



FACULTAD DE FARMACIA

ESCUELA DE QUÍMICA Y FARMACIA

LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES

Síntesis de un nuevo derivado 2-Amino-1,4 naftoquinona sintetizado desde (-)-ácido shikimico, con potencial actividad citotóxica.

Tesis para optar al Título de Químico Farmacéutico

Damián Fernando Campos Lara

Director de Tesis: Dr. Mauricio Cuellar

2017

AGRADECIMIENTOS

A mi madre Luz

Por estar conmigo en todo momento, por tu apoyo y comprensión. No existen lo suficientemente intensas para expresar lo agradecido que estoy contigo, desde darme el don de la vida hasta ayudarme en mi desarrollo, gracias por tu absoluta incondicionalidad y sobre todo por tu amor.

A José Contreras

Por ser un modelo de perseverancia y fuerza de voluntad. Por enseñarme con el ejemplo a nunca bajar los brazos, a nunca rendirme, sin importar la edad, el cansancio o la enfermedad. Por todo ello, por su gran humildad gracias por todo.

A mi familia

A mis hermanas Constanza y Loreto, a mi abuelita Dina, a don Germán, mi tía Susana, a mi tío Esteban y mi tía Olga, a mi tío Manuel y tía Luci. Nos hemos conocido desde hace años o desde hace poco, puede que vivamos cerca o separados a un continente de distancia, pero sin importar nada les agradezco por todo, cada uno de ustedes son un pilar en mi vida. Gracias por ser parte de mi vida.

A mis amigos

Me siento agradecido y orgulloso de contar con los amigos que tengo, tanto los que he conocido dentro como fuera de la Universidad, gracias por su apoyo, por sus consejos, por su ayuda y por las risas y por permitirme pasar esos momentos con ustedes, han hecho de mi vida algo mucho más especial.

A mis maestros

Todos y cada uno de mis maestros han aportado algo en mi formación no solo profesional, sino que también como persona, a varios de ellos los he considerado un faro por su talento y esfuerzo en su trabajo. Quiero agradecer especialmente a Mauricio Cuellar y Natalia Quiñones por ayudarme y guiarme en este proceso. Les agradezco mucho.

RESUMEN

Las naftoquinonas son moléculas ampliamente distribuidas en la naturaleza las cuales han llamado poderosamente la atención a la comunidad, ya que se ha evidenciado que poseen marcadas propiedades biológicas, entre ellas antimalaricas, antibacterianas, antifúngicas y antineoplásicas. Esto explica la gran cantidad de moléculas orgánicas sintetizadas con fines de investigación a partir de naftoquinonas.

Estructuralmente derivan del naftaleno y se caracterizan por poseer dos grupos funcionales carbonilos, junto a una insaturación α,β en uno de los anillos aromáticos, que dan origen a las 1,4 naftoquinonas y 1,2 naftoquinonas. Con fines sintéticos, estas quinonas han sido utilizadas como dienófilos en reacciones de cicloadición Diels-Alder y como aceptores de Michael, lo cual ha permitido la obtención de un gran número de compuestos.

En el presente trabajo se detalla el proceso de síntesis del compuesto **88**, estructuralmente formado por un fragmento de 1,4-naftoquinona unido a un amino derivado de (-) ácido shikimico. Esta estrategia involucra la reacción de aza-Michael de la amina primaria **87** junto con 1,4-naftoquinona. El compuesto final fue caracterizado mediante técnicas espectroscópicas de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) mono y bidimensional.

Finalmente al compuesto **88**, se evaluó su actividad citotóxica sobre cuatro líneas celulares: PC-3 (cáncer de próstata), HT-29 (cáncer de colon), MCF-7 (cáncer de mama) y CoN (células normales de colon), con valores de IC_{50} : 13.0 ± 0.2 uM, 61.4 ± 0.5 uM, 13.6 ± 0.1 uM y 54.9 ± 7.7 uM respectivamente. Estos resultados fueron comparados con datos obtenidos en trabajos anteriores con los compuestos **89** y **90** relacionados estructuralmente.

SUMMARY

Naphthoquinones are molecules widely distributed among nature, which have really attracted the scientific community's attention, because it has been evinced that they possess noticeable biological attributes, such as, antimalarial, antibacterial, antifungal, antineoplastic, among others. This fact makes it possible to explain the great quantity of organic molecules synthesized with research aims based on naphthoquinones.

Structurally they derive from naphthalene and they are characterized for having two functional carbonyl groups with a α,β unsaturation in one of the aromatic rings which give rise to 1,4-naphthoquinone and 1,2-naphthoquinone. For synthetic purposes, these quinones have been used as dienophiles in Diels-Alder cycloaddition reactions and as acceptors of Michael, which has permitted the extraction of a wide number of compounds.

In this research, the synthesis process of compound **88** is detailed, structurally formed by a 1,4-naphthoquinone fragment joined together to an amino derived from (-) shikimic acid. This strategy involves the Aza-Michael reaction of the primary amine **87** along with 1,4-naphthoquinone. The final compound was typified by means of one and two-dimensional Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopic techniques.

Finally, to compound **88**, its cytotoxic activity was evaluated on four cell lines: PC-3 (prostate cancer), HT-29 (colon cancer), MCF-7 (breast cancer) and CoN (normal colon cells), with IC₅₀ values: 13.0 ± 0.2 μ M, 61.4 ± 0.5 μ M, 13.6 ± 0.1 μ M and 54.9 ± 7.7 μ M respectively. These results were compared with data obtained in previous works with structurally related compounds **89** and **90**.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
1.1 Generalidades de naftoquinonas	2
<i>Figura 1. Estructura química del naftaleno (1) y de la 1,4 naftoquinona (2).</i>	2
<i>Figura 2. Estructura de Juglona (3) y Plumbagina (4).</i>	3
<i>Figura 3. Estructura de Lapachol (5).</i>	3
<i>Esquema 1. Síntesis de (6) α-lapachona y (7) β-lapachona. Derivados del (5) lapachol.</i>	4
<i>Esquema 2. Síntesis de nuevos amino derivados de (8) Lawsona.</i>	5
<i>Figura 4. Estructura de una metoxinaftoquinona (12)</i>	5
1.2 Mecanismo de acción de naftoquinonas.	6
<i>Esquema 3. Procesos celulares oxidativos promovidos por la naftoquinona</i>	6
<i>Esquema 4. Posibles mecanismos de acción de las hidroquinonas.</i>	7
1.3 Aplicación de 1,4-naftoquinonas en síntesis orgánicas.	8
1.3.1. Síntesis y actividad biológica de aminoquinonas.	8
<i>Figura 5. Estructura química de rifampicina (13) y rifamicina (14 a y 14 b).</i>	9
<i>Figura 6. Estructura química de cribostatina (15), streptogrinina (16), griff tazanona (17) y calotrixina A y B (18 a y 18 b)</i>	10
<i>Esquema 5. Síntesis de aminonaftoquinonas por adición y sustitución nucleofílica.</i>	11
<i>Esquema 6. Síntesis de derivados aminonaftoquinonas utilizando piridina como solvente.</i>	12
<i>Esquema 7. Adición nucleofílica de dimetilamina a benzoquinona utilizando el $\text{Cu}(\text{AcO})_2$ como agente oxidante.</i>	13
<i>Esquema 8. Síntesis de derivados butilamino-juglona con acetato de cobre.</i>	14
<i>Esquema 9. Reacción de adición nucleofílica entre quinolina 5,8-diona y naftilaminas.</i>	15
<i>Esquema 10. Síntesis de derivados 2-amino-1,4-naftoquinonas utilizando distintas aminas primarias.</i>	16
<i>Esquema 11. Síntesis de aminoquinonas usando I_2 como catalizador.</i>	17
<i>Esquema 12. Síntesis de derivados fenilaminoquinona y benzocarbazoledionas.</i>	18
1.4 Quinonas como dienófilos en reacciones de cicloadición Diels-Alder.	19
<i>Esquema 13: Síntesis de Ocromicinona (55) mediada por una reacción Diels-Alder</i>	19
<i>Esquema 14. Síntesis de analogos 5-aza-angucilinas.</i>	20
<i>Esquema 15. Síntesis de aza análogo de anguciclinona mediante reacción de Diels-Alder.</i>	20
HIPÓTESIS	21

OBJETIVOS	23
Objetivo general	24
Objetivo específico	24
METODOLOGÍA	25
Materiales y Métodos	26
Materiales y métodos químicos	26
Evaluación de actividad citotóxica	27
EXPERIMENTAL	28
Síntesis de compuestos	29
Síntesis del compuesto 81	29
Síntesis del compuesto 83	30
Síntesis del compuesto 84	31
Síntesis del compuesto 85	32
Síntesis del compuesto 86	33
Síntesis del compuesto 87	34
Síntesis de 2-(((1R,3R,4R,5R)-3,4,5-trimetoxiciclohexil)metil)amino)naftaleno-1,4-diona.....	35
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
1. Ruta de síntesis para la obtención de la amina primaria 87	37
Esquema 16. Ruta de síntesis de amino derivado a partir de (-) ácido shikimico.	37
2. Síntesis de la 2-amino-naftoquinona 88	39
Esquema 17. Síntesis de la 2-amino naftoquinona a partir de ácido shikimico.	39
3. Determinación estructural del producto 88	40
Figura 7. Acoplamiento de larga distancia del carbonilo del compuesto 88.	40
Figura 8. Acoplamiento de larga distancia de la amina del compuesto 88.	41
4. Resultados de actividad citotóxica	41
Figura 9 azaanalogos de anguciclinonas 89 y 90	42
Tabla 1. Valores IC₅₀ de las moléculas 88, 89 y 90 en cada una de las líneas celulares estudiadas.	42
Tabla 2. Índice de selectividad de las moléculas 88, 89 y 90 en cada una de las líneas celulares estudiadas.	43
CONCLUSIÓN.....	44
BIBLIOGRAFÍA	46
ABREVIATURAS	52

Abreviaturas usadas en experimental.....	52
Abreviaturas usadas en RMN.....	52
Abreviaturas usadas en resultados y discusión.....	53
ANEXOS	54

INTRODUCCIÓN

1.1 Generalidades de naftoquinonas

Las quinonas son moléculas orgánicas que están presentes en diversas familias de plantas, hongos, algas y bacterias. De acuerdo a su conformación estructural respecto a su sistema aromático, estas se pueden clasificar en: Benzoquinonas, Antraquinonas y Naftoquinonas. Las naftoquinonas que derivan del naftaleno **(1)**,¹ estructuralmente constan de dos anillos aromáticos de seis átomos de carbono fusionados que comparten dos átomos de carbono y se caracterizan por poseer dos grupos carbonilo en la posición 1,4 **(2)** y con menor frecuencia en la posición 1,2 y 1,3. (Figura 1)

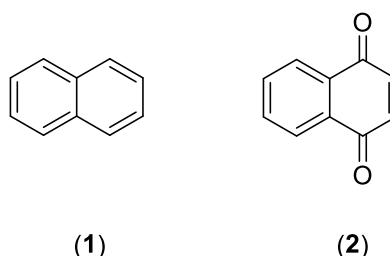


Figura 1. Estructura química del naftaleno (1) y de la 1,4 naftoquinona (2).

Las naftoquinonas son pigmentos naturales ampliamente distribuidos en la naturaleza, se encuentran en plantas superiores (*Droseraceae*, *Nepenthaceaceae*, *Lythraceae* y *Euphorbiaceae*, entre otros) además de estar presente en hongos, algas, algunos animales y productos del metabolismo de diversas bacterias.^{2,3}

Independientemente de que los derivados de la 1,4 naftoquinona sean naturales o sintéticos, estos han demostrado tener importantes propiedades biológicas, razón por la cual estas moléculas se han convertido en el foco de interés de diversos grupos de investigación. Dentro de las propiedades biológicas más destacadas de este grupo destaca su potencial uso como antibacteriano,^{4,5} se ha demostrado que estas moléculas presentan respuesta antimalarica,^{6,7} he incluso se han ideado como compuestos con múltiples usos debido a sus propiedades electrónicas.^{8,9}

Algunos ejemplos de propiedades terapéuticas de naftoquinonas naturales de origen vegetal son Juglona **(3)** que se obtiene del nogal (*Juglans regia* L.) y se caracteriza por sus propiedades fungicidas,¹⁰ en cambio la plumbagina **(4)**, (Figura 2) presente en los géneros *Plumbago*, *Drosera* y *Diospyros* destaca por su actividad antimicrobiana, pero además esta molécula ha demostrado poseer importantes propiedades antireumáticas y antiespasmódicas.¹¹

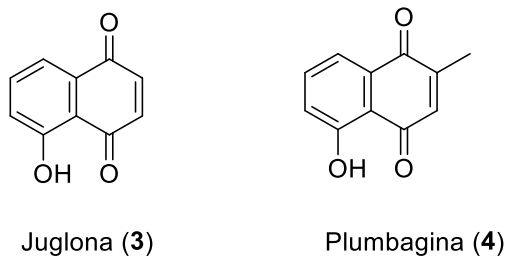


Figura 2. Estructura de Juglona (3) y Plumbagina (4)

Aunque los derivados de las naftoquinonas exhiban prometedoras propiedades biológicas, no hay duda de que una de sus propiedades más relevantes y que han sido estudiado con más interés tanto por los cuerpos científicos docentes, como por los grupos científicos pertenecientes a laboratorios farmacéuticos es su potencial como antineoplásico.¹²⁻¹⁴

Xu y colaboradores¹⁵ investigaron los efectos antiproliferativos, así como los mecanismos de apoptosis de la plumbagina (4) en las líneas celulares de cáncer de pulmón A549, H292 y H460. Los resultados que ellos obtuvieron de acuerdo al IC₅₀ en una administración de plumbagina de 10,3 umol/L para A549, 7,3 umol/L para H292 y 6,1 umol/L para H460 por 12 horas, fue que efectivamente a dichas dosis la plumbagina inducía la apoptosis en esas tres líneas de células. Concluyendo además que la plumbagina aumentaba los niveles intracelulares de ROS junto con la inhibición de la activación de NK-κB. Concluyendo además que la plumbagina aumenta la actividad de la caspasa 9, caspasa 3 desregulando la expresión de Bcl-2.

En esta misma línea la naftoquinona de origen vegetal lapachol (5), (Figura 3) presente en la familia *Bignoniaceae* ha sido uno de los más estudiados para el tratamiento de ciertos tipos de cáncer.¹⁶

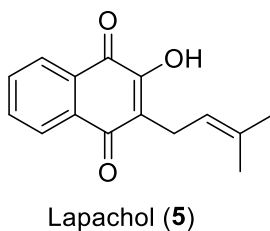
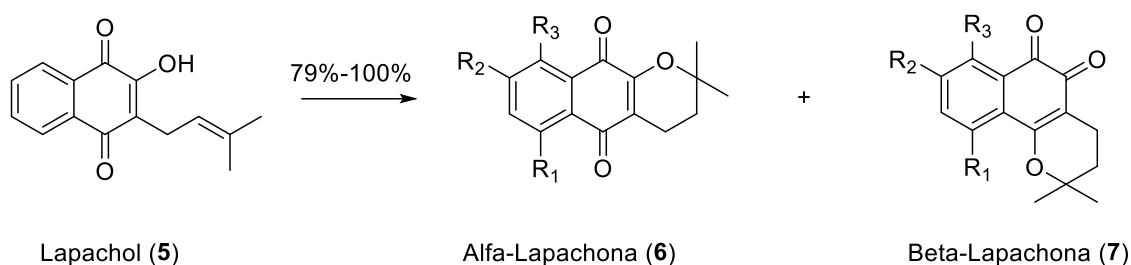


Figura 3. Estructura de Lapachol (5).

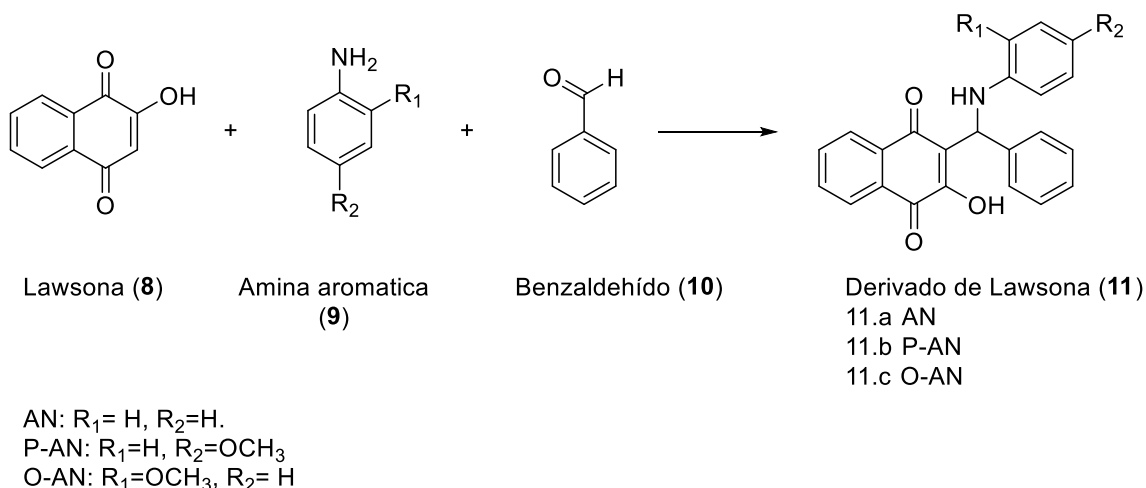
Uno de los estudios en el cual se evalúa el potencial antineoplásico de los derivados del lapachol, es el realizado por Rios Luci C y colaboradores,¹⁷ ellos han sintetizado varios derivados de la α y β-lapachona (6 y 7) (Esquema 1), mediante la ciclación promovida en medio ácido de lapachol. Para dichos derivados se evaluaron su actividad antiproliferativa en distintas líneas celulares tumorales humanas (HBL 100-mama, HeLa cervix, SW 1573 pulmón y WiDr

colon). La serie derivada de la β -lapachona mostró mejor actividad con GI_{50} en un rango de 0,029-2,0 μ M, respecto a la serie α -lapachona. El compuesto 7-hidroxi- β -lapachona resultó ser el más potente frente a diversas líneas celulares. Al comparar las actividades de los compuestos naturales respecto a los sintéticos, se observa la presencia de un grupo -OH en el sustituyente R_1 que incrementa la actividad anticancerígena, cuando se reemplaza por el grupo -OCH₃, la actividad se reduce. Ello se le atribuye la formación de un puente de hidrogeno entre el hidrogeno fenólico y el oxígeno quinónico lo que no ocurre en los derivados metoxilados.



Esquema 1. Síntesis de (6) α -lapachona y (7) β -lapachona. Derivados del (5) lapachol.

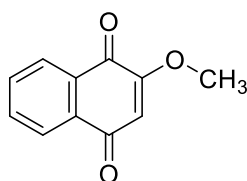
El experimento realizado por Citlali Garciaa y su equipo,¹⁸ consto de evaluar los potenciales efectos antibacterianos de los derivados de la lawsona (8) por microdilución de placa (500-15.62 ppm) sobre los microorganismos *Escherichia coli* (ATCC 11229), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442) y *Salmonella choerasius* (ATCC 1040). Para ello realizaron una ruta sintética mediante la reacción de Mannich entre la lawsona (8), una amina aromática (9) y benzaldehído (10). (Esquema 2) Teniendo como producto los β -amino carbonilos derivados de la lawsona (11); AN (Cuando la amina es la anilina), P-AN (cuando la amina es la p-anisidina) y O-AN (o-anisidina).



Esquema 2. Síntesis de nuevos amino derivados de (**8**) Lawsona.

Todos los compuestos demostraron poseer actividad contra las bacterias estudiadas, demostrando en todos los casos una mayor inhibición a la mayor concentración (500 ppm). Por lo tanto se pudo observar en todas las bacterias que con forme aumentaba la concentración del derivado, tendía a aumentar la capacidad de inhibición. Las mayores inhibiciones fueron para *E. coli* 90% del compuesto P-AN, *S. aureus* inhibida por el compuesto AN con 50%, *P. aeruginosa* 44% con AN y *S. choleraesius* con 79% para el compuesto P-AN.

Otro estudio fue el realizado Wang y Lin,¹⁹ que investigaron la citotoxicidad de la 2-metoxi-1,4-naftoquinona (**12**) (Figura 4) aislada a partir de *Impatiens balsamina* L. frente al adenocarcinoma gástrico. La cual presentó una concentración inhibitoria IC₅₀ de 4,52 ± 0.07 ug/mL, exhibiendo así una buena actividad anticancerígenas contra células humanas de cáncer estomacal MKN45. Se concluyó que dicha naftoquinona produce ROS en el interior de la célula originando una pérdida del potencial de membrana mitocondrial conduciendo a necrosis e induciéndose posteriormente la activación de la cascada intrínseca que conduce a apoptosis.



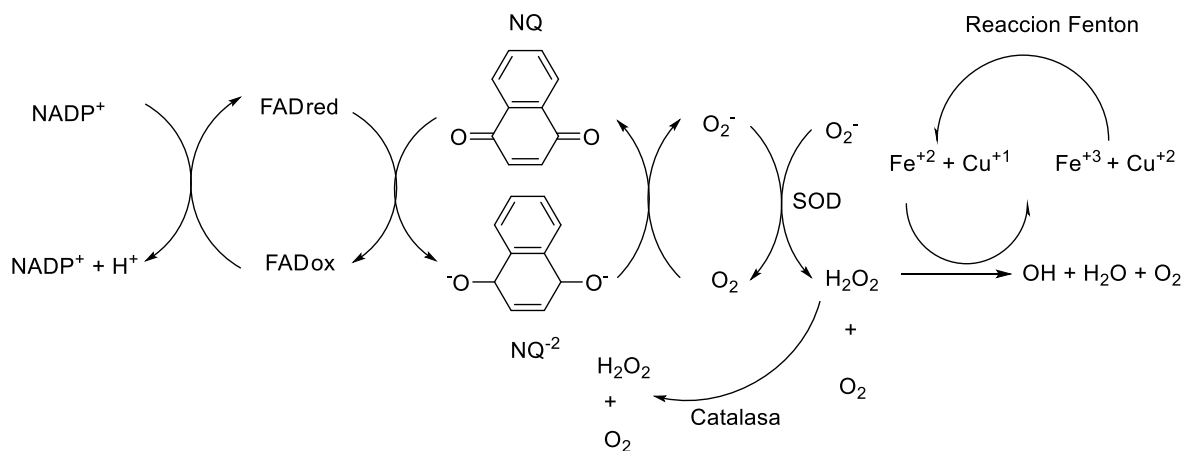
2-metoxi-1,4-naftoquinona (**12**)

Figura 4. Estructura de una metoxinaftoquinona (**12**).

1.2 Mecanismo de acción de naftoquinonas.

Si bien el mecanismo de acción de las naftoquinonas no está del todo dilucidado, existe evidencia de que actúan interfiriendo en la cadena de transporte de electrones en la mitocondria, ello se ha podido observar en especies *plasmodium*, inhibiéndose la síntesis de ácidos nucleicos y ATP.²⁰ De esta forma se presume que las naftoquinonas inducen estrés oxidativo en células formando especies O_2^- y/o H_2O_2 , favoreciendo el proceso de apoptosis debido a la peroxidación de lípidos y alteración del transporte electrónico con inhibición de la respiración celular.²¹

La quinona se reduce para formar el dianión, dicha reacción puede ser catalizada por flavonas NADPH citocromo P450 reductasa, NADPH citocromo b5 reductasa o NADPH ubiquinona oxido reductasa. Una vez formada la especie reducida o dianión, esta puede reducir el oxígeno molecular al radical superóxido (O_2^-) que en presencia de la enzima superóxido dismutasa (SOD) puede transformarse en H_2O_2 . El radical superóxido (O_2^-) por medio de la reacción de Fenton genera OH^- al interior de la célula (Esquema 3). Además, el H_2O_2 puede promover la oxidación de algunas biomoléculas como lípidos y proteínas, afectando su estructura primaria y funcionalidad.



Esquema 3. Procesos celulares oxidativos promovidos por la naftoquinona

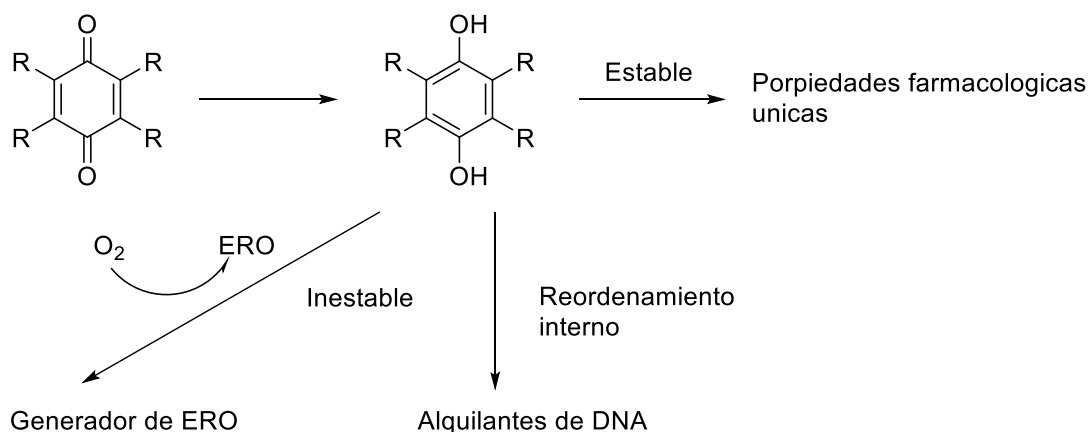
Si bien las células pueden responder al estrés oxidativo desencadenando mecanismos de desintoxicación que generan antioxidantes intracelulares como vitamina C, α -tocoferol (vitamina E) o bien mediante la actuación de varias enzimas como catalasa (CAT), glutatión reductasa (GSH) o la super oxido dismutasa (SOD). Si el daño oxidativo a la célula persiste, entonces los mecanismos de desintoxicación son insuficientes y se produce un

aumento de las especies oxidantes (O_2^- y H_2O_2) los cuales promueven el daño a componentes vitales como ácidos nucleicos y proteínas. Se ha visto además que el radical hidroxilo (OH^\cdot) generado por la reacción Fenton puede dañar el genoma celular provocando alteración en las señales de transcripción y provocando mutación de algunos genes.

Un estudio realizado *in vivo* que evidencia el mecanismo oxidativo de las naftoquinonas, fue uno donde se indujo a necrosis centrilobular causada por el acetaminofeno (paracetamol). En sobredosis el acetaminofeno puede sobresaturar los sistemas de detoxificación de xenobioticos, esto provocaría que pequeñas cantidades del fármaco quedarán libres para ser activadas por el citocromo P-450 del hígado, formando una iminoquinona, la cual alquila macromoléculas celulares como fosfolípidos de membrana y proteínas.²²

Una vez que las quinonas son reducidas a hidroquinonas existen tres posibles mecanismos por los cuales generan sus propiedades biológicas (Esquema 4).²³

- 1) Pueden generar hidroquinonas inestables que en presencia de oxígeno pueden generar especies radicalarias de oxígeno (ERO).
- 2) Pueden generar compuestos alquilantes de ADN.
- 3) Pueden volverse hidroquinonas estables con características únicas respecto a otras quinonas.



Esquema 4. Posibles mecanismos de acción de las hidroquinonas.

Respecto al papel biológico de las naftoquinonas como intercaladores o alquilantes de ADN, se ha documentado que las topoisomerasas I y II son blancos específicos de muchas quinonas.¹⁶ Ejemplo de esto es el β -lapachona (**7**) el cual inhibe la acción de la topoisomerasa I sobre el ADN.

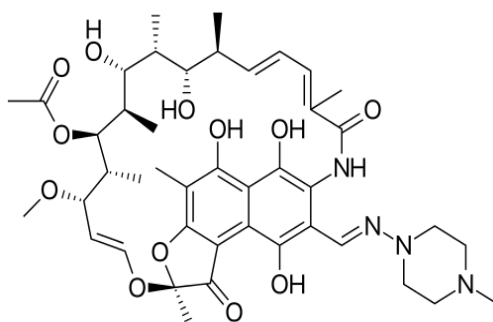
1.3 Aplicación de 1,4-naftoquinonas en síntesis orgánicas.

Debido a sus propiedades electrónicas, principalmente por poseer dos grupos funcionales carbonilos, junto con una insaturación α,β en uno de los anillos aromáticos, estas quinonas han sido utilizadas principalmente como aceptores de Michael²⁴ y como dienófilos en reacciones de cicloadición Diels-Alder, lo cual ha permitido la obtención de un gran número de compuestos.²⁵

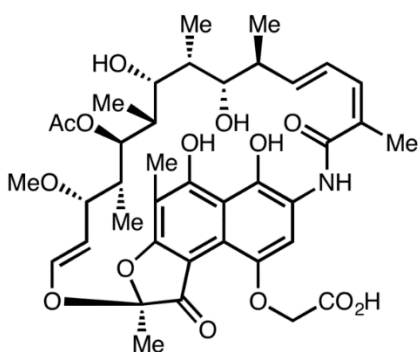
1.3.1. Síntesis y actividad biológica de aminoquinonas.

La reacción de aza-Michael es una reacción química muy importante, especialmente para la producción de antibióticos, antineoplásicos y moléculas bioactivas en general. La adición de aza-Michael implica la formación de un enlace C-N entre un donante de Michael que es el nitrógeno y una molécula que posea una insaturación, la cual actúa como aceptor de Michael. Este proceso culmina con la formación de un monoadducto que desafortunadamente es bastante difícil de sintetizar de manera selectiva, por ello es importante considerar que para esta reacción se requiere de un catalizador como por ejemplo un ácido de Lewis.²⁶

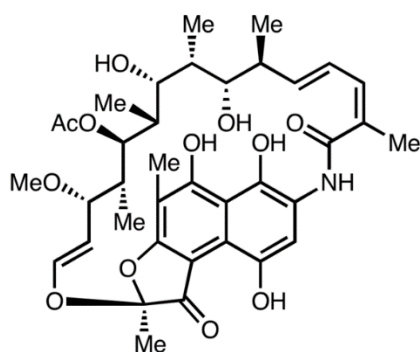
La síntesis de los derivados alquilamino de las naftoquinonas es de gran interés debido a que la introducción de un átomo de nitrógeno a la naftoquinona, converge en modificaciones de sus propiedades biológicas, estos compuestos presentan una potente actividad antitumoral²⁷ y antimalarica.²⁸ Es de destacar además que el grupo aminaftoquinona/aminohidroquinona es un componente natural de muchos antibióticos naturales como: rifampicina (**13**) y rifamicinas (**14 a** y **14 b**) (Figura 5).²⁹



(13) Rifampicina



(14 a) Rifamicina



(14 b) Rifamicina

Figura 5. Estructura química de rifampicina (13) y rifamicina (14 a y 14 b).

Otros ejemplos de la alteración en las propiedades biológicas como resultado de esta modificación son las: cribostatina I (15) y estreptonigrina (16) con actividad antibacteriana,^{30,31} la griffitazonona A (17)³² y las calotrixina A y B (18 a y 18 b) con actividad antitumoral y antimalarica (Figura 6).^{33,34}

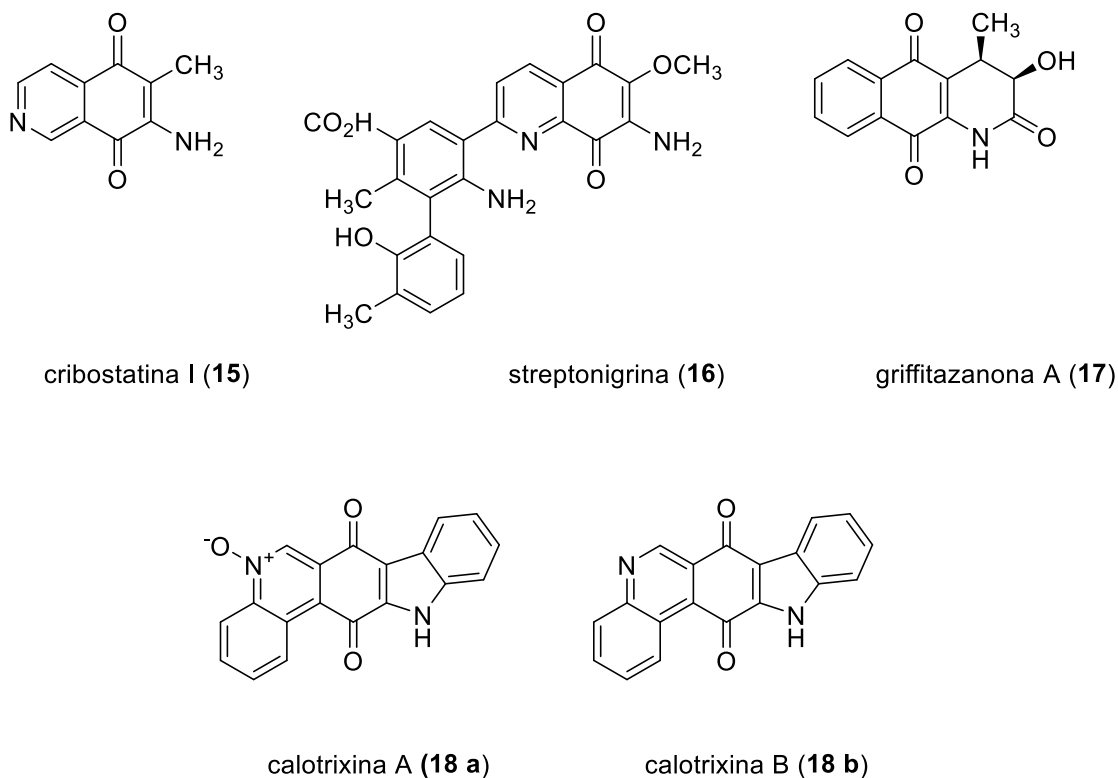
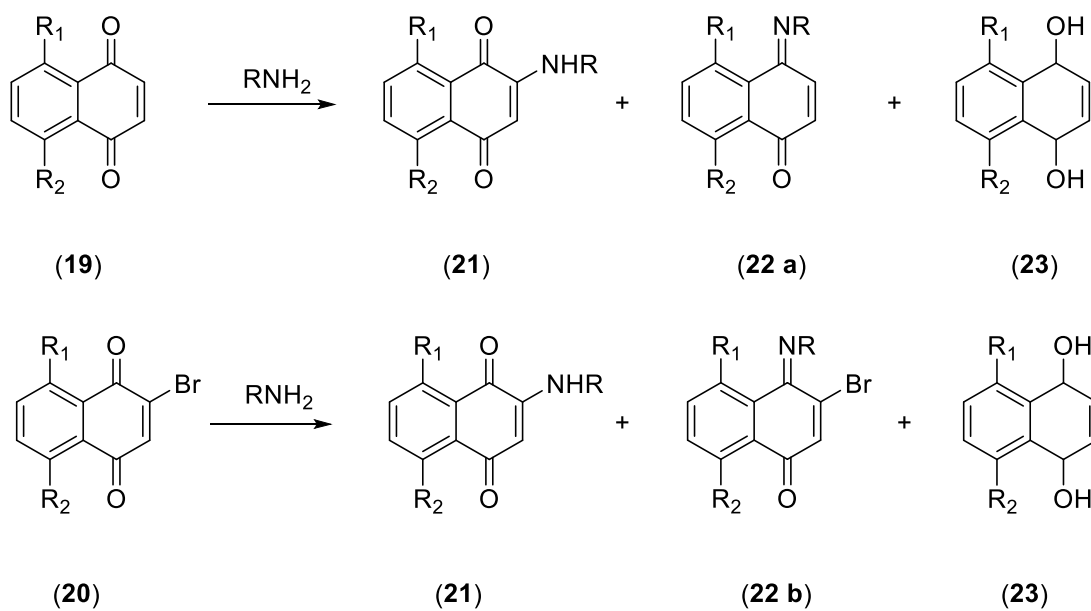


Figura 6. Estructura química de cribostatina (**15**), streptonigrina (**16**), griffitazanona (**17**) y calotrixina A y B (**18 a** y **18 b**)

La metodología de preparación de aminonaftoquinonas puede clasificarse en dos tipos, el primero involucra la adición 1,4 del grupo amino a la naftoquinona³⁵ y el segundo consiste en un desplazamiento nucleofílico de un sustituyente halogenado en el anillo de la naftoquinona.³⁶ En el esquema 5 se muestran ambas reacciones, sin embargo las desventajas en ambos métodos son los bajos rendimientos y mezclas de productos con aminas primarias, resultando en tediosas purificaciones.

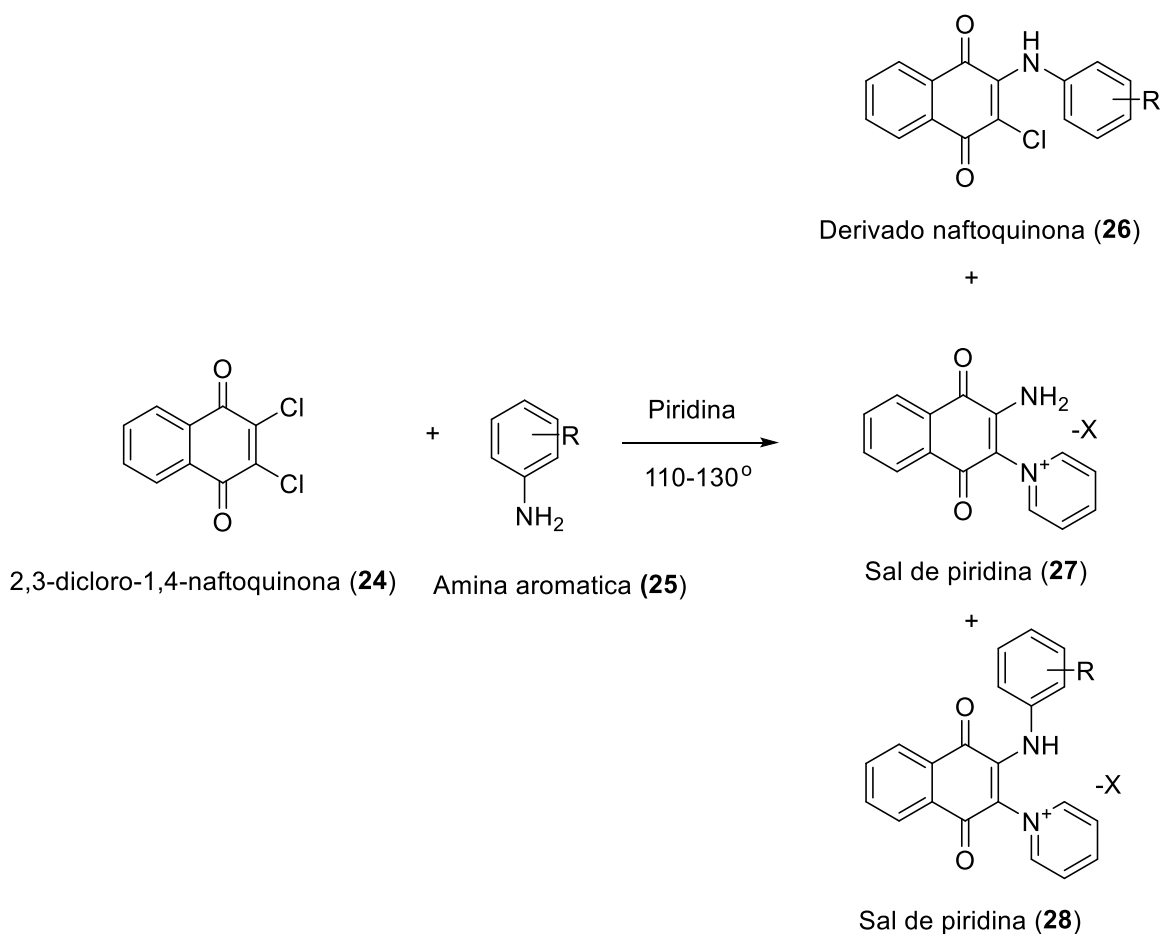
Factores que influyen en los bajos rendimientos pueden ser debido a las propiedades redox de las naftoquinonas, con la formación de un diol inerte (**23**). Por otra parte, la naftoquinona contiene varios centros electrofílicos de reactividad semejante, por lo que es posible la formación de los aductos para formar los productos **21**, **22 a** y **22 b**.³⁷ La presencia de los centros electrofílicos de reactividad semejante se explica debido a la naturaleza dicarbonílica α , β -insaturada en la estructura de la 1,4-naftoquinona, con una gran reactividad en el carbono β debido a la conjugación del doble enlace adyacente al grupo carbonilo.



Esquema 5. Síntesis de aminonaftoquinonas por adición y sustitución nucleofílica.

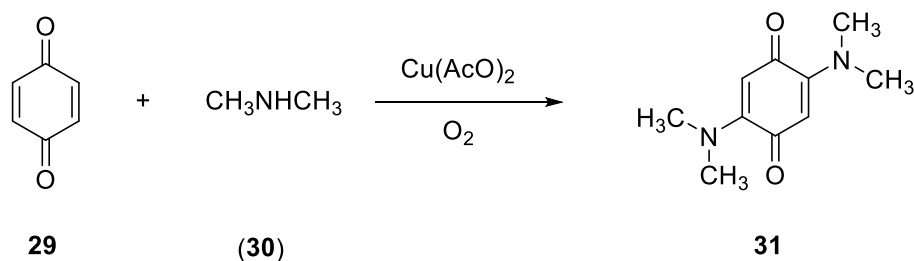
Por otra parte, se ha reportado la reacción entre 2,3-dicloro-1,4- naftoquinona (**24**) y algunas aminas aromáticas (**25**), esta reacción se requiere la utilización de piridina como disolvente temperaturas entre 110-130°C (Esquema 6). El resultado de esta reacción fue el compuesto **26**, además de la formación de las sales de piridina: **27** y **28**.

Las proporciones de los productos formados dependen del tipo de sustituyentes. Sí la anilina tiene grupos electrodonadores como son metilo, metoxi, alcoholes o aminas, la reacción se dirige hacia la formación del producto **26**. Por otro lado, sí la anilina posee grupos electroattractores como nitro o cloro se forman principalmente los productos derivados de las sales de piridina (**27** y **28**). Al utilizar a la piridina como solvente existe competencia entre las reacciones de adición y sustitución por las aminas y el solvente, esto es debido a las características básicas y nucleofílicas de los reactivos y del solvente.³⁸



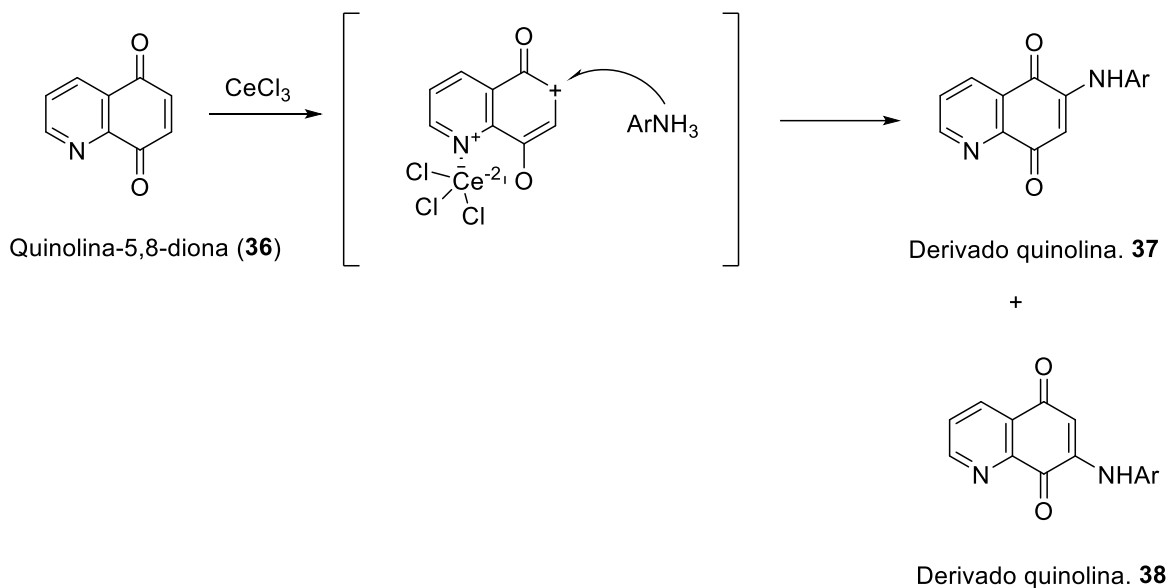
Esquema 6. Síntesis de derivados aminonaftoquinonas utilizando piridina como solvente.

Como se mencionó uno de los mayores problemas en cuanto a las reacciones de benzoquinonas y naftoquinonas con aminas, son los bajos rendimientos, para solucionar esto, se ha ideado el uso de oxidantes para aumentar el rendimiento de este tipo de reacciones, por ejemplo, se ha utilizado acetato de cobre (II) como agente oxidante para la reacción de la 1,4-benzoquinona **29** y la dimetilamina **(30)** con buenos resultados³⁹ (Esquema 7).



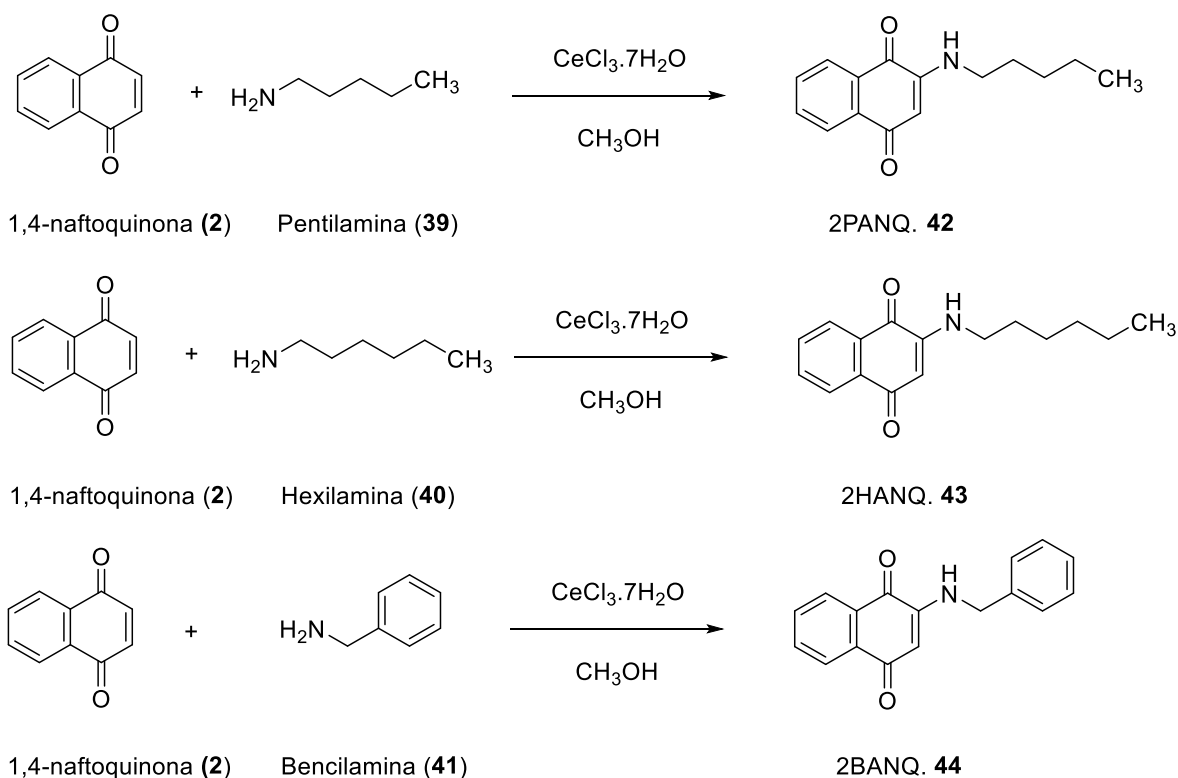
Esquema 7. Adición nucleofílica de dimetilamina a benzoquinona utilizando el Cu(AcO)_2 como agente oxidante.

Por otra parte Bukhtoyarova y colaboradores llevaron a cabo la síntesis de alquilamino derivados de la juglona (**3**)⁴⁰, dicha reacción se llevó a cabo en presencia de acetato de cobre (II) monohidratado. La reacción se realizó en etanol y se observó la formación de una mezcla de dos aminas: la 2-butilamino-juglona (**32**) y la 3-butilamino-juglona (**33**) con un 57% y 10% de rendimiento respectivamente (Esquema 8). Posteriormente la 2-butilamino-juglona, se hizo reaccionar con un exceso de butilamina (que se utilizó como solvente) en presencia del acetato de cobre formándose dos isómeros donde una segunda molécula de la butilamina ataca al anillo aromático de la naftoquinona. Cabe señalar que estos productos en donde reacciona la butilamina no se podrían formar en ausencia del acetato de cobre (II). Esto es debido probablemente a la introducción de un segundo grupo amino en la molécula de la naftoquinona, que se favorecida por la formación de un complejo con el cobre, el grupo hidroxílico y el grupo cetónico.



Esquema 9. *Reacción de adición nucleofílica entre quinolina 5,8-diona y naftilaminas.*

Remitiéndonos a la importancia de los catalizadores para sintetizar productos derivados de aminonaftoquinonas, Marlene Lariza y colaboradores⁴³ han reportado la síntesis de distintos derivados 2-(amino)-1,4-naftoquinona, en donde se utilizaron diferentes aminas alifáticas: pentilamina (**39**), hexilamina (**40**) y bencilamina (**41**) (Esquema 10). En este estudio se evaluaron distintas condiciones experimentales como: síntesis a temperatura ambiente (STA), síntesis por calentamiento convencional (SCC) y síntesis asistida por ultrasonido (SAU), todas estas utilizando $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ como catalizador. Respecto a los rendimientos, el producto **42** obtuvo un rendimiento bajo del 20% para STA y SCC respectivamente, mientras que obtuvo un rendimiento del 35% para SAU. En el caso del producto **43** se obtuvieron rendimientos bajos para STA y SCC con un 35% y 50% respectivamente comparado con SAU donde se obtuvo un rendimiento del 70%. El producto **44** por su lado obtuvo los mejores rendimientos con un 35% para STA y 70% para SCC respectivamente, sin embargo, en donde se obtuvo el mejor rendimiento fue en SAU donde el rendimiento fue del 88%.

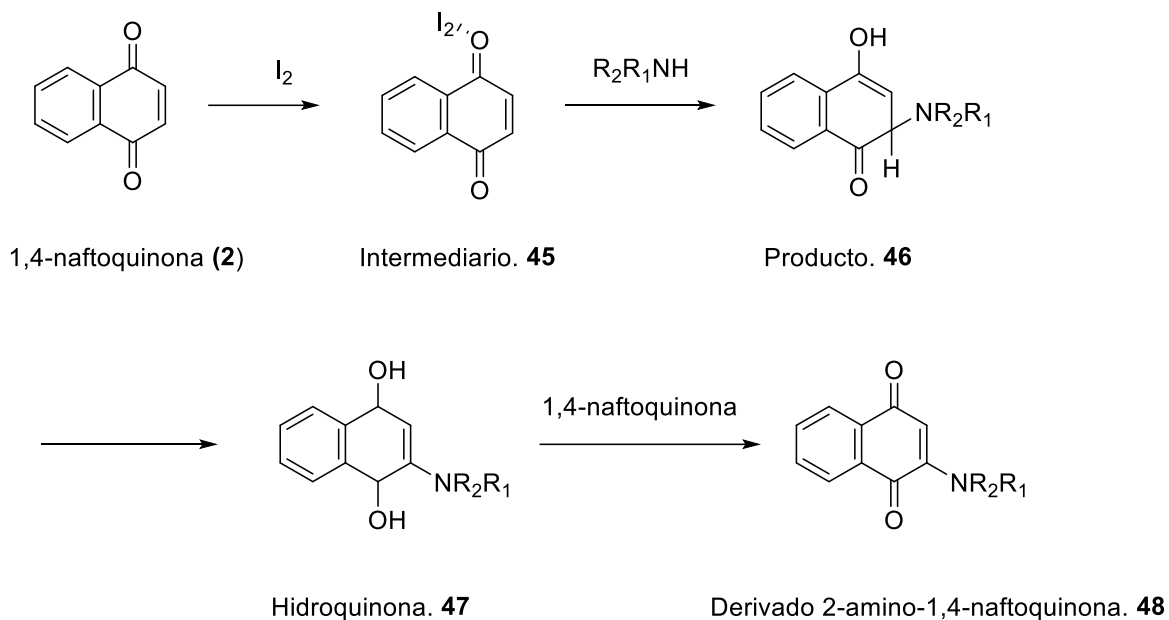


Esquema 10. Síntesis de derivados 2-amino-1,4-naftoquinonas utilizando distintas aminas primarias.

Para concluir los autores determinaron el potencial antibiótico de los productos obtenidos frente a cepas *Proteus sp.* y *Enterococcus Faecalis*.

Con respecto a esto, el compuesto **42** mostró una moderada actividad antibacteriana con una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 31,5 ug/mL, aunque la inhibición se presentó tanto para la bacteria gram positiva como gram negativa. El compuesto **43** presentó la más baja actividad antibacteriana con un CIM de 130 ug/mL para *Proteus sp.* y 125 ug/mL para *E. faecalis* sin embargo, se muestra cierta selectividad en la inhibición. Por último, el compuesto **44** presentó los mejores resultados con un CMI de 22.5 ug/mL para *Proteus sp.* y 31,5 ug/mL para *E. faecalis*.

Si bien numerosos estudios indican que utilizar CeCl_3 podría mejorar los resultados de rendimiento en la síntesis de aminonaftoquinonas, ciertamente el uso de otro tipo de catalizadores podría los mismos o incluso mejores resultados. Así es como Liu y Ji,⁴⁴ realizaron la síntesis de una serie de aminonaftoquinonas mediante una reacción de adición nucleofílica con diferentes aminas, utilizando I_2 como catalizador. (Esquema 11).

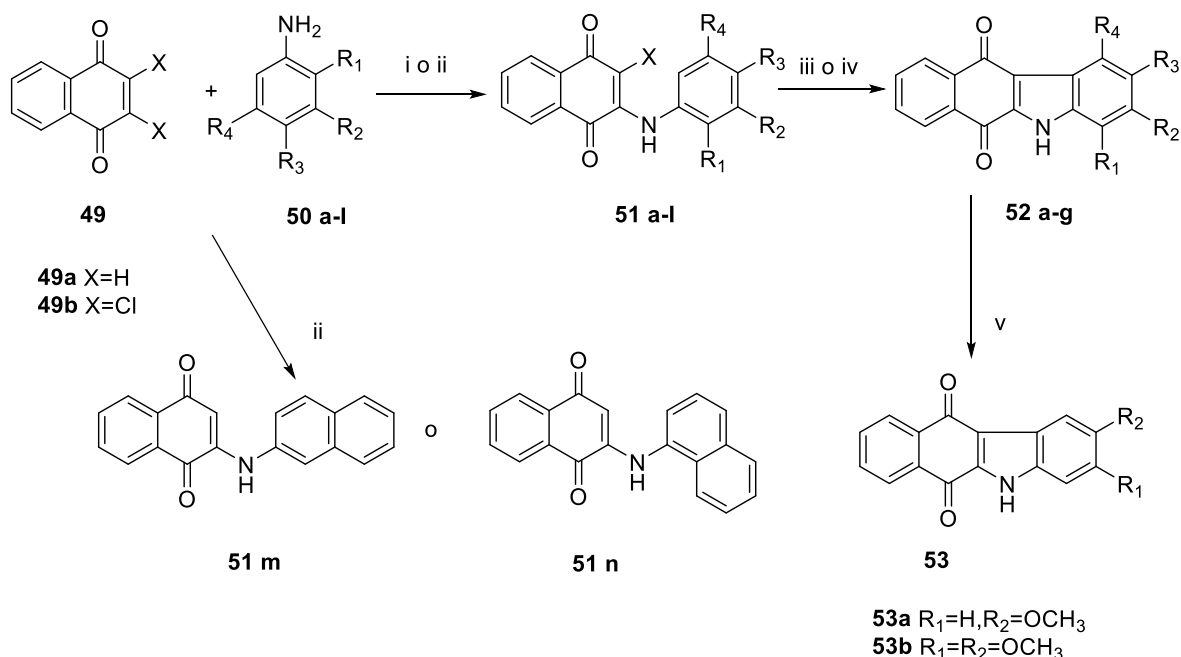


Esquema 11. Síntesis de aminoquinonas usando I_2 como catalizador.

En primer lugar, el yodo molecular activa al carbonilo de la 1,4-naftoquinona hasta dar el intermediario **45**, seguido de un ataque del grupo amino a la posición insaturada del intermediario **45** para dar la adición inicial del producto **46**. La adición inicial del producto **46** se tautomeriza a la hidroquinona **47**, con la subsecuente consecuencia de una rápida oxidación con otro equivalente de la 1,4 naftoquinona resultando en una 2-amino-1,4-naftoquinona **48**.

Adicionalmente estos autores indican que el uso de diferentes catalizadores metálicos, influyen en los porcentajes de rendimiento de la reacción. Siendo además del I_2 y $CeCl_3$, el nitrato de cerio amonio (CAN) uno de los que genera mejores resultados.

En el trabajo presentado por Ivan Sieveking y colaboradores,⁴⁵ se ha descrito la síntesis de derivados 2-fenilaminonaftoquinonas y 5H-benzocarbazole-6,11-diona, utilizando $CeCl_3 \cdot 7H_2O$ como catalizador (Esquema 12).



Esquema 12. Síntesis de derivados fenilaminoquinona y benzocarbazoledionas.

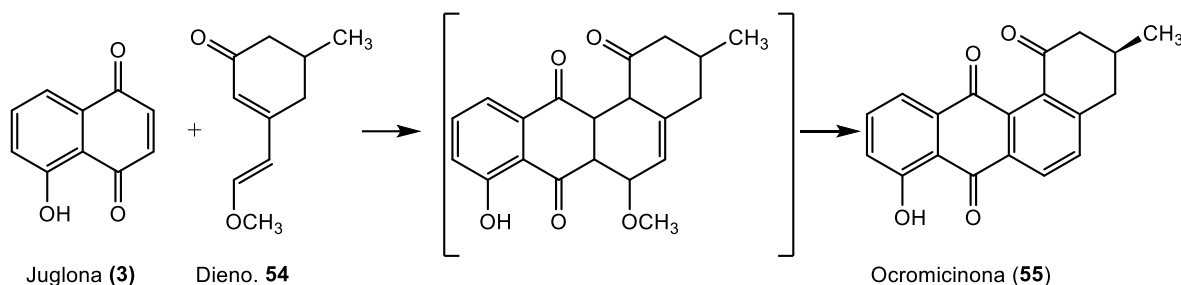
Condiciones de reacción: (i) etanol, temperatura ambiente, 24–72 horas; (ii) anilina **50 a–l**, 0,22 equivalentes de CeCl₃·7H₂O, etanol, temperatura ambiente, 12–24 horas; (iii) 0,9 equivalentes de Pd(OAc)₂, benzoquinona, AcOH, reflujo, 12–24 horas; (iv) 2–10 mol % Pd(OAc)₂, ácido pivalico, 140 °C, 12–24 horas ; (v) KOH, etanol, temperatura ambiente CH₃I, acetona, temperatura ambiente, 6 horas (85% de rendimiento de **53a** y 91% de rendimiento para **53b**).

La síntesis de 2-fenilnaftoquinonas **51 a–l** y posteriormente los 5H-benzo(b)carbazol-6,11-diona derivados **52 a–d** siguen la ruta general del esquema 12, el primer paso fue la sustitución de un aceptor del núcleo de la quinona **49 a** y **b** por un derivado de anilina **50 a–l** o bien una naftilamina, para ello se pueden utilizar dos diferentes metodologías (i o ii) reportadas en la literatura.^{46,47} Utilizando la metodología ii y al CeCl₃·7H₂O como catalizador-acido de Lewis se incrementa el porcentaje de rendimiento obtenido. Debido a la importancia que conlleva el átomo de nitrógeno en sistemas tricíclicos, el grupo decidió obtener benzocarbazolequinonas ya que algunas de ellas y otros compuestos relacionados a **52 a–g** exhiben importantes propiedades antineoplásicas y antiparasitaria.^{48–50} Para la biaril ciclodehidrogenación de **51 a** a benzocarbazolequinonas, el equipo usó el proceso descrito por Luo y colaboradores⁵¹ en un proceso catalizado por paladio (II) en ácido acético (metodología iii). El uso de ácido pivalico como solvente en altas temperaturas aumenta el rendimiento de este paso (iv).⁵²

1.4 Quinonas como dienófilos en reacciones de cicloadición Diels-Alder.

El grupo de productos naturales anguciclinas y sus agliconas las anguciclinonas, son un grupo de moléculas naturales, producidas como metabolitos secundarios de bacterias Actinomycetes formadoras de esporas, con gran variedad estructural y diversas actividades biológicas, predominantemente anticancerígenos y antibacterianos.⁵³ Debido a estas propiedades un gran número de investigadores ha enfocado su atención en la síntesis de estos compuestos naturales y/o la búsqueda de nuevos derivados sintéticos, con el objetivo de mejorar o potenciar sus actividades biológicas.

Un ejemplo es Ocromicinona (**55**), compuesto natural aislado desde *Streptomyces* con propiedades antibióticas, el cual fue sintetizado por Guingant y Barreto⁵⁴ quien utilizó la reacción de cicloadición Diels-Alder para la síntesis de **55**. Esta reacción requiere del dienófilo 5-hidroxi-1,4-naftoquinona (**3**) y el dieno *push-pull* **54**, en esta estrategia sintética el correspondiente aducto Diels-Alder, que no se aísla, experimenta una reacción de eliminación y por posterior oxidación aeróbica genera la Ocromicinona (**55**) (Esquema 13).

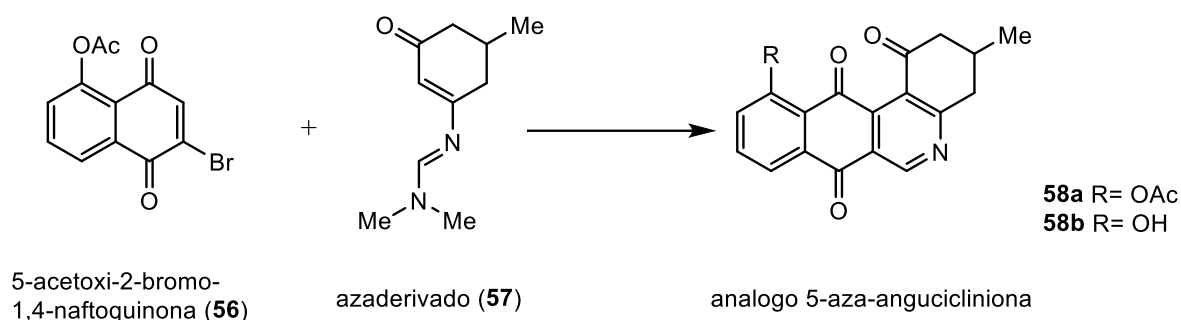


Esquema 13: Síntesis de Ocromicinona (**55**) mediada por una reacción Diels-Alder

Según Paul Krapcho el reemplazo bioisostérico del grupo CH aromático por un átomo de nitrógeno en fármacos anticancerígenos (ejemplo: ametantrona y mitoxantrona)⁵⁵, derivan en aza-análogos con actividad citotóxicas comparable a la de sus progenitores carbocíclicos, presentando, además, una acentuada actividad frente a líneas tumorales resistentes a doxorubicina.⁵⁶ Lo anterior ha demostrado ser una estrategia eficaz para diseñar nuevos compuestos antitumorales. En este contexto los derivados aromáticos N-heterocíclicos podrían retener potencialmente la forma planar del cromóforo del fármaco necesaria para el reconocimiento molecular del huésped. Asimismo, las propiedades básicas y de atracción de electrones de los N-heterociclos parecen mejorar la afinidad por el objetivo biológico y/o el mecanismo redox cíclico.⁵⁷

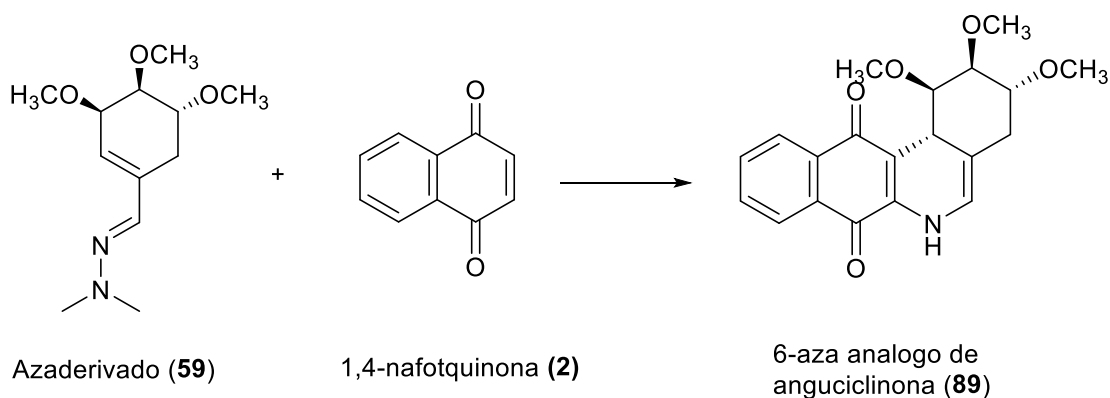
La síntesis de aza-derivados del cromóforo Benzantraquinona de las anguciclinas y anguciclinonas ha recibido relativamente poca atención a pesar de la actividad antitumoral de varios miembros de esta familia de antibióticos.

Usando azadienos en lugar de vinil ciclohexanos, Guingant y colaboradores^{58,59} lograron sintetizar diferentes 5-aza-análogos no naturales de anguciclinonas. Ellos hicieron esta reacción con diferentes bromo-juglonas sustituidas para la síntesis de una serie de 5-aza-anguciclinas. Mas recientemente el mismo grupo preparo diferentes azadienos quirales (**57**), todos ellos usados en la síntesis de análogos quirales de 5-aza-anguciclinonas **58a** y **58b** (esquema 14).⁶⁰



Esquema 14. Síntesis de analogos 5-aza-anguciclinonas.

Por último, nuestro grupo de investigación ha realizado la síntesis de nuevos 6-azaanalogos de anguciclinonas.^{61,62} Un ejemplo de estos trabajos es la obtención del 6-azaanálogo **89** el cual posee un fragmento de (-) ácido shikimico (esquema 15), este compuesto fue evaluado frente a cuatro líneas celulares: PC-3, HT-29, MCF-7 y CoN, con valores de IC50 de $25,6 \pm 4,7$, $35,4 \pm 5,9$, $57,2 \pm 9,5$ y $57,9 \pm 4,3$ respectivamente.



Esquema 15. Síntesis de aza análogo de anguciclinona mediante reacción de Diels-Alder.

HIPÓTESIS

Considerando como base argumental el marco teórico antes señalado y destacando las características químico-estructurales de las naftoquinonas, referentes a su centro electrófilo α - β insaturado y su reactividad con aminas, la hipótesis de este trabajo es:

“La reacción de aza-Michael entre un derivado amino primario, obtenido desde (-) ácido shikimico, y naftoquinona conducirá a la obtención de un nuevo derivado aminonaftoquinona con actividad citotóxica”.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Sintetizar mediante adición de Michael un nuevo derivado aminonaftoquinona obtenido a partir de (-)-ácido shikimico y evaluar su potencial actividad citotóxica.

Objetivo específico

1. Sintetizar el amino derivado trimetoxilado **87** obtenido a partir del (-) ácido shikimico, según esquema 16.
2. Acoplar a través de Reacción de Michael el amino derivado trimetoxilado **87** con 1,4-naftoquinona (**2**), utilizando dos diferentes catalizadores.
3. Evaluar el potencial antineoplásico del nuevo amino naftoquinona derivado **88**, sobre tres líneas celulares de cáncer: MCF-7 (cáncer de mama), HT-29 (cáncer de colon) y PC-3 (cáncer de próstata). Utilizando como control la línea celular CoN (colon humano).
4. Comparar los datos de actividad citotóxicas del nuevo derivado **88**, con los resultados reportados con compuestos estructuralmente relacionados **89** y **90**.

METODOLOGÍA

Materiales y Métodos

Materiales y métodos químicos

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

Pesado: las muestras fueron masadas con balanza analítica Radwag® AS 220/C/2

Cromatografía en capa fina: Se realizaron en cromatofolios de sílica gel de Merck® 60F₂₅₄. Fueron diluidas con mezclas de metanol /acetato de etilo o acetato de etilo/hexano en proporciones adecuadas a cada muestra. Los cromatogramas se revelaron con Hanessian (solución de sulfato de selenio y molibdato amónico en H₂SO₄ 10%) y con luz UV (Lámpara UV (254 nm y 365 nm) Viber Loumat®).

Cromatografía en columnas: Se realizaron con sílica gel 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 en un rotavapor Buchi® R210.

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

Rotaciones específicas ([α]_D): Se determinaron en un polarímetro Polax-2L® con una lámpara LED (λ =589 nm, en la línea D) en una celda de 1 dm. Las mediciones se realizaron en solución metanólica y clorofórmica, según se indique. Las concentraciones se expresan en gramos por 100 mL.

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

Evaluación de actividad citotóxica

- **Condiciones para el cultivo celular**

Las líneas celulares experimentales se obtienen de American Type Culture Collection (Rockville, MD, USA). Las células corresponden a 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) que se cultivan en medio Dulbecco's Modified Eagle's que contiene 10% de suero fetal bovino (FBS), 100 U/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomina y 1 mM de glutamina. Las células son sembradas en placas de microtitulación de 96 pocillos, se siembran a una densidad de 3000 células/pocillo. Para lograr la adhesión de las células estas son incubadas por 24 horas a 37°C, 5% de CO₂, 95% aire y 100% humedad relativa. 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 sólo DMSO al 0,1%.

- **Ensayo de Inhibición de la viabilidad celular en líneas de cáncer**

El ensayo de rodamina B (SRB) fue usado de acuerdo al método de Skehan y cols. 1990. Las líneas celulares se cultivan en las condiciones normales anteriormente descritas. Los compuestos a evaluar se solubilizan en DMSO a una concentración final (0,1M) y se almacenan a -20°C. Las células se exponen a diferentes compuestos y a distintas concentraciones por 72 horas, al finalizar el tiempo de exposición las células serán fijadas *in situ* con ácido tricloroacético a 50% a 4°C por una hora. El medio (sobrenadante) es descartado mediante el lavado de placas (3 veces) con agua y luego secadas al aire. Posteriormente las células son teñidas con 50 µL/pocillo de solución de SBR (0,1% en 1% ácido acético), son incubadas a temperatura ambiente durante 30 minutos. Tras la tinción, se realizan tres lavados con ácido acético 1% hasta remover el excedente de tintura y se secan al aire. Las proteínas unidas a la tintura son solubilizadas con 100 µL de solución de Tris tamponada 10 mM y la densidad celular se determina a partir de la absorbancia determinada en un lector de placas a una longitud de onda 540 nm. Los valores informados son la media ± desviación estándar de tres experimentos independientes en que cada uno contó con triplicados.

- **Cálculos de porcentaje de viabilidad**

El análisis de los resultados se expresó como el promedio de los valores

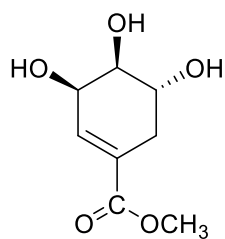
de la densidad óptica y de los valores de desviación estándar (DS) calculados para cada concentración de compuesto evaluado, comparados con el control correspondiente (DMSO). El porcentaje de viabilidad se obtuvo de la siguiente forma:

% viabilidad= (DO células tratadas/ DO células control) x 100.

EXPERIMENTAL

Síntesis de compuestos

Síntesis del compuesto **81**



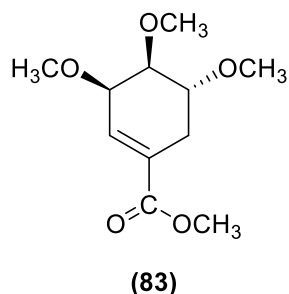
(81)

A una solución de (-) ácido shikímico (**80**) (1g, 5,75 mmol) en 50 mL de MeOH, se le agregaron 5 gotas de H₂SO₄. La solución resultante fue agitada por 24 horas a 65 °C, transcurrido ese tiempo se le agregó NaHCO₃ (1g, 11,90 mmol) y se agitó por otros 30 minutos. La solución resultante se filtró y concentró para posteriormente ser purificada en cromatografía de columna, obteniéndose el compuesto **81** (1,05 g, 5.61 mmol, 97 % de rendimiento) como un sólido de color blanco, con punto de fusión de 114-115 °C.

¹H-RMN (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).

¹³C-RMN (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 compuesto 83

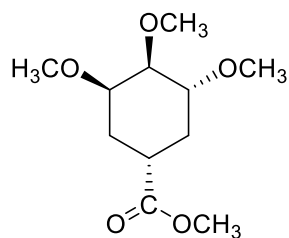


A una solución del compuesto **81** (1,05 g, 5,61 mmol) en 25 ml de CH₃CN se le agregaron 2.00 g de NaOH, la mezcla resultante se mantuvo en agitación por 4 a temperatura ambiente. Finalizado este tiempo se agregaron 5 mL de CH₃I y dejó agitar por 24 h a temperatura ambiente, posteriormente a la suspensión se le agregó 0.5 mL de H₂SO₄ y se realizó una extracción en una mezcla de AcOEt/Agua. Se procedió a evaporar el solvente con el uso del rotavapor. 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 **83** (0,76 g, 3,30 mmol, rendimiento 59 %), aceite de color blanco. $[\alpha]_D^{25} = -117,3$ (c = 1,2; CH₂Cl₂).

¹H RMN (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).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ: 166,8 (C-7), 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 compuesto **84**



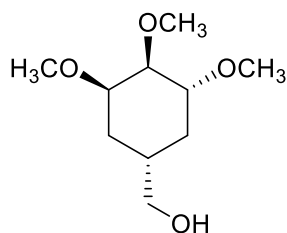
(84)

A una solución del compuesto **83** (0,76 g, 3,32 mmol) en metanol (30 mL) se agregó 60 mg de Pd/C al 10%. A la mezcla se adicionó hidrogeno y se mantuvo en agitación a temperatura ambiente por 1 h. Luego la mezcla fue filtrada y concentrada a presión reducida. El extracto fue purificado por CC obteniéndose el compuesto hidrogenado **84** (0,7 g, 3,32mmol) con 99% de rendimiento como un aceite incoloro. $[\alpha]_D^{25} = -25,9$ (c = 1,2; CHCl₃).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 3,63-3,60 (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).

¹³C- RMN (100 MHz, CDCl₃) δ 172,12 (C-7), 77,33 (C-5), 76,69 (C-4), 76,06 (C-3), 58,44 (OCH₃), 56,65 (OCH₃); 56,39 (OCH₃), 51,53 (COOCH₃), 35,96 (C-1), 27,41 (C-2), 26,26 (C-6).

Síntesis del compuesto 85



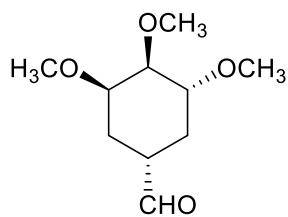
(85)

A una solución del compuesto **84** (1,4 g, 6,86 mmol) en 30 mL de tolueno anhidro, bajo ambiente de nitrógeno y a una temperatura de $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ se agregaron 10 mL del reactivo DIBAL-H gota a gota (10 mL 1M en tolueno, 10 mmol). 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 1mL de agua destilada. La mezcla se dejó agitar por 30 minutos para luego ser filtrada y concentrada. Finalmente, el producto resultante fue purificado por cromatografía de columna utilizando gel silica como fase estacionaria y AcEt como fase móvil, obteniéndose el compuesto **85** (1,28 g, 6,28 mmol, rendimiento del 94%) como un aceite incoloro, $[\alpha]_D^{27} = +33,8$ ($c = 0,4$; CHCl_3).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 3,57 (1H, d, $J = 2,5$ Hz, CH_2OH), 3,50 (1H, sa, CH_2OH), 3,38-3,36 (3H, m, H-3, H-4, H-5), 3,36 (3H, s, OCH_3), 3,30 (3H, s, OCH_3), 3,26 (3H, s, OCH_3), 2,82-2,74 (1H, m, H-1), 1,75-1,68 (2H, m, H-2), 1,27-1,18 (2H, m, H-6).

^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ 77,57 (C-5), 77,19 (C-4), 76,43 (C-3), 67,47 (CH_2OH), 58,48 (OCH_3), 56,48 (OCH_3), 56,24 (OCH_3), 33,10 (C-1), 28,02 (C-2), 26,59 (C-6).

Síntesis del compuesto 86



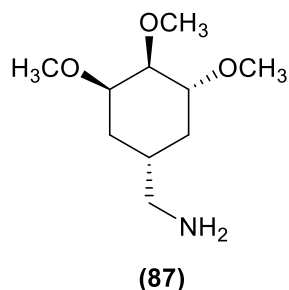
(86)

A una solución del compuesto **85** (1,28 g, 6,34 mmol) se le añadieron 20 mL de CH₂Cl₂, 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 Et₂O y el residuo gomoso se filtró en una columna corta de sílice, usando como eluyente AcOEt. El filtrado se concentró, obteniéndose el compuesto **86** (0,65 g, 3,23 mmol, rendimiento 51%) como un aceite transparente. $[\alpha]_D^{27} = -32,7$ (c = 0,6; CH₂Cl₂).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) 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 (3H, s, OCH₃), 3,35 (3H, s, OCH₃), 3,34 (3H, s, OCH₃), 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).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ 202,95 (HC=O), 76,92 (C-3), 76,00 (C-5), 75,86 (C-4), 58,40 (OCH₃), 56,96 (OCH₃), 56,67 (OCH₃), 43,57 (C-1), 25,41 (C-2), 24,33 (C-6).

Síntesis del compuesto **87**



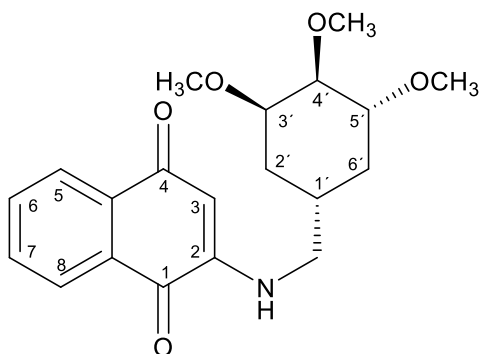
A una solución del aldehído (**86**) (0,31 g, 1,51 mmol) en etanol con NH₄OAc (20 mL) se le añadió NaCNBH₃ (283 mg, 4,5 mmol) y 10 mL de NH₃ 25% acuoso. La mezcla se agito a reflujo durante 18 horas, luego se dejó enfriar a temperatura ambiente y se concentró bajo presión reducida.

Luego se agregó una mezcla de agua y acetato de etilo y se le añadió Na₂CO₃, se separó la fase orgánica y se volvió a extraer con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se concentraron en el rotavapor y el crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna; obteniéndose 100 mg de la amina primaria **87** (0,49 mmol, rendimiento 33%) como un líquido transparente. $[\alpha]_D^{27} = -26,0$ (c = 0,4; CH₂Cl₂).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) 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, NCH₂), 3,43 (3H, s, OCH₃), 3,37 (3H, s, OCH₃), 3,32 (3H, s, OCH₃), 1,85-1,69 (3H, m, H-1, H-2a, H-6a), 1,39-1,27 (2H, m, H-2b, H-6b).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ 77,22 (C-3), 76,68 (C-5), 76,24 (C-4), 67,47 (NCH₂), 58,30 (OCH₃), 56,54 (OCH₃), 56,38 (OCH₃), 33,04 (C-1), 28,06 (C-2), 26,52 (C-6).

Síntesis de 2-(((1R,3R,4R,5R)-3,4,5-trimetoxiciclohexil)metil)amino)naftaleno-1,4-diona.



(88)

Esta síntesis fue realizada en paralelo con 2 catalizadores distintos, los cuales fueron CAN y CeCl_3 .

En 20 mL de etanol se añadieron 100 mg del compuesto **88** (0,49 mmol) y 106 mg de la aminonaftoquinona (0,63 mmol), posteriormente se añadieron 65 mg del catalizador (CAN o CeCl_3) y se calentó a reflujo por 2 horas para luego dejar agitando por 12 horas a temperatura ambiente. Transcurrido este periodo, la solución resultante fue concentrada al rotavapor y luego se purificó por CC, obteniendo:

Con CAN se obtuvieron 42 mg de la aminoquinona. (0,11 mmol, rendimiento 22%)

Con CeCl_3 se obtuvieron 95 mg de la aminoquinona (0,26 mmol, rendimiento 53%)

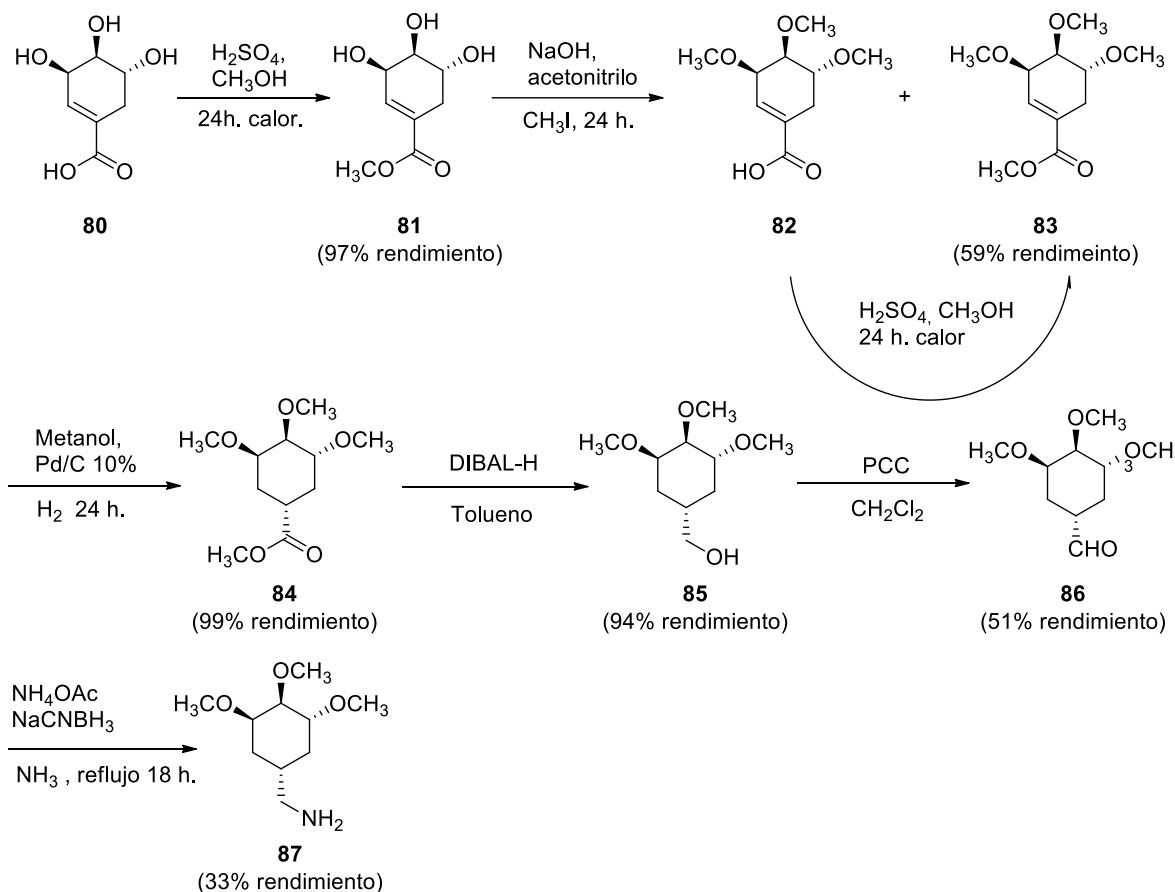
^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 8,01 (1H, d, $J = 7,7$ Hz, H-5), 7,96 (1H, d, $J = 7,6$ Hz, H-8), 7,66 (1H, t, $J = 7,5$ Hz, H-7), 7,55 (1H, t, $J = 7,6$ Hz, H-6), 6,05 (1H, sa, NH), 5,74 (1H, s, H-3), 3,61 (1H, m, H-5'), 3,57 (1H, m, H-4'), 3,44-3,37 (4H, m, H-3', OCH_3), 3,36-3,31 (3H, m, OCH_3), 3,30-3,26 (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', H-2'a), 1,33 (2H, m, H-6'), 1,23-1,19 (1H, m, H-2'b).

^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ 182,88 (C-4), 181,72 (C-1), 147,97 (C-2), 134,66 (C-6), 133,49 (C-4a), 131,86 (C-7), 130,35 (C-8a), 126,16 (C-5), 126,04 (C-8), 100,74 (C-3), 77,20 (C-3'), 76,42 (C-5'), 76,12 (C-4'), 58,55 (OCH_3), 56,69 (OCH_3), 56,36 (OCH_3), 48,04 ($\text{CH}_2\text{-N}$), 29,82 (C-1'), 29,34 (C-6'), 28,14 (C-2'). HRMS (ES^+): m/z calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{NO}_5$ [M^+]: 359.1733, encontrado 359.076.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Ruta de síntesis para la obtención de la amina primaria **87**

Para sintetizar este nuevo derivado de aminonaftoquinona es necesario obtener el compuesto **87**, el cual se sintetizó a partir de (-)-ácido shikímico **80**. La ruta de síntesis se explica en el siguiente esquema.



Esquema 16. Ruta de síntesis de amino derivado a partir de (-) ácido shikímico.

La ruta sintética comienza con una esterificación de Fisher de (-)-ácido shikímico (**80**), obteniendo el metilester **81** como un sólido blanco con rendimiento cuantitativo. La obtención del trimetoxi shikimato de metilo **83** fue llevada a cabo bajo condiciones básicas, luego fue adicionado yoduro de metilo (CH_3I) donde se obtuvo el compuesto deseado. El inconveniente de este paso fue la hidrólisis del grupo metil ester generando el compuesto no deseado **82**, el cual bajo la metodología de la esterificación de Fisher fue reconvertido al compuesto **83**. Posteriormente se procedió a reducir el doble enlace del compuesto **83**, para ello se añadió hidrógeno en presencia de Pd/C al 10% obteniéndose el compuesto **84**. La posterior reducción del trimetoxi metilester **84** con DIBAL-H produjo el alcohol **85** con un 94 % de rendimiento y la oxidación del alcohol con PCC dio como el aldehído **86** con un 51 % de rendimiento. Finalmente se procedió a realizar la síntesis de la

amina primaria **87** mediante la adición del reactivo cianoborohidruro de sodio bajo las condiciones descritas en el esquema 16.

La estereoquímica del carbono C-1, para los compuestos **84**, **85**, **86** y **87**, se determinó utilizando el aldehído **86** debido a la claridad que presentaban las señales en el espectro ^1H de RMN; se realizó un experimento de resonancia magnética nuclear NOESY, en el cual se irradió selectivamente la señal correspondiente al protón H-1 ($\delta=2,45$ ppm) y se observó que presentaba un efecto NOE con el protón H-5 ($\delta=3,55$ - $3,49$ ppm). Esto puede ser observado en la figura 6, donde se aprecia la interacción 1,3-diaxial entre el H-1 y H-5.

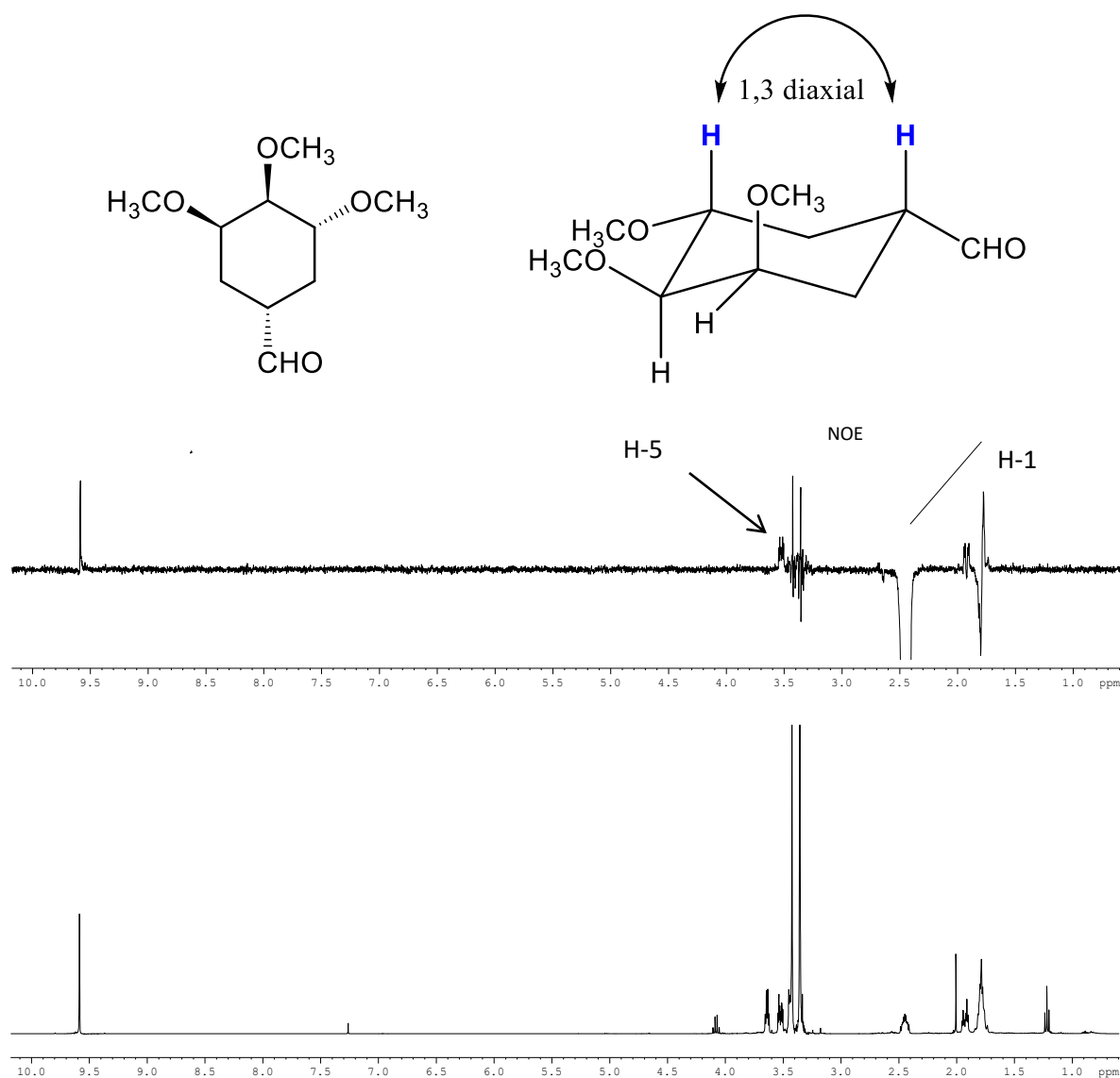
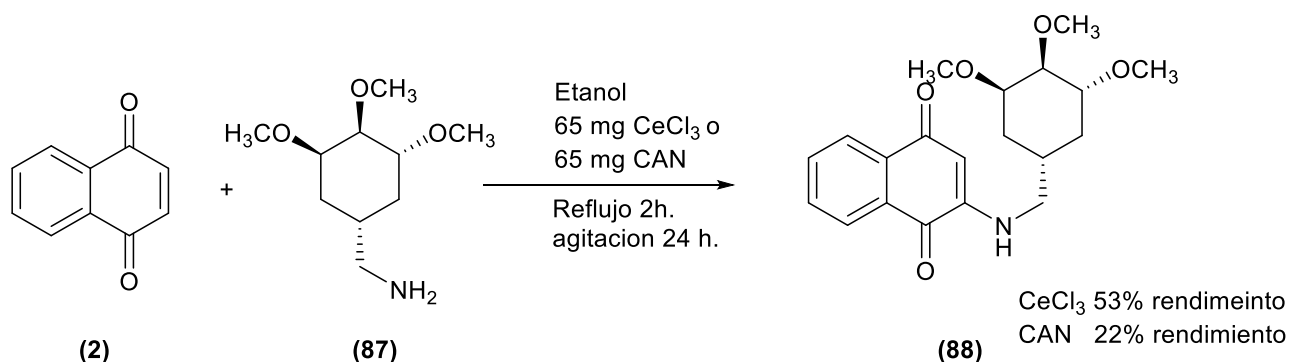


Figura 6. Abajo: espectro de protones del aldehído **86**. Arriba: espectro de protones NOESY donde se aprecia la señal irradiada, correspondiente a H-1; esta presenta NOE con H-5.

La estereoquímica adoptada en C-1 se debe a que en el proceso de hidrogenación del compuesto **83**, se obtiene el compuesto termodinámicamente más estable, en donde el grupo aldehído queda con disposición ecuatorial que radica en una molécula que presenta tres de los cuatro sustituyentes en el anillo en posición ecuatorial (figura 6).

2. Síntesis de la 2-amino-naftoquinona **88**

Una vez obtenida la molécula **87**, se procedió al acoplamiento con 1,4-naftoquinona (**2**) mediante reacción de aza-Michael, utilizando dos catalizadores diferentes. (Esquema 17)



Esquema 17. Síntesis de la 2-amino naftoquinona a partir de ácido shikimico.

En el presente trabajo se sintetizó el derivado 2-amino-naftoquinona **88** utilizando dos catalizadores distintos, los cuales fueron CAN y CeCl₃, cada uno con porcentaje de rendimiento diferentes.

La utilización de estos ácidos de Lewis se debe a que estos producen una interacción del catalizador con la quinona, formando un complejo que favorece el ataque nucleofílico de la amina primaria hacia el centro electrófilo α - β insaturado, desplazando la carga hacia el oxígeno del carbonilo. La regeneración del grupo carbonilo junto con la reducción del doble enlace adyacente genera un intermediario neutro que es oxidado dando lugar a la formación del derivado 2-amino-1,4-naftoquinona.⁹

Para las reacciones de aza-Michael, es importante que los catalizadores cumplan dos características fundamentales, las cuales son actuar como un agente oxidante y ser un ácido de Lewis. En la presente tesis se utilizaron dos catalizadores, ambos cumplían con las características antes señaladas, sin embargo, el mejor rendimiento fue alcanzado cuando se utilizó CeCl₃ (53% de rendimiento) por sobre CAN (22% de rendimiento), este hecho podría ser explicado si consideramos que el CeCl₃ es un mejor agente oxidante, por lo cual regenera más rápidamente la naftoquinona, en el último paso de la reacción.

Otros estudios también han reportado la superioridad del CeCl_3 frente a otros catalizadores.²⁶

3. Determinación estructural del producto **88**

La determinación estructural del compuesto **88** fue establecida mediante técnicas espectroscópicas mono y bidimensionales de resonancia magnética nuclear (^1H -RMN, ^{13}C -RMN, HSQC y HMBC).

En el espectro ^{13}C -RMN se observan dos señales a δ 182,88 ppm y 181,72 ppm correspondientes a los carbonilos en la posición 4 y 1 de la molécula respectivamente. El carbono carbonílico C-4 (δ 182,88 ppm) fue asignado debido a que en el espectro 2D HMBC este presenta un acoplamiento a larga distancia 3J entre el carbono carbonílico C-4 (δ 182,88) y H-5 (δ 8,01). Por otro lado, el carbonilo en la posición 4 presenta un acoplamiento 2J con el hidrogeno unido al C-3 (δ 5,74), de esta manera quedan determinados ambos carbonos carbonílicos de manera indiscutible. (figura 7).

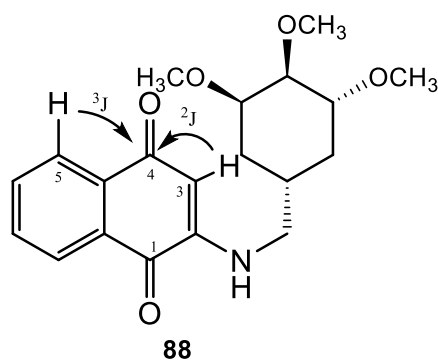


Figura 7. Acoplamiento de larga distancia del carbonilo del compuesto **88**.

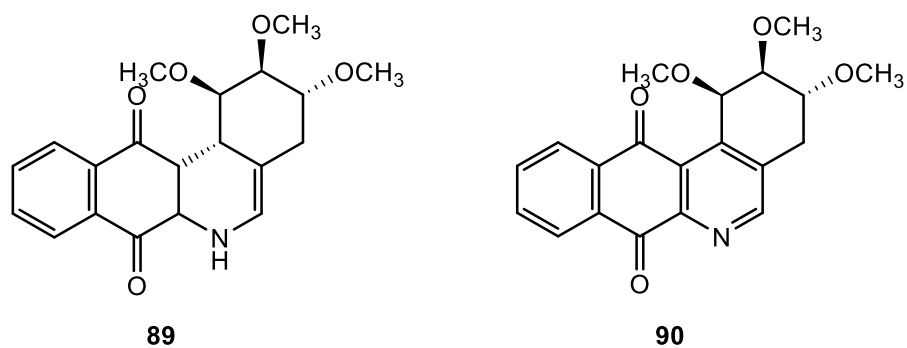


Figura 9 azaanalogos de anguciclinonas **89** y **90**

Tabla 1. Valores IC₅₀ de las moléculas **88**, **89** y **90** en cada una de las líneas celulares estudiadas.

IC ₅₀ (uM)				
	PC-3	HT-29	MCF-7	CoN
 (88)	13,0 ± 0,2	61,4 ± 0,5	13,6 ± 0,1	54,9 ± 7,7
 (89)	23,6 ± 3,7	42,9 ± 8,4	118,1 ± 10,8	115,5 ± 17,8
 (90)	3,9 ± 0,6	3,3 ± 0,9	11,9 ± 1,5	11,7 ± 1,3

*PC-3 (cáncer de próstata), HT-29 (cáncer de colon), MCF-7 (cáncer de mama) y CoN (células sanas de colon humano)

En la tabla 1 se puede observar que el compuesto **89** no aromático, presenta una actividad inferior que el compuesto aromático **90**, el cual mostró tener actividad citotóxica menor a 15 uM sobre todas las líneas celulares estudiadas.

La diferencia de actividad entre el compuesto no aromático (anillo B) **89** y el aromático **90**, concuerda con lo reportado por Antonio Rescifina y colaboradores,⁶³ en donde indican que los compuestos policíclicos aromáticos (planos) con fragmentos quinolina, quinaxolina, fenantridina, acridina y antraquinona entre otras, son potenciales intercaladores de ADN, esto podría explicar la mayor actividad citotóxica del compuesto **90**.

Por otra parte, se puede observar como el compuesto **88** presenta una efectiva actividad citotóxica sobre las líneas PC-3 y MCF-7, en ambos casos con un IC₅₀ menor a 15 uM, sin embargo, es notoriamente menos activo sobre la línea celular HT-29 (IC₅₀ 61.4 ± 0.5 uM). Este fenómeno no se observa con la molécula **90** la cual tiene una enorme actividad sobre la línea celular HT-29 (IC₅₀ 3.3 ± 0.9 uM).

Además de la citotoxicidad, una característica sumamente importante en las moléculas con posible potencial farmacológico es la selectividad sobre blancos específicos, respecto a células sanas. La selectividad se obtiene comparando la actividad citotóxica de las moléculas con respecto a la actividad frente a células sanas (CoN). En la tabla 2 se indican los valores de índice de selectividad obtenido por los compuestos estudiados.

Tabla 2. Índice de selectividad de las moléculas **88**, **89** y **90** en cada una de las líneas celulares estudiadas.

Compuestos	Índice de Selectividad		
	PC-3	HT-29	MCF-7
88	4,22	0,89	4,04
89	4,89	2,69	0,98
90	3,00	3,55	0,98

Los índices de selectividad del aminoderivado **88** sobre PC-3 y MCF-7 es superior a 4,00, esto significa que es un buen candidato para continuar con estudios de muerte celular, aunque no demostró ser efectivo sobre la línea celular HT-29. El compuesto **89** no presenta una actividad citotoxicidad destacable, sin embargo, presenta un gran índice de selectividad sobre la línea celular PC-3 con un valor cercano a 5,00, sin embargo, su índice de selectividad decae respecto a las líneas celulares HT-29 y MCF-7. Respecto al compuesto **90**, si bien es el más citotóxico sobre las líneas celulares estudiadas, su índice de selectividad es relativamente pobre, no alcanzando un índice de selectividad de al menos 4,00 en ninguna de las líneas celulares estudiadas, este hecho hace difícil pensar en el cómo un candidato con reales aplicaciones farmacológicas.

CONCLUSIÓN

A partir del (-) ácido shikimico (**80**) se sintetizó la amina primaria **87**, dicha amina fue obtenida luego de seis reacciones químicas consecutivas. El rendimiento global de las reacciones obtenido desde el precursor de la serie, el (-) ácido shikimico (**80**) hasta la amina primaria **87** fue del 9% de rendimiento.

La hidrogenación sobre la molécula **83** se produjo de forma estereoselectiva dando origen al derivado hidrogenado **84**, el cual es más estable, ya que el grupo metilester queda en posición ecuatorial. La configuración C-1 se mantuvo a lo largo de toda la serie.

La reacción de aza-Michael entre la amina primaria **87** y la 1,4-naftoquinona (**2**), originó un nuevo derivado 2-amino-1,4 naftoquinona **88**, la fracción de este nuevo compuesto proveniente de la amina **87**, presenta la misma configuración C-1 observada desde el derivado hidrogenado **84**. Para la síntesis del compuesto **88** se utilizaron dos diferentes catalizadores, cada uno de ellos dio un diferente porcentaje de rendimiento, siendo un 53% de rendimiento al usar CeCl_3 y 22% de rendimiento al usar CAN.

La molécula **90** sintetizada en trabajos anteriores, demostró tener la más elevada actividad citotóxica, con un IC_{50} inferior a 15 μM en todas las líneas celulares estudiadas. La molécula **89**, también sintetizada en trabajos anteriores, demostró no tener una actividad citotóxica notable sobre ninguna de las líneas celulares estudiadas, obteniendo comparativamente los peores resultados de IC_{50} entre las tres moléculas orgánicas estudiadas. El compuesto **88** demostró tener una aceptable actividad citotóxica sobre las líneas celulares PC-3 y MCF-7, en ambos casos con un IC_{50} inferior a 15 μM , aunque para HT-29 su IC_{50} fue de $61,4 \pm 0,5 \mu\text{M}$. La molécula **90** presenta un índice de selectividad modesto para las líneas PC-3 y HT-29, aunque para la línea MCF-7 obtuvo un índice de selectividad inferior a 1,00. El compuesto **89** exhibió el mejor índice de selectividad de entre las tres moléculas estudiadas, el cual fue de 4,89 en el caso de PC-3, sin embargo, su índice de selectividad respecto a HT-29 y MCF-7 fueron bastante más bajos, siendo 2,69 y 0,98 respectivamente. El compuesto **88** obtuvo buenos índices de selectividad sobre las líneas celulares PC-3 y MCF-7, en ambos casos su índice de selectividad fue superior a 4,00, aunque para la línea HT-29, presentó un valor inferior a 1,00.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- López LI, Leyva E, García R. Las naftoquinonas: más que pigmentos naturales *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. (2011) Jan-Mar; 42 (1): 6-17.
- 2.- Pavela R. Efficacy of naphthoquinones as insecticides against the house fly, *Musca domestica* L. *Ind. Crop. Prod.* (2013); 43: 745-750.
- 3.- Aly A, Ishak E, Alsharari M, Al-Muaikel N, Bedair T. Aminonaphthoquinones in Heterocyclization. *J. Heterocyclic Chem.* (2012) Jan; 49 (9): 9-20.
- 4.- Ferreira, D.T. et al. Antimicrobial activity and chemical investigation of Brazilian Drosera. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz de Janeiro*. (2004) ;99, 753-755.
- 5.- Kitagawa RR, Bonacorsi C, da Fonseca LM, Vilegas W, Raddi MSG Anti- Helicobacter pylori activity and oxidative burst inhibition by the naphthoquinone 5-methoxy-3,4-dehydroxanthomegnin from *Paepalanthus latipes*. *Revista Brasileira de Farmacognosia: Brazilian Journal of Pharmacognosy*. (2012); 22: 53-59.
- 6.- KongKathip, N. et al. Transforming Rhinacanthin analogues from potent anticancer agents into potent antimalarial agents. *J. Med. Chem.* (2010); 51(6), 1211-1212.
- 7.- Gaitán, R. et al. Síntesis de análogos furonaftoquímicos con posible actividad antimalárica contra *Plasmodium falciparum*. *Revista cubana de Química* (2007); 19, 64-66.
- 8.- Wang, Y. Bulky DNA lesions induced by reactive oxygen species. *Chem. Red. Toxicol.* (2008); 21, 276-281.
- 9.- Leyva, E., López, LI. I., Loredó - Carrillo, S.E., Rodríguez – Kessler, M. & Montes – Rojas, A. Synthesis, spectral and electrochemical characterization of novel 2- (fluoroanilino)- 1,4-naphthoquinones. *J. Fluorine Chem.* (2011); 132 (2), 94-101.
- 10.- Bruneton, J. Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas Medicinales. Ed. Acribia, España, 2001.
- 11.- Hsieh, Y.J.; Lin, L.C.; Tsai, T.H. Determination and identification of plumbagin from the roots of *Plumbago zeylanica* L. by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* (2005); 1083, 141-145.
- 12.- Chang HX, Chou TC, Savaraj N, Liu LF, Yu C, Cheng CC. Design of antineoplastic agents based on the “2-phenylnaphthalene- type” structural pattern. Synthesis and biological activity of 2-chloro-3-(substituted phenoxy)-1,4-naphthoquinones and related 5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinones. *J. Med. Chem.* (1999); 42(3), 405-408.
- 13.- Eufrañio, N., Da Silva, J. & De Deus, F.C. 3-Arylamino and 3-alkoxy-nor-B-lapachone derivatives: synthesis and citotoxicity against cancer cell lines. *J. Med. Chem.*(2010); 53, 504-508.
- 14.- Wellington, K. W.; Kolesnikova, N. I. *Bioorg. Med. Chem.* (2012); 20, 4472.

- 15.- Xu TP, Shen H, Liu LX, Shu YQ. Plumbagin from *Plumbago Zeylanica* L induces apoptosis in human non-small cell lung cancer cell lines through NF- κ B inactivation. *Asian Pac J Cancer Prev.* (2013); 14(4):2325-31.
- 16.- Da Silva, M.N.; Ferreira, V.F.; De Souza, M.C.B.V. Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na β -lapachona e derivados. *Quim. Nova.* (2003); 26, 407-416.
- 17.- Ríos-Luci C, Bonifazi EL, León LG, Montero JC, Burton G, Pandiella A, Misico RI, Padrón JM β -Lapachone analogs with enhanced antiproliferative activity. *European Journal of Medicinal Chemistry.* (2012) 53: 264-274.
- 18.- Citlali García, Lluvia López, Sonia Silva. Síntesis de Derivados de Lawsonia por Química Verde y su Evaluación Antibacteriana. *II simposio nacional ciencias farmacéuticas y biomedicina, agosto 20 y 21 (2015).* Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila, Blvd. Venustiano Carranza e Ing. J. Cárdenas. Saltillo, Coahuila 25280, México.
- 19.- Wang YC, Lin YH Anti-gastric Adenocarcinoma Activity of 2-Methoxy-1,4-naphthoquinone an anti-*Helicobacter Pylori* compound from *Impatiens Balsamina* L. *Fitoterapia. Doi.* (2012); 10.1016. j, fitote 2012.04.003.
- 20.- Fry, M.; Pudney, M. Site of action of the antimalarial hydroxynaphthoquinone, 2-[trans-4-(4'-chlorophenyl)cyclohexyl]-3-hydroxy-1,4-naphthoquinone(566C80). *Biochemistry Pharmacy.* (1992); 43, 1545-1553.
- 21.- Ferreira R.A., Oliveira A.B., Ribeiro M.F.B., Tafuri W.L., Vitor R.W.A. Toxoplasma gondii: in vitro and in vivo activities of the hydroxynaphthoquinone 2-hydroxy-3-(1-propen-3-phenyl)-1,4-naphthoquinone alone or combined with sulfadiazine. *Experimental Parasitology.* (2006); 113:125-129.
- 22.- Asche, C. Antitumor quinones. *Mini Rev. Med. Chem.* (2005); 5 (5), 449-467.
- 23.- Karsten, K.; Attils, A.; Christiane, B. *Jornal of Carbohydrate Chemistry.* (2003); 22 (7), 579-592.
- 24.- Yi-Feng Wang, Wei Zhang, Shu-Ping Luo, Guang-Cun Zhang, Ai-Bao Xia, Xiang-Sheng Xu, Dan-Qian Xu. Highly Enantioselective Organocatalytic Michael Addition of 2-Hydroxy-1,4-naphthoquinone to β,γ -Unsaturated α -Oxo Esters. *EurJOC, European Journal of Organic Chemistry.* 16 August (2010); Volume 2010, Issue 26, Pages 4981-4985.
- 25.- Kraus. G.A., Zhang. N., Wei. J.Q., Jensen. J.H. "Regiochemical control by remote substituents - A selective synthesis of angularly fused ring systems" *Eur. J. Org. Chern.* (2005); 3040-3044.

- 26.- López-López, L.I. Síntesis y evaluación biológica de derivados de 1,4-naftodiona. Tesis de Doctorado en Ciencias Químicas, *Universidad Autónoma de San Luis Potosí, S.L.P. México*. (2008).
- 27.- Lin, T.S., Xu, S.P., Zhu, L.Y., Cosby, L., Sartonelli, A.C. Synthesis of 2,3-diaziridinyl-1,4-naphthoquinone sulfonate derivatives as potential antineoplastic agents. *J. Med. Chem.* (1989); 32, 1467- 1471.
- 28.- Lin, T.S.; Xu, S.P.; Zhu, L.Y.; Divo, A.; Sartonelli, A. Synthesis and antimalarial activity of 2-aziridinyl- and 2,3-bis(aziridinyl)-1,4-naphthoquinonyl sulfonate and acylate derivatives. *J. Med. Chem.* (1990); 34, 1634-1639.
- 29.- Nagaoka, H.; Kishi, Y. Further synthetic studies on rifamycins. *Tetrahedron*. (1981); 37, 3873-3888.
- 30.- Jordao, A. K.; Novais, J.; Leal, B.; Escobar, A. C.; dos Santos, H. M.; Castro, H. C.; Ferreira, V. F. *Eur. J. Med. Chem.* (2013); 63, 196.
- 31.- Dreyton, C. J.; Knuckley, B.; Jones, J. E.; Lewallen, D. M.; Thompson, P. R. *Biochemistry* (2014). <http://dx.doi.org/10.1021/bi500554b>
- 32.- Tip-pyang, S.; Limpipatwattana, Y.; Khumkratok, S.; Siripong, P.; Sichaem, J. *Fitoterapia* 2010, 81, 894.
- 33.- Kapadia, G. J.; Azuine, M. A.; Balasubramanian, V.; Sridhar, R. *Pharmacol. Res.* (2001); 43, 363.
- 34.- Matsumoto, K.; Choshi, T.; Hourai, M.; Zamami, Y.; Sasaki, K.; Abe, T.; Ishikura, M.; Hatae, N.; Iwamura, T.; Tohyama, S.; Nobuhiro, J.; Hibino, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2012); 22, 4762.
- 35.- Matsuoka, M.; Takei, T.; Kitao, T. Selective butylamination of 5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone promoted by copper salts. *Chem. Lett.* (1979); 26, 570-574.
- 36.- Matsuoka, M.; Hamano, K.; Kitao, T. Selective syntheses of 2-alkylamino-and 2-alkoxy-6,7-dichloro-5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinones. *Synthesis*. (1984); 11, 953-955.
- 37.- Couladouros, E.A.; Plyta, Z.F.; Papageorgiou, V.P. A general procedure for the efficient synthesis of (alkylamino)naphthoquinones. *J. Org. Chem.* (1996); 61, 3031-3033.
- 38.- Agarwal, N.L.; Schäfer, W. Quinone chemistry. Reaction of 2,3-dicloro-1,4-naphthoquinone with arylamines in piridine. *J. Org. Chem.* (1980); 45, 5139-5143.
- 39.- Patai, S. The chemistry of quinonoid compounds. Ed. John Wiley & Sons. USA. (1974).
- 40.- Bukhtoyarova, A.D.; Rybalova, T.V.; Ektova, L.V. Amination of 5-hydroxy-1,4-naphthoquinone in the presence of copper acetate. *J. Org. Chem.* (2009); 46, 860-864.

- 41.- Leyva, E.; López, L.I.; Loredó-Carrillo, S.E.; Rodríguez-Kessler, M.; Montes-Rojas, A. Synthesis, spectral and electrochemical characterization of novel 2-(fluoroanilino)-1,4-naphthoquinones. *J. Fluorine Chem.* (2011); 132, 94-101
- 42.- Pratt, Y.T. Quinolinequinones. VI. Reaction with aromatic amines. *J. Org. Chem.* (1966); 27, 3905- 3910.
- 43.- Andrade-Guel, Marlene Lariza; López-López, Lluvia Itzel; Sáenz-Galindo, Aidé. Estudio sintético y caracterización por infrarrojo de derivados 2-amino-1,4-naftoquinona y su evaluación antibacteriana preliminar. *Tip Revista especializada en ciencias Químico-Biológicas, vol. 14, núm. 2, (2011)*; pp. 75-82. Universidad Nacional Autónoma de México.
- 44.- Bing Liu & Shun Jun Ji: Facile Synthesis of 2-(amino)-1,4-naphthoquinones catalyzed by Molecular Iodine under Ultrasonic Irradiation, *Synthetic Communications: An International Journal for Rapid Communication of Synthetic Organic Chemistry.* (2008); 38:8, 1202-1211.
- 45.- Ivan Sieveking a , Pablo Thomas a , Juan C. Estévez b , Natalia Quiñones c , Mauricio A. Cuéllar c , Juan Villena d , Christian Espinosa-Bustos a , Angélica Fierro a , Ricardo A. Tapia a , Juan D. Maya e , Rodrigo López-Muñoz e , Bruce K. Cassels f , Ramon J. Estévez b, Cristian O. Salas a. 2-Phenylaminonaphthoquinones and related compounds: Synthesis, trypanocidal and cytotoxic activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 22 (2014); 4609–4620.
- 46.- Benites, J.; Valderrama, J. A.; Bettega, K.; Pedrosa, R. C.; Calderon, P. B.; Verrax, J. *Eur. J. Med. Chem.* (2010); 45, 6052.
- 47.- Miguel del Corral, J. M.; Castro, M. A.; Gordaliza, M.; Martín, M. L.; Gamito, A. M.; Cuevas, C.; Feliciano, A. S. *Bioorg. Med. Chem.* (2006); 14, 2816.
- 48.- Salas, C.; Tapia, R. A.; Ciudad, K.; Armstrong, V.; Orellana, M.; Kemmerling, U.; Ferreira, J.; Maya, J. D.; Morello, A. *Bioorg. Med. Chem.* (2008) 16, 668.
- 49.- Valderrama, J. A.; Gonzalez, M. F.; Pessoa-Mahana, D.; Tapia, R. A.; Fillion, H.; Pautet, F.; Rodriguez, J. A.; Theoduloz, C.; Schmeda-Hirschmann, G. *Bioorg. Med. Chem.* (2006); 14, 5003
- 50.- Sarciron, M. E.; Terreux, R.; Prieto, Y.; Cortes, M.; Cuellar, M. A.; Tapia, R. A.; Domard, M.; Walchshofer, N.; Petavy, A. F. *Parasite* (2005); 12, 251.
- 51.- Luo, Y. L.; Chou, T. C.; Cheng, C. C. *J. Heterocycl. Chem.* (1996); 33, 113.
- 52.- Liegault, B.; Lee, D.; Huestis, M. P.; Stuart, D. R.; Fagnou, K. *J. Org. Chem.* (2008); 73, 5022.

- 53.- Madan K. Kharel, Pallab Pahari, Micah D. Shepherd, Nidhi Tibrewal, S. Eric Nybo, Khaled A. Shaaban and Jürgen Rohr. Angucyclines: Biosynthesis, mode of action, new natural products, and synthesis. *Nat. Prod. Rep.* (2012); 29. 264.
- 54.- Guingant. A., Barreto. M.M. "A new route for the efficient synthesis of (\pm)ochromycinone. a naturally occurring Benz[a]anthraquinone." *Tetrahedron Lett.* (1987); 28. 3107-3110.
- 55.- Krapcho, A.P., Landi, J.J., Jr., Hacker, M.P., McCormack, J.J. "Synthesis and antineoplastic evaluations of 5,8-bis[(aminoalkyl)amino]-1-azaanthracene-9,10-diones" *J Med. Chem.* (1985); 28, 1124-1126.
- 56.- Krapcho, AP., Petry, M.E., Getahun, Z., Landi, J.J., Jr., Stallman, J., Polsenberg, J.F., Gallagher, C.E., Maresch, M.J., Hacker, MP., Giuliani, F.C., 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.* (1994); 37, 828-837.
- 57.- Valderrama, J.A., Gonzalez, M.F., Colonelli, P., Vasquez, D. "Design and synthesis of angucyclinone 5-aza analogues" *Synlett* (2006); 2777-2780.
- 58.- S. C. Collet, J. F. Remi, C. Cariou, S. Laib, A. Y. Guingant, N. Q. Vu and G. Dujardin, *Tetrahedron Lett.* (2004); 45, 4911– 4915.
- 59.- N. Q. Vu, G. Dujardin, S. C. Collet, E. A. Raiber, A. Y. Guingant and M. Evain, *Tetrahedron Lett.* (2005); 46, 7669–7673.
- 60.- D. Sissouma, G. Dequirez, S. Collet and A. Guingant, *Tetrahedron Lett.* (2011); 52, 2336–2339.
- 61.- Cuellar M.A., Quiñones N., Vera V., Salas C.O., Estevez J.C., Estevez R.J. *Synlett*, (2015); 26, 552-556.
- 62.- Zamorano, N. "Síntesis de derivados de aza-anguciclinonas con potencial actividad citotóxica." Tesis de pregrado. (2016). Universidad de Valparaíso. Valparaíso.
- 63.- Rescifina, A., Zagni, C., Varrica, M. G., Pistarà, V., & Corsaro, A. "Recent advances in small organic molecules as DNA intercalating agents: Synthesis, activity, and modeling." *European journal of medicinal chemistry* (2014); 74, 95-115.

ABREVIATURAS

Abreviaturas usadas en experimental.

MeOH	: metanol
H ₂ SO ₄	: ácido sulfúrico
NaHCO ₃	: bicarbonato de sodio
CH ₃ CN	: acetonitrilo
NaOH	: Hidróxido de Sodio
CH ₃ I	: Yoduro de Metilo
AcOEt	: acetato de etilo
Pd/C	: Paladio/carbono
DIBAL-H	: di- <i>iso</i> -butilhidruroaluminio
CH ₂ Cl ₂	: diclorometano
PCC	: clorocromato de piridinio
Et ₂ O	: dietiléter
NaCNBH ₃	: cianoborohidruro de sodio
Na ₂ CO ₃	: carbonato de sodio
CAN	: Nitrato de cerio y amonio
CeCl ₃	: Tricloruro de cerio

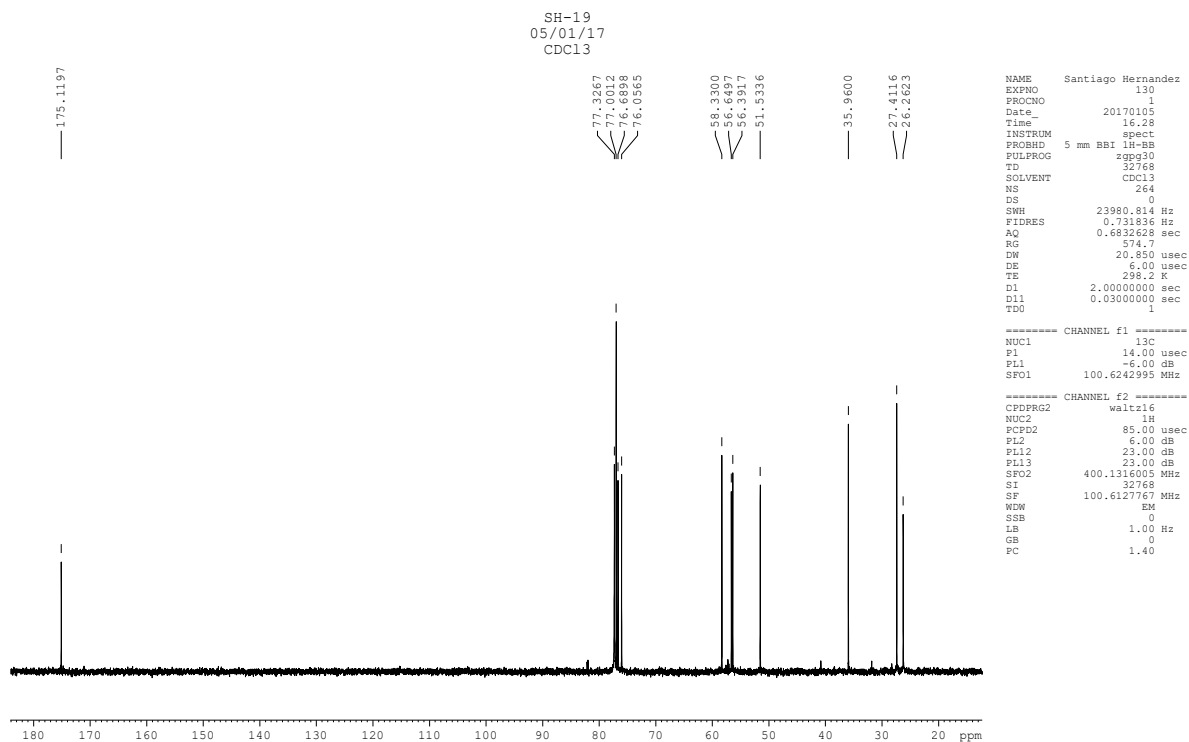
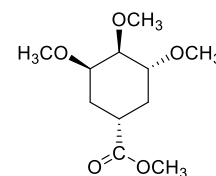
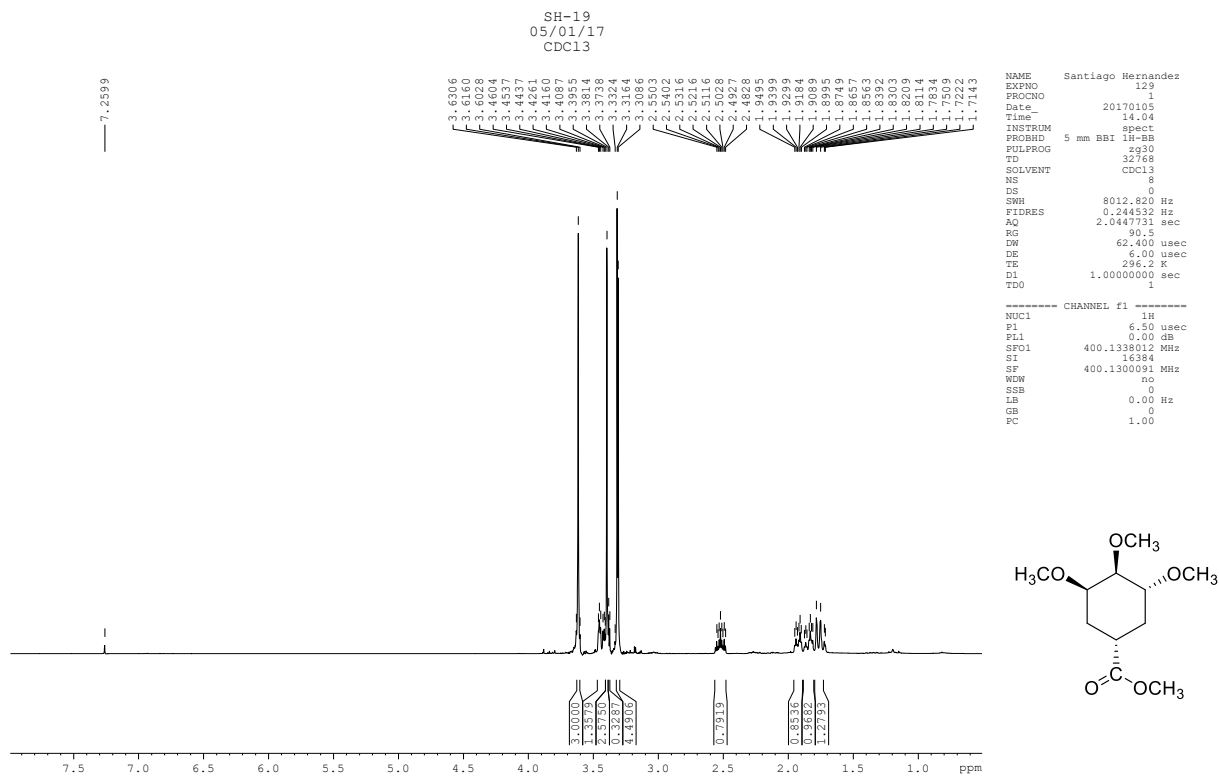
Abreviaturas usadas en RMN

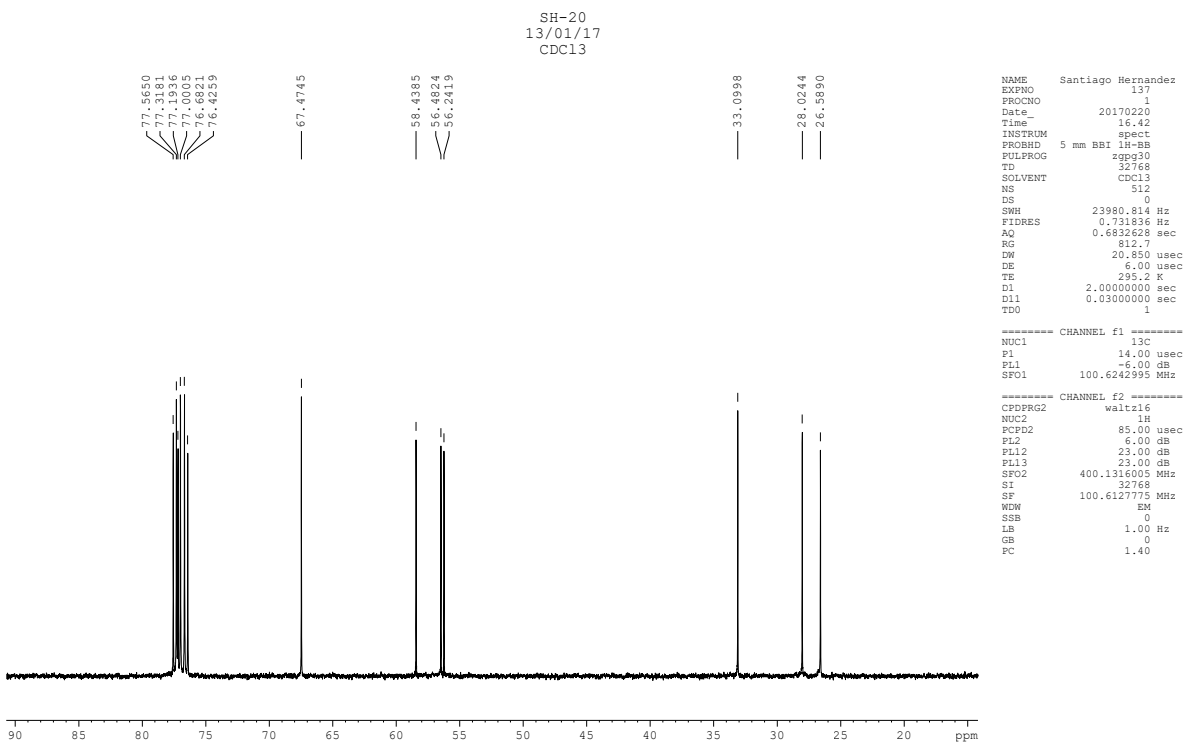
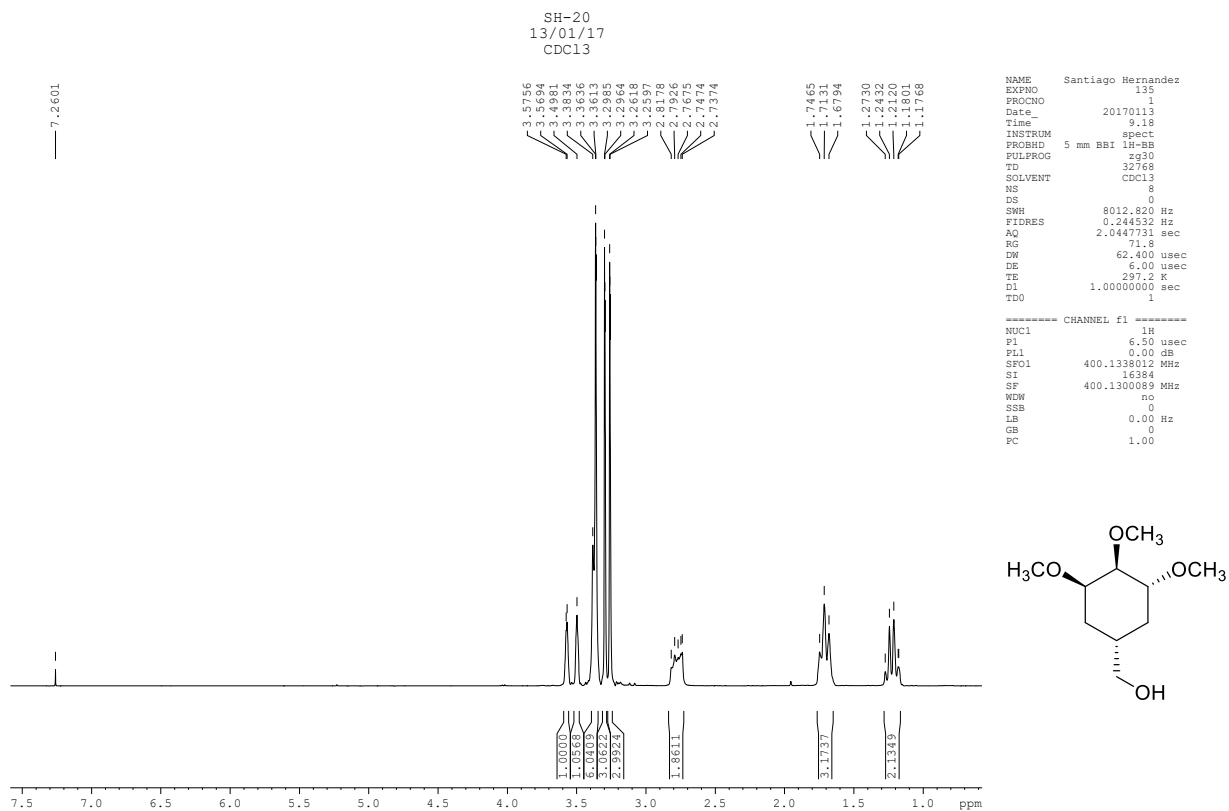
s	: singlete
sa	: singlete ancho
d	: doblete
dd	: doble doblete
ddd	: doble doble doblete
m	: multiplete

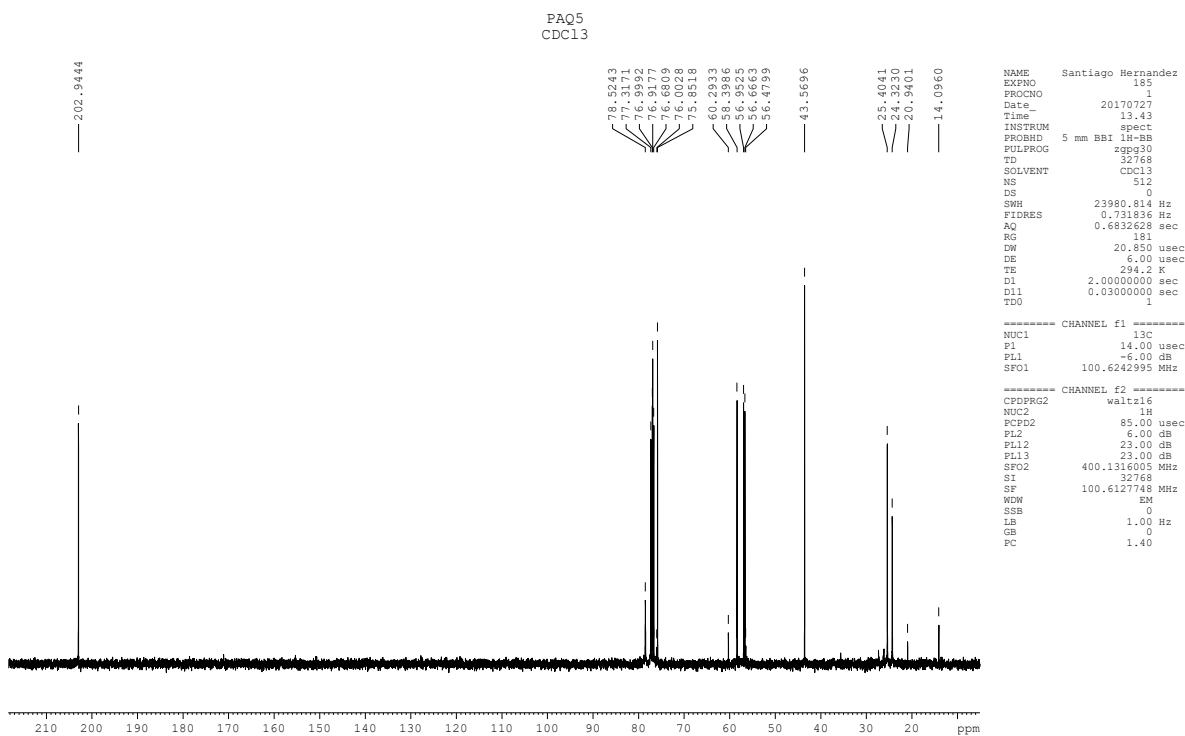
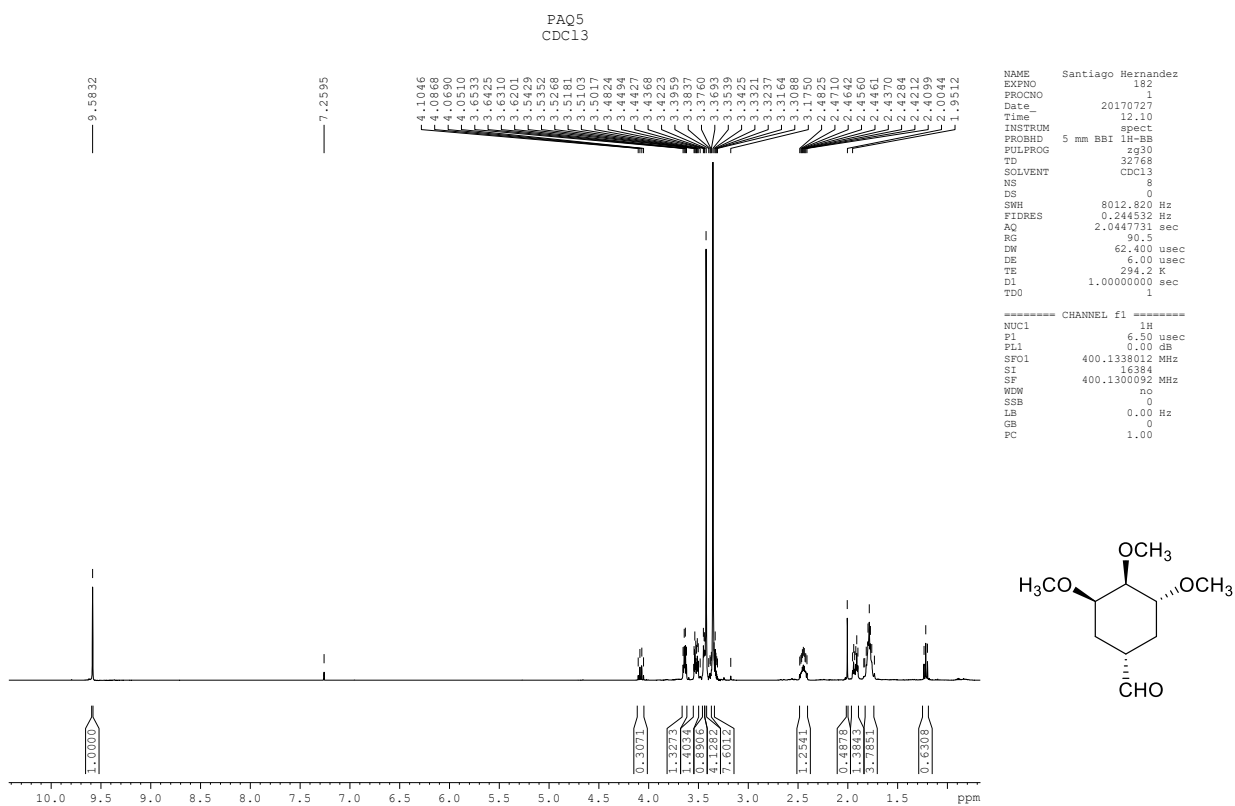
J : constante de acoplamiento

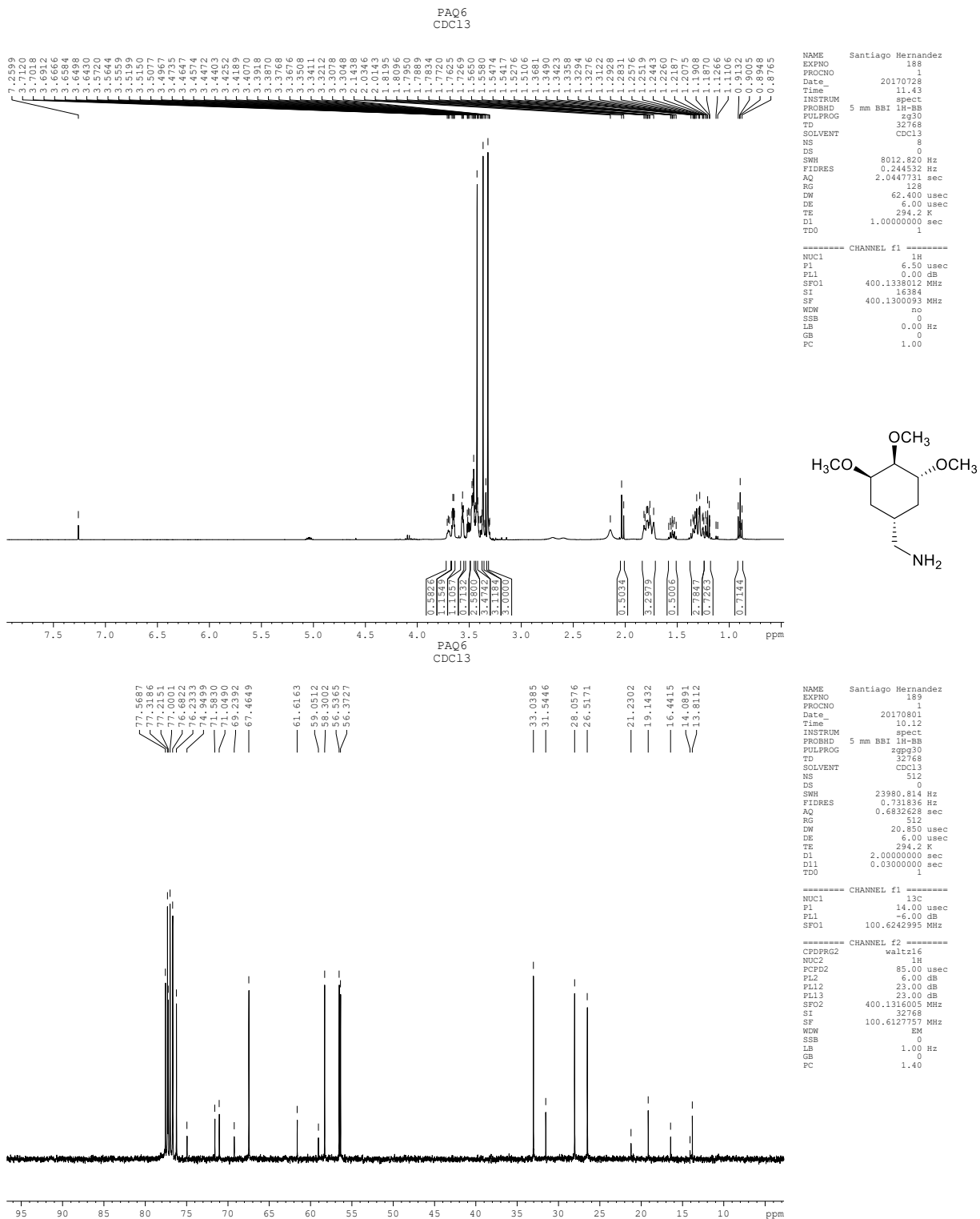
Abreviaturas usadas en resultados y discusión

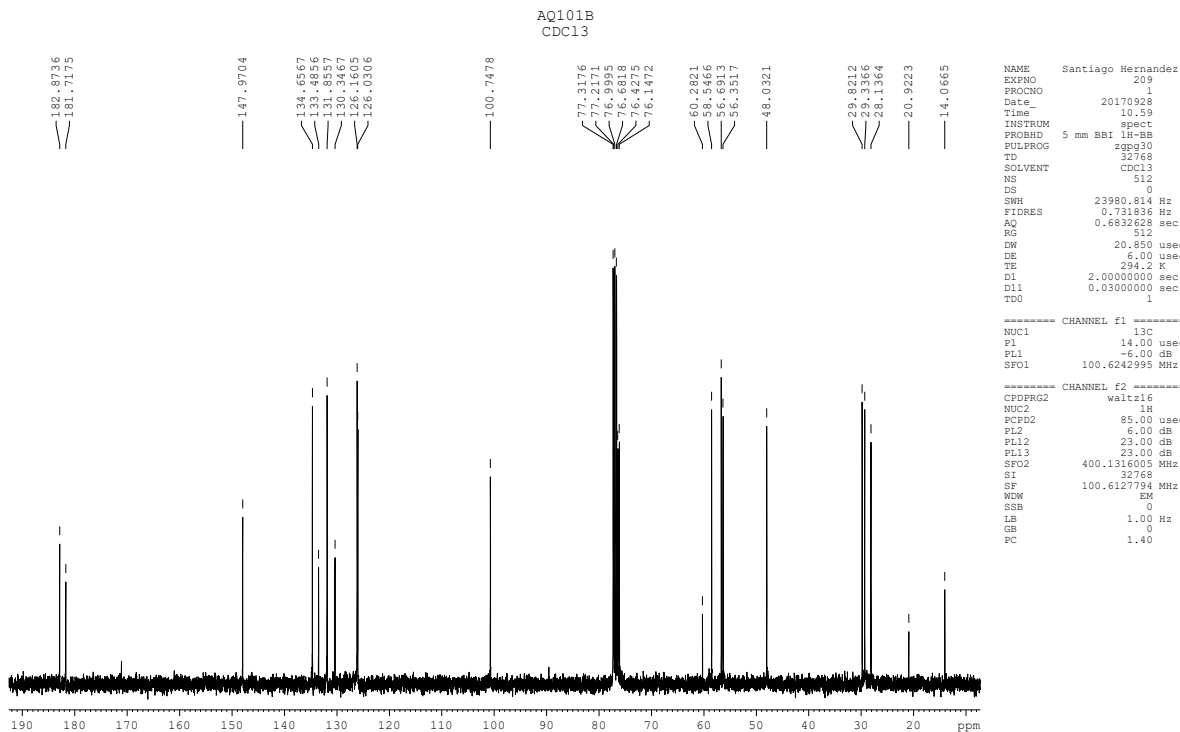
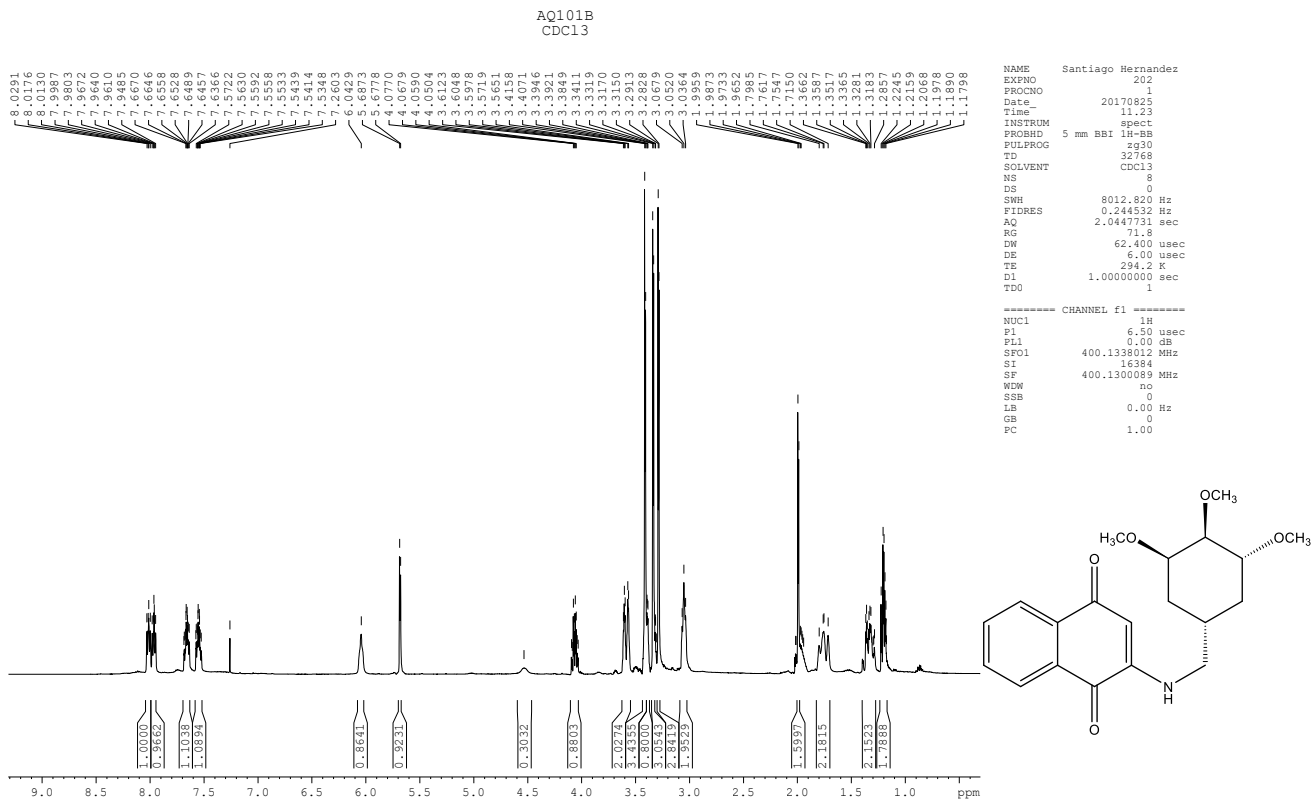
CH₃I : Yoduro de Metilo
Pd/C : Paladio/carbono
DIBAL-H : di-*iso*-butilhidruroaluminio
PCC : Clorocromato de piridinio
CAN : Nitrato de cerio y amonio
CeCl₃ : Tricloruro de cerio
IC₅₀ : Concentración inhibitoria 50

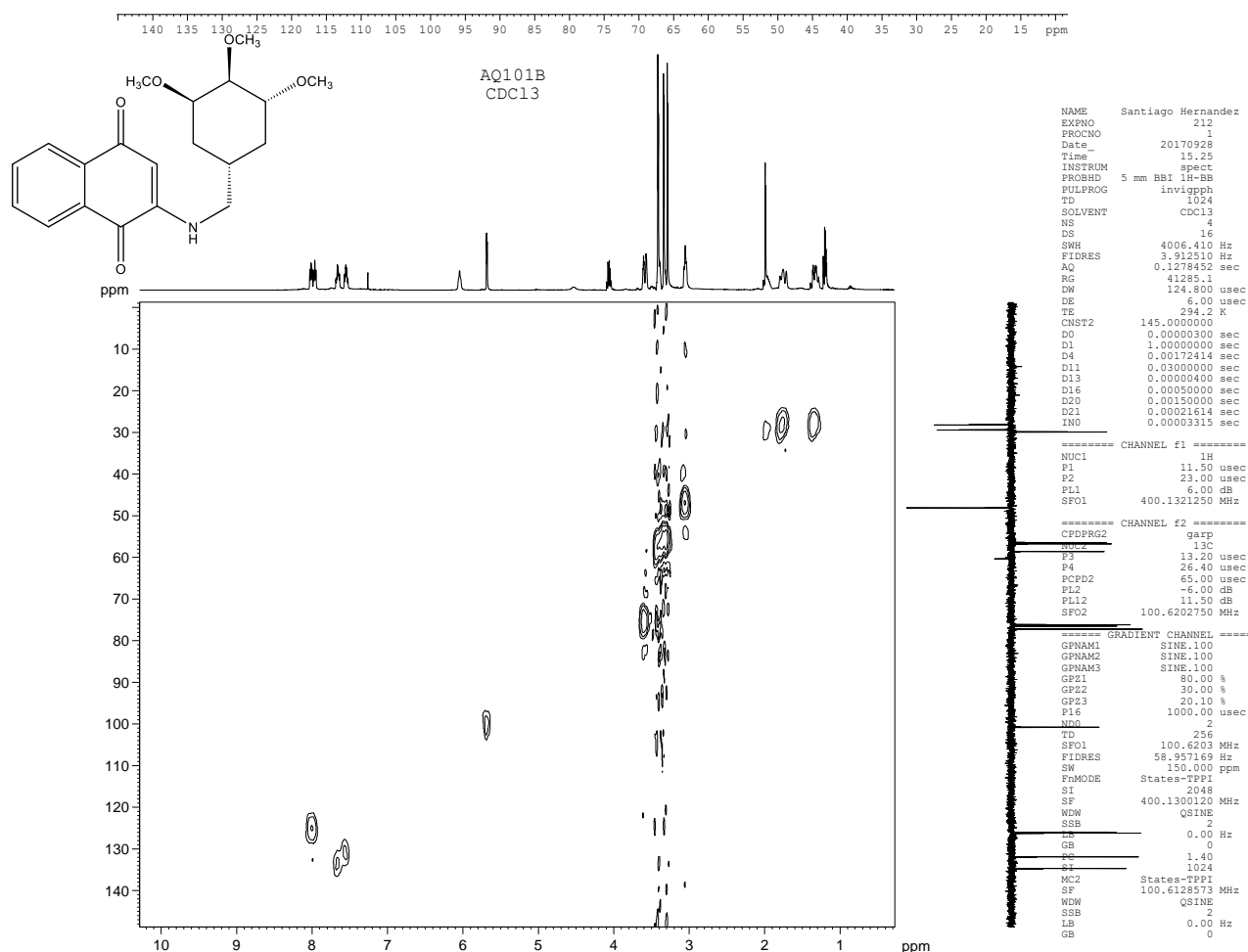
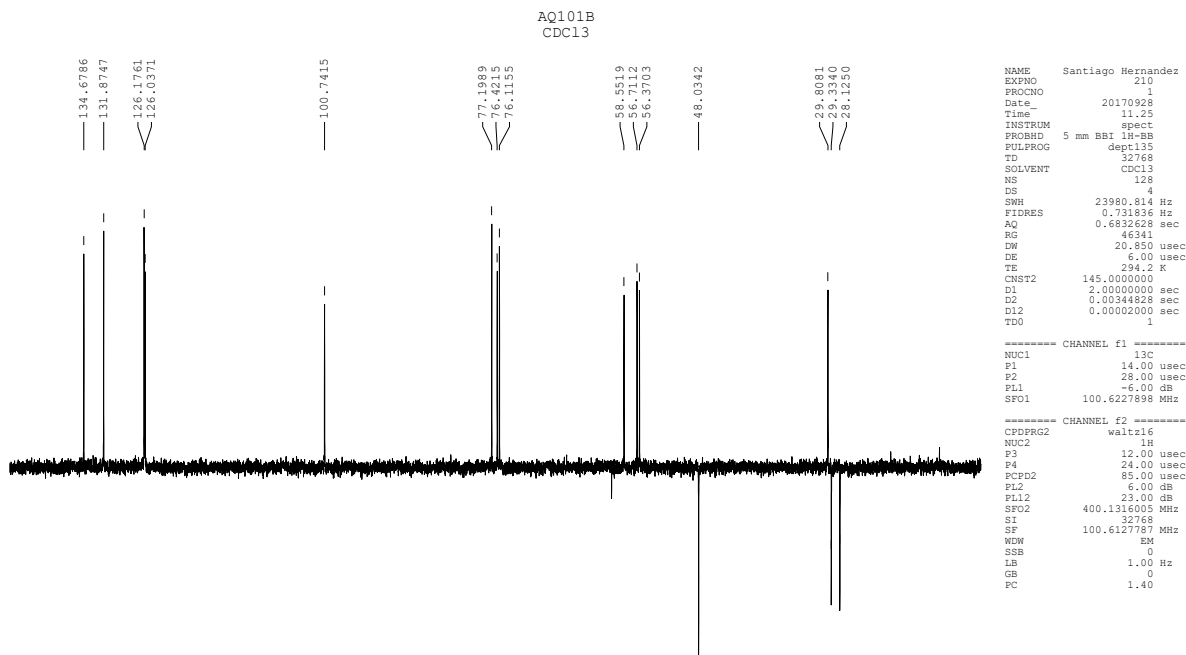
Espectros ¹HRMN y ¹³CRMN del compuesto 84

Espectros ¹H RMN y ¹³C RMN del compuesto 85

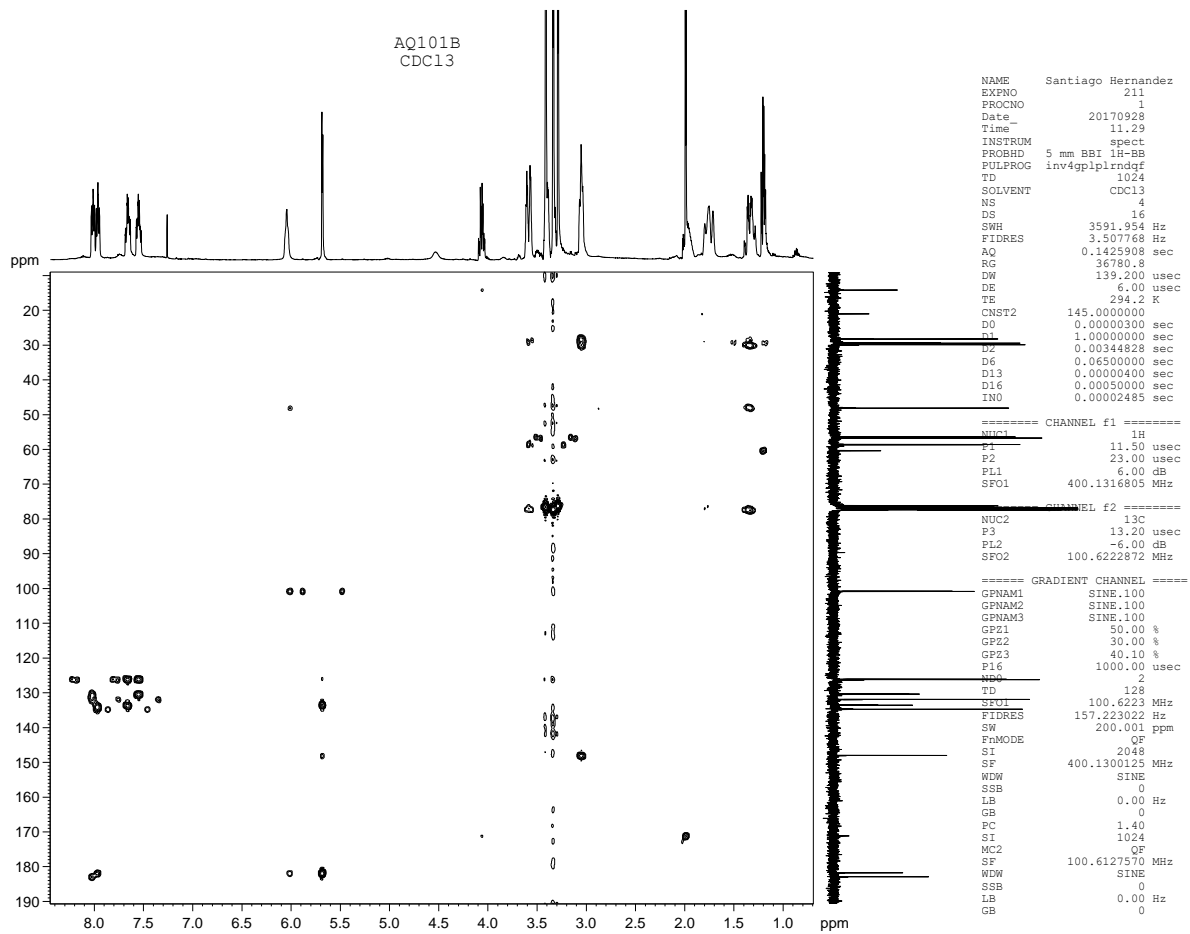
Espectros ¹H RMN y ¹³C RMN del compuesto 86

Espectros ¹H RMN y ¹³C RMN del compuesto 87

Espectros ¹HRMN y ¹³CRMN del compuesto 88



Espectros DEPT-135 y HSQC del compuesto 88



Espectro HMBC compuesto 88

