con ácido acético 1 % hasta remover el excedente de tintura. Las proteínas unidas a la tintura son solubilizadas con 100 µL de solución de Tris tamponada 10 mM, y la densidad celular se determina usando un lector de placas de fluorescencia (longitud de onda 540 nm).

Los valores informados son la media \pm DE de tres experimentos independientes por triplicado.

Análisis estadístico: Todos los datos son expresados como porcentaje comparados con el tratamiento control, que fueron asignados arbitrariamente con un 100 %. Para todas las comparaciones las diferencias se consideraron estadísticamente significativas para valores de $p < 0,05$.

Lector de Placas: Se utilizó en la determinación de la actividad inhibitoria del crecimiento de células tumorales, un espectrofotómetro multiscan Sensident Scan (Merck, Alemania), a $\lambda=540$ nm.

Abreviaturas de RMN

RMN: resonancia magnética nuclear.

RMN-¹H: resonancia magnética nuclear de protones.

RMN-¹³C: resonancia magnética nuclear de carbono 13.

s: singlete.

sa: singlete ancho.

d: doblete.

da: doblete ancho.

t: triplete.

dd: doble doblete.

dt: doble triplete.

ddd: doblete de doble doblete.

ddt: doblete de doble triplete.

m: multiplete.

δ: desplazamiento químico (ppm).

J: constante de acoplamiento (Hz).

DEPT: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer.

HSQC: Heteronuclear Single Quantum Correlation.

HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Connectivities.

NOESY: Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy.

Abreviaturas de reactivos

Me: CH₃.

THF: tetrahidro furano.

PCC: clorocromato de piridinio.

NH₄OAc: acetato de amonio.

EtOH: etanol.

MeOH: metanol.

ta: temperatura ambiente.

***t*-BuOLi:** *terc*-butóxido de litio.

DDQ: 2,3-Dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona.

DBU: 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno.

MW: radiación de microondas.

2,2-DMP: 2,2-dimetoxipropano.

TBDMSCl: cloruro de *terc*-butildimetilsilil.

DMF: dimetilformamida.

DIBAL-H: hidruro de diisobutil aluminio.

CAN: nitrato de cerio y amonio.

Abreviaturas de técnicas

CCF: cromatografía en capa fina.

CC: cromatografía en columna.

P.F.: punto de fusión.

[α]_D: rotación específica.

Enumeración de posiciones atómicas

Las posiciones de los átomos de los compuestos sintetizados se enumeraron tal como se muestra en la Figura 10. Se utiliza esta numeración para describir las asignaciones espectroscópicas de RMN- ^1H y ^{13}C .

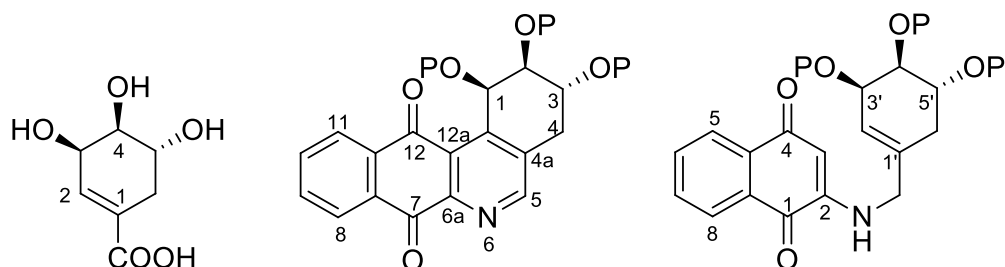


Figura 10. Numeración de derivados de (-)-ácido shikímico, anguciclinonas y aminonaftoquinonas

Adicionalmente, los cuatro anillos que conforman las anguciclinonas, se nombran empleando las letras, A, B, C y D, tal como se muestra en la Figura 11.

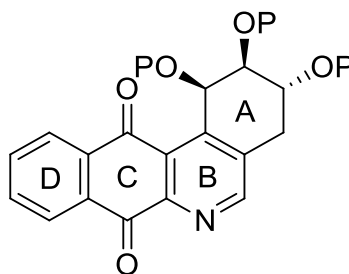


Figura 11. Identificación de los cuatro anillos de las anguciclinonas.

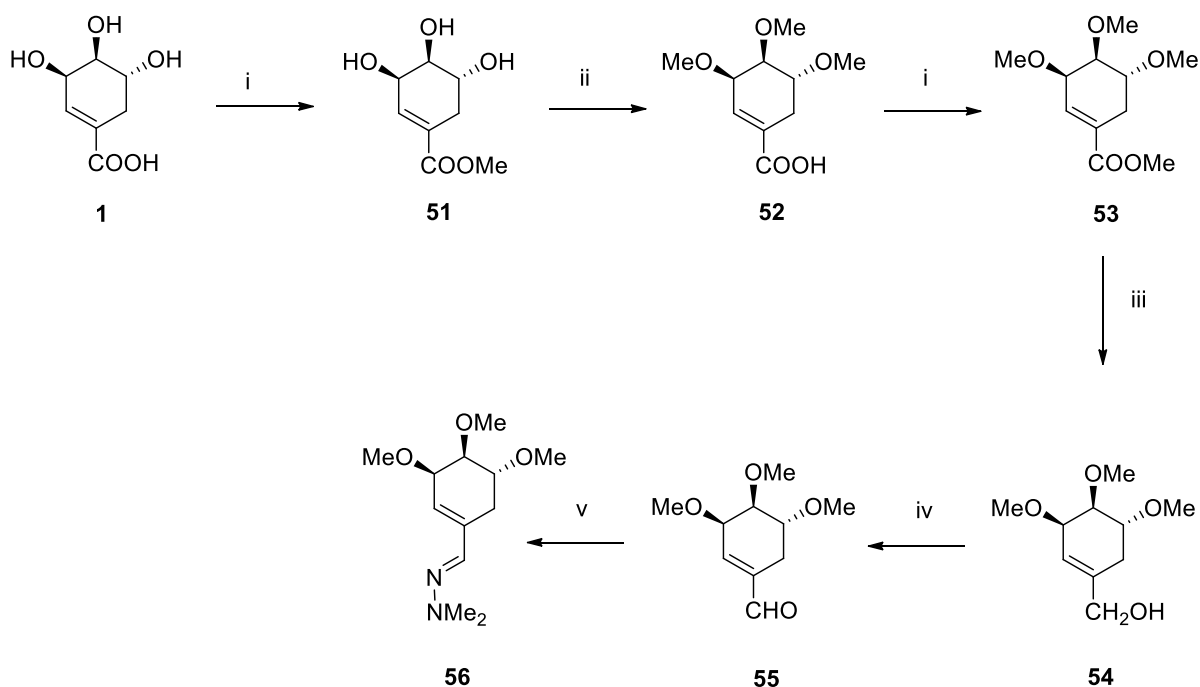
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Síntesis de aza-dienos

Como primera etapa en la síntesis de los nuevos 6-aza-análogos de anguciclinona fue necesario llevar a cabo la síntesis de tres aza-dienos derivados del (-)-ácido shikímico (**56**, **60**, y **64**); los que posteriormente fueron empleados en las reacciones de Diels-Alder que dieron lugar a los nuevos derivados de 6-aza-anguciclinona.

5.1.1 Síntesis de aza-dieno **56**

La síntesis del aza-dieno **56** se realizó en 6 pasos con un rendimiento global del 14 % (Esquema 11).



Esquema 11. Reactivos y condiciones: (i) CH₃OH, H₂SO₄ cat., reflujo, 6 h (99 %); (ii) NaOH, CH₃I, CH₃CN, t.a., 8 h (73 %); (iii) DIBAL-H, tolueno anhidro, -78 °C, 2 h (92 %); (iv) PCC, CH₂Cl₂, t.a. 1 h (51 %); (v) *N,N*-dimetilhidrazina, CH₂Cl₂, t.a., 16 h (42 %).

El primer paso consistió en la esterificación de Fischer del compuesto **1**, con lo que se logró obtener el shikimato de metilo **51** como un sólido blanco y un rendimiento del 99 %. Luego, los tres hidroxilos del éster **51** fueron metilados empleando NaOH como base para remover los protones de los hidroxilos, y CH₃I como agente alquilante. De esta manera se obtuvo el ácido carboxílico **52** como un aceite amarillo oscuro. Una de las limitantes observadas en el proceso, es la hidrólisis del grupo metil éster del compuesto deseado, **53**, esto es debido a la fuerte condición básica de la reacción. Como muestra el Esquema 11 mediante una consecutiva esterificación, el compuesto **53** fue obtenido como un aceite de color amarillo, para el cual su estructura fue comprobada en base a las señales espectroscópicas de RMN-¹H y RMN-¹³C. En el espectro de RMN-¹H, se observa una señal singlete δ 3,71 ppm, que integra para 3 hidrógenos, correspondiente al grupo metilo del éster, y otras dos señales singletes a δ 3,47 ppm y 3,39 ppm, que integran para seis y tres hidrógenos, respectivamente, correspondientes a los hidrógenos de los grupos metoxilos. En el espectro de RMN-¹³C, las señales correspondientes a los carbonos de los tres grupos metoxilos, aparecen a δ 58,6, 57,3, y 51,1 ppm. Las señales anteriormente mencionadas concuerdan con las reportadas en la literatura.⁸²

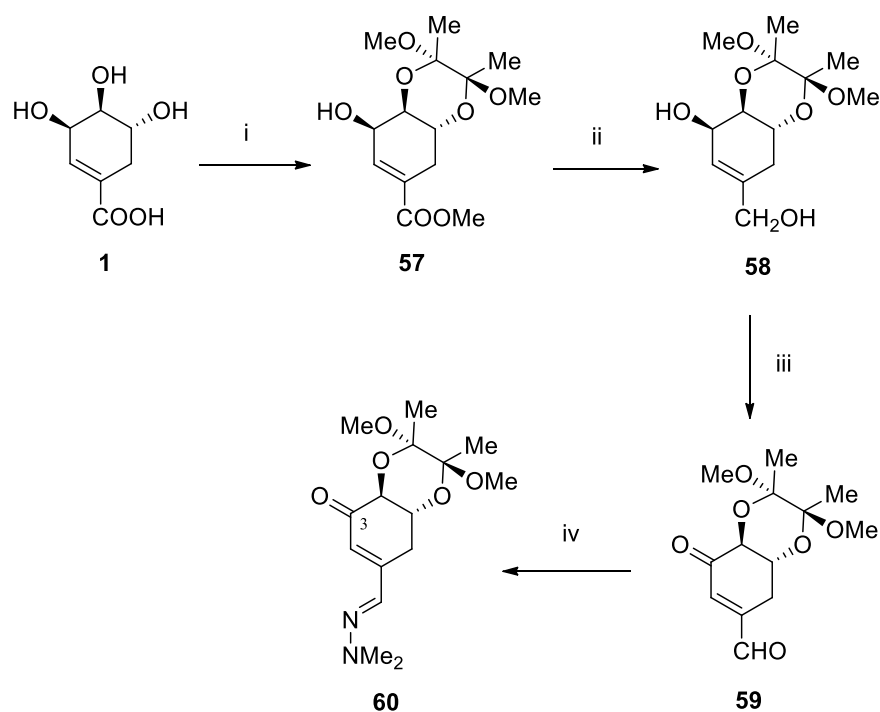
Una vez obtenido el compuesto **53**, se procedió a reducir el grupo éster mediante el uso de DIBAL-H, dando como resultado el alcohol primario **54** como un aceite incoloro con rendimiento del 92 %.⁶⁰ La obtención de este compuesto se verificó al observar una señal singlete a δ 4,00 ppm que integra para dos hidrógenos, la cual corresponde a los hidrógenos carbinólicos (CH₂OH). Además, en el espectro de DEPT-135 se aprecia una nueva señal del carbono carbinólico CH₂OH a δ 66,0 ppm.

Posteriormente el compuesto **54** se oxidó empleando PCC, el cual es un agente oxidante suave, capaz de oxidar el alcohol primario hasta el aldehído α,β -insaturado **55**. El compuesto **55** se obtuvo como un aceite de un color amarillo claro con un rendimiento de reacción de 51 %, y su estructura se comprobó al observar en el espectro de RMN-¹H una señal singlete a δ 9,43, correspondiente al hidrógeno del grupo aldehído, y en RMN-¹³C una señal a δ 193,4 ppm correspondiente al grupo carbonilo. Finalmente, el aza-dieno **56** se obtuvo al tratar el aldehído α,β -insaturado **55** con *N,N*-dimetilhidrazina. El aza-dieno **56** se obtuvo como un aceite amarillo en un rendimiento del 42 %. La estructura del aza-dieno se

confirmó por dos nuevas señales en el espectro de RMN-¹H; la primera a δ 2,83 ppm (6H, s), la cual se asignó a los protones del grupo dimetilamina (N(CH₃)₂), y la segunda a δ 6,93 ppm (1H, s) que fue asignada al protón de la imina. En el espectro de RMN-¹³C, la señal correspondiente a los dos carbonos del grupo dimetilamina aparece a δ 42,7 ppm, mientras que la señal del carbono del grupo imina aparece a δ 137,0 ppm.

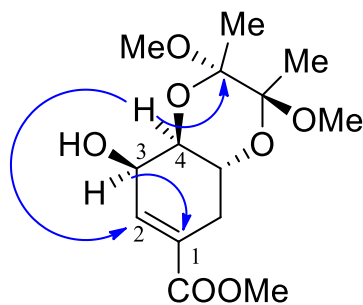
5.1.2 Síntesis del aza-dieno 60

Teniendo en cuenta que algunas anguciclinonas naturales como ocromicinona (**6a**) y rubiginona D2 (**7**) presentan un grupo carbonilo en C-1, se propuso sintetizar un dieno que permitiera incorporar este patrón estructural en los nuevos derivados propuestos. Para ello se optó por un grupo protector que permitiera proteger los grupos hidroxilos vecinales *trans* del (-)-ácido shikímico, dejando el hidroxilo de la posición 3- libre para luego ser oxidado. La síntesis del aza-dieno **60** se llevó a cabo en 4 pasos (Esquema 12).



Esquema 12. Reactivos y condiciones: (i) butanodiona, CH(OCH₃)₃, H₂SO₄ cat., MeOH, reflujo, 48 h (49 %); (ii) DIBAL-H, tolueno anhidro, -78 °C, 4 h (67 %); (iii) PCC, CH₂Cl₂, t.a., 2 h (52 %); (iv) *N,N*-dimetilhidrazina, CH₂Cl₂, t.a., 16 h (33 %).

El primer paso consistió en la protección selectiva de los grupos hidroxilos en disposición *trans* mediante el uso de butanodiona y ortoformiato de trimetilo en metanol, calentando a reflujo en medio ácido; en este proceso se genera simultáneamente el éster de metilo. El compuesto **57** se obtiene como un sólido blanco en un 49 % de rendimiento.⁸³ La protección de los hidroxilos *trans* se verificó mediante RMN mono y bidimensional, en el espectro HMBC se observa una señal a δ 4,37 ppm asignada como H-4 la cual presenta correlaciones $^3J_{\text{HC}}$ con uno de los carbonos cuaternarios del grupo protector (δ 99,9 ppm) y con C-2 (δ 135,0 ppm), mientras que H-3 (δ 3,61 ppm) presenta correlación $^3J_{\text{HC}}$ HMBC con C-1 (δ 166,5 ppm), pero no con el grupo protector (Figura 12). En el espectro de RMN- ^1H , las señales pertenecientes al grupo protector son: dos señales singletes a δ 3,25 ppm y δ 3,23 ppm, correspondientes a los dos grupos metoxilos del protector, y dos señales singletes, que integran para tres hidrógenos cada una, a δ 1,32 ppm y δ 1,28 ppm, correspondientes a los dos metilos del protector. La señal correspondiente al metilo del éster se ubica a δ 3,73 ppm como un singlete. Los datos espectroscópicos son concordantes con los reportados en la literatura.⁸⁴



57

Figura 12. Principales correlaciones $^3J_{\text{HC}}$ HMBC.

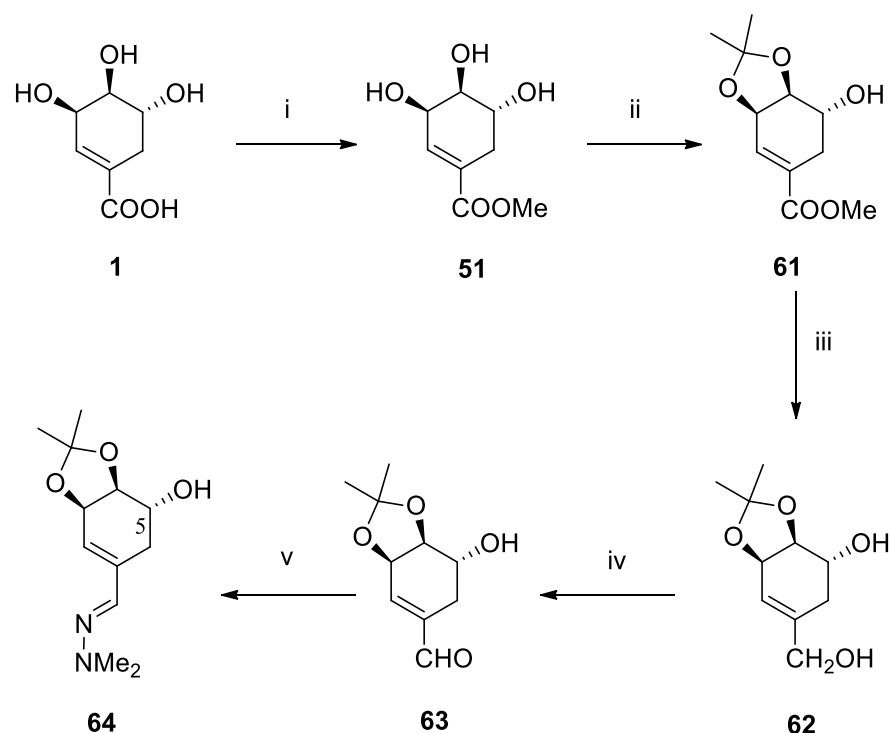
Una vez obtenido el compuesto **57**, se procedió a realizar una reducción del éster con DIBAL-H, dando como resultado el alcohol **58** como un sólido transparente y un rendimiento del 67 %. La formación del alcohol **58** se verificó por una señal singlete a δ 4,05 ppm que integra para dos hidrógenos, correspondientes a los hidrógenos carbinólicos CH_2OH .

En el proceso de oxidación del compuesto **58** con PCC, se oxidó tanto el hidroxilo primario en (CH₂OH) así como el alcohol alílico en C-3, produciéndose el compuesto dicarbonilo **59** como un aceite incoloro con un 52 % de rendimiento. La formación de este producto se verificó al observar dos señales en el espectro RMN-¹³C, correspondientes a los dos carbonilos, a δ 194,7 ppm (C-3) y a δ 192,5 ppm (HC=O).

Finalmente el compuesto **59** se trató con *N,N*-dimetilhidrazina por 16 horas a temperatura ambiente dando como resultado el aza-dieno **60**; el cual se obtuvo como un sólido color amarillo y en un rendimiento del 32 %. En este proceso sólo se forma la imina con el grupo aldehído y no con la cetona en C-3. Esto fue evidenciado mediante el espectro de RMN-¹³C en donde se observa una señal a δ 154,0 ppm, correspondiente al carbono de la imina mientras que en el espectro de RMN-¹H aparece una nueva señal a δ 6,78 ppm que integra para un hidrógeno, correspondiente al hidrógeno del grupo imina, además se observa una señal singlete a δ 2,68 ppm que integra para 6 hidrógenos, asignada al grupo dimetilamina.

5.1.3 Síntesis del aza-dieno **64**

Previamente, el grupo de investigación del Dr. Mauricio Cuellar realizó la síntesis y evaluación biológica de nuevos 6-aza-análogos de anguciclinona a partir del aza-dieno (**42**) derivado del ácido shikímico, cuya característica estructural principal era la presencia de un grupo cetal en las posiciones C-3 y C-4 y un grupo *terc*-butil dimetilsilil que protege el hidroxilo en C-5 (Esquema 7 y 8).⁶⁰ Posteriormente nuestro grupo de investigación sintetizó un aza-dieno similar, **64**, que posee la protección del grupo cetal en C-3 y C-4, pero carece del grupo protector *terc*-butil dimetilsilil en C-5, quedando el hidroxilo libre, para así poder estudiar los efectos que tienen los sustituyentes sobre la citotoxicidad de los derivados de anguciclinona contra células tumorales (resultados no publicados). Como parte del trabajo de esta tesis, se decidió repetir la síntesis de **64** con el fin de acoplarlo con derivados de naftoquinonas que no habían sido utilizados previamente, y así incrementar el número de compuestos a estudiar. La síntesis del aza-dieno **64** se llevó a cabo en 5 pasos con un rendimiento total del 37 % (Esquema 13).



Esquema 13. Reactivos y condiciones: (i) CH_3OH , H_2SO_4 cat., reflujo, 6 h (99 %); (ii) acetona, 2,2-DMP, ácido *p*-toluensulfónico, 24 h, t.a. (99 %); (iii) DIBAL-H, tolueno anhidro, $-78\text{ }^\circ\text{C}$, 2 h (63 %); (iv) PCC, CH_2Cl_2 , t.a. 2 h (73 %); (v) *N,N*-dimetilhidrazina, CH_2Cl_2 , t.a., 16 h (82 %).

El primer paso consistió en la formación del éster de metilo **51** mediante una esterificación de Fischer con un rendimiento del 99 %. Luego se protegen los hidroxilos en *cis* mediante la reacción de **51** con 2,2-DMP en acetona; dando como producto el éster **61** como un aceite amarillo pálido y un rendimiento del 99 %. Como evidencia espectroscópica de la obtención de este producto, se pueden mencionar dos señales del espectro de RMN- ^1H , a δ 1,38 ppm y a δ 1,34 ppm, correspondientes a los dos metilos del protector cetal.

El éster **61** fue reducido con DIBAL-H en tolueno anhidro, dando como resultado el alcohol primario **62** como un aceite incoloro. La reacción tuvo un rendimiento del 63 %. La obtención de este compuesto se verificó al observar que en el espectro de RMN- ^1H apareció una nueva señal singlete a δ 4,05 ppm que integra para dos hidrógenos, la cual corresponde

a los hidrógenos carbinólicos ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$). Además, en el espectro de DEPT-135 se aprecia una nueva señal del carbono carbinólico $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$ a δ 65,5 ppm.

Posteriormente, el alcohol **62** fue oxidado con PCC para formar el aldehído **63** como un aceite levemente amarillo. Esta reacción tuvo un rendimiento del 73 %. Como evidencia espectroscópica de la formación de este compuesto, se destaca la señal singlete a δ 9,45 ppm en el espectro de RMN- ^1H corresponde al hidrógeno del grupo aldehído.

A diferencia de lo ocurrido con el compuesto **59**, en el que tanto el hidroxilo primario como el secundario en C-3 se oxidan, en el caso del aldehído **63** sólo el hidroxilo primario se oxidó, quedando el hidroxilo en C-5 sin reaccionar. Esta diferencia en la reactividad se explica por la formación de una cetona α,β -insaturada (**59**) favorecida por la oxidación del hidroxilo en C-3.

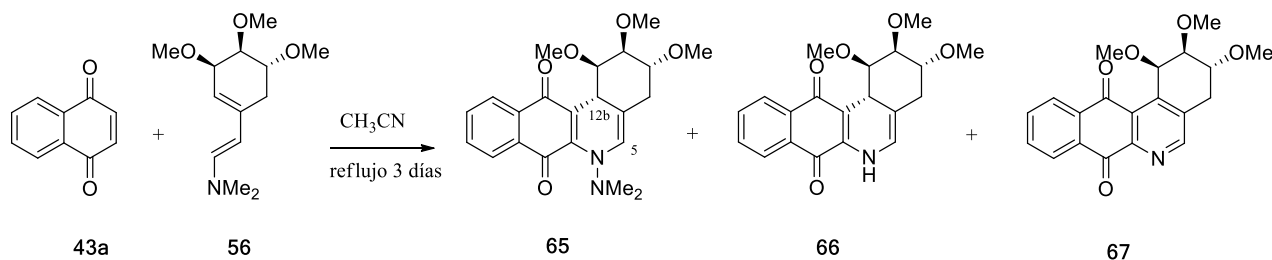
Finalmente, el aza-dieno **64** se obtuvo al tratar el aldehído **63** con *N,N*-dimetilhidrazina. El producto fue un aceite amarillo con un 82 % de rendimiento. Como evidencia espectroscópica, en el espectro de RMN- ^1H se aprecia una señal singlete a δ 2,81 ppm que integra para 6 hidrógenos, correspondiente al grupo $\text{N}(\text{CH}_3)_2$, y otro singlete a δ 6,92 correspondiente al hidrógeno del grupo imina ($\text{HC}=\text{N}$).

5.2 Síntesis de 6-aza-análogos de anguciclinona

Una vez obtenidos los aza-dienos **56**, **60**, y **64**, se procedió a hacerlos reaccionar con diferentes derivados de 1,4-naftoquinona, mediante una reacción de Diels-Alder, para producir los nuevos 6-aza-análogos de anguciclinona.

5.2.1 Reacción del aza-dieno **56** con 1,4-naftoquinona

Mediante reacción de cicloadición Diels-Alder, se procedió a acoplar el azadieno **56** con 1,4-naftoquinona (**43a**). Esta reacción se llevó a cabo empleando acetonitrilo anhidro como solvente y calentando a reflujo por tres días. La reacción se monitoreó por CCF observándose una mezcla compleja de productos. El solvente se evaporó mediante presión reducida y la mezcla de productos se separó mediante CC empleando una mezcla de acetato de etilo/hexano como eluyente con gradiente de polaridad. De esta manera se logró separar tres nuevos compuestos, **65**, **66** y **67** (Esquema 14).



Esquema 14. Reacción de Diels-Alder entre 1,4-naftoquinona y el aza-dieno **56**.

Se puede observar que, de los tres productos obtenidos, el compuesto **65** corresponde al aducto de la cicloadición, y se obtuvo como un sólido rojo y un rendimiento del 7 %. El compuesto **66**, es producido a partir de la pérdida de dimetilamina del compuesto **65**, y se obtuvo como un sólido morado en un 23 % de rendimiento. Finalmente, el compuesto **67** se forma por la aromatización de **66**, y se obtuvo como un sólido marrón con un 20 % de rendimiento.

La estructura de estos compuestos fue determinada mediante el uso de técnicas espectroscópicas de RMN-¹H y ¹³C, junto con la combinación de experimentos 1D y 2D

(HSQC y HMBC). Como ejemplo, en el caso del compuesto **65**, se observa una señal tipo singlete ancho en el espectro RMN-¹H a δ 2,70 ppm que integra para seis hidrógenos la cual corresponde a los hidrógenos del fragmento dimetilamina (-NCH₃)₂). Adicionalmente, se observa una señal a δ 6,00 ppm que integra para un hidrógeno, que corresponde al hidrógeno tipo enamina de la posición 5 (H-5). Esta señal aparece a δ 5,99 ppm en el compuesto **66**, mientras que en el compuesto **67** la señal correspondiente a H-5 aparece a δ 8,83 ppm, ya que el anillo B es aromático.

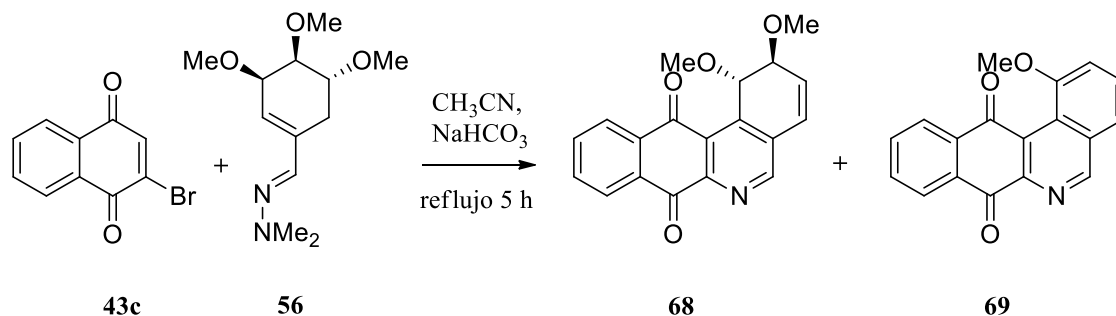
Respecto de la estereoquímica de C-12b, en los compuestos **65** y **66**, esta fue asignada mediante espectroscopia de RMN-¹H en donde la señal doblete cercana a δ 4,2 ppm correspondiente al hidrógeno H-12b, posee una constante de acoplamiento *J* de 9,96 Hz con el hidrógeno H-1, concordante con los valores esperados según relaciones de Karplus, para ángulos dihedro (φ) cercanos a 180°. ⁸⁵

Las reacciones de Diels-Alder son reacciones pericíclicas concertadas, que implican un estado de transición con geometría cíclica en la que se produce una interacción suprafacial/suprafacial de un sistema de electrones 4 π (dieno) con un sistema de electrones 2 π (dienófilo). ⁸⁶⁻⁸⁸ En el caso de la reacción del Esquema 14, la presencia de grupos atrayentes de electrones (carbonilos) en el dienófilo hace que la reacción de Diels-Alder sea de demanda normal. En este tipo de reacciones un estado de transición *endo* se ve favorecido, produciendo la estereoselectividad observada en los compuestos **65** y **66**. Adicionalmente, la preferencia por un estado de transición *endo* es típicamente mayor cuando el dienófilo es rígido; como es el caso de las naftoquinonas. ^{89,90}

5.2.2 Reacción del aza-dieno **56** con 2-bromo-1,4-naftoquinona.

Se ha reportado que las haloquinonas como la 2-bromo-1,4-naftoquinona (**43c**) es más reactiva en las reacciones de Diels-Alder, ya que al poseer el halógeno como sustituyente, este modula y dirige la reacción de cicloadición al polarizar el doble enlace de la quinona. ^{91,92} Por lo tanto, se decidió estudiar la reacción de Diels-Alder entre el aza-dieno

56 con la quinona **43c**. En esta reacción se utilizó acetonitrilo anhidro como solvente y se agregó 42 mg (0,50 mmol) de NaHCO₃ con el objetivo de neutralizar el ácido bromhídrico que se libera durante la reacción, la mezcla de reacción se calentó a reflujo por 5 horas (Esquema 15). Una vez finalizada la reacción se removió el solvente a presión reducida; obteniéndose un residuo que fue purificado por CC, dando como resultado los compuestos **68** y **69**.

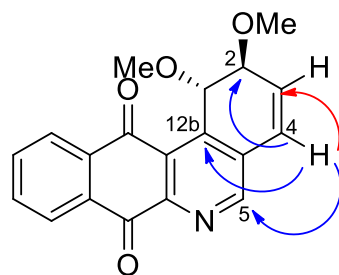


Esquema 15. Reacción de Diels-Alder entre 2-bromo-1,4-naftoquinona y el aza-dieno **56**.

El compuesto **68** se obtuvo como un sólido amarillo claro con un rendimiento del 30 %, mientras que el compuesto **69** se obtuvo como un aceite amarillo con un rendimiento del 18 %.

Al caracterizar la estructura del compuesto **68** mediante las técnicas espectroscópicas de RMN antes mencionadas, se observa la pérdida del grupo metoxilo en C-3. Esto se comprueba ya que el espectro de RMN-¹H muestra sólo dos señales singletes que integran para tres hidrógenos cada una, correspondientes a dos grupos metoxilos, a δ 3,61 ppm (C-2 OMe) y δ 3,47 ppm (C-1 OMe). Por otra parte, H-3 aparece como un doble doblete ($J = 9,6, 5,4$ Hz) a δ 6,54 ppm, región del espectro característica de los grupos alquenos. Esta señal presenta un acoplamiento con H-4 (δ 6,84 ppm, doblete, $J = 9,6$ Hz) y con H-2 (δ 4,20 ppm, doble doblete, $J = 5,4, 1,3$ Hz). En el fragmento aromático (anillo B), H-5 aparece como un señal singlete a δ 8,87 ppm.

En el espectro HMBC, H-3 presenta correlación $^3J_{\text{HC}}$ con C-4a (δ 132,7 ppm). Por su parte H-4 presenta correlaciones HMBC con C-2 ($^3J_{\text{HC}}$, δ 72,0 ppm), C-3 ($^2J_{\text{HC}}$, δ 132,1 ppm) C-12b ($^3J_{\text{HC}}$, δ 142,3 ppm), y con C-5 ($^3J_{\text{HC}}$, δ 152,7 ppm) (Figura 14).



68

Figura 13. Correlaciones HMBC $^3J_{\text{HC}}$ (azul) y $^2J_{\text{HC}}$ (rojo) de H-4.

La determinación estructural del compuesto **68** fue comprobada de forma inequívoca mediante estudio cristalográfico de difracción de Rayos-X, el cual confirma la inversión de la configuración en C-1 (Figura 15).

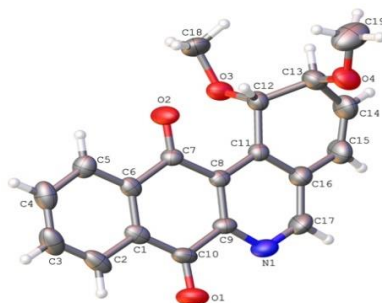


Figura 14. Estructura molecular del compuesto **68**. Los elipsoides termales se muestran con una probabilidad del 30 %.

Por otra parte, la asignación estructural del compuesto **69** se realizó por técnicas de RMN mono y bidimensionales. En el espectro de RMN- ^1H se observa una señal singlete a δ 4,04 ppm, que integra para tres hidrógenos, correspondiente al único metoxilo que posee la molécula. La señal singlete a δ 9,47 ppm que integra para un hidrógeno se asignó como H-5, confirmando que el anillo B es aromático. H-5 presenta una correlación HMBC $^3J_{\text{HC}}$ con C-4 a δ 120,3 ppm y con C-12b a 123,4 ppm. Esta molécula además tiene el anillo A

aromatizado, ya que en la región comprendida entre 8,34 ppm y 7,33 ppm se observan señales propias de hidrógenos aromáticos cuyas integrales suman 7 hidrógenos en total. La señal correspondiente a H-2 aparece como un doblete a δ 7,33 ppm. H-2 es el hidrógeno más apantallado por efecto de su cercanía con el grupo metoxilo, que actúa como dador de carga, en C-1 (δ 156,7 ppm); esto explica por qué H-2 sale a un campo más alto que las demás señales aromáticas. H-2 presenta correlación HMBC $^3J_{\text{HC}}$ con C-4 a δ 120,3 ppm y con C-12b a δ 123,4 ppm (Figura 16). Adicionalmente, los protones del grupo metoxilo (δ 4,04 ppm), al igual que H-3 (δ 7,83-7,81 ppm, multiplete), presentan una correlación 3J HMBC con C-1 (δ 156,7 ppm).

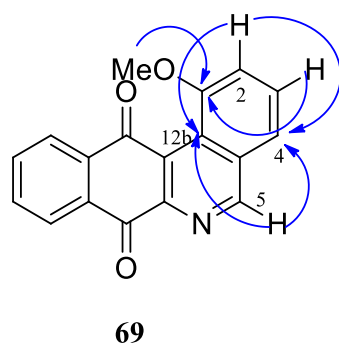
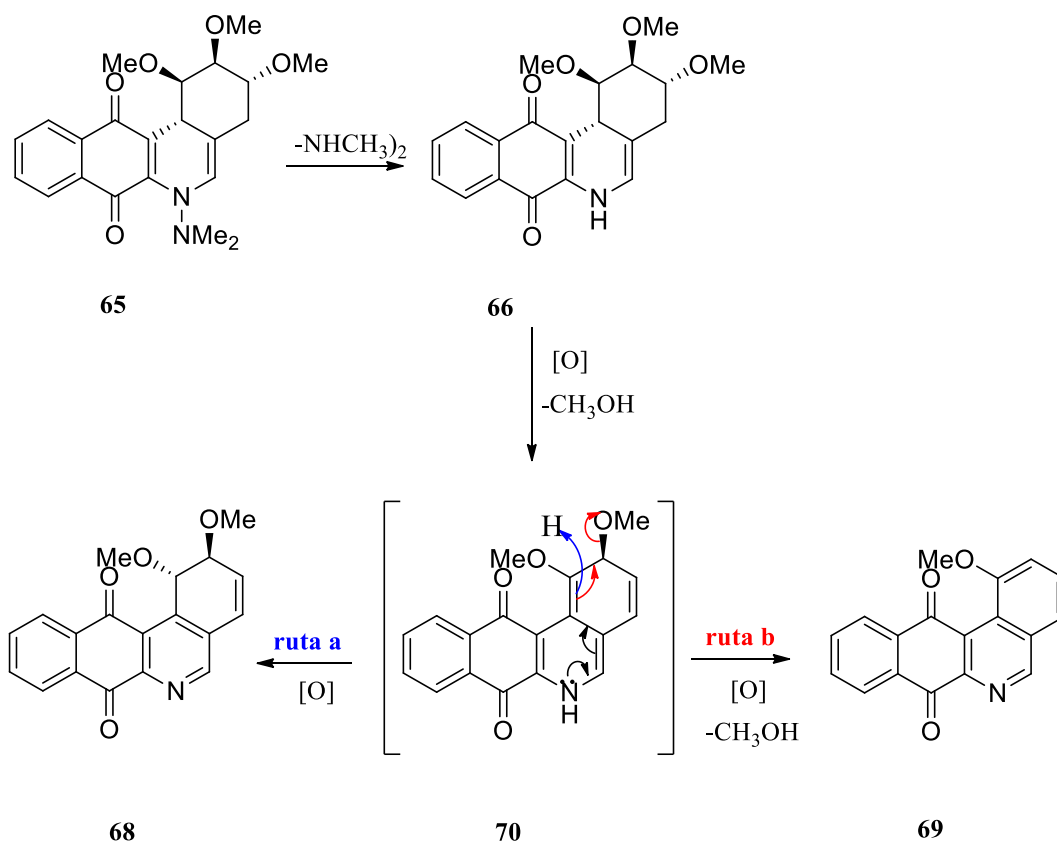


Figura 15. Correlaciones HMBC $^3J_{\text{HC}}$ de H-2, H-3, H-5, y CH_3O .

Se propuso un mecanismo que explique la formación de los compuesto **68** y **69** (Esquema 16). En el caso de **68** la inversión de la configuración en C-1 puede deberse a la formación del intermediario **70** (no aislado), el cual vía aromatización del anillo B puede llevar a la captura de un átomo de hidrógeno en C-1 dando origen al compuesto **68** (ruta a), el cual posee los grupos metoxilos (C-1 y C-2) en configuración anti (más estable). La obtención del compuesto **69** puede deberse a que en el proceso de aromatización este produce la pérdida de un segundo grupo metoxilo en C-2, obteniéndose el compuesto aromatizado **69** (ruta b) (Esquema 16).⁹³



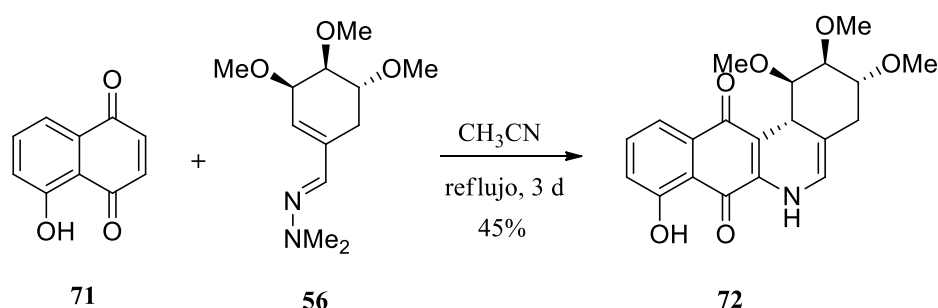
Esquema 16. Mecanismo propuesto para la formación de los compuestos **66**, **68** y **69**.

Al comparar la reactividad entre el aza-dieno **56** junto con las quinonas **43a** y **43c**, se observa que al utilizar el derivado bromado de 1,4-naftoquinona (**43c**) el tiempo de reacción fue mucho más breve (5 horas) en comparación con 1,4-naftoquinona, **43a**. Sin embargo, los productos obtenidos fueron distintos, ya que presentan aromatización en el anillo B. En el caso del compuesto **68** se observa además aromatización en el anillo A. Por lo tanto, se concluye que la reacción de Diels-Alder del aza-dieno **56** con **43a** produce principalmente productos cinéticos (menos estables), mientras que la reacción de **56** con **43c** produce productos termodinámicos (más estables).

5.2.3 Reacción del aza-dieno **56** con juglona

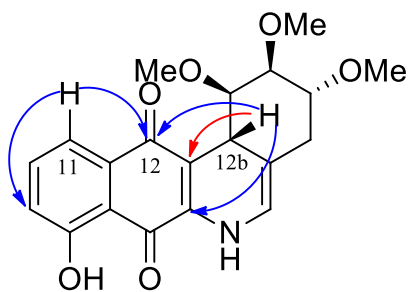
Se procedió a reaccionar el aza-dieno **56** con juglona (**71**). A una solución de **56** en acetonitrilo se le añadió **71**; la mezcla de reacción se agitó a reflujo por 3 días. Luego de concentrar a presión reducida y purificar el crudo resultante por CC, se obtuvo como único

producto el compuesto **72** como un sólido de color verde y un rendimiento del 45 % (Esquema 17).



Esquema 17. Reacción de Diels-Alder entre aza-dieno **56** y juglona (**71**).

La estructura del compuesto **72** fue determinada mediante técnicas de RMN. A modo de ejemplo, en el espectro de RMN- ^1H se observa una señal doblete a δ 4,26 ppm (1H, d, $J = 10$ Hz) que fue asignada como H-12b y que muestra una correlación HSQC $^1\text{J}_{\text{HC}}$ con el carbono C-12b a 34,7 ppm y una correlación HMBC $^3\text{J}_{\text{HC}}$ con el carbono carbonílico C-12 a δ 182,2 ppm. También H-12b muestra una correlación HMBC $^3\text{J}_{\text{HC}}$ con el carbono cuaternario C-6a (δ 139,6 ppm) y otra de tipo $^2\text{J}_{\text{HC}}$ con el carbono cuaternario C-12a (δ 115,9 ppm). Por otra parte, la señal a δ 7,62 ppm, asignada como H-11, muestra una correlación HSQC ($^1\text{J}_{\text{HC}}$) con C-11 (δ 118,0 ppm) y correlaciones HMBC $^3\text{J}_{\text{HC}}$ con C-12 (δ 182,2 ppm) y con C-9 (δ 121,9 ppm) (Figura 17).



72

Figura 16. Correlaciones HMBC $^3\text{J}_{\text{HC}}$ (flechas azules) y $^2\text{J}_{\text{HC}}$ (flecha roja).

Adicionalmente, se realizó una cristalografía por difracción de Rayos-X. En la Figura 18 se aprecia la formación de un puente de hidrógeno intramolecular, entre el hidrógeno del hidroxilo en la posición 8- y el oxígeno del carbonilo en la posición 7-.

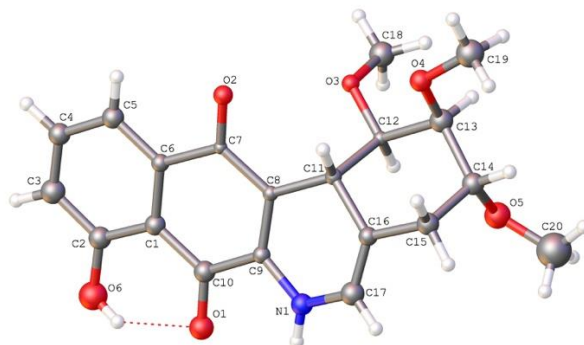
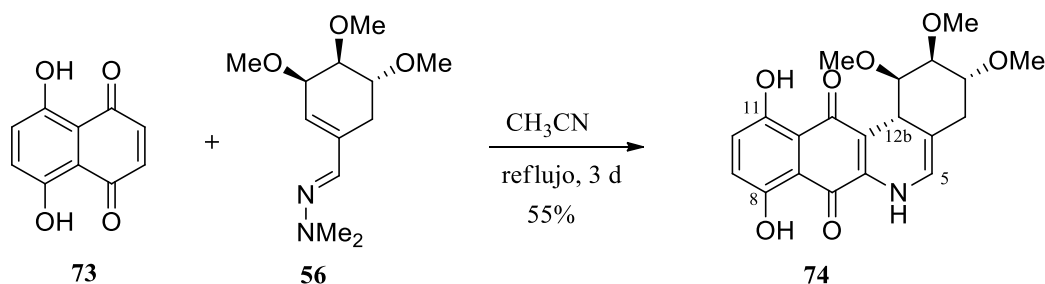


Figura 17. Estructura molecular del compuesto **72**. Los elipsoides térmicos se muestran con una probabilidad del 30 %.

Al analizar la estructura molecular de **72** se puede observar que la reacción de Diels-Alder fue estereoselectiva (produjo un solo estereoisómero) y regioselectiva (se produjo un solo regioisómero, con el nitrógeno *cis* respecto del hidroxilo de la juglona).^{94,95}

5.2.4 Reacción del aza-dieno **56** con naftazarina

Se hizo reaccionar el aza-dieno **56** con naftazarina (**73**) empleando acetonitrilo como solvente. La mezcla se calentó a reflujo por tres días. Una vez completada la reacción, se evaporó el solvente a presión reducida y el crudo resultante se purificó por CC obteniéndose el compuesto **74** como un sólido morado en un rendimiento del 55 % (Esquema 18).

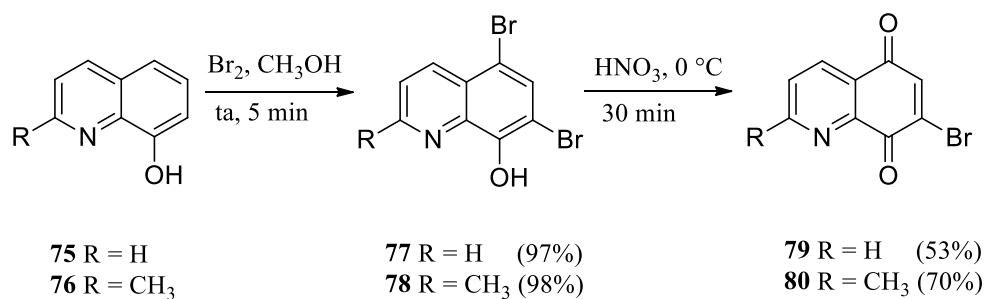


Esquema 18. Reacción de Diels-Alder entre aza-dieno **56** y naftazarina (**74**).

La estructura del compuesto **74** fue determinada por RMN 1D y 2D. En el espectro de RMN-¹H se observan dos señales singletes a δ 13,23 y δ 11,65 ppm, que fueron asignadas como los hidroxilos 11-OH y 8-OH, respectivamente. Estas señales salen a campo bajo debido a que los hidrógenos se encuentran muy desapantallados por efecto de un puente de hidrógeno con los átomos de oxígeno de los carbonilos. La señal que aparece a δ 4,16 (1H, d, $J = 10,2$ Hz) fue asignada como H-12b y presenta correlaciones HMBC con C-1 (δ 83,2 ppm, ²J_{HC}), C-12a (δ 140,8 ppm, ²J_{HC}) y con C-5 (δ 118,6 ppm, ³J_{HC}).

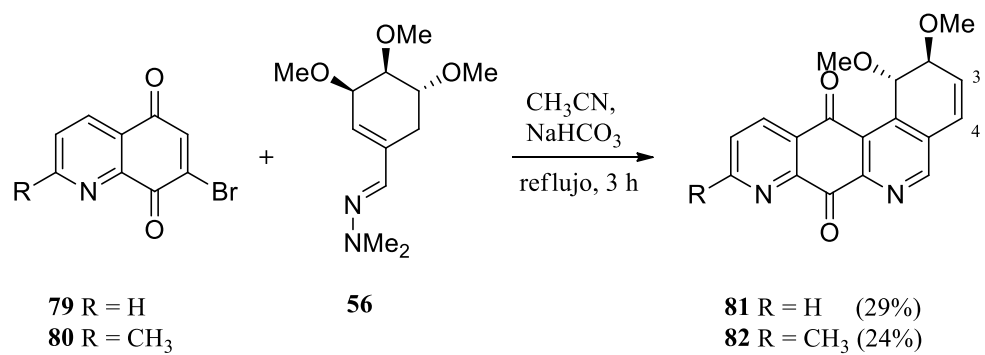
5.2.5 Reacción del aza-dieno **56** con bromoquinolin-5,8-dionas

Continuando con los esfuerzos por sintetizar aza-anguciclinonas con diversos sustituyentes en el anillo D, se procedió a hacer reaccionar el aza-dieno **56** con dos bromoquinolin-5,8-dionas (**79** y **80**). Estos análogos de naftoquinona permitirían la incorporación de un nuevo átomo de nitrógeno en el anillo D en los compuestos a sintetizar. Las quinonas **79** y **80** fueron sintetizadas a partir de 8-hidroxiquinolina y 8-hidroxi-2-metilquinolina según Esquema 19. Primero se realizó la bromación con Br₂ en metanol, y luego se procedió a oxidar los correspondientes dibromo-fenoles con ácido nítrico (Esquema 19).⁹⁶



Esquema 19. Ruta sintética de las quinolin-5,8-dionas **79** y **80**.

La reacción de las bromoquinolin-5,8-dionas, **79** y **80**, con el dieno **56** se realizó empleando acetonitrilo como solvente y 45 mg de NaHCO₃. La mezcla de reacción se agitó por tres horas calentando a reflujo (Esquema 20). Pasado ese tiempo, el solvente se evaporó por presión reducida y el crudo resultante se purificó por CC.

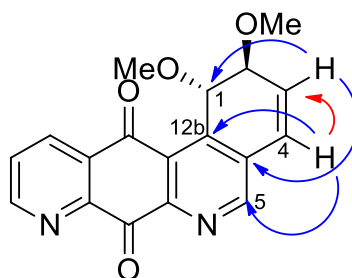


Esquema 20. Reacción de Diels-Alder entre aza-dieno **56** y las quinonas **79** y **80**.

Al igual que en la reacción de **56** con 2-bromo-1,4-naftoquinona (**43c**), se obtuvo un producto que presentó la pérdida del metoxilo en C-3, inversión de la estereoquímica en C-1, y aromatización del anillo B. Los compuestos **81** y **82** se obtuvieron como sólidos marrones con un rendimiento del 29 % y 24 %, respectivamente.

La confirmación estructural de ambos compuestos fue determinada por estudios de RMN 1D y 2D. Para el compuesto **81**, en el espectro RMN-¹H, se aprecia una señal singlete a δ 8,82 ppm asignada como H-5 y otra señal a δ 9,16 (dd, $J = 4,6, 1,4$ Hz) asignada como H-9.

Se aprecian dos señales singletes, que integran para tres hidrógenos, a δ 3,59 ppm y δ 3,44 ppm, asignadas como los metoxilos en C-1 y C-2, respectivamente. También se observan dos señales a δ 6,84 ppm (1H, d, $J = 9,6$ Hz) y δ 6,55 ppm (1H, dd, $J = 9,6, 5,4$ Hz), asignadas a H-4 y H-3, respectivamente, cuyo desplazamiento químico es característico de hidrógenos de alquenos. H-3 presenta además un acoplamiento vecinal con H-4 y con H-2 (δ 4,18 ppm, dd, $J = 5,4, 1,8$ Hz) y correlaciones HMBC $^3J_{\text{HC}}$ con C-1 (δ 71,4 ppm) y C-4a (δ 132,4 ppm). Por su parte, H-4 presenta correlaciones HMBC con C-2 ($^3J_{\text{HC}}$ δ 71,8 ppm), C-3 ($^2J_{\text{HC}}$, δ 131,2 ppm), C-12b ($^3J_{\text{HC}}$, δ 142,5 ppm), y con C-5 ($^3J_{\text{HC}}$, δ 153,0 ppm).



81

Figura 18. Correlaciones HMBC $^3J_{\text{HC}}$ (flechas azules) y $^2J_{\text{HC}}$ (flecha roja).

En el espectro de RMN- ^1H del compuesto **82** los hidrógenos correspondientes al metilo en C-9 aparecen como un singlete que integra para tres hidrógenos a δ 2,81 ppm. En general, los espectros de RMN- ^1H y ^{13}C de **82** son muy similares que los del compuesto **81**. A δ 8,93 ppm se aprecia una señal singlete, que integra para un hidrógeno, asignada como H-5. Los hidrógenos H-3 y H-4 aparecen en la región de los alquenos, a δ 6,59 ppm (1H, dd, $J = 9,5, 5,4$ Hz) y δ 6,88 ppm (1H, d, $J = 9,5$ Hz), respectivamente. H-3 presenta correlaciones HMBC $^3J_{\text{HC}}$ con C-1 (δ 71,2 ppm) y C-4a (δ 132,1 ppm). Por su parte, H-4 presenta correlaciones HMBC con C-2 ($^3J_{\text{HC}}$ δ 71,8 ppm), C-3 ($^2J_{\text{HC}}$, δ 130,9 ppm), C-12b ($^3J_{\text{HC}}$, δ 142,2 ppm), y con C-5 ($^3J_{\text{HC}}$, δ 153,0 ppm). H-11 muestra correlaciones HMBC $^3J_{\text{HC}}$ con C-12 (δ 184,1 ppm) y C-9 (δ 166,0 ppm)

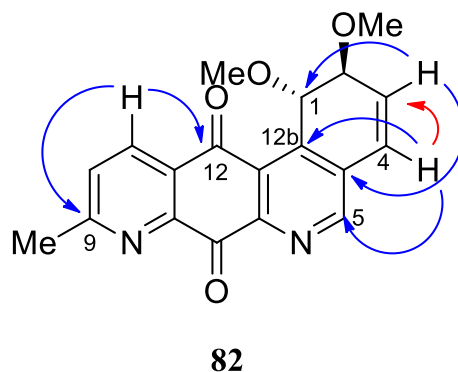


Figura 19. Correlaciones HMBC $^3J_{\text{HC}}$ (flechas azules) y $^2J_{\text{HC}}$ (flecha roja).

5.2.6 Reacción del aza-dieno **60** con 2-bromo-1,4-naftoquinona

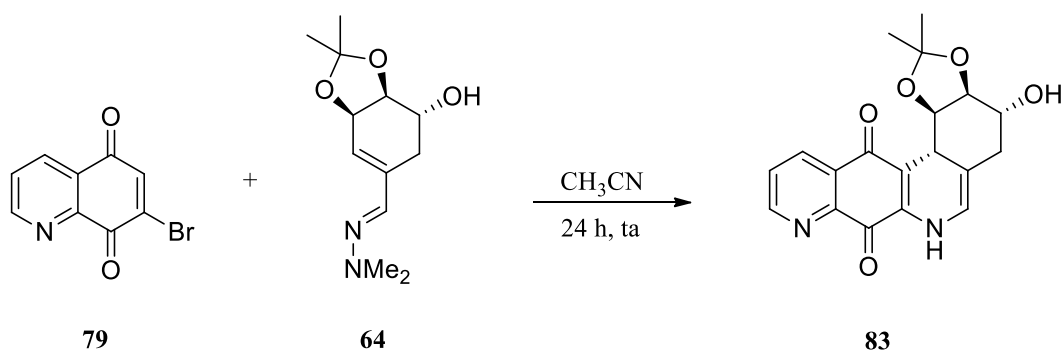
Se intentó realizar una cicloadición de Diels-Alder entre el dieno **60** y 2-bromo-1,4-naftoquinona (**43c**) siguiendo las mismas condiciones de reacción descritas anteriormente para la síntesis de los análogos de aza-anguciclinona. Sin embargo, aun siendo **43c** una quinona muy reactiva, no hubo reacción; incluso luego de haber prolongado el tiempo de reflujo a 3 días sólo obteniendo compuestos de descomposición.

La falta de reactividad del dieno **60** puede explicarse por dos factores. El primero tiene que ver con el volumen del grupo protector de los dioles *trans* que puede interferir en el estado de transición de la reacción, impidiendo la interacción dieno-dienófilo. El segundo factor tiene que ver con la densidad de carga electrónica sobre el dieno, ya que para que una reacción Diels-Alder de demanda normal se lleve a cabo, el dieno tiene que ser rico en electrones, mientras que en el dieno **60** el grupo carbonilo en C-3 retira densidad de carga del dieno.⁹⁷

Al no poder emplearse el dieno **60** en las reacciones de Diels-Alder, y teniendo en cuenta los bajos rendimientos y la dificultad en la purificación de algunos intermediarios, se decidió discontinuar los esfuerzos por desarrollar una serie de anguciclinonas basadas en este dieno.

5.2.7 Reacción del aza-dieno **64** con 7-bromoquinolin-5,8-diona (**79**)

El aza-dieno **64** se hizo reaccionar con la quinona **79** empleando acetonitrilo como solvente y NaHCO_3 para neutralizar el ácido bromhídrico generado en la reacción. La reacción se llevó a cabo a agitando a temperatura ambiente por 24 horas. Transcurrido ese tiempo, se procedió a evaporar el solvente a presión reducida; el crudo resultante se purificó por CC, dando lugar al compuesto **83** como un aceite naranja y un rendimiento del 26 % (Esquema 21).



Esquema 21.

La estructura del compuesto **83** fue asignada mediante espectroscopia de RMN 1D y 2D.

En el espectro HMBC se observa un acoplamiento 3J entre H-11 (δ 8,44 ppm) y el carbono carbonílico C-12 (δ 180,4 ppm). Por otra parte, H-12b (δ 3,71 ppm) presenta correlaciones 3J con C-12, C-5 (δ 82,5 ppm), y C-4 (δ 27,4 ppm) (Figura 19); confirmándose de esta manera la regioselectividad de la reacción de Diels-Alder.

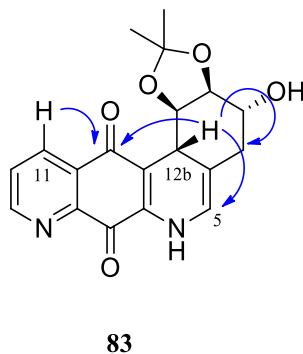


Figura 20. Correlaciones HMBC 3J del compuesto **83**.

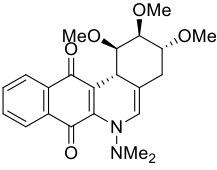
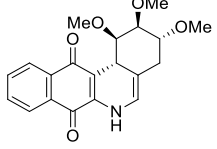
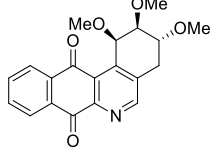
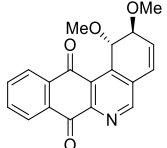
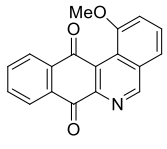
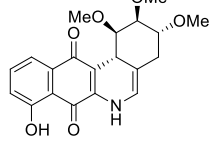
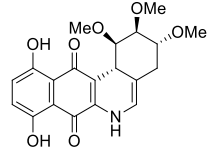
5.3 Evaluación de la citotoxicidad *in vitro* de los derivados de 6-aza-anguciclinonas

Se evaluó la actividad citotóxica de los 10 nuevos 6-aza-análogos sintetizados, junto con otros 13 sintetizados anteriormente por el grupo de investigación del Dr. Mauricio Cuellar, determinando el efecto sobre la viabilidad celular en 4 líneas celulares diferentes: PC-3 (cáncer de próstata),⁹⁸ HT-29 (cáncer de colon),⁹⁹ MCF-7 (cáncer de mama),¹⁰⁰ y CoN (línea control, no tumoral, de epitelio de colon). Los resultados se presentan en la Tabla 1 expresados como IC₅₀ μM, es decir, la concentración micromolar a la cual el compuesto inhibe el 50 % de la población de células tumorales. También se muestra entre paréntesis el índice de selectividad; valor que permite la comparación de la selectividad de los compuestos por células tumorales.

El índice de selectividad (S) se calcula según la siguiente ecuación:

$$S = \frac{IC_{50} \text{ línea control}}{IC_{50} \text{ línea tumoral}} \quad (1)$$

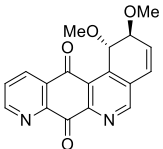
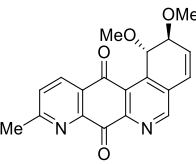
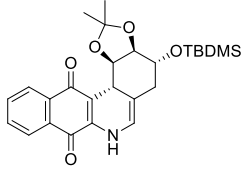
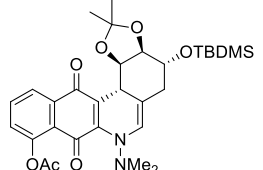
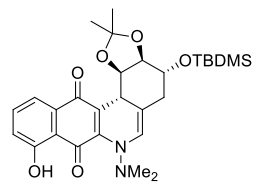
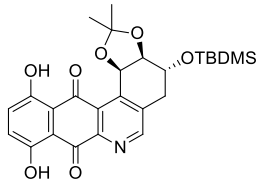
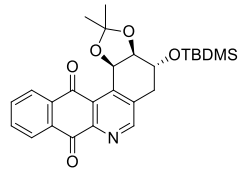
Tabla 1. Actividad citotóxica de las 6-aza-anguciclinonas.^a

Compuesto	Estructura	Actividad citotóxica (IC ₅₀ [μM])			
		PC-3	HT-29	MCF-7	CoN
65*		34,8 ± 0,3 (2,3)	29,2 ± 6,8 (2,8)	78,1 ± 6,9 (1,0)	81,6 ± 15,8
66*		23,6 ± 3,7 (4,9)	42,9 ± 8,4 (2,7)	118,1 ± 10,8 (1,0)	115,7 ± 17,8
67*		3,9 ± 0,6 (3,0)	3,3 ± 0,9 (3,6)	11,9 ± 1,5 (1,0)	11,8 ± 1,3
68*		4,0 ± 0,4 (4,4)	21,0 ± 3,6 (0,8)	12,8 ± 1,4 (1,4)	17,4 ± 2,0
69*		7,8 ± 1,0 (3,0)	3,7 ± 1,2 (6,4)	14,0 ± 1,7 (1,7)	23,6 ± 3,4
72*		6,6 ± 1,1 (2,3)	5,3 ± 0,8 (2,9)	11,5 ± 3,1 (1,3)	15,5 ± 3,1
74*		6,4 ± 0,8 (1,4)	4,0 ± 0,3 (2,2)	13,5 ± 0,9 (0,7)	8,8 ± 1,3

^a PC-3: cáncer de próstata. HT-29: cáncer de colon. MCF-7: cáncer de mama. CoN: línea no tumoral de epitelio de colon.

* Compuestos sintetizados en esta tesis.

Tabla 1. Continuación.^a

Compuesto	Estructura	Actividad citotóxica (IC ₅₀ [μM])			
		PC-3	HT-29	MCF-7	CoN
81*		0,08 ± 0,01 (0,5)	0,10 ± 0,01 (0,4)	0,01 ± 0,005 (4,0)	0,04 ± 0,01
82*		0,42 ± 0,04 (0,7)	0,39 ± 0,04 (0,8)	0,19 ± 0,04 (1,6)	0,30 ± 0,02
44a		5,7 ± 1,3 (2,4)	7,8 ± 0,9 (1,8)	4,2 ± 4,2 (3,3)	13,8 ± 1,0
44b		2,4 ± 0,9 (0,3)	2,1 ± 1,2 (0,4)	12,1 ± 4,0 (0,1)	0,8 ± 0,1
44c		0,7 ± 0,1 (3,3)	0,2 ± 0,1 (11,5)	16,0 ± 1,19 (0,1)	2,3 ± 0,3
45a		13,1 ± 2,0 (1,2)	15,0 ± 4,2 (1,1)	28,3 ± 4,0 (0,6)	15,6 ± 2,1
45b		7,6 ± 1,2 (0,4)	3,7 ± 0,8 (0,8)	17,8 ± 3,0 (0,2)	2,8 ± 0,4

^a PC-3: cáncer de próstata. HT-29: cáncer de colon. MCF-7: cáncer de mama. CoN: línea no tumoral de epitelio de colon.

* Compuestos sintetizados en esta tesis.

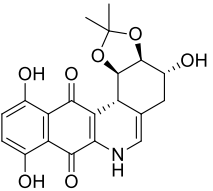
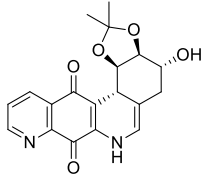
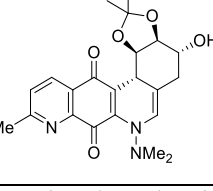
Tabla 1. Continuación.^a

Compuesto	Estructura	Actividad citotóxica (IC ₅₀ [μM])			
		PC-3	HT-29	MCF-7	CoN
84		1,8 ± 0,1 (0,7)	2,6 ± 1,8 (0,5)	2,8 ± 2,4 (0,5)	1,3 ± 0,2
85		2,9 ± 0,03 (1,7)	3,8 ± 0,5 (1,3)	3,8 ± 0,4 (1,3)	4,9 ± 0,3
86		0,3 ± 0,04 (11)	2,5 ± 0,03 (1,3)	2,4 ± 0,03 (1,4)	3,3 ± 1,2
87		2,9 ± 1,0 (7,9)	12,3 ± 0,5 (1,9)	12,9 ± 5,6 (1,8)	22,8 ± 5,6
88		6,8 ± 2,0 (0,1)	23,5 ± 4,2 (0,03)	3,6 ± 6,1 (0,2)	0,8 ± 0,1
89		3,2 ± 1,8 (3,9)	12,8 ± 1,3 (1,0)	4,8 ± 2,7 (2,6)	12,6 ± 1,5

^a PC-3: cáncer de próstata. HT-29: cáncer de colon. MCF-7: cáncer de mama. CoN: línea no tumoral de epitelio de colon.

* Compuestos sintetizados en esta tesis.

Tabla 1. Continuación.^a

Compuesto	Estructura	Actividad citotóxica (IC ₅₀ [μM])			
		PC-3	HT-29	MCF-7	CoN
90		8,8 ± 3,4 (1,7)	20,9 ± 0,7 (0,7)	7,6 ± 4,8 (2,0)	15,2 ± 5,3
83*		1,6 ± 0,8 (4,9)	4,7 ± 1,2 (1,7)	5,4 ± 1,9 (1,4)	7,8 ± 0,6
91		3,9 ± 1,8 (4,1)	6,4 ± 2,8 (2,5)	9,0 ± 2,3 (1,8)	15,9 ± 8,3

^a PC-3: cáncer de próstata. HT-29: cáncer de colon. MCF-7: cáncer de mama. CoN: línea no tumoral de epitelio de colon.

* Compuestos sintetizados en esta tesis.

5.4 Relaciones estructura-actividad de las 6-aza-anguciclinonas

En relación con los valores de IC_{50} y la estructura química de los compuestos sintetizados, no se pudo establecer una relación estructura-actividad consistente. No obstante, hay características estructurales que merecen ser consideradas, tomando en cuenta tres fragmentos de estos 6-aza-análogos de anguciclinona:

- i) Al considerar el tamaño de los grupos protectores en el anillo A, la evidencia parece indicar que los grupos más lipofílicos incrementan la actividad citotóxica. Este comportamiento se observa claramente en todas las líneas celulares cuando se compara **84** contra **65** y **44a** contra **66**. La misma tendencia se observa cuando se compara **44c** con **72**.
- ii) En relación con el anillo B, no es posible establecer una relación directa entre la aromaticidad de este anillo y la citotoxicidad de estos 6-aza-análogos de anguciclinona producto de la influencia de los grupos protectores. De hecho, para aquellos compuestos con grupos voluminosos en el anillo A, la citotoxicidad se vio reducida en el sistema aromático (**44a** contra **45b**). Sin embargo, cuando los grupos protectores era metoxilos, se aprecia un incremento significativo en la actividad (casi 10 veces mayor) cuando el anillo B es aromático (**66** contra **67**). Este efecto se observa en las tres líneas celulares.
- iii) Finalmente, cuando el anillo de benceno (anillo D) está sustituido en C-8 por un grupo donante de electrones (grupo hidroxilo), esta modificación genera un incremento en la citotoxicidad. Este efecto se observa para **72**, **85**, y **89**, comparados con sus homólogos **66**, **44a**, y **88**, respectivamente. Por otra parte, el reemplazo isostérico del anillo de benceno por uno de piridina condujo a un incremento en la potencia de los respectivos derivados. Ejemplo de esto son los compuestos **81** contra **68** y **83** contra **88**.

5.5 Estudios de relación estructura-actividad cuantitativa (QSAR)

Los modelos QSAR son modelos de regresión en los que se relaciona una serie de variables independientes, llamadas predictores, con la actividad (variable dependiente).¹⁰¹

En el modelamiento QSAR, los predictores consisten en propiedades fisicoquímicas o descriptores moleculares teóricos.¹⁰² Los modelos QSAR resumen la relación existente entre la estructura química y la actividad biológica. Pero, su mayor utilidad radica en predecir la actividad de nuevos compuestos.¹⁰³⁻¹⁰⁵

En esta tesis se emplean dos tipos de modelos QSAR; los bidimensionales (2D-QSAR) y los tridimensionales (3D-QSAR). Un modelo 2D-QSAR relaciona una serie de variables fisicoquímicas, y/o la presencia de algún sustituyente, con la actividad biológica observada, de manera que se pueda establecer una ecuación matemática para predecir la actividad de un compuesto.¹⁰⁶ Por otra parte, en los modelos 3D-QSAR se aplican cálculos de campos de fuerza que requieren de las estructuras tridimensionales de las moléculas a estudiar, junto con su actividad biológica conocida. Se emplean potenciales computados, como, por ejemplo, el potencial de Lennard-Jones, en lugar de las constantes experimentales usadas en los modelos 2D-QSAR.^{107,108} En un modelo 3D-QSAR, frecuentemente se examinan los campos estéricos (forma de la molécula) y electrostáticos.¹⁰⁹

5.5.1 Modelos 2D-QSAR

Se desarrollaron modelos 2D-QSAR para las líneas celulares PC-3, HT-29 y MCF-7, empleando los compuestos de la serie de 6-aza-anguciclinonas junto con otros compuestos obtenidos por el grupo de investigación del Dr. Mauricio Cuellar.⁶⁰

Modelo 2D-QSAR en línea celular PC-3

Los compuestos empleados para elaborar este modelo se encuentran en la Tabla 2; se encuentran agrupados en *training set* (16 compuestos empleados para la elaboración del modelo, 80 %) y *test set* (4 compuestos empleados para probar el poder predictivo del modelo, 20 %). Para elaborar el modelo fue necesario convertir los valores de actividad

biológica IC_{50} en pIC_{50} . Los compuestos que conforman el *training set* y *test set* fueron elegidos al azar, procurando que ambos sets contengan compuestos estructuralmente diversos con actividades altas, medianas y bajas, y una distribución uniforme para evitar posibles problemas durante la validación externa. La distribución de los valores de pIC_{50} para el *training set*, *test set* y set completo, se muestra en la Figura 21.

Tabla 2. Compuestos empleados en la elaboración del modelo en la línea celular PC-3.

Compuesto	Actividad inhibitoria en PC-3	
	IC_{50} (μM)	pIC_{50} (M)
65	34,80	4,46
66^a	23,60	4,63
68	4,00	5,40
69	7,80	5,11
72	6,60	5,18
74^a	6,40	5,19
81	0,08	7,10
82	0,42	6,38
84	1,80	5,74

^a Test set.

Tabla 2. Continuación.

Compuesto	Actividad inhibitoria en PC-3	
	IC ₅₀ (μM)	pIC ₅₀ (M)
44a	5,70	5,24
45b	7,60	5,12
44b	2,40	5,62
85 ^a	2,90	5,54
44c	0,70	6,15
45a	13,10	4,88
87	2,90	5,54
88	6,80	5,17
89	3,20	5,49
90	8,80	5,06
83 ^a	1,60	5,80

^a Test set.

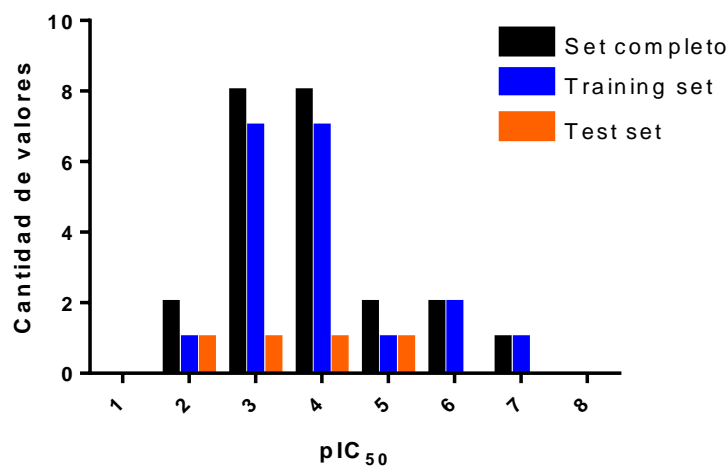


Figura 21. Histograma de distribución de frecuencias.

El modelo contempla cuatro variables fisicoquímicas, correspondientes a la carga atómica sobre los átomos N-6, C-7, C-8 y C-12, además de un descriptor de Free-Wilson que contempla la pérdida del metoxilo en la posición C-3. En el caso de los descriptores de

Free-Wilson, si la característica estructural estudiada está ausente se asigna el valor 0; y 1 si es que está presente. Estos valores, para cada compuesto, pueden consultarse en la Tabla 3.

Tabla 3. Descriptores y sus valores para cada compuesto.

Compuesto	Descriptores				
	N ₆	C ₇	C ₈	C ₁₂	dMT
65	-0,122	0,303	-0,085	0,311	0
66^a	-0,244	0,303	-0,080	0,317	0
68	-0,096	0,310	-0,084	0,317	1
69	-0,095	0,312	-0,082	0,312	0
72	-0,241	0,319	0,157	0,314	0
74^a	-0,236	0,319	0,122	0,320	0
81	-0,093	0,317	-0,093	0,323	1
82	-0,094	0,317	-0,101	0,324	1
84	-0,129	0,314	-0,086	0,317	0
44a	-0,242	0,303	-0,079	0,319	0
45b	-0,093	0,313	-0,084	0,32	0
44b	-0,132	0,327	0,091	0,316	0
85^a	-0,24	0,320	0,158	0,317	0
44c	-0,127	0,329	0,146	0,313	0
45a	-0,091	0,328	0,114	0,329	0
87	-0,09	0,318	-0,095	0,325	0
88	-0,242	0,303	-0,079	0,318	0
89	-0,24	0,320	0,159	0,316	0
90	-0,238	0,317	0,130	0,331	0
83^a	-0,236	0,306	-0,094	0,321	0

^a Test set. N₆: carga atómica en el nitrógeno N-6. C₇: carga atómica en el carbono C-7. C₈: carga atómica en el carbono C-8. C₁₂: carga atómica en el carbono C-12. dMT: pérdida de un metoxilo en la posición C-3.

Mediante un análisis de regresión multilineal se obtuvo una ecuación que contempla las cinco variables descritas anteriormente (Ecuación 2).

$$\begin{aligned} -\log IC_{50} = & -28,828(C_{12}) + 134,432(C_7) - 10,100(N_6) - 8,820(C_8) \\ & + 0,947(dMT) - 29,464 \end{aligned} \quad (2)$$

$$n = 16, r^2 = 0,8495, s = 0,302, r^2_{\text{pred}} = 0,7922$$

En la ecuación anterior se observa que la propiedad que mayor influencia tiene sobre la actividad, es la carga atómica en el carbono carbonílico C-7; indicando que mientras más electropositivo sea ese carbono, mayor será la actividad citotóxica. De las otras variables se puede destacar que, para aumentar la actividad, la carga en el nitrógeno N-6 y en el carbono C-8, debe ser negativa. La eliminación del metoxilo en C-3 (*dMT*) es poco relevante para este modelo.

El poder predictivo del modelo fue juzgado calculando un r^2 predictivo (r^2_{pred}) para los compuestos del *test set*. Un valor de r^2_{pred} superior a 0,6 es significativo; en este modelo se obtuvo un $r^2_{\text{pred}} = 0,7922$.

Con la ecuación 2 se procedió a predecir los valores de la actividad biológica, tanto para el *training set*, como para el *test set* (ver Tabla 4).

Tabla 4. Actividad biológica experimental y predicha por el modelo 2D-QSAR para la línea celular PC-3.

Compuesto	pIC₅₀ (M) experimental	pIC₅₀ (M) predicho	Residual
65	4,46	4,29	0,17
66^a	4,63	5,30	-0,67
68	5,40	5,73	-0,33
69	5,11	5,17	-0,06
72	5,18	5,42	-0,24
74^a	5,19	5,50	-0,31
81	7,10	6,55	0,55
82	6,38	6,60	-0,22
84	5,75	5,67	0,08
44a	5,24	5,21	0,03
45b	5,12	5,07	0,05
44b	5,62	5,92	-0,30
85^a	5,54	5,45	0,09
44c	6,16	5,74	0,42
45a	4,88	5,06	-0,18
87	5,54	5,66	-0,13
88	5,17	5,24	-0,08
89	5,50	5,47	0,03
90	5,06	4,87	0,19
83^a	5,80	5,63	0,17

^a Test set.

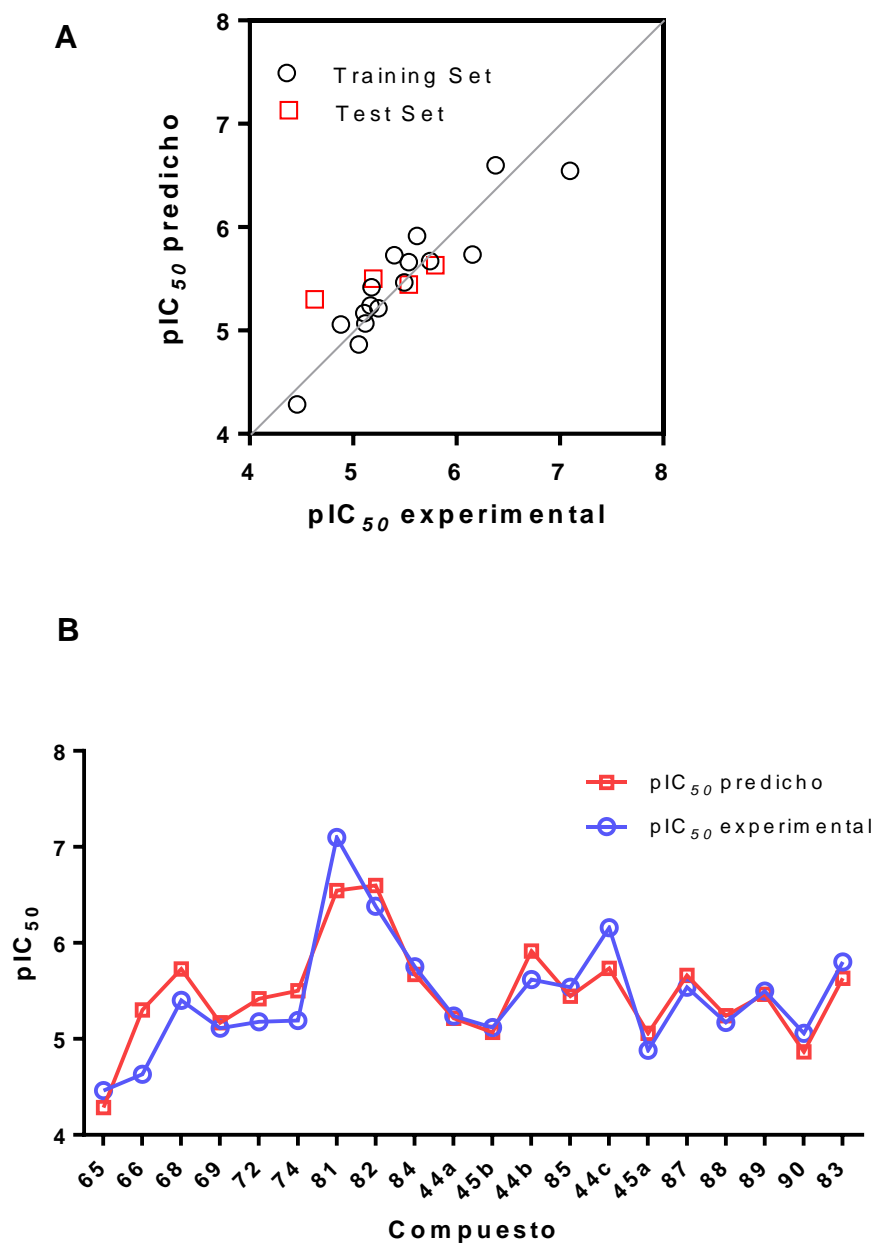


Figura 22. (A) Gráfico de pIC_{50} experimental versus predicho para valores del *training set* y *test set*. (B) Comparación entre los valores predichos y experimentales para cada compuesto del set completo.

En la Figura 22A se grafica la actividad predicha *versus* la experimental, y se aprecia cómo la mayoría de los puntos están bien distribuidos a lo largo de la línea $Y = X$, mientras que en la Figura 22B se muestra la predicción de todos los compuestos en relación a la actividad experimental. En este gráfico podemos ver que el modelo tiene buen desempeño en la predicción de la actividad para compuestos con valores bajos, medianos, y altos de pIC_{50} .

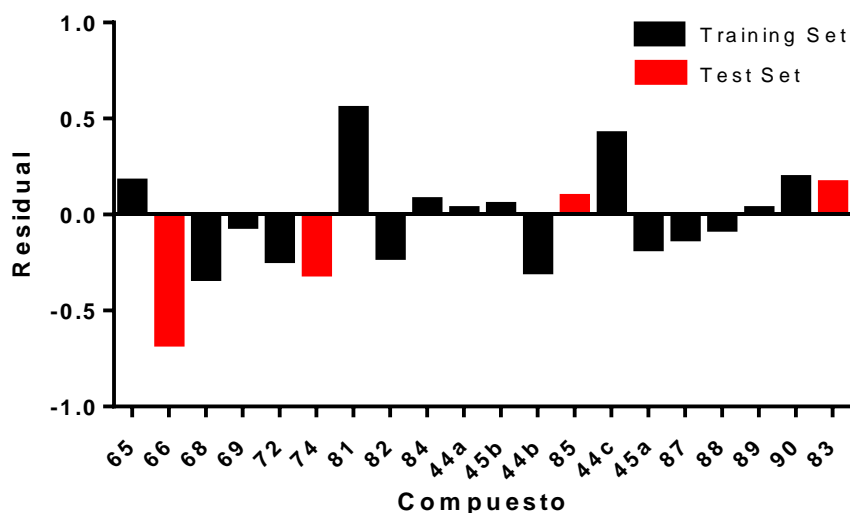


Figura 23. Gráfico de residuales entre la actividad experimental y predicha.

La Figura 23 muestra la distribución de los residuales. Un total de 10 compuestos presentan una desviación positiva respecto de la actividad, mientras que 10 compuestos presentan una desviación negativa. El rango de los residuales se mueve entre -0,67 (compuesto **66**) y +0,55 (compuesto **81**). En el *test set*, dos compuestos mostraron una desviación negativa del valor experimental de la actividad biológica (compuestos **66** y **74**), y dos compuestos mostraron una desviación positiva respecto a dicho valor (compuestos **83** y **85**). Por lo tanto, el modelo exhibe un comportamiento equilibrado en lo que respecta a la predictibilidad interna y externa.

Modelo 2D-QSAR en línea celular HT-29

Los compuestos empleados para elaborar este modelo se encuentran en la Tabla 5; se encuentran agrupados en *training set* (16 compuestos empleados para la elaboración del modelo, 80 %) y *test set* (4 compuestos empleados para probar el poder predictivo del modelo, 20 %). Para elaborar el modelo fue necesario convertir los valores de actividad biológica IC_{50} en pIC_{50} . Los compuestos que conforman el *training set* y *test set* fueron elegidos al azar, procurando que ambos sets contengan compuestos estructuralmente diversos con actividades altas, medianas y bajas, y una distribución uniforme para evitar posibles problemas durante la validación externa. La distribución de los valores de pIC_{50} para el *training set*, *test set* y set completo, se muestra en la Figura 24.

Tabla 5. Compuestos empleados en la elaboración del modelo 2D-QSAR en línea celular HT-29.

Compuesto	Actividad inhibitoria en HT-29	
	IC_{50} (μ M)	pIC_{50} (M)
66	42,90	4,37
67	3,30	5,48
69	3,70	5,43
72^a	5,30	5,28
74	4,00	5,40
81	0,10	7,00
82	0,39	6,41
91	6,40	5,19
84	2,60	5,59
44a^a	7,80	5,11
45b	3,70	5,43
44b	2,10	5,68

^a Test set.

Tabla 5. Continuación.

Compuesto	Actividad inhibitoria en HT-29	
	IC ₅₀ (μM)	pIC ₅₀ (M)
85 ^a	3,80	5,42
44c	0,20	6,70
45a	15,00	4,82
88	23,50	4,63
89	12,80	4,89
90	20,90	4,68
83 ^a	4,70	5,33
86	2,50	5,60

^a Test set.

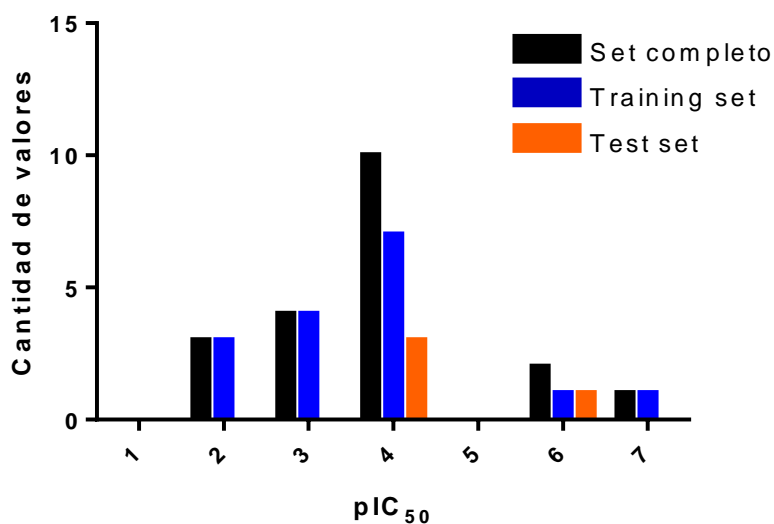


Figura 24. Histograma de distribución de frecuencias.

El modelo posee una variable fisicoquímica, correspondiente a la carga atómica sobre el átomo de nitrógeno, N-6, además de cuatro descriptores de Free-Wilson que contemplan la presencia del grupo *N,N*-dimetilo en N-6, la aromatización del anillo B, la pérdida del metoxilo en la posición C-3, y si el carbono C-11 presenta un hidroxilo. En el caso de los

descriptores de Free-Wilson, si la característica estructural estudiada está ausente se asigna el valor 0; y 1 si es que está presente. Estos valores, para cada compuesto, pueden consultarse en la Tabla 6.

Tabla 6. Descriptores y sus valores para cada compuesto.

Compuesto	Descriptores				
	N ₆	NN_dim	B_ arom	dMT	C ₁₁ OH
66	-0,244	1	0	0	0
67	-0,093	0	0	0	0
69	-0,095	0	1	0	0
72^a	-0,241	0	1	1	0
74	-0,236	0	1	0	0
81	-0,093	0	0	0	0
82	-0,094	0	0	0	1
91	-0,129	0	1	1	0
84	-0,242	0	1	1	0
44a^a	-0,093	1	0	0	0
45b	-0,132	0	0	0	0
44b	-0,24	0	1	0	0
85^a	-0,127	1	0	0	0
44c	-0,091	0	0	0	0
45a	-0,242	1	0	0	0
88	-0,240	0	1	0	1
89	-0,238	0	1	0	0
90	-0,236	0	0	0	0
83^a	-0,091	0	0	0	0
86	-0,134	0	0	0	1

^a Test set. N₆: carga atómica en el nitrógeno N-6. NN_dim: presencia o ausencia del sustituyente *N,N*-dimetilamino. B_ arom: aromatización del anillo B. dMT: pérdida de metoxilo en C-3. C₁₁OH: presencia o ausencia del grupo hidroxilo en C-11.

Mediante un análisis de regresión multilineal se obtuvo una ecuación que contempla las cinco variables descritas anteriormente (ver Ecuación 3).

$$-\log IC_{50} = 116,31(N_6) - 12,20(NNdim) - 16,76(Barom) + 1,34(dMT) - 0,54(C_{11}OH) + 33,00 \quad (3)$$

$$n = 16, r^2 = 0,8631, s = 0,299, r^2_{\text{pred}} = 0,7688$$

En la ecuación anterior se observa que la propiedad que mayor influencia tiene sobre la actividad, es la carga atómica en el nitrógeno N-6; por lo que una carga negativa en este átomo empeora la actividad. Como todos compuestos de la serie tienen valores negativos para N₆, sería conveniente una modificación estructural, reemplazando N-6 por un átomo electropositivo, como un carbono enlazado a un grupo atrayente de electrones. Por otra parte, la aromatización del anillo B, y la presencia del grupo *N,N*-dimetilo en N-6, son perjudiciales para la actividad en esta línea celular (HT-29), mientras que la pérdida del metoxilo en C-3 resulta beneficiosa.

El poder predictivo del modelo fue juzgado calculando un r^2 predictivo (r^2_{pred}) para los compuestos del *test set*. Un valor de r^2_{pred} superior a 0,6 es significativo; en este modelo se obtuvo un $r^2_{\text{pred}} = 0,7688$

Con la ecuación 3 se procedió a predecir los valores de la actividad biológica, tanto para el *training set*, como para el *test set* (ver Tabla 7).

Tabla 7. Actividad biológica experimental y predicha por el modelo 2D-QSAR para la línea celular HT-29.

Compuesto	pIC₅₀ (M) experimental	pIC₅₀ (M) predicho	Residual
66	4,37	4,62	-0,25
67	5,48	5,43	0,06
69	5,43	5,19	0,24
72^a	5,28	4,97	0,31
74	5,40	5,01	0,39
81	7,00	6,76	0,24
82	6,41	6,65	-0,24
91	5,59	5,80	-0,21
84	5,11	4,85	0,26
44a^a	5,43	5,43	0,01
45b	5,68	5,45	0,23
44b	5,42	5,08	0,34
85^a	6,70	6,03	0,67
44c	4,82	5,12	-0,29
45a	4,63	4,85	-0,22
88	4,89	5,08	-0,19
89	4,68	4,78	-0,10
90	5,33	5,55	-0,22
83^a	5,60	5,66	-0,06
86	5,19	5,21	-0,02

^a Test set.

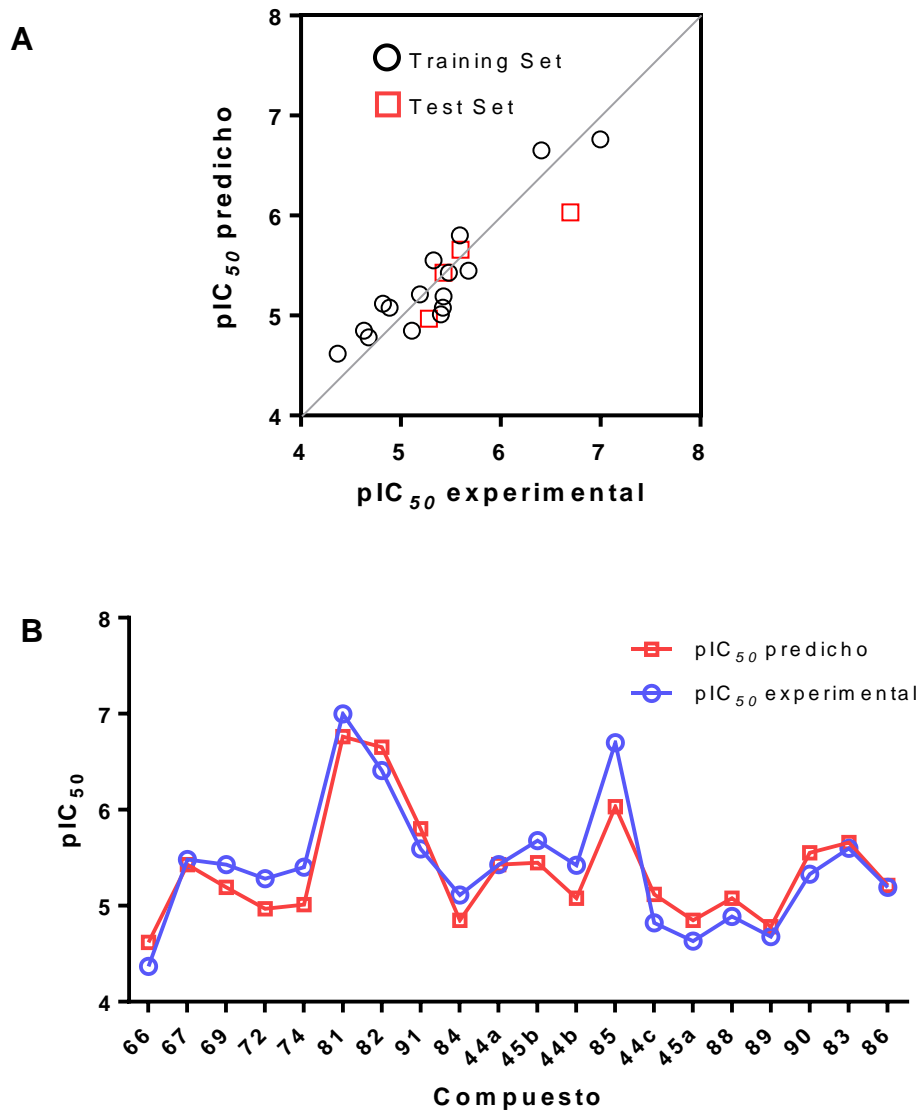


Figura 25. (A) Gráfico de pIC_{50} experimental versus predicho para valores del *training set* y *test set*. (B) Comparación entre los valores predichos y experimentales para cada compuesto del set completo.

En la Figura 25A se grafica la actividad predicha *versus* la experimental, y se aprecia cómo la mayoría de los puntos están bien distribuidos a lo largo de la línea $Y = X$, mientras que en la Figura 25B se muestra la predicción de todos los compuestos en relación a la actividad experimental. En este gráfico podemos ver que el modelo tiene buen desempeño en la predicción de la actividad para compuestos con valores bajos, medianos, y altos de pIC_{50} .

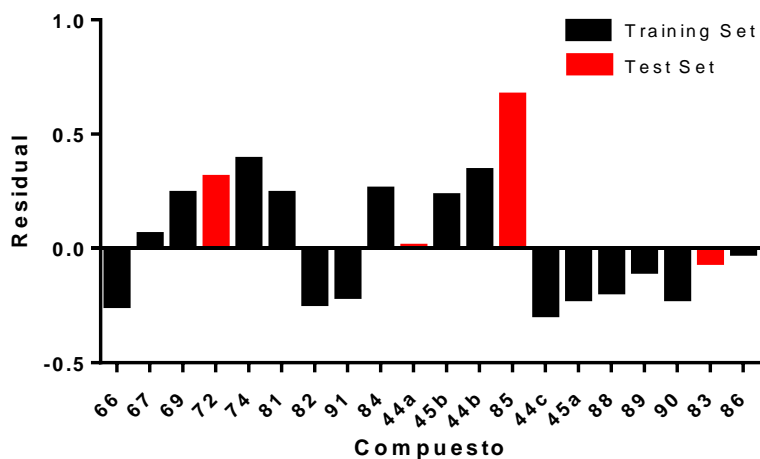


Figura 26. Gráfico de residuales entre la actividad experimental y predicha.

La Figura 26 muestra la distribución de los residuales. Un total de 10 compuestos presentan una desviación positiva respecto de la actividad, mientras que 10 compuestos presentan una desviación negativa. El rango de los residuales se mueve entre -0,29 (compuesto **44c**) y +0,67 (compuesto **85**). En el *test set*, un compuesto (**83**) mostró una desviación negativa del valor experimental de la actividad biológica, y tres compuestos mostraron una desviación positiva respecto a dicho valor (compuestos **72**, **44a**, y **85**). Por lo tanto, el modelo exhibe un comportamiento equilibrado en lo que respecta a la predictibilidad interna y externa.

Modelo 2D-QSAR en línea celular MCF-7

Los compuestos empleados para elaborar este modelo se encuentran en la Tabla 8; se encuentran agrupados en *training set* (16 compuestos empleados para la elaboración del modelo, 76 %) y *test set* (5 compuestos empleados para probar el poder predictivo del modelo, 24 %). Para elaborar el modelo fue necesario convertir los valores de actividad biológica IC_{50} en pIC_{50} . Los compuestos que conforman el *training set* y *test set* fueron elegidos al azar, procurando que ambos sets contengan compuestos estructuralmente diversos con actividades altas, medianas y bajas, y una distribución uniforme para evitar posibles problemas durante la validación externa. La distribución de los valores de pIC_{50} para el *training set*, *test set* y set completo, se muestra en la Figura 27.

Tabla 8. Compuestos empleados en la elaboración del modelo 2D-QSAR para MCF-7.

Compuesto	Actividad inhibitoria en MCF-7	
	IC_{50} (μ M)	pIC_{50} (M)
65	78,10	4,11
66 ^a	118,10	3,93
67 ^a	11,90	4,92
68	12,80	4,89
69	14,00	4,85
72	11,50	4,94
74	13,50	4,87
81	0,01	8,00
82 ^a	0,19	6,72
44a ^a	4,15	5,38
45b	17,80	4,75
44b	12,10	4,92
85	3,80	5,42

^a Test set.

Tabla 8. Continuación.

Compuesto	Actividad inhibitoria en MCF-7	
	IC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)
44c	16,00	4,80
45a^a	28,30	4,55
88	3,60	5,44
89	4,80	5,32
90	7,60	5,12
83	5,40	5,27
86	2,40	5,62
91	9,00	5,05

^a Test set.

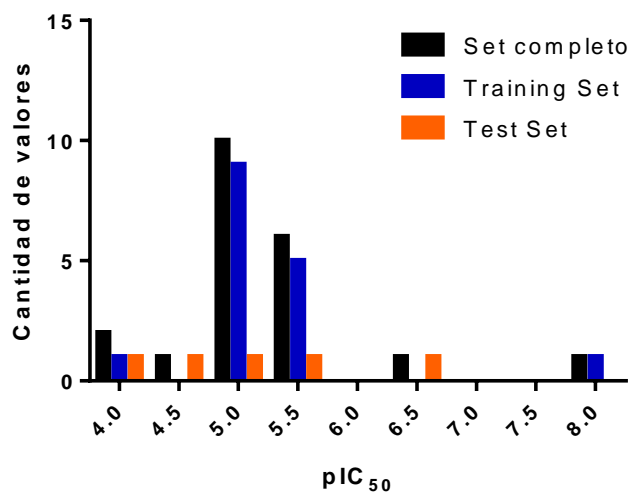


Figura 27. Histograma de distribución de frecuencias.

El modelo posee tres variable fisicoquímicas, correspondientes al valor calculado de la lipofilia, el valor calculado de la lipofilia al cuadrado, y la carga atómica en el átomo de oxígeno O-7. Además, cuenta con dos descriptores de Free-Wilson que contemplan la aromatización del anillo B y la presencia o ausencia de un nitrógeno en la posición 8 (reemplazo isostérico C-N). En el caso de los descriptores de Free-Wilson, si la característica estructural estudiada está ausente se asigna el valor 0; y 1 si es que está presente. Estos valores, para cada compuesto, pueden consultarse en la Tabla 9.

Tabla 9. Descriptores y sus valores para cada compuesto.

Compuestos	Descriptores				
	ClogP	ClogP ²	O ₇	Barom	N ₈
65	0,639	0,408	-0,28	0	0
66^a	1,485	2,204	-0,287	0	0
67^a	2,366	5,598	-0,239	1	0
68	2,537	6,435	-0,234	1	0
69	3,763	14,158	-0,237	1	0
72	1,815	3,293	-0,328	0	0
74	1,769	3,129	-0,323	0	0
81	1,243	1,545	-0,196	1	1
82^a	1,742	3,035	-0,198	1	1
44a^a	4,675	21,855	-0,284	0	0
45b	5,368	28,815	-0,236	1	0
44b	3,350	11,224	-0,253	0	0
85	5,005	25,049	-0,326	0	0
44c	4,159	17,297	-0,288	0	0
45a^a	5,686	32,327	-0,267	1	0
88	1,293	1,672	-0,283	0	0
89	1,623	2,635	-0,325	0	0

Tabla 9. Continuación.

Compuestos	Descriptores				
	ClogP	ClogP ²	O ₇	Barom	N ₈
90	1,577	2,488	-0,322	0	0
83	-0,292	0,085	-0,236	0	1
86	5,724	32,763	-0,279	1	0
91	-0,771	0,595	-0,214	0	1

^a Test set. ClogP: lipofilia calculada. ClogP²: cuadrado de la lipofilia calculada. O₇: carga atómica del oxígeno O-7. Barom: aromatización del anillo B. N₈: isosterismo C-N en posición 8.

Mediante un análisis de regresión multilineal se obtuvo una ecuación que contempla las cinco variables descritas anteriormente (ver Ecuación 4).

$$-\log IC_{50} = 0,92(ClogP) - 0,13(ClogP^2) - 11,94(O_7) + 0,83(Barom) + 3,17(N_8) + 0,13 \quad (4)$$

$$n = 16, r^2 = 0,7470, s = 0,508, r^2_{pred} = 0,8105$$

En la ecuación anterior se observa que la propiedad que mayor influencia tiene sobre la actividad, es la carga atómica en el oxígeno O-7, seguida por el cambio isostérico C-N en la posición 8-. La carga atómica del oxígeno carbonílico O-7, conviene que sea lo más negativa posible, para aumentar la actividad. Además, un anillo B aromático contribuye a mejorar la actividad, aunque en menor medida.

El poder predictivo del modelo fue juzgado calculando un r^2 predictivo (r^2_{pred}) para los compuestos del *test set*. Un valor de r^2_{pred} superior a 0.6 es significativo; en este modelo se obtuvo un $r^2_{pred} = 0,8105$.

Con la ecuación 4 se procedió a predecir los valores de la actividad biológica, tanto para el *training set*, como para el *test set* (ver Tabla 10).

Tabla 10. Actividad biológica experimental y predicha por el modelo 2D-QSAR para la línea celular MCF-7.

Compuesto	pIC₅₀ (M) experimental	pIC₅₀ (M) predicho	Residual
65	4,11	4,00	0,10
66^a	3,93	4,63	-0,70
67^a	4,92	5,24	-0,32
68	4,89	5,23	-0,34
69	4,85	5,37	-0,52
72	4,94	5,28	-0,34
74	4,87	5,19	-0,33
81	8,00	7,41	0,59
82^a	6,72	7,69	-0,97
44a^a	5,38	4,92	0,46
45b	4,75	4,90	-0,15
44b	4,92	4,74	0,18
85	5,42	5,31	0,11
44c	4,80	5,10	-0,30
45a^a	4,55	5,09	-0,55
88	5,44	4,47	0,97
89	5,32	5,15	0,17
90	5,12	5,09	0,03
83	5,27	5,84	-0,57
86	5,62	5,22	0,40
91	5,05	5,07	-0,02

^a Test set.

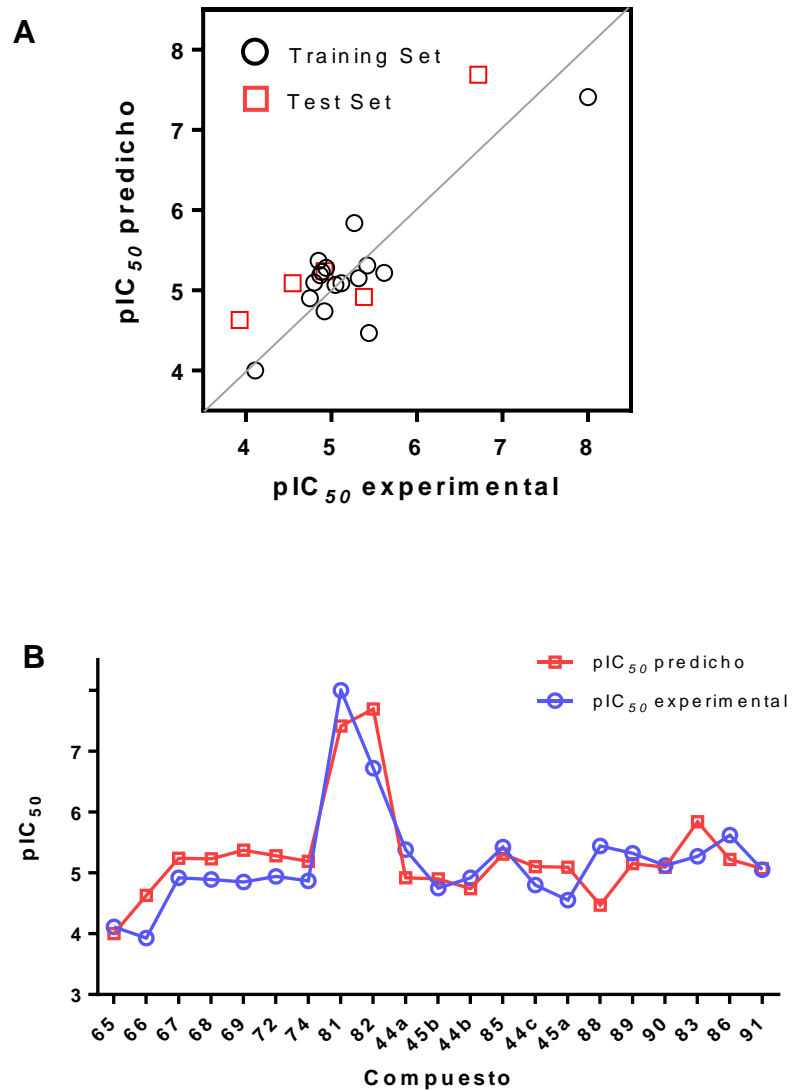


Figura 28. (A) Gráfico de pIC_{50} experimental versus predicho para valores del *training set* y *test set*. (B) Comparación entre los valores predichos y experimentales para cada compuesto del set completo.

En la Figura 28A se grafica la actividad predicha *versus* la experimental, y se aprecia cómo varios puntos se desvían del modelo ideal (línea $Y = X$). Esto sucede porque este modelo es de menor calidad en comparación con los otros. Presenta un coeficiente de correlación lineal $r^2 = 0,7470$. En la Figura 28B se muestra la predicción de todos los compuestos en relación a la actividad experimental. En este gráfico podemos ver que el modelo tiende a predecir una actividad mayor a la real.

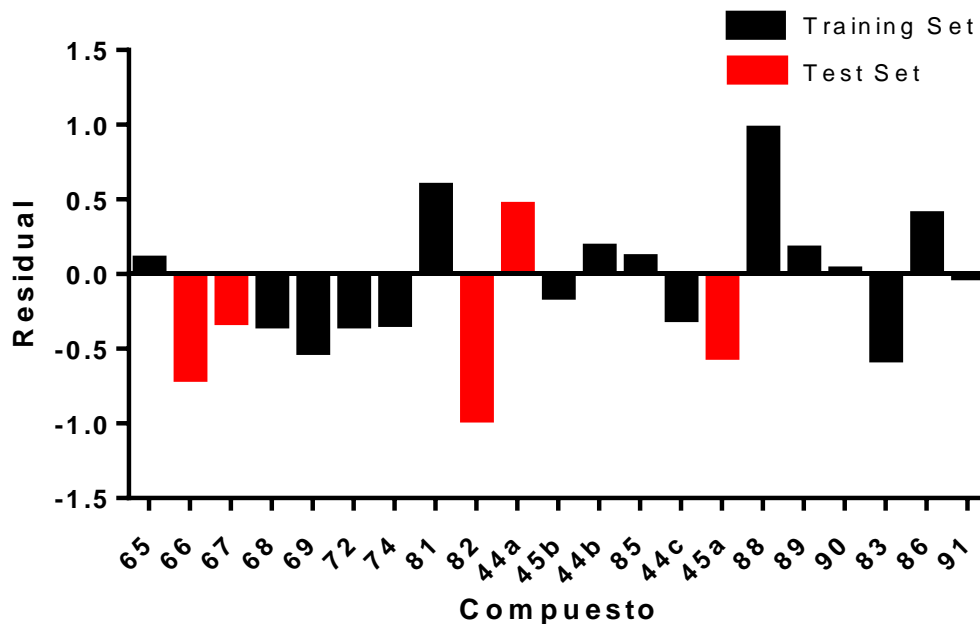


Figura 29. Gráfico de residuales entre la actividad experimental y predicha.

La Figura 29 muestra la distribución de los residuales. Un total de 9 compuestos presentan una desviación positiva respecto de la actividad, mientras que 12 compuestos presentan una desviación negativa. El rango de los residuales se mueve entre $-0,97$ (compuesto **82**) y $+0,97$ (compuesto **88**). En el *test set*, tres compuestos (**66**, **67**, **82** y **45a**) mostraron una desviación negativa del valor experimental de la actividad biológica, y un compuesto (**44a**) mostró una desviación positiva respecto a dicho valor. Por lo tanto, el modelo exhibe un comportamiento equilibrado en lo que respecta a la predictibilidad interna. Sin embargo, en lo que respecta a la predictibilidad externa, el modelo tiende a predecir actividades mayores a las reales.

Validación externa de los modelos 2D-QSAR

Para corroborar aún más la predictibilidad externa de los modelos desarrollados para las tres líneas celulares, se procedió a implementar el criterio de validación de Tropsha (ver Tabla 11).¹¹⁰

Tabla 11. Criterios de validación de Tropsha para los modelos 2D-QSAR en PC-3, HT-29 y MCF-7.

Condición	Parámetros	Valor umbral	PC-3	HT-29	MCF-7
1	r_{pred}^2	>0,6	0,7922	0,7688	0,8105
2a	r_0^2	Cercano al valor de r_{pred}^2	-7,704	0,503	0,8101
2b	$r_0'^2$	Cercano al valor de r_{pred}^2	0,3981	0,7434	0,7763
3a	k	$0,85 < k < 1,15$	1,03	0,96	1,08
3b	k'	$0,85 < k' < 1,15$	0,97	1,04	0,92
4a	$(r_{pred}^2 - r_0^2)/r_{pred}^2$	<0,1	10,7	0,4	0,0005
4b	$(r_{pred}^2 - r_0'^2)/r_{pred}^2$	<0,1	0,5	0,03	0,04
5	r_m^2	>0,5	-1,5	0,4	0,8
6	$ r_0^2 - r_0'^2 $	<0,3	8,1	0,2	0,03

r_{pred}^2 : coeficiente de correlación lineal para el test set. r_0^2 = coeficiente de correlación entre las actividades experimentales versus las predichas (x vs y) para el test set forzando la línea por el origen. $r_0'^2$: correlación entre las actividades predichas versus las experimentales (y vs x) para el test set. k : pendiente de la regresión lineal del test set (x vs y) forzando la línea por el origen. k' : pendiente de la regresión de las actividades predichas versus las experimentales (y vs x) del test set forzando a la línea por el origen. r_m^2 : se define en la ecuación 5.

$$r_m^2 = r^2(1 - |\sqrt{r^2 - r_0^2}|) \quad (5)$$

Como se puede evidenciar a partir de los valores tabulados en la Tabla 11, el modelo 2D-QSAR para la línea celular PC-3, queda totalmente rechazado en cuanto a su predictibilidad externa según los exigentes criterios de Tropsha. Lo mismo sucede con el modelo para la línea HT-29, que falla en los criterios 2a, 4a y 5. Finalmente el único modelo 2D-QSAR que cumple con todos los criterios, es el de la línea celular MCF-7, por lo que puede ser considerado como orientación para el desarrollo de nuevos compuestos.

5.5.2 Modelos 3D-QSAR

Se intentó realizar modelos 3D-QSAR CoMFA/CoMSIA para las tres líneas tumorales. Sin embargo, sólo se pudo obtener un modelo satisfactorio, de tipo CoMFA para la línea PC-3. En el caso de las líneas HT-29 y MCF-7, los modelos no cumplieron con los parámetros mínimos de validez.

Estudio 3D-QSAR CoMFA en la línea celular PC-3

Con el objetivo de racionalizar la actividad biológica en relación a la estructura molecular, se realizó un modelo 3D-QSAR de análisis comparativo de campos moleculares, CoMFA, para la línea PC-3. Los estudios se realizaron en un set de 23 compuestos manualmente agrupados en un *training set* (16 compuestos, 70 %) y en un *test set* (7 compuestos, 30 %) (Tabla 12). Los valores de IC_{50} fueron convertidos a pIC_{50} ($-\log IC_{50}$). Varias combinaciones de *training set* y *test set* fueron evaluadas. Se tomó la precaución de que ambos sets contuvieran compuestos estructuralmente diversos con actividades altas, medias y bajas; además de una distribución uniforme para evitar posibles problemas durante la validación externa de los modelos. La distribución de los valores de pIC_{50} para el set completo, training set y test set, se muestra en la Figura 30. Se observa que la actividad biológica sigue una distribución gaussiana, en la que los compuestos abarcan un rango de actividad pIC_{50} que va desde 4,46 a 7,10, abarcando 2,6 unidades logarítmicas.

Tabla 12. Compuestos empleados en el desarrollo del modelo CoMFA para la línea PC-3.

Compuesto	IC₅₀ (μM)	pIC₅₀ (M)
65	34,8	4,458
66	23,6	4,627
67	3,9	5,409
68^{a,b}	4,0	5,398
69	7,8	5,108
72	6,6	5,180
74	6,4	5,194
81	0,08	7,097
82	0,42	6,377
84	1,8	5,745
44a^a	5,7	5,244
45b	7,6	5,119
44b^a	2,4	5,620
85^a	2,9	5,538
44c	0,7	6,155
45a^a	13,1	4,883
87	2,9	5,538
88	6,8	5,167
89	3,2	5,495
90^a	8,8	5,056
83	1,6	5,796
86^{a,b}	0,3	6,523
91	3,9	5,409

^a Test set; ^b Outliers.

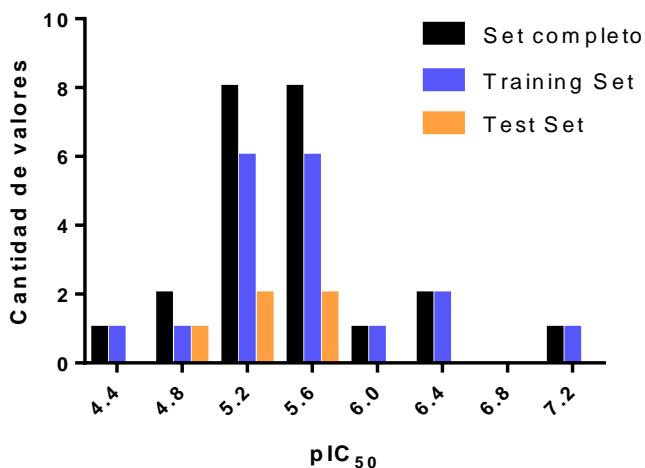


Figura 30. Histograma de distribución de frecuencias.

Selección de confórmeros y alineamiento molecular

El estudio CoMFA se llevó a cabo con el software SYBYL-X 1.2 instalado en un sistema operativo Windows 10, en un PC con una CPU Intel Core i7. Para la obtención de los mejores confórmeros todos los compuestos fueron dibujados con la estereoquímica correspondiente en el software ChemBioDraw v12.0 y luego fueron exportados a ChemBio3D para su visualización en tres dimensiones y para minimizar la energía de los confórmeros. La minimización de energía se llevó a cabo mediante mecánica molecular (MM2). Luego se creó una base de datos en el programa SYBYL-X con las estructuras minimizadas. Las moléculas de esta base de datos fueron alineadas mediante un método de ajuste de átomo por átomo, empleando como plantilla el núcleo quinónico y el átomo de nitrógeno N-6 (común a todos los compuestos). En la Figura 31 se muestra el alineamiento de la base de datos. Se puede apreciar cómo la mayor variabilidad estructural ocurre en el lado derecho de la molécula, y en menor grado en el izquierdo. Además, se observa que los compuestos se encuentran bien alineados, calzando de manera casi perfecta en lo que respecta a los anillos B, C y D. Adicionalmente se le asignó a cada átomo cargas de tipo MMFF94.

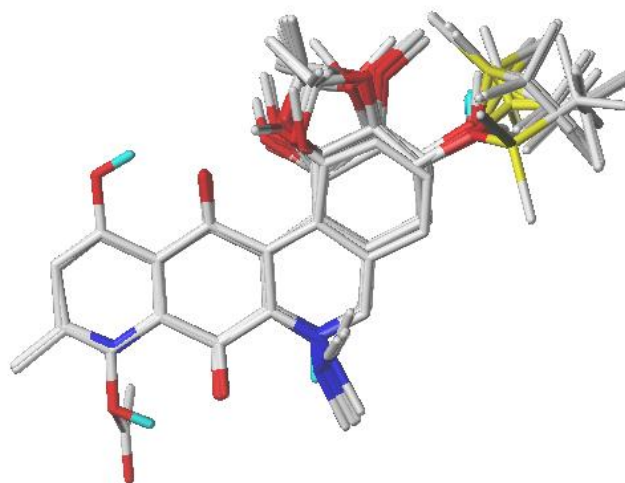


Figura 31. Todas las estructuras superpuestas utilizadas en el modelo CoMFA.

Cálculos de campos

Para la obtención de los descriptores de campo CoMFA, las moléculas correspondientes al *training set* fueron colocadas en un enrejado tridimensional con un espaciado de 2 Å en las direcciones x , y , y z , de manera que todo el set quedara incluido. Las energías de campo estérico y electrostático fueron calculadas empleando un átomo sonda de carbono sp^3 con un radio de Van der Waals de 1,52 Å y una carga +1,0. Los valores de corte para ambos campos, estérico y electrostático, fueron fijados a 30,0 kcal/mol.

Validación interna y análisis de mínimos cuadrados parciales (PLS)

Un análisis de mínimos cuadrados parciales se empleó para construir una correlación lineal entre los descriptores CoMFA (variables independientes) y los valores de actividad (variables dependientes). Para seleccionar el mejor modelo, se realizó el análisis de validación cruzada empleando el método *leave-one-out* (LOO), lo que genera el coeficiente de validación cruzada (q^2) y el número óptimo de componentes (N). La validación no-cruzada fue llevada a cabo con un filtrado de columna de 2,0 para acelerar el análisis y reducir el ruido. El valor de q^2 , el cual es una medida de la calidad interna del modelo, se obtuvo de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$q^2 = 1 - \frac{\sum(y_i - y_{pred})^2}{\sum(y_i - \bar{y})^2} \quad (6)$$

Donde y_i , \bar{y} , e y_{pred} son la actividad observada, media y predicha, respectivamente, en el *training set*.

Resultados estadísticos del análisis comparativo de campos moleculares (CoMFA)

Con el objetivo de encontrar el mejor modelo CoMFA, se hizo una búsqueda secuencial variando el grupo de *training set* y *test set* de manera aleatoria, pero tratando de mantener el rango más amplio posible entre los valores de actividad biológica. Los parámetros estadísticos del modelo CoMFA se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13. Parámetros estadísticos del mejor modelo 3D-QSAR para la línea PC-3.

Modelo	q^2	N	SEP	SEE	r^2_{ncv}	F	r^2	Contribuciones de Campo	
								S	E
CoMFA-SE	0,612	5	0,497	0,093	0,986	145,8	0,969	0,607	0,393

q^2 : cuadrado del coeficiente de validación cruzada LOO (Leave one out). N: número óptimo de componentes. SEP: error estándar de predicción. SEE: error estándar de estimación del análisis sin validación cruzada. r^2 : cuadrado del coeficiente de correlación sin validación cruzada. F: valor de la prueba F. S: contribución estérica. E: contribución electrostática.

De los parámetros presentados en la tabla anterior, se puede resaltar que el modelo posee una buena predictibilidad interna con un $q^2 = 0,612$, así como una buena predictibilidad externa basada en un $r^2 = 0,969$. El modelo contiene el número óptimo de variables independientes para evitar el sobre-entrenamiento de los modelos y la correlación por azar.^{44, 45}

En la Tabla 14 se presentan las actividades experimentales y predichas de los compuestos y los valores residuales, que corresponden a la diferencia entre los valores de pIC₅₀ experimental y predichos.

Tabla 14. Actividades experimentales y predichas por el modelo CoMFA en la línea PC-3.

Compuesto	pIC ₅₀ experimental	CoMFA	
		pIC ₅₀ predicho	Residual
65	4,458	4,442	0,02
66	4,627	4,660	-0,03
67	5,409	5,415	-0,01
68^{a,b}	5,398	6,217	-0,82
69	5,108	5,140	-0,03
72	5,180	5,166	0,01
74	5,194	5,147	0,05
81	7,097	6,921	0,18
82	6,377	6,557	-0,18
84	5,745	5,800	-0,05
44a^a	5,244	5,658	-0,41
45b	5,119	5,117	0,00
44b^a	5,620	6,162	-0,54
85^a	5,538	6,040	-0,50
44c	6,155	6,200	-0,04

^aTest set CoMFA.

Tabla 14. Continuación

Compuesto	pIC ₅₀ experimental	CoMFA	
		pIC ₅₀ predicho	pIC ₅₀ predicho
45^a	4,883	5,429	-0,55
87	5,538	5,478	0,06
88	5,167	5,174	-0,01
89	5,495	5,547	-0,05
90^a	5,056	5,508	-0,45
83	5,796	5,783	0,01
86^{a,b}	6,523	5,473	1,05
91	5,409	5,329	0,08

^aTest set CoMFA. ^b Outliers.

Todos los compuestos mostraron valores residuales bajos, con excepción de **86** que presenta una desviación en la actividad predicha de una unidad logarítmica. El compuesto **86** corresponde a un *outlier*, es decir, un compuesto cuya actividad biológica no puede ser correlacionada debidamente a su estructura en comparación al resto de los compuestos en estudio. La Figura 32 muestra la gráfica de la actividad experimental versus predicha, en la que se aprecia que la distribución de los datos es cercana a la recta $y = x$. El modelo muestra un buen balance en términos de capacidad predictiva para el *training set*; presenta 8 compuestos con un residual negativo y 7 con desviaciones positivas (Figura 33). Mientras que para el *test set* existe una tendencia a sobreestimar la actividad. El rango de los residuales va desde -0,55 a 0,18.

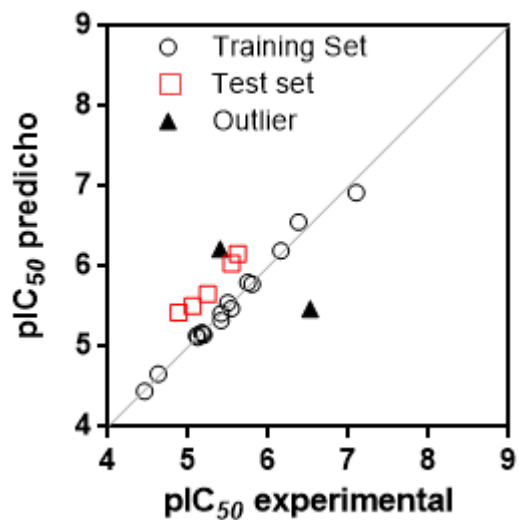


Figura 32. Gráfica de la actividad experimental versus predicha para el training set, test set y outliers.

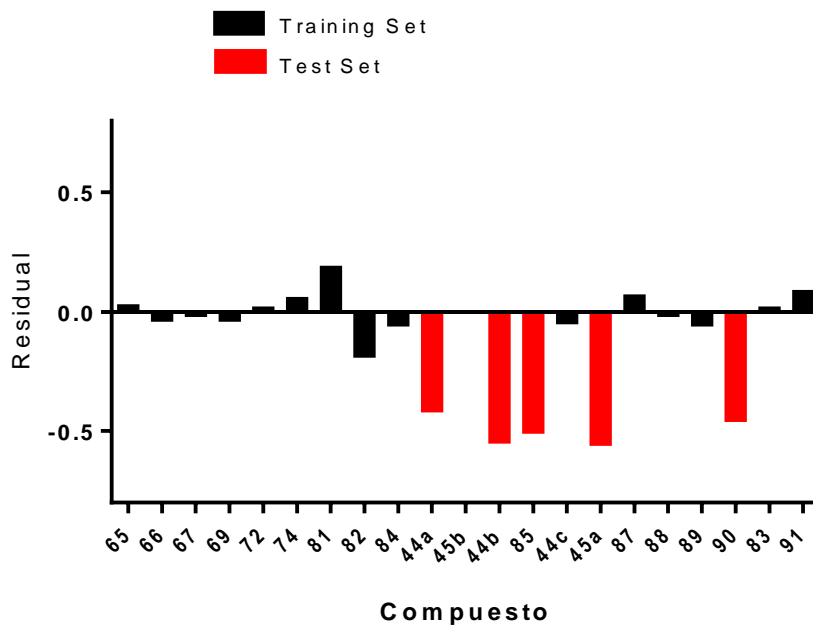


Figura 33. Gráfica de residuales entre la actividad experimental y predicha.

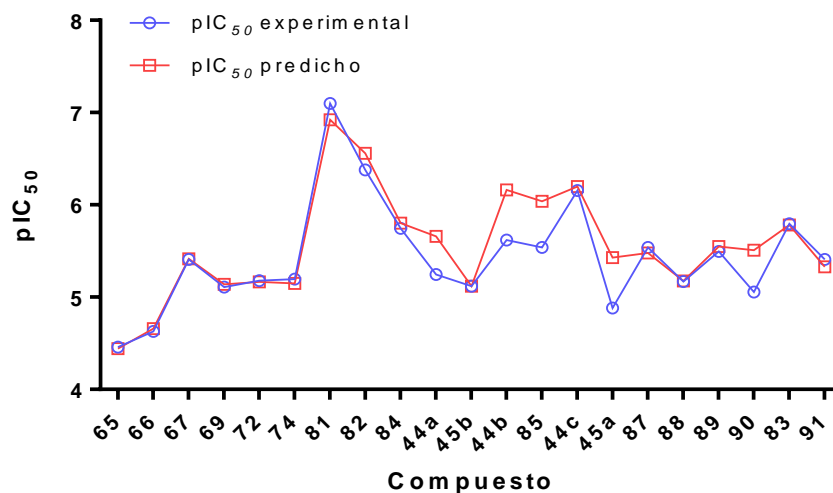


Figura 34. Predicciones para cada molécula en el set completo.

Tal como se muestra en la Figura 34, el modelo muestra una capacidad predictiva satisfactoria a través del set completo de datos (*training set* y *test set*) así como buen poder predictivo tanto como para compuestos poco activos (**65** y **66**) como para los más activos (**81**, **82**, y **86**).

Adicionalmente, para evaluar la robustez del modelo, se llevó a cabo el test de aleatorización de Y.¹¹¹⁻¹¹³ La variable dependiente (actividad biológica) fue barajada aleatoriamente y se desarrolló un nuevo modelo QSAR usando la matriz de variable independiente original. Si después de múltiples aleatorizaciones los nuevos valores de q^2 y r^2_{ncv} son negativos o menores que el nivel de aceptabilidad ($q^2 < 0,5$, $r^2_{ncv} < 0,6$), entonces se confirma que los resultados obtenidos en la formulación del modelo final no ocurrieron por azar. En este caso, los nuevos modelos QSAR (después de varias repeticiones) tienen bajos valores de q^2 y r^2_{ncv} (ver Tabla 15).

Tabla 15. q^2 and r^2_{ncv} luego de varios ensayos de aleatorización de Y.

CoMFA		
Iteración	q^2	r^2_{ncv}
random_1	-0,544	0,240
random_2	0,079	0,497
random_3	-0,324	0,611
random_4	-0,287	0,232
random_5	-0,246	0,204
random_6	-0,368	0,696
random_7	-0,273	0,575
random_8	0,006	0,304
random_9	-0,234	0,304
random_10	-0,694	0,446

Validación externa de los modelos

Al igual que se hizo con los modelos de 2D-QSAR para las diferentes líneas celulares, el modelo 3D-QSAR CoMFA para la línea celular PC-3 fue validado, en lo referente a su predictibilidad externa, empleando los criterios de validación de Tropsha.¹¹⁰ Los resultados se muestran a continuación en la Tabla 16.

Tabla 16. Criterios de validación de Tropsha para el modelo CoMFA para la línea celular PC-3.

Condición	Parámetros	Valor umbral	CoMFA
1	q^2	>0,5	0,612
2	r^2	>0,6	0,969
3a	r_0^2	Close to value of r^2	0,965
3b	$r_0'^2$	Close to value of r^2	0,968
4a	k	$0,85 < k < 1,15$	1,093
4b	k'	$0,85 < k' < 1,15$	0,915
5a	$(r^2 - r_0^2)/r^2$	<0.1	0,004
5b	$(r^2 - r_0'^2)/r^2$	<0.1	0,001
6	$ r_0^2 - r_0'^2 $	<0.3	0,003
7	r_m^2	>0.5	0,907

q^2 : cuadrado del coeficiente de validación cruzada LOO. r_{pred}^2 : coeficiente de correlación lineal para el test set. r_0^2 = coeficiente de correlación entre las actividades experimentales versus las predichas (x vs y) para el test set forzando la línea por el origen. $r_0'^2$: correlación entre las actividades predichas versus las experimentales (y vs x) para el test set. k : pendiente de la regresión lineal del test set (x vs y) forzando la línea por el origen. k' : pendiente de la regresión de las actividades predichas versus las experimentales (y vs x) del test set forzando a la línea por el origen. r_m^2 : se define en la ecuación 5.

Como se puede apreciar en la tabla anterior, el modelo CoMFA cumple con todos los criterios de validación externa.

Dominio de aplicabilidad

El dominio de aplicabilidad (DA) es una región teórica en el espacio químico que abarca tanto los descriptores del modelo como la respuesta modelada, lo que permite estimar la incertidumbre en la predicción de un compuesto basándose en cuán similar es a los compuestos de entrenamiento (*training set*) empleados en el desarrollo del modelo. En este trabajo, se utilizó el método desarrollado por Roy y colaboradores para la determinación del DA.^{114–116} Este método se basa en la teoría básica del enfoque de estandarización. Primero cada descriptor “ i ” para cada compuesto “ k ” es estandarizado (S_{ik}). Cada compuesto debe tener un valor máximo $[S_i]_{\max(k)} \leq 3$. En el caso de que $[S_i]_{\max(k)} > 3$ y el valor mínimo

$[S_i]_{min(k)} < 3$, entonces se debe calcular el parámetro $S_{new(k)}$ y tiene que satisfacer la condición $S_{new(k)} = \bar{S}_k + 1.28 * \sigma_{S_k}$, donde \bar{S}_k es el promedio de los valores S_{ik} para el compuesto k y σ_{S_k} es la desviación estándar para esos valores.

El software está disponible de forma gratuita en la página web del autor: <http://dtclab.webs.com/software-tools> y http://teqip.jdvu.ac.in/QSAR_Tools/.

El cálculo se realizó utilizando la aplicación gratuita disponible en la página del autor, tras lo cual se determinó que todos los compuestos estaban dentro del DA.

En resumen, el mejor modelo CoMFA fue seleccionado basado en su robustez estadística y por su capacidad de predicción externa. Se encontró que ambos potenciales, estérico y electrostático, contribuyen de igual manera a la actividad biológica (61 % y 39 % respectivamente).

Mapas de contornos 3D-QSAR

A diferencia de una ecuación 2D-QSAR, los resultados de un estudio 3D-QSAR pueden visualizarse de una manera gráfica. Los mapas de contorno coloreados obtenidos, muestran las regiones de la molécula donde se pueden hacer modificaciones estructurales con el objetivo de mejorar la actividad. Con esta información, es posible proponer cambios en las propiedades estéricas y electrostáticas de los compuestos estudiados. Los mapas de contorno obtenidos a partir del modelo CoMFA, junto con el compuesto más activo (**81**) y el menos activo (**65**), se muestran en la Figura 35.

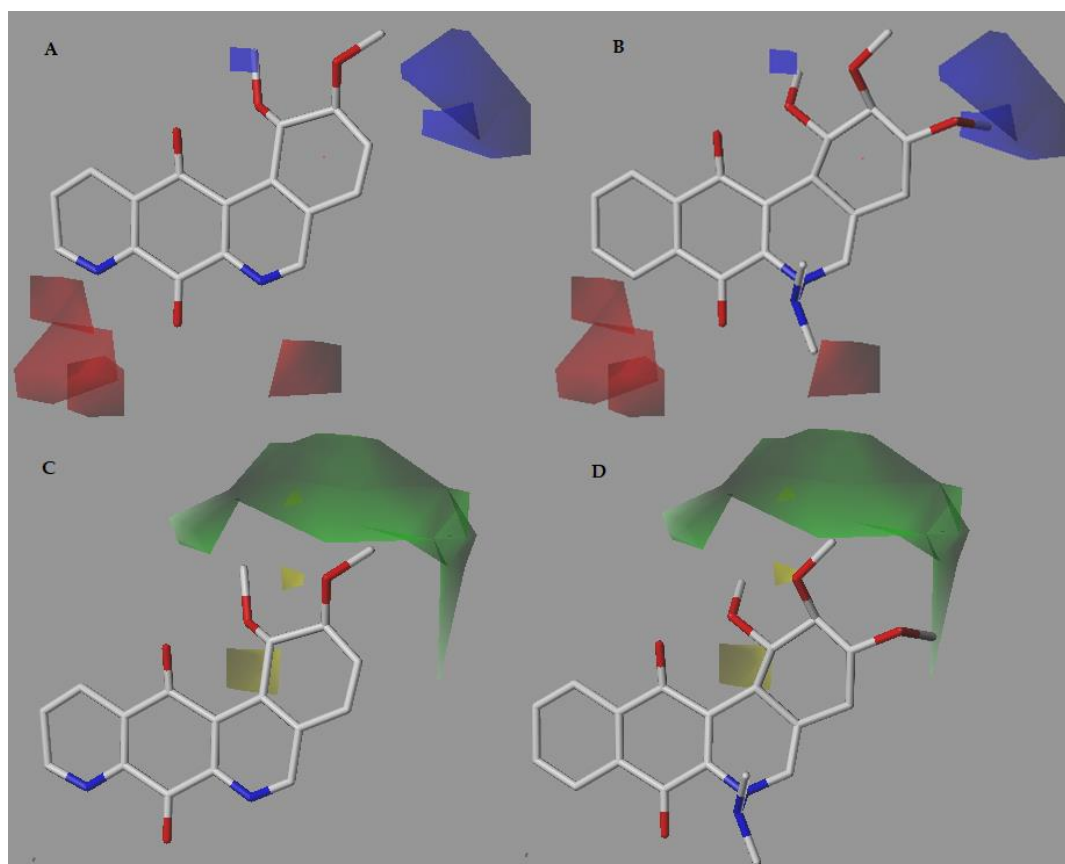


Figura 35. Mapas de contorno CoMFA alrededor del compuesto más activo **81** (A y C) y del compuesto menos activo **65** (B y D). (A, B): Electropositivo favorecido (poliedro azul), electronegativo favorecido poliedros rojos. (C, D): Estéricamente favorecido (verde) y desfavorecido (amarillo).

Análisis de mapas de contorno CoMFA

Se realizó un análisis de mapas de contorno CoMFA para visualizar las regiones importantes en una representación molecular tridimensional, en la que se puede observar cómo los campos estéricos y electrostáticos afectan la actividad citotóxica de los compuestos. Los mapas de contorno CoMFA representan las áreas de interacción significativa entre el átomo sonda y la superficie de las moléculas. El compuesto más activo del set completo (**81**), y el menos activo (**65**), fueron empleados como plantilla en los mapas de contorno.

Mapa de contorno electrostático CoMFA

El mapa de contorno electrostático muestra un poliedro rojo cerca de la posición 8- del sistema anguciclinona (Figura 35 A y B). Esto significa que la inserción de sustituyentes electronegativos en esta posición sería favorable para la actividad citotóxica. De hecho, el compuesto más activo, **81** ($pIC_{50} = 7,097$), tiene un átomo de nitrógeno en esta posición (Figura 35A). Esto se confirma por el hecho de que los compuestos más activos de la serie (**44c**, **81**, **82** y **86**) tienen átomos de nitrógeno o grupos hidroxilo en la posición 8-. En cambio, el compuesto menos activo **65** ($pIC_{50} = 4,458$) no tiene átomos electronegativos en esta área (Figura 35B), ni tampoco el compuesto **66** ($pIC_{50} = 4,627$). El compuesto **45a**, sin embargo, a pesar de su baja actividad ($pIC_{50} = 4,883$) presenta un grupo hidroxilo en la posición 8- del sistema anguciclinona, por lo que se deben considerar otros factores. De manera similar, vemos un poliedro rojo en la posición 6- del sistema de anguciclinona, sugiriendo que la presencia de átomos electronegativos en esa posición sería beneficiosa para la actividad antitumoral. Los compuestos **81**, **82** y **86** tienen un sistema aromático en el anillo B de anguciclinona, mientras que los compuestos menos activos, **65** y **66**, no. Esto sugiere que el átomo de nitrógeno piridínico sería mejor en esta posición. Los compuestos menos activos (**65** y **66**) dirigen un protón o grupo metilo hacia el poliedro rojo, respectivamente, sustituyentes que son electropositivos y perjudiciales para la actividad. Adicionalmente, un gran poliedro azul puede ser visto en la posición 3- del sistema anguciclinona, sugiriendo que la presencia de átomos o grupos pobres en electrones en esta región sería favorable para la actividad biológica. En los compuestos más activos, **44c** y **86** el grupo *terc*-butildimetilsilil está completamente inmerso en el poliedro, lo cual es favorable. Mientras que los compuestos **81** y **82** proyectan el hidrógeno polar desde la posición 3- hacia el poliedro azul.

Mapa de contorno estérico

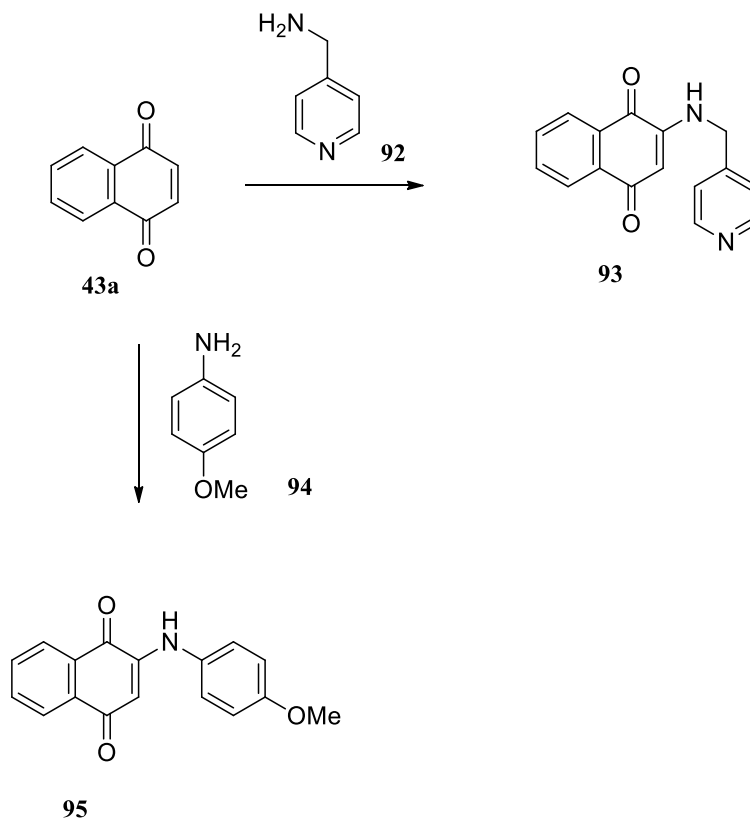
El mapa de contorno estérico muestra un poliedro verde cerca de las posiciones 1-, 2- y 3- del sistema anguciclinona (Figura 35C y D). Esto significa que la inserción de sustituyentes voluminosos en estas posiciones sería favorable para la actividad citotóxica, como lo demuestran los compuestos más activos **44c** ($pIC_{50} = 6,155$), **81** ($pIC_{50} = 7,097$), **82** ($pIC_{50} = 6,377$), y **86** ($pIC_{50} = 6,523$).

Por otro lado, hay un poliedro amarillo cerca de la posición 1-, detrás del sistema anguciclinona. Esto indica que la presencia de un sustituyente voluminoso en esa región del espacio es desfavorable para la actividad antitumoral. El compuesto menos activo, **65** (Figura 35D), orienta un grupo metoxi, en la posición 1-, hacia la región donde se encuentra el poliedro amarillo, lo que explica en parte su baja actividad ($pIC_{50} = 4,458$).

5.6 Síntesis de una amina primaria a partir del (-)-ácido shikímico

Con el objetivo de estudiar la importancia del sistema tetracíclico coplanar de las nuevas 6-aza-angucliclinonas sintetizadas, sobre el efecto citotóxico, hemos decidido realizar la síntesis de nuevos compuestos que mantengan patrones estructurales a los cuales se les atribuyen dichas actividades (núcleo quinónico y presencia de un heteroátomo) pero que muestren una apertura del anillo B (heterocíclico). Esto conducirá a una nueva serie de compuestos aminoquinónicos con potenciales actividades citotóxicas (ver estructura general **IV**, Esquema 10).

Se ha reportado que las 1,4-naftoquinonas al reaccionar con un nucleófilo pueden actuar como aceptores de Michael debido a su grupo carbonilo α,β insaturado. Ejemplo de esto, es la reacción aza-Michael de las aminas primarias **92** y **94** con 1,4-naftoquinona (**43a**) (Esquema 22).¹¹⁷



Esquema 22. Reactivos y condiciones: MeOH, t.a., 3 días.

Estas reacciones pueden ser catalizadas empleando algún ácido de Lewis capaz de coordinarse con uno de los pares de electrones no enlazantes de uno de los oxígenos en los grupos carbonilo de las naftoquinonas. En la Figura 36 se muestra como el cloruro de cerio se coordina con uno de los carbonilos haciendo que disminuya la densidad de carga sobre el carbono C-3 de la 1,4-naftoquinona, volviéndolo más electrofílico.^{118,119}

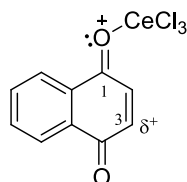
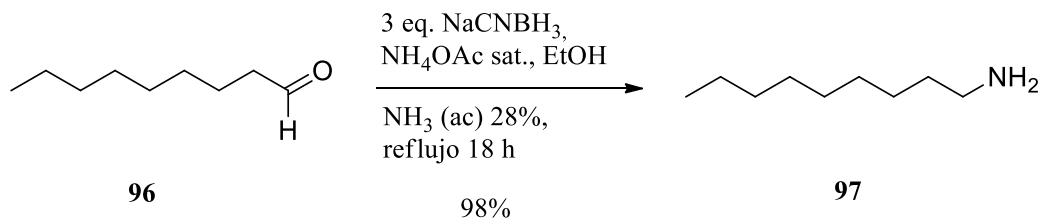


Figura 36. 1,4-naftoquinona coordinada con CeCl_3 .

En el año 2008, Liu y Ji estudiaron el efecto del catalizador en la adición 1,4 de morfolina a 1,4-naftoquinona. De un total de seis catalizadores empleados, los mejores rendimientos se obtuvieron con I_2 , CeCl_3 y CAN.¹¹⁹

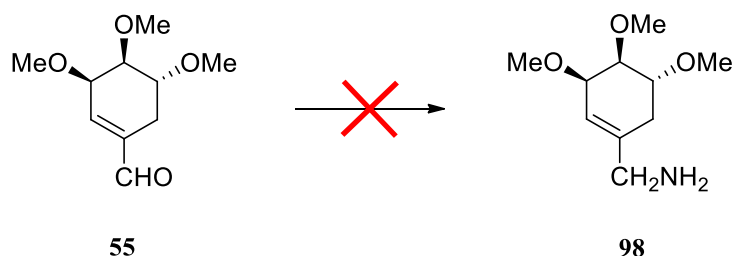
Basándose en estos antecedentes, se procedió a sintetizar una serie de aminonaftoquinonas, a partir del ácido shikímico (**1**), para lo cual primero fue necesario sintetizar una amina primaria capaz de actuar como nucleófilo en una adición tipo Michael sobre los derivados de naftoquinona.

Dangerfield y colaboradores, han reportado la síntesis de aminas primarias en un solo paso (one-pot), a partir de aldehídos alifáticos, esta reacción está basada en la formación, en una primera etapa, de una imina, la cual es reducida *in situ* al utilizar NaCNBH_3 como agente reductor.¹²⁰ Por ejemplo, en su estudio se reporta la conversión de nonanal (**96**) en nonan-1-amina (**97**) con un 98 % de rendimiento (Esquema 23).



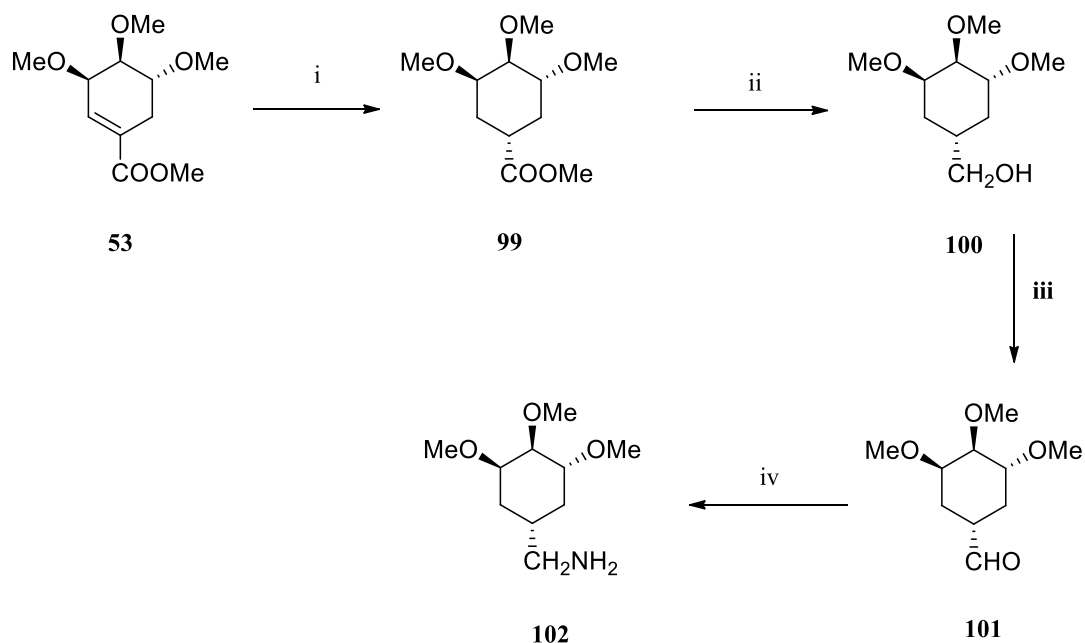
Esquema 23. Aminación reductiva del nonanal.

Bajo esta consideración, se intentó obtener el compuesto **98** por aminación reductiva del aldehído α,β -insaturado **55**, sin embargo, no se obtuvo el producto deseado (Esquema 24).



Esquema 24. Aminación reductiva del aldehído **55**. Reactivos y condiciones: 3 eq. NaCNBH₃, NH₄OAc saturado, EtOH, NH₃ (ac) 28 %, reflujo 18 h.

El problema con esta reacción se puede atribuir al tipo de aldehído utilizado (aldehído α,β insaturado). Como una alternativa, para obtener una amina primaria derivada de (-)-ácido shikimico, se propuso reducir el doble enlace en una etapa previa a la obtención del aldehído **101**. Esto se observa en el Esquema 25, en donde desde shikimato de metilo (**53**) se sintetizó la amina primaria **102** en una secuencia de cuatro pasos y con un 12 % de rendimiento global.



Esquema 25. Reactivos y condiciones: (i) H₂, Pd/C 10 %, MeOH, t.a., 4 h (98 %); (ii) LiAlH₄, dietil éter, t.a., 5 h (75 %); (iii) PCC, CH₂Cl₂, t.a., 2 h (51 %); (iv) 3 eq. NaCNBH₃, NH₄OAc saturado, EtOH, NH₃ (ac) 28 %, reflujo 18 h (33 %).

La reducción del compuesto **53** se realizó empleando hidrógeno y paladio sobre carbono al 10 % como catalizador. El compuesto **99** se obtuvo como un aceite incoloro y en un rendimiento del 98 %. Esta reacción fue estereoespecífica, obteniéndose un sólo diastereoisómero. La especificidad de la reacción se atribuyó a la estabilidad del producto formado (termodinámicamente más estable). Al estudiar la conformación silla de este estereoisómero, se aprecia que tres de los cuatro sustituyentes voluminosos se encuentran en posición ecuatorial (Figura 37). En el caso contrario, si el grupo metiléster se encontrara en posición β, este estereoisómero poseería dos sustituyentes axiales y dos ecuatoriales (menos estable).¹²¹

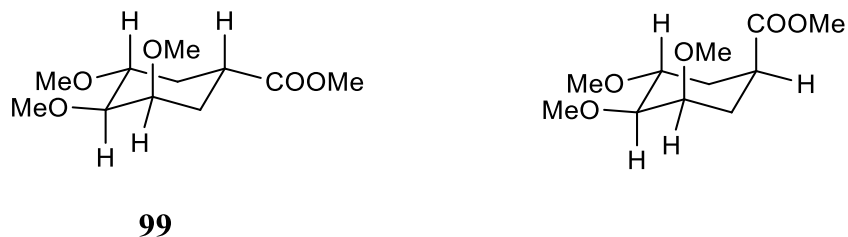


Figura 37. Comparación de las conformaciones de silla de los posibles productos de la hidrogenación catalítica de **53**.

El espectro de RMN-¹H del compuesto **99** no muestra el protón vinílico que posee **53** (δ 6,89 ppm), lo que junto con la aparición de una nueva señal cercana a δ 1.90 ppm (2H, m), asignada como H-2, confirma la reducción del doble enlace.

Posteriormente, el compuesto **99** se redujo empleando LiAlH₄ en dietil éter anhidro. La reacción produjo el alcohol **100**, como un aceite transparente, en un 75 % de rendimiento. La formación de este producto se confirmó por la desaparición de la señal de RMN-¹H correspondiente al metil éster, y por la aparición de una nueva señal atribuida a los hidrógenos -CH₂OH a δ 3,57 (2H, d, $J = 2,5$ Hz).

El aldehído **101** se obtuvo a partir de la oxidación con PCC del alcohol **100** en un rendimiento del 51 %, como un aceite transparente. La reacción se confirmó al observar una nueva señal en el espectro de RMN-¹³C a δ 203,0 ppm que corresponde al carbono carbonílico. En el espectro de RMN-¹H se aprecia el protón del aldehído como un singlete a δ 9,58 ppm.

Finalmente, la amina primaria **102** se obtuvo como un aceite incoloro mediante la aminación reductiva del aldehído **101**, y con un rendimiento del 33 %. La determinación estructural del compuesto **102** estuvo basada en que el espectro de RMN-¹³C no presenta la señal característica del grupo carbonilo, y se aprecia una señal en el espectro de RMN-¹H cercana a δ 3,50 ppm correspondiente a los dos hidrógenos contiguos al grupo amino (-CH₂-NH₂).

La estereoquímica del carbono C-1 en los compuestos **99**, **100**, **101** y **102**, se determinó utilizando el aldehído **101**, debido a la mejor resolución que presentaban las señales en el

espectro RMN-¹H. Se realizó un experimento de RMN NOESY. Se irradió selectivamente la señal correspondiente al hidrógeno H-1 (δ 2,45 ppm) y se observó que presentaba un efecto NOE con el hidrógeno H-5 (δ 3,55-3,49 ppm) (Figura 38). Esta interacción es del tipo 1,3-diaxial (Figura 39).

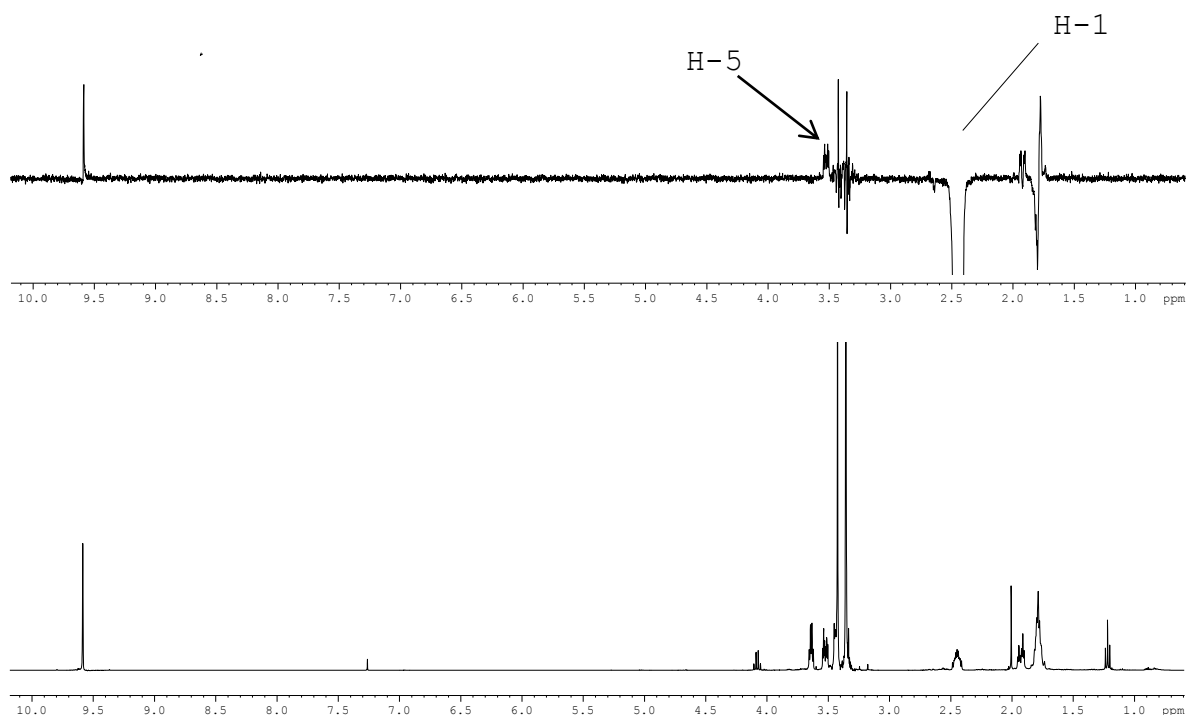


Figura 38. Arriba: espectro de protones NOESY del compuesto **101**, donde se aprecia la señal irradiada correspondiente a H-1; esta presenta NOE con H-5. Abajo: espectro de protones del aldehído **101**.

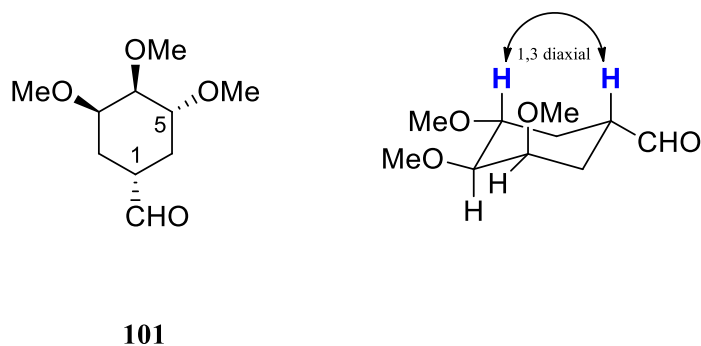


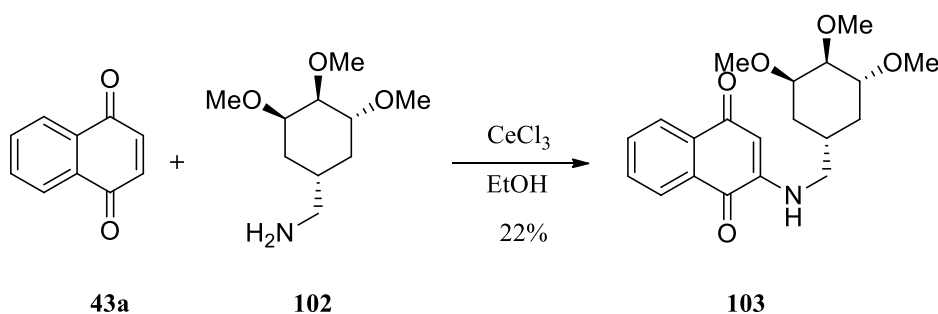
Figura 39. Diagrama de silla del compuesto **101**. Se indica la interacción 1,3-diaxial entre los hidrógenos H-1 y H-5.

5.7 Síntesis de nuevas aminonaftoquinonas con fragmento de (-)-ácido shikímico

Una vez obtenida la amina primaria **102**, derivada del (-)-ácido shikímico, se procedió a hacerlas reaccionar con las naftoquinonas (**43a** y **71**) empleadas anteriormente para la síntesis de los nuevos 6-aza-análogos de anguciclinona.

5.7.1 Reacción de la amina primaria **102** con 1,4-naftoquinona

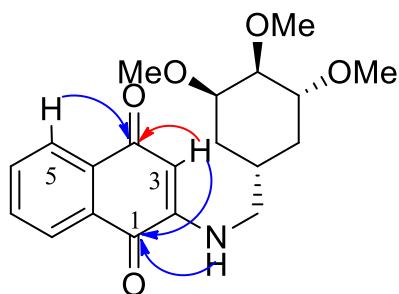
Se hizo reaccionar la amina **102** con la quinona **43a** mediante una adición de tipo aza-Michael, empleando $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ como catalizador y etanol como solvente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por 18 horas, obteniéndose la aminonaftoquinona **103** como un aceite naranja y con un rendimiento del 22 % (ver Esquema 26).



Esquema 26. Reactivos y condiciones: $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, EtOH, ta, 18 h.

La determinación estructural de este compuesto se hizo mediante las técnicas de RMN monodimensional y bidimensional. En el espectro de RMN^{-1}H se destacan las siguientes señales: un singlete ancho a δ 6,04 ppm asignado como el hidrógeno de la amina, un singlete a δ 5,69 ppm correspondiente a H-3, y tres señales singletes a δ 3,42 ppm, δ 3,39 ppm, y δ 3,28 ppm correspondientes a los tres grupos metoxilos. En el espectro de RMN^{-13}C se observan dos señales, a δ 182.9 ppm y δ 181.7 ppm, correspondientes a los carbonilos en la posición C-4 y C-1, respectivamente. El carbono carbonílico C-4 (δ 182.9 ppm) fue asignado a partir de una correlación $\text{HMBC } ^3\text{J}_{\text{HC}}$ de H-5 (δ 8.01 ppm) con C-4. Por otra parte, en el espectro HMBC-RMN , H-3 (δ 5.74 ppm) presenta una correlación

HMBC $^2J_{\text{HC}}$ con C-4 y una correlación HMBC $^3J_{\text{HC}}$ con C-1 (δ 181.7). Adicionalmente, el hidrógeno de la amina posee una correlación HMBC $^3J_{\text{HC}}$ con C-1 (ver Figura 40).

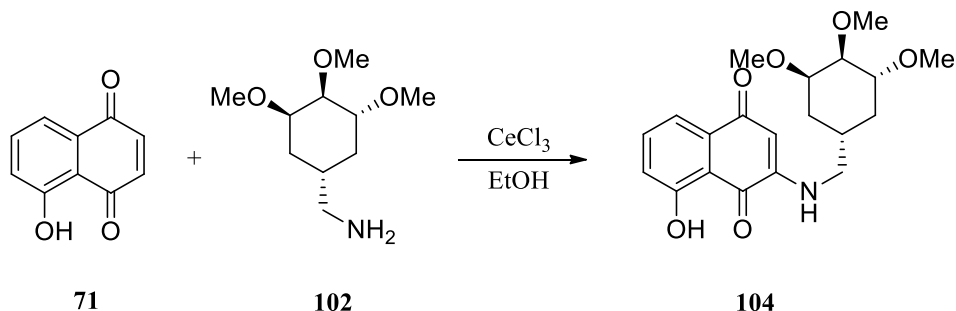


103

Figura 40. Correlaciones HMBC $^3J_{\text{HC}}$ (flechas azules) y $^2J_{\text{HC}}$ (flecha roja).

5.7.2 Reacción de la amina 102 con juglona

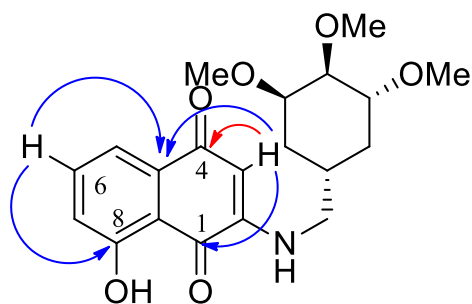
Se hizo reaccionar la amina **102** con juglona (**71**) empleando $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ como catalizador para favorecer la adición de tipo Michael. Se obtuvo el compuesto **104** como un aceite naranja y con un 18 % de rendimiento (Esquema 27).



Esquema 27. Reactivos y condiciones: $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, EtOH, ta, 18 h.

La determinación estructural se hizo mediante técnicas de RMN 1D y 2D. En el espectro de RMN- ^1H se aprecia una señal singlete que integra para un hidrógeno a δ 11,52 ppm, correspondiente al grupo hidroxilo en C-8, un singlete ancho a δ 6,00 ppm, correspondiente al hidrógeno de la amina, y un singlete a δ 5,72 ppm, asignado como H-3. En el espectro de

RMN- ^{13}C se aprecian dos señales a δ 185,9 ppm y δ 182,2 ppm correspondientes a los dos carbonos carbonílicos en C-4 y C-1, respectivamente. La regioselectividad de esta reacción fue determinada mediante correlaciones heteronucleares HMBC, en donde H-3 (δ 5,72 ppm) muestra correlaciones HMBC ^3J con C-4a (δ 133,4 ppm) y C-1 (δ 182,2 ppm), y HMBC ^2J con C-4 (δ 185,9 ppm). Por otra parte, H-6 (δ 7,13 ppm) presenta correlaciones HMBC ^3J con C-4a y con C-8 (δ 161,7) (Figura 41). De este modo se ha determinado la estructura de **104** de manera inequívoca y se ha comprobado que la reacción es regioselectiva.



104

Figura 41. Correlaciones HMBC $^3\text{J}_{\text{HC}}$ (flechas azules) y $^2\text{J}_{\text{HC}}$ (flecha roja).

La regioselectividad en las reacciones tipo Michael, donde se hace reaccionar una amina con juglona, ha sido reportada. Cuando se ocupa un catalizador metálico se obtiene, generalmente, un solo regioisómero. Esto ocurre porque el catalizador coordina con el oxígeno del grupo carbonilo opuesto al hidroxilo, favoreciendo la adición 1,4 sobre el carbono C-3 de la juglona (5-hidroxi-1,4-naftoquinona).¹²²

5.7.3 Reacción de la amina **102** con 7-bromo-5,8-quinolindiona

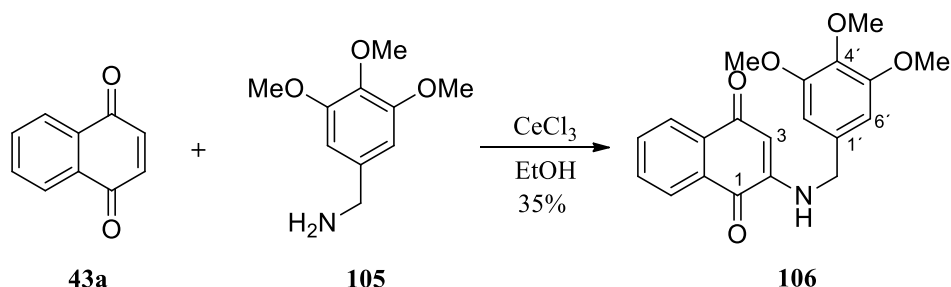
Se intentó hacer reaccionar la amina primaria **102** con la naftoquinona **79** bajo las mismas condiciones empleadas anteriormente con las otras quinonas, sin embargo, no se pudo llegar al compuesto deseado; obteniéndose sólo productos de descomposición.

5.8 Síntesis de aminonaftoquinonas a partir de aminas comerciales.

Con el objetivo de estudiar cómo varía la actividad citotóxica de las aminonaftoquinonas dependiendo de los diversos patrones de sustitución, se procedió a hacer reaccionar dos aminas comerciales con las naftoquinonas **43a**, **71**, y **79**, empleadas en la síntesis de la serie de 6-aza-anguciclinonas.

5.8.1 Reacción de 3,4,5-trimetoxibencilamina con 1,4-naftoquinona

Se hizo reaccionar 3,4,5-trimetoxibencilamina (**105**) con **43a** empleando etanol como solvente y $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ como catalizador (Esquema 28). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por 72 horas. Luego se concentró a presión reducida y el crudo resultante se purificó por CC con gradiente de polaridad, empleando mezclas en diferentes proporciones de acetato de etilo/hexano. El producto resultante (**106**) se obtuvo como un sólido rojo, en un 35 % de rendimiento.

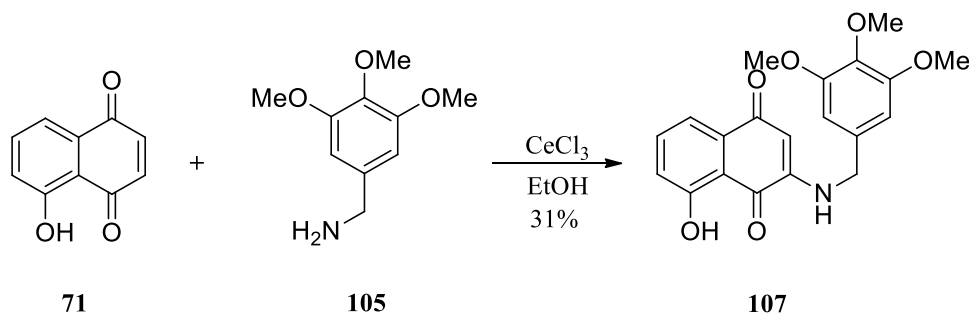


Esquema 28. Reactivos y condiciones: $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, EtOH, ta, 72 h (35 %).

La caracterización del compuesto **106** se hizo mediante RMN. En el espectro de RMN- ^1H se aprecia un singlete a δ 6,52 que integra para dos hidrógenos, asignado a los hidrógenos aromáticos H-2' + H-6'. Además, se observa un singlete ancho a δ 6,19, correspondiente a -NH-, y un singlete a δ 5,80 que integra para un hidrógeno, correspondiente a H-3. Al analizar el espectro de RMN- ^{13}C , se observan dos señales correspondientes a los carbonos carbónílicos C-4 y C-1 a δ 183,1 ppm y δ 181,8 ppm, respectivamente. También se observa una señal con fase negativa en el espectro DEPT-135 a δ 47,2 ppm, asignada como $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{N}-$.

5.8.2 Reacción de 3,4,5-trimetoxibencilamina con juglona

Se hizo reaccionar la amina **105** con juglona (**71**) empleando etanol como solvente y $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ como catalizador (Esquema 29). La mezcla de reacción se agitó por 72 horas y luego se evaporó el solvente a presión reducida. El crudo resultante se purificó por CC, dando como resultado el compuesto **107** como un sólido rojo en un 31 % de rendimiento.



Esquema 29. Reactivos y condiciones: $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, EtOH, ta, 72 h (31 %).

En el espectro de RMN- ^1H del compuesto **107** se puede observar una señal a δ 11,53 ppm correspondiente al hidrógeno del hidroxilo en C-8 (Ar-OH), un singlete ancho a δ 6,16 ppm correspondiente a -NH-, y un singlete a δ 5,79 ppm, asignado a H-3. En el espectro HMBC se observa que H-5 (δ 7,63 ppm) presenta correlaciones HMBC $^3\text{J}_{\text{HC}}$ con C-7 (δ 122,4 ppm) y con C-4 (δ 186,0 ppm). El hidrógeno del hidroxilo Ar-OH (δ 11,53 ppm) en C-8, también presenta una correlación HMBC $^3\text{J}_{\text{HC}}$ con C-7. Por otra parte, H-3 muestra una correlación HMBC $^2\text{J}_{\text{HC}}$ con C-4 (Figura 42).

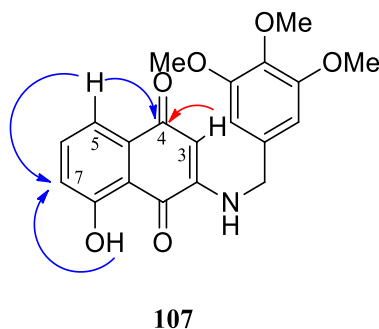
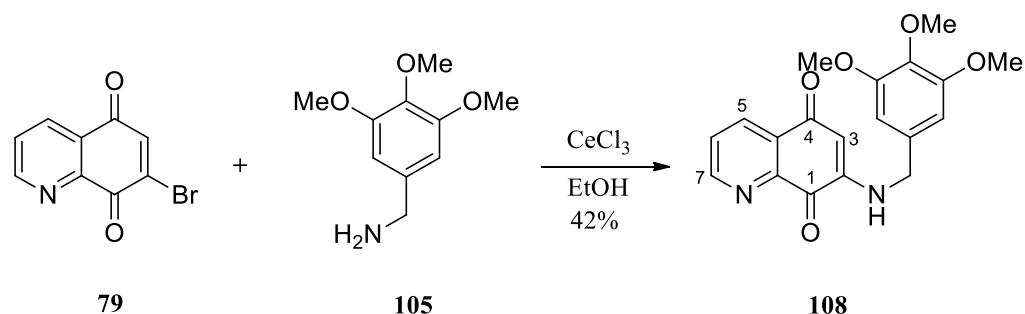


Figura 42. Correlaciones HMBC $^3\text{J}_{\text{HC}}$ (flechas azules) y $^2\text{J}_{\text{HC}}$ (flecha roja).

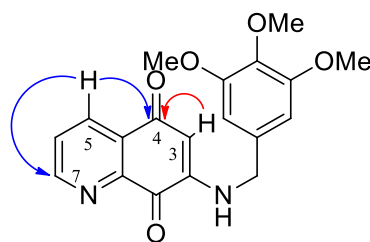
5.8.3 Reacción de 3,4,5-trimetoxibencilamina con 7-bromo-5,8-quinolindiona

Se hizo reaccionar la amina **105** con 5,8-quinolindiona (**79**), empleando etanol como solvente y $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ como catalizador (Esquema 30). La mezcla de reacción se agitó por 24 horas y luego se evaporó el solvente a presión reducida. El crudo resultante se purificó por CC, dando como resultado el compuesto **108** como un sólido rojo en un 42 % de rendimiento.



Esquema 30. Reactivos y condiciones: $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, EtOH, ta, 24 h (42 %).

La caracterización del compuesto **108** se hizo mediante técnicas de RMN 1D y 2D. En el espectro de RMN- ^1H se aprecia una señal a δ 9,02 ppm (1H, d, $J = 2,9$ Hz) correspondiente a H-7. Por otra parte, H-5 aparece como un doblete a δ 8,36 ppm (1H, d, $J = 7.6$ Hz). La señal asignada como H-3 aparece a δ 5,86 ppm (1H, s). Adicionalmente, se observa un singlete ancho a δ 6,14 ppm correspondiente al hidrógeno de la amina (-NH-). En el espectro de RMN- ^{13}C se aprecian dos señales correspondientes a los carbonilos C-4 (δ 179,6 ppm) y C-1 (δ 191,1 ppm). En el espectro HMBC, H-5 a presenta correlaciones HMBC $^3J_{\text{HC}}$ con el carbono carbonílico C-4 a δ 179,6 ppm, con C-7 (δ 153,7 ppm) y con el carbono cuaternario C-8a (δ 155,1 ppm), mientras que el hidrógeno H-3 (δ 5,86 ppm) presenta una correlación HMBC $^2J_{\text{HC}}$ con el carbono carbonílico C-4 (δ 179,6 ppm) (Figura 43).



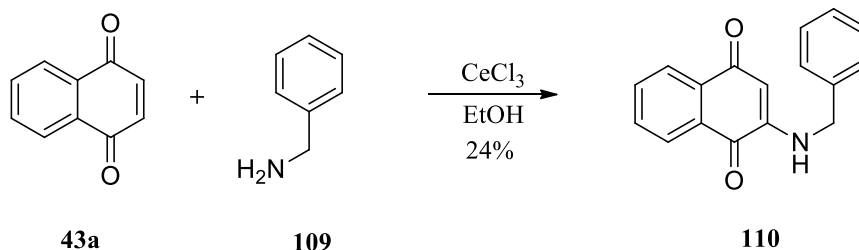
108

Figura 43. Correlaciones HMBC $^3J_{\text{HC}}$ (flechas azules) y $^2J_{\text{HC}}$ (flecha roja).

Se observa que al igual que en el caso de la reacción con juglona, esta fue regioselectiva. La adición tipo Michael ocurrió en el carbono C-7 de la quinona **79**. En este caso, la regioselectividad se atribuye a la presencia de bromo. Al utilizar una naftoquinona halogenada, el halógeno orienta la adición.¹²³ En el caso de utilizar 5,8-quinolindiona sin halogenar, se pueden formar dos isómeros, con adición en el carbono C-6 o C-7 de la quinona.¹²⁴ Jiang y Wang en el año 2009 reportaron el uso de un catalizador de oro (III) para obtener un regioisómero de adición en C-6.¹²⁵

5.8.4 Reacción de bencilamina con 1,4-naftoquinona

Se hizo reaccionar bencilamina (**109**) con 1,4-naftoquinona (**43a**) empleando etanol como solvente y $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ como catalizador (Esquema 31). La mezcla de reacción se agitó por 36 horas y luego se evaporó el solvente a presión reducida. El crudo resultante se purificó por CC, dando como resultado el compuesto **110** como un sólido rojo en un 24 % de rendimiento.

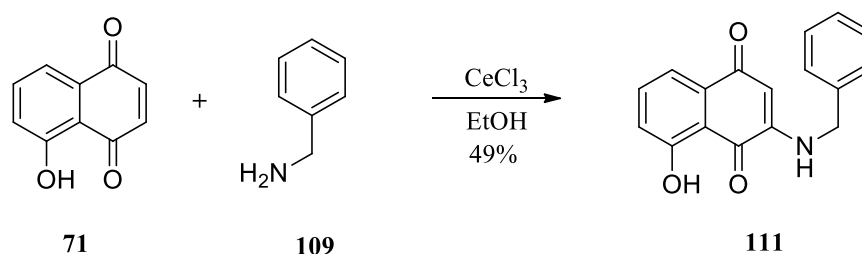


Esquema 31. Reactivos y condiciones: $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, EtOH, ta, 36 h (24 %).

La estructura del compuesto **110** se determinó mediante técnicas de RMN monodimensionales. En el espectro de RMN-¹H se observan varias señales en la región característica de los hidrógenos aromáticos, cuyas integrales en total suman 9 hidrógenos. También se aprecia, un singlete ancho a δ 6,24 ppm correspondiente al hidrógeno de la amina (-NH-), un singlete a δ 5,80 ppm, correspondiente a H-3, y un singlete a δ 4,38 ppm, que integra para dos hidrógenos, asignado a -CH₂N-. En el espectro de RMN-¹³C se aprecian las dos señales correspondientes a los carbonilos C-1 y C-4, a δ 181,8 y δ 183,1 ppm, respectivamente. C-3 aparece con un desplazamiento de δ 101,7 ppm. En el espectro de DEPT-135 se aprecia una señal con una fase invertida a δ 46,8 ppm asignada como -CH₂NH-. Los datos espectroscópicos son concordantes con la literatura.¹¹⁹

5.8.5 Reacción de bencilamina con juglona

Se hizo reaccionar bencilamina (**109**) con juglona (**71**), empleando etanol como solvente y CeCl₃·7H₂O como catalizador (Esquema 32). La mezcla de reacción se agitó por 4 días y luego se evaporó el solvente a presión reducida. El crudo resultante se purificó por CC, dando como resultado el compuesto **111** como un sólido rojo en un 49 % de rendimiento.



Esquema 32. Reactivos y condiciones: CeCl₃·7H₂O, EtOH, ta, 4 d (49 %).

La estructura del compuesto **111** se determinó mediante técnicas espectroscópicas de RMN mono y bidimensionales. En el espectro de RMN-¹H se observa una señal singlete a δ 11,53 ppm, que integra para uno, correspondiente a Ar-OH. En la región de los hidrógenos aromáticos, se destaca una señal doblete a δ 7,64 ppm (d, $J = 8,2$ Hz) asignada como H-5. A δ 5,78 ppm, aparece una señal singlete asignada como H-3. En el espectro de RMN-¹³C,

las señales correspondientes a los carbonilos aparecen a δ 185,9 ppm (C-1) y δ 182,3 ppm (C-4). En el espectro de HMBC, H-3 presenta correlaciones $^3J_{\text{HC}}$ con el carbono carbonílico C-1 (δ 185,9 ppm) y con el carbono cuaternario C-4a (δ 133,3 ppm). La señal correspondiente a H-5 (δ 7,64 ppm,) presenta una correlación HMBC $^3J_{\text{HC}}$ con C-7 (δ 161,7 ppm) y una $^2J_{\text{HC}}$ con C-4a (δ 133,3 ppm) (Figura 44). El hidroxilo (Ar-OH) posee correlación HMBC $^3J_{\text{HC}}$ con C-7 (δ 161,7 ppm).

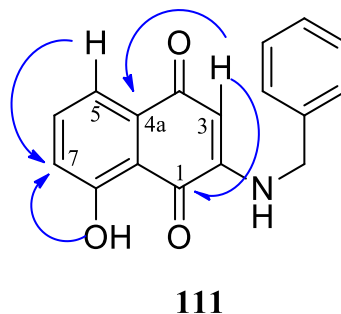
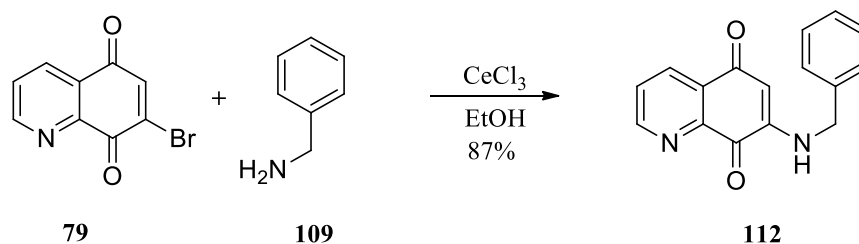


Figura 44. Correlaciones HMBC $^3J_{\text{HC}}$ en el compuesto **111**.

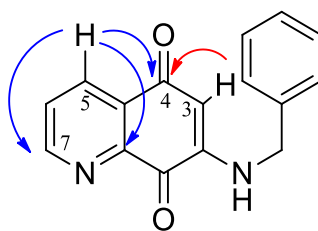
5.8.6 Reacción de bencilamina con 7-bromo-5,8-quinolindiona

Se hizo reaccionar bencilamina (**109**) con 7-bromo-5,8-quinolindiona (**79**) empleando etanol como solvente y $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ como catalizador (Esquema 33). La mezcla de reacción se agitó por 24 horas y luego se evaporó el solvente a presión reducida. El crudo resultante se purificó por CC, dando como resultado el compuesto **112** como un sólido rojo en un 87 % de rendimiento.



Esquema 33. Reactivos y condiciones: $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, EtOH, ta, 24 h (87 %).

La estructura del compuesto **112** se determinó mediante técnicas espectroscópicas de RMN mono y bidimensionales. En el espectro de RMN- ^1H se observa una señal a δ 9,00 ppm, asignada como H-7. La señal correspondiente a H-5 aparece a δ 8,34 ppm, seguida por H-6 a δ 7,56 ppm. Se aprecia un singlete ancho a δ 6,21 ppm correspondiente al hidrógeno de la amina $-\text{NH}-$. La señal singlete a δ 5,86 ppm fue asignada como H-3. En el espectro HMBC, H-7 muestra correlaciones con C-5 (δ 134,8 ppm, $^3J_{\text{HC}}$) y con C-6 (126,6 ppm, $^2J_{\text{HC}}$). Por su parte, H-5 presenta correlaciones HMBC con C-8a (δ 147,9 ppm, $^3J_{\text{HC}}$), con C-7 (δ 155,1 ppm, $^3J_{\text{HC}}$) y con C-4 (δ 179,6 ppm, $^3J_{\text{HC}}$). Finalmente H-3 muestra una correlación $^2J_{\text{HC}}$ con C-4 (Figura 45).



112

Figura 45. Correlaciones HMBC $^3J_{\text{HC}}$ en el compuesto **112**.

5.9 Evaluación de la citotoxicidad de las aminonaftoquinonas sintetizadas

Se evaluó la actividad citotóxica de los ocho derivados de aminonaftoquinona sintetizados (**103**, **104**, **106**, **107**, **108**, **110**, **111**, y **112**), determinando el efecto de viabilidad celular en 4 líneas celulares diferentes: PC-3 (cáncer de próstata), HT-29 (cáncer de colon), MCF-7 (cáncer de mama), y HEK (células embrionarias de riñón ¹²⁶) como línea de control. Los resultados se presentan en la Tabla 17 expresados como IC₅₀ μM. También se muestra entre paréntesis el índice de selectividad.

Tabla 17. Actividad citotóxica de los derivados de aminonaftoquinona.

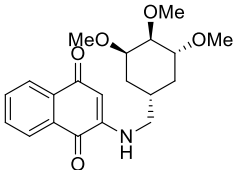
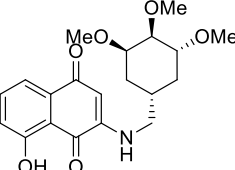
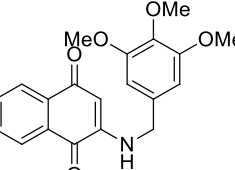
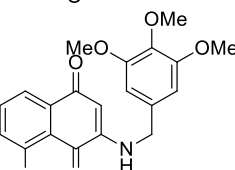
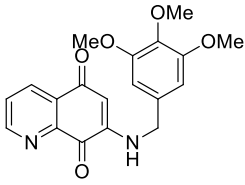
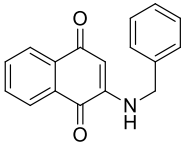
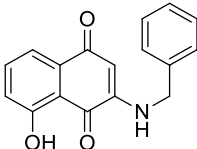
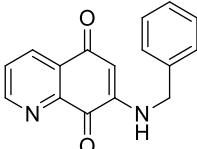
Compuesto	Estructura	Actividad citotóxica (IC ₅₀ [μM])			
		PC-3	HT-29	MCF-7	HEK
103		13,0 ± 0,2 (3,9)	61,4 ± 0,5 (0,8)	13,6 ± 0,1 (3,8)	51,2 ± 7,7
104		25,5 ± 9,0 (0,9)	46,5 ± 10,1 (0,5)	21,2 ± 3,0 (1,0)	21,7 ± 7,3
106		75,4 ± 15,0 (1,3)	87,1 ± 16,3 (1,1)	29,7 ± 12,6 (3,4)	100,1 ± 15,4
107		26,5 ± 4,0 (1,1)	64,4 ± 21,5 (0,4)	26,8 ± 3,9 (1,0)	28,0 ± 8,9

Tabla 17. Continuación.

Compuesto	Estructura	Actividad citotóxica (IC ₅₀ [μM])			
		PC-3	HT-29	MCF-7	HEK
108		15,8 ± 11,1 (1,2)	5,1 ± 11,2 (3,6)	20,1 ± 11,6 (0,9)	18,5 ± 22,2
110		76,1 ± 20,2 (1,1)	51,4 ± 18,6 (1,7)	40,6 ± 20,8 (2,1)	86,4 ± 21,7
111		25,8 ± 3,5 (0,3)	41,8 ± 7,4 (0,2)	37,7 ± 5,8 (0,2)	8,0 ± 9,4
112		5,5 ± 12,7 (0,5)	1,1 ± 1,2 (2,5)	11,1 ± 3,9 (0,3)	2,8 ± 3,5

5.10 Relaciones estructura-actividad de las aminonaftoquinonas

Con los datos obtenidos en la Tabla 17, se realizó un análisis de relación estructura-actividad (SAR) de las aminonaftoquinonas sintetizadas en función de los patrones estructurales del fragmento proveniente de la amina primaria y del fragmento quinónico:

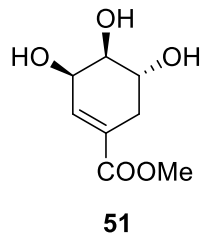
- i) Al tomar en consideración los grupos metoxilo en el anillo del fragmento de la amina, se observa que estos no producen un efecto significativo en la actividad (compárese **106** con **110**, y **108** con **112**), independientemente de si el anillo es aromático o saturado (compárese **104** con **107**). Sin embargo, en el caso del compuesto **103** se observa, al compararlo con **106**, que un anillo saturado con tres centros quirales mejora la actividad y la selectividad en las líneas PC-3 y MCF-7, posiblemente como resultado de la orientación que toman los grupos metoxilos.
- ii) Al considerar el fragmento quinónico, la presencia de un grupo hidroxilo en C-8, mejoró la actividad levemente en comparación con los que no tienen sustituyentes en el anillo de benceno (compárese **106** con **107**, y **110** con **111**). Por otra parte, los mejores resultados se obtuvieron, al igual que con la serie de 6-aza-anguciclinonas, con aquellos derivados que tienen un anillo tipo piridina (**108** y **112**). Sin embargo, estos compuestos, prácticamente, carecen de selectividad por las líneas tumorales.

5.11 Comparación de la citotoxicidad de las aminonaftoquinonas con las 6-aza-anguciclinonas.

Si se toma en consideración la actividad junto con la selectividad, el compuesto **103** resultó ser el mejor de esta serie. Al compararlo con sus homólogos de la serie de 6-aza-anguciclinonas, **65** y **66**, se observa que **103** muestra mejor actividad en las líneas PC-3 y MCF-7, sin embargo **66** es más selectivo que **103** para la línea PC-3. Mientras que el compuesto **67**, cuyo anillo B es aromático, es más activo que **103** en las tres líneas tumorales, y además es más selectivo en la línea HT-29. Por lo tanto, la estructura de tetraciclo es mejor para la actividad y selectividad, en comparación con los derivados de cadena abierta, cuando el anillo B es aromático.

6. EXPERIMENTAL

Síntesis del éster **51**

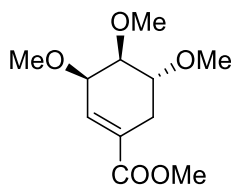


A una solución de (-)-ácido shikímico (**1**) (1 g, 5,75 mmol) en 50 mL de MeOH, se agregaron 5 gotas de H₂SO₄. La solución resultante se agitó por 24 horas a 65 °C, transcurrido este tiempo se agregó NaHCO₃ (1 g, 11,90 mmol) y se agitó por otros 30 minutos. La suspensión resultante se filtró, se concentró y luego se purificó por cromatografía en columna y se obtuvo el compuesto **51** como un sólido de color blanco, con un punto de fusión de 114-115 °C, de forma cuantitativa. (1,1 g, Rendimiento cuantitativo).

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ: 6,78 (1H, dt, *J* = 1,7, 3,2 Hz, H-2), 4,37-4,35 (1H, m, H-3), 3,98 (1H, dt, *J* = 5,2, 7,2 Hz, H-5), 3,73 (3H, s, O-CH₃), 3,68 (1H, dd, *J* = 4,2, 7,2 Hz, H-4), 2,68 (1H, ddd, *J* = 1,7, 5,2, 18,2 Hz, H-6), 2,19 (1H, ddd, *J* = 1,7, 5,2, 18,2 Hz, H-6).

RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ: 168,7 (C=O), 139,1 (C-2), 130,2 (C-1), 72,6 (C-4), 68,4 (C-3), 67,2 (C-5), 52,3 (O-CH₃), 31,4 (C-6).

Síntesis del ester de metilo **53**



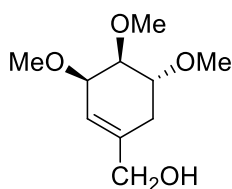
53

A una solución de **51** (1 g, 5,31 mmol) en 25 mL de acetonitrilo, se le agregó 2,00 g de NaOH. La suspensión se agitó por 4 horas a temperatura ambiente. Finalizado este tiempo se agregó 5 mL de CH₃I y dejó agitar por 24 h. A la suspensión resultante se le agregó una pequeña de H₂SO₄ para neutralizar el medio y se realizó una extracción líquido-líquido de una mezcla de AcOEt/Agua. Se procedió a evaporar la fase orgánica a presión reducida. Posteriormente se agregó 50 mL de MeOH, y 5 gotas de H₂SO₄. La solución resultante se agitó por 24 horas a 65 °C, transcurrido este tiempo se agregó NaHCO₃ (1 g, 11,90 mmol) y se agitó por otros 30 minutos. La suspensión resultante se filtró, se concentró y luego se purificó por cromatografía en columna y se obtuvo el compuesto **53** (0,7 g, rendimiento 58 %). $[\alpha]_D^{25} -117,3$ (CH₂Cl₂, c = 1,19)

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ : 6,89 (1H, d, $J = 1,6$ Hz, H-2), 4,06 (1H, s, H-3), 3,77 – 3,74 (1H, m, H-5), 3,71 (3H, s, OCH₃), 3,62 (1H, dd, $J = 5,9, 3,9$ Hz, H-4), 3,47 (6H, s, OCH₃), 3,39 (3H, s, OCH₃), 2,58 (1H, ddt, $J = 18,6, 4,5, 2,2$ Hz, H-6), 2,41 – 2,34 (1H, m, H-6).

RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ : 166,8 (C=O), 135,4 (C-2), 128,9 (C-1), 77,0 (C-4), 75,0 (C-3), 74,8 (C-5), 58,6 (OCH₃), 57,3 (OCH₃), 51,1 (OCH₃), 51,7 (C-8), 26,6 (C-6).

Síntesis del alcohol 54



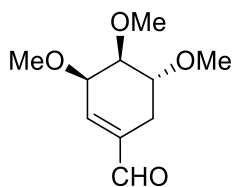
54

A una solución del compuesto **53** (1,4g, 6,08 mmol) en 30 mL de tolueno anhidro, y a una temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, se añadieron 12,1 mL de DIBAL-H 1M. Posterior a este paso, la solución se llevó a temperatura ambiente y se agitó por 12 horas. A la mezcla de reacción se agregó gota a gota 0,5 ml de agua destilada, luego 0,5 ml de una solución de NaOH al 15 % para finalmente agregar 1,2 mL de agua destilada. La mezcla se dejó agitar por 30 minutos para luego filtrar y concentrar. El producto resultante fue purificado por cromatografía en columna utilizando silica gel como fase estacionaria y AcOEt como fase móvil. El producto obtenido fue un aceite transparente del compuesto **54** (0,9 g, Rendimiento 77 %). $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -141,2$ (CH_2Cl_2 , $c = 1,13$)

RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ : 5,79 (1H, sa, H-2), 4,00 (2H, s, CH_2OH), 3,97 (1H, sa, H-3), 3,75 (1H, dt, $J = 7,6, 5,8$ Hz, H-5), 3,49 (3H, s, OCH_3)*, 3,48 – 3,46 (1H, m, H-4), 3,44 (3H, s, OCH_3)*, 3,43 (3H, s, OCH_3)*, 2,49 (1H, dd, $J = 17,8, 5,3$ Hz, H-6), 2,27 (1H, sa, OH), 2,01 (1H, dd, $J = 17,2, 6,1$ Hz, H-6). (*) Señales intercambiables.

RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ : 139,3 (C-1), 119,4 (C-2), 80,2 (C-4), 75,6 (C-5), 74,2 (C-3), 66,0 (CH_2OH), 58,4 (OCH_3)*, 57,7 (OCH_3)*, 57,4 (OCH_3)*, 30,2 (C-6). (*) Señales intercambiables.

Síntesis del aldehído 55



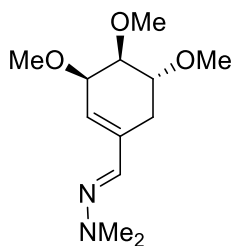
55

A una solución del compuesto **54** (1,13 g, 5,58 mmol) en 20 mL de CH₂Cl₂ p.a., se agregó 3,03 g (14,05 mmol) del reactivo PCC. La mezcla de reacción se agitó por 30 minutos, pasado este tiempo se agregó dietil éter para diluir la mezcla de reacción y se filtró en una columna corta de sílice, usando como eluyente acetato de etilo. El filtrado se concentró, obteniéndose el compuesto **55** como un aceite amarillo claro. (0,6 g, 2,8 mmol, rendimiento 51 %). $[\alpha]_D^{25}$ -364,0 (CH₂Cl₂, c = 0,58)

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ : 9,43 (1H, s, HC=O), 6,66 (1H, sa, H-2), 4,18 (1H, sa, H-3), 3,83-3,0 (1H, m, H-5), 3,76 – 3,72 (1H, m, H-4), 3,49 (3H, s, 3-OCH₃), 3,46 (3H, s, 4-OCH₃), 3,34 (3H, s, 5-OCH₃), 2,37 (2H, d, $J = 1,6$ Hz, H-6).

RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ : 193,4 (C=O), 145,8 (C-2), 138,8 (C-1), 76,4 (C-4), 75,4 (C-3), 74,6 (C-5), 58,4 (4-OCH₃), 57,7 (3-OCH₃), 57,4 (5-OCH₃), 22,8 (C-6).

Síntesis del aza-dieno **56**



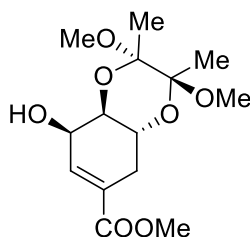
56

Se agregó gota a gota reactivo *N,N*-dimetilhidracina (0,20 mL, 2,66 mmol) a una solución del compuesto **55** (0,6 g, 3,00 mmol) en 25 mL de CH₂Cl₂ con MgSO₄. La mezcla de reacción se agitó por 24 horas a temperatura ambiente. Finalmente, el crudo obtenido se purificó por columna cromatográfica, obteniéndose el compuesto **56** como un aceite de color amarillo. (0,3 g, 1,26 mmol, rendimiento 42 %). [α]_D²⁵ -272,3 (CH₂Cl₂, c = 0,72).

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ : 6,93 (1H, s, CH=N), 5,84 – 5,80 (1H, m, H-2), 4,09 (1H, t, J = 3,8 Hz, H-3), 3,80 – 3,75 (1H, m, H-5), 3,53 – 3,49 (1H, m, H-4), 3,50 (3H, s, OCH₃)*, 3,46 (6H, s, OCH₃)*, 2,87 – 2,80 (1H, m, H-6), 2,83 (6H, s, N(CH₃)₂), 2,28 (1H, dd, J = 18,1, 6,3 Hz, H-6). (*) Señales intercambiables.

RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ : 137,0 (C=N), 134,9 (C-1), 123,6 (C-2), 80,2 (C-4), 75,5 (C-5), 74,4 (C-3), 58,1 (OCH₃)*, 57,5 (OCH₃)*, 57,1 (OCH₃)*, 42,7 (N(CH₃)₂), 28,2 (C-6). (*) Señales intercambiables.

Síntesis del éster **57**



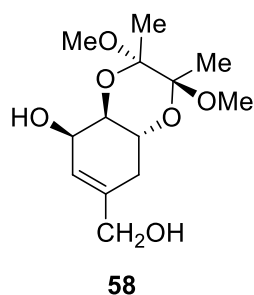
57

A una solución metanólica que contiene 2 g de (-)-ácido shikímico (**1**), 1,1 mL de butanodiona, y 5,8 mL de ortoformiato de trimetilo, se le añadieron 6 gotas de ácido sulfúrico concentrado y se calentó a reflujo por 48 horas. Se enfrió a temperatura ambiente y se añadió bicarbonato de sodio para neutralizar. La solución se deja agitar por unos 5 minutos y luego se filtra. El solvente se remueve por destilación a presión reducida. El crudo resultante se extrae en un embudo de decantación con acetato de etilo y agua. La fase orgánica se concentra y se purifica en una columna de sílica gel, eluyendo con una mezcla acetato de etilo/hexano al 30 % v/v. El producto purificado (**57**) es un sólido transparente con un punto de fusión de 92,3-93,0 °C. Se obtuvieron 2,4 g (69,2 % de rendimiento). $[\alpha]_D^{30}$ 27,4 (CHCl₃, c = 1,28).

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ: 6,89-6,87 (1H, m, H-2), 4,36 (1H, t, *J* = 4,8 Hz, H-3), 4,08 (1H, td, *J* = 5,8, 10,6 Hz, H-4), 3,73 (3H, s, COOCH₃), 3,60 (1H, dd, *J* = 4,3, 10,8 Hz, H-5), 3,25 (3H, s, OCH₃), 3,23 (3H, s, OCH₃), 2,80 (1H, dd, *J* = 5,8, 17,6 Hz, H-6), 2,26-2,19 (1H, m, H-6), 1,32 (3H, s, CCH₃), 1,28 (3H, s, CCH₃).

RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ: 166,5 (C=O), 135,1 (C-2), 131,6 (C-1), 100,0 (C-O), 99,2 (C-O), 70,5 (C-4), 65,0 (C-5), 62,4 (C-3), 52,0 (COOCH₃), 48,0 (OCH₃), 47,9 (OCH₃), 30,0 (C-6), 17,8 (C-CH₃), 17,6 (C-CH₃).

Síntesis del alcohol 58



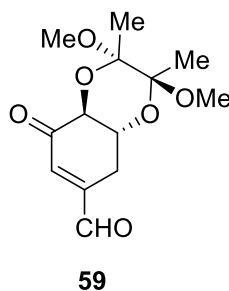
58

Se agregó poco a poco 0,4 g de LiAlH₄ a una solución del compuesto **57** (1,4 g, 4,6 mmol) en 30 mL de dietil éter anhidro, a una temperatura de 0 °C. Posterior a este paso, la solución se llevó a temperatura ambiente y se agitó por 12 horas. A la mezcla de reacción se agregó gota a gota 0,4 ml de agua destilada, luego 0,4 ml de una solución de NaOH al 15 % para finalmente agregar 1,2 mL de agua destilada. La mezcla se dejó agitar por 30 minutos para luego filtrar y concentrar. El producto resultante fue purificado por cromatografía en columna utilizando sílica gel como fase estacionaria y acetato de etilo como fase móvil. El producto obtenido (**58**) fue un sólido transparente con un punto de fusión de 94,5-96,0 °C (0,8 g, Rendimiento 67 %). $[\alpha]_D^{27} +64,1$ (CHCl₃, c = 0,31).

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ : 5,84-5,83 (1H, m, H-2), 4,28 (1H, t, $J = 4,6$ Hz, H-3), 4,15 (1H, td, $J = 6,0, 10,7$ Hz, H-4) 4,05 (2H, s, CH₂OH), 3,62 (1H, dd, $J = 4,1, 10,7$ Hz, H-5), 3,27 (3H, s, OCH₃), 3,26 (3H, s, OCH₃), 2,35 (1H, dd, $J = 5,9, 16,8$ Hz, H-6), 2,17-2,10 (1H, m, H-6), 1,34 (3H, s, CCH₃), 1,30 (3H, s, CCH₃).

RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ : 140,9 (C-1), 120,3 (C-2), 99,9 (COCH₃), 99,2 (COCH₃), 71,1 (C-4), 65,7 (CH₂OH), 65,4 (C-5), 62,7 (C-3), 48,0 (OCH₃), 47,9 (OCH₃), 31,2 (C-6), 17,9 (CCH₃), 17,7 (CCH₃).

Síntesis del aldehído 59



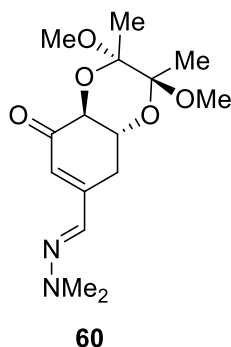
Se disolvieron 0,34 g (1,24 mmol) de **58** en 20 mL de diclorometano y luego se añadió una punta de espátula de sulfato de magnesio. Se agitó por 1 minuto e inmediatamente se comenzó a agregar PCC de a poco monitoreando la reacción mediante TLC cada 10 minutos hasta que desapareció el reactivo **58**. Luego la reacción se diluyó en dietil éter y se filtró en una columna de sílica. Se obtuvo el aldehído **59** (0,17 g, 0,64 mmol, 52 %) como un aceite incoloro.

$[\alpha]_D^{19} +45,6$ (CHCl_3 , $c = 0,88$).

RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ : 9,74 (HC=O), 6,69 (1H, d, $J = 3,0$ Hz, H-2), 4,33 (1H, d, $J = 11,4$ Hz, H-4), 4,07-4,00 (1H, m, H-5), 3,25 (3H, s, OCH_3), 3,19 (3H, s, OCH_3), 2,95 (1H, dd, $J = 5,2, 18,2$ Hz, H-6), 2,46-2,38 (1H, m, H-6), 1,36 (3H, s, CCH_3), 1,28 (3H, s, CCH_3).

RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ : 194,7 (C-3), 192,5 (HC=O), 150,1 (C-1), 138,2 (C-2), 100,2 ($\underline{\text{COCH}_3}$), 99,2 ($\underline{\text{COCH}_3}$), 75,6 (C-4), 66,9 (C-5), 48,3 (OCH_3), 48,0 (OCH_3), 27,0 (C-6), 17,4 ($\underline{\text{CCH}_3}$), 17,4 ($\underline{\text{CCH}_3}$).

Síntesis del aza-dieno **60**

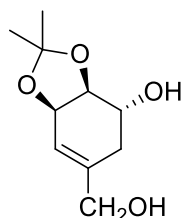


Se agregó gota a gota reactivo *N,N*-dimetilhidracina (0,03 mL, 0,4 mmol) a una solución del compuesto **59** (0,1 g, 0,37 mmol) en 25 mL de CH₂Cl₂ con una punta de espátula de MgSO₄. La mezcla de reacción se agitó por 16 horas a temperatura ambiente. Finalmente, el crudo obtenido se purificó por columna cromatográfica, obteniéndose el compuesto **60** como un sólido de color amarillo con un punto de fusión de 97,0-97,9 °C (0,04 g, rendimiento 32 %). $[\alpha]_D^{19} +51,2$ (CHCl₃, c = 0,88).

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ : 6,78 (1H, s, HC=N), 5,89 (1H, s, H-2), 4,24 (1H, d, *J* = 11,2 Hz, H-4), 4,09-3,99 (1H, m, H-5), 3,33-3,27 (1H, m, H-6), 3,29 (3H, s, OCH₃), 3,22 (3H, s, OCH₃), 3,06 (6H, s, N(CH₃)₂), 2,50-2,42 (1H, m, H-6), 1,39 (3H, s, CCH₃), 1,25 (3H, s, CCH₃).

RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ : 194,1 (C-3), 154,0 (C=N), 127,4 (C-1), 122,7 (C-2), 100,1 (C=O), 99,1 (C=O), 74,7 (C-4), 67,4 (C-5), 48,3 (OCH₃), 47,9 (OCH₃), 42,4 (NCH₃), 29,5 (C-6), 17,7 (C-CH₃), 17,6 (C-CH₃).

Síntesis del alcohol **62**



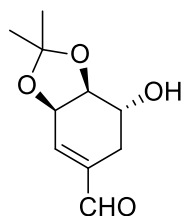
62

A una solución de **61** (1,22 g, 5,36 mmol) en 30 mL de tolueno anhidro a 0 °C, se le añadió gota a gota 10,8 mL de DIBAL-H (1 M en tolueno). Luego la solución se llevó a temperatura ambiente y se agitó por dos horas. Transcurrido este tiempo, se hizo un work-up agregando primero 0,5 mL de agua, manteniendo la temperatura baja con un baño de hielo, luego 0,5 mL de NaOH 15 %, seguidos de 1,0 mL de agua. Se agitó la mezcla por 30 minutos a temperatura ambiente. Luego se añadió un poco de sulfato de magnesio anhidro y la suspensión resultante se filtró al vacío. El solvente se evaporó a presión reducida y el crudo se purificó por CC, obteniéndose el compuesto **62** como un aceite transparente, con un rendimiento del 63 %.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ: 5,82 (1H, s, H-2), 4,65 (1H, d, J=8,0 Hz, H-3), 4,05 (2H, s, O-CH₂), 3,99 (1H, t, J=4, Hz, H-4), 3,82 (1H, dt, J= 4,0, 8,0 Hz, H-5), 2,48 (2H, sa, OH), 2,33 (1H, dd, J= 16,0, 4,0 Hz, H-6), 2,15 (1H, dd, J= 16,0, 8,0 Hz, H-6), 1,45 (3H, s, C(CH₃)₂)*, 1,38 (3H, s, C(CH₃)₂)*. (*) Señales intercambiables.

RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 140,84 (C-1), 118,18 (C-2), 109,26 (C(CH₃)₂), 79,05 (C-4), 72,64 (C-3), 69,24 (C-5), 65,50 (CH₂-OH): 31,15 (C-6), 28,23 (C(CH₃)₂)*, 25,83 (C(CH₃)₂)*. (*) Señales intercambiables.

Síntesis del aldehído 63



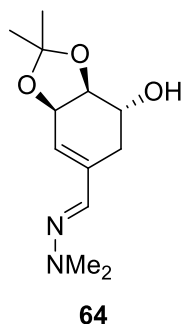
63

A una solución de 1,39 g (6,93 mmol) de **62** en 20 mL de CH₂Cl₂ se agregaron 2,25 g de PCC. La mezcla se agitó a temperatura ambiente por 2 horas. Luego la mezcla se filtró por gel de sílice y el filtrado se purificó por CC. Se obtuvo 1,00 g de **63** con un rendimiento del 73 % como un aceite amarillo claro.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ: 9,54 (1H, s, CHO), 6,73 (1H, d, J = 1,56 Hz, H-2), 4,86 (1H, m, H-3), 4,19 (1H, t, J = 6,6 Hz, H-4), 3,94 (1H, dt, J = 4,5, 7,5 Hz, H-5), 2,69 (1H, da, J = 17,4 Hz, H-6), 2,18 (1H, dd, J = 17,5, 7,5 Hz, H-6), 1,43 (3H, s, C(CH₃)₂)*, 1,41 (3H, s, C(CH₃)₂)*. (*) Señales intercambiables.

RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ: 194,0 (C=O), 145,2 (C-2), 140,8 (C-1), 109,3 (C(CH₃)₂), 79,1 (C-4); 72,6 (C-3), 69,2 (C-5), 65,5 (CH₂-OH), 31,2 (C-6); 28,2 (C(CH₃)₂)*; 25,8 (C(CH₃)₂)*. (*) Señales intercambiables.

Síntesis de aza-dieno **64**



A una solución de **63** (1,0 g, 5,05 mmol) en 30 mL de CH₂Cl₂ se añadieron 0,6 mL (8,1 mmol) de 1,1-dimetilhidrazina y 25 mg de MgSO₄. La mezcla se agitó por 12 horas a temperatura ambiente. El solvente se evaporó a presión reducida y el crudo resultante se purificó por CC. Se obtuvo 1,2 g del aza-dieno **64** (4,91 mmol) como un sólido blanco con un P.F. 70,5-71,0 °C. El rendimiento de la reacción fue de un 82 %. $[\alpha]_D^{23} = +35,0^\circ$ (c = 4,01, CHCl₃).

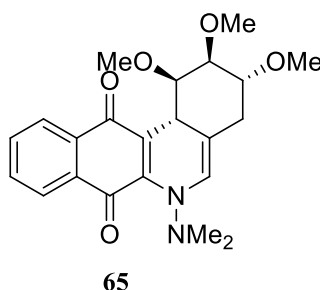
RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 6,92 (1H, s, HC=N), 5,79-5,78 (1H, m, H-2), 4,77 (1H, t, $J = 5,0$ Hz, H-5), 4,04 (1H, dd, $J = 6,4, 8,1$ Hz, H-4), 3,87-3,81 (1H, m, H-3), 2,98 (1H, dd, $J = 5,0, 16,9$ Hz, H-6), 2,87 (6H, s, N(CH₃)₂), 2,28 (1H, sa, C3-OH), 2,13 (1H, dd, $J = 9,7, 16,9$ Hz, H-6), 1,47 (3H, s, C(CH₃)₂)[#], 1,40 (3H, s, C(CH₃)₂)^{*}. (^{*}) Señales intercambiables.

RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ : 138,5 (C-1), 133,4 (C-2), 121,5 (HC=N), 109,2 (C(CH₃)₂), 79,5 (C-4), 73,1 (C-5), 69,6 (C-3), 42,6 (N(CH₃)₂), 29,2 (C-6), 28,3 (C(CH₃)₂), 25,9 (C(CH₃)₂).

Reacción de aza-dieno **56** con 1,4-naftoquinona

A una solución de 300 mg del aza-dieno **56** (1,24 mmol) en acetonitrilo (30 mL), se le añadieron 1,90 mmol de 1,4-naftoquinona y se calentó a reflujo por 3 días. Luego se evaporó el solvente a presión reducida y se purificaron los productos mediante CC. Se obtuvieron los compuestos **65**, **66** y **67**.

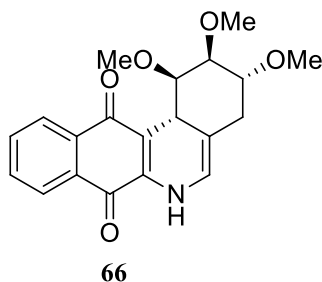
Del compuesto **65** se obtuvieron 34,6 mg (7 %) de un sólido de color rojo. P.F. = 128,5 °C.



$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8,05 (1H, dd, $J = 7,7$, 1,2Hz, H-11), 7,96 (1H, dd, $J = 7,2$, 1,3 Hz, H-8), 7,67-7,59 (2H, m, H-9 + H-10), 6,00 (1H, d, $J = 0,7$ Hz, H-5), 4,25 (1H, d, $J = 10,0$ Hz, H-12b), 3,73 (1H, m, H-3), 3,66 (1H, dd, $J = 5,7$, 3,0 Hz, H-2), 3,57 (3H, s, 2-OCH₃), 3,38 (1H, dd, $J = 10,0$, 2,8 Hz, H-1), 3,38 (3H, s, 3-OCH₃), 3,23 (3H, s, 1-OCH₃), 2,70 (6H, sa, N(CH₃)₂), 2,35 (1H, dd, $J = 14,0$, 1,8 Hz, H-4), 2,23 (1H, dd, $J = 14,0$, 1,8 Hz, H-4).

$^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 183,4 (C-12), 181,1 (C-7), 146,0 (C-6a), 133,2 (C-9), 133,0[#] (C-7a), 132,5[#] (C-11a), 132,2 (C-10), 126,0 (C-8), 125,7 (C-11), 118,6* (C-12a), 118,6* (C-4a), 118,4 (C-5), 85,0 (C-1), 77,7 (C-3), 77,0 (C-2), 59,1 (2-OCH₃), 58,2 (1-OCH₃), 56,4 (3-OCH₃), 44,2 (N(CH₃)₂), 34,4 (C-12b), 31,1 (C-4). (*,#) Señales intercambiables. HRMS (ES⁺): m/z calculado para C₂₂H₂₆N₂O₅ [M + H]⁺: 398,1842; encontrado 354,1449 [M - NMe₂]⁺.

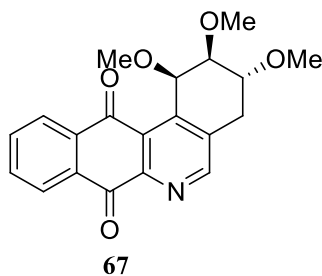
Del compuesto **66** se obtuvieron 101,4 mg (23 %) de un sólido de color morado. P.F. = 161,5 °C.



$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8,12 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-11), 8,00 (1H, d, $J = 7,7$ Hz, H-8), 7,70 (1H, dd, $J = 7,7, 7,5$ Hz, H-9), 7,60 (1H, t, $J = 7,5$ Hz, H-10), 6,77 (1H, s, H-6), 5,99 (1H, d, $J = 4,0$ Hz, H-5), 4,29 (1H, d, $J = 10,0$ Hz, H-12b), 3,77 (1H, m, H-3), 3,64 (1H, sa, H-2), 3,58 (3H, s, 2-OCH₃), 3,50 (1H, dd, $J = 10,0, 2,0$ Hz, H-1), 3,38 (3H, s, 3-OCH₃), 3,26 (3H, s, 1-OCH₃), 2,35 (1H, dd, $J = 14,0, 1,8$ Hz, H-4), 2,23 (1H, dd, $J = 14,0, 1,3$ Hz, H-4).

$^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 182,9 (C-12), 180,5 (C-7), 139,8 (C-6a), 134,6 (C-8), 133,8 (C-7a), 131,8 (C-10), 130,2 (C-11a), 126,4 (C-11), 125,7 (C-9), 118,6 (C-5), 115,6 (C-4a), 110,5 (C-12a), 83,9 (C-1), 77,7 (C-3), 77,4 (C-2), 59,1 (2-OCH₃), 58,0 (1-OCH₃), 56,7 (3-OCH₃), 34,7 (C-12b), 31,3 (C-4). HRMS (ES⁺): m/z calculado para C₂₀H₂₁NO₅ [M + H]⁺: 555,1420; encontrado 556,1526.

Del compuesto **67** se obtuvieron 87,6 mg (20 %) de un sólido de color marrón. P.F. = 184,8 °C.



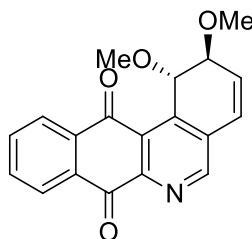
^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 8,83 (1H, s, H-5), 8,34-8,32 (1H, m, H-8), 8,25-8,22 (1H, m, H-11), 7,82-7,80 (2H, m, H-9, H-10), 6,19 (1H, d, $J = 2,8$ Hz, H-1), 4,09-4,01 (1H, m, H-3), 3,62 (3H, s, OCH_3), 3,59 (1H, m, H-4), 3,56 (3H, s, OCH_3), 3,50 (3H, s, OCH_3), 3,45 (1H, dd, $J = 7,6, 2,9$ Hz, H-2), 2,89 (1H, dd, $J = 17,4, 5,0$ Hz, H-4).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3) δ : 185,2 (C-7), 181,4 (C-12), 154,0 (C-5), 148,2 (C-6a), 145,2 (C-12b), 137,4 (C-4a), 134,5 (C-9), 134,3 (C-10), 134,1 (C-11a), 132,4 (C-12a), 128,0 (C-7a), 127,3 (C-8), 127,2 (C-11), 83,4 (C-2), 75,3 (C-3), 71,5 (C-1), 59,4 (1- OCH_3), 58,2 (2- OCH_3), 57,5 (3- OCH_3), 32,0 (C-4). HRMS (ES^+): m/z calculado para $[\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{NO}_5]^+$: 353,1263; encontrado 353,1371.

Reacción del aza-dieno **56** con 2-bromo-1,4-naftoquinona

A una solución del compuesto **56** (0,31 g, 1,28 mmol) en 10 mL de CH₃CN, se le adiciona 2-bromonaftoquinona (0,48 g, 2,02 mmol) y NaHCO₃. La mezcla de reacción se agitó a reflujo por 4 horas y luego se monitorizó por cromatografía en capa fina. El crudo resultante se llevó a sequedad y se purificó por columna cromatográfica, obteniéndose los compuestos **68** y **69**.

El compuesto **68** se obtuvo como unos cristales color ámbar claro, con un punto de fusión de 117,3 – 118 ° C (0,09 g, 23 % rendimiento).

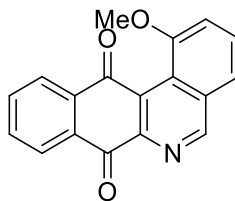


68

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8,87 (1H, s, H-5), 8,38 – 8,34 (1H, m, H-8), 8,30 – 8,27 (1H, m, H-11), 7,85 – 7,81 (2H, m, H-9, H-10), 6,85 (1H, d, J = 9,6 Hz, H-4), 6,54 (1H, dd, J = 9,6, 5,4 Hz, H-3), 5,99 (1H, s, H-1), 4,19 (1H, dd, J = 5,4, 1,3 Hz, H-2), 3,61 (3H, s, 1-OCH₃), 3,47 (3H, s, 2-OCH₃).

¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃) δ: 184,8 (C-7), 181,1 (C-12), 152,7 (C-5), 149,3 (C-6a), 142,3 (C-12b), 134,5 (C-10), 134,4 (C-9), 134,1 (C-11a), 132,7 (C-7a), 132,1 (C-4a), 130,7 (C-3), 128,7 (C-12a), 127,5 (C-8), 127,4 (C-11), 126,3 (C-4), 72,0 (C-2), 71,2 (C-1), 57,8 (1-OCH₃), 56,9 (2-OCH₃). HRMS (ES⁺): *m/z* calculado para [C₁₉H₁₅NO₄]⁺: 323,1158; encontrado 323,1104.

El compuesto **69** se obtuvo como un aceite amarillo (25 mg, 7 %).



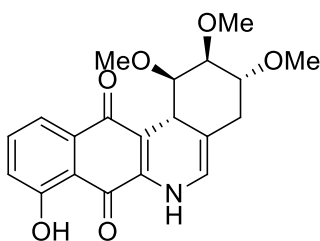
69

$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 9,47 (1H, s, H-5), 8,34-8,32 (1H, m, H-8), 8,14-8,12 (1H, m, H-11), 7,83-7,75 (3H, m, H-10, H-9, H-3), 7,70-7,69 (1H, m, H-4), 7,33 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-2), 4,04 (3H, s, 1- OCH_3).

$^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 185,36 (C-7), 182,08 (C-12), 157,04 (C-5), 156,71 (C-1), 136,04 (C-6a), 134,23 (C-10), 133,26 (C-9), 132,02 (C-4b), 131,51 (C-3), 127,17 (C-8), 126,27 (C-11), 123,41 (C-12b), 120,31 (C-4), 113,22 (C-2), 56,33 (OCH_3). HRMS (ES^+): m/z calculado para $[\text{C}_{18}\text{H}_{11}\text{NO}_3]^+$: 289,0739; encontrado 290,0847.

Reacción entre aza-dieno **56** y 5-hidroxi-1,4-naftoquinona

A una solución del compuesto **56** (0,12 g, 0,49 mmol) en 10 mL de CH₃CN, se le adiciona 5-hidroxi-1,4-naftoquinona (0,13 g, 0,73 mmol). La mezcla de reacción se agitó a reflujo por 4 horas, luego se monitorizó por cromatografía en capa fina para finalmente dejar agitando por 12 horas a temperatura ambiente. El crudo resultante se llevó a sequedad y se purificó por columna cromatográfica, obteniéndose el compuesto **72** como un sólido de color verde, con un punto de fusión 177- 178 ° C. (0,08 g, 45 % rendimiento).



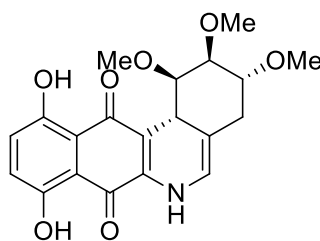
72

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 11,42 (1H, s, Ar-OH), 7,62 (1H, d, = 7,4 Hz, H-11), 7,57 (1H, dd, J = 8,2, 7,4 Hz, H-10); 7,10 (1H, d, J = 8,2 Hz, H-9), 6,78 (1H, d, J = 3,1 Hz, H-6), 5,98 (1H, d, J = 4,2 Hz, H-5), 4,26 (1H, d, J = 10,0 Hz, H-12b), 3,77 (1H, s, H-3), 3,63 (1H, sa, H-2), 3,56 (3H, s, 2-OCH₃), 3,48 (1H, d, J = 10,0 Hz, H-1), 3,37 (3H, s, 3-OCH₃), 3,26 (3H, s, 1-OCH₃), 2,35 (1H, d, J = 12,5 Hz, H-4), 2,23 (1H, d, J = 14,0 Hz, H-4).

¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃) δ: 184,6 (C-7), 182,2 (C-12), 160,1 (C-8), 139,6 (C-6a), 137,3 (C-10), 133,6 (C-11a), 121,9 (C-9), 118,9 (C-11), 118,5 (C-5), 115,9 (C-12a), 113,8 (C-7a), 111,1 (C-4a), 83,9 (C-1), 77,6 (C-3)*, 77,4 (C-2)*, 59,1 (2-OCH₃), 58,0 (1-OCH₃), 56,7 (3-OCH₃), 34,7 (C-12b), 31,3 (C-4). (*) Señales intercambiables. HRMS (ES⁺): *m/z* calculado para C₂₀H₂₁NO₆ [M + H]⁺: 372,1402; encontrado 372,1450.

Reacción entre aza-dieno **56** y 5,8-hidroxi-1,4-naftoquinona

A una solución del compuesto **56** (0,35 g, 1,43 m mol) en 10 mL de CH₃CN, se adiciona 5,8-hidroxi-1,4-naftoquinona (0,43 g, 2,26 mmol) La mezcla de reacción se agitó a reflujo por 4 horas y luego se monitorizó por cromatografía en capa fina para finalmente dejar agitando a temperatura ambiente. El crudo resultante se llevó a sequedad y se purificó por columna cromatográfica, obteniéndose el compuesto **74**, como un sólido de color morado, con un punto de fusión de 138,5 – 139 ° C (0,31 mg 55 % rendimiento).



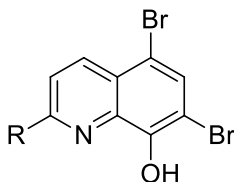
74

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 13,23 (1H, s, 11-OH), 11,65 (1H, s, 8-OH), 7,15 (1H, d, J = 9,1 Hz, H-10)*, 7,05 (1H, d, J = 3,1 Hz, NH), 6,98 (1H, d, J = 9,1 Hz, H-9)*, 5,96 (1H, d, J = 3,4 Hz, H-5), 4,16 (1H, d, J = 10,2 Hz, H-12b), 3,73 (1H, sa, H-3), 3,66 (1H, sa, H-2), 3,49 (3H, s, 2-OCH₃)[#], 3,45 (1H, dd, J = 10,2, 2,0 Hz, H-1), 3,34 (3H, s, 1-OCH₃)[#], 3,22 (3H, s, 3-OCH₃)[#], 2,31 (1H, d, J = 13,8 Hz, H-4), 2,23 (1H, d, J = 13,8 Hz, H-4).

(*,#) Señales intercambiables.

¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃) δ: 186,36 (C-12), 182,14 (C-7), 157,0 (C-8), 155,5 (C-11), 140,8 (C-12a), 131,0 (C-9), 125,6 (C-10), 118,6 (C-5), 116,3 (C-4a), 111,3 (C-11a)*, 111,2(C-7a)*, 109,6 (C-6a), 83,2 (C-1), 77,5 (C-3)[#], 76,5 (C-2)[#], 58,7 (2-OCH₃)⁺, 57,7 (1-OCH₃)⁺, 56,6 (3-OCH₃)⁺, 34,2 (C-12b), 31,1 (C-4). (*,#,+) Señales intercambiables. HRMS (ES⁺): *m/z* calculado para C₂₀H₂₁NO₇ [M + 2H]⁺: 387,1318; encontrado 389,1429.

Bromación de 8-hidroxiquinolina (**75**) y 8-hidroxi-2-metilquinolina (**76**)

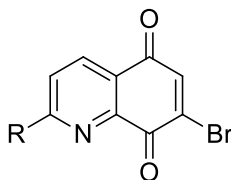


77 R = H (97%)

78 R = CH₃ (98%)

A una solución de **75** (1,25 g) y NaHCO₃ (1,25 g) en metanol, se añadió una mezcla de bromo (1,25 mL) disuelto en metanol (12,5 mL). Se agitó por 5 minutos a temperatura ambiente. Luego se le añadió Na₂SO₃ (0,625 g) y entonces la mezcla fue lavada con agua, secada con MgSO₄, y concentrada a presión reducida. Se obtuvieron 3,16 g del compuesto **77**, el cual fue purificado por CC. El compuesto **78** se obtuvo siguiendo los mismos pasos a partir de **76**. La información espectroscópica concuerda con la literatura.⁹⁶

Síntesis de 7-bromoquinolin-5,8-diona y 7-bromo-2-metilquinolin-5,8-diona

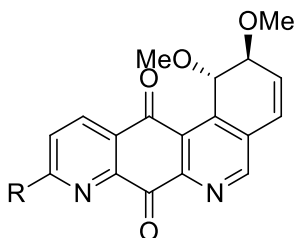


79 R = H (53%)

80 R = CH₃ (70%)

El compuesto **77** (1 g; 3,30 mmol) fue disuelto en ácido sulfúrico concentrado (7,4 mL) y HNO₃ (61 %; 0,9 mL). Se agitó la mezcla por 30 minutos en un baño de hielo a 0 °C. Transcurrido este tiempo se le adicionó agua helada a la reacción, y se extrajo con CH₂Cl₂. De esta manera se obtuvo la quinona **79**. La quinona **80** se obtuvo siguiendo el mismo protocolo a partir de **78**. La información espectroscópica concuerda con la literatura.⁹⁶

Reacción del aza-dieno **56** con **79** y **80**



81 R = H (29%)

82 R = CH₃ (24%)

A una solución del aza-dieno **56** (300 mg; 1,24 mmol) en acetonitrilo, se le añadió 1,2 equivalente molares de 7-bromoquinolin-5,8-diona (**79**). La mezcla se calentó a reflujo por 5 horas. Luego se removió el solvente a presión reducida y el crudo resultante se purificó por CC. El compuesto **81** se obtuvo como un sólido marrón. P.F. = 78,8 °C.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 9,16 (1H, dd, J= 4,6, 1,4 Hz, H-9), 8,88 (1H, s, H-5), 8,48 (1H, d, J= 8,2 Hz, H-11), 7,60 (1H, d, J= 8,2 Hz, H-10), 6,84 (1H, d, J = 9,6 Hz, H-4), 6,55 (1H, ddd, J = 9,6, 5,4, 0,8 Hz, H-3), 5,89 (1H, sa, H-1), 4,18 (1H, dd, J = 5,4, 1,8 Hz, H-2), 3,59 (3H, s, 1-OCH₃), 3,44 (3H, s, 2-OCH₃).

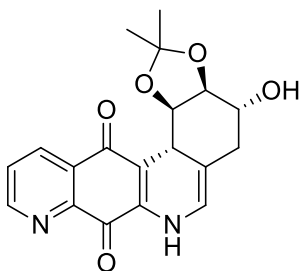
RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ: 184,0 (C-12), 179,8 (C-7), 166,0 (C-9), 153,0 (C-5), 149,1 (C-6a), 147,5 (C-7a), 142,5 (C-12b), 135,7 (C-11), 132,4 (C-4a), 131,2 (C-3), 131,1 (C-11a), 128,3 (C-10), 128,0 (C-12a), 126,2 (C-4), 71,8 (C-2), 71,4 (C-1), 57,9 (1-OCH₃), 56,9 (2-OCH₃). HRMS (ES⁺): *m/z* calculado para C₁₈H₁₄N₂O₄ [M + H]⁺: 322,0954; encontrado 322,9580.

El compuesto **82** se obtuvo como un sólido marrón siguiendo el mismo protocolo a partir de **80**. P.F. = 161,2 °C.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 8,93 (1H, s, H-5), 8,65 (1H, dd, J= 7,9, 1,4 Hz, H-11), 7,80 (1H, dd, J= 7,9, 4,6 Hz, H-10), 6,88 (1H, d, J = 9,5 Hz, H-4), 6,59 (1H, dd, J = 9,5, 5,4 Hz, H-3), 5,92 (1H, sa, H-1), 4,22 (1H, dd, J = 5,4, 2,0 Hz, H-2), 3,63 (3H, s, 1-OCH₃), 3,48 (3H, s, 2-OCH₃), 2,81 (3H, s, 9-CH₃).

RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ: 184,1 (C-12), 179,6 (C-7), 166,0 (C-9), 153,0 (C-5), 149,1 (C-6a), 147,5 (C-7a), 142,2 (C-12b), 135,7 (C-11), 132,1 (C-4a), 130,9 (C-3), 129,0 (C-11a), 128,4 (C-10), 127,8 (C-12a), 126,1 (C-4), 71,8 (C-2), 71,2 (C-1), 57,8 (1-OCH₃), 56,8 (2-OCH₃), 25,4 (9-CH₃). HRMS (ES⁺): *m/z* calculado para [C₁₉H₁₆N₂O₄]⁺: 336,1110; encontrado 335,9479.

Reacción del aza-dieno **64** con 7-bromoquinolin-5,8-diona (**79**)



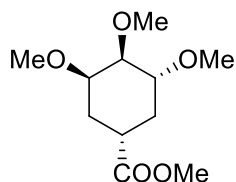
83

A una solución del aza-dieno **64** (308 mg, 1,28 mmol) en 10 mL de acetonitrilo, se agregaron 458 mg (1,92 mmol) de **79**. A la mezcla de reacción se le añadieron 50 mg de NaHCO_3 y se agitó por 24 horas a temperatura ambiente monitoreándose por CCF. Finalizado este tiempo, el solvente se evaporó y el crudo resultante se purificó por CC. Se obtuvo el compuesto **83** (120 mg, 0,34 mmol) como un aceite naranja con un rendimiento del 26 %.

RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 8,88 (1H, dd, $J = 4,6, 1,2$ Hz, H-9), 8,44 (1H, dd, $J = 7,8, 1,2$ Hz, H-11), 7,63 (1H, dd, $J = 7,8, 4,6$ Hz, H-10), 6,80 (1H, sa, NH), 5,26 (1H, sa, H-5), 4,19-4,06 (3H, m, H-1 + H-2 + H-3), 3,71 (1H, d, $J = 8,0$ hz, H-12b), 2,08 (1H, m, H-4), 2,07 (1H, m, H-4), 1,53 (3H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$)*, 1,28 (3H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$)*. (*) Señales intercambiables.

RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 180,3 (C-12), 170,9 (C-7), 153,1 (C-9), 146,5 (C-7a), 141,8 (C-6a), 134,4 (C-11), 130,4 (C-11a), 128,2 (C-10 + C-12a), 113,5 (C-4a), 108,0 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 82,5 (C-5), 76,6 (C-1), 74,9 (C-2), 74,8 (C-3), 29,8 (C-12b), 27,4 (C-4), 26,8 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$)*, 24,0 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$)*. (*) Señales intercambiables.

Síntesis del éster **99**



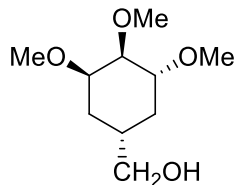
99

A una solución de **53** (1,5 g) en metanol (20 mL), se le añadieron 140 mg del catalizado Pd/C 10 %. Se hizo vacío en el balón de reacción y se insertó un globo con H₂. La reacción se agitó en atmósfera de hidrógeno durante 20 horas. La reacción se filtra por un poco de celita y luego se concentra al vacío. Se obtuvo el producto **99** como un aceite incoloro (rendimiento 98 %). $[\alpha]_D^{30} -25,9$ (CHCl₃, c = 1,16).

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 6,63-6,60 (1H, m, H-3), 3,62 (3H, s, COOCH₃), 3,46- 3,43 (1H, m, H-5), 3,41-3,37 (1H, m, H-4), 3,40 (3H, s, OCH₃), 3,32 (3H, s, OCH₃), 3,31 (3H, s, OCH₃), 2,55-2,48 (1H, m, H-1), 1,95 – 1,84 (2H, m, H-2), 1,83-1,71 (2H, m, H-2, H-6).

RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ : 172,1 (C-7), 77,3 (C-5), 76,7 (C-4), 76,1 (C-3), 58,4 (OCH₃), 56,7 (OCH₃); 56,4 (OCH₃), 51,5 (COOCH₃), 36,0 (C-1), 27,4 (C-2), 26,3 (C-6).

Síntesis del alcohol 100



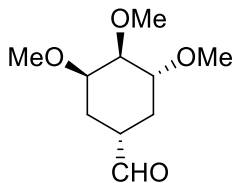
100

A una solución del compuesto **99** (1,4 g, 6,86 mmol) en 30 mL de dietil éter anhidro, y a una temperatura de 0 °C, se agregaron 0,4 g de LiAlH₄. Posteriormente esta solución fue llevada a temperatura ambiente y se agitó por 12 horas. A la mezcla de esta reacción se le añadió 0,4 mL de agua destilada gota a gota, luego 0,4 mL de una solución de NaOH al 15 % para finalmente agregar 1,2 mL de agua destilada. La mezcla se dejó agitar por 30 minutos para luego ser filtrada y concentrada. Finalmente, el producto resultante fue purificado por CC, obteniéndose el compuesto **100** (1,1 g, 5,15 mmol, rendimiento del 75 %) como un aceite incoloro, $[\alpha]_D^{27} = +33,8$ (c = 0,4; CHCl₃).

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 3,57 (1H, d, *J* = 2,5 Hz, CH₂OH), 3,50 (1H, sa, CH₂OH), 3,38-3,36 (3H, m, H-3, H-4, H-5), 3,36 (3H, s, OCH₃), 3,30 (3H, s, OCH₃), 3,26 (3H, s, OCH₃), 2,82-2,74 (1H, m, H-1), 1,75-1,68 (2H, m, H-2), 1,27-1,18 (2H, m, H-6).

RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ: 77,6 (C-5), 77,2 (C-4), 76,4 (C-3), 67,5 (CH₂OH), 58,5 (OCH₃), 56,5 (OCH₃), 56,2 (OCH₃), 33,1 (C-1), 28,0 (C-2), 26,6 (C-6).

Síntesis del aldehído **101**



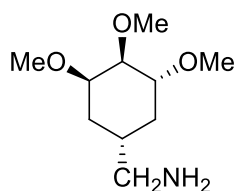
101

A una solución del compuesto **100** (1,28 g, 6,34 mmol) se le añadieron 20 mL de CH_2Cl_2 , posteriormente se le agregaron 3,03 g (14,05 mmol) del reactivo PCC. La mezcla se agitó por 30 minutos, pasado ese tiempo se añadió dietil éter y el residuo gomoso se filtró en una columna corta de sílice, usando como eluyente acetato de etilo. El filtrado se concentró, obteniéndose el compuesto **101** (0,65 g, 3,23 mmol, rendimiento 51 %) como un aceite transparente. $[\alpha]_D^{27} = -32,7$ ($c = 0,6$; CH_2Cl_2)

RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 9,58 (1H, d, $J = 0,9$ Hz, HC=O), 3,64 (1H, q, $J = 4,4$ Hz, H-4), 3,55-3,49 (1H, m, H-5), 3,44 (1H, m, H-3), 3,42 (s, H-3), 3,35 (3H, s, OCH_3), 3,34 (3H, s, OCH_3), 2,45 (1H, m, H-1), 1,93 (1H, dt, $J = 12,7, 4,0$ Hz, H-6a), 1,84-1,69 (3H, m, H-6b, H-2).

RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 203,0 (HC=O), 76,9 (C-3), 76,0 (C-5), 75,86 (C-4), 58,4 (OCH_3), 57,0 (OCH_3), 56,7 (OCH_3), 43,6 (C-1), 25,4 (C-2), 24,3 (C-6).

Síntesis de la amina **102**



102

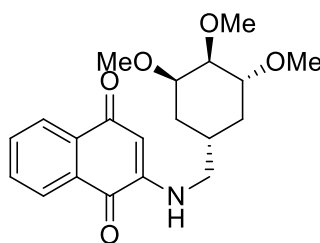
A una solución del aldehído (**101**) (0,31 g, 1,51 mmol) en etanol saturado con NH_4OAc (20 mL) se le añadió NaCNBH_3 (283 mg, 4,5 mmol) y 10 mL de NH_3 28 % acuoso. La mezcla se agitó a reflujo durante 18 horas, luego se dejó enfriar a temperatura ambiente y se concentró bajo presión reducida.

Luego se agregó una mezcla de agua y acetato de etilo y se le añadió Na_2CO_3 , para garantizar que la amina esté en su forma de base libre, se separó la fase orgánica y se volvió a extraer cuatro veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida y el crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna; obteniéndose 100 mg de la amina primaria **102** (0,49 mmol, rendimiento 33 %) como un líquido transparente. $[\alpha]_D^{27} = -26,0$ ($c = 0,4$; CH_2Cl_2).

RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 3,66 (1H, q, $J = 3,0$ Hz, H-4), 3,56 (1H, m, H-5), 3,53- 3,44 (3H, m, H-3, NCH_2), 3,43 (3H, s, OCH_3), 3,37 (3H, s, OCH_3), 3,32 (3H, s, OCH_3), 1,85-1,69 (3H, m, H-1, H-2a, H-6a), 1,39-1,27 (2H, m, H-2b, H-6b).

RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 77,2 (C-3), 76,7 (C-5), 76,2 (C-4), 67,5 (NCH_2), 58,3 (OCH_3), 56,5 (OCH_3), 56,4 (OCH_3), 33,0 (C-1), 28,1 (C-2), 26,5 (C-6).

Síntesis de la aminonaftoquinona **103**



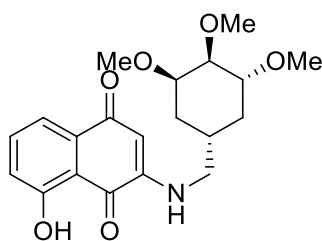
103

En 20 mL de etanol se añadieron 100 mg de la amina **102** (0,49 mmol) y 106 mg de la 1,4-naftoquinona (0,63 mmol), posteriormente se añadió el catalizador ($\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 65 mg) y se calentó a reflujo por 2 horas para luego dejar agitando por 12 horas a temperatura ambiente. Trascurrido este periodo, la solución resultante fue concentrada a presión reducida y luego se purificó por CC, obteniendo 39 mg de la aminonaftoquinona **103** (0,11 mmol, rendimiento 22 %)

RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 8,01 (1H, d, $J = 7,7$ Hz, H-5), 7,96 (1H, d, $J = 7,6$ Hz, H-8), 7,66 (1H, t, $J = 7,5$ Hz, H-7), 7,55 (1H, t, $J = 7,6$ Hz, H-6), 6,05 (1H, sa, NH), 5,74 (1H, s, H-3), 3,61 (1H, m, H-3'), 3,57 (1H, m, H-4'), 3,44-3,37 (4H, m, H-6', OCH_3), 3,36-3,31 (3H, m, OCH_3), 3,30-3,26 (3H, m, OCH_3), 3,05 (2H, t, $J = 6,50$ Hz, $\text{CH}_2\text{-N}$), 1,82-1,69 (2H, m, H-1'), 1,33 (2H, m, H-2'), 1,23-1,19 (1H, m, H-6').

RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 182,9 (C-4), 181,7 (C-1), 148,0 (C-2), 134,7 (C-6), 133,5 (C-4a), 131,9 (C-7), 130,4 (C-8a), 126,2 (C-5), 126,0 (C-8), 100,7 (C-3), 77,2 (C-3), 76,4 (C-5), 76,1 (C-4), 58,6 (OCH_3), 56,7 (OCH_3), 56,4 (OCH_3), 48,0 ($\text{CH}_2\text{-N}$), 29,8 (C-1'), 29,3 (C-2'), 28,1 (C-6'). HRMS (ES^+): m/z calculado para $[\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{NO}_5]^+$: 359,1733; encontrado 359,0766.

Síntesis de la aminonaftoquinona **104**



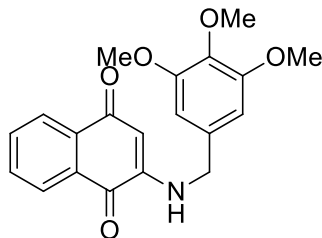
104

En 20 mL de etanol se añadieron 100 mg del compuesto **102** (0.49 mmol) y 100 mg de juglona (0,58 mmol), posteriormente se añadió el catalizador ($\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 65 mg) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 48 horas. Trascurrido este periodo, la solución resultante fue concentrada a presión reducida y luego se purificó por CC, obteniendo 20 mg de la aminonaftoquinona **104** (0,05 mmol, rendimiento 11 %) como un aceite anaranjado.

RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 11,52 (1H, s, Ar-OH), 7,61-7,58 (2H, m, H-5, H-6), 7,15-7,12 (1H, m, H-7), 6,00 (1H, sa, NH), 5,72 (1H, s, H-3), 3,66-3,62 (2H, m, NCH_2), 3,45 (3H, s, 3'- OCH_3), 3,40 (4H, m, H-3', 5'- OCH_3), 3,37 (1H, m, H-5'), 3,33 (3H, s, 4'- OCH_3), 3,12-3,09 (1H, m, H-4'), 2,06-1,94 (1H, m, H-1'), 1,85-1,72 (2H, m, H-2'), 1,42-1,32 (2H, m, H-6').

RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 185,9 (C-1), 182,2 (C-4), 161,7 (C-8), 147,8 (C-2), 137,7 (C-6), 133,4 (C-4a), 122,2 (C-5), 118,7 (C-7), 114,0 (C-8a), 101,4 (C-3), 77,2 (C-3'), 76,4 (C-5'), 76,2 (C-4') 58,7 (3'- OCH_3), 56,8 (5'- OCH_3), 56,5 (4'- OCH_3), 48,2 (NCH_2), 29,9 (C-1'), 29,4 (C-6'), 28,3 (C-2').

Síntesis de la aminonaftoquinona **106**



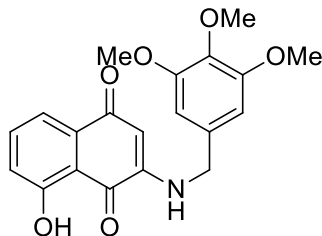
106

Se disolvieron 230 mg de 1,4-naftoquinona (1,45 mmol) en 20 mL de etanol absoluto. Luego se añadieron 60 mg de $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ como catalizador y se agitó a temperatura ambiente por 5 minutos, para luego agregar 0,2 mL de 3,4,5-trimetoxibencilamina (1,17 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por 18 horas. Cumplido este tiempo, se procedió a evaporar el solvente a presión reducida. El crudo resultante se purificó por CC, obteniéndose 66,3 mg del compuesto **106** como un sólido rojo (16 % de rendimiento). P.F. = 181,0 °C.

$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8,07 (2H, m, H-8, H-5), 7,73 (1H, m, H-6), 7,62 (1H, m, H-7), 6,52 (2H, s, H-2', H-6'), 6,19 (1H, sa, NH), 5,80 (1H, s, H-3), 4,30 (2H, d, $J = 5,4$ Hz, NCH_2), 3,85 (6H, s, 3'- OCH_3 , 5'- OCH_3), 3,84 (3H, s, 4'- OCH_3).

$^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 183,1 (C-4), 181,8 (C-1), 153,7 (C-3', C-5'), 147,7 (C-2), 137,7 (C-1'), 134,8 (C-6), 133,4 (C-4a), 132,1 (C-7), 131,5 (C-4'), 130,4 (C-8a), 126,3 (C-5), 126,2 (C-8), 104,6 (C-2', C-6'), 101,7 (C-3), 60,8 (4'- OCH_3), 56,2 (3'- OCH_3 , 5'- OCH_3), 47,2 (NCH_2).

Síntesis de la aminonaftoquinona 107



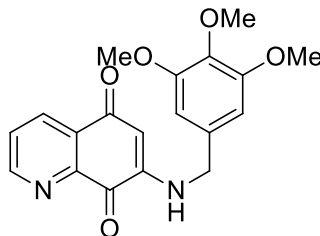
107

Se disolvieron 200 mg de juglona (1,15 mmol) en 20 mL de etanol absoluto. Luego se le añadió 65 mg de $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ como catalizador, y se agitó por 5 minutos. Transcurrido este tiempo, se procedió a añadir 0,2 mL de 3,4,5-trimetoxibencilamina (1,17 mmol); la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 7 días. Finalmente se concentró a presión reducida y se purificó el crudo resultante por CC con gradiente de polaridad empleando una mezcla de acetato de etilo y hexano. Se obtuvieron 133 mg de un sólido de color rojo (31 % de rendimiento). P.F. = 178,3 °C.

RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 11,53 (1H, s, Ar-OH), 7,65-7,60 (2H, m, H-5, H-6), 7,18-7,13 (1H, m, H-7), 6,56 (1H, s, H-6'), 6,53 (1H, s, H-2'), 6,16 (1H, sa, NH), 5,79 (1H, s, H-3), 4,30 (2H, sa, NCH_2), 3,86 (6H, s, 3'- OCH_3 , 5'- OCH_3), 3,85 (3H, s, 4'- OCH_3).

RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 190,0 (C-1), 186,0 (C-4), 161,7 (C-8), 153,7 (C-3', C-5'), 147,5 (C-4'), 137,8 (C-6), 131,3 (C-4a), 122,4 (C-7), 118,9 (C-5), 140,0 (C-8a), 104,7 (C-6', C-2'), 102,5 (C-3), 60,9 (4'- OCH_3), 56,3 (3'- OCH_3 , 5'- OCH_3), 47,3 (NCH_2).

Síntesis de la aminonaftoquinona 108



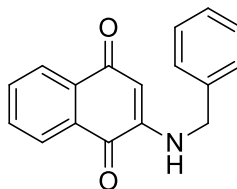
108

Se disolvieron 184 mg de 7-bromoquinolin-5,8-diona (**79**) (0,77 mmol) en 20 mL de etanol absoluto. Luego se le añadió 65 mg de $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ como catalizador, y se agitó por 5 minutos. Transcurrido este tiempo, se procedió a añadir 0,2 mL de 3,4,5-trimetoxibencilamina (1,17 mmol); la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 24 horas. Finalmente se concentró a presión reducida y se purificó el crudo resultante por CC con gradiente de polaridad empleando una mezcla de acetato de etilo y hexano. Se obtuvieron 116 mg de un sólido de color rojo (42 % de rendimiento). P.F. = 172,3 °C.

RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 9,02 (1H, d, $J = 2,9$ Hz, H-7), 8,37 (1H, d, $J = 7,4$ Hz, H-5), 7,61 (1H, dd, $J = 7,4, 4,4$ Hz, H-6), 7,13 (1H, s, H-3), 6,57 (2H, s, H-2', H-6'), 6,14 (1H, sa, NH), 5,00 (2H, d, $J = 5,5$ Hz, NCH_2), 3,93 (3H, s, 4'- OCH_3), 3,87 (3H, s, 3'- OCH_3)*, 3,85 (3H, s, 5'- OCH_3)*. * Señales intercambiables.

RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 191,1 (C-1), 179,6 (C-4), 155,1 (C-7), 153,7 (C-3', C-5'), 147,8 (C-8a), 137,9 (C-4'), 134,9 (C-2), 132,9 (C-1'), 126,6 (C-4a), 106,7 (C-3), 104,9 (C-2')*, 104,7 (C-6')*, 60,9 (4'- OCH_3), 56,3 (3'- OCH_3) ‡ , 56,2 (5'- OCH_3) ‡ , 50,0 (NCH_2). *, ‡ Señales intercambiables.

Síntesis de la aminonaftoquinona **110**



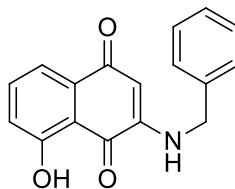
110

A una solución de 300 mg de 1,4-naftoquinona (1.90 mmol) y 60 mg de $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en 20 mL de etanol absoluto, se le agregaron 0,2 mL de bencilamina (1,83 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por 36 horas. Finalizado el tiempo, se concentró a presión reducida y el crudo resultante se purificó por CC. Se obtuvo el compuesto **110** como un sólido rojo, en una cantidad de 114 mg (24 % de rendimiento). P.F. = 146,5 °C.

RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 8,10-8,04 (2H, m, H-5, H-8), 7,75-7,71 (1H, m, H-6), 7,64-7,60 (1H, m, H-7), 7,40-7,31 (5H, m, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'), 6,24 (1H, sa, NH), 5,80 (1H, s, H-3), 4,38 (2H, d, $J = 5,5$ Hz, NCH_2).

RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 183,1 (C-1), 181,8 (C-4), 147,7 (C-2), 135,8 (C-1'), 134,8 (C-7), 133,5 (C-4a), 132,1 (C-6), 130,4 (C-8a), 129,0 (C-3', C-5'), 128,1 (C-4'), 127,6 (C-2', C-6'), 126,3 (C-5)*, 126,2 (C-8)*, 101,7 (C-3), 46,8 (NCH_2). * Señales intercambiables.

Síntesis de la aminonaftoquinona **111**



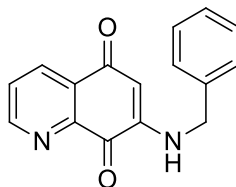
111

En 20 mL de etanol absoluto se disolvieron 200 mg de juglona (1,15 mmol) y 60 mg de $\text{CeCl}_3 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$. La solución se agitó por 5 minutos y luego se añadió 0,2 mL de bencilamina (1,83 mmol). La mezcla de reacción se agitó por 4 días, se evaporó el solvente y se purificó el crudo por CC. Se obtuvieron 156 mg de la aminonaftoquinona **111** como un sólido rojo (49 % de rendimiento). P.F. = 207,0 °C.

$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 11,53 (1H, s, Ar-OH), 7,90-7,88 (2H, m, H-5, H-6), 7,41-7,31 (5H, m, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'), 7,17-7,13 (1H, m, H-7), 6,22 (1H, sa, NH), 5,78 (1H, s, H-3), 4,39 (2H, d, $J = 5,4$ Hz, NCH_2).

$^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 185,9 (C-1), 182,3 (C-4), 161,7 (C-8), 147,6 (C-2), 137,7 (C-6), 135,7 (C-1'), 133,3 (C-4a), 129,1 (C-3', C-5'), 128,2 (C-4'), 127,7 (C-2', C-6'), 122,4 (C-7), 118,8 (C-5), 114,0 (C-8a), 102,3 (C-3), 46,9 (NCH_2).

Síntesis de la aminonaftoquinona **112**



112

En 20 mL de etanol absoluto se disolvieron 200 mg de 7-bromo-quinolin-5,8-diona (**79**) y 60 mg de $\text{CeCl}_3 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$. Se agitó la solución a temperatura ambiente por 5 minutos y luego se añadió 0,1 mL de bencilamina (0,9 mmol). La reacción se agitó por 24 horas a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, se evaporó el solvente mediante presión reducida y se purificó el crudo resultante mediante CC. Se obtuvieron 185 mg del compuesto **112** como un sólido rojo (87 % de rendimiento). P.F. = 117,0 °C.

RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 9,01 (1H, dd, $J = 4,4, 1,4$ Hz, H-7), 8,38 (1H, dd, $J = 7,8, 1,4$ Hz, H-5), 7,63 (1H, m, H-6), 7,42-7,38 (2H, m, H-2', H-6'), 7,36-7,33 (3H, m, H-3', H-4', H-5'), 6,21 (1H, sa, NH), 5,09 (2H, d, $J = 5,9$ Hz, NCH_2).

RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 179,6 (C-4), 155,1 (C-7), 147,9 (C-8a), 137,4 (C-1'), 134,8 (C-5), 129,1 (C-3', C-5'), 128,2 (C-4'), 127,7 (C-2', C-6'), 126,6 (C-6), 49,5 (NCH_2).

7. CONCLUSIONES

Al evaluar la citotoxicidad *in vitro* de la serie de 6-aza-anguciclinonas, se observó que los compuestos más potentes resultaron ser aquellos que poseen como característica estructural un doble anillo piridínico a ambos lados del núcleo quinónico (**81** y **82**). A partir de la ecuación del modelo 2D-QSAR para la línea MCF-7 (cáncer de mama) se concluye que las variables más importantes para la actividad antitumoral resultaron ser la carga atómica sobre el oxígeno del carbonilo en la posición 7 del sistema anguciclinona, y un anillo D tipo piridina. A pesar de que se logró establecer una correlación entre la actividad antitumoral y la estructura de los compuestos, no se puede concluir si el incremento en la actividad de estos se debe a una mayor facilidad para formar especies radicalarias de oxígeno (ROS) o por una mejor interacción con una posible diana farmacológica; lo anterior debido al desconocimiento del mecanismo de acción de estos compuestos. El modelo CoMFA para la línea PC-3 (cáncer de próstata) nos permite explicar de manera racional las características estructurales que deben poseer los compuestos sintetizados para ser bioactivos contra esta línea celular; como, por ejemplo, un átomo electronegativo en C-8 y un sustituyente voluminosos en C-2. Adicionalmente, se concluye que la orientación espacial de los sustituyentes juega un papel importante en la actividad citotóxica, por lo que se debe tener cuidado con la estereoquímica durante la síntesis de nuevos derivados.

Los ensayos de citotoxicidad de las aminonaftoquinonas sintetizadas, permitieron determinar que los diferentes patrones de sustitución otorgados por el (-)-ácido shikímico y las aminas comerciales no tienen un impacto significativo en la citotoxicidad. En general esta serie resultó ser menos activa y menos selectiva que las 6-aza-anguciclinonas.

Se concluye que la estructura tetracíclica de las 6-aza-anguciclinonas conlleva a una mayor selectividad por las líneas tumorales y una mayor actividad, especialmente aquellos derivados que presentan un anillo B aromático y/o un anillo de piridina en el anillo D.

BIBLIOGRAFÍA

1. Enrich, L. B. *et al.* Liquidambar styraciflua: a renewable source of shikimic acid. *Tetrahedron Lett.* **49**, 2503–2505 (2008).
2. Bochkov, D. V., Sysolyatin, S. V., Kalashnikov, A. I. & Surmacheva, I. A. Shikimic acid: review of its analytical, isolation, and purification techniques from plant and microbial sources. *J. Chem. Biol.* **5**, 5–17 (2012).
3. Ohira, H., Torii, N., Aida, T. M., Watanabe, M. & Smith, R. L. Rapid separation of shikimic acid from Chinese star anise (*Illicium verum* Hook. f.) with hot water extraction. *Sep. Purif. Technol.* **69**, 102–108 (2009).
4. Krämer, M. *et al.* Metabolic engineering for microbial production of shikimic acid. *Metab. Eng.* **5**, 277–283 (2003).
5. Rawat, G., Tripathi, P. & Saxena, R. K. Expanding horizons of shikimic acid. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **97**, 4277–4287 (2013).
6. Cui, Y.-Y., Ling, C., Zhang, Y.-Y., Huang, J. & Liu, J.-Z. Production of shikimic acid from *Escherichia coli* through chemically inducible chromosomal evolution and cofactor metabolic engineering. *Microb. Cell Factories* **13**, 21 (2014).
7. Karpf, M. & Trussardi, R. Efficient Access to Oseltamivir Phosphate (Tamiflu) via the O-Trimesylate of Shikimic Acid Ethyl Ester. *Angew. Chem. Int. Ed.* **48**, 5760–5762
8. Nie, L.-D., Shi, X.-X., Ko, K. H. & Lu, W.-D. A Short and Practical Synthesis of Oseltamivir Phosphate (Tamiflu) from (–)-Shikimic Acid. *J. Org. Chem.* **74**, 3970–3973 (2009).
9. Bowles, S. K. *et al.* Use of Oseltamivir During Influenza Outbreaks in Ontario Nursing Homes, 1999–2000. *J. Am. Geriatr. Soc.* **50**, 608–616
10. Sánchez-Abella, L. *et al.* Synthesis and biological activity of previtamin D3 analogues with A-ring modifications. *Bioorg. Med. Chem.* **16**, 10244–10250 (2008).
11. Zhang, Y. *et al.* New Approach to the Total Synthesis of (–)-Zeylenone from Shikimic Acid. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **54**, 1459–1461 (2006).
12. Dinh, T. N., Chen, A. & Chai, C. L. L. A pattern recognition approach to 14-epi-hydrophenanthrene core of the morphine alkaloids based on shikimic acid. *Tetrahedron* **67**, 3363–3368 (2011).

13. World Health Organization. Global Health Estimates 2016: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2016. (2018).
14. Ferlay, J. *et al.* Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012: Globocan 2012. *Int. J. Cancer* **136**, E359–E386 (2015).
15. Siegel, R. L., Miller, K. D. & Jemal, A. Cancer statistics, 2015: Cancer Statistics, 2015. *CA. Cancer J. Clin.* **65**, 5–29 (2015).
16. Hirsch, S. *et al.* Colon cancer in Chile before and after the start of the flour fortification program with folic acid: *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **21**, 436–439 (2009).
17. Laura Itriago, G., Nicolas Silva, I. & Giovanna Cortes, F. Cancer en Chile y el mundo: Una mirada epidemiologica, presente y futuro. *Rev. Médica Clínica Las Condes* 531–552 doi:10.1016/S0716-8640(13)70195-0
18. Slamon, D. J. *et al.* Use of Chemotherapy plus a Monoclonal Antibody against HER2 for Metastatic Breast Cancer That Overexpresses HER2. *N. Engl. J. Med.* **344**, 783–792 (2001).
19. Peters, W. A. I. *et al.* Concurrent Chemotherapy and Pelvic Radiation Therapy Compared With Pelvic Radiation Therapy Alone as Adjuvant Therapy After Radical Surgery in High-Risk Early-Stage Cancer of the Cervix. *Obstet. Gynecol. Surv.* **55**, 491 (2000).
20. Nitiss, J. L. Targeting DNA topoisomerase II in cancer chemotherapy. *Nat. Rev. Cancer* **9**, 338–350 (2009).
21. Nitiss, J. L. DNA topoisomerase II and its growing repertoire of biological functions. *Nat. Rev. Cancer* **9**, 327–337 (2009).
22. Wang, J. C. Cellular roles of DNA topoisomerases: a molecular perspective. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **3**, 430–440 (2002).
23. Pommier, Y. Drugging Topoisomerases: Lessons and Challenges. *ACS Chem. Biol.* **8**, 82–95 (2013).
24. Hassett, M. J., O'Malley, A. J., Pakes, J. R., Newhouse, J. P. & Earle, C. C. Frequency and Cost of Chemotherapy-Related Serious Adverse Effects in a Population Sample of Women With Breast Cancer. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* **98**, 1108–1117 (2006).
25. Krohn, K. & Rohr, J. Angucyclines: Total syntheses, new structures, and biosynthetic studies of an emerging new class of antibiotics. in *Bioorganic Chemistry Deoxysugars, Polyketides and Related*

- Classes: Synthesis, Biosynthesis, Enzymes* (ed. Rohr, J.) **188**, 127–195 (Springer Berlin Heidelberg, 1997).
26. Kharel, M. K. *et al.* Angucyclines: Biosynthesis, mode-of-action, new natural products, and synthesis. *Nat. Prod. Rep.* **29**, 264–325 (2012).
 27. Rohr, J. & Thiericke, R. Angucycline group antibiotics. *Nat. Prod. Rep.* **9**, 103–137 (1992).
 28. Xie, Z. *et al.* Kiamycin, a Unique Cytotoxic Angucyclinone Derivative from a Marine Streptomyces sp. *Mar. Drugs* **10**, 551–558 (2012).
 29. Guo, Z. K. *et al.* Angucyclines from an insect-derived actinobacterium *Amycolatopsis* sp. HCa1 and their cytotoxic activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **22**, 7490–7493 (2012).
 30. Song, Y. *et al.* Cytotoxic and antibacterial angucycline- and prodigiosin-analogues from the deep-sea derived Streptomyces sp. SCSIO 11594. *Mar. Drugs* **13**, 1304–1316 (2015).
 31. Malmierca, M. G. *et al.* Searching for Glycosylated Natural Products in Actinomycetes and Identification of Novel Macrolactams and Angucyclines. *Front. Microbiol.* **9**, (2018).
 32. Ma, M. *et al.* Angucyclines and Angucyclinones from Streptomyces sp. CB01913 Featuring C-Ring Cleavage and Expansion. *J. Nat. Prod.* **78**, 2471–2480 (2015).
 33. Kaliappan, K. P. & Ravikumar, V. Angucyclinone Antibiotics: Total Syntheses of YM-181741, (+)-Ochromycinone, (+)-Rubiginone B2, (–)-Tetrangomycin, and MM-47755. *J. Org. Chem.* **72**, 6116–6126 (2007).
 34. Bowie, J. H. & Johnson, A. W. The structure of ochromycinone. *Tetrahedron Lett.* **8**, 1449–1452 (1967).
 35. Oka, M. *et al.* CHEMICAL AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF RUBIGINONE, A COMPLEX OF NEW ANTIBIOTICS WITH VINCRISTINE-CYTOTOXICITY. *J. Antibiot. (Tokyo)* **43**, 967–976 (1990).
 36. Rohr, J. & Zeeck, A. METABOLIC PRODUCTS OF MICROORGANISMS. 240 URDAMYCINS, NEW ANGUCYCLINE ANTIBIOTICS FROM STREPTOMYCES FRADIAE. *J. Antibiot. (Tokyo)* **40**, 459–467 (1987).
 37. Puder, C., Zeeck, A. & Beil, W. New Biologically Active Rubiginones from Streptomyces sp. *J. Antibiot. (Tokyo)* **53**, 329–336 (2000).
 38. Park, H. B., Lee, J. K., Lee, K. R. & Kwon, H. C. Angumycinones A and B, two new angucyclic

- quinones from *Streptomyces* sp. KMC004 isolated from acidic mine drainage. *Tetrahedron Lett.* **55**, 63–66 (2014).
39. Cone, M. C. *et al.* Detection of phenanthroviridin aglycon in a UV mutant of *Streptomyces murayamaensis*. *J. Org. Chem.* **59**, 1923–1924 (1994).
40. Gore, M. P., Gould, S. J. & Weller, D. D. Total synthesis of phenanthroviridin aglycon: the first naturally-occurring benzo[b]phenanthridine. *J. Org. Chem.* **56**, 2289–2291 (1991).
41. Habbu, P., Warad, V., Shastri, R., Madagundi, S. & Kulkarni, V. H. Antimicrobial metabolites from marine microorganisms. *Chin. J. Nat. Med.* **14**, 101–116 (2016).
42. Zhang, W. *et al.* Fluostatins I–K from the South China Sea-Derived *Micromonospora rosaria* SCSIO N160. *J. Nat. Prod.* **75**, 1937–1943 (2012).
43. Ayer, S. W. *et al.* Jadomycin, a novel 8H-benz[b]oxazolo[3,2-f]phenanthridine antibiotic from from *Streptomyces venezuelae* ISP5230. *Tetrahedron Lett.* **32**, 6301–6304 (1991).
44. Doull, J. L., Singh, A. K., Hoare, M. & Ayer, S. W. Conditions for the production of jadomycin B by *Streptomyces venezuelae* ISP5230: effects of heat shock, ethanol treatment and phage infection. *J. Ind. Microbiol.* **13**, 120–125 (1994).
45. Issa, M. E. *et al.* Jadomycins are cytotoxic to ABCB1-, ABCC1-, and ABCG2-overexpressing MCF7 breast cancer cells. *Anticancer. Drugs* **25**, 255–269 (2014).
46. Hall, S. R. *et al.* Jadomycins Inhibit Type II Topoisomerases and Promote DNA Damage and Apoptosis in Multidrug-Resistant Triple-Negative Breast Cancer Cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **363**, 196–210 (2017).
47. Krohn, K., Böker, N., Flörke, U. & Freund, C. Synthesis of Angucyclines. 8. Biomimetic-Type Synthesis of Rabelomycin, Tetrangomycin, and Related Ring B Aromatic Angucyclinones. *J. Org. Chem.* **62**, 2350–2356 (1997).
48. Mal, D. & Dey, S. Synthesis of chlorine-containing angucycline BE-23254 and its analogs. *Tetrahedron* **62**, 9589–9602 (2006).
49. Kesenheimer, C., Kalogerakis, A., Meissner, A. & Groth, U. The cobalt way to angucyclinones: asymmetric total synthesis of the antibiotics (+)-rubiginone B2, (-)-tetrangomycin, and (-)-8-O-methyltetrangomycin. *Chem. Weinh. Bergstr. Ger.* **16**, 8805–8821 (2010).

50. Ding, C. *et al.* Synthesis Study on Marmycin A: Preparation of the C3'-Desmethyl Analogues. *J. Org. Chem.* **74**, 6111–6119 (2009).
51. Guingant, A. & Manuel Barreto, M. A new route for the efficient synthesis of (±)ochromycinone, a naturally occurring benz[a] anthraquinone. *Tetrahedron Lett.* **28**, 3107–3110 (1987).
52. Mangel, N. & Snider, B. B. Efficient Synthesis of the Tetracyclic Aminoquinone Moiety of Marmycin A. *Org. Lett.* **11**, 4926–4929 (2009).
53. Center, N. R. C. (U S.) C.-B. C. *First Symposium on Chemical-biological Correlation, May 26-27, 1950.* (National Academies, 1951).
54. Zhang, J., Yang, P. L. & Gray, N. S. Targeting cancer with small molecule kinase inhibitors. *Nat. Rev. Cancer* **9**, 28–39 (2009).
55. Tudor, G., Gutierrez, P., Aguilera-Gutierrez, A. & Sausville, E. A. Cytotoxicity and apoptosis of benzoquinones: redox cycling, cytochrome c release, and BAD protein expression. *Biochem. Pharmacol.* **65**, 1061–1075 (2003).
56. Krapcho, A. P. *et al.* 6,9-Bis[(aminoalkyl)amino]benzo[g]isoquinoline-5,10-diones. A Novel Class of Chromophore-Modified Antitumor Anthracene-9,10-diones: Synthesis and Antitumor Evaluations. *J. Med. Chem.* **37**, 828–837 (1994).
57. Krapcho, A. P. *et al.* Synthesis and Antitumor Evaluation of 2,5-Disubstituted- Indazolo[4,3-gh]isoquinolin-6(2H)-ones (9-Aza-anthrapyrazoles). *J. Med. Chem.* **41**, 5429–5444 (1998).
58. Valderrama, J., González, M., Colonelli, P. & Vásquez, D. Design and Synthesis of Angucyclinone 5-Aza Analogues. *Synlett* **2006**, 2777–2780 (2006).
59. Sissouma, D., Dequierez, G., Collet, S. & Guingant, A. Preparation of a chiral azadiene for the synthesis of 5-aza analogues of angucyclinones. *Tetrahedron Lett.* **52**, 2336–2339 (2011).
60. Cuellar, M. A. *et al.* Preliminary Studies on the Synthesis of (–)-Shikimic Acid Based 1,2,3,4-Tetrahydrobenzo[b]phenanthridine-7,12-diones. *Synlett* **26**, 552–556 (2015).
61. O'Hara, K. A., Dmitrienko, G. I. & Hasinoff, B. B. Kinamycin F downregulates cyclin D3 in human leukemia K562 cells. *Chem. Biol. Interact.* **184**, 396–402 (2010).
62. O'Hara, K. A. *et al.* Mechanism of the cytotoxicity of the diazoparaquinone antitumor antibiotic kinamycin F. *Free Radic. Biol. Med.* **43**, 1132–1144 (2007).

63. Feldman, K. S. & Eastman, K. J. Studies on the Mechanism of Action of Prekinamycin, a Member of the Diazoparaquinone Family of Natural Products: Evidence for Both sp² Radical and Orthoquinonemethide Intermediates. *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 12562–12573 (2006).
64. Martin, G. D. A. *et al.* Marmycins A and B, Cytotoxic Pentacyclic C-Glycosides from a Marine Sediment-Derived Actinomycete Related to the Genus Streptomyces. *J. Nat. Prod.* **70**, 1406–1409 (2007).
65. Henkel, T., Rohr, J., Beale, J. M. & Schwenen, L. LANDOMYCINS, NEW ANGUCYCLINE ANTIBIOTICS FROM STREPTOMYCES SP. *J. Antibiot. (Tokyo)* **43**, 492–503 (1990).
66. Crow, R. T. *et al.* Landomycin A inhibits DNA synthesis and G1/S cell cycle progression. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **9**, 1663–1666 (1999).
67. Yang, X., Fu, B. & Yu, B. Total Synthesis of Landomycin A, a Potent Antitumor Angucycline Antibiotic. *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 12433–12435 (2011).
68. Shaaban, K. A., Srinivasan, S., Kumar, R., Damodaran, C. & Rohr, J. Landomycins P–W, Cytotoxic Angucyclines from Streptomyces cyanogenus S-136. *J. Nat. Prod.* **74**, 2–11 (2011).
69. Valderrama, J. A. & Vásquez, D. Design and synthesis of angucyclinone AB-pyrido[2,3-d] pyrimidine analogues. *Tetrahedron Lett.* **49**, 703–706 (2008).
70. Etoposide Monograph for Professionals. *Drugs.com* Available at: <https://www.drugs.com/monograph/etoposide.html>. (Accessed: 10th September 2018)
71. Jakeman, D. L., Farrell, S., Young, W., Doucet, R. J. & Timmons, S. C. Novel jadomycins: incorporation of non-natural and natural amino acids. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **15**, 1447–1449 (2005).
72. Jakeman, D. L. *et al.* Antimicrobial Activities of Jadomycin B and Structurally Related Analogues. *Antimicrob. Agents Chemother.* **53**, 1245–1247 (2009).
73. Cottreau, K. M. *et al.* Diverse DNA-Cleaving Capacities of the Jadomycins through Precursor-Directed Biosynthesis. *Org. Lett.* **12**, 1172–1175 (2010).
74. *ChemDraw Ultra 12.0*. (PerkinElmer).
75. Cousins, K. R. Computer Review of ChemDraw Ultra 12.0. *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 8388–8388 (2011).
76. *Chem3D Pro*. (PerkinElmer).
77. M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani,

- V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, Ö. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, and D. J. Fox. *Gaussian 09*. (Gaussian, Inc., 2009).
78. *STATISTICA 12*. (TIBCO Software Inc.).
79. *SYBYL-X 1.2*. (Certara USA, Inc.).
80. *Prism 6*. (GraphPad Software).
81. Skehan, P. *et al.* New Colorimetric Cytotoxicity Assay for Anticancer-Drug Screening. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* **82**, 1107–1112 (1990).
82. Jeso, V. *et al.* Synthesis of benzoquinone ansamycin-inspired macrocyclic lactams from shikimic acid. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **52**, 4800–4804 (2013).
83. Armesto, N., Ferrero, M., Fernández, S. & Gotor, V. Efficient synthesis of (–)-methyl 3-epi-shikimate and methyl 3-epi-quininate by one-pot selective protection of trans-1,2-diols. *Tetrahedron Lett.* **41**, 8759–8762 (2000).
84. Alves, C., Barros, M. T., Maycock, C. D. & Ventura, M. R. An efficient transformation of quinic acid to shikimic acid derivatives. *Tetrahedron* **55**, 8443–8456 (1999).
85. Cung, M. T., Marraud, M. & Neel, J. Experimental Calibration of a Karplus Relationship in Order to Study the Conformations of Peptides by Nuclear Magnetic Resonance. *Macromolecules* **7**, 606–613 (1974).
86. Dewar, M. J. S., Olivella, S. & Stewart, J. J. P. Mechanism of the Diels-Alder reaction: reactions of butadiene with ethylene and cyanoethylenes. *J. Am. Chem. Soc.* **108**, 5771–5779 (1986).
87. *Hetero Diels-Alder Methodology in Organic Synthesis*. (Elsevier, 2012).

88. Domingo, L. R. & Sáez, J. A. Understanding the mechanism of polar Diels–Alder reactions. *Org. Biomol. Chem.* **7**, 3576–3583 (2009).
89. Houk, K. N. & Luskus, L. J. Influence of steric interactions on endo stereoselectivity. *J. Am. Chem. Soc.* **93**, 4606–4607 (1971).
90. Ujaque, G., Lee, P. S., Houk, K. N., Hentemann, M. F. & Danishefsky, S. J. The Origin of endo Stereoselectivity in the Hetero-Diels–Alder Reactions of Aldehydes with ortho-Xylylenes: CH– π , π – π , and Steric Effects on Stereoselectivity. *Chem. – Eur. J.* **8**, 3423–3430
91. Nebois, P., do Nascimento, S. C., Boitard, M., Bartoli, M. H. & Fillion, H. Synthesis and in vitro cytotoxic activity of aza- and diazaanthraquinone derivatives. *Pharm.* **49**, 819–821 (1994).
92. Cuellar, M. A. *et al.* Hetero-Diels–Alder reaction of halogenated quinones with a polygodial-derived azadiene. *Tetrahedron Lett.* **43**, 2127–2131 (2002).
93. Quiñones, N. *et al.* (-)-Shikimic Acid as a Chiral Building Block for the Synthesis of New Cytotoxic 6-Aza-Analogues of Angucyclinones. *Molecules* **23**, 1422 (2018).
94. Houk, K. N. Generalized frontier orbitals of alkenes and dienes. Regioselectivity in Diels–Alder reactions. *J. Am. Chem. Soc.* **95**, 4092–4094 (1973).
95. Singleton, D. A. & Martinez, J. P. High reactivity, regioselectivity, and endo-stereoselectivity of vinyl boranes in Diels–Alder reactions. *J. Am. Chem. Soc.* **112**, 7423–7424 (1990).
96. Hussain, H., Specht, S., Sarite, S. R., Hoerauf, A. & Krohn, K. New quinoline-5,8-dione and hydroxynaphthoquinone derivatives inhibit a chloroquine resistant Plasmodium falciparum strain. *Eur. J. Med. Chem.* **54**, 936–942 (2012).
97. Liu, F., Paton, R. S., Kim, S., Liang, Y. & Houk, K. N. Diels–Alder Reactivities of Strained and Unstrained Cycloalkenes with Normal and Inverse-Electron-Demand Dienes: Activation Barriers and Distortion/Interaction Analysis. *J. Am. Chem. Soc.* **135**, 15642–15649 (2013).
98. Kaighn, M. E., Narayan, K. S., Ohnuki, Y., Lechner, J. F. & Jones, L. W. Establishment and characterization of a human prostatic carcinoma cell line (PC-3). *Invest. Urol.* **17**, 16–23 (1979).
99. Gamet-Payraastre, L. *et al.* Sulforaphane, a Naturally Occurring Isothiocyanate, Induces Cell Cycle Arrest and Apoptosis in HT29 Human Colon Cancer Cells. *Cancer Res.* **60**, 1426–1433 (2000).
100. Lee, A. V., Oesterreich, S. & Davidson, N. E. MCF-7 Cells—Changing the Course of Breast Cancer

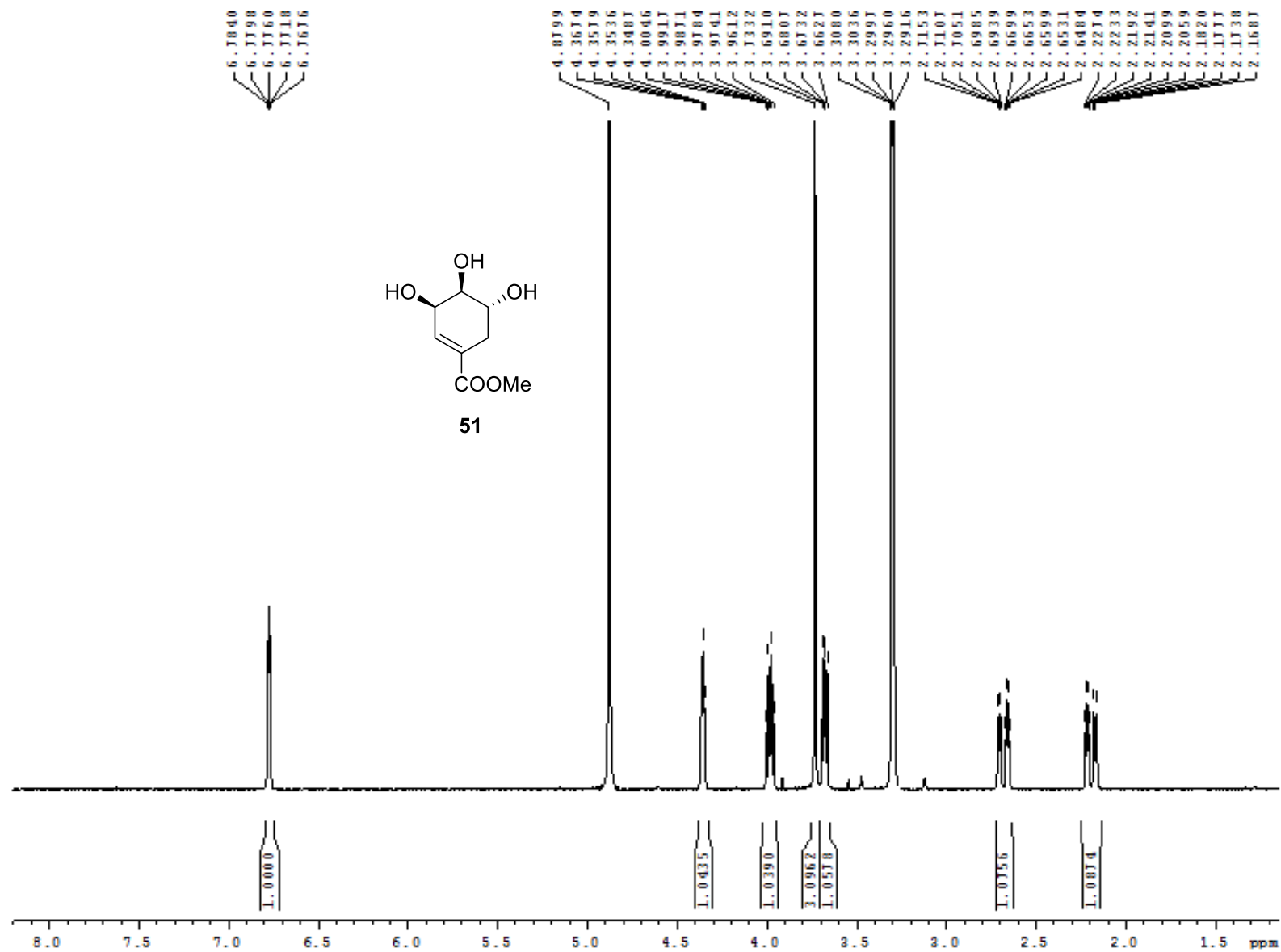
- Research and Care for 45 Years. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* **107**, (2015).
101. Cramer, R. D., Bunce, J. D., Patterson, D. E. & Frank, I. E. Crossvalidation, Bootstrapping, and Partial Least Squares Compared with Multiple Regression in Conventional QSAR Studies. *Quant. Struct.-Act. Relatsh.* **7**, 18–25
 102. Tuppurainen, K. Frontier orbital energies, hydrophobicity and steric factors as physical qsar descriptors of molecular mutagenicity. A review with a case study: MX compounds. *Chemosphere* **38**, 3015–3030 (1999).
 103. Karelson, M., Lobanov, V. S. & Katritzky, A. R. Quantum-Chemical Descriptors in QSAR/QSPR Studies. *Chem. Rev.* **96**, 1027–1044 (1996).
 104. Zhao, Y. H. *et al.* Evaluation of human intestinal absorption data and subsequent derivation of a quantitative structure–activity relationship (QSAR) with the Abraham descriptors. *J. Pharm. Sci.* **90**, 749–784 (2001).
 105. Agrawal, V. K. & Khadikar, P. V. QSAR prediction of toxicity of nitrobenzenes. *Bioorg. Med. Chem.* **9**, 3035–3040 (2001).
 106. Ertan, T. *et al.* Synthesis, biological evaluation and 2D-QSAR analysis of benzoxazoles as antimicrobial agents. *Eur. J. Med. Chem.* **44**, 501–510 (2009).
 107. Kubinyi, H., Martin, Y. C. & Folkers, G. *3D QSAR in Drug Design: Volume 1: Theory Methods and Applications.* (Springer Science & Business Media, 1993).
 108. Du, Q.-S., Huang, R.-B., Wei, Y.-T., Du, L.-Q. & Chou, K.-C. Multiple field three dimensional quantitative structure–activity relationship (MF-3D-QSAR). *J. Comput. Chem.* **29**, 211–219
 109. Cramer, R. D., Patterson, D. E. & Bunce, J. D. Comparative molecular field analysis (CoMFA). 1. Effect of shape on binding of steroids to carrier proteins. *J. Am. Chem. Soc.* **110**, 5959–5967 (1988).
 110. Golbraikh, A. & Tropsha, A. Predictive QSAR modeling based on diversity sampling of experimental datasets for the training and test set selection. *Mol. Divers.* **5**, 231–243 (2000).
 111. Rubin, D. B. Randomization Analysis of Experimental Data: The Fisher Randomization Test Comment. *J. Am. Stat. Assoc.* **75**, 591–593 (1980).
 112. Rücker, C., Rücker, G. & Meringer, M. γ -Randomization and Its Variants in QSPR/QSAR. *J. Chem. Inf. Model.* **47**, 2345–2357 (2007).

113. Golbraikh, A. *et al.* Rational selection of training and test sets for the development of validated QSAR models. *J. Comput. Aided Mol. Des.* **17**, 241–253 (2003).
114. Roy, K., Kar, S. & Ambure, P. On a simple approach for determining applicability domain of QSAR models. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **145**, 22–29 (2015).
115. Roy, K., Ambure, P. & Aher, R. B. How important is to detect systematic error in predictions and understand statistical applicability domain of QSAR models? *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **162**, 44–54 (2017).
116. Roy, K. & Kar, S. Importance of Applicability Domain of QSAR Models. *Pharm. Sci. Breakthr. Res. Pract.* 1012–1043 (2017). doi:10.4018/978-1-5225-1762-7.ch039
117. Singh, M. W., Karmakar, A., Barooah, N. & Baruah, J. B. Variations in product in reactions of naphthoquinone with primary amines. *Beilstein J. Org. Chem.* **3**, 10 (2007).
118. Keinan, S. *et al.* Computational design, synthesis and biological evaluation of para-quinone-based inhibitors for redox regulation of the dual-specificity phosphatase Cdc25B. *Org. Biomol. Chem.* **6**, 3256–3263 (2008).
119. Liu, B. & Ji, S.-J. Facile Synthesis of 2-Amino-1,4-naphthoquinones catalyzed by Molecular Iodine under Ultrasonic Irradiation. *Synth. Commun.* **38**, 1201–1211 (2008).
120. Dangerfield, E. M., Plunkett, C. H., Win-Mason, A. L., Stocker, B. L. & Timmer, M. S. M. Protecting-Group-Free Synthesis of Amines: Synthesis of Primary Amines from Aldehydes via Reductive Amination. *J. Org. Chem.* **75**, 5470–5477 (2010).
121. Eliel, E. L. & Hutchins, R. O. Conformational analysis. XVIII. 1,3-Dithianes. Conformational preferences of alkyl substituents and the chair-boat energy difference. *J. Am. Chem. Soc.* **91**, 2703–2715 (1969).
122. Bhasin, D., Chettiar, S. N., Etter, J. P., Mok, M. & Li, P.-K. Anticancer activity and SAR studies of substituted 1,4-naphthoquinones. *Bioorg. Med. Chem.* **21**, 4662–4669 (2013).
123. Vázquez, K. *et al.* New aryloxy-quinone derivatives as potential anti-Chagasic agents: synthesis, trypanosomicidal activity, electrochemical properties, pharmacophore elucidation and 3D-QSAR analysis. *RSC Adv.* **5**, 65153–65166 (2015).
124. Yoshida, K., Ishiguro, M., Honda, H., Yamamoto, M. & Kubo, Y. Regioselective 6-Amination and 6-

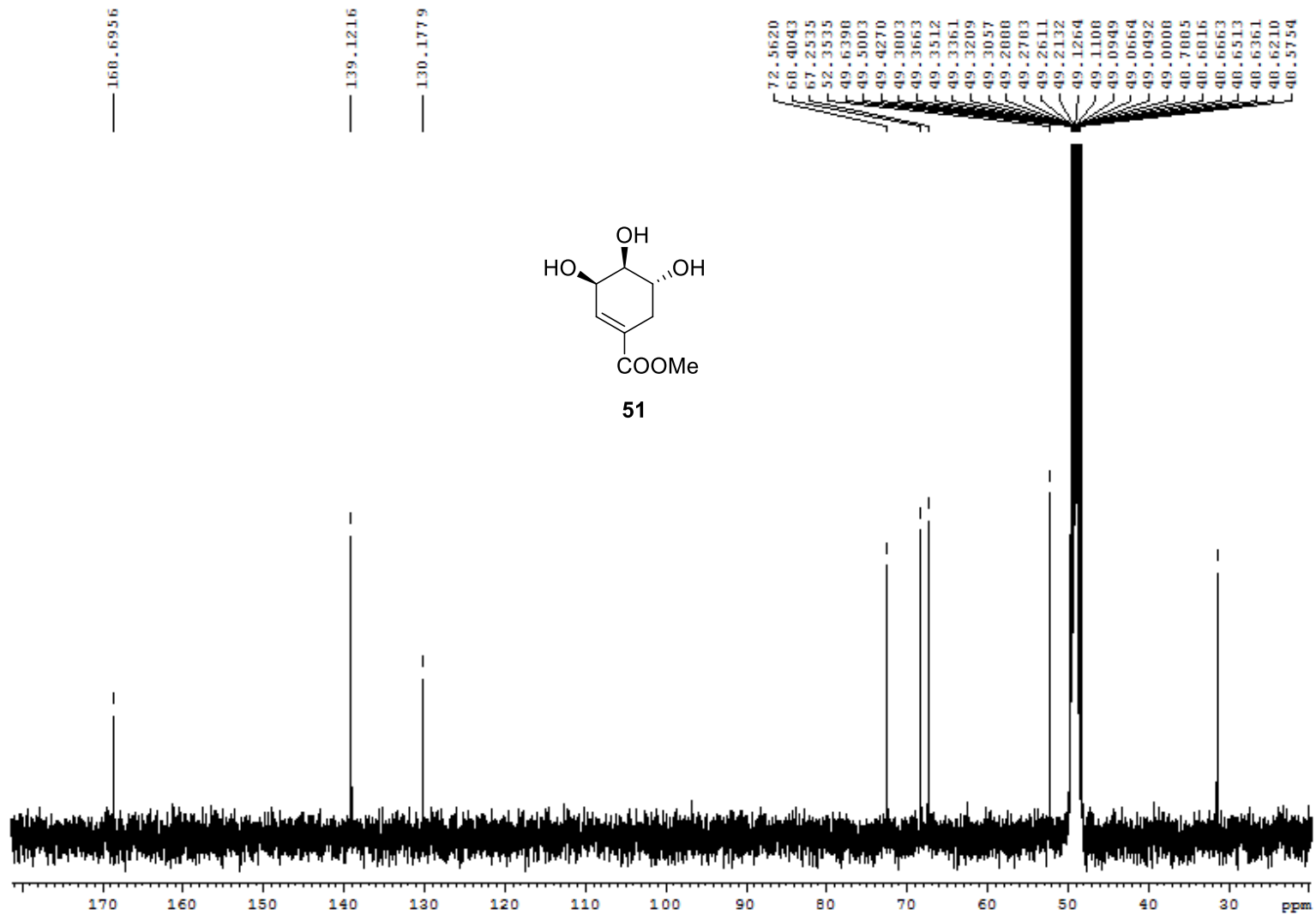
- Arylation of 5,8-Quinolinedione Promoted by Metal Ions. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **61**, 4335–4340 (1988).
125. Jiang, C. & Wang, S. Gold(III)-Catalyzed 1,4-Nucleophilic Addition: Facile Approach to Prepare 2-Amino-1,4-naphthalenedione and 6-Amino-5,8-quinolinedione Derivatives. *Synlett* **2009**, 1099–1102 (2009).
126. Graham, F. L., Smiley, J., Russell, W. C. & Nairn, R. Characteristics of a Human Cell Line Transformed by DNA from Human Adenovirus Type 5. *J. Gen. Virol.* **36**, 59–72 (1977).

ANEXOS

A continuación se presentan los espectros de RMN- ^1H y ^{13}C para los compuestos sintetizados, en orden de aparición.



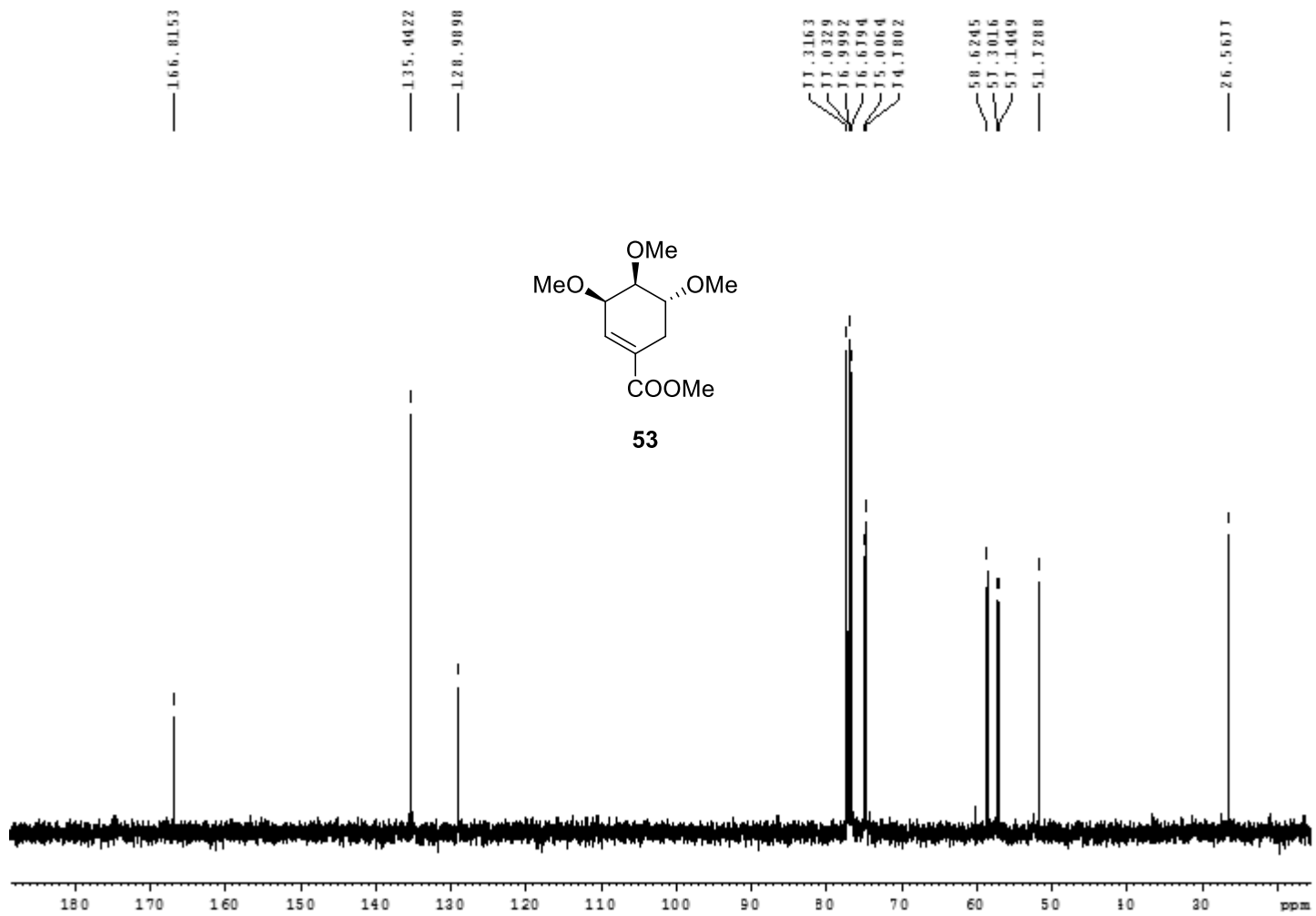
Espectro ^1H .



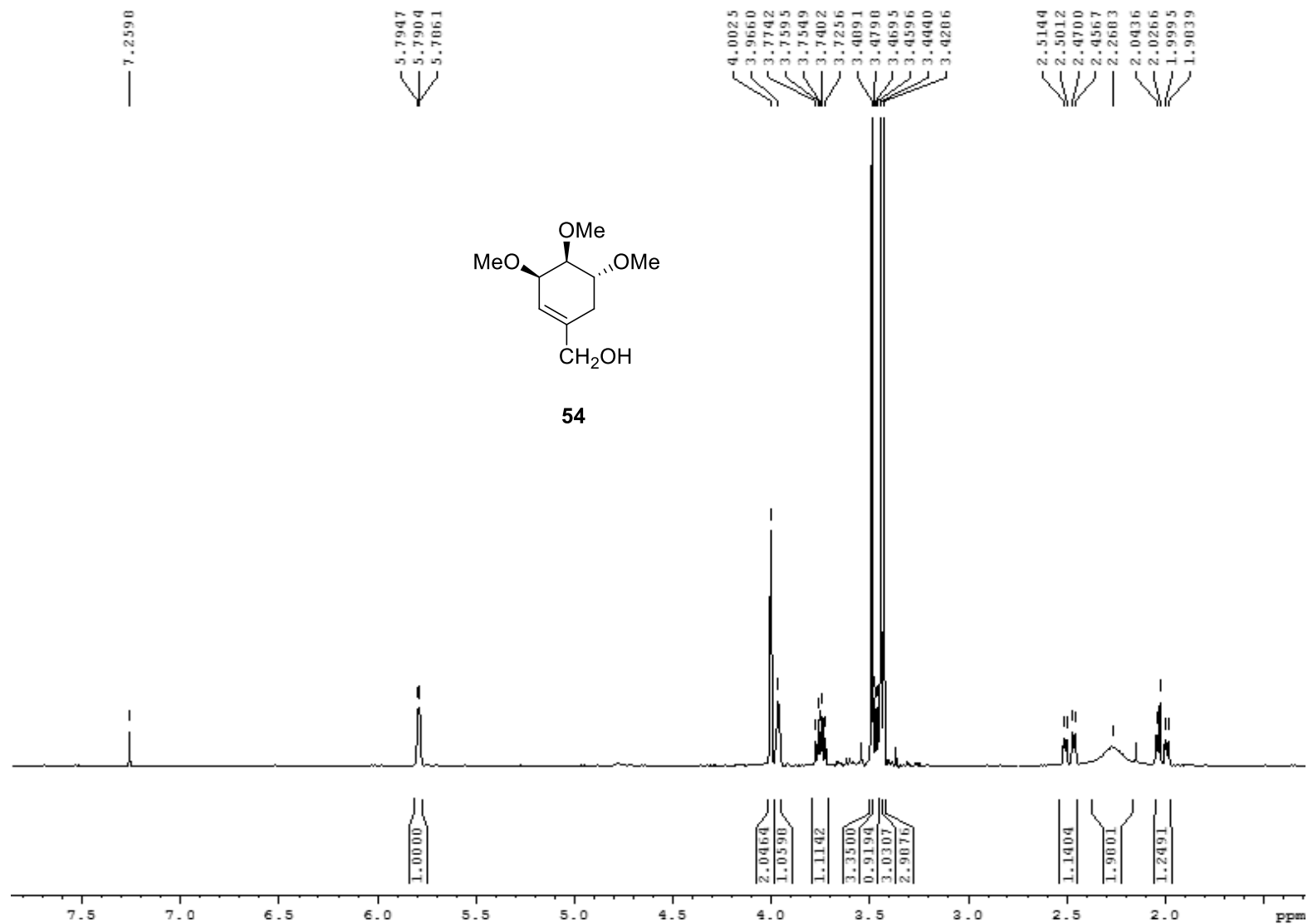
Espectro ^{13}C .



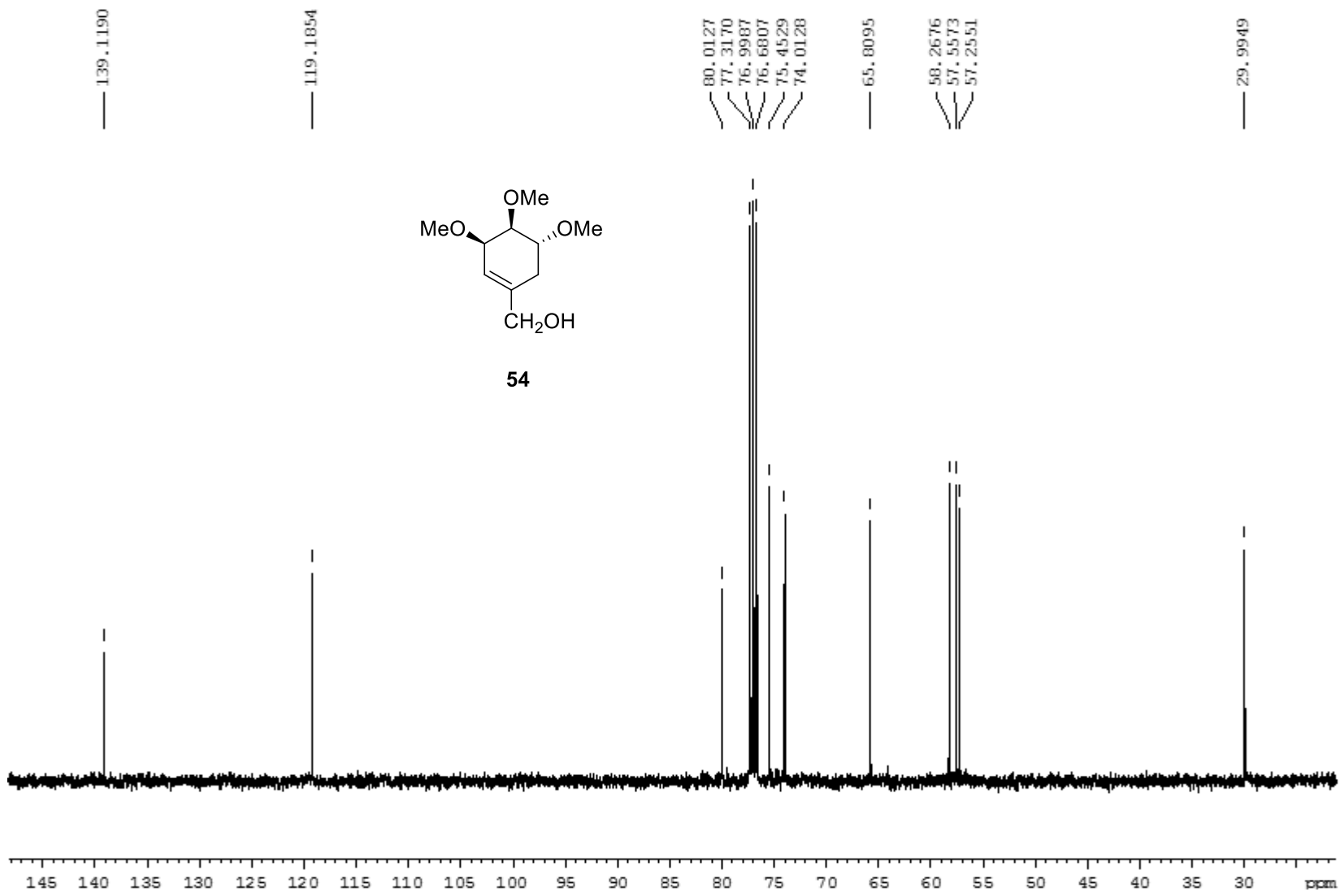
Espectro ^1H .



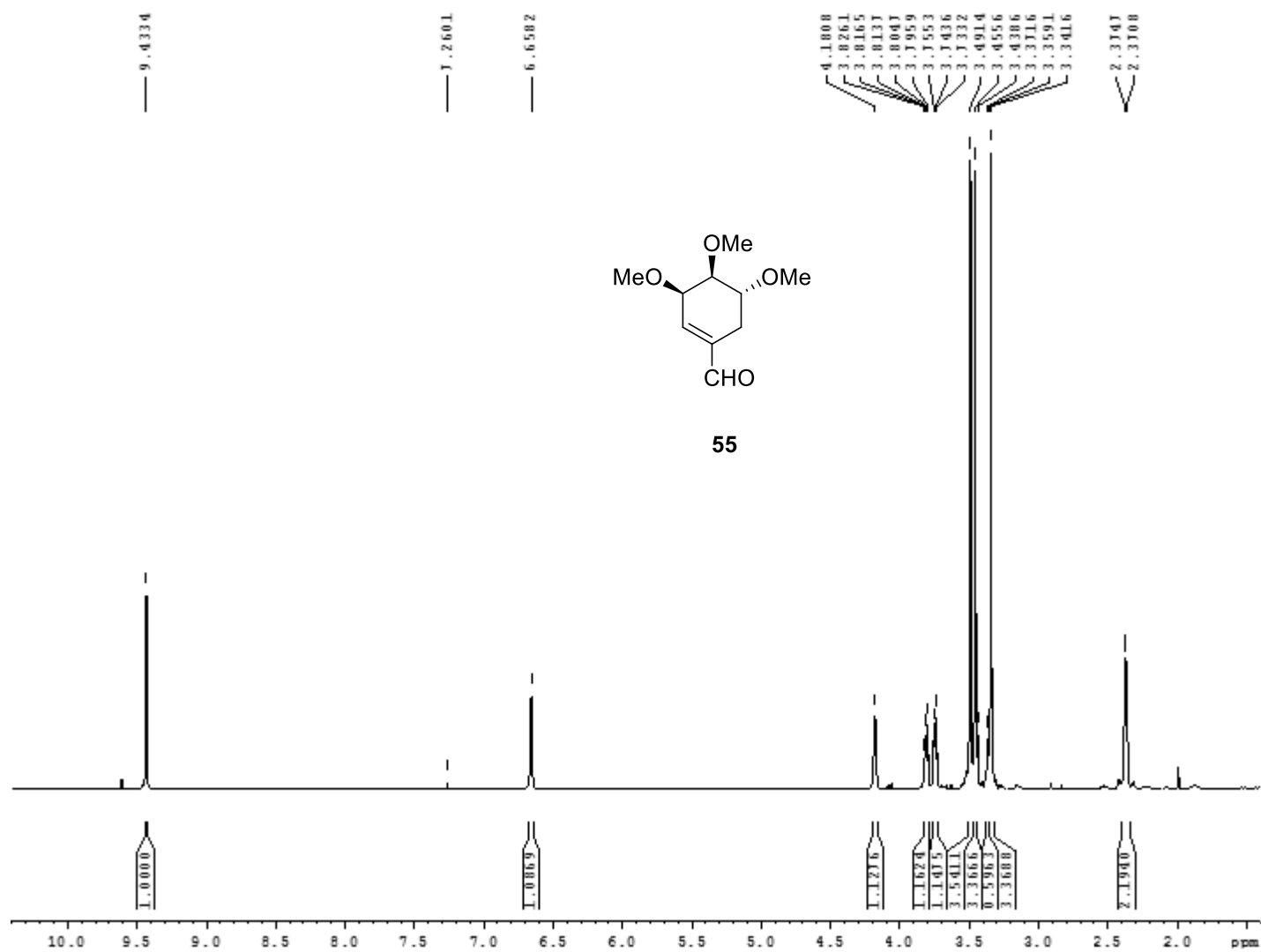
Espectro ^{13}C .



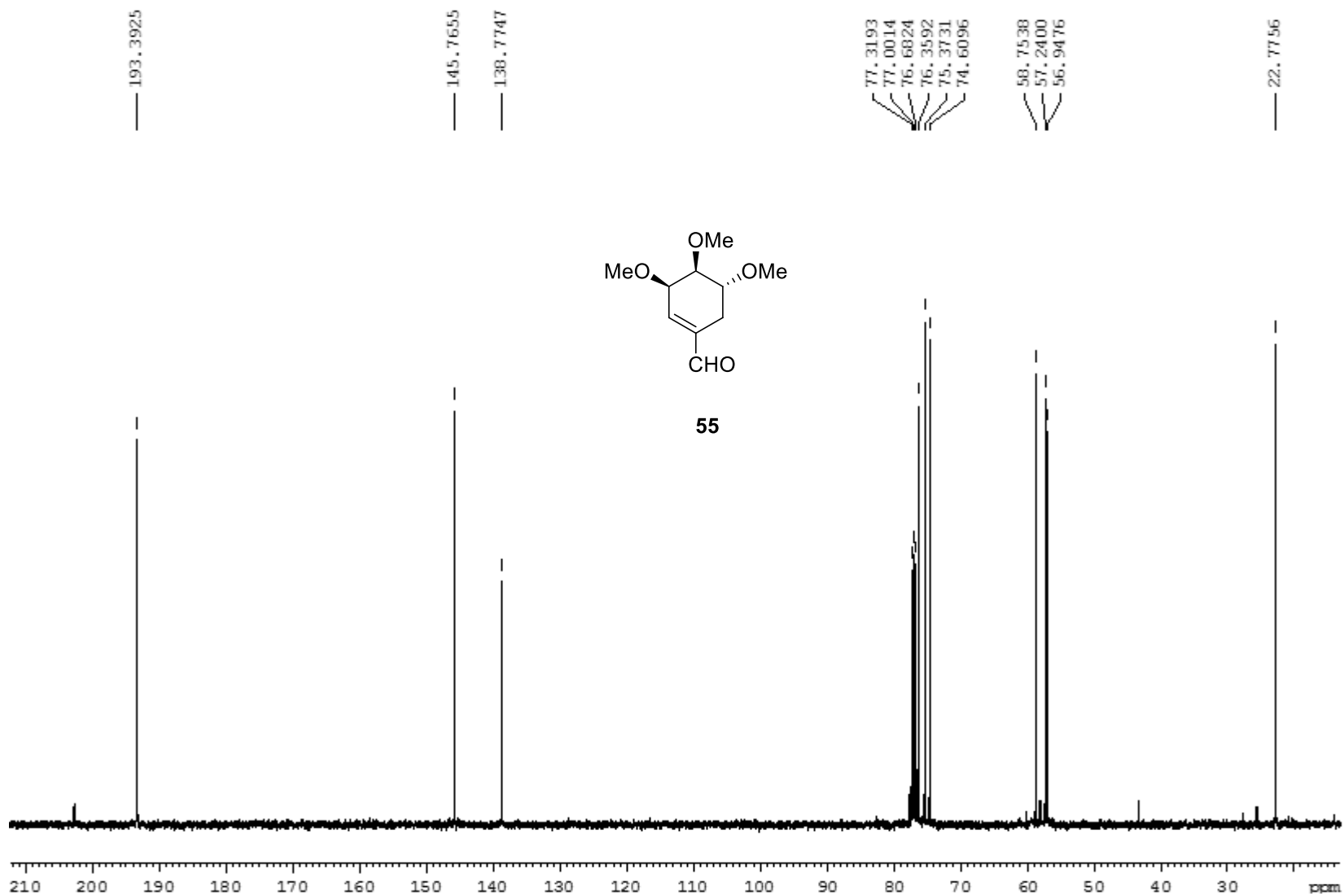
Espectro ^1H .



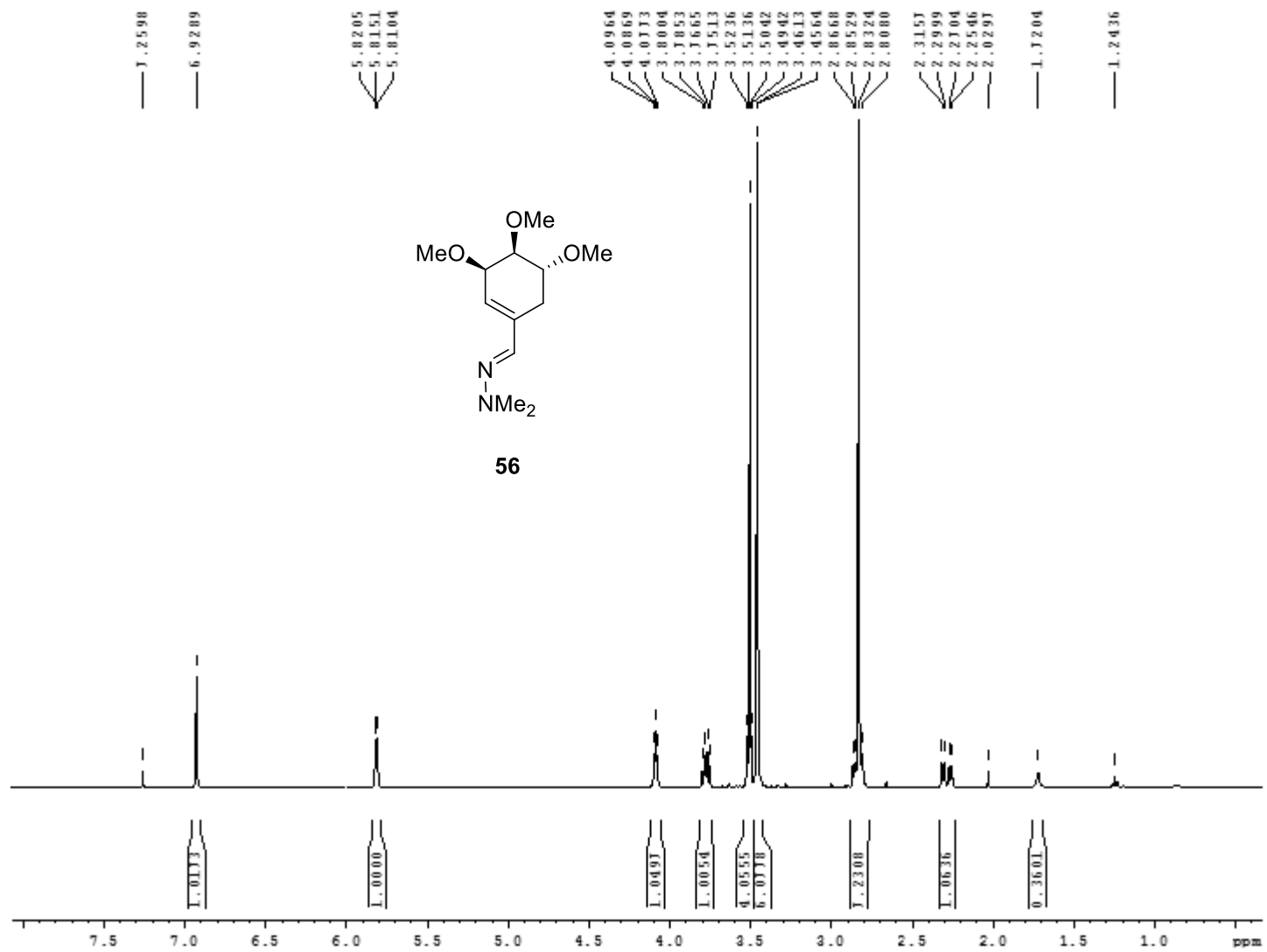
Espectro ¹³C.



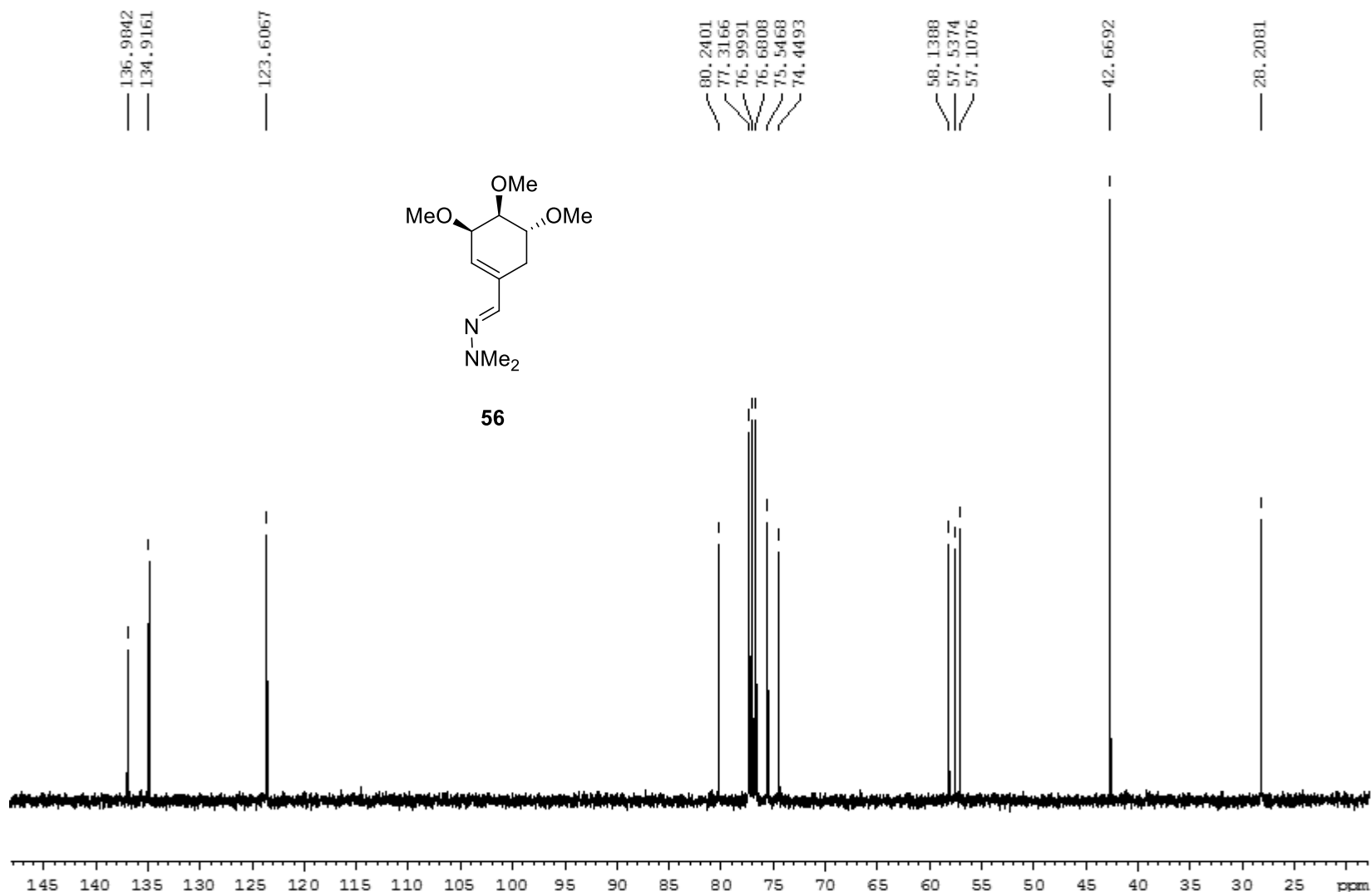
Espectro ^1H .



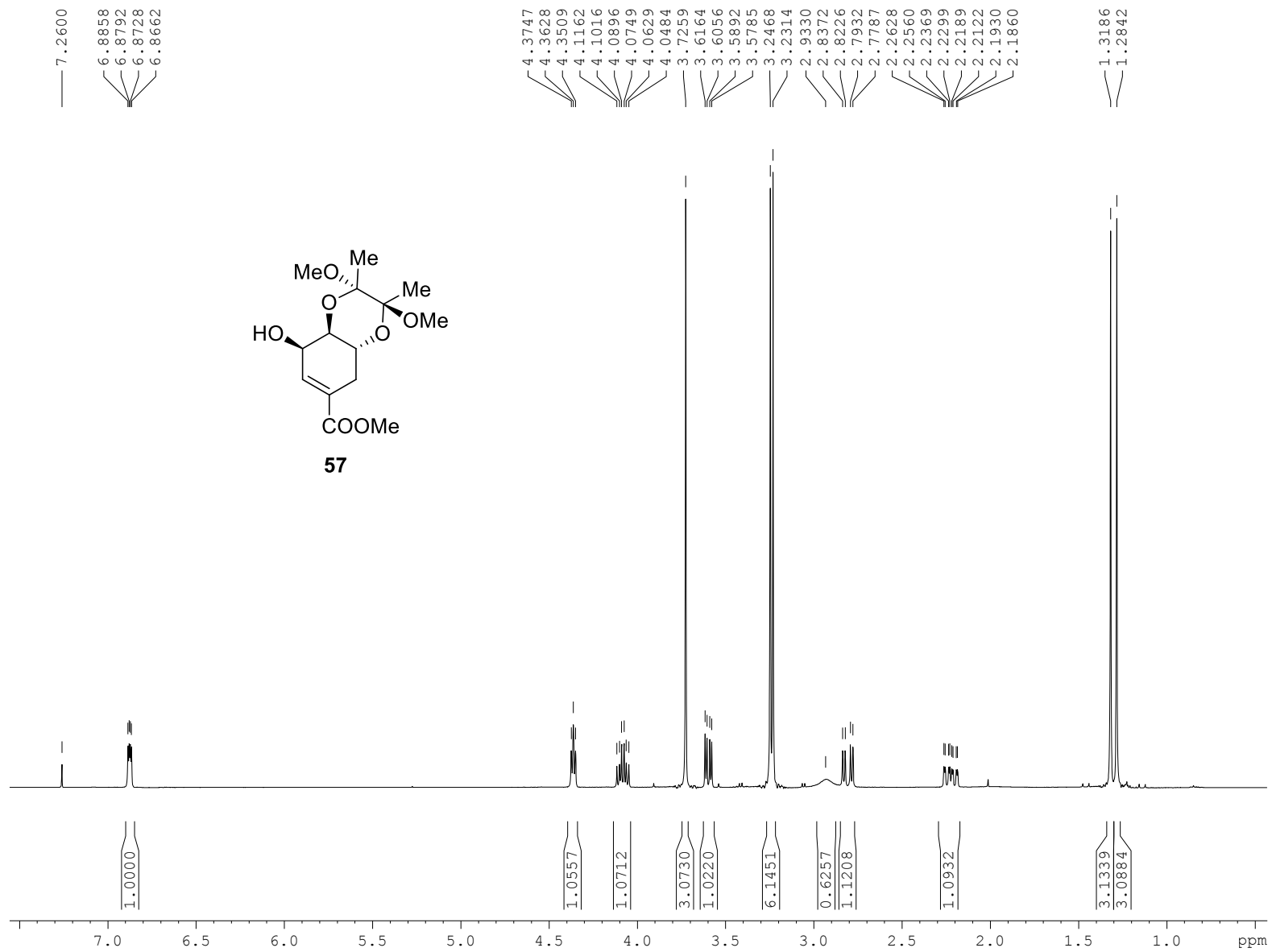
Espectro ^{13}C .



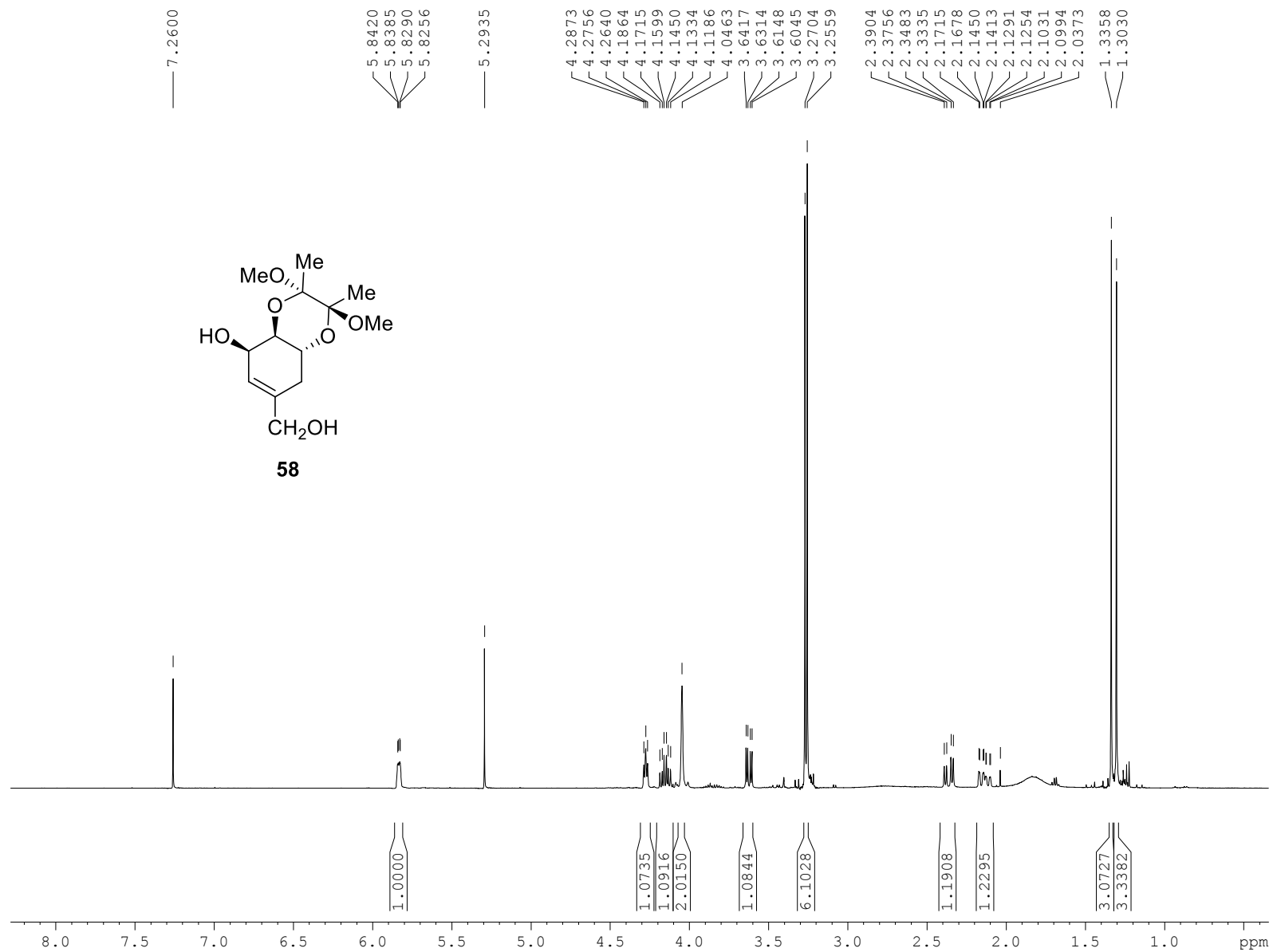
Espectro ^1H .



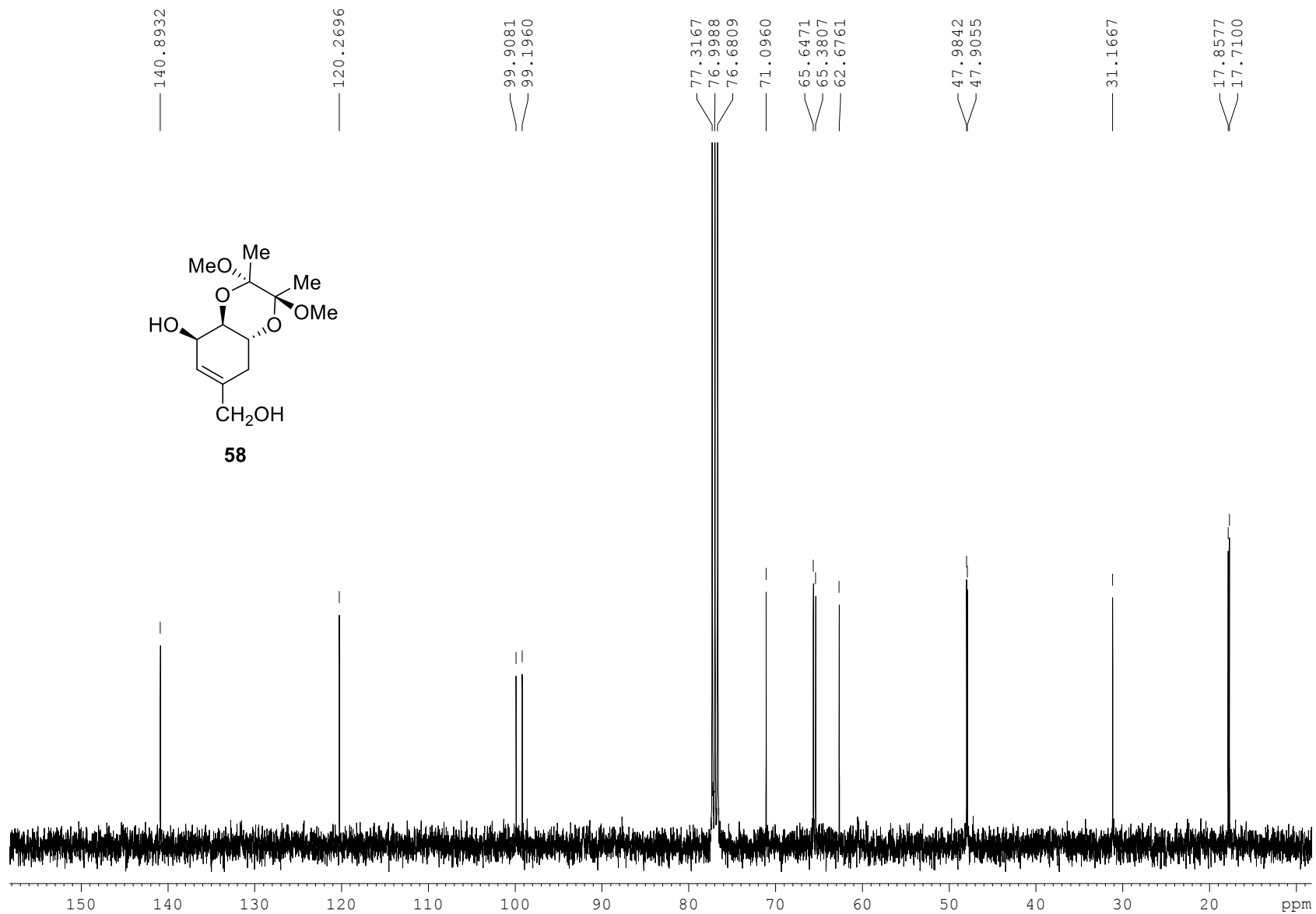
Espectro ^{13}C .



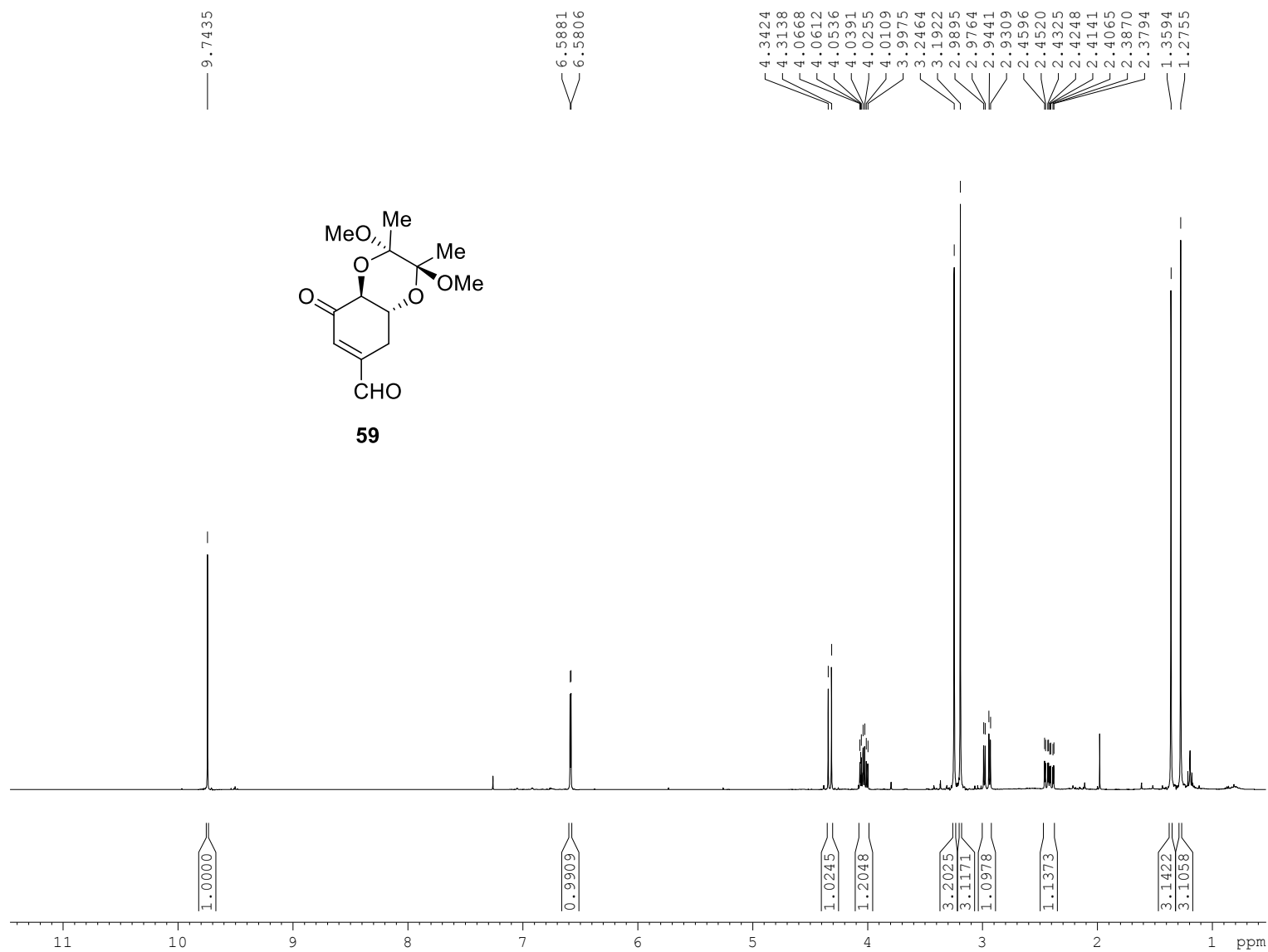
Espectro ¹H.



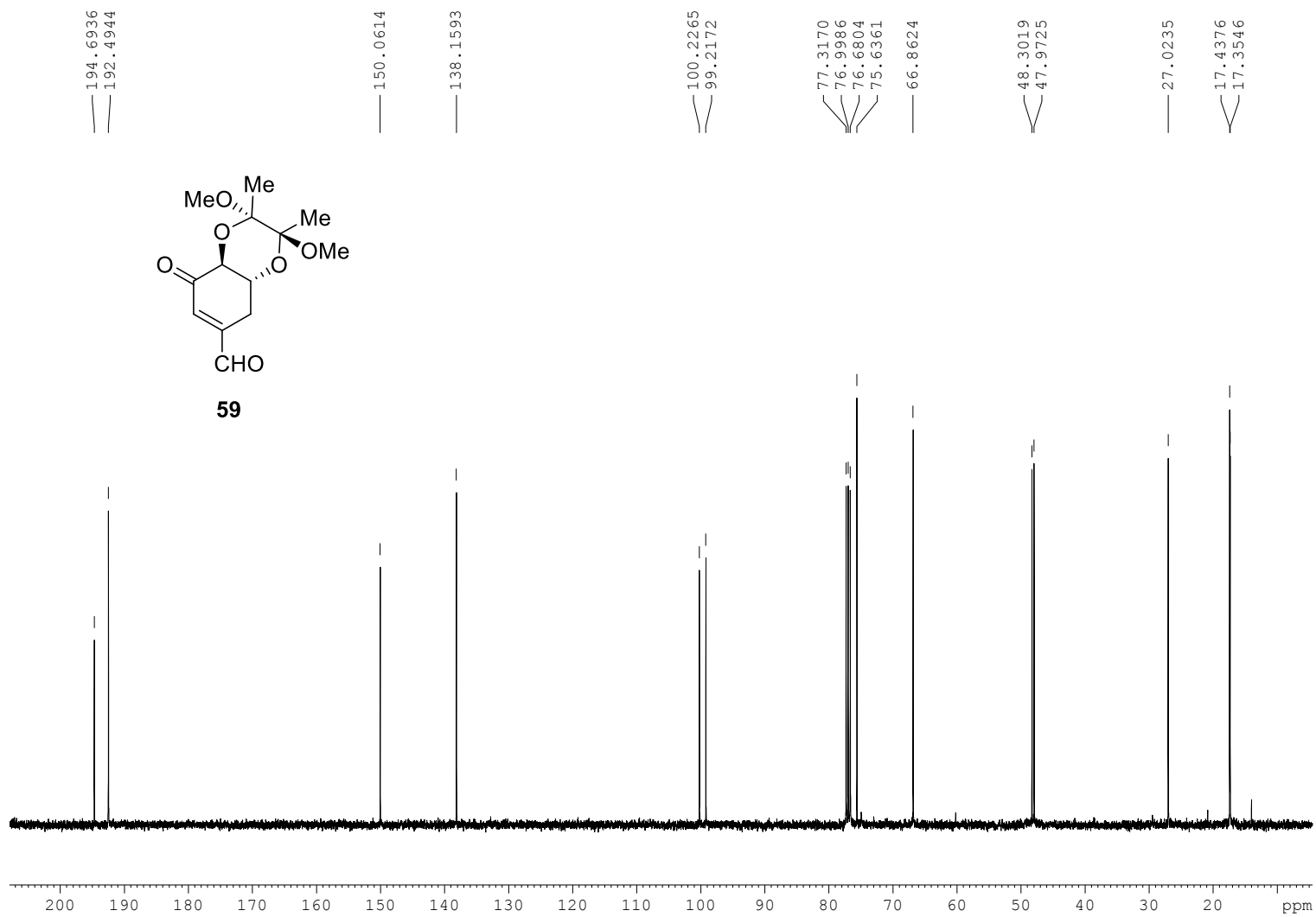
Espectro ^1H .



Espectro ^{13}C .

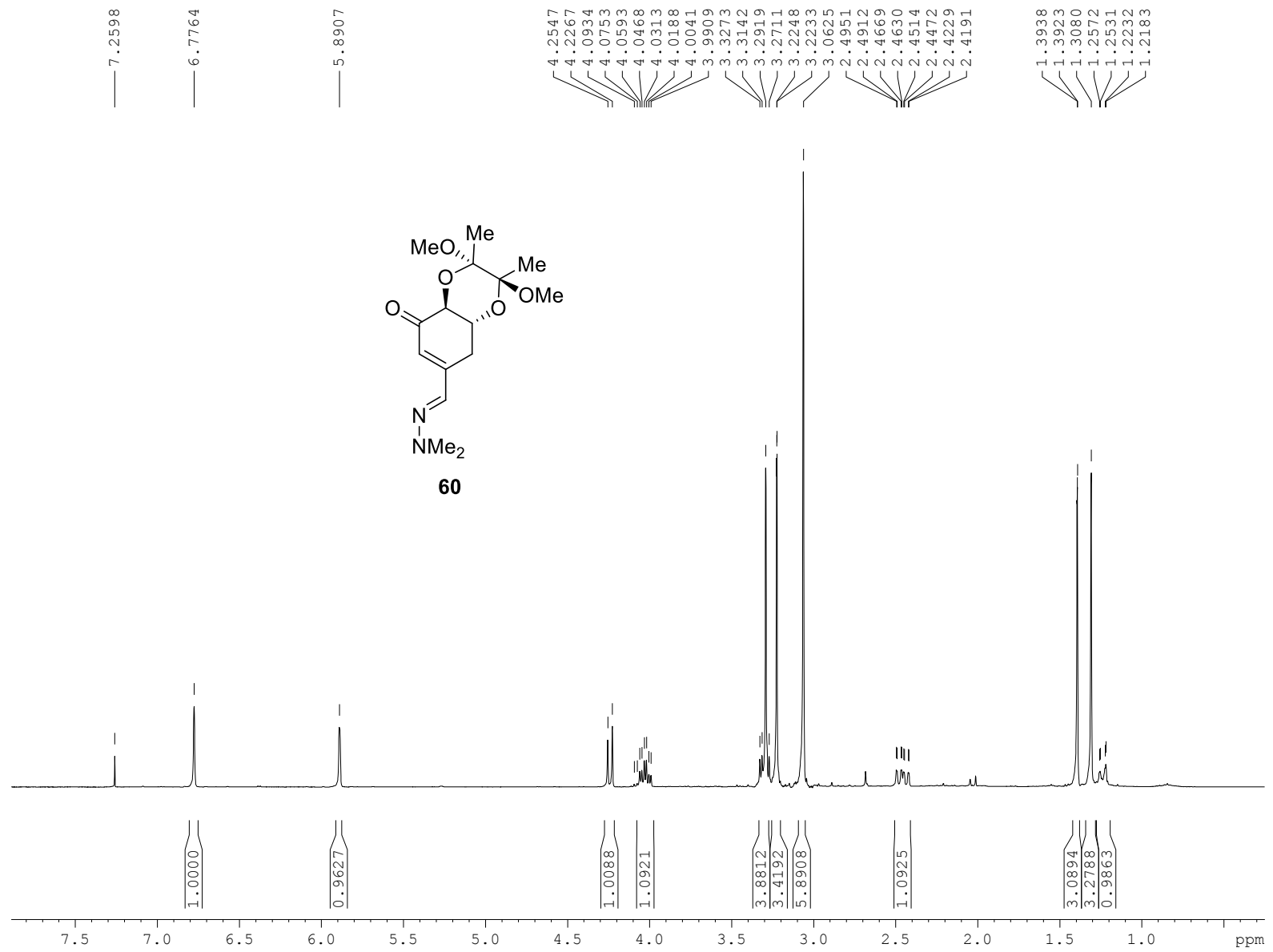


Espectro ¹H.

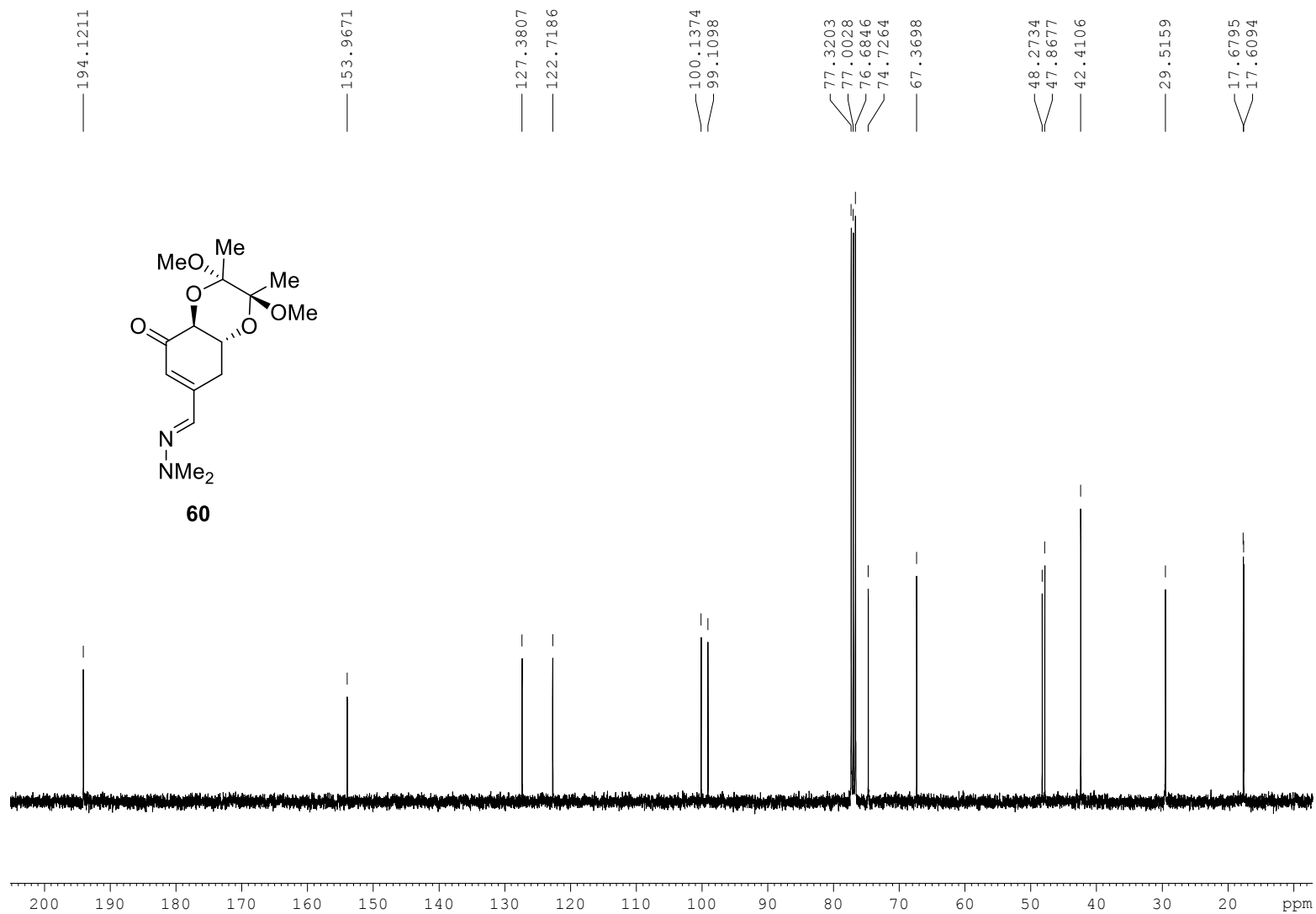


Espectro ^{13}C .

Espectro ^{13}C .

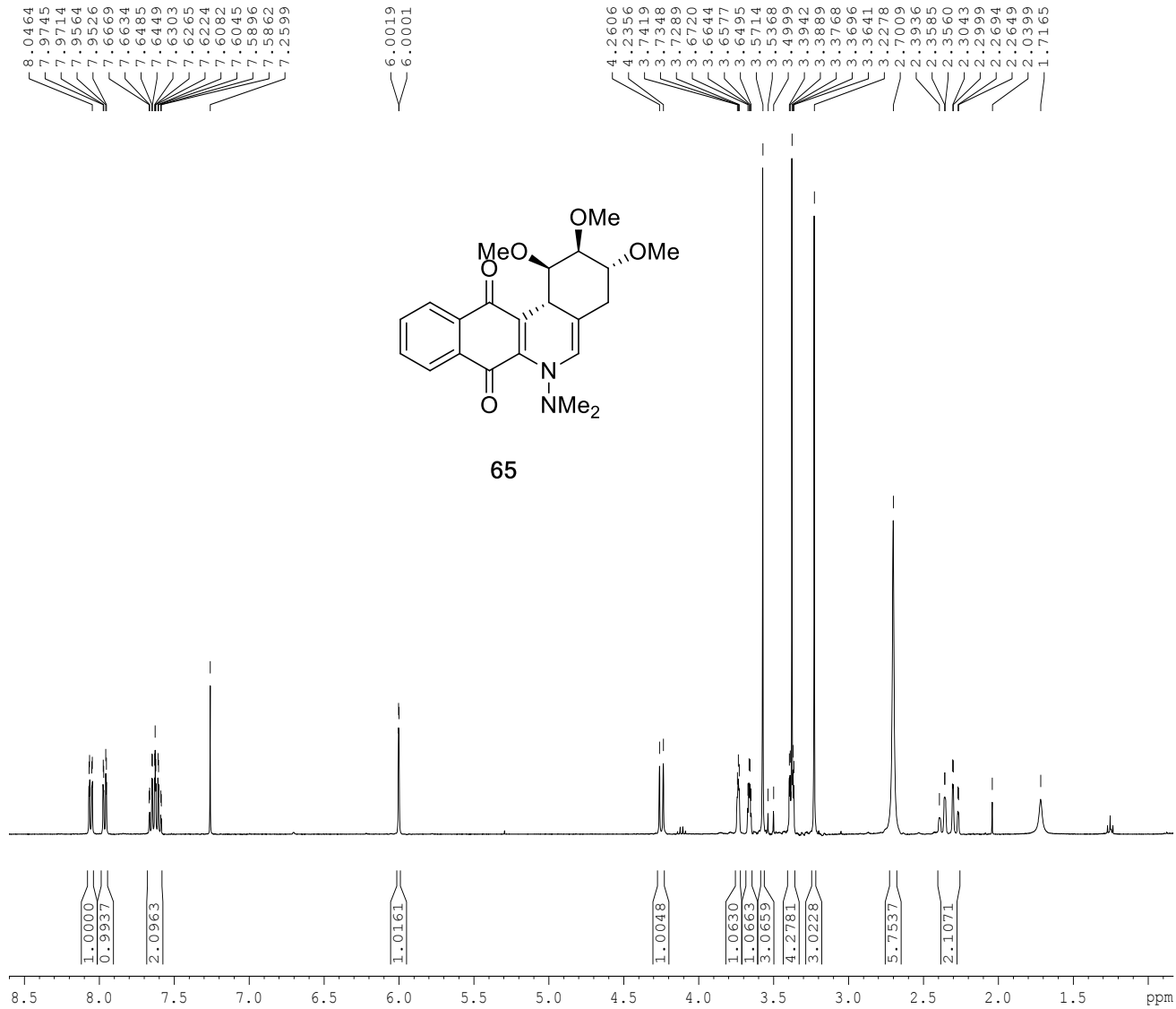


Espectro ^1H .



Espectro ^{13}C

M. Cuellar
EP-111
CDCl3



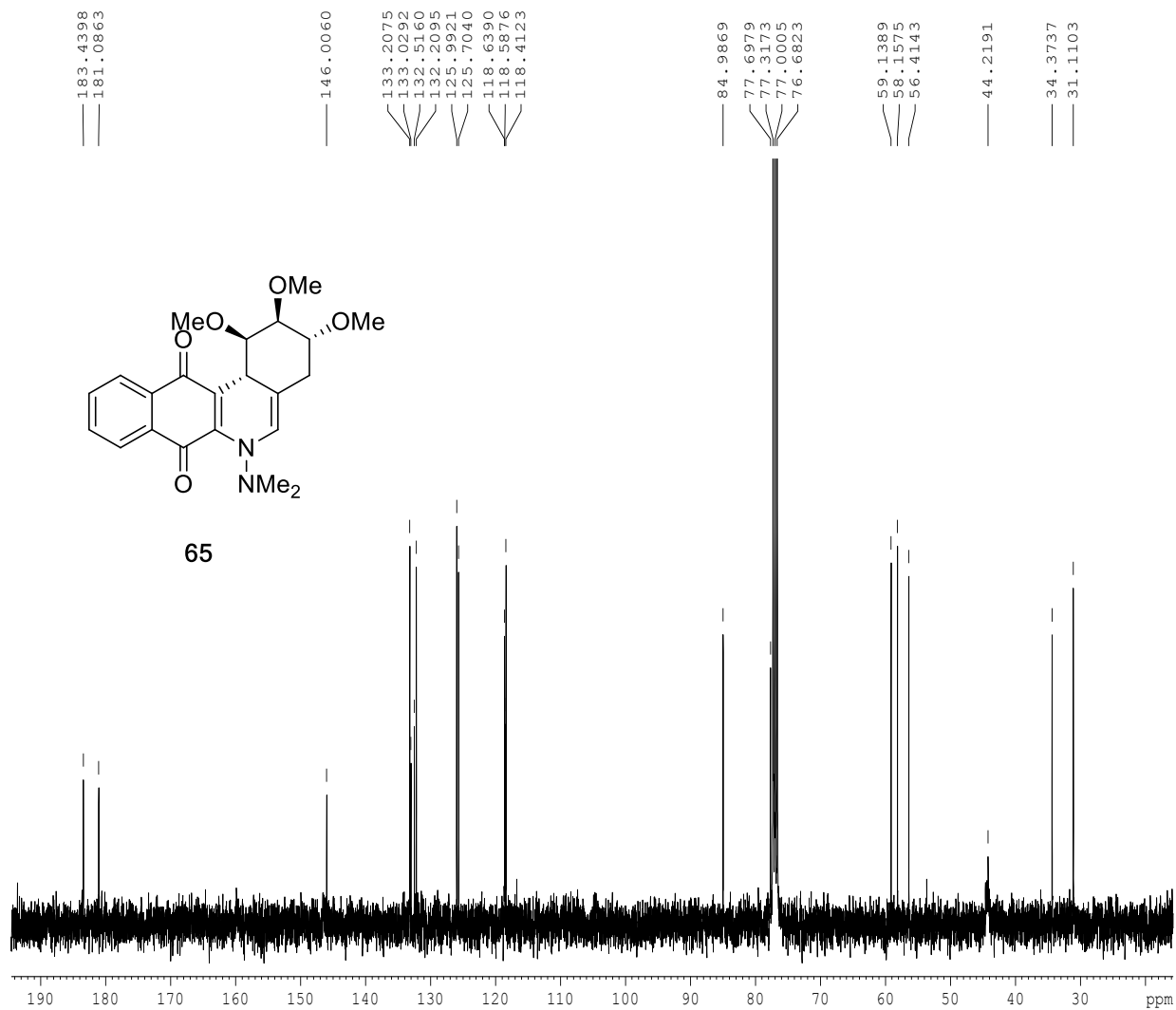
```

NAME          M. Cuellar
EXPNO         302
PROCNO        1
Date_         20170703
Time          16.38
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm BBI 1H-BB
PULPROG       zg30
TD            32768
SOLVENT       CDCl3
NS            8
DS            0
SWH           8012.820 Hz
FIDRES        0.244532 Hz
AQ            2.0447731 sec
RG            574.7
DW            62.400 usec
DE            6.00 usec
TE            294.2 K
D1            1.00000000 sec
TD0           1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1          1H
P1            6.50 usec
PL1           0.00 dB
SFO1         400.1338012 MHz
SI            16384
SF            400.1300094 MHz
WDW           no
SSB           0
LB            0.00 Hz
GB            0
PC            1.00
  
```

Espectro ¹H.

M. Cuellar
EP-111
CDCl₃

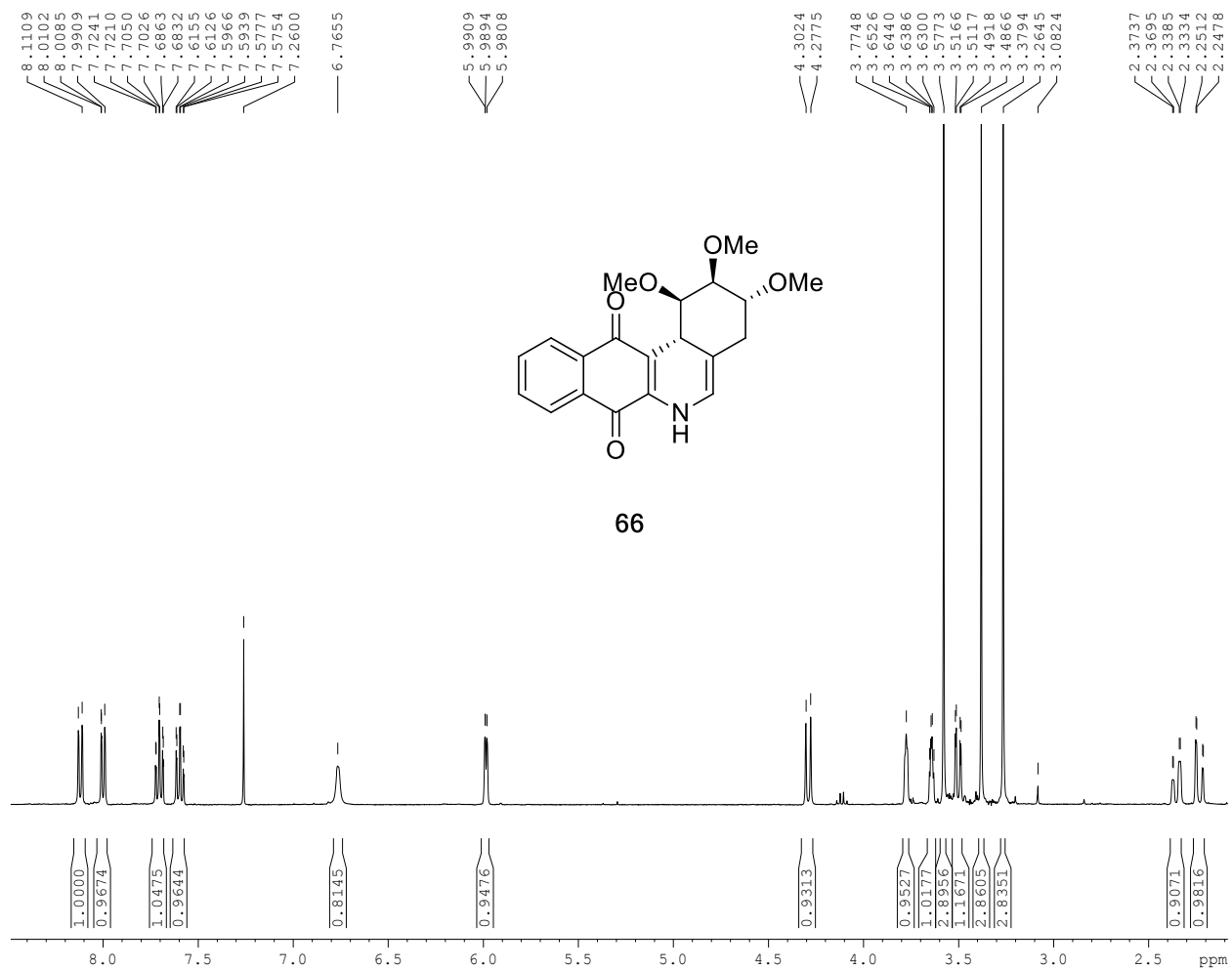


NAME M. Cuellar
EXPNO 303
PROCNO 1
Date_ 20170704
Time 16.53
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT CDCl₃
NS 1024
DS 0
SWH 23980.814 Hz
FIDRES 0.731836 Hz
AQ 0.6832628 sec
RG 574.7
DW 20.850 usec
DE 6.00 usec
TE 294.2 K
D1 2.00000000 sec
D11 0.03000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 14.00 usec
PL1 -6.00 dB
SFO1 100.6242995 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 85.00 usec
PL2 6.00 dB
PL12 23.00 dB
PL13 23.00 dB
SFO2 400.1316005 MHz
SI 32768
SF 100.6127724 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40

M. Cuellar
EP-101
CDC13



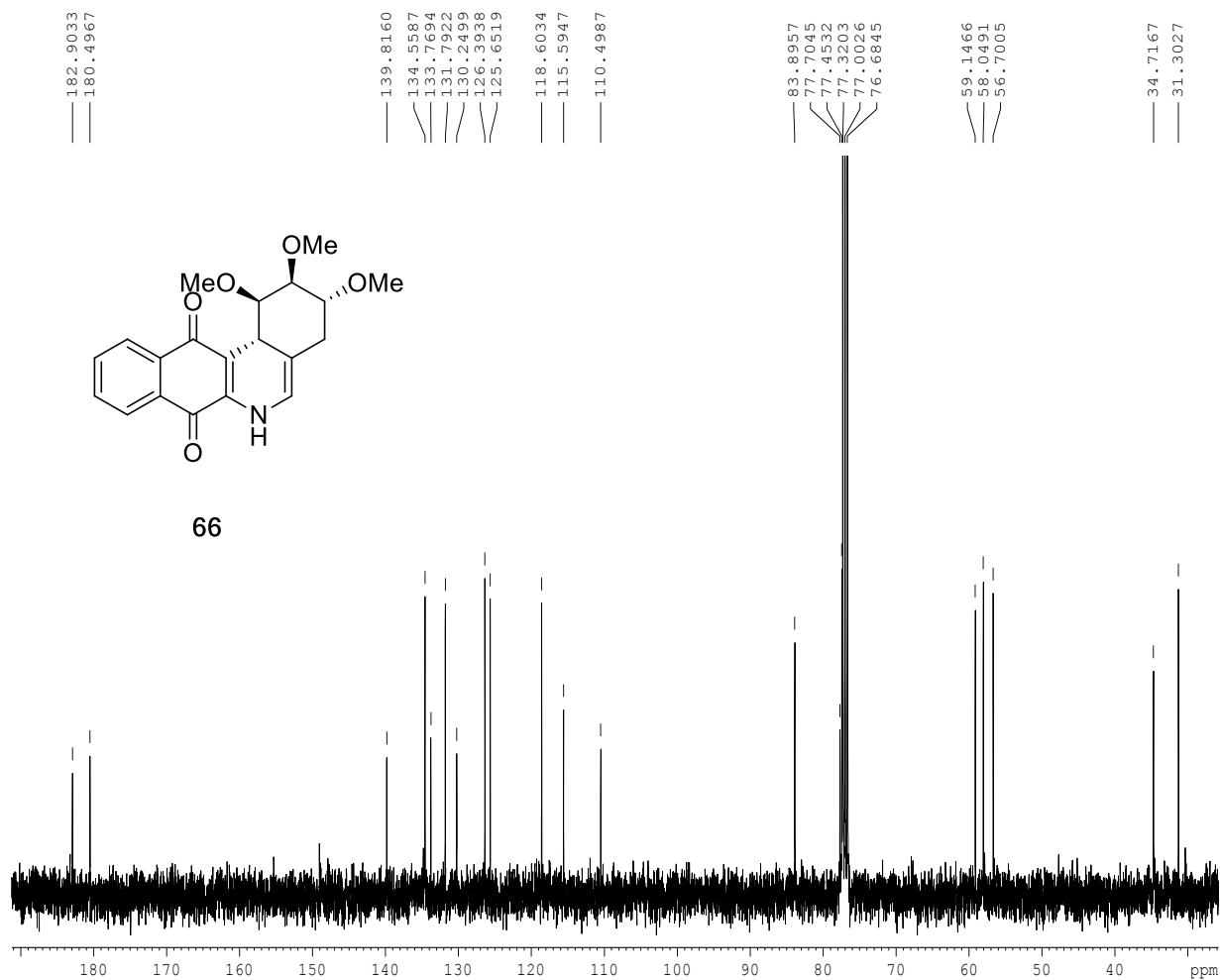
```

NAME          M. Cuellar
EXPNO         291
PROCNO        1
Date_         20170510
Time          9.17
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm BBI 1H-BB
PULPROG       zg30
TD            32768
SOLVENT       CDC13
NS            8
DS            0
SWH           8012.820 Hz
FIDRES        0.244532 Hz
AQ            2.0447731 sec
RG            574.7
DW            62.400 usec
DE            6.00 usec
TE            294.2 K
D1            1.00000000 sec
TD0           1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1           1H
P1             6.50 usec
PL1            0.00 dB
SFO1          400.1338012 MHz
SI            16384
SF            400.1300094 MHz
WDW            no
SSB            0
GB            0.00 Hz
PC            1.00
  
```

Espectro ¹H.

M. Cuellar
EP-101
CDCl₃



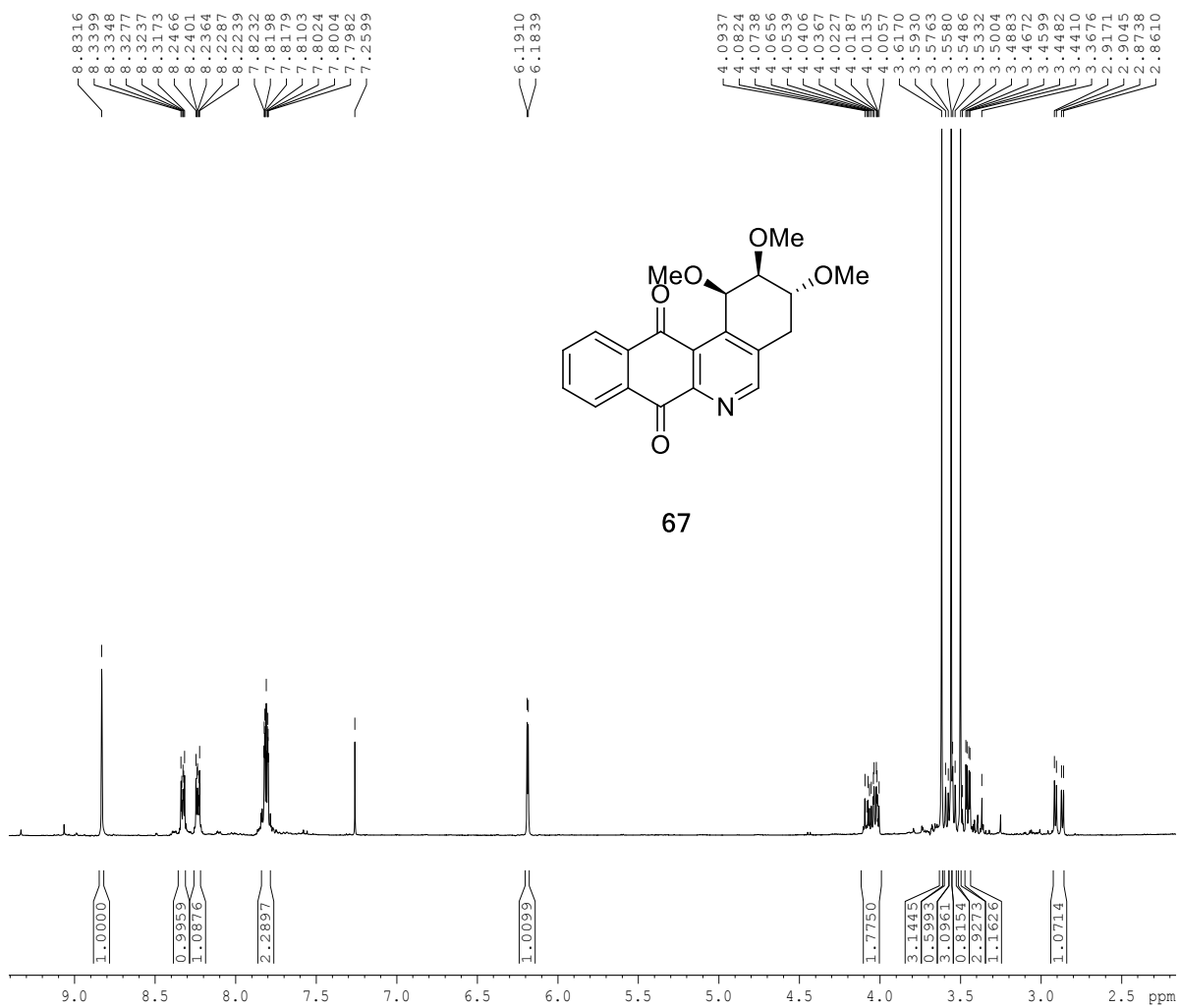
```
NAME      M. Cuellar
EXPNO     293
PROCNO    1
Date_     20170510
Time      9.50
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm BBI 1H-BB
PULPROG   zgpg30
TD        32768
SOLVENT   CDCl3
NS        512
DS        0
SWH       23980.814 Hz
FIDRES    0.731836 Hz
AQ        0.6832628 sec
RG        574.7
DW        20.850 usec
DE        6.00 usec
TE        294.2 K
D1        2.0000000 sec
D11       0.0300000 sec
TD0       1
```

```
===== CHANNEL f1 =====
NUC1      13C
P1        14.00 usec
PL1       -6.00 dB
SFO1     100.6242995 MHz
```

```
===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2   waltz16
NUC2      1H
PCPD2     85.00 usec
PL2       6.00 dB
PL12     23.00 dB
PL13     23.00 dB
SFO2     400.1316005 MHz
SI        32768
SF        100.6127724 MHz
WDW       EM
SSB       0
LB        1.00 Hz
GB        0
PC        1.40
```

Espectro ¹³C.

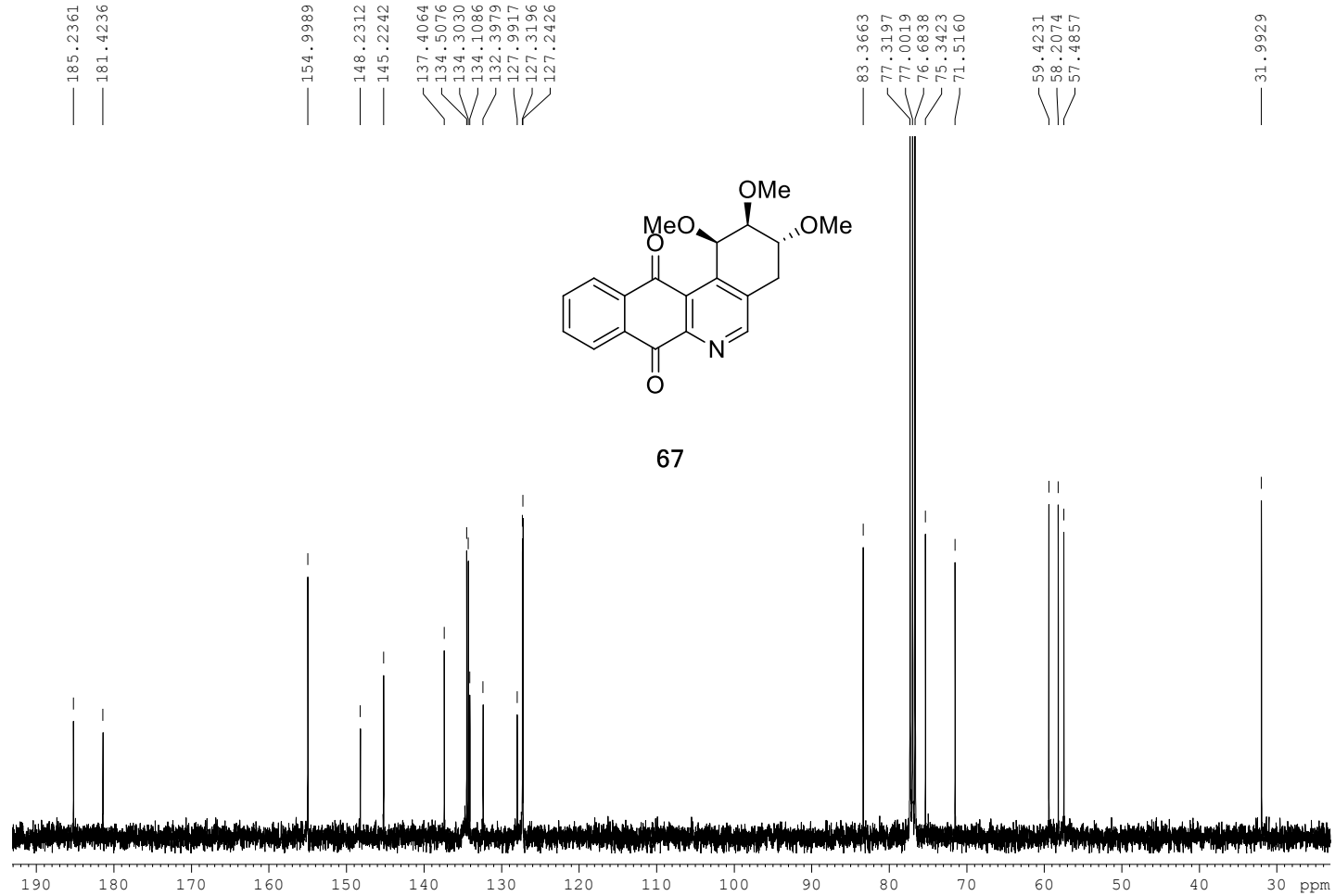
SH-N42
CDC13



NAME Santiago Hernandez
EXPNO 65
PROCNO 1
Date_ 20160407
Time 8.46
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zg30
TD 32768
SOLVENT CDC13
NS 8
DS 0
SWH 8012.820 Hz
FIDRES 0.244532 Hz
AQ 2.0447731 sec
RG 256
DW 62.400 usec
DE 6.00 usec
TE 296.2 K
D1 1.0000000 sec
TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 1H
P1 6.50 usec
PL1 0.00 dB
SF01 400.1338012 MHz
SI 16384
SF 400.1300094 MHz
WDW no
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0
PC 1.00

SH-N42
CDC13

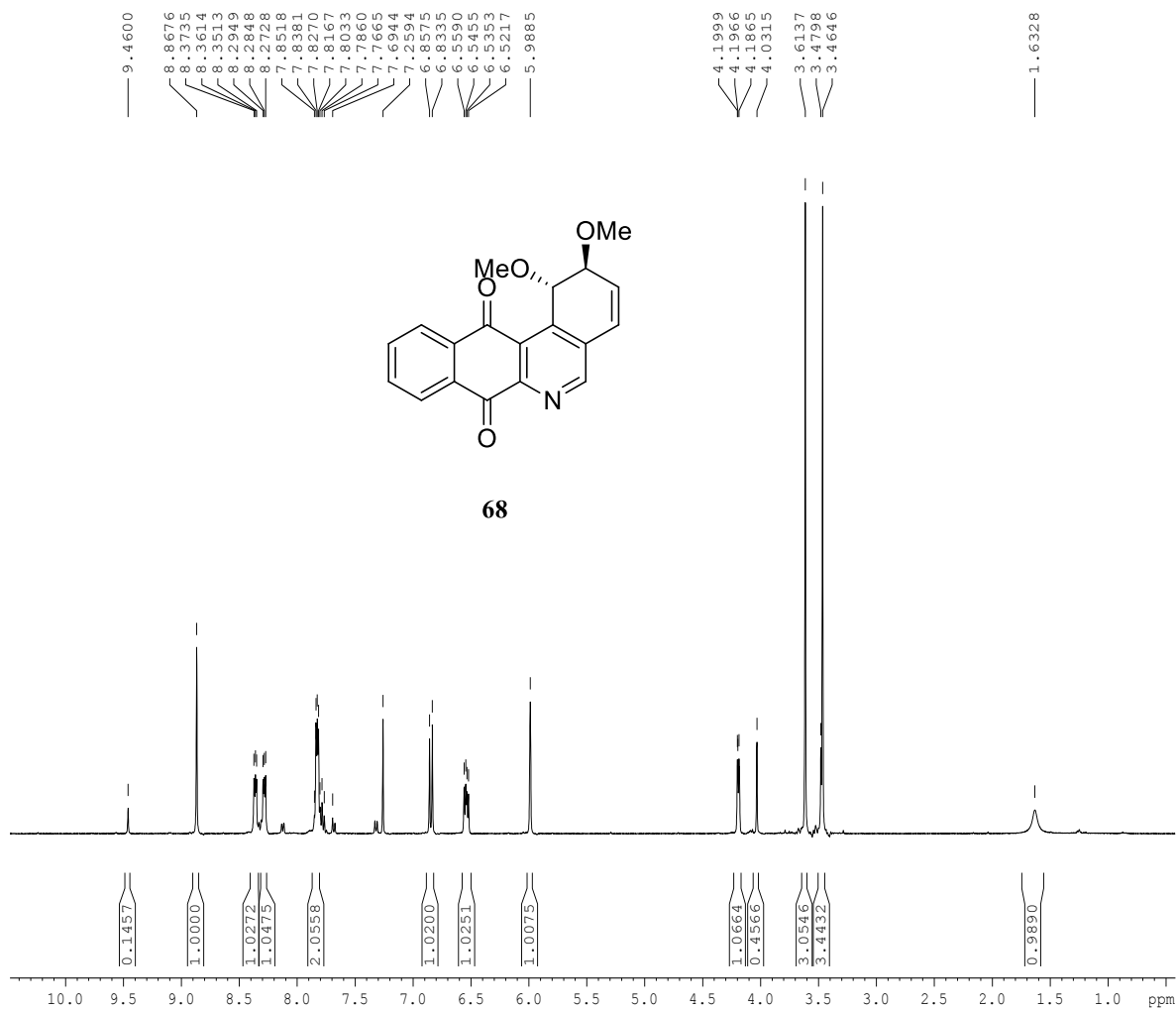


```
NAME Santiago Hernandez
EXPNO 68
PROCNO 1
Date_ 20160411
Time_ 11.13
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT CDC13
NS 512
DS 0
SWH 23980.814 Hz
FIDRES 0.731836 Hz
AQ 0.6832628 sec
RG 574.7
DW 20.850 usec
DE 6.00 usec
TE 296.2 K
D1 2.00000000 sec
D11 0.03000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 14.00 usec
PL1 -6.00 dB
SFO1 100.6242995 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 85.00 usec
PL2 6.00 dB
PL12 23.00 dB
PL13 23.00 dB
SFO2 400.1316005 MHz
SI 32768
SF 100.6127745 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40
```

Naftoquinona 2
CDCl3

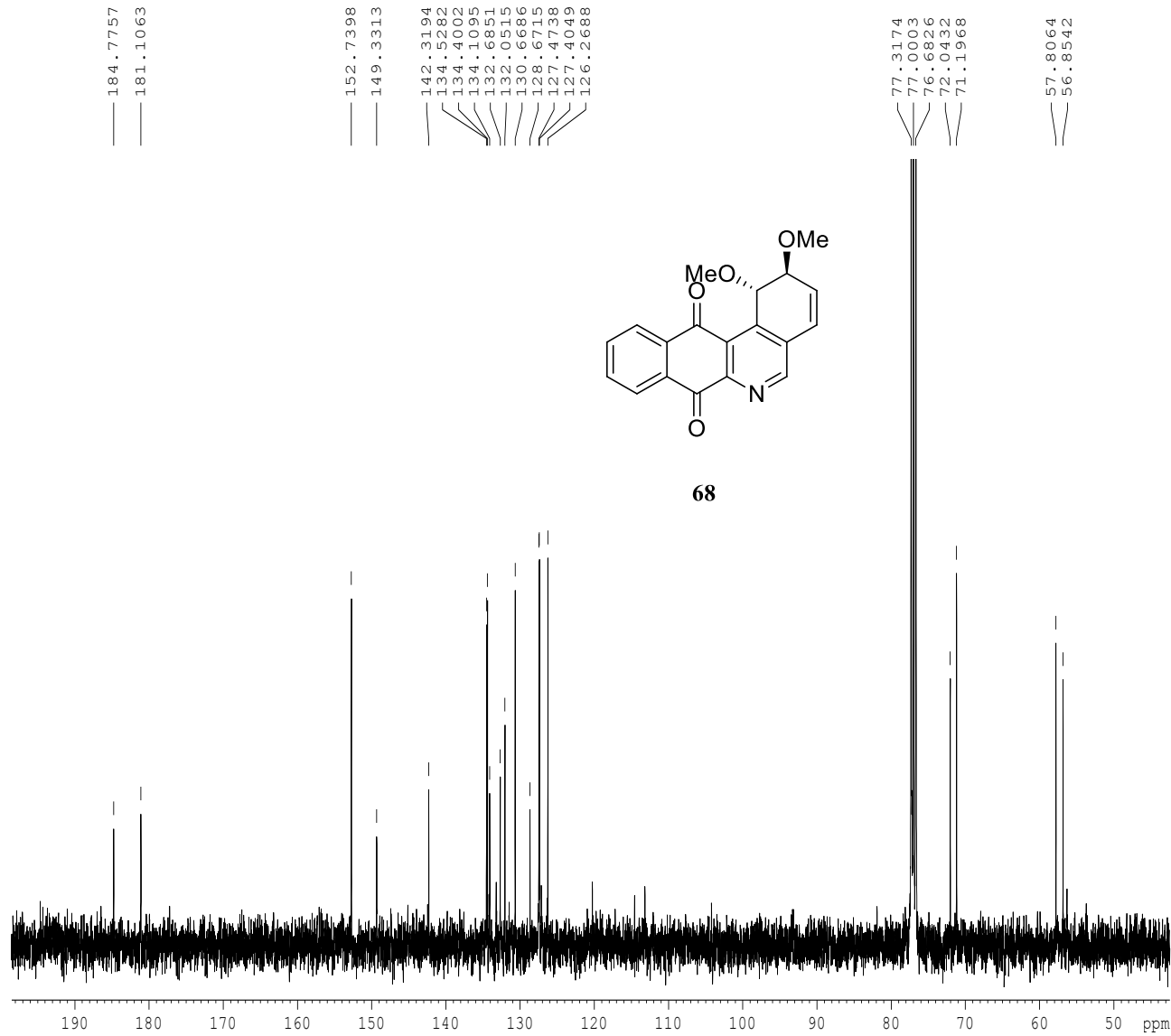


```

NAME Santiago Hernandez
EXPNO 37
PROCNO 1
Date_ 20151103
Time 12.29
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zg30
TD 32768
SOLVENT CDCl3
NS 8
DS 0
SWH 8012.820 Hz
FIDRES 0.244532 Hz
AQ 2.0447731 sec
RG 1024
DW 62.400 usec
DE 6.00 usec
TE 297.2 K
D1 1.00000000 sec
TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 1H
P1 6.50 usec
PL1 0.00 dB
SF01 400.1338012 MHz
SI 16384
SF 400.1300097 MHz
WDW no
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0
PC 1.00
    
```

Naftoquinona 2
CDCl₃



```

NAME      Santiago Hernandez
EXPNO     38
PROCNO    1
Date_     20151103
Time      12.53
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm BBI 1H-BB
PULPROG   zgpg30
TD         32768
SOLVENT   CDCl3
NS         1536
DS         0
SMH       23980.814 Hz
FIDRES    0.731836 Hz
AQ         0.6832628 sec
RG         574.7
DW         20.850 usec
DE         6.00 usec
TE         297.2 K
D1         2.00000000 sec
D11        0.03000000 sec
TD0        1
    
```

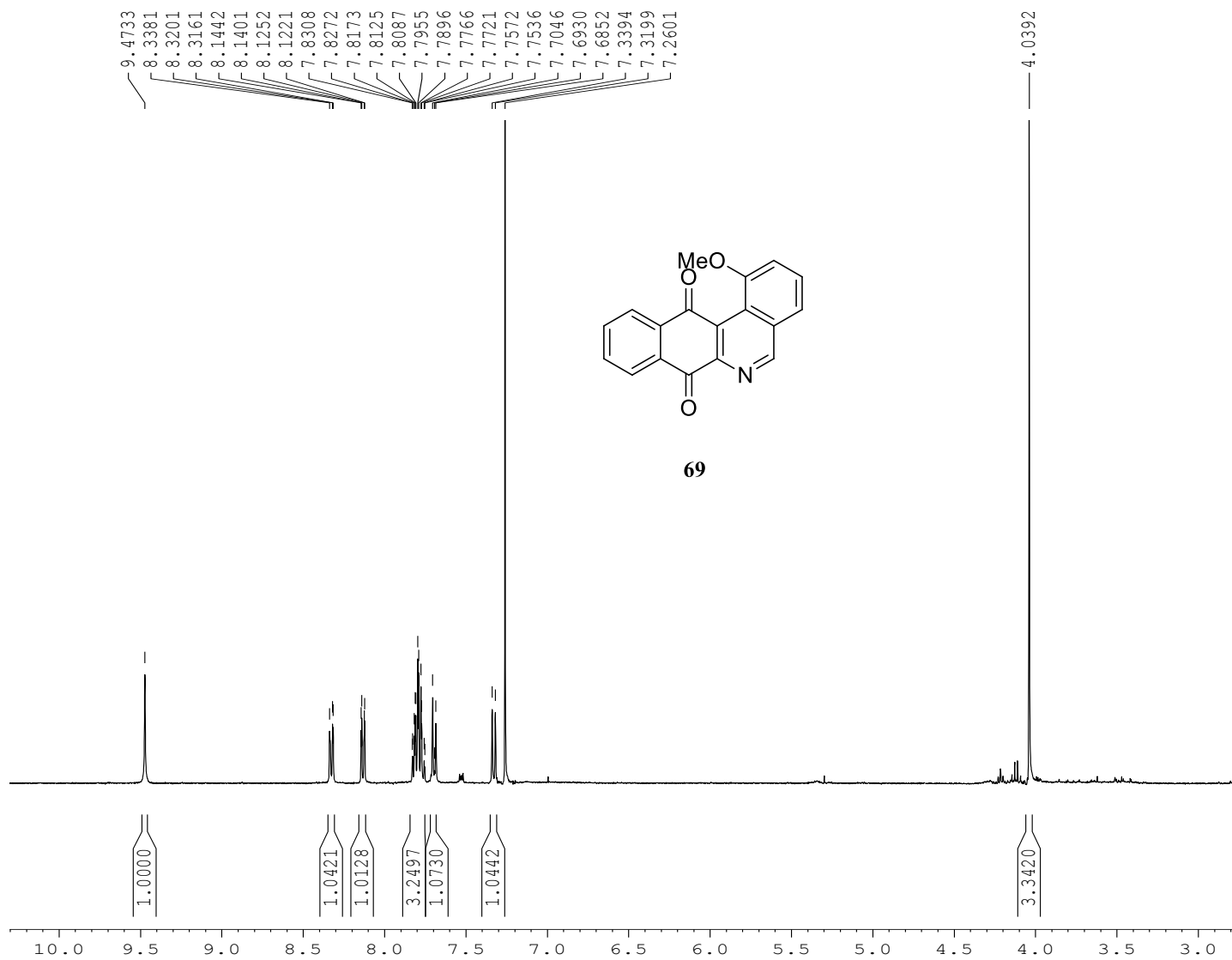
```

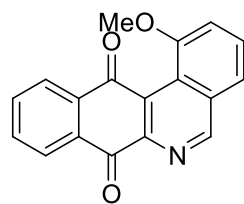
===== CHANNEL f1 =====
NUC1      13C
P1        14.00 usec
PL1       -6.00 dB
SFO1     100.6242995 MHz
    
```

```

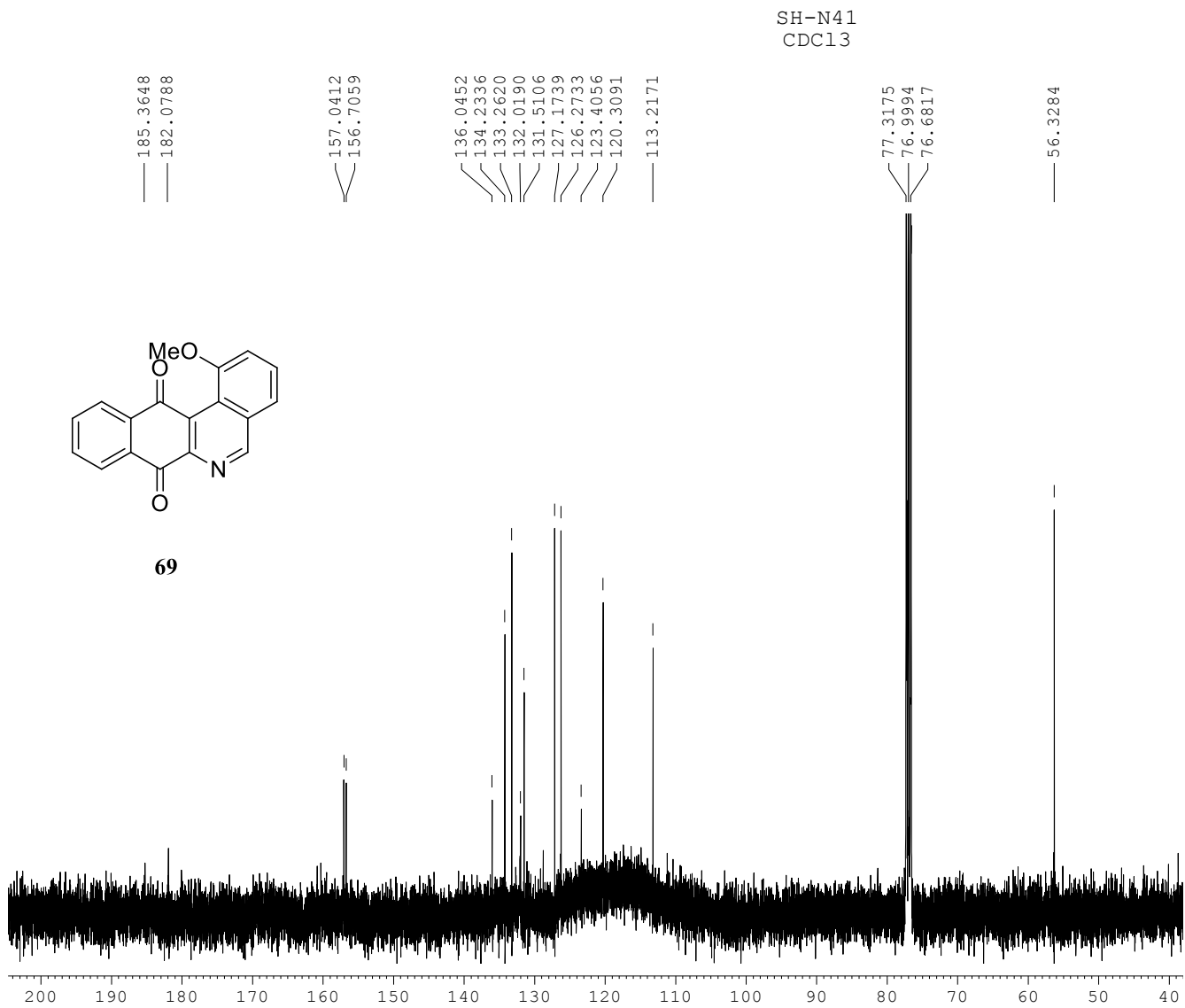
===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2   waltz16
NUC2      1H
PCPD2     85.00 usec
PL2       6.00 dB
PL12      23.00 dB
PL13      23.00 dB
SFO2     400.1316005 MHz
SI        32768
SF        100.6127709 MHz
WDW       EM
SSB       0
LB        1.00 Hz
GB        0
PC        1.40
    
```

SH-N41
CDC13

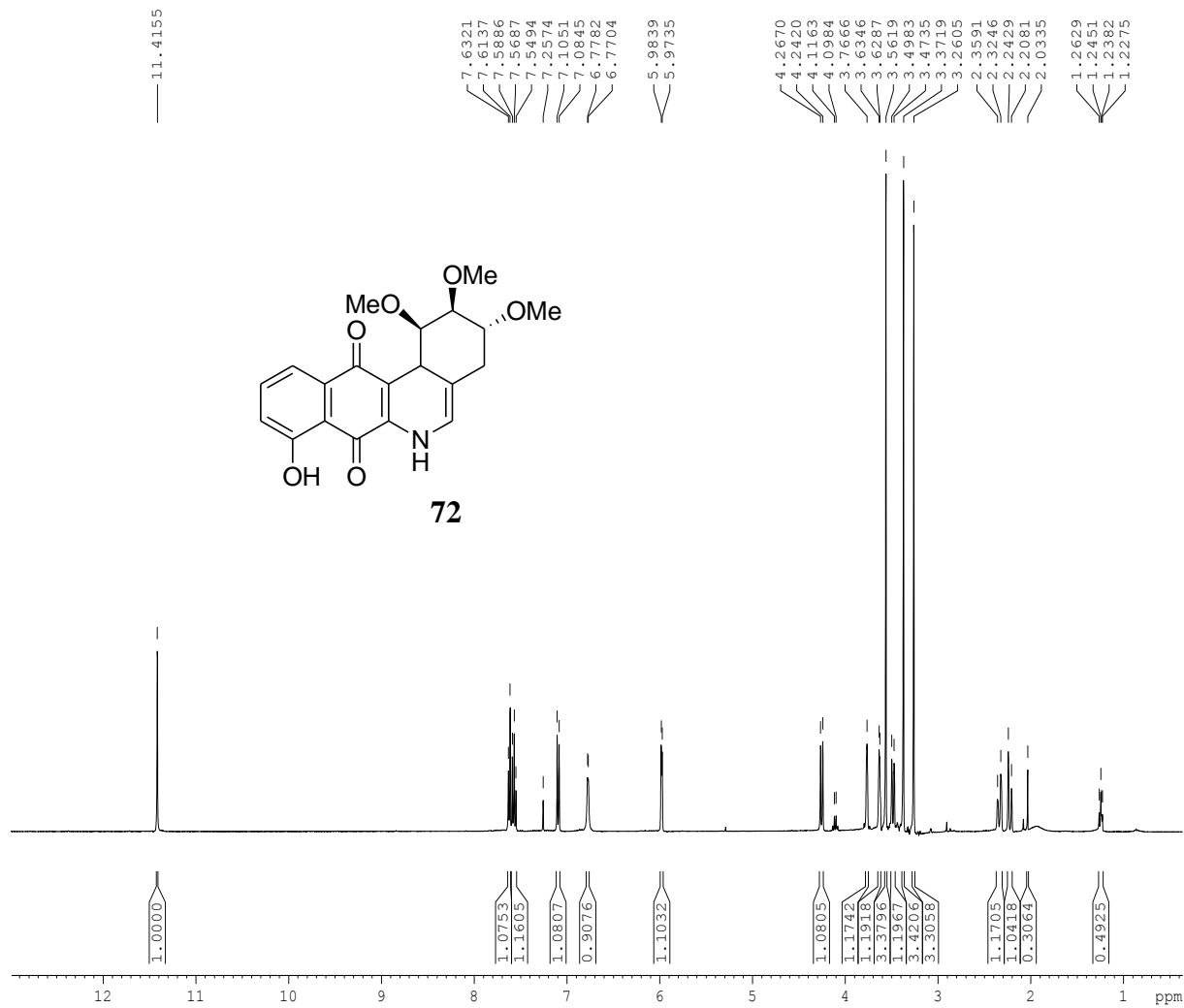




69



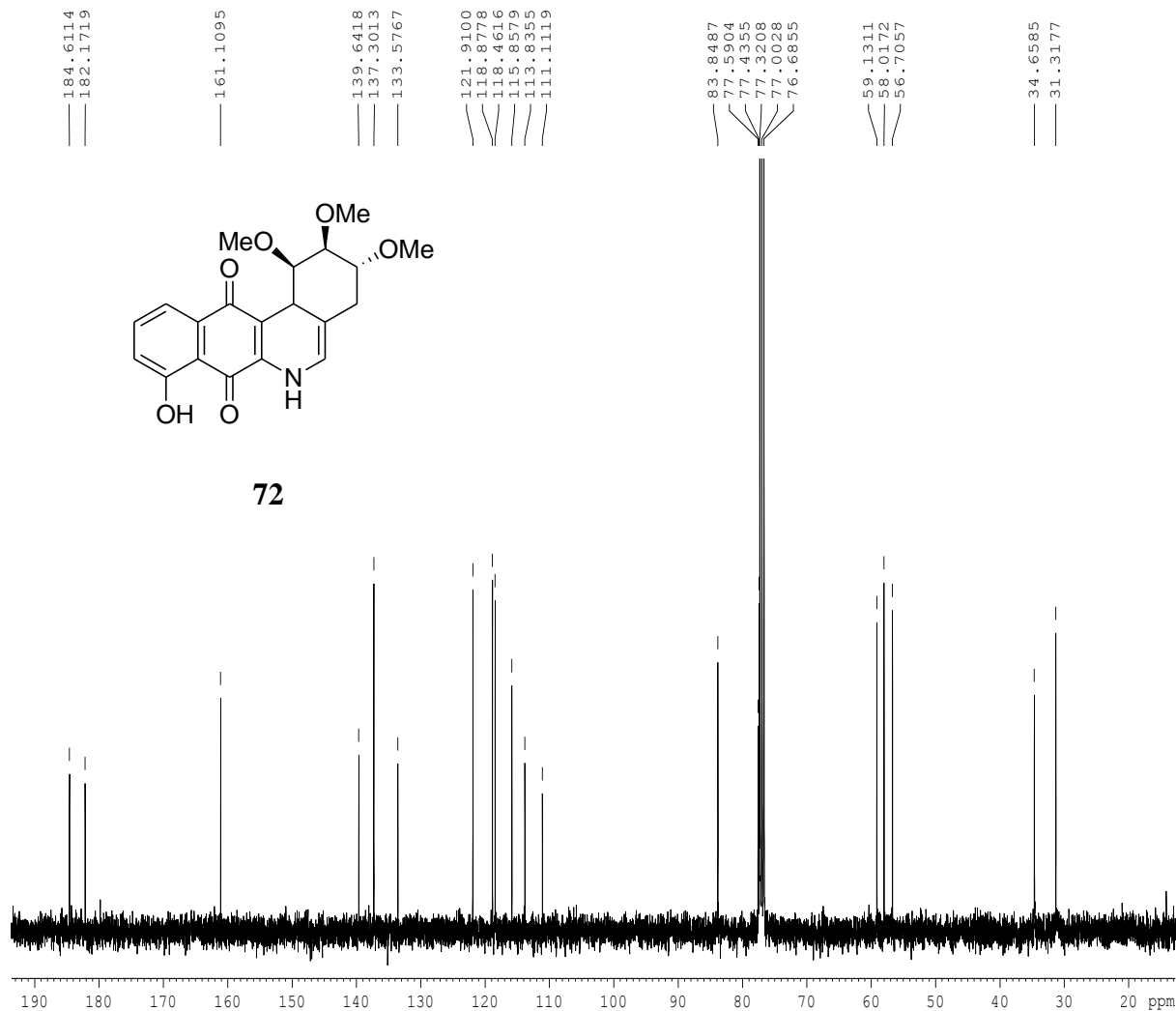
Juglona 2
CDCl3



NAME Santiago Hernandez
 EXPNO 28
 PROCNO 1
 Date_ 20151014
 Time_ 16.32
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
 PULPROG zg30
 TD 32768
 SOLVENT CDCl3
 NS 8
 DS 0
 SWH 8012.820 Hz
 FIDRES 0.244532 Hz
 AQ 2.0447731 sec
 RG 322.5
 DW 62.400 usec
 DE 6.00 usec
 TE 294.2 K
 D1 1.00000000 sec
 TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 1H
 P1 6.50 usec
 PL1 0.00 dB
 SFO1 400.1338012 MHz
 SI 16384
 SF 400.1300103 MHz
 WDW no
 SSB 0
 LB 0.00 Hz
 GB 0
 PC 1.00

Juglona 2
CDC13



```

NAME      Santiago Hernandez
EXPNO     32
PROCNO    1
Date_     20151015
Time_     10.30
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm BBI 1H-BB
PULPROG   zgpg30
TD         32768
SOLVENT   CDC13
NS         512
DS         0
SWH        23980.814 Hz
FIDRES     0.731836 Hz
AQ         0.6832628 sec
RG         574.7
DW         20.850 usec
DE         6.00 usec
TE         295.2 K
D1         2.00000000 sec
D11        0.03000000 sec
TDO        1
  
```

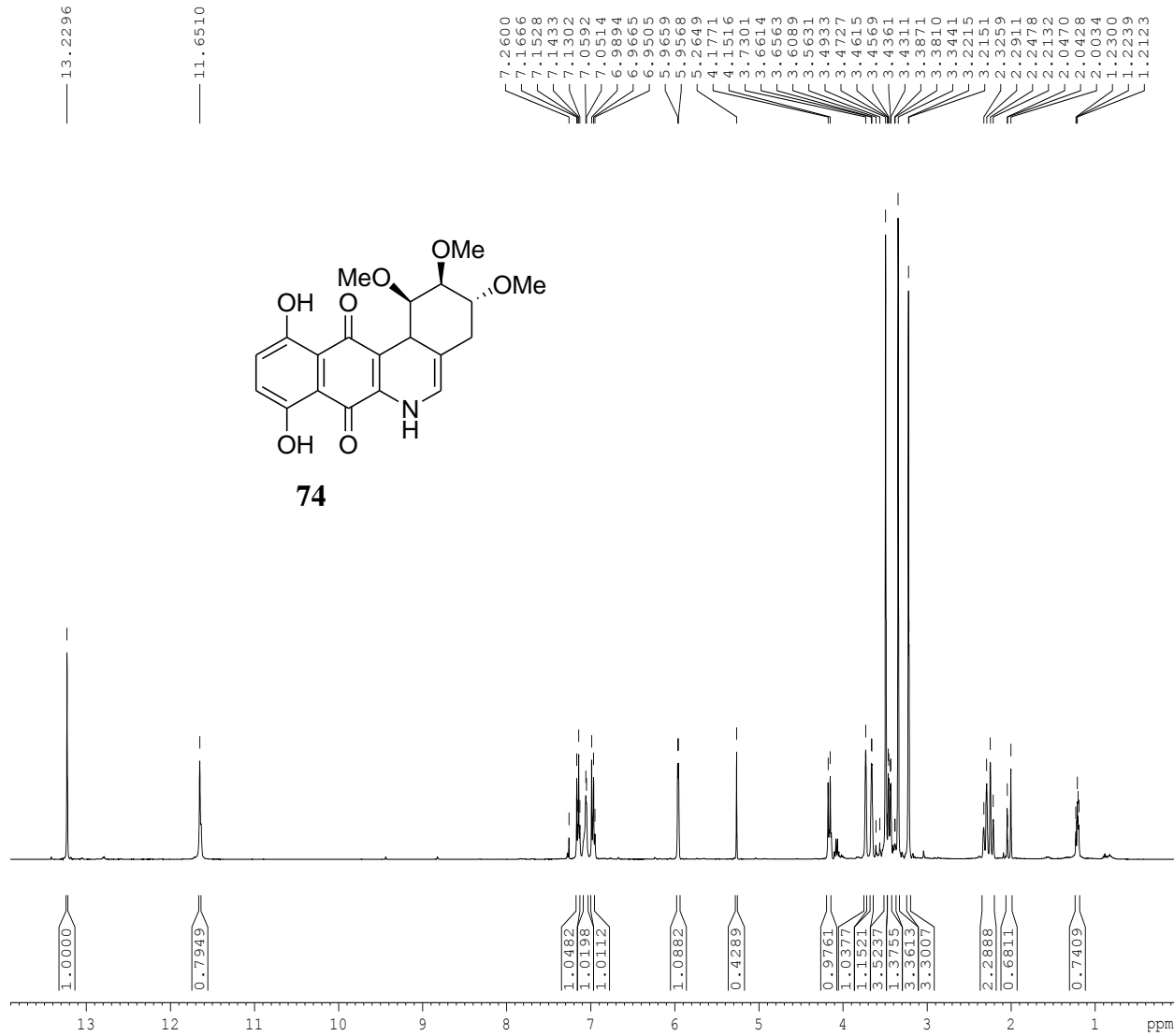
```

===== CHANNEL f1 =====
NUC1      13C
P1        14.00 usec
PL1       -6.00 dB
SFO1     100.6242995 MHz
  
```

```

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2   waltz16
NUC2      1H
PCPD2     85.00 usec
PL2        6.00 dB
PL12      23.00 dB
PL13      23.00 dB
SFO2     400.1316005 MHz
SI        32768
SF        100.6127733 MHz
WDW        EM
SSB        0
LB         1.00 Hz
GB         0
PC         1.40
  
```

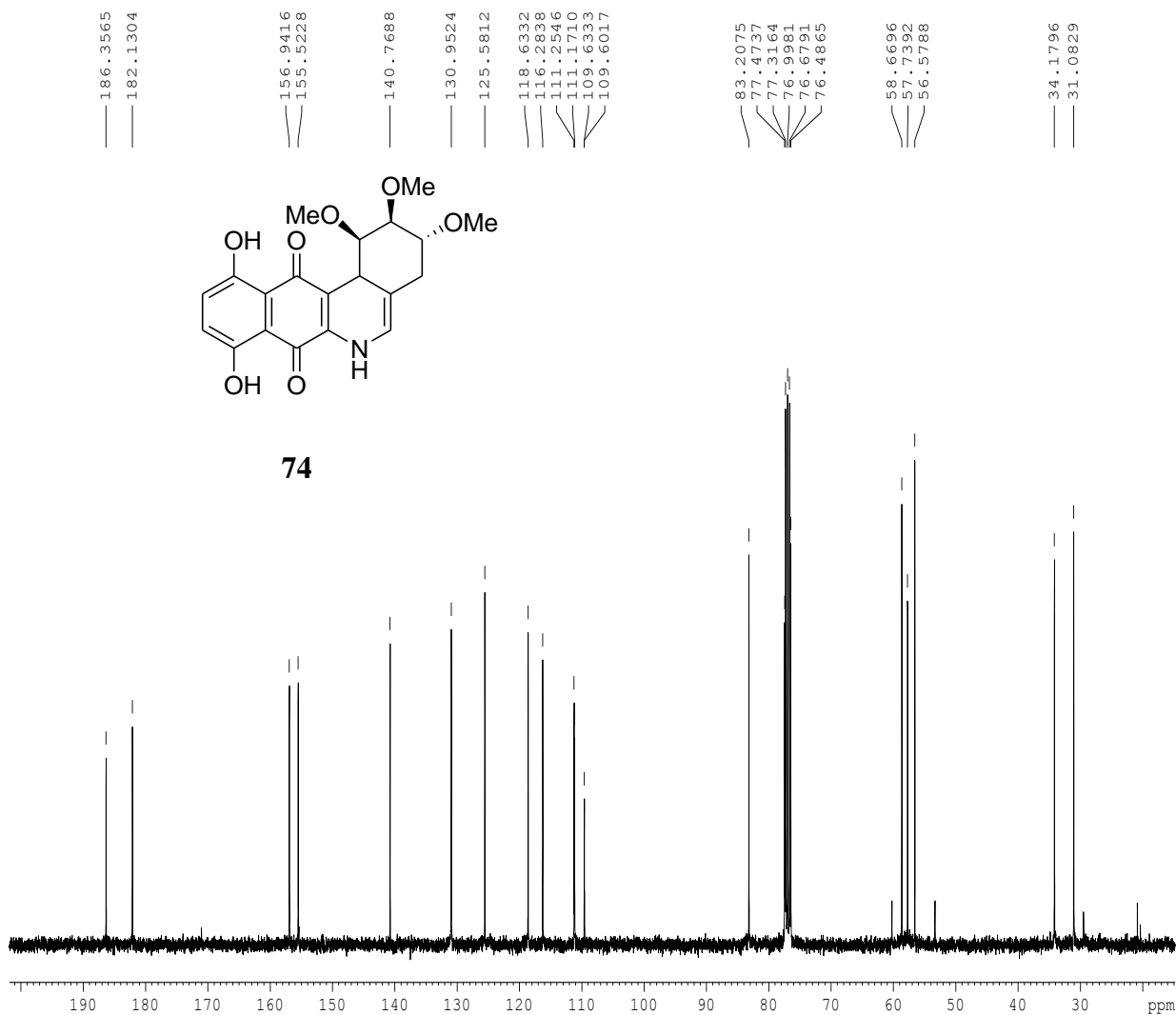
Naftazarina 2
CDC13



NAME Santiago Hernandez
 EXPNO 33
 PROCNO 1
 Date 20151015
 Time 10.36
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
 PULPROG zg30
 TD 32768
 SOLVENT CDC13
 NS 8
 DS 0
 SWH 8012.820 Hz
 FIDRES 0.244532 Hz
 AQ 2.0447731 sec
 RG 114
 DW 62.400 usec
 DE 6.00 usec
 TE 295.2 K
 D1 1.00000000 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 1H
 P1 6.50 usec
 PL1 0.00 dB
 SFO1 400.1338012 MHz
 SI 16384
 SF 400.1300093 MHz
 WDW no
 SSB 0
 LB 0.00 Hz
 GB 0
 PC 1.00

Naftazarina 2
CDC13



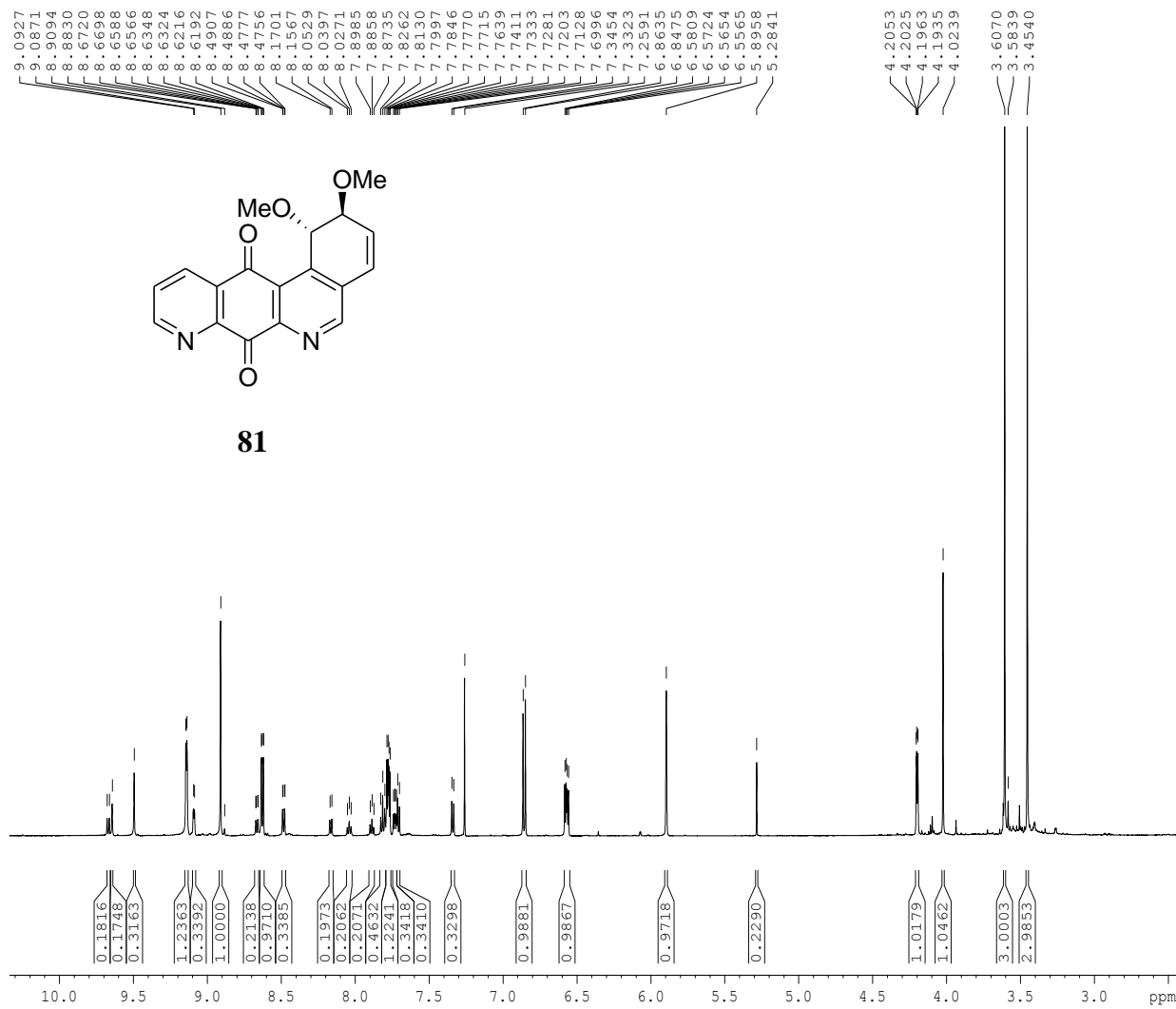
NAME Santiago Hernandez
 EXPNO 34
 PROCNO 1
 Date_ 20151015
 Time_ 11.01
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
 PULPROG zgpg30
 TD 32768
 SOLVENT CDCl3
 NS 512
 DS 0
 SWH 23980.814 Hz
 FIDRES 0.731836 Hz
 AQ 0.6832628 sec
 RG 512
 DW 20.850 usec
 DE 6.00 usec
 TE 295.2 K
 D1 2.00000000 sec
 D11 0.03000000 sec
 TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 13C
 P1 14.00 usec
 PL1 -6.00 dB
 SFO1 100.6242995 MHz

===== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 1H
 PCPD2 85.00 usec
 PL2 6.00 dB
 PL12 23.00 dB
 PL13 23.00 dB
 SFO2 400.1316005 MHz
 SI 32768
 SF 100.6127836 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40

74

LE-MC2

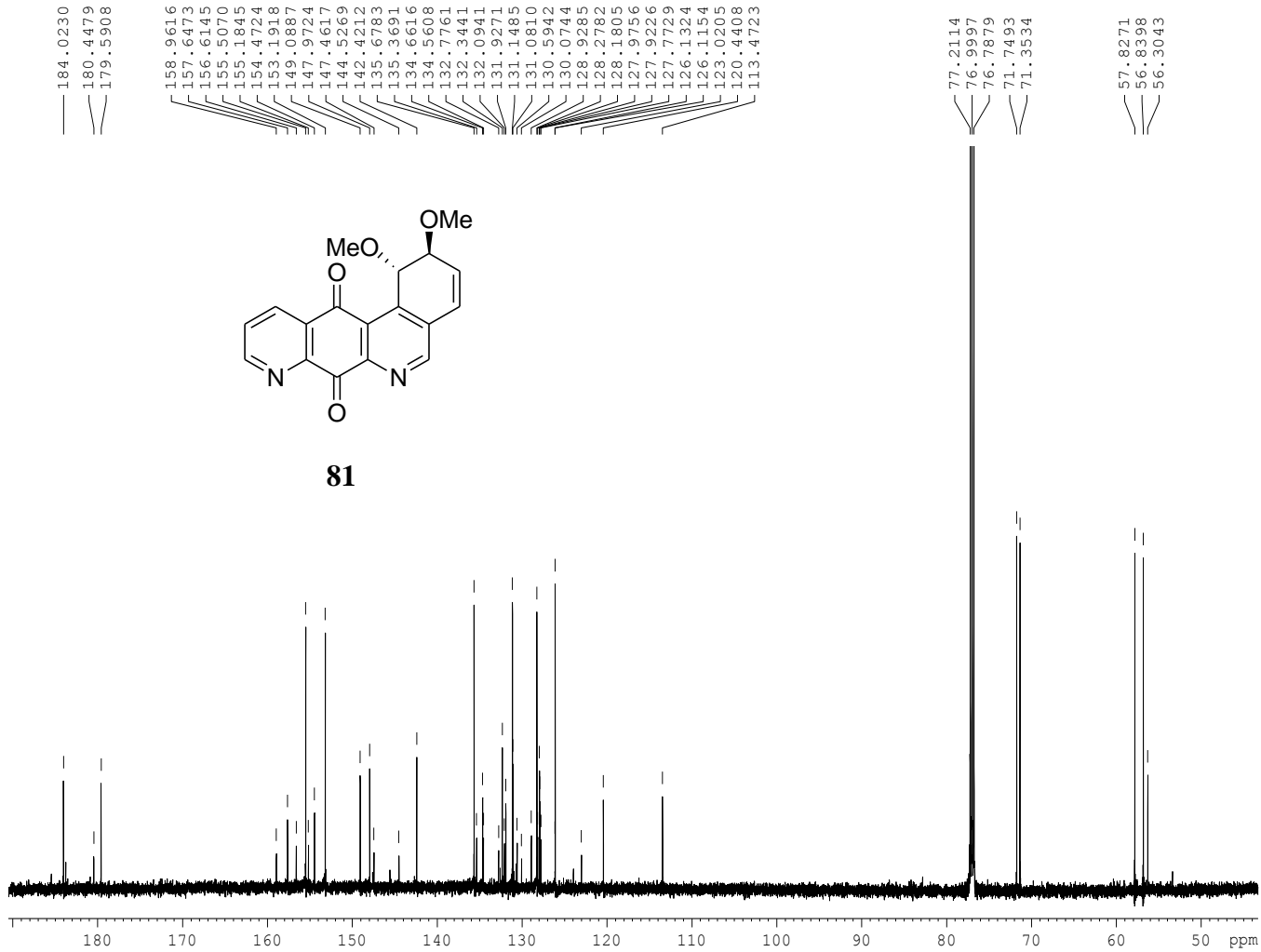


```

NAME          le-mc2
EXPNO         1
PROCNO        1
Date_         20171122
Time          7.19
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm CPTCI 1H-
PULPROG       zg30
TD            32768
SOLVENT       CDCl3
NS            8
DS            2
SWH           12019.230 Hz
FIDRES        0.366798 Hz
AQ            1.3631988 sec
RG            12.7
DW            41.600 usec
DE            20.00 usec
TE            300.0 K
D1            1.00000000 sec
TD0           1

===== CHANNEL f1 =====
SF01          600.2330011 MHz
NUC1          1H
P1            6.60 usec
SI            65536
SF            600.2300150 MHz
WDW           no
SSB           0
LB            0.00 Hz
GB            0
PC            1.00
    
```

LE-MC2

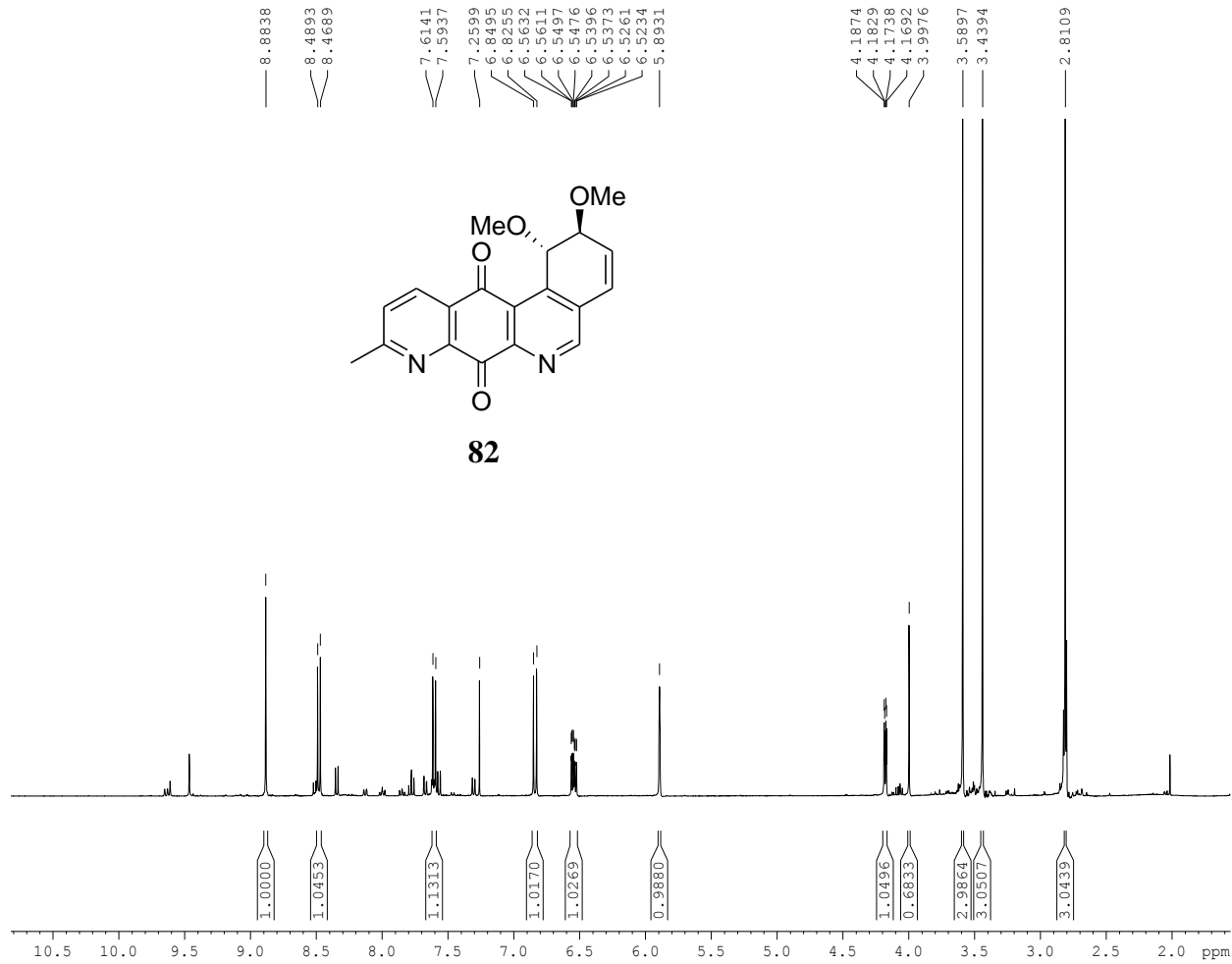


```

NAME          le-mc2
EXPNO         2
PROCNO        1
Date_         20171122
Time_         7.31
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm CPTCI 1H-
PULPROG       jagzgd30
TD            32768
SOLVENT       CDC13
NS            268
DS            0
SWH           34722.223 Hz
FIDRES        1.059638 Hz
AQ            0.4719092 sec
RG            1290
DW            14.400 usec
DE            15.00 usec
TE            300.0 K
D1            1.50000000 sec
D11           0.03000000 sec

===== CHANNEL f1 =====
SFO1          150.9445561 MHz
NUC1           13C
P1             9.50 usec
SI            131072
SF            150.9279599 MHz
WDW            EM
SSB            0
LB             0.30 Hz
GB             0
PC             1.40
  
```

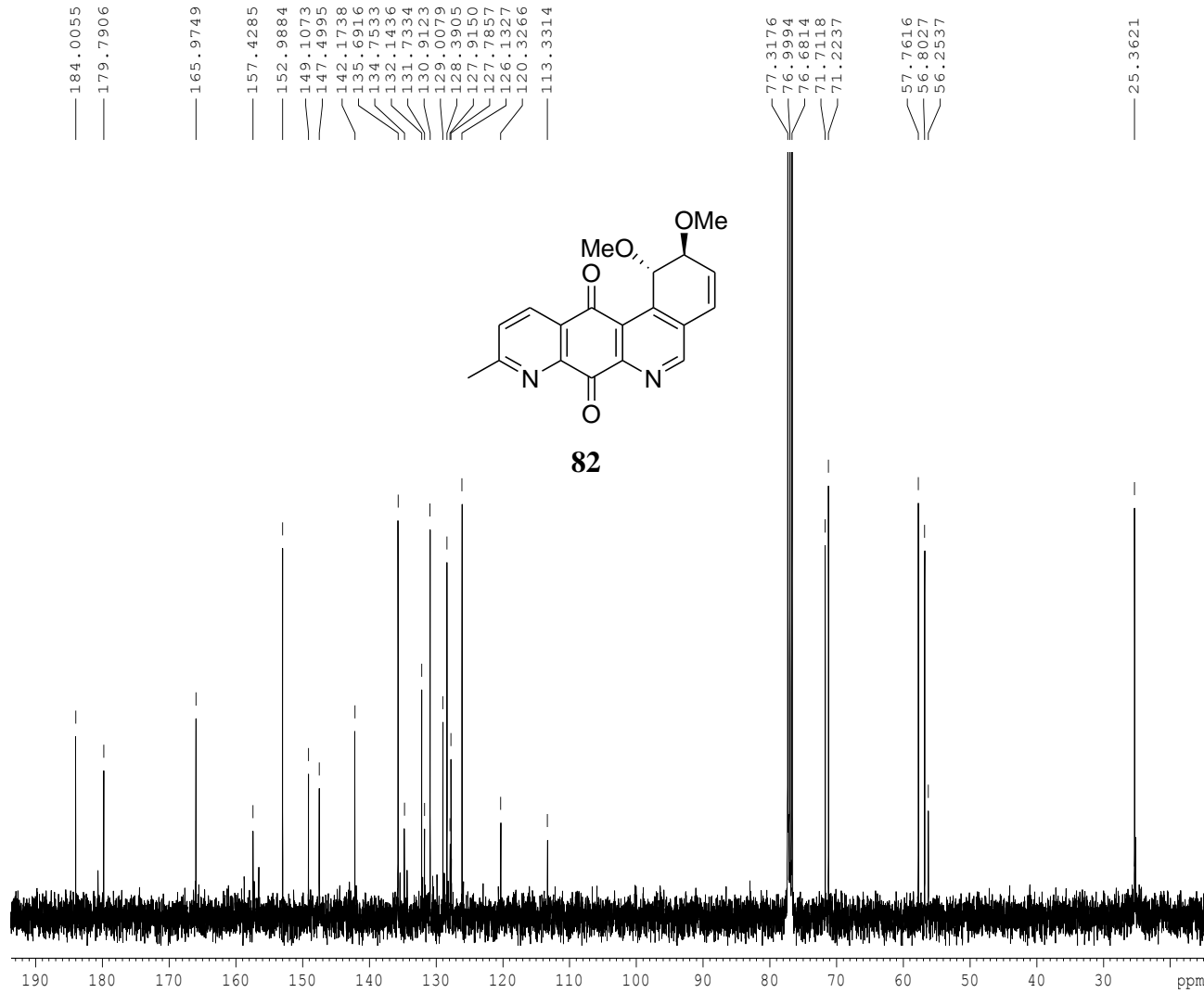
M. Cuellar
EP-109
CDC13



```
NAME M. Cuellar
EXPNO 311
PROCNO 1
Date_ 20170705
Time_ 15.07
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zg30
TD 32768
SOLVENT CDC13
NS 8
DS 0
SWH 8012.820 Hz
FIDRES 0.244532 Hz
AQ 2.0447731 sec
RG 362
DW 62.400 usec
DE 6.00 usec
TE 293.2 K
D1 1.00000000 sec
TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 1H
P1 6.50 usec
PL1 0.00 dB
SFO1 400.1338012 MHz
SI 16384
SF 400.1300094 MHz
WDW no
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0
PC 1.00
```

M. Cuellar
EP-109
CDCl₃

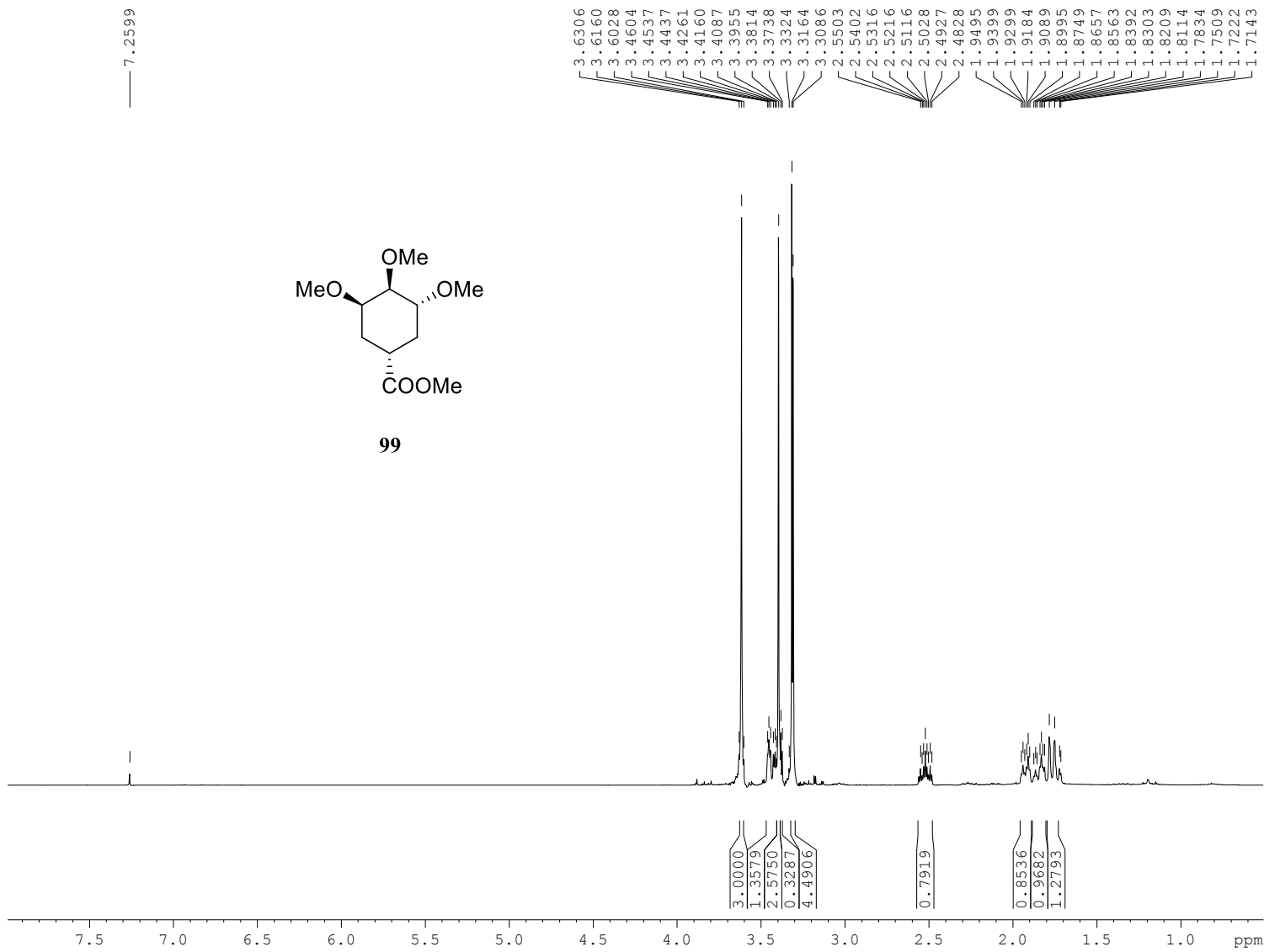
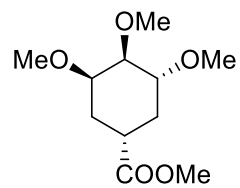


```
NAME M. Cuellar
EXPNO 312
PROCNO 1
Date_ 20170705
Time 15.33
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT CDCl3
NS 512
DS 0
SWH 23980.814 Hz
FIDRES 0.731836 Hz
AQ 0.6832628 sec
RG 574.7
DW 20.850 usec
DE 6.00 usec
TE 294.2 K
D1 2.00000000 sec
D11 0.03000000 sec
TDO 1

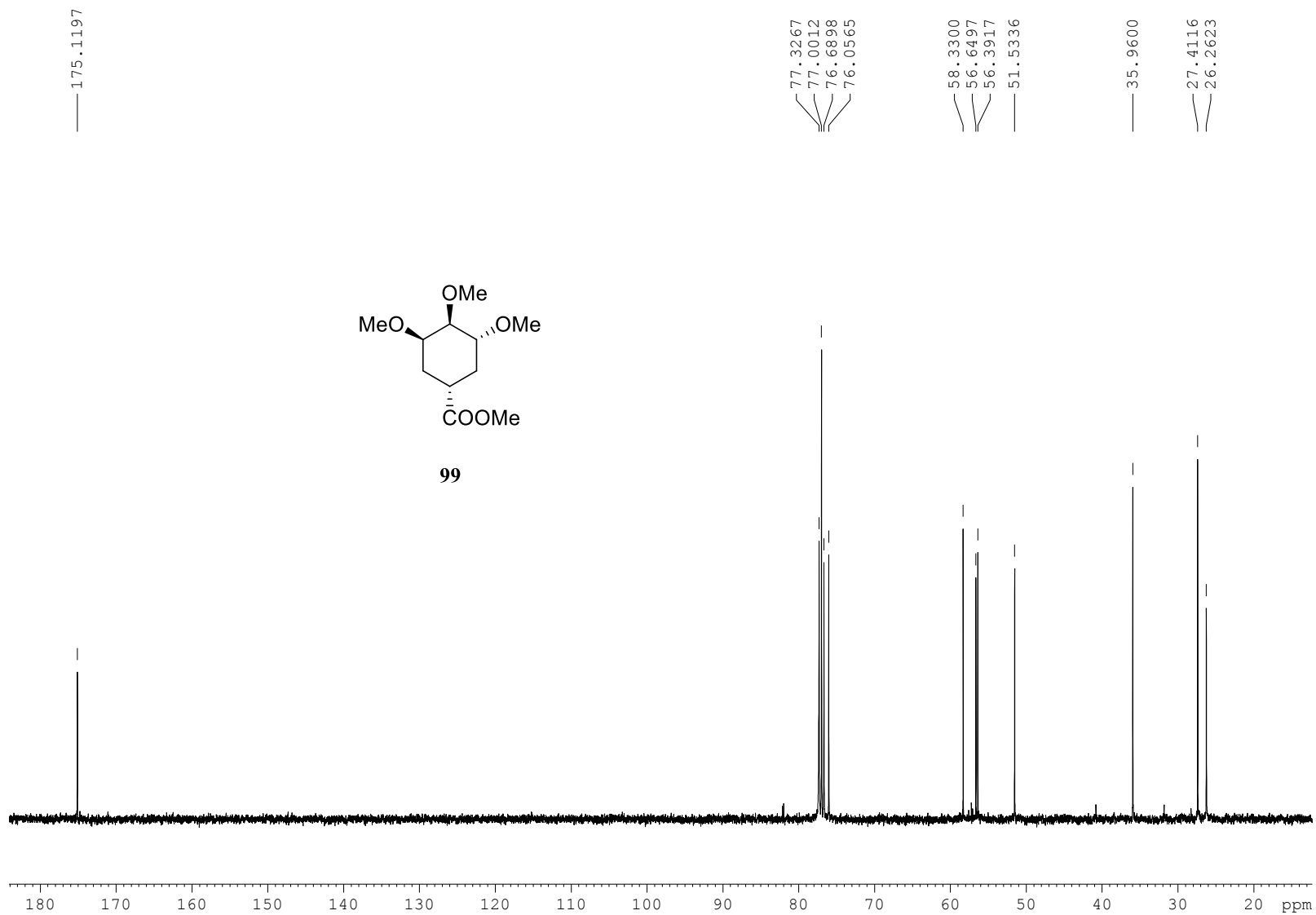
===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 14.00 usec
PL1 -6.00 dB
SFO1 100.6242995 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 85.00 usec
PL2 6.00 dB
PL12 23.00 dB
PL13 23.00 dB
SFO2 400.1316005 MHz
SI 32768
SF 100.6127764 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40
```

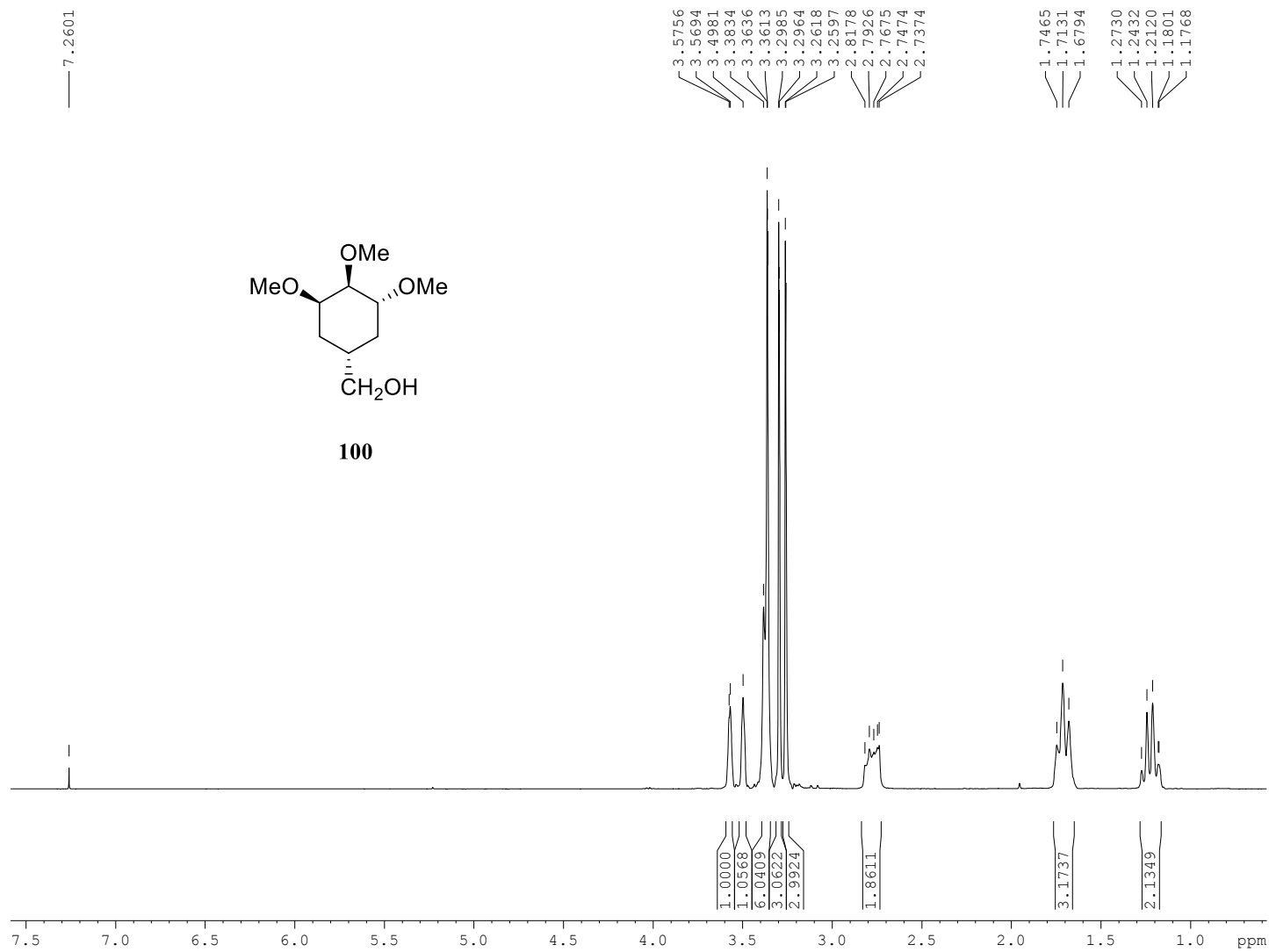
7.2599



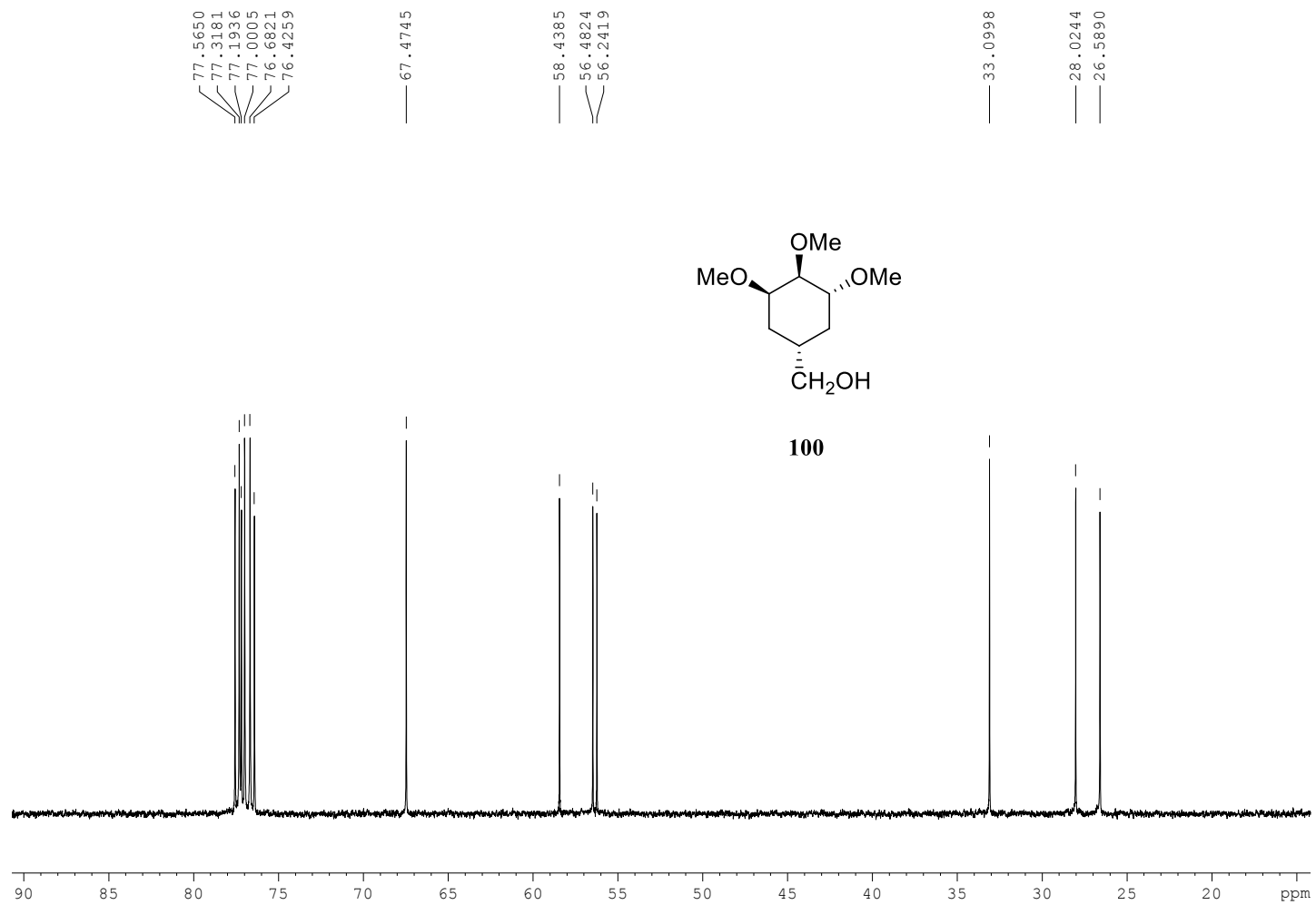
Espectro ^1H .



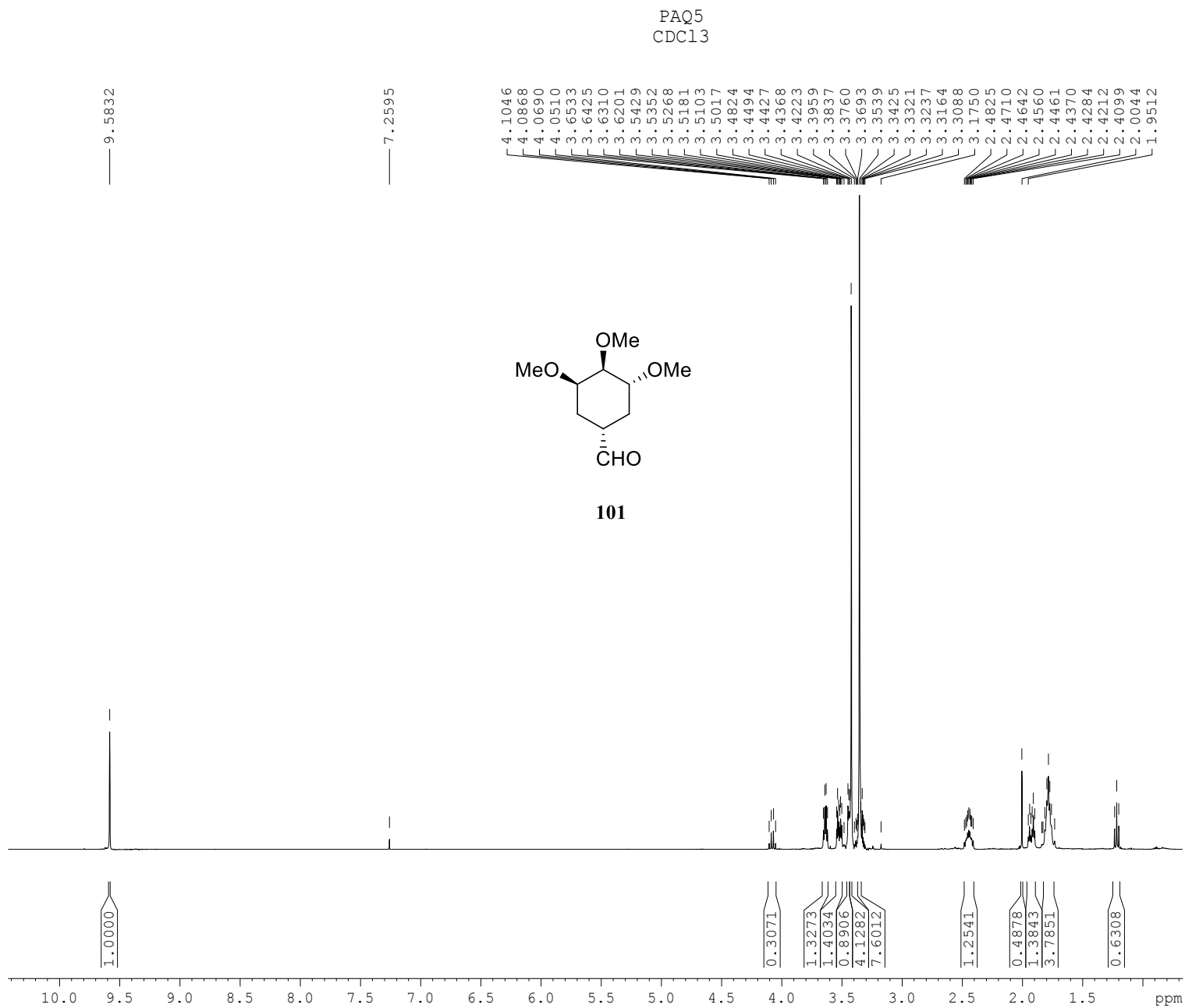
Espectro ^{13}C .



Espectro ^1H .



Espectro ^{13}C .

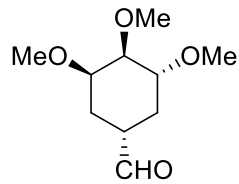


NAME Santiago Hernandez
 EXPNO 182
 PROCNO 1
 Date 20170727
 Time 12.10
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
 PULPROG zg30
 TD 32768
 SOLVENT CDC13
 NS 8
 DS 0
 SWH 8012.820 Hz
 FIDRES 0.244532 Hz
 AQ 2.0447731 sec
 RG 90.5
 DW 62.400 usec
 DE 6.00 usec
 TE 294.2 K
 D1 1.00000000 sec
 TD0 1

==== CHANNEL f1 =====
 NUC1 1H
 P1 6.50 usec
 PL1 0.00 dB
 SFO1 400.1338012 MHz
 SI 16384
 SF 400.1300092 MHz
 WDW no
 SSB 0
 LB 0.00 Hz
 GB 0
 PC 1.00

PAQ5
CDC13

— 202.9444



101

78.5243
77.3171
76.9992
76.9177
76.6809
76.0028
75.8518
60.2933
58.3986
56.9525
56.6663
56.4799

— 43.5696

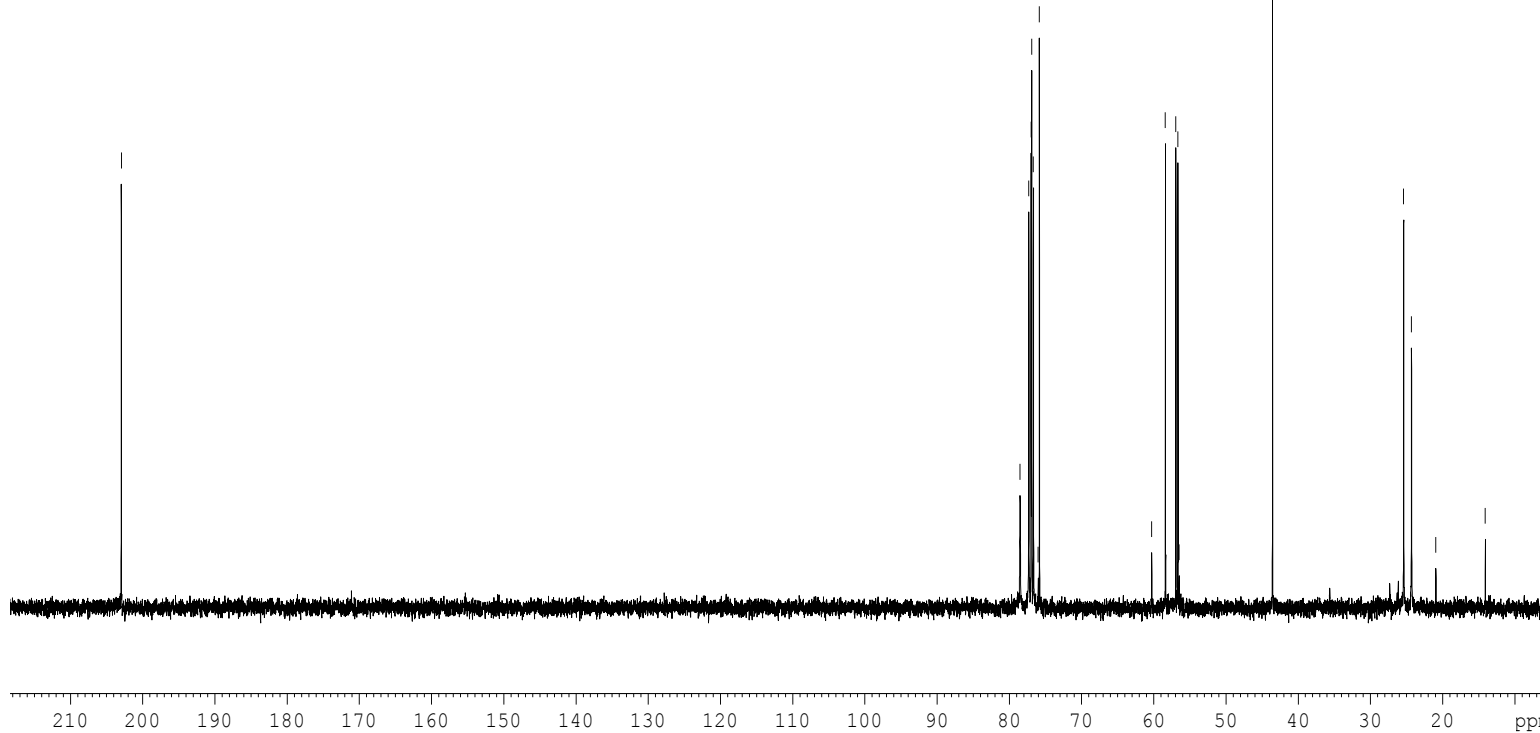
25.4041
24.3230
20.9401

— 14.0960

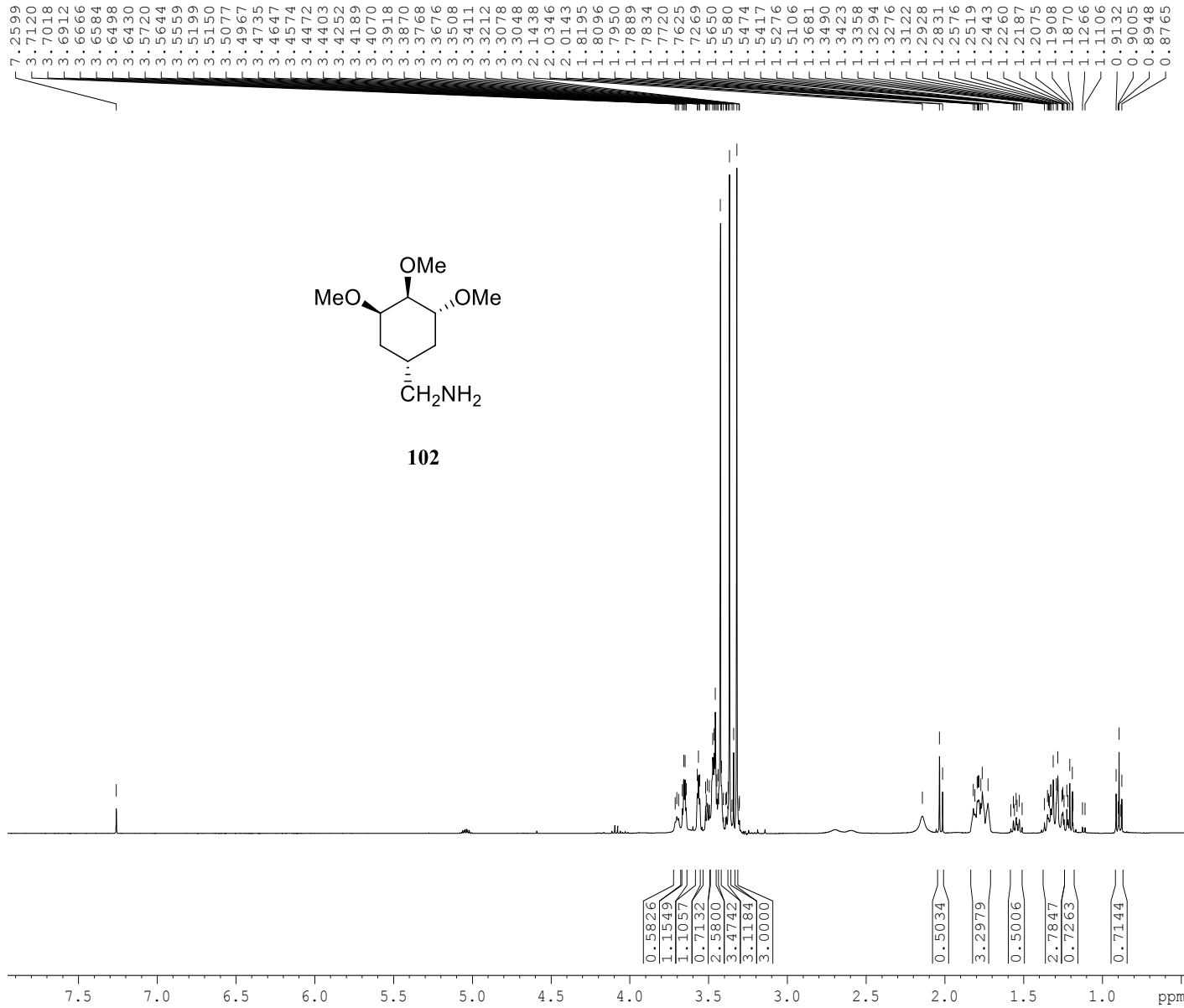
NAME Santiago Hernandez
EXPNO 185
PROCNO 1
Date_ 20170727
Time_ 13.43
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT CDC13
NS 512
DS 0
SWH 23980.814 Hz
FIDRES 0.731836 Hz
AQ 0.6832628 sec
RG 181
DW 20.850 usec
DE 6.00 usec
TE 294.2 K
D1 2.00000000 sec
D11 0.03000000 sec
TD0 1

==== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 14.00 usec
PL1 -6.00 dB
SFO1 100.6242995 MHz

==== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 85.00 usec
PL2 6.00 dB
PL12 23.00 dB
PL13 23.00 dB
SFO2 400.1316005 MHz
SI 32768
SF 100.6127748 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40



PAQ6
CDC13



NAME Santiago Hernandez
EXPNO 188
PROCNO 1
Date_ 20170728
Time 11.43
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zg30
TD 32768
SOLVENT CDC13
NS 8
DS 0
SWH 8012.820 Hz
FIDRES 0.244532 Hz
AQ 2.0447731 sec
RG 128
DW 62.400 usec
DE 6.00 usec
TE 294.2 K
D1 1.00000000 sec
TD0 1

=====
CHANNEL f1
NUC1 1H
P1 6.50 usec
PL1 0.00 dB
SFO1 400.1338012 MHz
SI 16384
SF 400.1300093 MHz
WDW no
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0
PC 1.00

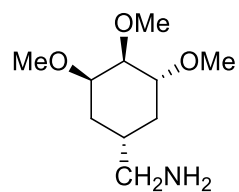
PAQ6
CDC13

77.5687
77.3186
77.2151
77.0001
76.6822
74.9499
71.5830
71.0490
69.2392
67.4649

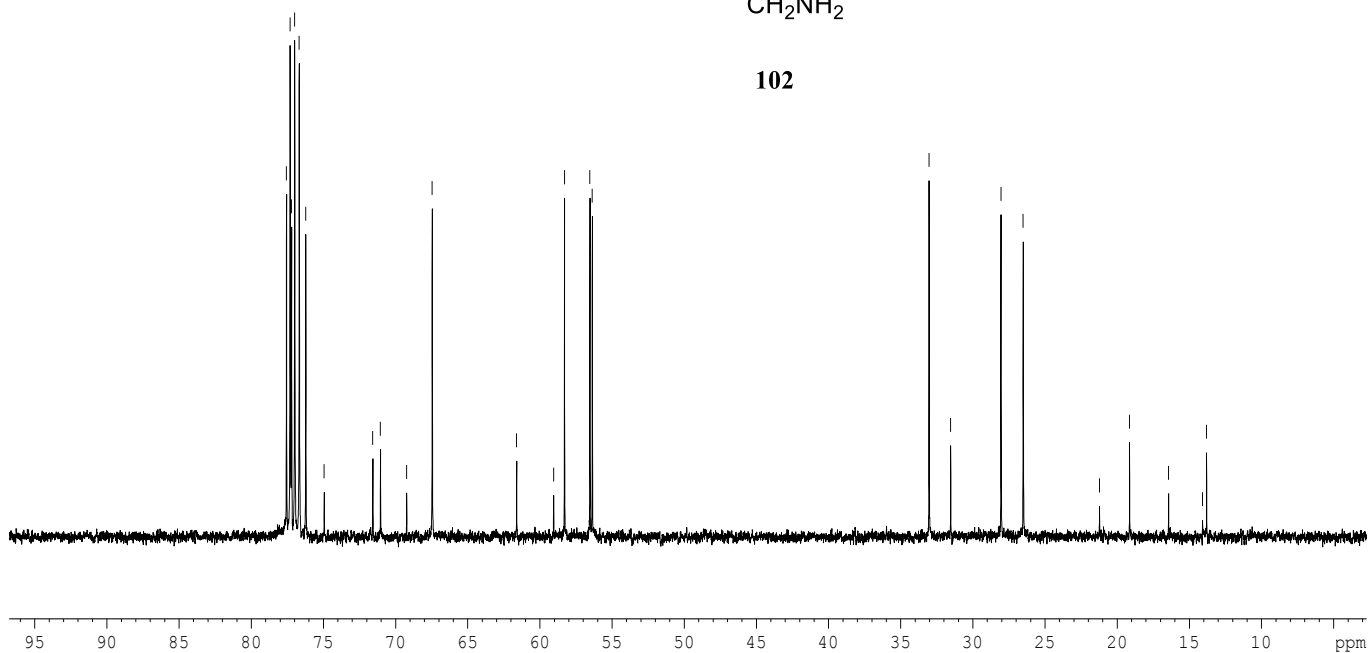
61.6163
59.0512
58.3002
56.5365
56.3727

33.0385
31.5446
28.0576
26.5171

21.2302
19.1432
16.4415
14.0891
13.8112



102

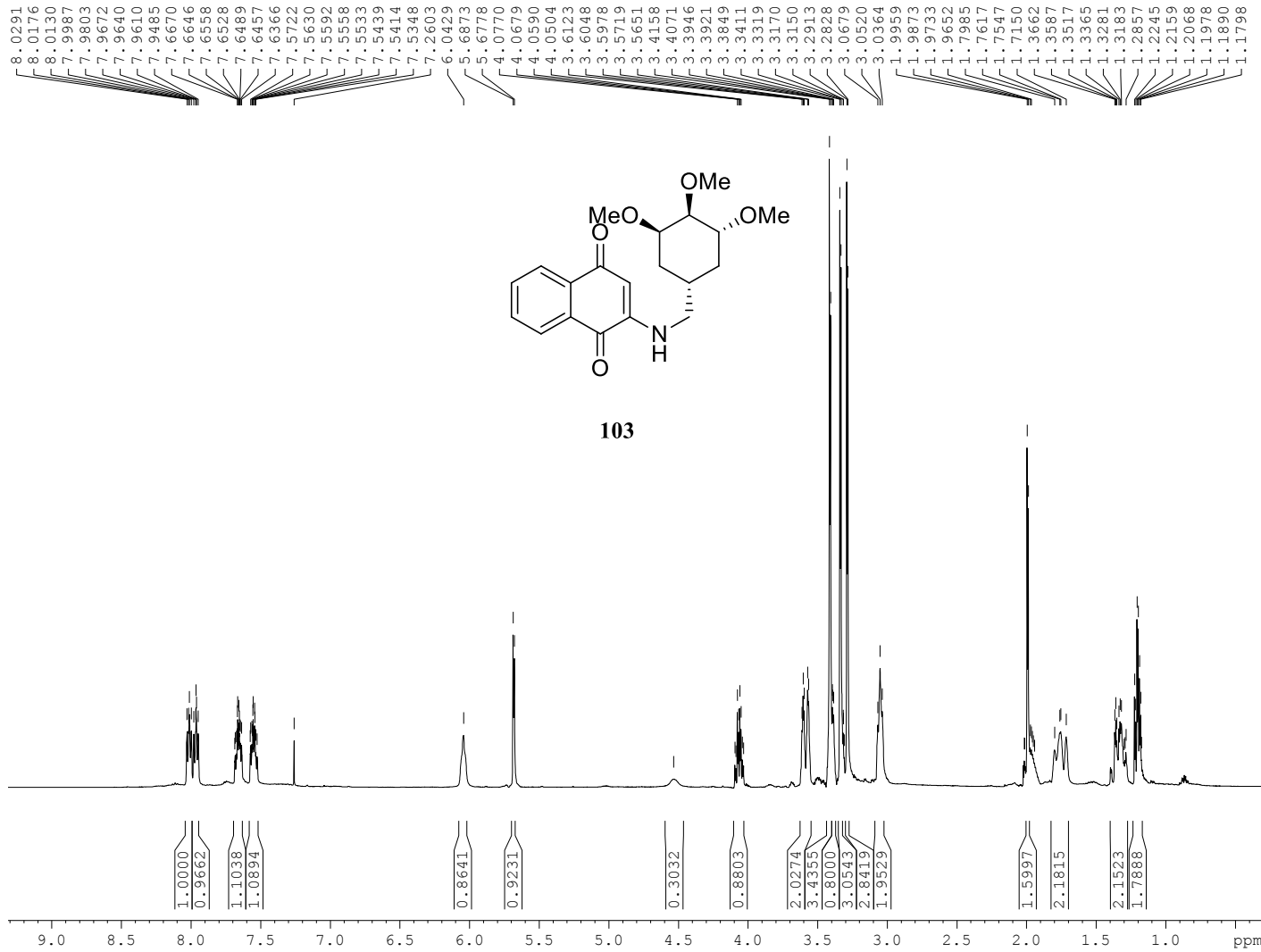


NAME Santiago Hernandez
EXPNO 189
PROCNO 1
Date_ 20170801
Time 10.12
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT CDC13
NS 512
DS 0
SWH 23980.814 Hz
FIDRES 0.731836 Hz
AQ 0.6832628 sec
RG 512
DW 20.850 usec
DE 6.00 usec
TE 294.2 K
D1 2.00000000 sec
D11 0.03000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 14.00 usec
PL1 -6.00 dB
SFO1 100.6242995 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 85.00 usec
PL2 6.00 dB
PL12 23.00 dB
PL13 23.00 dB
SFO2 400.1316005 MHz
SI 32768
SF 100.6127757 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40

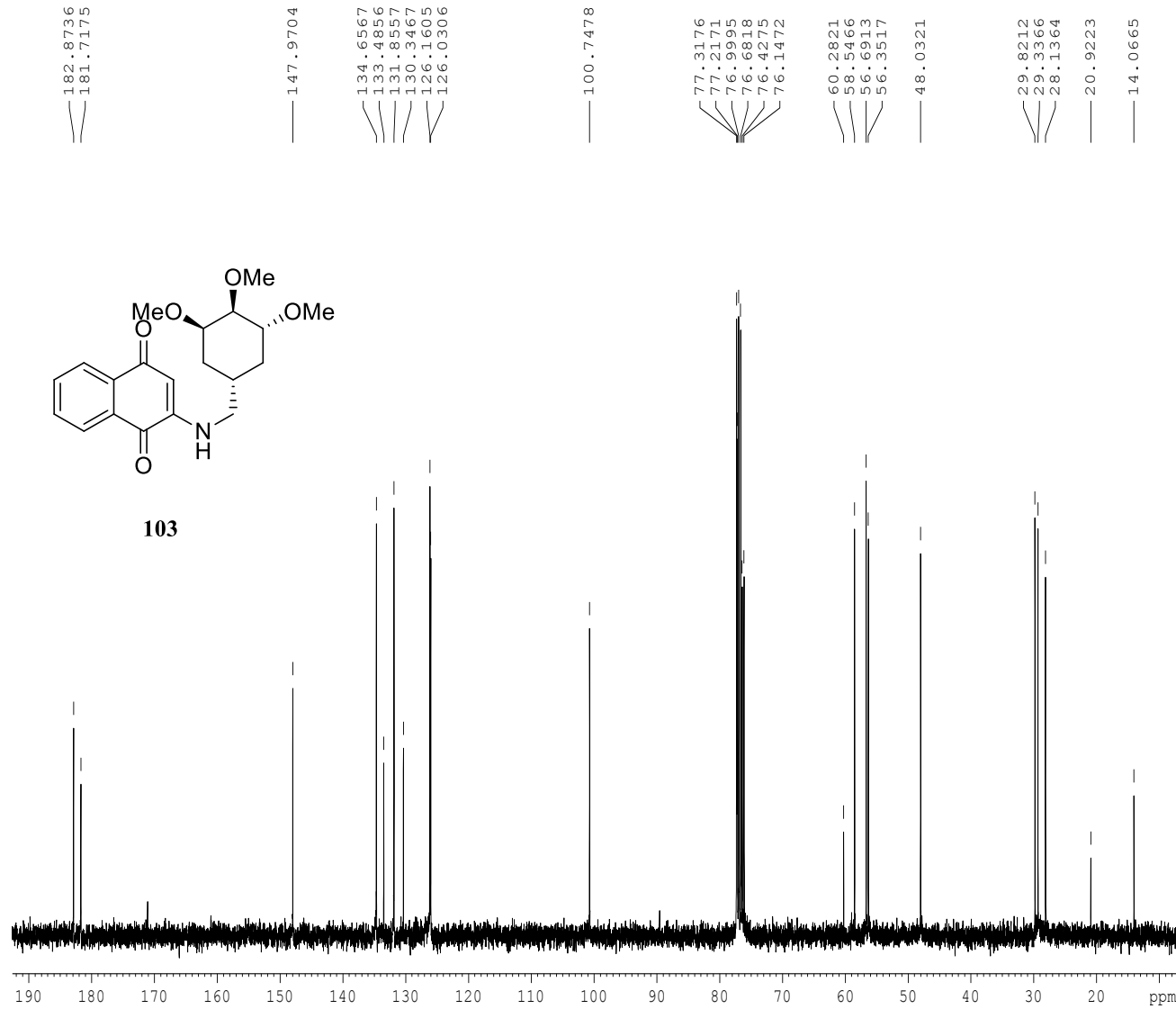
AQ101B
CDC13



NAME Santiago Hernandez
 EXPNO 202
 PROCNO 1
 Date_ 20170825
 Time_ 11.23
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
 PULPROG zg30
 TD 32768
 SOLVENT CDC13
 NS 8
 DS 0
 SWH 8012.820 Hz
 FIDRES 0.244532 Hz
 AQ 2.0447731 sec
 RG 71.8
 DW 62.400 usec
 DE 6.00 usec
 TE 294.2 K
 D1 1.00000000 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 1H
 P1 6.50 usec
 PL1 0.00 dB
 SFO1 400.1338012 MHz
 SI 16384
 SF 400.1300089 MHz
 WDW no
 SSB 0
 LB 0.00 Hz
 GB 0
 PC 1.00

AQ101B
CDC13



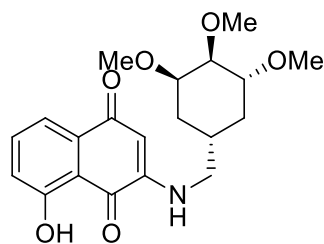
NAME Santiago Hernandez
EXPNO 209
PROCNO 1
Date_ 20170928
Time 10.59
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT CDC13
NS 512
DS 0
SWH 23980.814 Hz
FIDRES 0.731836 Hz
AQ 0.6832628 sec
RG 512
DW 20.850 usec
DE 6.00 usec
TE 294.2 K
D1 2.00000000 sec
D11 0.03000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 14.00 usec
PL1 -6.00 dB
SFO1 100.6242995 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 85.00 usec
PL2 6.00 dB
PL12 23.00 dB
PL13 23.00 dB
SFO2 400.1316005 MHz
SI 32768
SF 100.6127794 MHz
WDM EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40

11.5184

SH-202
CDC13

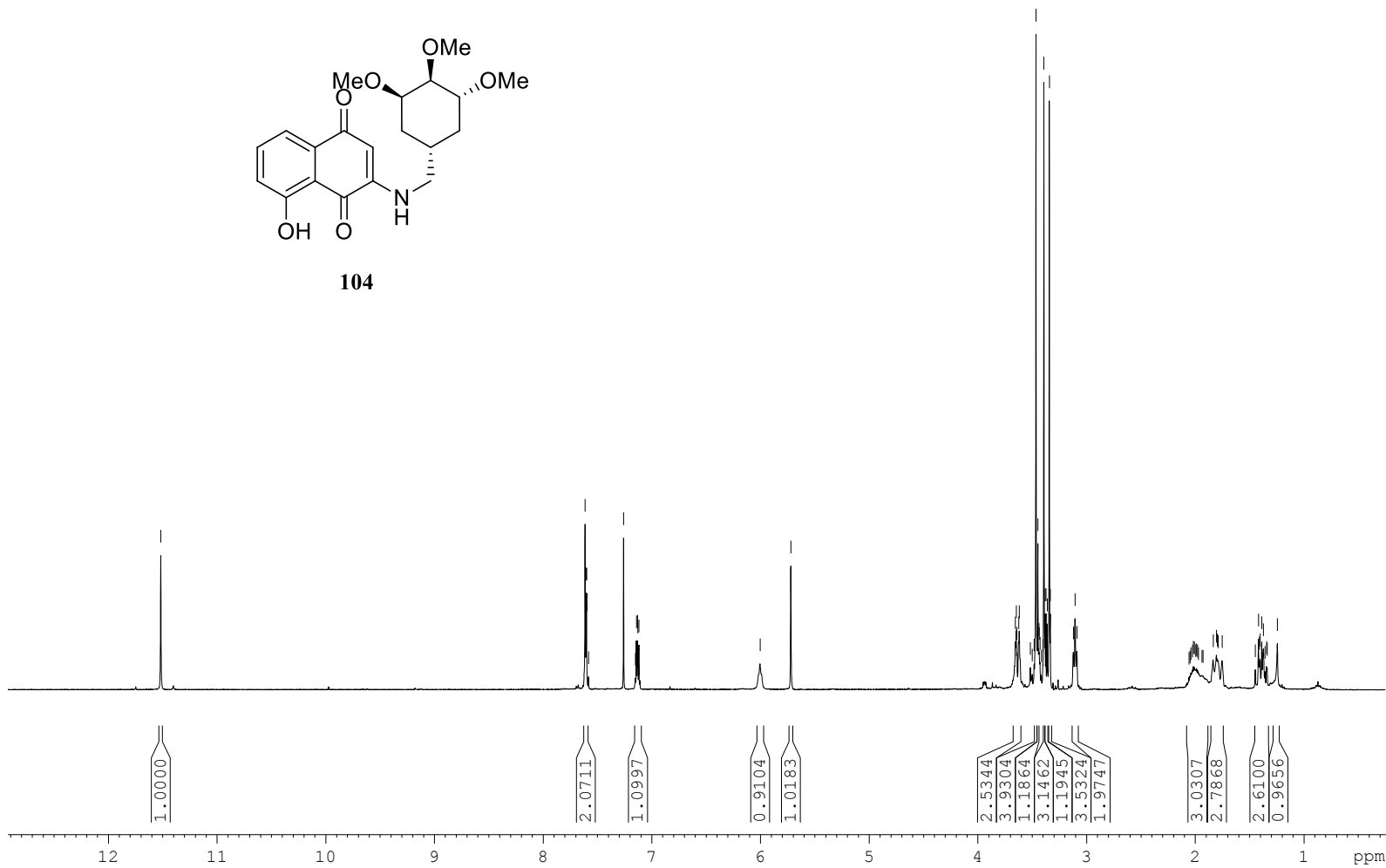


104

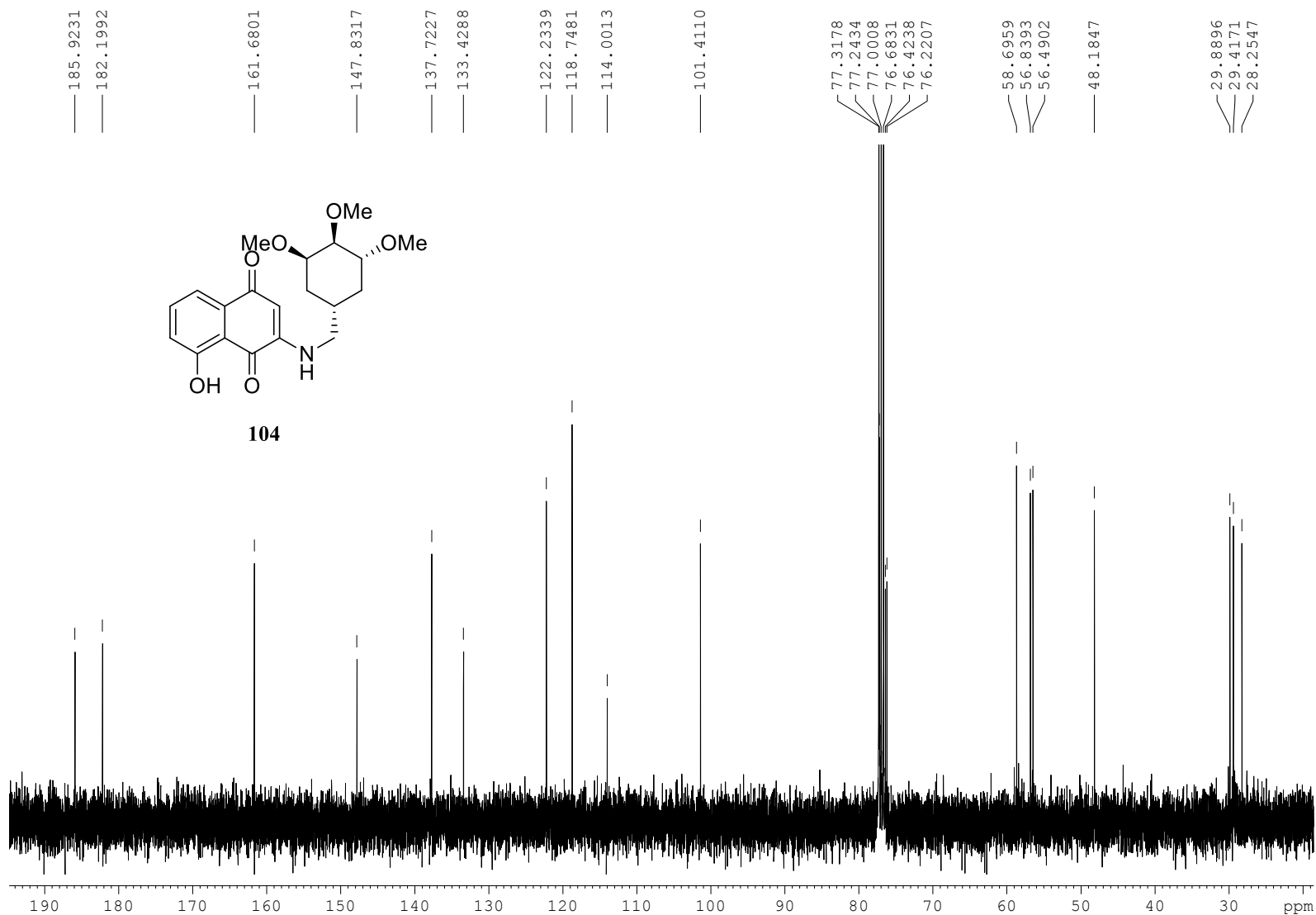
7.6148
7.6048
7.6008
7.5819
7.2601
7.1515
7.1423
7.1320
7.1290
7.1185
6.0044
5.7210
3.6550
3.6472
3.6404
3.6250
3.6186
3.5167
3.4996
3.4823
3.4655
3.4472
3.4387
3.4350
3.4287
3.4169
3.4018
3.3924
3.3821
3.3738
3.3620
3.3423
3.3334
3.1210
3.1054
3.0896
2.0576
2.0485
2.0392
2.0256
2.0175
2.0085
1.9949
1.9869
1.9775
1.9699
1.9386

NAME Santiago Hernandez
EXPNO 277
PROCNO 1
Date_ 20180522
Time_ 10.11
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zg30
TD 32768
SOLVENT CDC13
NS 8
DS 4
SWH 8012.820 Hz
FIDRES 0.244532 Hz
AQ 2.0447731 sec
RG 181
DW 62.400 usec
DE 6.00 usec
TE 293.2 K
D1 1.00000000 sec
TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 1H
P1 28.62 usec
PL1 4.00 dB
SFO1 400.1338012 MHz
SI 16384
SF 400.1300096 MHz
WDW no
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0
PC 1.00



SH-202
CDC13

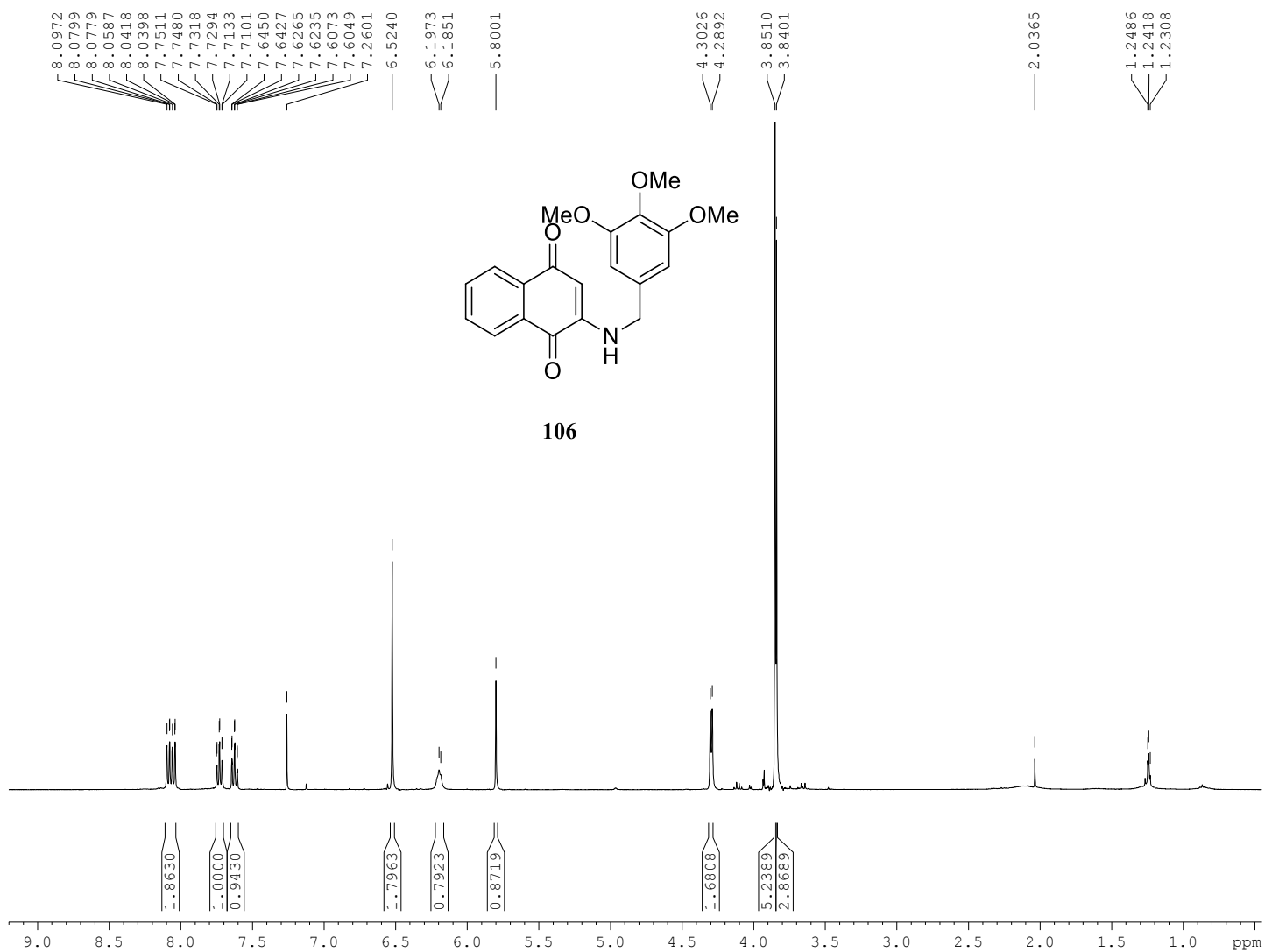


NAME Santiago Hernandez
EXPNO 278
PROCNO 1
Date 20180522
Time 11.51
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT CDCl3
NS 2048
DS 0
SWH 23980.814 Hz
FIDRES 0.731836 Hz
AQ 0.6832628 sec
RG 9195.2
DW 20.850 usec
DE 6.00 usec
TE 294.2 K
D1 2.00000000 sec
D11 0.03000000 sec
TD0 1

==== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 14.00 usec
PL1 -6.00 dB
SFO1 100.6242995 MHz

==== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 85.00 usec
PL2 6.00 dB
PL12 13.45 dB
PL13 23.00 dB
SFO2 400.1316005 MHz
SI 32768
SF 100.6127731 MHz
WDW no
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0
PC 1.40

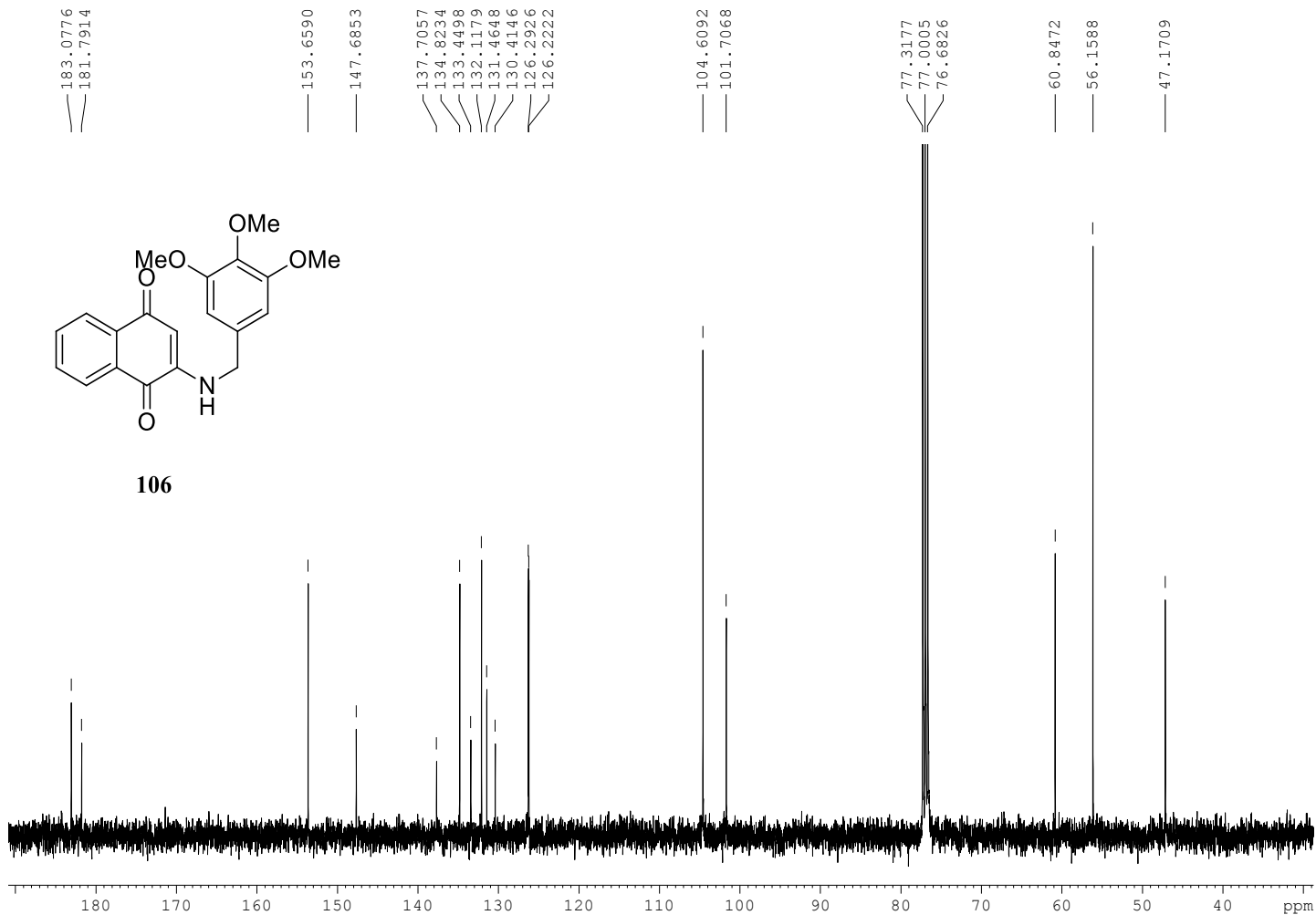
SH-500
CDC13



```
NAME Santiago Hernandez
EXPNO 231
PROCNO 1
Date_ 20180104
Time_ 10.03
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zg30
TD 32768
SOLVENT CDC13
NS 8
DS 0
SWH 8012.820 Hz
FIDRES 0.244532 Hz
AQ 2.0447731 sec
RG 456.1
DW 62.400 usec
DE 6.00 usec
TE 293.2 K
D1 1.00000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 1H
P1 6.50 usec
PL1 0.00 dB
SFO1 400.1338012 MHz
SI 16384
SF 400.1300093 MHz
WDW no
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0
PC 1.00
```

SH-500
CDC13



```
NAME Santiago Hernandez
EXPNO 241
PROCNO 1
Date_ 20180104
Time_ 14.54
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT CDC13
NS 512
DS 0
SWH 23980.814 Hz
FIDRES 0.731836 Hz
AQ 0.6832628 sec
RG 456.1
DW 20.850 usec
DE 6.00 usec
TE 294.2 K
D1 2.00000000 sec
D11 0.03000000 sec
TD0 1
```

```
===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 14.00 usec
PL1 -6.00 dB
SFO1 100.6242995 MHz
```

```
===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 85.00 usec
PL2 6.00 dB
PL12 23.00 dB
PL13 23.00 dB
SFO2 400.1316005 MHz
SI 32768
SF 100.6127738 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40
```

SH-501
CDC13

11.9151

11.5314

11.4117

9.8729

7.6514

7.6327

7.6206

7.6028

7.3031

7.2981

7.2848

7.2601

7.1774

7.1684

7.1565

7.1445

7.1333

6.9571

6.5602

6.5299

6.1588

5.7856

4.9814

4.9690

4.3037

3.9430

3.9368

3.9134

3.8938

3.8892

3.8869

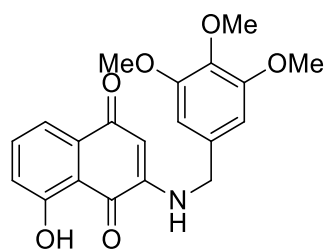
3.8682

3.8562

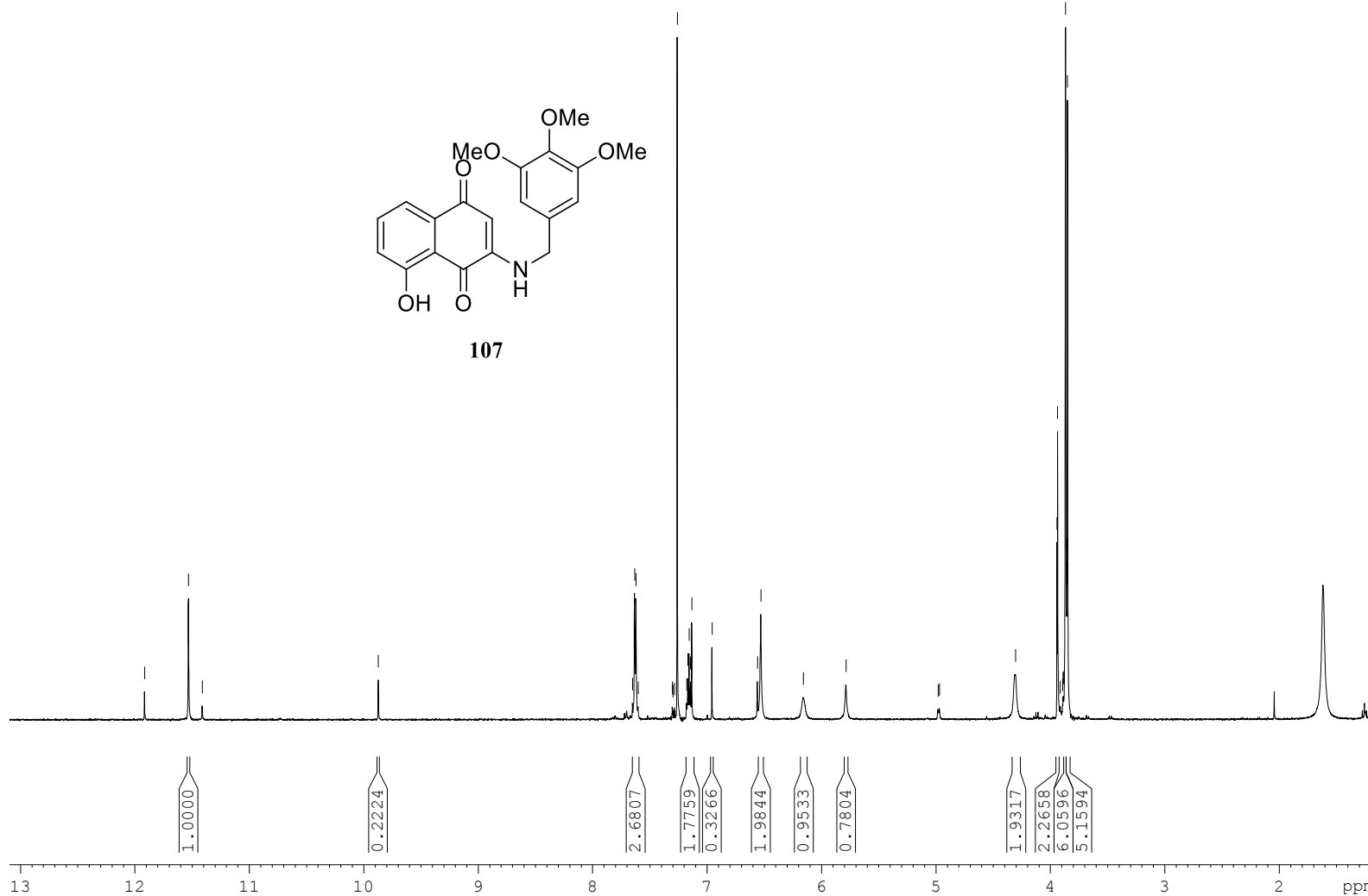
3.8512

NAME Santiago Hernandez
EXPNO 252
PROCNO 1
Date_ 20180302
Time_ 9.36
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zg30
TD 32768
SOLVENT CDC13
NS 8
DS 0
SWH 8012.820 Hz
FIDRES 0.244532 Hz
AQ 2.0447731 sec
RG 1290.2
DW 62.400 usec
DE 6.00 usec
TE 293.2 K
D1 1.00000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 1H
P1 6.50 usec
PL1 0.00 dB
SFO1 400.1338012 MHz
SI 16384
SF 400.1300092 MHz
WDW no
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0
PC 1.00



107

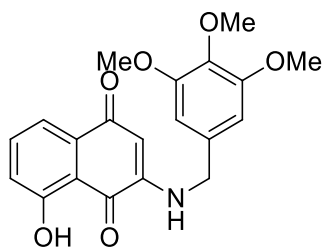


SH-501
CDC13

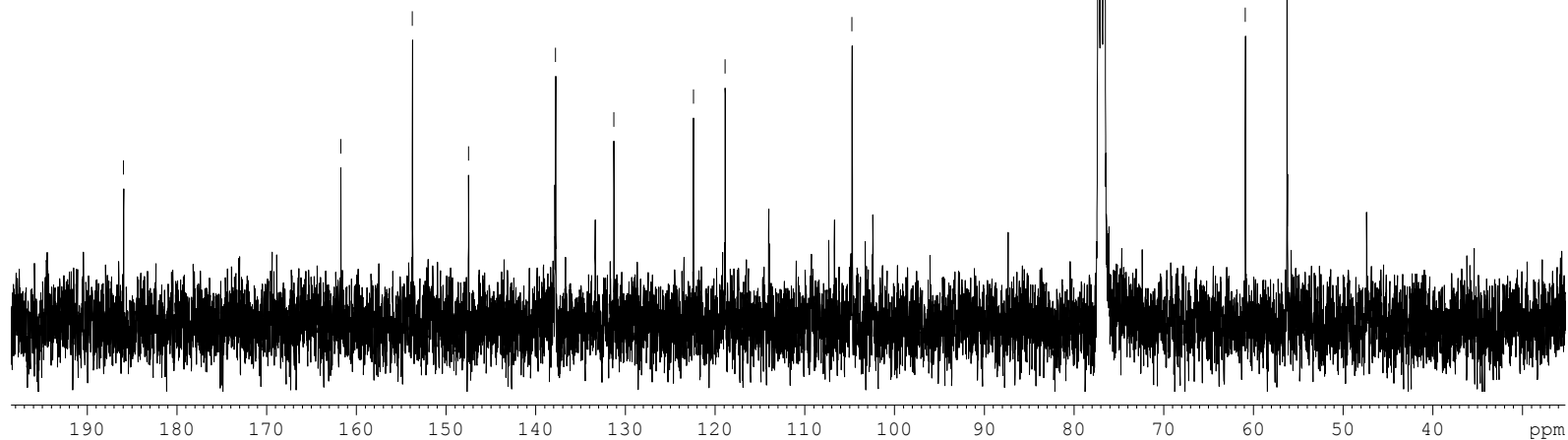
185.9566
161.7325
153.7497
147.4994
137.7940
131.2919
122.4202
118.8886
104.7491

77.3166
76.9994
76.6816

60.8882
56.2614



107

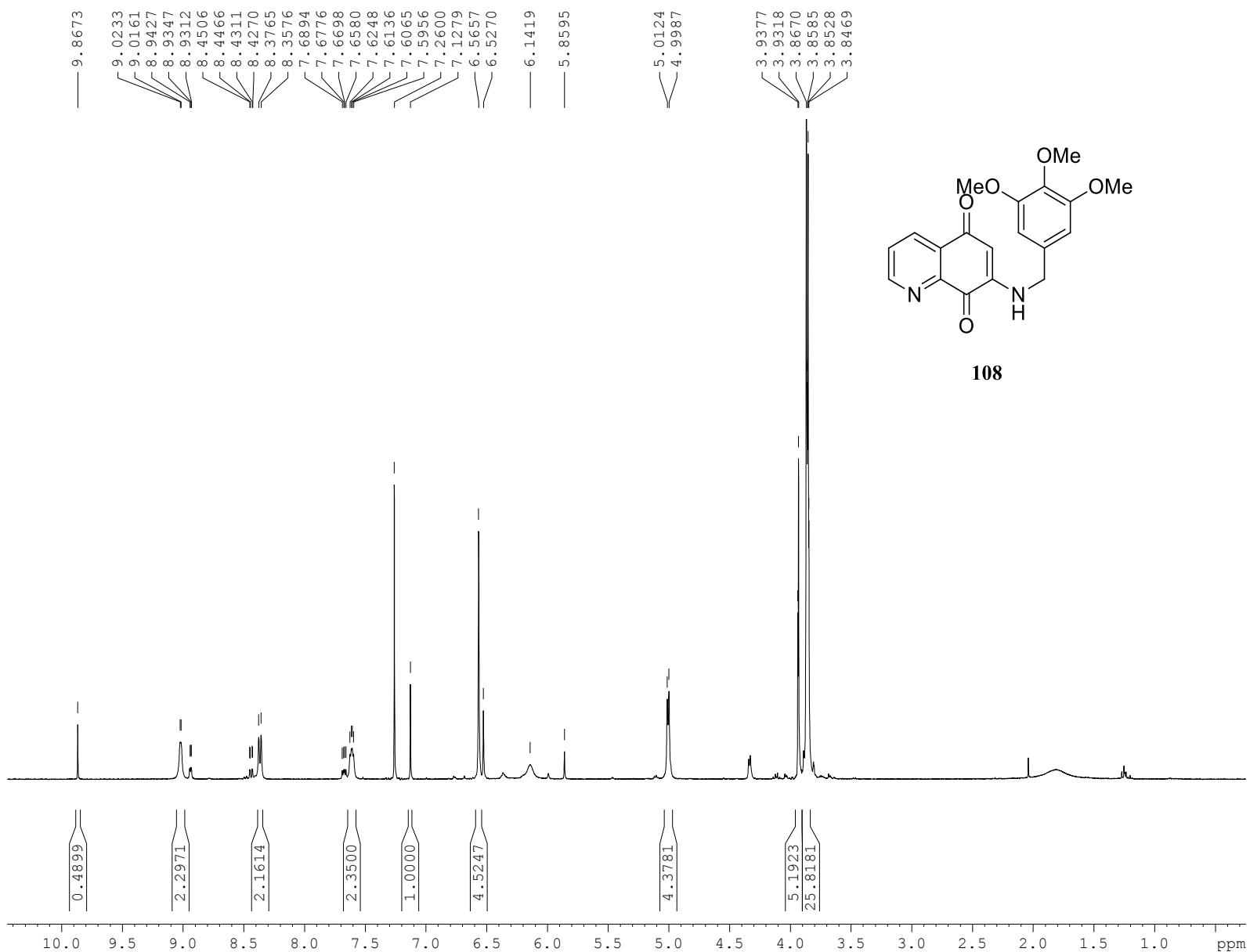


NAME Santiago Hernandez
EXPNO 253
PROCNO 1
Date_ 20180302
Time_ 10.00
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT CDC13
NS 8704
DS 0
SWH 23980.814 Hz
FIDRES 0.731836 Hz
AQ 0.6832628 sec
RG 512
DW 20.850 usec
DE 6.00 usec
TE 293.2 K
D1 2.00000000 sec
D11 0.03000000 sec
TD0 1

==== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 14.00 usec
PL1 -6.00 dB
SFO1 100.6242995 MHz

==== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 85.00 usec
PL2 6.00 dB
PL12 23.00 dB
PL13 23.00 dB
SFO2 400.1316005 MHz
SI 32768
SF 100.6127711 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40

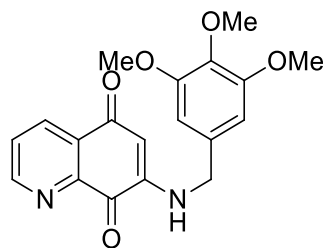
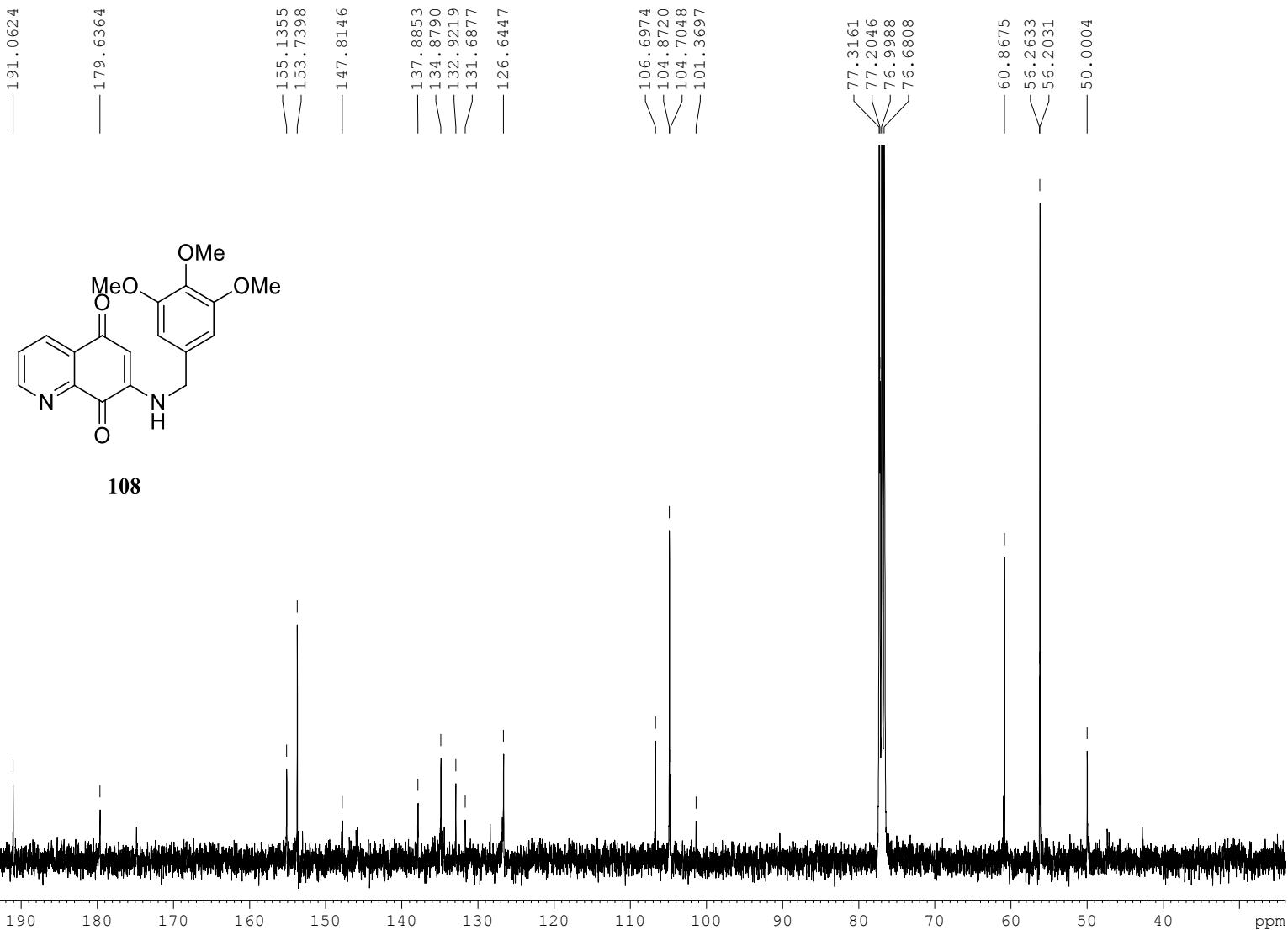
SH-502
CDC13



NAME Santiago Hernandez
EXPNO 256
PROCNO 1
Date_ 20180302
Time_ 16.57
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zg30
TD 32768
SOLVENT CDCl3
NS 8
DS 0
SWH 8012.820 Hz
FIDRES 0.244532 Hz
AQ 2.0447731 sec
RG 1024
DW 62.400 usec
DE 6.00 usec
TE 293.2 K
D1 1.00000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 1H
P1 6.50 usec
PL1 0.00 dB
SFO1 400.1338012 MHz
SI 16384
SF 400.1300092 MHz
WDW no
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0
PC 1.00

SH-502
CDC13



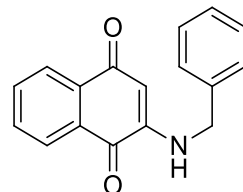
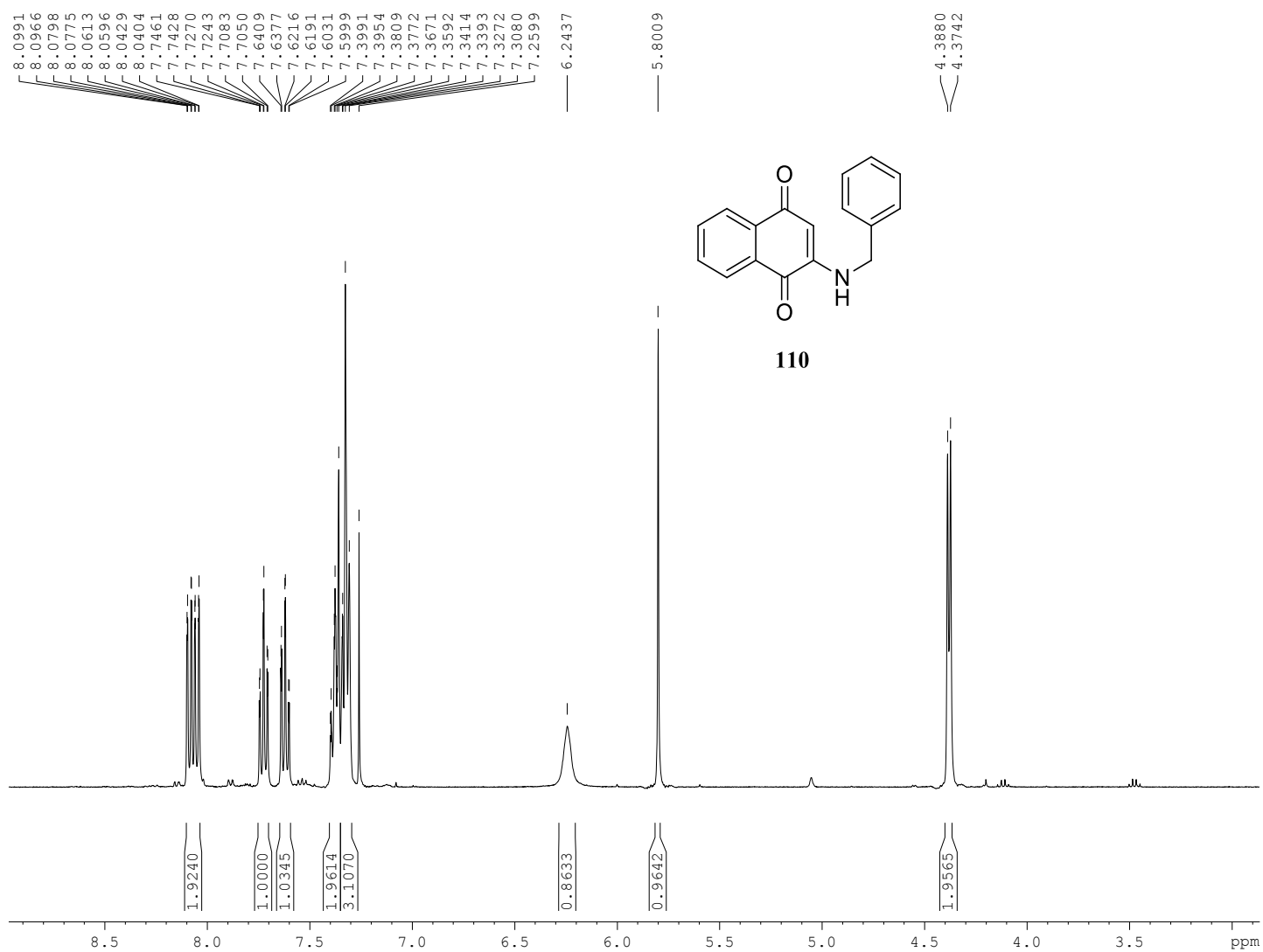
108

NAME Santiago Hernandez
EXPNO 257
PROCNO 1
Date_ 20180302
Time_ 23.05
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT CDC13
NS 8000
DS 0
SWH 23980.814 Hz
FIDRES 0.731836 Hz
AQ 0.6832628 sec
RG 512
DW 20.850 usec
DE 6.00 usec
TE 295.2 K
D1 2.00000000 sec
D11 0.03000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 14.00 usec
PL1 -6.00 dB
SFO1 100.6242995 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 85.00 usec
PL2 6.00 dB
PL12 23.00 dB
PL13 23.00 dB
SFO2 400.1316005 MHz
SI 32768
SF 100.6127719 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40

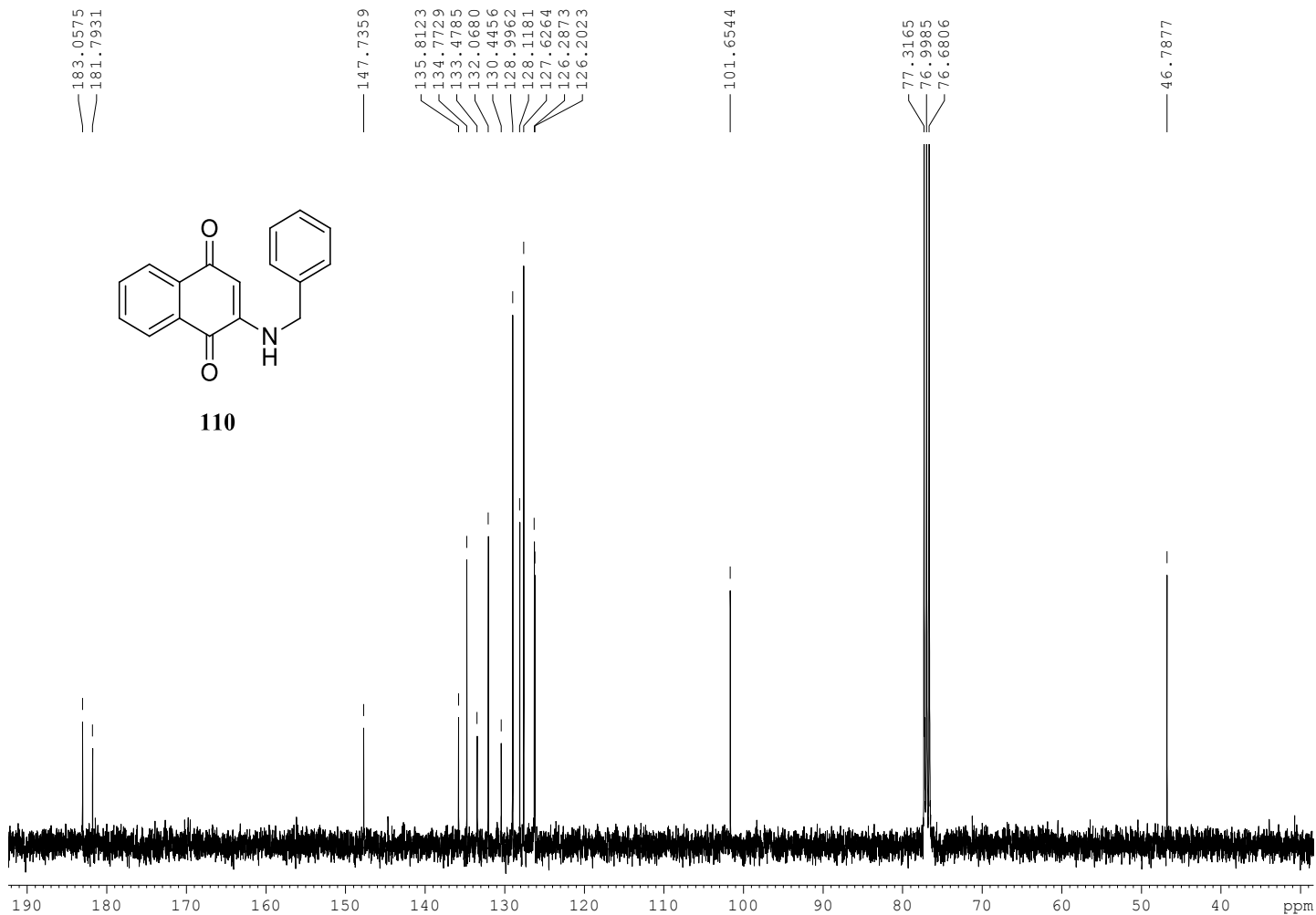
SH-700
CDC13



NAME Santiago Hernandez
EXPNO 233
PROCNO 1
Date_ 20180104
Time_ 10.14
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zg30
TD 32768
SOLVENT CDCl3
NS 8
DS 0
SWH 8012.820 Hz
FIDRES 0.244532 Hz
AQ 2.0447731 sec
RG 812.7
DW 62.400 usec
DE 6.00 usec
TE 293.2 K
D1 1.00000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 1H
P1 6.50 usec
PL1 0.00 dB
SFO1 400.1338012 MHz
SI 16384
SF 400.1300094 MHz
WDW no
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0
PC 1.00

SH-700
CDC13

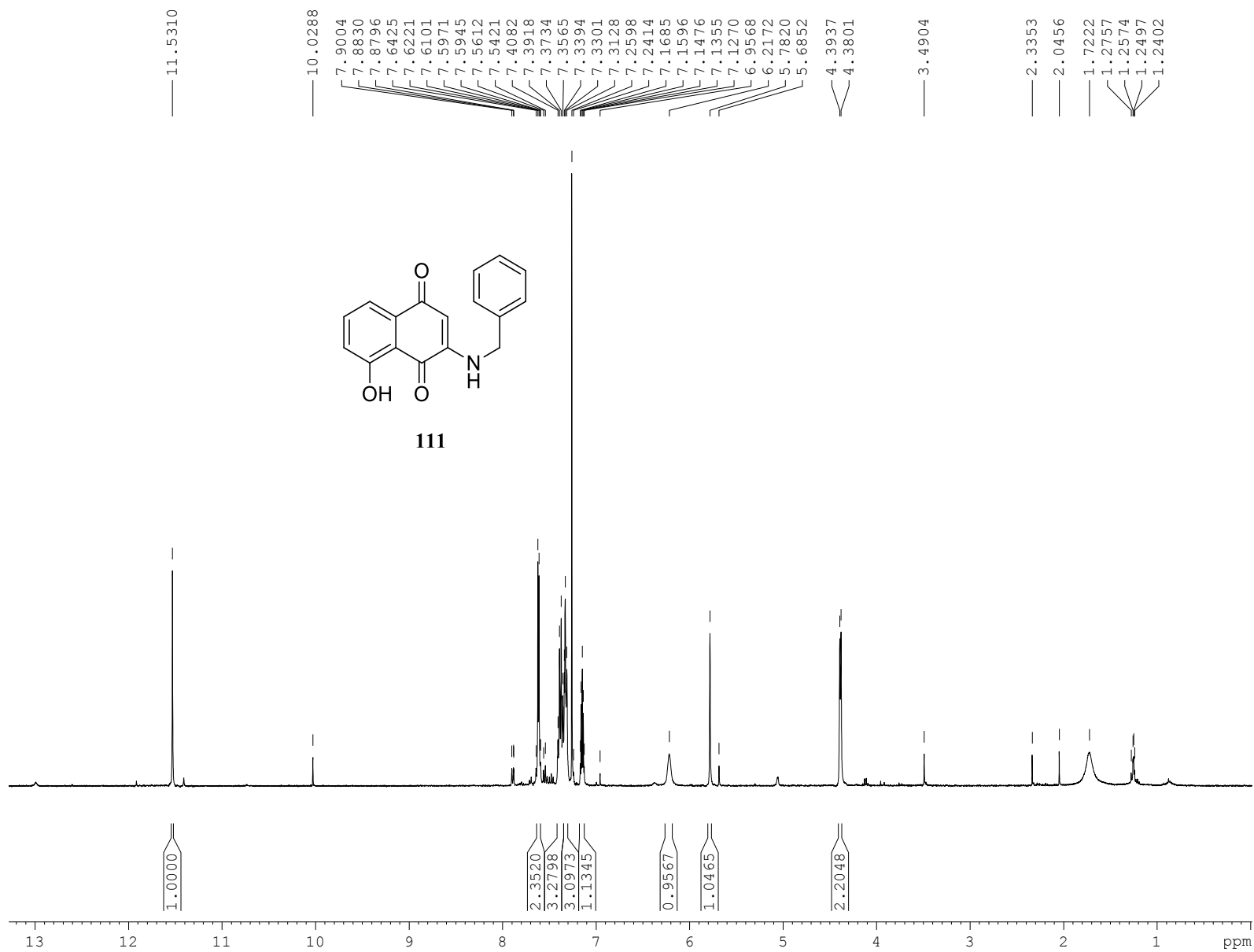


```
NAME Santiago Hernandez
EXPNO 239
PROCNO 1
Date_ 20180104
Time_ 14.19
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT CDC13
NS 512
DS 0
SWH 23980.814 Hz
FIDRES 0.731836 Hz
AQ 0.6832628 sec
RG 456.1
DW 20.850 usec
DE 6.00 usec
TE 294.2 K
D1 2.0000000 sec
D11 0.0300000 sec
TD0 1
```

```
===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 14.00 usec
PL1 -6.00 dB
SFO1 100.6242995 MHz
```

```
===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 85.00 usec
PL2 6.00 dB
PL12 23.00 dB
PL13 23.00 dB
SFO2 400.1316005 MHz
SI 32768
SF 100.6127736 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40
```

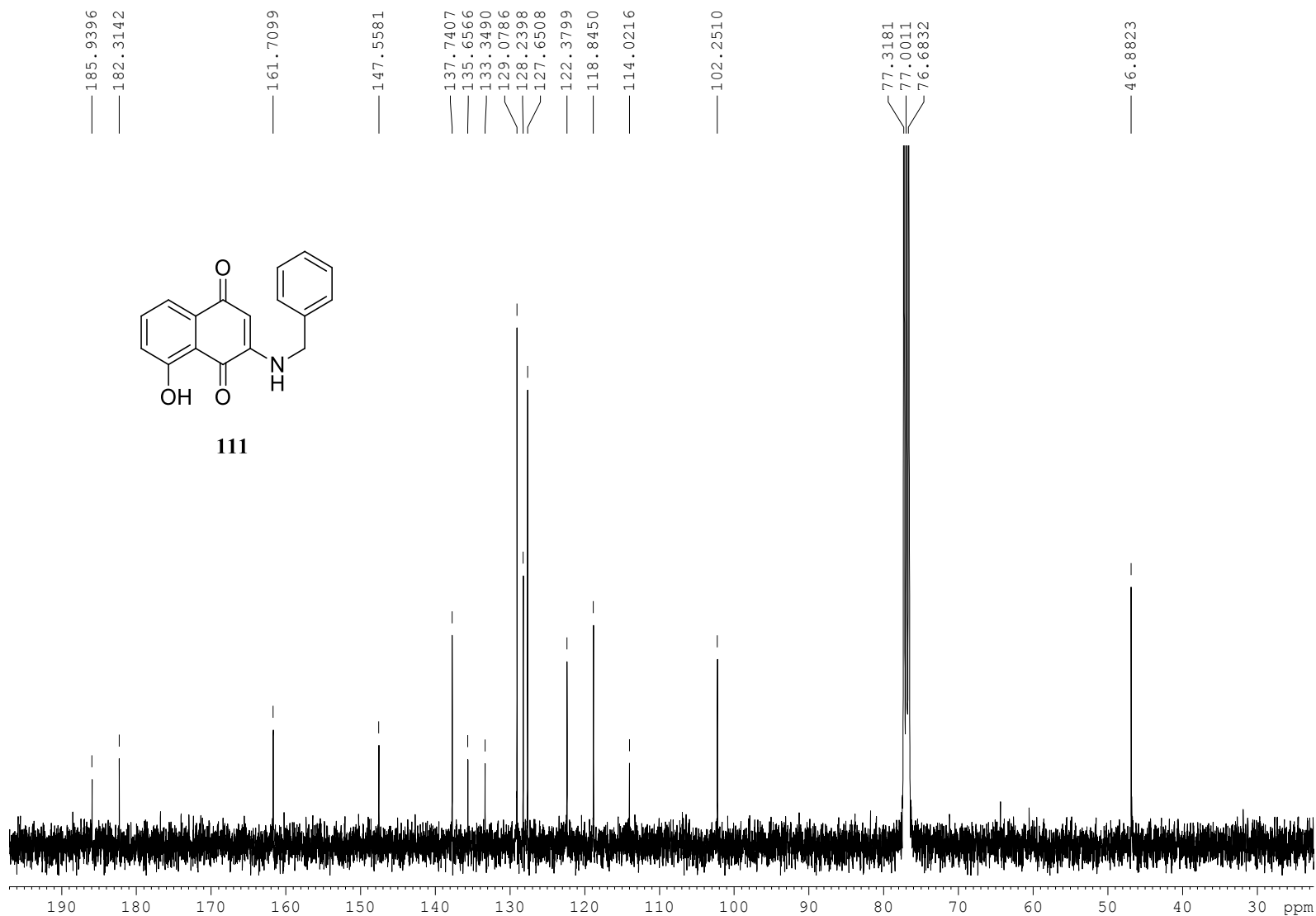
SH-701
CDC13



NAME Santiago Hernandez
EXPNO 248
PROCNO 1
Date_ 20180301
Time_ 14.45
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zg30
TD 32768
SOLVENT CDC13
NS 8
DS 0
SWH 8012.820 Hz
FIDRES 0.244532 Hz
AQ 2.0447731 sec
RG 1149.4
DW 62.400 usec
DE 6.00 usec
TE 293.2 K
D1 1.00000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 1H
P1 6.50 usec
PL1 0.00 dB
SFO1 400.1338012 MHz
SI 16384
SF 400.1300094 MHz
WDW no
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0
PC 1.00

SH-701
CDC13

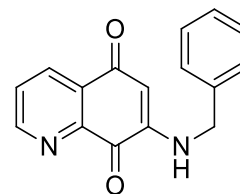
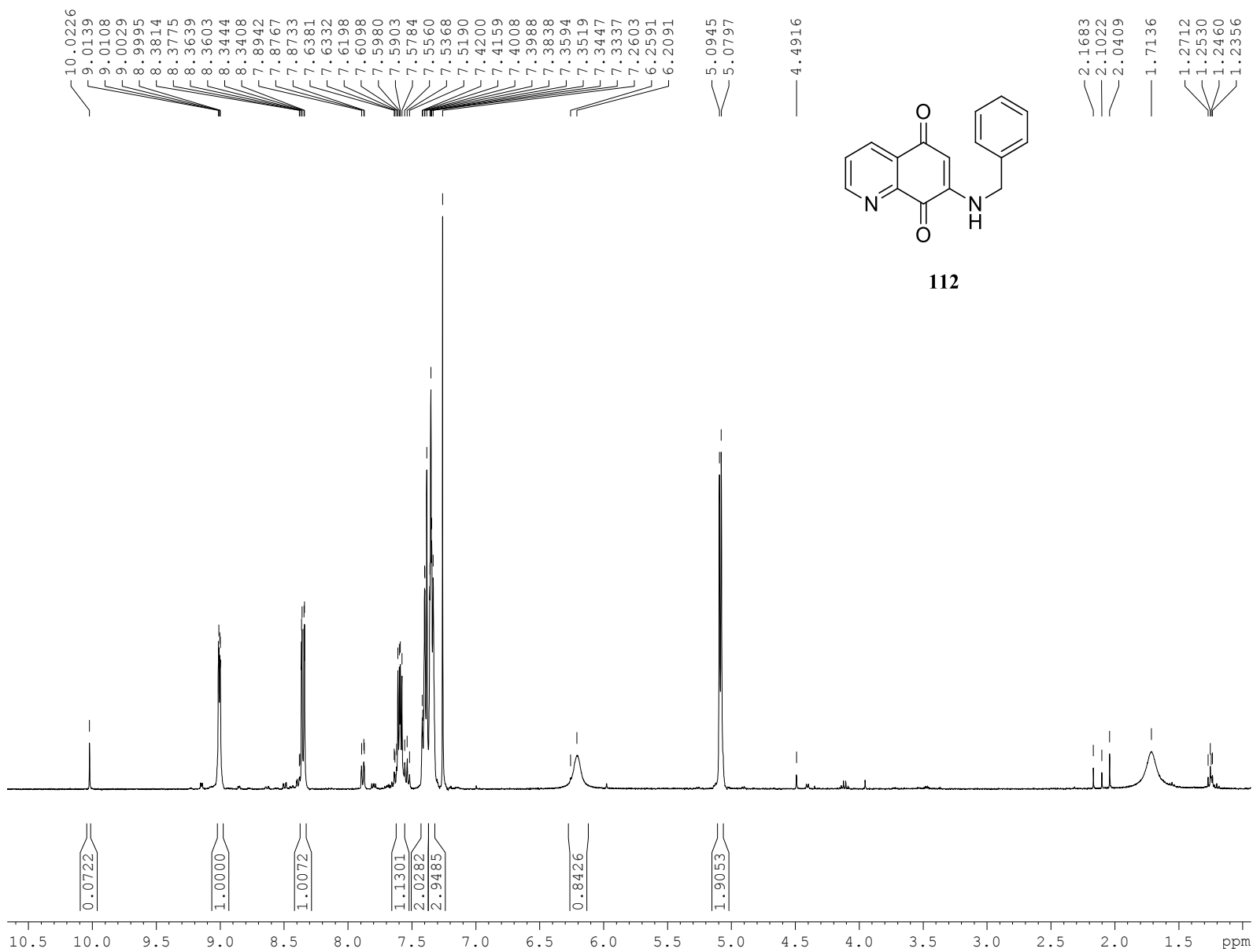


NAME Santiago Hernandez
EXPNO 249
PROCNO 1
Date_ 20180301
Time_ 15.09
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT CDCl3
NS 4608
DS 0
SWH 23980.814 Hz
FIDRES 0.731836 Hz
AQ 0.6832628 sec
RG 512
DW 20.850 usec
DE 6.00 usec
TE 293.2 K
D1 2.00000000 sec
D11 0.03000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 14.00 usec
PL1 -6.00 dB
SFO1 100.6242995 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 85.00 usec
PL2 6.00 dB
PL12 23.00 dB
PL13 23.00 dB
SFO2 400.1316005 MHz
SI 32768
SF 100.6127716 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40

SH-702
CDC13

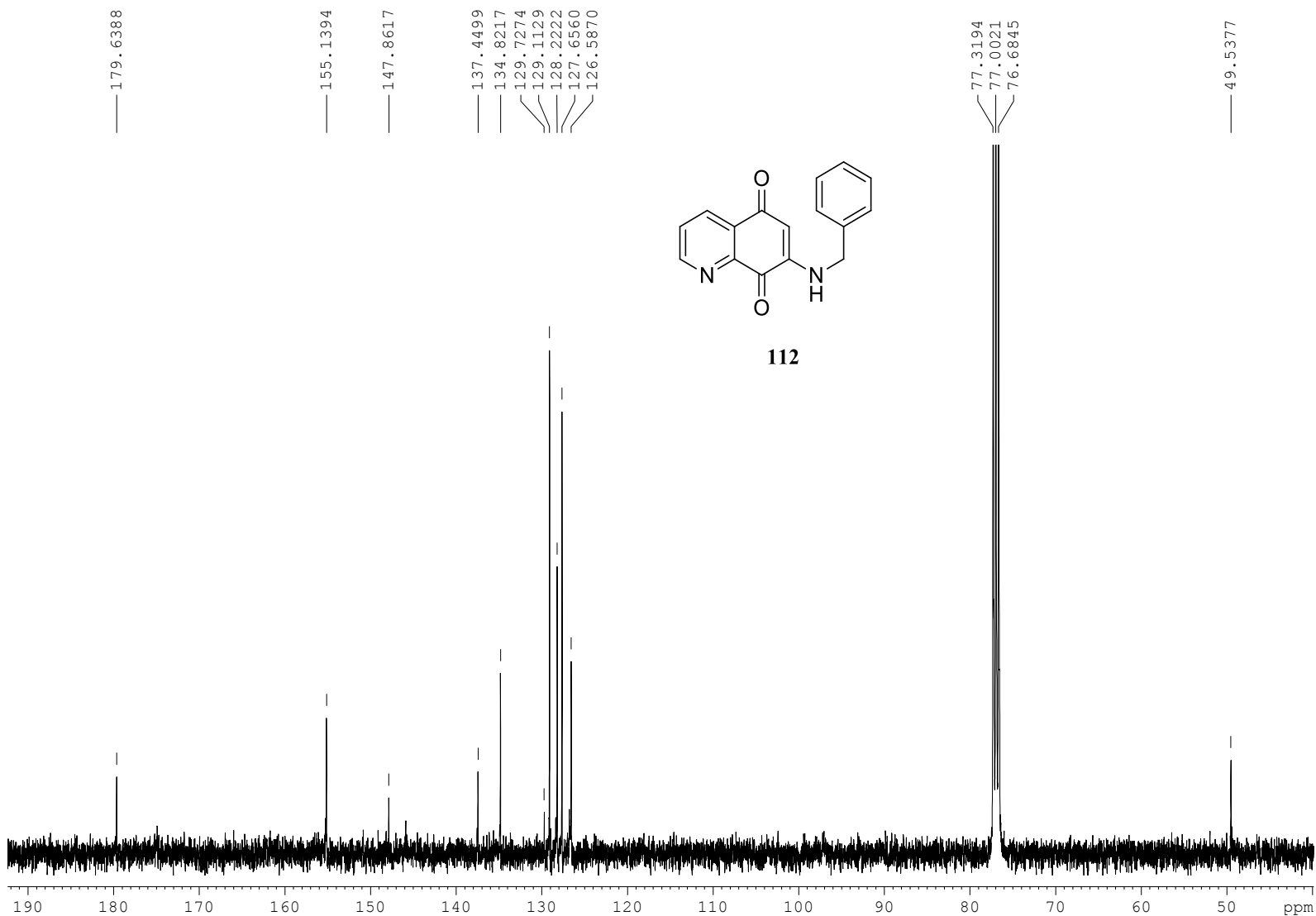


112

NAME Santiago Hernandez
EXPNO 260
PROCNO 1
Date_ 20180306
Time_ 8.17
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zg30
TD 32768
SOLVENT CDCl3
NS 8
DS 0
SWH 8012.820 Hz
FIDRES 0.244532 Hz
AQ 2.0447731 sec
RG 1024
DW 62.400 usec
DE 6.00 usec
TE 293.2 K
DI 1.00000000 sec
TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 1H
P1 6.50 usec
PL1 0.00 dB
SFO1 400.1338012 MHz
SI 16384
SF 400.1300102 MHz
WDW no
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0
PC 1.00

SH-702
CDC13



```
NAME Santiago Hernandez
EXPNO 261
PROCNO 1
Date_ 20180306
Time 8.46
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT CDCl3
NS 2560
DS 0
SWH 23980.814 Hz
FIDRES 0.731836 Hz
AQ 0.6832628 sec
RG 456.1
DW 20.850 usec
DE 6.00 usec
TE 293.2 K
D1 2.00000000 sec
D11 0.03000000 sec
TD0 1
```

```
===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 14.00 usec
PL1 -6.00 dB
SFO1 100.6242995 MHz
```

```
===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 85.00 usec
PL2 6.00 dB
PL12 23.00 dB
PL13 23.00 dB
SFO2 400.1316005 MHz
SI 32768
SF 100.6127728 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40
```