

Universidad Autónoma De Baja California

Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería  
Maestría y Doctorado en Ciencias e Ingeniería



**“Reacciones de la 1,4-Naftoquinona con Aminas y Aminoalcoholes”**

**TESIS**

Que para obtener el grado de Maestro en Ciencias

Presenta:

Q.F.B Eduardo Luis Noriega Iribe

Tijuana B.C

Septiembre del 2015



## **II. ÍNDICE**

**I. Portada**

**II. Índice**

**III. Índice de tablas, figuras y esquemas**

**IV. Agradecimientos**

**V. Declaración**

**VI. Pensamiento**

**VII. Cita**

**VIII. Abreviaturas**

**IX. Resumen**

<b>1. Introducción.....</b>	<b>10</b>
<b>2. Antecedentes.....</b>	<b>18</b>
<b>3. Objetivos.....</b>	<b>35</b>
<b>4. Hipótesis.....</b>	<b>37</b>
<b>5. Materiales y Métodos.....</b>	<b>39</b>
<b>6. Discusión de Resultados.....</b>	<b>66</b>
<b>7. Conclusiones.....</b>	<b>95</b>
<b>8. Bibliografía.....</b>	<b>96</b>
<b>9. Apéndice.....</b>	<b>103</b>

# Universidad Autónoma de Baja California

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA  
COORDINACIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

FOLIO No. 142

Tijuana, B. C., a 25 de mayo de 2015

C. Eduardo Luis Noriega Iribe  
Pasante de: Maestro en Ciencias  
Presente

El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la  
Opción TESIS

Es propuesto, por los CC. Dres. Iván Córdova Guerrero y Raúl Romero Rivera  
Quienes serán los responsables de la calidad de trabajo que usted presente,  
referido al tema "Reacciones de la 1,4-Naftoquinona con Aminas y  
Aminoalcoholes".

el cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:

- I.- INTRODUCCION
- II.- ANTECEDENTES
- III.- OBJETIVOS
- IV.- HIPOTESIS
- V.- MATERIALES Y METODOS
- VI.- DISCUSION DE RESULTADOS
- VII.- CONCLUSIONES
- VIII.- BIBLIOGRAFIA
- IX.- APENDICE

UNIVERSIDAD AUTONOMA  
DE BAJA CALIFORNIA



FACULTAD DE CIENCIAS  
QUÍMICAS E INGENIERÍA

Dr. Raúl Romero Rivera  
Director de Tesis

Dr. Iván Córdova Guerrero  
Co-Director de Tesis

Q. Noemí Hernández Hernández  
Sub-Director Secretario

Dr. Luis Enrique Palafox Maestre  
Director

### III. ÍNDICE DE TABLAS, FIGURAS Y ESQUEMAS

#### Tablas

Tabla 1- Experimentación con las condiciones de reacción.....	42
Tabla 2- Los diferentes aditivos ensayados.....	45
Tabla 3- Las diferentes reacciones ensayadas utilizando Acetato de Cobre (II).....	46
Tabla 4- Ensayo de acetilación.....	57
Tabla 5- Resumen de datos de RMN para el compuesto AA-1.....	72
Tabla 6- Resumen de datos de RMN para el compuesto AA-2.....	73
Tabla 7- Resumen de datos de RMN para el compuesto AC-1.....	77
Tabla 8- Resumen de datos de RMN para el compuesto AC-3.....	79
Tabla 9- Concentración de inhibición media de la primera serie de derivados.....	89
Tabla 10- Concentración de inhibición media de la segunda serie de derivados (acetilados).....	90

#### Figuras

Figura 1- Ácido acetilsalicílico y salicilina .....	14
Figura 2- Morfina, codeína y heroína.....	15
Figura 3- Digitoxina, quinina y pilocarpina.....	16
Figura 4- Bencilpenicilina.....	17
Figura 5- Naftaleno, 1,2-naftoquinona y 1,4-naftoquinona.....	19
Figura 6- Lawsona, juglona, plumbagina, lapachol, alkalina y shikona.....	20
Figura 7- La estructura de la estreptonigrina y los analogos de la kinamicina.....	22
Figura 8- Algunas especies oxidantes y radicales libres conocidos.....	24
Figura 9- Oxidación y reducción del par quinona-hidroquinona.....	34
Figura 10- Reacción global de la 1,4-naftoquinona con aminas variadas.....	38
Figura 11- La molécula del ABTS o 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico).....	62
Figura 12- Formula para el cálculo del porcentaje de inhibición del radical ABTS.....	63

#### Esquemas

Esquema 1- Quinonas de la ruta Malonato/acetato.....	27
Esquema 2- Quinonas de la ruta del isopreno.....	27
Esquema 3- Ejemplos de quinonas meroterpenoides.....	28
Esquema 4- Reacción de ciclización de la 2-dialquilaminonaftoquinona catalizada por la luz.....	29
Esquema 5- Reacción original de oxidación del ácido quinico.....	30
Esquema 6- Métodos de obtención de 2-aminonaftoquinonas.....	31
Esquema 7- Mecanismo de reacción propuesto.....	34
Esquema 8- Reacción general entre la 1,4-naftoquinona y la etanolamina.....	42
Esquema 9- Reacción global de acoplamiento de la 1,4-naftoquinona con aminas, método a y b.....	43
Esquema 10- Proceso de extracción acido/base para las 2-alquilaminonaftoquinonas.....	44
Esquema 11- Reacción global para obtener el 2-((2-Hidroxiethyl)amino)naftalen-1,4-diona.....	49
Esquema 12- Reacción global para obtener la 2-((3-Hidroxiethyl)amino)naftalen-1,4-diona.....	50
Esquema 13- Reacción global para obtener la 2-((2-Hidroxiopropil)amino)naftalen-1,4-diona.....	51
Esquema 14- Reacción global para obtener la 2-((1-Hidroxi-but-2-il)amino)naftalen-1,4-diona.....	52

<b>Esquema 15-</b> Reacción global para obtener la 2-(2-(Feniletíl)amino)naftalen-1,4-diona.....	53
<b>Esquema 16-</b> Reacción global para obtener la 2-(2-(4-Hidroxifeniletíl)amino)naftalen-1,4-diona.....	54
<b>Esquema 17-</b> Acetilación del Ciclohexanol.....	55
<b>Esquema 18-</b> Ejemplo de acetilación de la 2-((2-Hidroxietíl)amino)naftalen-1,4-diona.....	56
<b>Esquema 19-</b> Reacción para obtener el 2-((1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)amino)etil acetato.....	58
<b>Esquema 20-</b> Preparación del 3-((1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)amino)propil acetato.....	59
<b>Esquema 21-</b> Obtención el 1-((1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)amino)propan-2-il acetato.....	60
<b>Esquema 22-</b> Obtención el 2-((1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)amino)butil acetato.....	61
<b>Esquema 23-</b> Resultados el ensayo de actividad antioxidante por el método del ABTS.....	87
<b>Esquema 24-</b> Superposición de la molécula del Lapachol y el compuesto AA-3.....	88
<b>Esquema 25-</b> Compuestos que presentaron la mejor actividad biológica.....	91

## Agradecimientos

Aprovecho este espacio para expresar mis más sinceros agradecimientos a todos aquellos que de una forma u otra aportaron para la conclusión exitosa del presente trabajo.

A la Universidad Autónoma de Baja California, en específico a la **Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería**, institución donde se llevó a cabo el presente trabajo.

Al programa de Maestría en Ciencias Químicas de la FCQI (**MYDCI**) y a su coordinador de posgrado el **Dr. José Manuel Cornejo Bravo**, programa al que me encontraba inscrito durante la realización del proyecto.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**), por el apoyo y estímulo económico otorgado, que facilitó enormemente la conclusión del proyecto.

Al **Dr. Raúl Romero Rivera**, primeramente, por haber confiado en mí persona y brindarme la oportunidad de trabajar bajo su dirección, por sus consejos, sus enseñanzas valiosas que me acompañaran por siempre, sugerencias e ideas versátiles, que fomentaron en mí una cultura autodidacta que fue vital para la conclusión de este trabajo.

Al **Dr. Iván Córdova Guerrero**, a quien le deberé por siempre gran parte de mi formación como profesional e investigador, por sus enseñanzas y los valores humanos que me demostró con el ejemplo y que tendré el privilegio de poner en práctica por el resto de mi vida.

A mi familia, es especial a **mi Madre**, por haberme formado como persona de bien, por haber despertado en mí el sentido de curiosidad, alimentado mi imaginación y guiado mi sentido de lógica, herramientas vitales para cualquier investigador, por su apoyo, consejo y cariño incondicional en los momentos necesarios, motivándome a ser mejor cada día.

En general, al **Laboratorio** de Química Medicinal y Productos Naturales, instalaciones donde directamente lleve a cabo la parte experimental de este

proyecto, brindándome infraestructura, materiales y equipo sin los cuales este trabajo no hubiese sido concluido.

A **mis compañeros** de laboratorio, Q.F.B Laura Díaz Rubio, por sus consejos, ayuda y motivaciones, por los momentos divertidos y sobre todo por haberme brindado su amistad desde el primer día. A la Biol. Mayra Candolfi Arbayo, quien por su amigable naturaleza y sencillez, hizo del ambiente de trabajo mucho más agradable. A los Q.F.B Arturo Estolano Cobian y Carolina Sandoval Acosta, compañeros y amigos de noble corazón, de quienes me siento dichoso de haber aportado a una fracción de su formación. Y a la Q.I Nancy Elizabeth Santos Aguiar, quien con su compañía y la alegría que le caracteriza, siempre hacían de un día común, un buen día.

A todos, muchísimas gracias!

## Declaración

Yo, **Q.F.B Eduardo Luis Noriega Iribe**

Declaro que la presente tesis de maestría que lleva como título “Reacciones de la 1,4-Naftoquinona con Aminas y Aminoalcoholes”, y siendo de esta directores el Dr. Raúl Romero Rivera y el Dr. Iván Córdova Guerrero que se presenta ante la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma de Baja California es de mi autoría y no ha sido presentada ante ningún otro comité u organismo académico.

Firmo y atestiguo frente al tribunal constituido por los siguientes profesores:

Dr. Raúl Romero Rivera (UABC)

Dr. Iván Córdova Guerrero (UABC)

Dr. Eduardo Rogel Hernández (UABC)

Dr. José Luis Sánchez Palacio (UABC)



---

Q.F.B Eduardo Luis Noriega Iribe

Cuando se me pregunta "¿Porque estudias Química?", muchas respuestas posibles se me ocurren, desde una más profunda como "Es una aventura intelectual", o, una respuesta más materialista como "Puedo ganar buen dinero", o incluso una más simplista como "La necesitaba para graduarme". Sin embargo, la respuesta más válida es mucho más sencilla que todo eso, pero más difícil de explicar. La química, es la ciencia que explica cómo se comporta la materia. Pensemos un poco. Solamente tenemos un mundo en el cual vivir, y tenemos solamente una oportunidad para vivirlo. Así que, si queremos saber cómo es que nosotros podemos cambiar el mundo, conocer aquello que simplemente no podemos alterar, o incluso simplemente apreciar lo que tenemos, pues entonces debemos saber cómo es que funciona. La química es la ciencia que nos explica todo esto. Es verdad que la física puede explicarnos los hechos fundamentales acerca de partículas elementales, sobre la materia y energía, pero se queda corta al intentar sacar conclusiones sobre cómo es que los diferentes tipos de materia a nuestro alrededor interactúan y cambian constantemente. La biología describe a organismos vivientes a gran escala, pero estos, en lo más profundo, son sistemas químicos sumamente complejos que apenas empezamos a comprender. Si bien, la vida se encuentra en la cúspide de la química funcional, no olvidemos que, si la química estudia cómo se comporta la materia, ya que nosotros mismos somos parte integral de este mundo material, pues, nos guste o no, la química nos estudia a nosotros...

**E. Noriega**

七転び八起き  
すべて お守る 力う  
私 わ 負けない  
なんくるないさ

## Abreviaturas empleadas:

Abreviatura	Descripción
AcCl	cloruro de acetilo
AcOH	ácido acético
AcOEt	acetato de etilo
ADN	ácido desoxiribonucleico
°C	grados centígrados
CCF	cromatografía en capa fina
CDCl <sub>3</sub>	deuterocloroformo
cm	centímetros
cm <sup>-1</sup>	unidades de número de onda (en Infrarrojo)
CONACYT	Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (en México)
CG	cromatografía de gases
c	Cuarteto (en RMN)
d	doblete (en RMN)
DMF	N, N '-dimetilformamida
DMSO	dimetil sulfoxido
EM	espectrometría de masas
eq	equivalentes
<i>et al</i>	y colaboradores
g	gramo
hr	horas
Hz	Hertz
<i>ibid</i>	prefijo del latín que significa "del mismo lugar antes mencionado"
<i>in situ</i>	prefijo proveniente del latín que significa "en sitio"
<i>in vitro</i>	prefijo proveniente del latín que significa "en cristal"
<i>in vivo</i>	prefijo proveniente del latín que significa "en vivo"
IR	infrarrojo
<i>J</i>	constante de acoplamiento (en RMN)
m	metros (unidad de medida), multiplete (en RMN)
M	molaridad
M <sup>+</sup>	ion molecular (en espectrometría de masas)
Me	metilo
mg	miligramo
MHz	megahertz
min	minutos
mL	mililitro
μL	microlitros
μM	micromolar
MeOH	metanol
mmol	milimoles
<i>m/z</i>	relación masa carga (en espectrometría de masas)
NCI	Nacional Cancer Institute (en Estados Unidos)

<b>Pag.</b>	página
<b>PF</b>	punto de fusión
<b>ppm</b>	partes por millon
<b>q</b>	cuarteto (en RMN)
<b>ref.</b>	referencia
<b>% R</b>	porcentaje de rendimiento
<b>RMN</b>	resonancia magnética nuclear
<b>RMN <sup>1</sup>H</b>	resonancia magnética nuclear de protón
<b>RMN <sup>13</sup>C</b>	resonancia magnética nuclear de carbono <sup>13</sup>
<b>s</b>	singulete (en RMN)
<b>SRB</b>	sulforhodamina B
<b>t</b>	tripleto (en RMN)
<b>t.a.</b>	temperatura ambiente
<b>T</b>	temperatura
<b>THF</b>	tetrahidrofurano
<b>TMS</b>	tetrametilsilano
<b>UV</b>	ultravioleta
<b>VIH</b>	virus de la inmunodeficiencia humana
<b>δ</b>	desplazamiento químico en ppm, delta

## Resumen

En el presente documento se aborda el trabajo realizado sobre la síntesis y caracterización de los compuestos tipo 2-alquilaminonaftoquinona, compuestos que resultan de alto interés por su relevancia biológica, y sus derivados, además de sus respectivos ensayos antioxidantes in-vitro realizados y un panel de actividad antiproliferativa. El objetivo general de esta investigación es determinar una metodología que resulte tanto práctica, eficiente, así como también económica y lo menos dañina al medio ambiente posible para la obtención de los compuestos 2-alquilaminonaftoquinona. Se abordaran diferentes aproximaciones empleadas y finalmente se explicara cual resulto la mejor empleada y porque.

En la sección de introducción se plantean algunos de los aspectos históricos de los productos naturales y su relación al desarrollo del ser humano.

En la sección de antecedentes se aborda el tema del papel de los compuestos quinonicos y específicamente de las naftoquinonas, algunos datos relevantes sobre su distribución en la naturaleza, usos y posibles aplicaciones, haciendo énfasis en el gran potencial biológico que presentan.

En la sección de objetivos se presentan las ambiciones del proyecto en general. Posteriormente en la sección de hipótesis se muestra cual es la premisa inicial sobre la que se fundamenta el trabajo.

En la sección de materiales y métodos se muestran las técnicas experimentales empleadas y los resultados inmediatos obtenidos, tantos sintéticos como biológicos.

Posteriormente se encontrara la sección de discusión de resultados y finalmente la sección de conclusiones, apartados donde se discutirá las inferencias inmediatas que se pudieran hacer respecto a ello.

## Summary

In this document we shall approach the work done in regards to the synthesis and characterization of 2-alkylaminonaphthoquinone type compounds, molecules that result to be of great interest for their biological activity, also, their corresponding derivatives and the in-vitro antioxidant assay done on the as well as a panel of antiproliferative activity. The general objective of this research is to determine the ideal methodology for obtaining 2-alkylaminonaphthoquinone type compounds, one that results handy, efficient as well as economic and as eco-friendly as possible. We shall survey the different approximations used and finally we shall explain which one produced the best results and try to explain why.

In the introduction section, we expose the main historical aspects of natural products and their relevance in human social development.

En the background section we expose the role of quinonic type compounds and specifically naphthoquinones, some relevant data on their distribution in nature, uses and possible applications, making emphasis y the great biological potential they represent.

In the objectives section we present the main ambitions of the project in general. Then, in the hypothesis section, we show the main premise on which the project is based.

In the materials and methods section, we show the experimental techniques used and their immediate results obtained, both synthetic and biological.

Following, we find the results discussions section and finally the conclusions section shall discuss immediate inferences that can be made with them.



# INTRODUCCIÓN

# 1. Introducción

## 1.1. Los productos naturales en la historia humana

Los productos naturales (particularmente los metabolitos secundarios) han sido una de las fuentes más exitosas de compuestos líder para fármacos potenciales [Mishra, B.B 2011, Rey Ladino, J 2011, Cragg, G.M. 2005, Haefner, B. 2003, Butler, M.S. 2004]. Sin embargo, su incorporación a las técnicas de descubrimiento de nuevos fármacos ha observado una disminución y así como también un menor interés por los mismos [Mishra, B.B **ibid**]. A pesar de ello, los productos naturales continúan proporcionando estructuras únicas y diversas en comparación con la química combinatoria, la cual presenta principalmente oportunidades de descubrimiento de nuevos compuestos líder de bajo peso molecular. Debido a que aproximadamente a menos del 10% de la biodiversidad se le ha evaluado su potencial biológico, un gran número de compuestos naturales con excelente potencial farmacológico que esperan por ser descubiertos, siendo aquí el reto principal, cómo es que llegamos a ellos y cómo se logra acceder a esta diversidad química [Cragg, G.M. **ibid**].

Algunos de los registros más antiguos donde se describe el uso de productos naturales remontan a la antigua Mesopotamia (2600 A.C), en donde se encuentra documentado sobre tabletas de arcilla el uso de aceites esenciales de Cupressus sempervirens, o ciprés común y de Commiphora molmol, o mirra del oriente, que sorprendentemente se siguen utilizando hasta el día de hoy para tratar diversos padecimientos como la tos e inflamación muscular [Cragg, G.M. **ibid**]. El papiro Ebers (2900 A.C) es un compendio de registros farmacéuticos de origen egipcio en donde se documentan más de 700 tratamientos médicos a base de plantas, estos incluyen desde lavados bucales, tabletas, infusiones, bálsamos entre otros. El medico griego Dioscórides

(100 D.C) recopiló múltiples textos sobre el almacenamiento correcto de plantas medicinales para que estas retengan sus propiedades curativas, mientras que el filósofo griego Teofraustus (300 A.C) ya había previamente redactado varios textos sobre la utilización de hierbas curativas, sin embargo, aun en esas épocas su eficacia se atribuía más a poderes sobrenaturales que a sus componentes químicos. Esto se seguiría perpetuando incluso hasta la Edad Media, recibiendo especial interés en las regiones que hoy corresponden a Inglaterra, Irlanda, Francia y Alemania, centrándose principalmente en monasterios de la iglesia cristiana donde se procuraba resguardar este conocimiento [*Cragg, G.M. ibid*].

## **1.2 Las plantas medicinales en el folclor humano**

Como ya se mencionó, el uso de plantas medicinales se ha descrito y propagado a lo largo de la historia humana, y ha llegado a formar parte integral de la cultura de distintos pueblos en la forma de remedios tradicionales, en la mayoría de los casos sin haber logrado identificar sus componentes activos, esto es debido a que la fuente principal de conocimiento sobre los productos naturales hasta ese momento fue el resultado de la experimentación humana a base de prueba y error por cientos de años, probablemente causando múltiples muertes debido a sobredosis o intoxicaciones, todo esto en búsqueda de tratamientos para enfermedades o padecimientos con los recursos naturales que se tenían disponibles [*Hicks, S. 1966, Kinghorn, A.D. 2011*].

Un ejemplo particular involucra el uso de plantas del genero *Salvia*, las cuales crecen a todo lo largo de la región sudeste de Estados Unidos de Norteamérica y en múltiples regiones del norte y sudeste de México. Éstas eran utilizadas por los antiguos pobladores de las regiones mencionadas como auxiliares en las labores del parto [*Hicks, S. ibid*], además, de manera

ritualista los recién nacidos varones eran envueltos en las cenizas calientes de las hojas de Salvia, creyendo que estos bebés crecerían sumamente fuertes y serían los miembros más sanos de sus respectivas tribus, asegurando que este ritual los dejaba exentos de diversas afecciones de por vida [Hicks, S. **ibid**].

Incluso desde los principios del siglo XVII, el líquen de distintos árboles se utilizaba como colorante y era considerado mucho más valioso que cualquiera de las especies comestibles provenientes del oriente. A la fecha, no existen fármacos derivados de él líquen, a pesar de que su uso en el folclor está más que bien documentado [Müller, K **2001**].

### **1.3 Metabolitos primarios y secundarios**

Tanto el metabolismo anabólico como el catabólico de proteínas, grasas, ácidos nucleicos y carbohidratos son esenciales para la supervivencia de todos los organismos vivos. Se le conoce como **metabolitos primarios** a aquellos compuestos químicos que son esenciales para la supervivencia inmediata de algún organismo viviente, su correcto desarrollo y reproducción además de encontrarse sin mucha variación en diferentes especies de seres vivos [Dewick, P.M. **2002**], y se designan como **metabolitos secundarios** a aquellos que generalmente no se consideran estrictamente esenciales para el crecimiento, desarrollo o reproducción de algún ser viviente y que además, muchos de ellos son específicos para una determinada especie, siendo el resultado de la adaptación al medio, posiblemente como mecanismos de defensa y además de la selección natural [Maplestone, R.A. **1992**, Colegate, S.M. **2008**]. Estos metabolitos secundarios se derivan a partir de procesos fundamentales para el ser vivo, como la fotosíntesis, la glucólisis o el ciclo de Krebs, que producen intermediarios que eventualmente conducen a la formación de estas nuevas moléculas [Dewick, P.M. **ibid**]. Se piensa que estos metabolitos secundarios podrían

ser el resultado de múltiples causas naturales como inserciones de retrovirus al material genético o cambios drásticos en el clima o el medio ambiente, aunque también pueden deberse a causas no naturales como influencia de agentes químicos o radiaciones que también inducen mutaciones en el genoma, surgiendo con el solo fin de propiciar la adaptación y longevidad del organismo [Sarker, S.D. 2006]. Es la peculiar biosíntesis de estos compuestos naturales producidos por incontables organismos terrestres y marinos lo que provee las características estructuras químicas con una gran variedad de actividades biológicas.

#### 1.4 Productos naturales de importancia histórica

La práctica del uso los remedios tradicionales logró fomentar las bases de muchos de los principios de la medicina moderna, con sus subsecuentes aproximaciones clínicas, farmacológicas y químicas [Butler, M.S. 2004]. Quizá uno de los ejemplos más famosos y conocidos sea el de la síntesis del AINE ácido acetilsalicílico, mejor conocido como Aspirina® (Figura 1, A), que deriva del producto natural salicina (Figura 1, B) que se obtiene de la corteza del árbol *Salix alba* o sauce [Der Marderosian, A. 2002]. Gracias a múltiples estudios realizados con la planta *Papaver somniferum* o amapola se logró exitosamente aislar en 1803 varios alcaloides del *opio* (la resina viscosa que exuda la cápsula al madurar la planta),

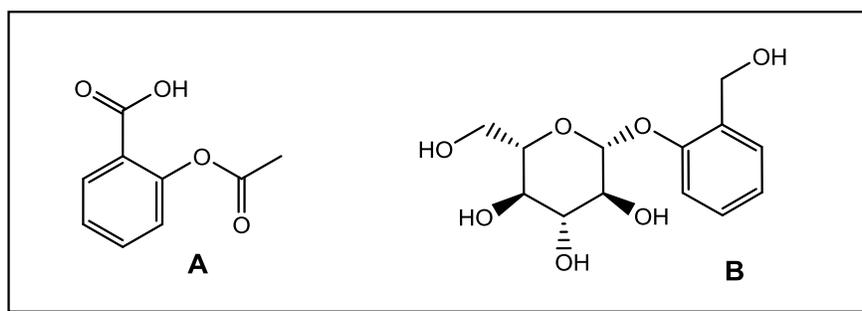
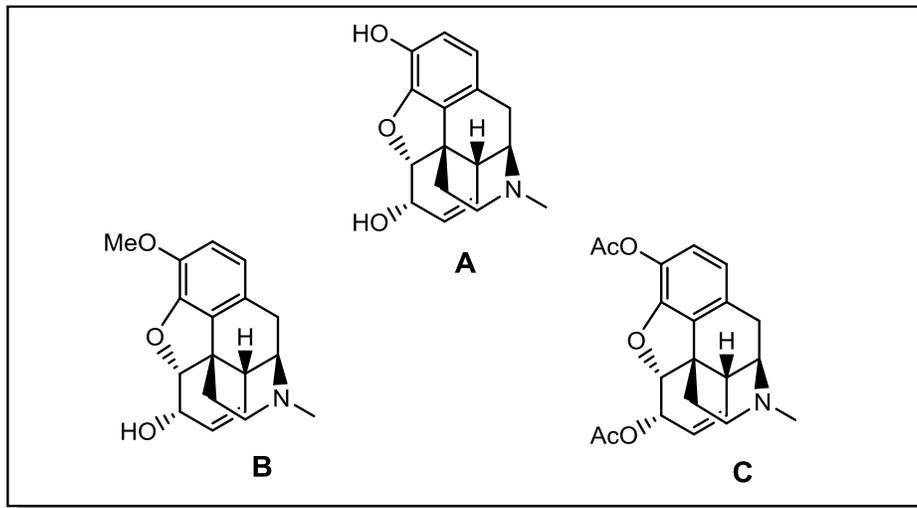


Figura 1- Ácido acetilsalicílico (A) y salicina (B)

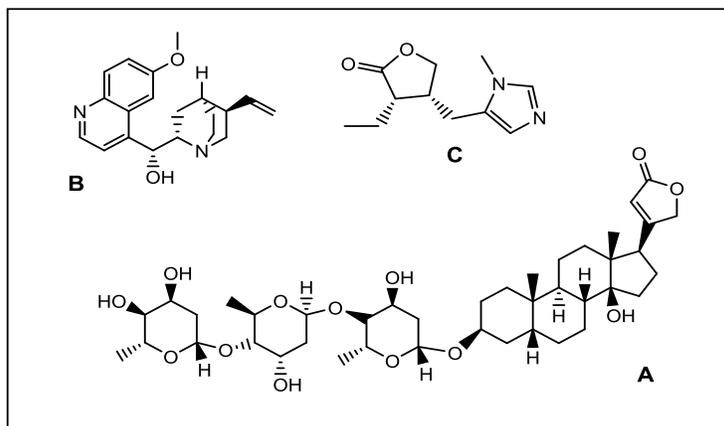
incluyendo la morfina (**Figura 2, A**) a la cual se le atribuye sus efectos analgésicos y sedantes. Fue hasta 1870 que la resina cruda del opio se hizo reaccionar con anhídrido acético para así convertir la morfina en diacetilmorfina (más comúnmente llamada heroína) (**Figura 2, B**), además de descubrirse que fácilmente era convertida en codeína (**Figura 2, C**), un excelente antitusígeno. Históricamente, los antiguos sumerios y griegos documentaron el uso de extractos acuosos de amapola para tratamiento de dolores fuertes, mientras que los árabes describieron las múltiples cualidades adictivas del opio [*Der Marderosian, A. ibid*].



**Figura 2-** Morfina (A), codeína (B) y heroína (C)

El uso de la planta *Digitalis purpurea* se ha logrado rastrear hasta la Europa del siglo X, pero no fue sino hasta los años 1700 que su componente activo principal, la digitoxina (**Figura 3, A**), un glucósido que se encontró era capaz de mejorar la conducción eléctrica en el músculo cardíaco, además de mejorar la contractibilidad de las mismas células cardíacas. La digitoxina y sus análogos se siguen utilizando hoy en día como tratamiento de enfermedades cardíacas congestivas [*Der Marderosian, A. ibid*]. El fármaco antipalúdico quinina (**Figura 3, B**) actualmente

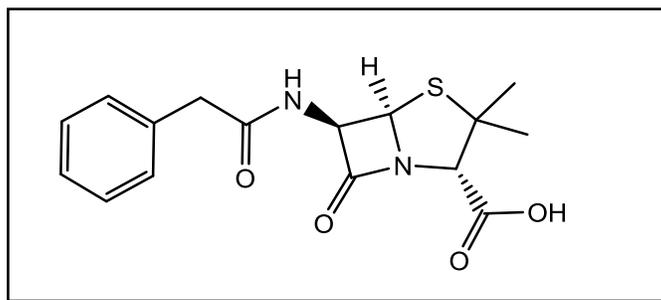
está aprobado por la FDA desde el 2004 para el tratamiento de la malaria, pero se ha utilizado por siglos para tratar el paludismo, la fiebre, indigestión, infecciones bucales y de garganta, originalmente se logró aislar de la corteza del árbol Chinchona succirubra. Los marineros ingleses fueron los que popularizaron originalmente su uso en los años 1800, por ser los que estaban mayormente expuestos a la malaria [Der Marderosian, A. **ibid**]. La pilocarpina (**Figura 3**, C) que se puede encontrar en la planta Pilocarpus jaborandi, es un alcaloide derivado de la L-Histidina que se ha utilizado en el ambiente clínico para el tratamiento del glaucoma, además también se puede usar para estimular las glándulas sudoríparas y medir las niveles de sodio y cloro en el organismo [Aniszewski, T. **2007**].



**Figura 3-** Digitoxina (A), quinina (B) y pilocarpina (C)

Sin lugar a duda uno de los descubrimientos de un productos naturales más famosos ha sido el de la penicilina (**Figura 4**) que deriva del hongo Penicillium notatum descubierto por Alexander Fleming en 1929 [Mann, J **1994**], quien diseñó un proceso de separación y extracción que producía penicilina en altas cantidades y gracias a ellos se pudo realizar gran número de estudios *in vivo*. Eventualmente se logró distribuir la penicilina en la forma del primer antibiótico

para uso humano con el que se ha logrado salvar incontables vidas hasta el día de hoy y eventualmente valiéndole el premio nobel en 1945 en fisiología y medicina a Fleming y sus asociados, no sin antes habiéndose reportado extensivamente sus efectos [Abraham, E.P. 1941].



**Figura 4-** Bencilpenicilina

Este descubrimiento revolucionó para siempre el campo de la investigación química de productos naturales. [Alder, A.L. 1970, Lax, E. 2004, Wainwright, M. 1990, Mann, J. 1999], marcando la pauta y reafirmando para siempre la importancia de los productos naturales (y sus derivados) tanto en la medicina moderna como también en la tradicional [Williams, J.D. 1999].

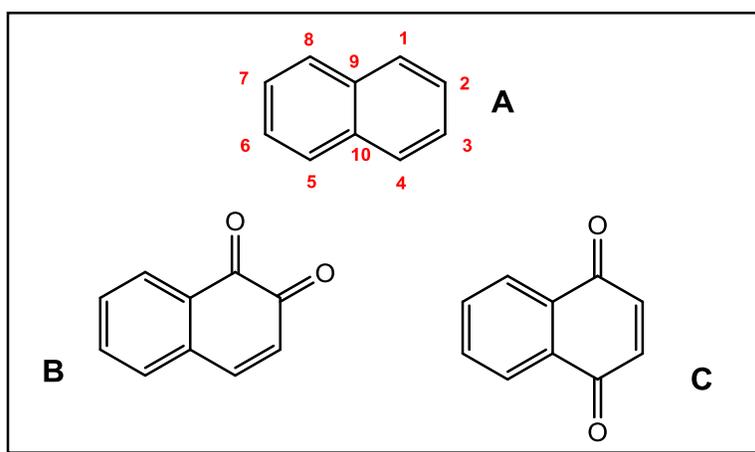


# **ANTECEDENTES**

## 2. Antecedentes

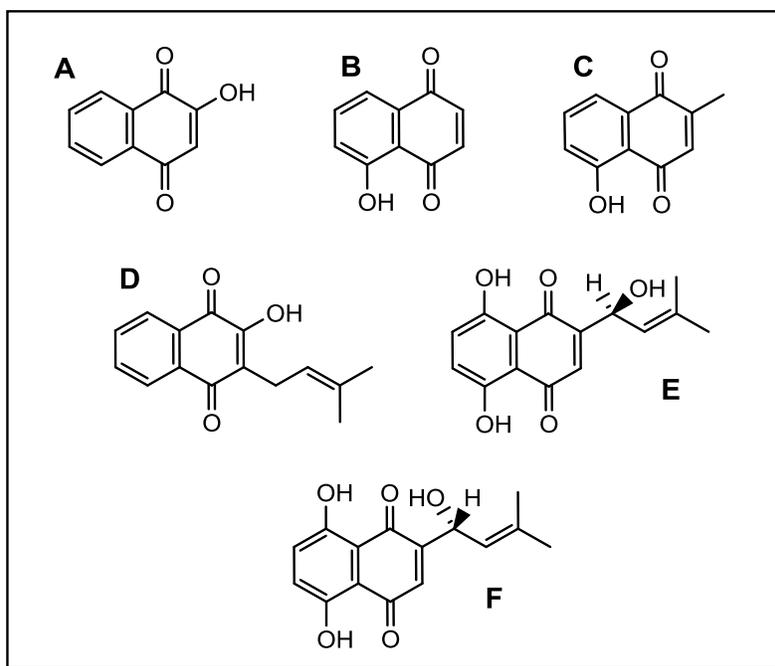
### 2.1 Quinonas y Naftoquinonas

Las naftoquinonas son compuestos coloridos de origen natural, que tienen como característica estructural poseer dos grupos cetona en las posiciones 1,4 (aunque también hay evidencia de que existen aquellos en las posiciones 1,2 ó 1,3) en un anillo del naftaleno, de donde deriva su nombre común (**Figura 5**). En la naturaleza pueden presentar estructuras muy variadas, contener grupos alcohol y/o ramificaciones alquílicas, además de que también pueden encontrarse en su forma libre o conjugadas con diversos monosacáridos [Bruneton J. **2001**, Bruneton J. **1991**]. La distribución de las naftoquinonas es amplia, ya que se han aislado de plantas, hongos, bacterias, e inclusive de animales. Sin embargo, se encuentran en mayor proporción en plantas superiores de determinadas familias de Angiospermas como: *Ebenaceae*, *Droseraceae*, *Bignoniaceae*, *Verbenaceae*, *Plumbaginaceae*, *Juglandaceae*, *Boraginaceae*, etc. [Bruneton J. **ibid**, Kuklinski C. **2000**, Thomson, R.H. **1957**].



**Figura 5-** Naftaleno (A), 1,2-naftoquinona (B) y 1,4-naftoquinona (C)

Además de las propiedades colorantes de estas quinonas y sus derivados, se han encontrado importantes usos terapéuticos, destacando como antiparasitarios, antibacterianos, antifúngicos y anticancerígenos. Debido a ello las naftoquinonas han sido sujeto de estudio por diversos grupos de investigación. Sin embargo, es la medicina tradicional una fuente que ha ofrecido una gran diversidad de moléculas biológicamente activas y las naftoquinonas no son la excepción. Si bien, el primer uso de éstos compuestos fue en la industria de los pigmentos, en la literatura se encuentran numerosos reportes de sus actividades biológicas. Las naftoquinonas naturales, lawsona, juglona, plumbagina, lapachol, alkalina y shikona (**Figura 6**) aisladas de fuentes vegetales destacan por su uso en la medicina tradicional [Bruneton J. *ibid*, Kuklinski C. 2000, Thomson, R.H. 1957].



**Figura 6-** Lawsonia (A), juglona (B), plumbagina (C), lapachol (D), alkalina (E) y shikona (F)

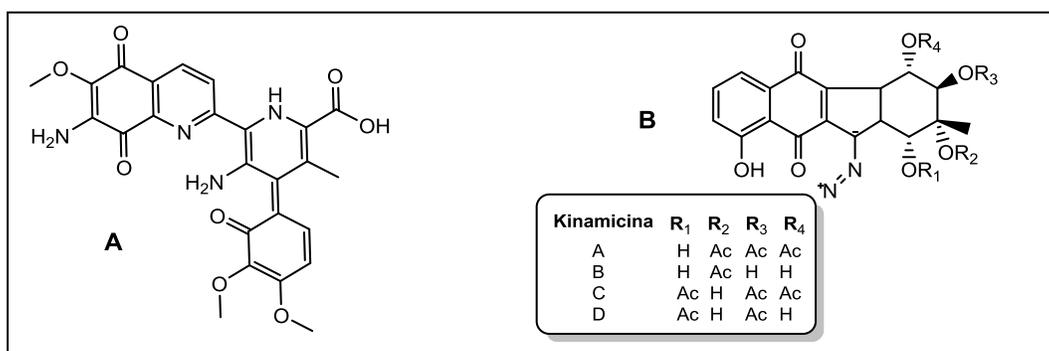
Queda claro que las naftoquinonas son moléculas sumamente ubicuas, estos compuestos podrían incluso considerarse como algunos de los metabolitos secundarios más distribuidos en la naturaleza, pudiéndose encontrar como monómeros, dímeros o trímeros, pero siendo más prevalentes como el aglicón de diferentes glucósidos. [Lluvia L. **2011**]. Resulta sumamente común encontrar diversos fármacos que incluyan una porción quinona en su estructura molecular, antraciclinas, mitoxantronas, mitomicina (y derivados), daunorubicina y uno de los actuales fármacos de elección en el tratamiento de diversos tipos de cáncer, la doxorubicina. [Tomoko K. **2009**, Rajeshwar P. **2006**].

## **2.2 Quinonas de Origen Natural y Algunas Propiedades Biológicas**

Los compuestos quinónicos han capturado la atención del ser humano desde hace ya miles de años atrás, probablemente en un inicio logrando captar su interés dado a los brillantes colores que estos poseen y la posibilidad de usarlos como colorantes [Bolognesi M. **2008**].

Diferentes pigmentos de múltiples coloraciones se han identificado y caracterizado hoy en día como compuestos quinónicos, lográndose aislar de plantas, hongos y hasta animales [Keinan S. **2008**]. Existe evidencia que desde hace más de 4000 años, los antiguos pobladores humanos administraban preparados en crudo de algunas plantas, que se sabe hoy en día contenían compuestos quinónicos como principios activos, con el fin de tratar algunas enfermedades o también como laxantes [Bolognesi M. **ibid**, Keinan S. **ibid**]. A través de la historia se han ido descubriendo múltiples beneficios médicos a la larga lista de compuestos quinónicos de origen natural [Bolognesi M. **ibid**].

El descubrimiento de las propiedades antibióticas y antitumorales de varios compuestos quinónicos de origen natural solo logró aumentar el interés de la comunidad científica por sus posibles aplicaciones farmacéuticas. Algunos compuestos como la kinamicina A, B, C y D [Ōmura S. 1973, Furasaki A. 1972, Mithani S. 1996 ] y la estreptonigrina 2 (Figura 7) tienen un potencial antibiótico, aunque débil, sin embargo han logrado atraer la atención a su estudio, debido a su singular estructura, la cual sugiere algún proceso biosintético inusual, o algún mecanismo de acción novedoso que justifique su actividad [Brisson M. 2005].



**Figura 7-** La estructura de la estreptonigrina (A) y los analogos de la kinamicina (B)

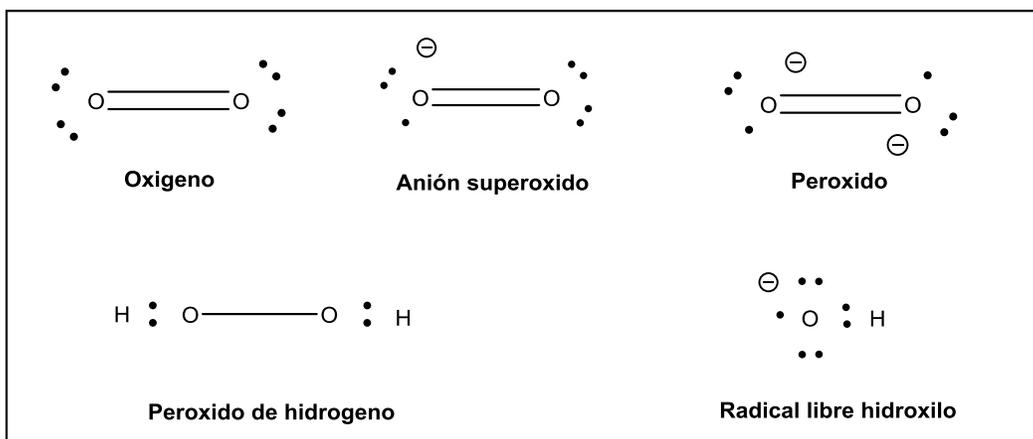
En un estudio de tamizaje reciente, donde se utilizaron diferentes compuestos de origen natural midiendo su actividad de inhibición del virus de VIH, la estreptonigrina demostró ser sumamente efectiva como inhibidor de la Transcriptasa Inversa (**ingl. Reverse Transcriptase**), importante enzima necesaria para la replicación del virus del VIH [Rajeshwar P. **ibid**]. Este descubrimiento junto con la observación de que compuestos quinónicos más sencillos demuestran tener también actividad anti-transcriptasa inversa, implica que diferentes análogos con la función quinona, podrían ofrecer resultados prometedores en la lucha contra el VIH y el SIDA [Calonghi N. 2007].

Otro buen ejemplo es la shikona (**Figura 6**), la cual ha demostrado tener excelente potencial antitumoral mediante la inhibición de la señalización en el Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico (**ingl. EGFR**) en células de carcinoma epidermoide humanas [*Calonghi N. **ibid***, Chen X. **2003**]. Las mutaciones que involucran al EGFR pueden resultar en una potencial sobre activación, lo cual conduciría a una desmesurada división celular y una mayor predisposición a desarrollar algún tumor o cáncer. Se ha logrado aislar el EGFR en su estado mutado en diferentes líneas celulares y en estas la shikona demuestra tener un efecto antiproliferativo, cuando normalmente estas mismas células serían resistentes a terapias de radiación o técnicas quimioterapéuticas convencionales. [*Calonghi N. **ibid***].

La actividad antiplasmodica de los derivados de las naftoquinonas se encuentra reportada desde hace ya más de 50 años [*Lin T. **1991***], sin embargo, lo más probable es que esto ya se conociera desde hace mucho más tiempo en la medicina etnobotánica, sin que hubiese registros físicos encontrados. A pesar de que ninguno de los compuestos documentados por *Lin et al* pasaron suficientes ensayos clínicos para poder comercializarse como antipalúdicos, abrió la puerta al descubrimiento de una gran variedad de compuestos derivados de la naftoquinona que demostraron tener una excelente actividad contra *Plasmodium falciparum*, tanto in-vitro como en modelos animales [*Lin T. **ibid***]. Esto es difícilmente causa de sorpresa, ya que la actividad antiplasmodica se ha observado en muchos compuestos que tienen la capacidad de crear un elevado ambiente oxidativo en células eritrocitarias infectadas por el parásito, por lo tanto, se propone que las naftoquinonas ejercen su efecto inhibiendo la enzima dihidroorotato deshidrogenasa, evitando la síntesis de novo de bases pirimidínicas y además causando daño oxidativo al ADN del agente infeccioso [*Lin T. **ibid***].

## 2.3 Radicales libres y citotoxicidad

El término “especies reactivas de oxígeno” (ROS), del inglés *Reactive Oxygen Species*, hace referencia a un grupo de moléculas de naturaleza oxidante que incluye aniones superóxido, peróxidos y radicales libres hidroxilo. Los aniones superóxido son el producto de una reacción de reducción de un solo electrón y normalmente tienen tiempos de vida sumamente cortos dentro de las células ya que reaccionan rápidamente con antioxidantes o son transformados en otro ROS o son transformados en otro ROS muy conocido, el peróxido de hidrógeno. Los peróxidos son de los ROS menos reactivos que se conocen, y debido a ello pueden persistir dentro de la célula por un mayor periodo de tiempo, comparado con el radical libre hidroxilo, el cual tiene un tiempo de vida media muy corto, pero resulta ser el radical más dañino de todos al poder reaccionar con una gran variedad de macromoléculas [Pelicano H, 2004].



**Figura 8-** Algunas especies oxidantes y radicales libres conocidos

Gran parte de los ROS a los que el organismo se encuentra expuesto son generados de forma normal y de manera continua debido a procesos oxidativos en la mitocondria, de donde estos pueden después migrar. Se estima que alrededor del 2% del oxígeno consumido por la

mitocondria para llevar a cabo la producción de ATP es transformado en aniones superóxido, lo que desencadena la eventual producción de radicales libre hidroxilo. Además de la cadena de transporte de electrones, los ROS pueden también producirse debido a la actividad desintoxicante del complejo multienzimático P450. [Boveris A, 1973]

Debido a esta prevalencia, las células se ven obligadas a mantener un balance oxidoreducción en su entorno, y se logra principalmente por dos mecanismos. El primero es mediante agentes neutralizantes de radicales libres, donde figuran principalmente el tripeptido glutatión y la proteína tioredoxina. [Engel R, 2006]. Ambas moléculas son capaces de neutralizar a los ROS mediante la oxidación de sus grupos tiol. La célula normalmente mantiene reservas de ambas moléculas que continuamente se están regenerando por acción de otros agentes que reducen el enlace disulfuro de vuelta a la forma tiol.

El segundo mecanismo se logra mediante la acción de enzimas neutralizantes como los son las enzimas superóxido dismutasa y la catalasa [Engel R, *ibid*]. Las dismutasas catalizan la conversión de los aniones superóxido a peróxido de hidrógeno y la catalasa a su vez, funge como mediadora en la conversión del peróxido de hidrógeno a oxígeno molecular y agua. Mediante estos métodos la célula es capaz de mantener un estado de homeostasis.

Recientemente se ha logrado establecer la relación que existe entre las células cancerígenas y concentraciones de ROS más altas de lo normal. Algunas de las teorías más aceptadas explican que las células tumorales son comúnmente más activas metabólicamente, al requerir mayores cantidades de ATP comparada con una célula sana ya que su tasa de replicación es mayor, y como ya se mencionó, esta sobreproducción de ATP dentro de la mitocondria

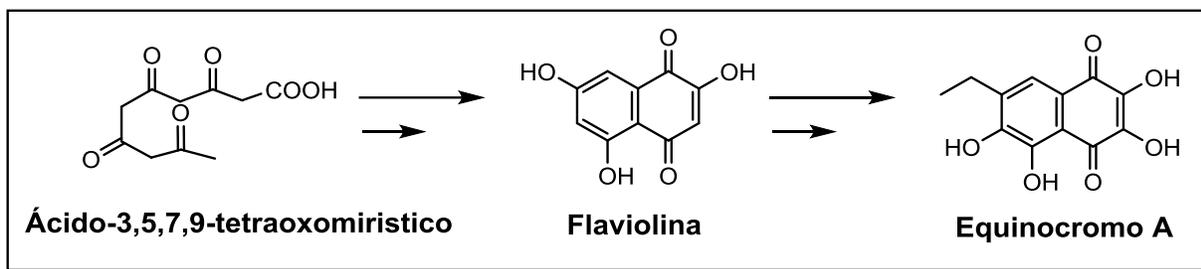
eventualmente da lugar a concentraciones de ROS mucho más altas de lo normal, las cuales la célula no es capaz de neutralizar exitosamente y generándose así un ambiente oxidativo [Hileman E, 2004] , [Behrend L, 2003].

En un ambiente oxidativo, aparte de que fácilmente pueden verse afectados componentes celulares como proteínas y lípidos de membrana, resulta especialmente aberrante las posibles consecuencias del daño oxidativo al material genético [Stadtman E, 1990], [Hensley K, 2000]. Se tiene evidencia de que los ROS aumentan la proliferación de células tumorales, esto a raíz de daño oxidativo en porciones del ADN que codifica para genes de auto-regulación y crecimiento. Uno de los mejores estudiados es el crecimiento tumoral que se origina al dañarse un conjunto de proteínas llamadas MAPK, las cuales controlan la señalización del exterior de la célula hacia el núcleo a la hora de la replicación. Dañándose estos puntos clave de autorregulación, la célula potencialmente podría verse en un ciclo de crecimiento y reproducción anormal, al crearse un daño sin posibilidad de ser reparado. [Liu H, 2000].

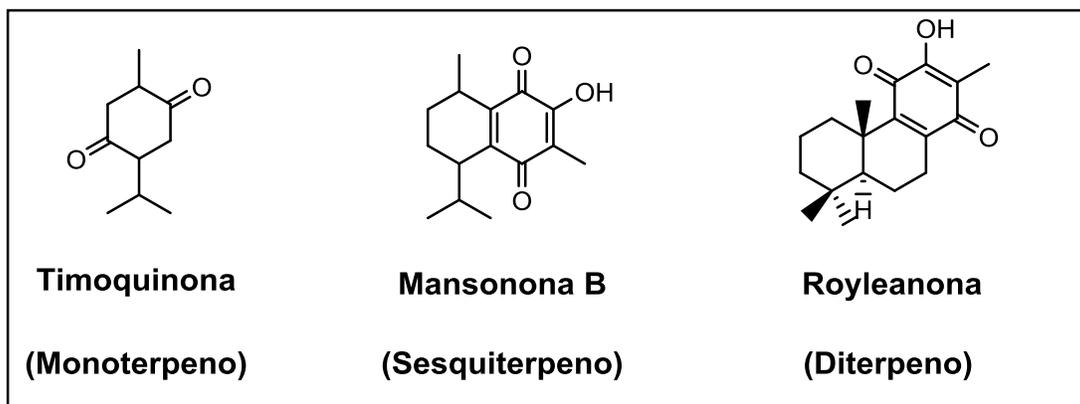
## 2.4 Biosíntesis de compuestos quinónicos

La biosíntesis del esqueleto que conforma los compuestos quinónicos de origen natural puede originarse de distintas fuente de carbono, siendo las unidades de acetato e isopreno los principales componentes que le dan origen en la ruta sintética *de novo* de múltiples compuestos quinónicos [Chen X. 2003]. El termino quinona policétido (*ingl. Polyketide*) y quinona terpenoide hace referencia, respectivamente, a quinonas cuyo esqueleto origina a partir de la ruta del malonato/acetato (**Esquema 1**) o la ruta del isopreno (**Esquema 2**) [Chen X. *ibid*]. Dependiendo

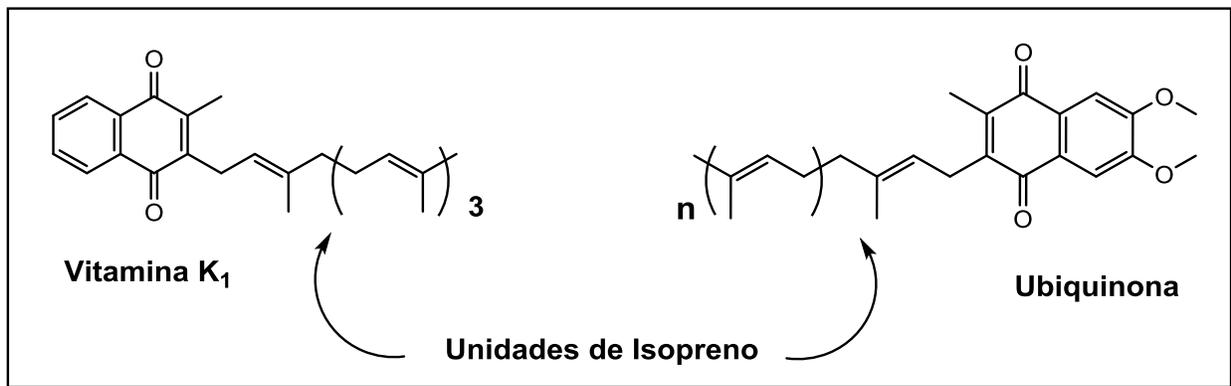
del número de unidades de isopreno que conformen a la quinona terpenoide, podrá clasificarse como **monoterpeno** (2 unidades de isopreno o 10 átomos de C), **sesquiterpeno** (3 unidades de isopreno o 15 átomos de C) o **diterpeno** (4 unidades de isopreno o 20 átomos de C) [Baggish A. 2002]. El esqueleto tipo diterpeno es considerablemente el más abundante de todos, y rinde cuenta por más de dos tercios de los más de 100 compuestos quinonicos terpenoide de origen natural que se han identificado hasta la fecha. Cuando los derivados del isopreno se presentan solamente como una cadena lateral de la quinona, se emplea el término **meroterpeno**, por ejemplo, la vitamina K<sub>1</sub> y la ubiquinona son quinonas meroterpenoides biológicamente importantes (**Esquema 3**).



**Esquema 1-** Quinonas de la ruta Malonato/acetato



**Esquema 2-** Quinonas de la ruta del isopreno



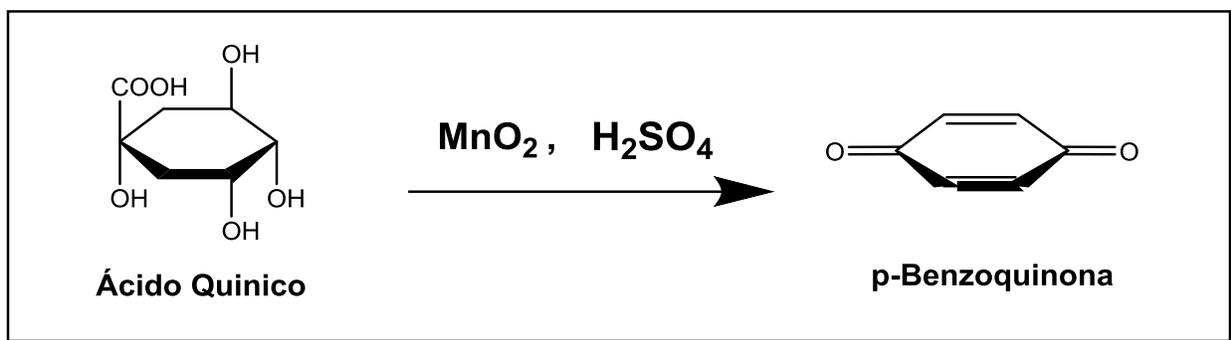
**Esquema 3-** Ejemplos de quinonas meroterpenoides

## 2.5 Algunas aplicaciones industriales de derivados 2-aminonaftoquinonas

Aparte del más que obvio potencial terapéutico, las aminonaftoquinonas también encuentran aplicación en el área industrial, un ejemplo específico, en el campo de la fotografía. Las 2-dialquilamino-1,4-naftoquinonas (**Esquema 4, A**) se utilizan como moléculas fotosensibles (diferentes a los compuestos derivados de la plata, que son más caros) y en el develado fotográfico. Además estos mismos materiales fotosensibles también son explotados en procesos industriales como la fotolitografía y el fotograbado para facilitar el marcado de un diseño específico o una imagen sobre una superficie. Este uso tan práctico es el resultado directo de una peculiar propiedad de los compuestos quinónicos, que es la de inducir una reacción oxidoreducción por efectos de la luz, que conduce a la formación del 2,3-dialquil-2,3-dihidronafto-[2,1-d]-oxazol-5-ol (**Esquema 4, B**) [Russkikh V. 1992].



la primera en ser sintetizada en laboratorio, fue la *p*-benzoquinona, descubierta en 1830 en el laboratorio de **Justus Von Liebig**, como resultado de la sobre-oxidación accidental del ácido quinico con  $\text{MnO}_2$  en presencia de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  [Liebig J. 1838]. Esta reacción involucra la deshidratación, descarboxilación y oxidación de una molécula de ácido quinico (**Esquema 5**).

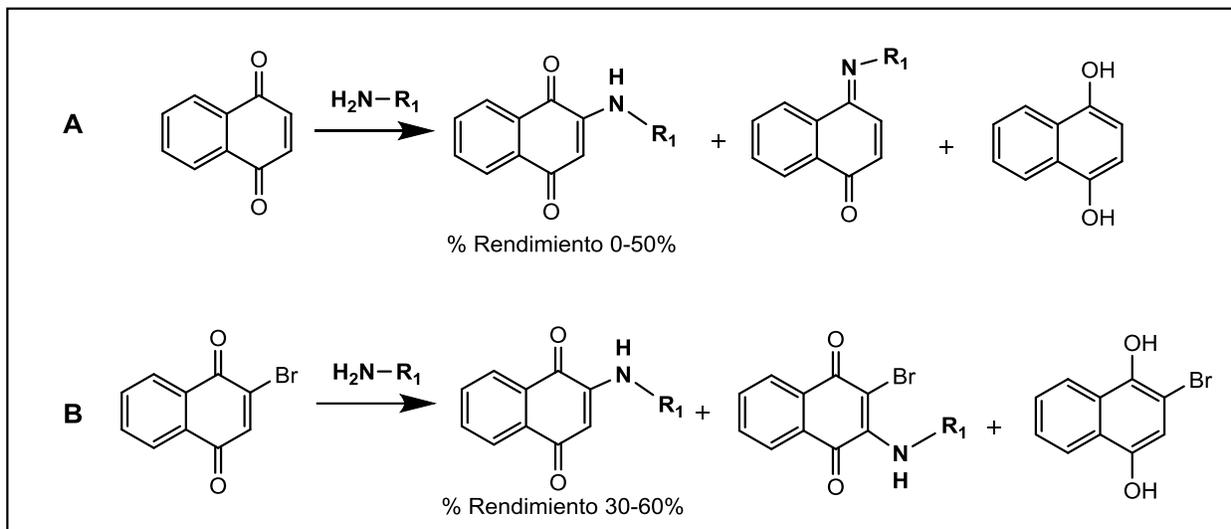


**Esquema 5-** Reacción original de oxidación del ácido quinico

Lo anterior resulta de relevancia meramente histórica, puesto que el día de hoy, y hablando específicamente de la síntesis de 2-aminonaftoquinonas, las estrategias sintéticas más comunes para su preparación pueden ser agrupadas en dos grandes grupos, en nada parecido a la síntesis original:

- Un proceso que involucra la adición de una amina primaria sobre el compuesto quinónico (en este caso la 1,4-naftoquinona) en condiciones ácidas, básicas o hasta neutras, posiblemente mediante un mecanismo de adición del tipo 1,4-aza Michael (**Esquema 6, A**).
- Una reacción de sustitución nucleofílica, donde la amina reemplaza a un buen grupo saliente para generar el derivado 2-aminonaftoquinona [Couladouros E. 1996, Liu B.

2008]. Este método utiliza comúnmente como producto de partida las 2-halonaftoquinonas (**Esquema 6, B**).



**Esquema 6-** Métodos de obtención de 2-aminonaftoquinonas

Sin embargo, estas metodologías pueden llegar a ser muy laboriosas, usualmente dan rendimientos bajos, producen varias impurezas o compuestos no deseados o técnicas de manejo más complejas [Couladouros E. **ibid**, Liu B. **ibid**]. Estas desventajas, en conjunto con aquellas que se pudieran presentar a la hora de la purificación por cromatografía, hacen que estos métodos aparenten ser sintéticamente poco atractivos inclusive a pequeña escala en el laboratorio. El surgimiento de los posibles productos indeseados que se muestran en el **Esquema 6** pueden explicarse debido a las propiedades peculiares de oxidación-reducción de las naftoquinonas, esto permite que se llegue a formar el diol correspondiente a la naftoquinona, el cual es inerte y también la presencia de cuatro centros electrofílicos reactivos, permite la aparición de productos de adición 1,2 y 1,4, además de los aductos tipo bis que no se muestran [Couladouros E. **ibid**].

Basándonos en lo anterior, tanto algunas de las aplicaciones industriales, pero aún más importante, su relevancia biológica y terapéutica, es innegable que los compuestos derivados de las aminonaftoquinonas poseen un considerable valor como dianas sintéticas. Sin embargo, hay que hacer hincapié en mencionar que gran parte de los procesos sintéticos desarrollados hasta el día de hoy para producir este tipo de aminonaftoquinonas resultan, como se mencionó, en gran parte impredecibles, dan rendimientos muy variados, consumen bastante tiempo, implican procesos de extracción/purificación muy engorrosos o peor aún, son dañinos para el medio ambiente. Esto justifica razonablemente la búsqueda de nuevas metodologías que resulten tanto prácticas, económicas y amigables al medio.

## **2.7 Utilización de catalizadores y mediadores que facilitan la reacción de Michael**

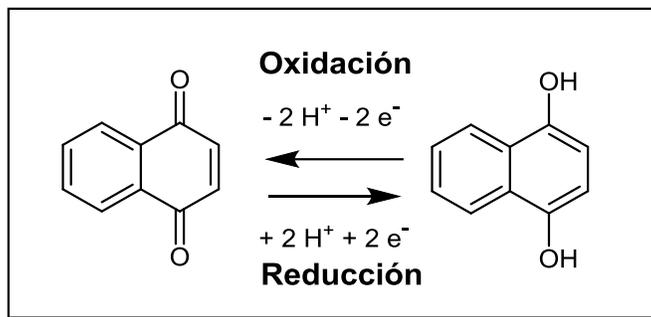
Tradicionalmente, la adición 1,4-Michael entre un nucleófilo y un compuesto carbonílico  $\alpha,\beta$ -insaturado requiere preferentemente de condiciones ácidas o básicas. Esta aproximación además, implica la utilización de cantidades más que estequiométricas de reactivos lo que resulta en un aumento en las probabilidades de que se generen productos secundarios, si además, nuestros productos de partida poseen otros sitios reactivos. En particular, en condiciones ácidas por ejemplo, es muy común que el aceptor se polimerice.

Debido a esto, recientemente han surgido múltiples alternativas que solucionan los problemas antes mencionados, particularmente de interés resulta el uso de compuestos tipo ácido de Lewis o similares como promotores de la reacción de Michael, incluso en algunas ocasiones con actividad de catalizador, algunos de los ejemplos dignos de mención son:  $\text{InCl}_3$ ,  $\text{CeCl}_3 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Bi}(\text{NO})_3$ ,  $\text{Bi}(\text{OTf})_3$ ,  $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ ,  $\text{LiClO}_4$ , entre otros, siendo el único inconveniente con estos que resultan sumamente selectivos en cuanto a la reacciones en las que pueden participar,

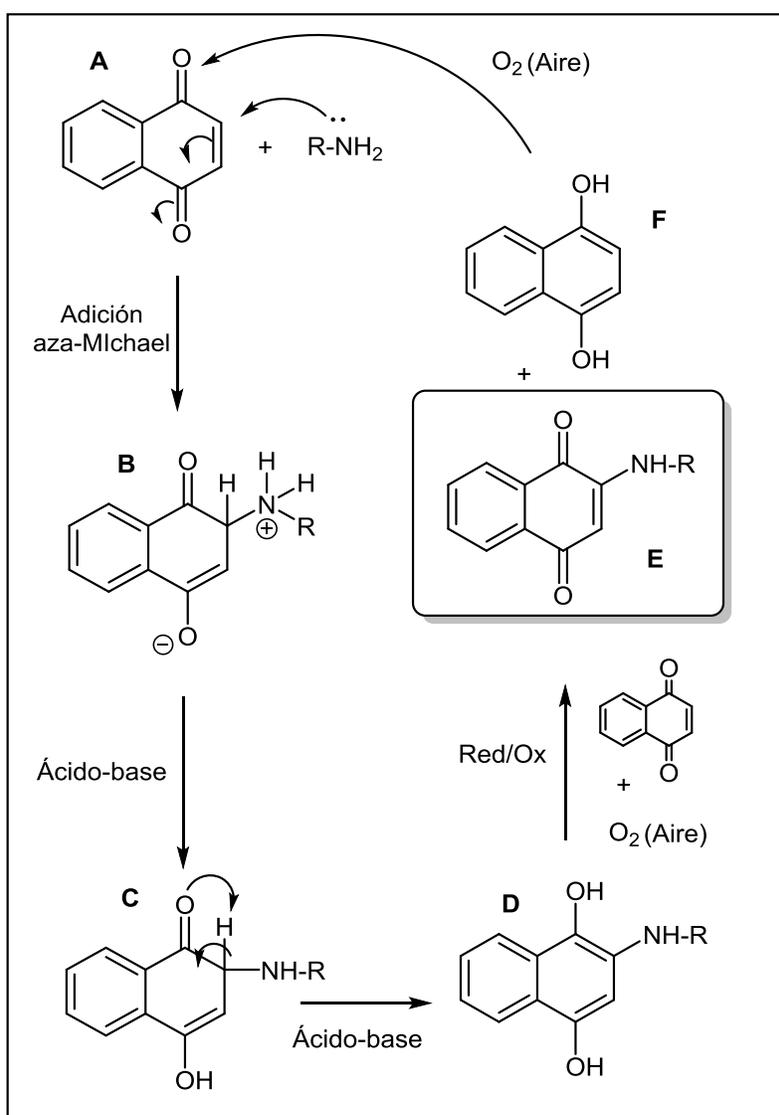
esto es , algunos de estos compuestos puede resultar excelentes para catalizar alguna determinada reacción, pero completamente inutilizables en algún otra. Esta es la explicación de porqué existen tanta variedad de compuestos mediadores de reacciones de acoplamiento, como lo es la adición de Michael [Lakshmi M. 2007].

## 2.8 Mecanismo de reacción propuesto

El mecanismo de reacción propuesto se muestra en el **Esquema 7**. De manera general, este inicia como una reacción aza-Michael, mediante el ataque de la amina sobre el carbono-2 (que en este caso resulta equivalente al carbono-3) de la 1,4-naftoquinona (Compuesto **A**), produciendo nuestro primer intermediario (Compuesto **B**). Una posterior reacción ácido-base intramolecular originaria la siguiente especie intermediaria (Compuesto **C**), el cual también puede sufrir una reacción ácido-base intramolecular para originar así al último compuesto intermediario, el 2-alkilamino-1,4-naftalendiol (Compuesto **D**). Existen múltiples fuentes bibliográficas que explican el comportamiento Oxido/Reducción del par Quinona-Hidroquinona [Nawar S. 2013], también conocido como el complejo “Quinhidrona”. Nawar *et al* explica como la especie quinona mediante una transferencia de 2 H<sup>+</sup> y 2 e<sup>-</sup> facilita la interconversion del diol de vuelta a la forma quinonica y viceversa (**Figura 8**). Es aquí donde mecanisticamente se propone que una segunda molécula de **A**, el oxígeno atmosférico o ambos, regeneran al intermediario **D** de vuelta a la forma quinonica, generando así el producto final deseado (Compuesto **E**). El diol generado (Compuesto **F**) también puede ser regenerado de vuelta a la forma quinonica por efectos del oxígeno atmosférico, pudiendo participar también en la generación de otra molécula de producto final.



**Figura 9-** Oxidación y reducción del par quinona-hidroquinona



**Esquema 7-** Mecanismo de reacción propuesto



# OBJETIVOS

## 3.0 Objetivos

### 3.1- Objetivos Generales

- Síntesis y caracterización de las 2-(hidroxialquilamino)-1,4-naftoquinonas y 2-(alquilamino)-1,4-naftoquinonas.
- Efectuar la síntesis de los derivados acetilados correspondientes a las 2-(hidroxialquilamino)-1,4-naftoquinonas.

### 3.2 Específicos

- Efectuar la síntesis del derivado quinónico de la mono-etanolamina.
- Efectuar la síntesis del derivado quinónico del 1-amino-3-propanol.
- Efectuar la síntesis del derivado quinónico del 1-amino-2-propanol.
- Efectuar la síntesis del derivado quinónico del 2-amino-1-butanol.
- Efectuar la síntesis del derivado quinónico de la 2-feniletan-1-amina.
- Efectuar la síntesis del derivado quinónico del 4-(2-aminoetil)-fenol.
- Preparar los derivados acetilados de los compuestos antes mencionados (donde este aplique)
- Caracterizar los productos previamente purificados por espectroscopía de infrarrojo (IR), Resonancia Magnética Nuclear (RMN-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>13</sup>C) y espectrometría de masas (EM).



# HIPÓTESIS

## 4.0 Hipótesis

4.1 Los aminoalcoholes y aminas se adicionan la 1,4-naftoquinona mediante un posible mecanismo de reacción que inicia como una adición tipo aza-Michael produciendo un compuesto intermediario que puede ser oxidado por el oxígeno del aire o por un exceso de 1,4-naftoquinona, dando así origen a los derivados 2-hidroalquilamino-1,4-naftoquinona correspondientes.

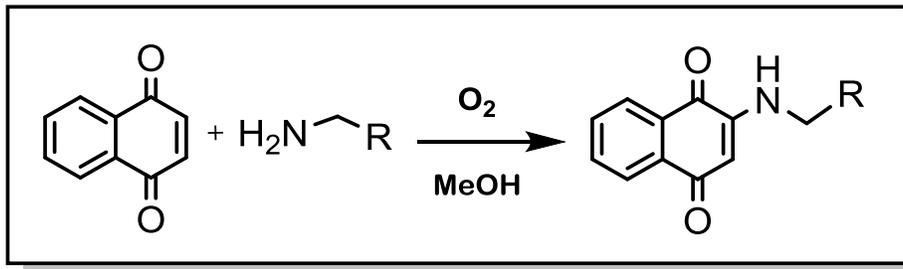


Figura 10- Reacción global de la 1,4-naftoquinona con aminas variadas



# **MATERIALES Y MÉTODOS**

## 5.0 Materiales y métodos

### 5.1 Reactivos utilizados

Los siguientes compuestos y sustancias se utilizaron como se adquirieron directamente del proveedor (Sigma-Aldrich, Fermont, Faga-Lab), a menos que en algún caso específico se indique lo contrario.

### 5.2 Protocolo inicial

La siguiente metodología representa aquella que inicialmente se propuso para la obtención de los productos antes mencionados, estando basada en la información bibliográfica encontrada que se consideró relevante para este tipo de reacciones, esta lleva implícita algunas desventajas importantes que después fueron corregidas y mejoradas en la versión final, sin embargo, se incluye para fines comparativos.

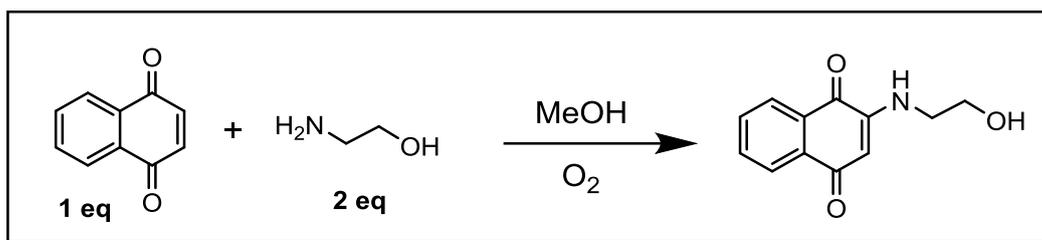
#### 5.2.1 Síntesis de las 2-alkilaminonaftoquinonas utilizando disolvente orgánico

Para la síntesis de 2-Alquilaminonaftoquinonas se adaptó el procedimiento reportado por *Singh et al* con mínimas modificaciones (*Singh M. 2007*). A una solución en agitación de 2 equivalentes de 1,4-naftoquinona (F.W 158.15 g/mol) en 50 mL de THF en un matraz bola de 100 mL, se adiciona lentamente 1 equivalente de aminoalcohol correspondiente, observándose un cambio de coloración inmediato (**Esquema 9, A**). Sin interrumpir la agitación, a temperatura ambiente y permitiendo la entrada de aire al recipiente de reacción, el proceso se monitorea por CCF hasta apreciarse una reacción completa o hasta no observe ningún cambio (por lo general, de 24 hasta 240 horas). Inicialmente, el largo periodo de tiempo requerido para obtener una reacción completa resultaba desconcertante, sin embargo, de entre las pocas síntesis donde se reporta la

preparación este tipo de compuestos se pudo confirmar que en efecto estas reacciones pueden consumir bastante tiempo [Bowen R . 2009]. La solución se filtra a presión reducida para retener fragmentos de producto sólido que han precipitado y el líquido remanente se rotaevapora a presión reducida a una temperatura aproximada de entre 35 °C a 45 °C (el THF embullé a 66 °C a 1 atm) para eliminar el exceso de disolvente. El producto ahora sólido se une al que se obtuvo del filtrado y se lava 3 veces con H<sub>2</sub>O fría y luego con alrededor de 20 mL de EtOH (o en su defecto MeOH) también frío, a fin de eliminar trazas de disolvente y exceso de aminoalcohol. Se procede a caracterizar por CG-EM, RMN, IR y determinación de punto de fusión.

## 5.2.2 Procedimiento de validación. Estudio de las diferentes condiciones de reacción y su efecto sobre el rendimiento general

Con el fin de corroborar el planteamiento que reporta *Singh et al*, se decidió realizar un ensayo donde se determinara cuáles son las principales condiciones de reacción que más aportan a la obtención de los productos deseados. A excepción de donde se indica lo contrario, se utilizó como modelo la reacción entre la 1,4-naftoquinona (abreviada NQ) y la mono-etanolamina (abreviada AA), en metanol como disolvente, a temperatura ambiente y con equivalentes de 1:2 respectivamente, como se aprecia en el **Esquema 8**. Los resultados obtenidos se resumen en la **Tabla 1**, como se puede apreciar, entre los factores más contribuyentes a un rendimiento elevado resultan ser la temperatura de reacción, la concentración de los reactivos empleada y el burbujeo de aire.



**Esquema 8-** Reacción general entre la 1,4-naftoquinona y la etanolamina

Disolvente			
Variable	Tiempo (hr)	Impurezas	Rendimiento
EtOH	24	XX	75%
MeOH	24	XX	76%
THF	10	X	85%
DMF	12	X	87%
ACN	12	X	86%
DMSO	12	X	88%
H <sub>2</sub> O	-	-	-

pH			
Variable	Tiempo (hr)	Impurezas	Rendimiento
pH 4	20	XX	77%
pH 7	24	XX	75%
pH 10	21	XX	79%

Luz			
Variable	Tiempo (hr)	Impurezas	Rendimiento
Luz	24	XX	74%
Oscuridad	24	XX	76%

Temperatura			
Variable	Tiempo (hr)	Impurezas	Rendimiento
25 °C	24	XX	72%
30 °C	24	XX	70%
45 °C	22	XX	78%
55 °C	20	XX	83%
80 °C	22	XXX	76%

Concentración de los Reactivos			
Variable	Tiempo (hr)	Impurezas	Rendimiento
[1] NQ : [1] AA	24	XX	72%
[2] NQ : [1] AA	24	XX	68%
[1] NQ : [2] AA	20	XX	79%
[1] NQ : [4] AA	18	XXX	84%

Burbujeo de Aire			
Variable	Tiempo (hr)	Impurezas	Rendimiento
Con	24	XX	76%
Sin	36	XX	71%

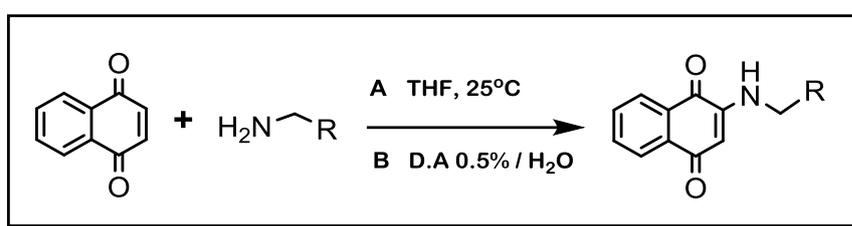
X	Minimas
XX	Moderadas
XXX	Considerables

**Tabla 1-** Experimentos realizados con sus correspondientes rendimientos

### 5.2.3 Síntesis de las 2-alkilaminonaftoquinonas utilizando detergente aniónico

Se colocan 2 equivalentes de 1,4-naftoquinona (F.W 158.15 g/mol) en 100 mL de una solución acuosa al 0.5% de detergente aniónico ALCONOX™ [*MSDS*<sub>1</sub> 2013] en un matraz bola de 250 mL y se mantiene en agitación hasta obtener una solución homogénea. Lentamente se agrega 1 equivalente de aminoalcohol, observándose un lento cambio de coloración que ocurre en el transcurso de varias horas (**Esquema 9, B**). Sin interrumpir la agitación, a temperatura ambiente y permitiendo la entrada de aire al

recipiente de reacción, el proceso se detiene al cabo de 72 horas (o antes, si el monitoreo por CCF así lo indica) con la adición de 10 mL de HCl al 0.5%, observándose una precipitación inmediata de producto. La solución se filtra por vacío para retener el producto sólido se lava 3 veces con H<sub>2</sub>O fría y después con EtOH (o MeOH), a fin de eliminar los residuos de detergente y cualquier exceso de aminoalcohol que pudiera permanecer en la muestra. El producto se deja secar, para posteriormente caracterizar por CG-EM, RMN, IR y determinación de punto de fusión.

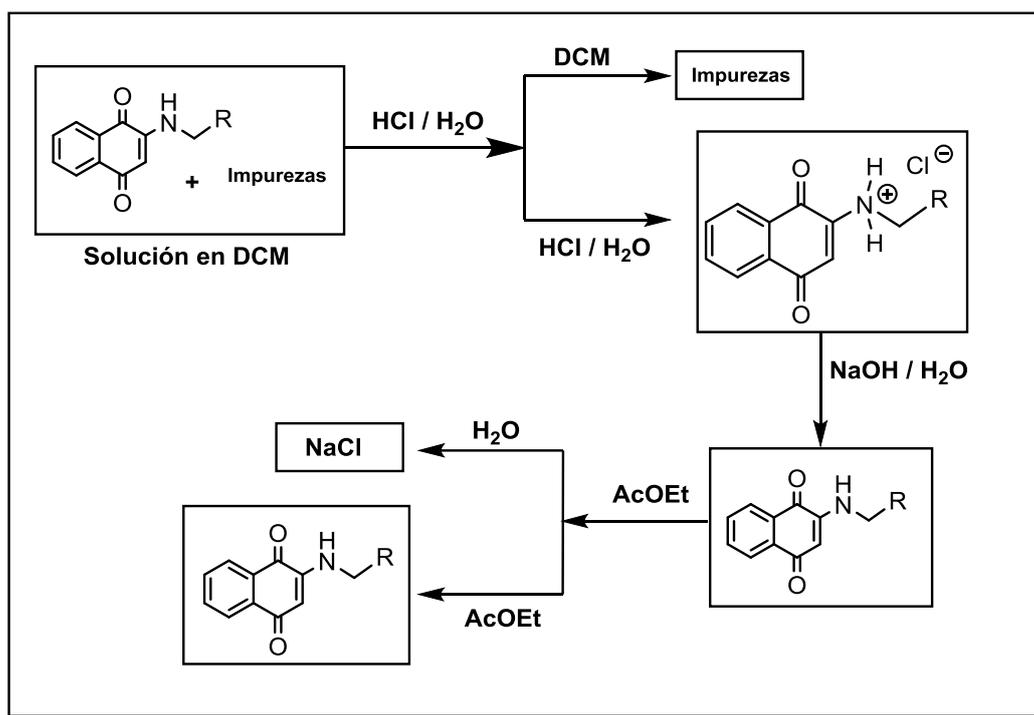


**Esquema 9-** Reacción global de acoplamiento de la 1,4-naftoquinona con aminas en (A), disolvente orgánico o (B), una solución acuosa de detergente aniónico

## 5.2.4 Procedimiento general de extracción ácido/base de las 2- alquilaminonaftoquinonas

Se colocan 300 mg del crudo obtenido en la reacción anterior, se re-disuelve en la mínima cantidad de DCM, se filtra de preferencia para eliminar partículas de impurezas sólidas y se acidifica lentamente con una solución de HCl/H<sub>2</sub>O (1:1) hasta un pH de aproximadamente 3 al papel indicador (notándose un aclaramiento en la solución). Posteriormente la solución se transfiere a un embudo de separación (preferentemente de un volumen grande), se agita varias veces, cuidando que escape el gas que se produce, y se deja reposar brevemente, permitiendo la separación de las fases. Se recolecta por separado la fase acuosa y la fase orgánica se lava al menos una vez más con agua destilada y una tercera con solución Brine. Se unen las fases acuosas

(descartando el residuo orgánico) y ahora en un vaso de precipitado se adiciona lentamente una solución 1M de NaOH, hasta obtener un pH aproximado de 10 al papel indicador (apreciándose un oscurecimiento en la solución). Nuevamente se transfiere a un embudo de separación de capacidad adecuada y se realizan al menos 3 lavados con AcOEt, se reúnen los volúmenes de fase orgánica (descartando el residuo acuoso), se seca con sulfato de sodio anhidro y se elimina el disolvente a presión reducida. El sólido que permanece se homogeniza y se monitorea por cromatografía de capa fina, debiéndose apreciar una mancha única, naranja a simple vista, al UV y tras revelado con Óleum (mezcla eluyente Hexano/AcOEt 1:1).



**Esquema 10-** Proceso de extracción ácido/base para las 2-alkilaminonaftoquinonas

## 5.2.5 Procedimiento de validación. ¿Qué compuesto resulta el mejor mediador para la síntesis de las 2-alkilaminonaftoquinonas?

Debido a la cantidad de referencias bibliográficas sobre el uso de compuestos activadores en reacciones de adición y acoplamiento, se decidió estudiar si el uso de estos agentes en la síntesis de las 2-alkilaminonaftoquinonas, se empleó nuevamente la reacción entre la 1,4-naftoquinona y la mono-etanolamina como reacción modelo, en todos los casos con las mismas condiciones de reacción, a excepción de la adición de los compuestos en cuestión, a los que llamaremos aditivos. Se seleccionaron aquellos que eran fáciles de manejar, no eran tóxicos, económicos, y compatibles con los productos de partida. Los resultados obtenidos se resumen en la **Tabla 3** y son:  $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Cu}(\text{OAc})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  y  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ .

El procedimiento consiste en colocar un matraz bola con 50 mL de MeOH dentro de un baño maría y se mantiene a una temperatura constante de alrededor 55 °C. Después, se agrega 1 mmol del aditivo y se inicia la agitación. Una vez disuelto se adiciona la mono-etanolamina y por último la 1,4-naftoquinona, previamente disuelta en una mínima cantidad de MeOH. Se monitorea por CCF.

Aditivo	mmol	Tiempo	Rendimiento	Impurezas
$\text{AlCl}_3$	1	2 hr	90% * <sup>c</sup>	XXX
$\text{FeCl}_3$	1	2 hr	85%	XX
$\text{CuSO}_4$	1	20 min	94% +	-
$\text{Cu}(\text{OAc})_2$	1	15 min	95% +	-
$\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$	1	24 hr	76%	XX
-	-	22 hr	78%	XX

\*c-. El producto deseado se encontraba presente, pero en forma de una resina difícil de purificar.

**Tabla 2-** Los diferentes aditivos ensayados

En base a la información obtenida de estas reacciones, se determinó que la elección del  $\text{Cu}(\text{OAc})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  como aditivo a la reacción de síntesis de los 2-alquilaminonaftoquinonas resulta adecuado, es más soluble y económico que su homólogo  $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$  (almenos en MeOH), también, el tiempo requerido para obtener buen porcentaje de conversión disminuye considerablemente y logra disminuir la aparición de productos secundarios a gran escala hasta el punto de ser indetectable en la CCF.

### 5.2.6 Procedimiento de validación. Estudio de la influencia del acetato de cobre (II) sobre el rendimiento general.

Motivados por el procedimiento anterior, además de que se tenía referencia bibliográfica prometedora [Lisboa C. 2011], se decidió estudiar los efectos del acetato de cobre (II) sobre la síntesis de las 2-alquilaminonaftoquinonas. Nuevamente se empleó la reacción entre la 1,4-naftoquinona y la mono-etanolamina como reacción modelo, las cantidades utilizadas y los rendimientos obtenidos se resumen todos en la **Tabla 3**.

Reactivo 1	mmol	Reactivo 2	mmol	Aditivo	mmol	Disolvente	Tiempo <sup>*a</sup>	Rendimiento	Obs.
1,4-NQ	1	mono-Etna	2	-	-	50 mL MeOH	20 hr	85%	
1,4-NQ	1	mono-Etna	2	$\text{Cu}(\text{OAc})_2$	1	50 mL MeOH	15 min	90%	
1,4-NQ	1	mono-Etna	4	$\text{Cu}(\text{OAc})_2$	1	50 mL MeOH	5 min	95% +	
1,4-NQ	1	mono-Etna	1	$\text{Cu}(\text{OAc})_2$	1	50 mL MeOH	2 hr	35%	
1,4-NQ	1	mono-Etna	4	$\text{Cu}(\text{OAc})_2$	1	50 mL MeOH	15 min	55%	*b
1,4-NQ	1	mono-Etna	4	$\text{Cu}(\text{OAc})_2$	1	50 mL EtOH	6 min	95% +	
1,4-NQ	1	mono-Etna	4	$\text{Cu}(\text{OAc})_2$	0.1	50 mL MeOH	4.5 hr	86%	

\*a-. Se considera el tiempo al que ya no se aprecia ningún cambio en la CCF.

\*b-. En esta reacción se adiciona primero el Reactivo 1 a la solución de Aditivo y posteriormente se adiciona el Reactivo 2

**Tabla 3-** Las diferentes reacciones ensayadas utilizando Acetato de Cobre (II)

Como se aprecia en la tabla anterior, las condiciones más favorables resultan empleando cantidades estequiométricas de acetato de cobre (II), con un exceso de amina o aminoalcohol que se desee incorporar al anillo de la 1,4-naftoquinona. Con todo lo anterior mencionado, se logra reducir el tiempo de reacción desde días (para algunos aminoalcoholes de cadena más grande) hasta minutos y disminuir la aparición de impurezas o productos secundarios de moderadas hasta imperceptibles en la CCF.

### **5.3 Metodología revisada**

La siguiente metodología que aquí se desarrolla es aquella que en base a diversas pruebas experimentales, así como también una extensa revisión bibliográfica se concluyó que representaba la estrategia sintética más práctica, conveniente y eficaz para la obtención de las 2-alkilaminonaftoquinonas, por lo tanto es la metodología que se empleó como definitiva para la obtención de la primera serie de derivados.

#### **5.3.1 Síntesis de 2-alkilaminonaftoquinonas utilizando acetato de cobre (II) como mediador. Metodología general.**

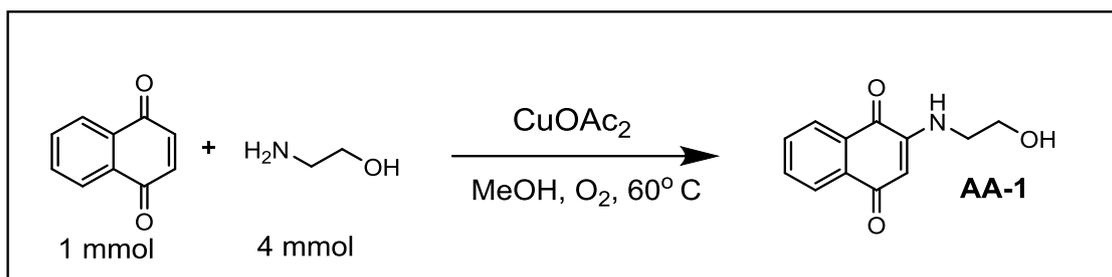
En un matraz bola de 100 mL, se colocan 50 mL de MeOH (o en EtOH) y se mantiene en un baño maría a una temperatura de entre 55 – 65 °C, bombeando aire a la solución mediante una manguera de plástico unida a una bomba de aire. Se agrega 1 equivalente (199.65 g/mol) de acetato de cobre (II) monohidrato al matraz y se mantiene en agitación hasta disolución completa. Una vez disuelto, se agrega lentamente 4 equivalentes del aminoalcohol correspondiente, apreciándose un cambio en la coloración (de verde a azul), seguido, se agrega 1 equivalente de 1,4-naftoquinona e inmediatamente se observa nuevamente un cambio de coloración (de azul a café y luego a marrón), se vigila el tiempo de reacción, realizando un monitoreo por CCF lo

antes posible (mezcla eluyente Hex:AcOEt 50%). Una vez que la reacción ha procedido a lo que se considere completa o muy cercano a ello (de 5 a 15 minutos), se retira del calor y se elimina el exceso de disolvente a presión reducida. El crudo se coloca en una columna de vacío con una pequeña cantidad de silica gel y se hace un percolado, primeramente con 100 -200 mL de hexano para eliminar cualquier traza de 1,4-naftoquinona que pudiera permanecer y posteriormente con 100 – 200 mL de acetato de etilo, se descarta la porción de hexano y la porción de AcOEt se seca con sulfato de sodio anhidro y se elimina el exceso de disolvente a presión reducida, obteniéndose un producto considerablemente puro para todos los fines prácticos, se puede proceder a analizar por IR, CG-EM y RMN-H. En caso de que la CCF revele que el producto aún no se encuentra puro, se procede a purificar por columna cromatografica, empleando como mezcla eluyente con gradiente, de Hex:AcOEt al 15% máximo, con incrementos de 1% de AcOEt. El residuo del aditivo (acetato de cobre II) que permaneció adherido a la silica gel desde el percolado, que probablemente se encuentre en forma de  $\text{Cu}^{+1}$  se puede re-disolver y filtrar, ya una vez seco, se puede dejar en contacto con el aire el cual lentamente regenera la especie  $\text{Cu}^{+2}$  y es posible de volverse a utilizar.

#### **5.4 Síntesis específicas de 2-alkilaminonaftoquinonas**

A continuación se aborda la metodología empleada para la preparación de cada uno de los derivados propuestos inicialmente. Debido a la poca variación de los métodos de síntesis entre un derivado y otro, se hace referencia a la metodología general explicada a detalle en el apartado **5.3.1**, cualquier detalle o modificación se mencionara explícitamente en la sección de preparación de cada derivado.

### 5.4.1 Síntesis de 2-((2-hidroxietil)amino)naftalen-1,4-diona.



Esquema 11- Reacción global para obtener el 2-((2-Hidroxietil)amino)naftalen-1,4-diona

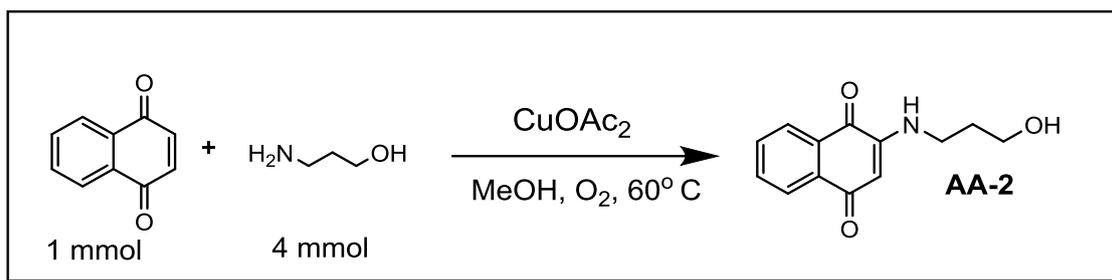
<b>Clave</b>	Aminorex (AA-1)
<b>IUPAC</b>	2-((2-Hidroxietil)amino)naftalen-1,4-diona
<b>P.F</b>	146-148 °C
<b>IR (cm<sup>-1</sup>)</b>	3618 (c), 3427 (g), 3019 (m), 2400 (c), 1742 (g), 1714 (g), 1217 (m), 772 (g), 670 (m)
<b>EM m/z (%)</b>	<b>217 M<sup>+</sup></b> , 186 (100%), 129, 101, 76
<b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)<math>\delta</math></b>	8.03 (d, 1H), 7.98 (d, 1H), 7.66 (t, 1H), 7.55 (t, 1H), 5.71 (s, 1H), 3.86 (t, 2H), 3.30 (m, 2H), 1.55 (s, 1H)

Se empleó para su síntesis y preparación la metodología explicada a detalle en el apartado **5.3.1** sin ninguna modificación particular. Las cantidades empleadas fueron:

Compuesto	Peso Molecular	mmol	Masa/Volumen
1,4-Naftoquinona	157.15 g/mol	1	157.2 mg
Mono-Etanolamina	61.05 g/mol	4	0.24 mL
Acetato de Cobre (II)	199.65 g/mol	1	200 mg

<b>Rendimiento</b>	<b>96 % (209.5 mg)</b>
--------------------	------------------------

### 5.4.2 Síntesis de 2-((3-hidroxietil)amino)naftalen-1,4-diona.



Esquema 12- Reacción global para obtener la 2-((3-Hidroxietil)amino)naftalen-1,4-diona

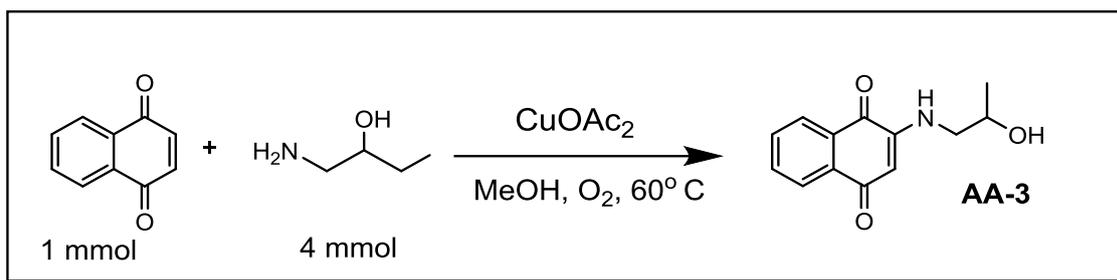
<b>Clave</b>	Propna (AA-2)
<b>IUPAC</b>	2-((3-Hidroxietil)amino)naftalen-1,4-diona
<b>P.F</b>	122-125 °C
<b>IR (<math>\text{cm}^{-1}</math>)</b>	3681 (c), 3422 (g), 3019 (m), 2400 (c), 1742 (g), 1714 (g), 1216 (g), 757 (g), 670 (m)
<b>EM m/z (%)</b>	<b>231 M<sup>+</sup></b> , 186 (99%), 146, 129, 101, 76
<b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)<math>\delta</math></b>	5.74 (s, 1H), 8.01 (d, 1H), 7.58 (t, 1H), 7.70 (t, 1H), 8.06 (d, 1H), 2.56 (s, 1H), 3.36 (c, 2H), 1.96 (q, 2H), 3.84 (t, 2H), 6.42 (s, 1H)

Se empleó para su síntesis y preparación la metodología explicada a detalle en el apartado 5.3.1 sin ninguna modificación particular. Las cantidades empleadas fueron:

Compuesto	Peso Molecular	mmol	Masa/Volumen
1,4-Naftoquinona	157.15 g/mol	1	157.2 mg
n-Propanolamina	75.15 g/mol	4	0.27 mL
Acetato de Cobre (II)	199.65 g/mol	1	200 mg

<b>Rendimiento</b>	<b>95 % (219 mg)</b>
--------------------	----------------------

### 5.4.3 Síntesis de 2-((2-hidroxiopropil)amino)naftalen-1,4-diona.



**Esquema 13-** Reacción global para obtener la 2-((2-Hidroxiopropil)amino)naftalen-1,4-diona

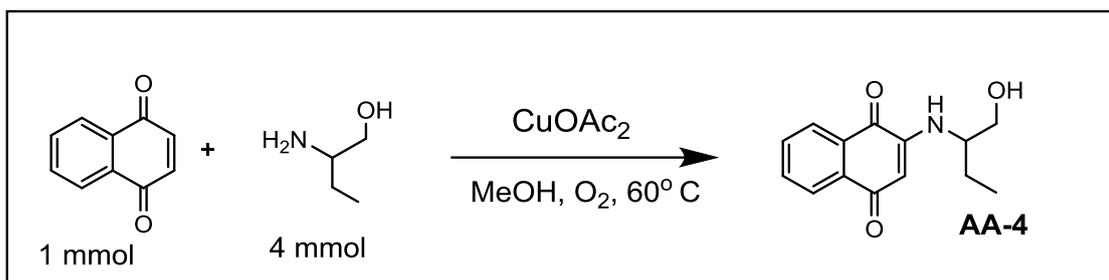
<b>Clave</b>	DL2P (AA-3)
<b>Nombre IUPAC</b>	2-((2-Hidroxiopropil)amino)naftalen-1,4-diona
<b>P.F</b>	132-136 °C
<b>IR (cm<sup>-1</sup>)</b>	3410 (g), 3019 (m), 2400 (c), 1743 (g), 1714 (g), 1216 (g), 770 (g), 669 (m)
<b>EM m/z (%)</b>	<b>231 M<sup>+</sup></b> , 186 (99%), 146, 131, 129, 101, 76

Se empleó para su síntesis y preparación la metodología explicada a detalle en el apartado **5.3.1** sin ninguna modificación particular. Las cantidades empleadas fueron:

Compuesto	Peso Molecular	mmol	Masa/Volumen
1,4-Naftoquinona	157.15 g/mol	1	157.2 mg
D,L-1-Amino-2-Propanol	75.15 g/mol	4	0.27 mL
Acetato de Cobre (II)	199.65 g/mol	1	200 mg

<b>Rendimiento</b>	<b>97 % (231 mg)</b>
--------------------	----------------------

#### 5.4.4 Síntesis de 2-((1-hidroxibut-2-il)amino)naftalen-1,4-diona.



**Esquema 14-** Reacción global para obtener la 2-((1-Hidroxibut-2-il)amino)naftalen-1,4-diona

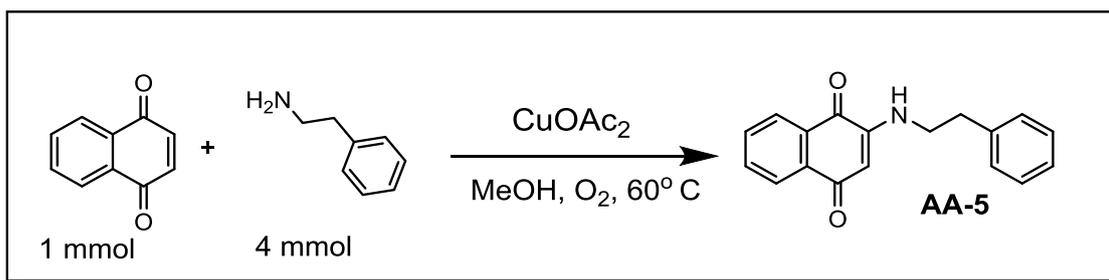
<b>Clave</b>	2A1B (AA-4)
<b>IUPAC</b>	2-((1-Hidroxibut-2-il)amino)naftalen-1,4-diona
<b>P.F</b>	151.5-157 °C
<b>IR (cm<sup>-1</sup>)</b>	3467 (g), 3020 (m), 2400 (c), 1742 (g), 1714 (g), 1215 (g), 759 (g), 669 (m)
<b>EM m/z (%)</b>	<b>245 M<sup>+</sup></b> , 214 (100%), 186, 102, 76

Se empleó para su síntesis y preparación la metodología explicada a detalle en el apartado 5.3.1 sin ninguna modificación particular. Las cantidades empleadas fueron:

Compuesto	Peso Molecular	mmol	Masa/Volumen
1,4-Naftoquinona	157.15 g/mol	1	157.2 mg
2-Amino-1-Butanol	75.15 g/mol	4	0.27 mL
Acetato de Cobre (II)	199.65 g/mol	1	200 mg

<b>Rendimiento</b>	<b>93 % (228 mg)</b>
--------------------	----------------------

### 5.4.5 Síntesis de 2-(2-(feniletil)amino)naftalen-1,4-diona.



Esquema 15- Reacción global para obtener la 2-(2-(Feniletil)amino)naftalen-1,4-diona

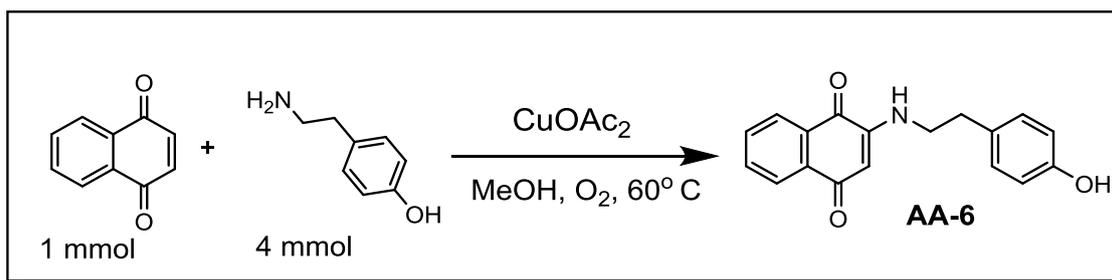
<b>Clave</b>	PEA (AA-5)
<b>IUPAC</b>	2-(2-(Feniletil)amino)naftalen-1,4-diona
<b>P.F</b>	136 - 138 °C
<b>IR (cm<sup>-1</sup>)</b>	3477 (m), 3019 (g), 2400 (c), 1742 (g), 1714 (g), 1215 (g), 770 (g), 669 (m)
<b>EM m/z (%)</b>	<b>278 M<sup>+</sup></b> , 277, 186 (100%), 101, 91, 77

Se empleó para su síntesis y preparación la metodología explicada a detalle en el apartado 5.3.1 sin ninguna modificación particular. Las cantidades empleadas fueron:

Compuesto	Peso Molecular	mmol	Masa/Volumen
1,4-Naftoquinona	157.15 g/mol	1	157.2 mg
Feniletilamina (base)	121.1 g/mol	4	0.50 mL
Acetato de Cobre (II)	199.65 g/mol	1	200 mg

<b>Rendimiento</b>	<b>98 % (273 mg)</b>
--------------------	----------------------

### 5.4.5 Síntesis de 2-(2-(4-hidroxifeniletíl)amino)naftalen-1,4-diona.



Esquema 16- Reacción global para obtener la 2-(2-(4-Hidroxifeniletíl)amino)naftalen-1,4-diona

<b>Clave</b>	Thyr (AA-6)
<b>IUPAC</b>	2-(2-(4-Hidroxifeniletíl)amino)naftalen-1,4-diona
<b>P.F</b>	156-161 °C
<b>IR (cm<sup>-1</sup>)</b>	3422 (a), 3019 (m), 2400 (c), 1742 (g), 1714 (g), 1639 (m), 1518 (c), 1423 (c), 1218 (g), 775 (g), 669 (m)
<b>EM m/z (%)</b>	<b>293 M<sup>+</sup></b> , 187 (99%), 174, 146, 107, 77

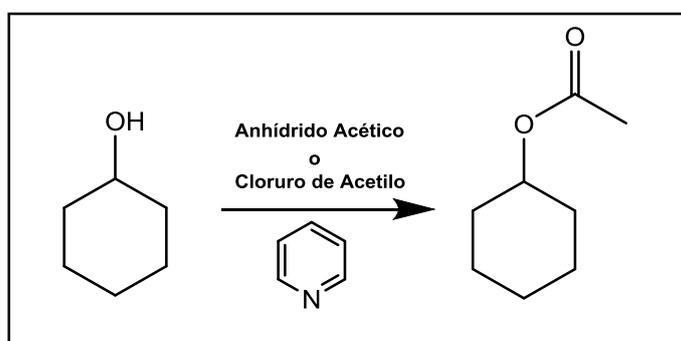
Se empleó para su síntesis y preparación la metodología explicada a detalle en el apartado 5.3.1 sin ninguna modificación particular. Las cantidades empleadas fueron:

Compuesto	Peso Molecular	mmol	Masa/Volumen
1,4-Naftoquinona	157.15 g/mol	1	157.2 mg
Tiramina (base)	137.1 g/mol	4	0.46 mL
Acetato de Cobre (II)	199.65 g/mol	1	200 mg

<b>Rendimiento</b>	<b>95 % (278 mg)</b>
--------------------	----------------------

## 5.5 Síntesis de los derivados tipo acetil-éster de las de 2- alquilaminonaftoquinonas

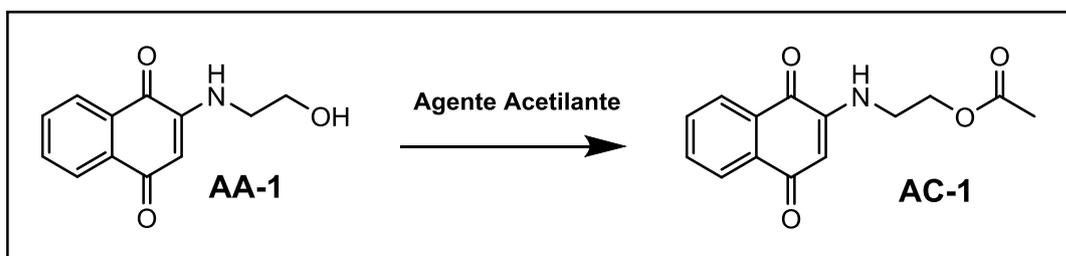
A partir de los derivados mencionados en el apartado 5.4, se decidió derivatizar aquellos compuestos que poseían un hidroxilo libre, esto para fines comparativos a la hora de realizar ensayos biológicos. Revisando diferentes fuentes bibliográficas, se encontró que en la mayoría de los métodos para producir esteres etílicos, se emplea ya sea anhídrido acético o cloruro de acetilo como agente acetilante [Heravi M. 2007, Jiabo L. 2008, Shafeek A. 2012]. Los grupos funcionales hidroxilo son muy comunes en los compuestos orgánicos y frecuentemente son convertidos a sus respectivos esteres etílicos para fines de protección o caracterización de la molécula. En resumen, la metodología tradicional para acetilación de grupos hidroxilo (**Esquema 17**) emplea un agente acetilante (anhídrido acético, cloruro de acetilo), la molécula portadora del grupo hidroxilo a acetilar y una base débil, muy comúnmente piridina, que tiene la función de activador. Desafortunadamente, es bien conocido que los compuestos como la piridina son considerablemente tóxicos, además de que su alto punto de ebullición lo cual la hace difícil de eliminar al final de una reacción, teniendo que emplear lavados y extracciones que normalmente hace de la purificación más engorrosa.



**Esquema 17-** Acetilación del Ciclohexanol

En busca de metodología que eviten el uso de sustancias potencialmente tóxicas y además de procurando mantener el proceso de preparación y purificación lo más práctico posible, dos referencias bibliográficas llaman la atención [Hasan S. 1999, Heravi M. 2009]. Mientras que *Hasan et al* reporta la utilización de bisulfato de potasio ( $\text{KHSO}_4$ ) como catalizador de la acetilación selectiva de grupos hidroxilo incluso en presencia de grupos amino, sustituyendo el papel de la piridina y haciendo el proceso de extracción mucho más sencillo, por su parte *Heravi et al* reporta que el mismo  $\text{KHSO}_4$  es capaz de no solo catalizar la acetilación de los grupos hidroxilo, sino que incluso se puede efectuar una transesterificación empleando solamente acetato de etilo y que esta puede realizarse en fase sólida.

Se procedió a ensayar las reacciones antes mencionadas, con el fin de determinar el método ideal para obtener los derivados tipo éster de las 2-alkilaminonaftoquinonas sintetizadas previamente.



**Esquema 18-** Ejemplo de acetilación de la 2-((2-Hidroxietil)amino)naftalen-1,4-diona

Se propuso como método general realizar las acetilaciones empleando ácido acético como disolvente además de promotor de la reacción, se ensayaría la influencia del  $\text{KHSO}_4$ , además de dos agentes acetilantes para determinar cuál se comportaba más favorablemente. Se utilizó la reacción de acetilación del derivado AA-1 (**Esquema 17**), como modelo.

### 5.5.1 Ensayo de validación. Condiciones ideales para la acetilación de las de 2-alkilaminonaftoquinonas.

Se disuelve 1 mmol del compuesto a acetilar (en este caso el compuesto AA-1) en 10 mL de ácido acético, también 1.5 mmol de agente acetilante y 1 mmol de KHSO<sub>4</sub>. Se coloca a reflujo en un baño de aceite y se monitorea periódicamente por CCF. Se anexan los resultados obtenidos (**Tabla 4**). Para la purificación, se elimina el exceso de disolvente en un rota-evaporador a presión reducida, el crudo se coloca en una columna de silica gel y se eluye primeramente con 100 mL de hexano y posteriormente con una mezcla gradiente de Hex:AcOEt con incrementos de 1% que van desde 0% hasta un máximo de 8% de AcOEt. Se procede a analizar el producto por IR, CG-EM y RMN-H.

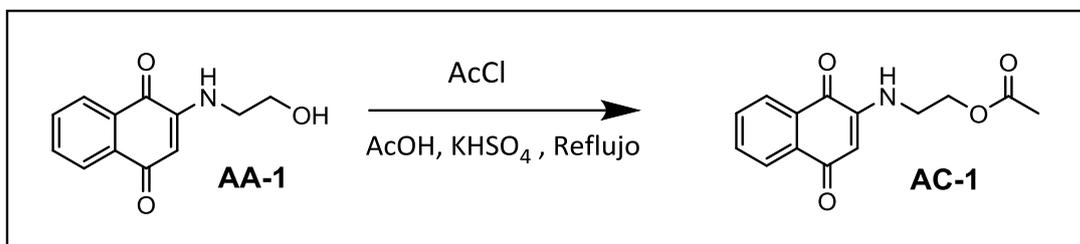
Sustrato	mmol	Agente Acetilante	mmol	Aditivo	mmol	Tiempo	Rendimiento
AA-1	1	Anhídrido Acético	1.5	-	-	3.5 hr	81%
AA-1	1	Cloruro de Acetilo	1.5	-	-	1.5 hr	90%
AA-1	1	Anhídrido Acético	1.5	KHSO <sub>4</sub>	1	2.5 hr	88%
AA-1	1	Cloruro de Acetilo	1.5	KHSO <sub>4</sub>	1	45 min	95%

**Tabla 4-** Ensayo de acetilación

Sin lugar a discusión, la utilización del cloruro de acetilo junto con el KHSO<sub>4</sub> demuestra ser superior en función del tiempo y el rendimiento obtenido para la preparación de los productos acetilados, debido a esto, se seleccionó como la metodología a emplear para preparar los derivados acetil éster que a continuación se describen y para futura referencia, el agente acetilante de aquí en adelante hará referencia solamente al cloruro de acetilo.

## 5.6 Síntesis Específicas de 2-(acetoxi)alquilaminonaftoquinonas

### 5.6.1 Síntesis del Acetato de 2-((1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)amino)etilo.



Esquema 19- Reacción para obtener el Acetato de 2-((1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)amino)etilo.

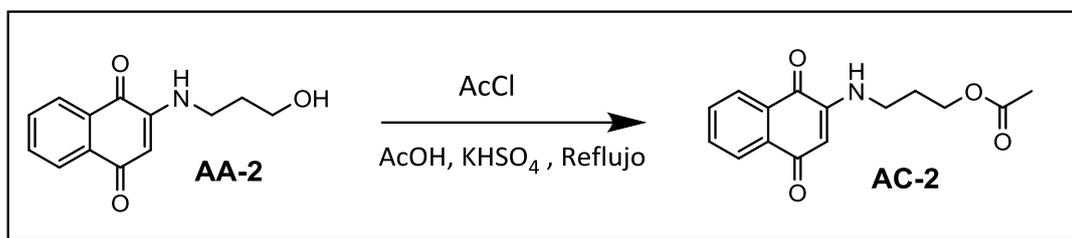
<b>Clave</b>	Aminorex-Ac (AC-1)
<b>IUPAC</b>	Acetato de 2-((1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)amino)etilo.
<b>P.F</b>	<b>118-126 °C</b>
<b>IR (cm<sup>-1</sup>)</b>	3683 (c), 3620 (c), 3019 (m), 2400 (c), 1694 (g), 1626 (g), 1423 (c), 1215 (g), 1046 (c), 928 (c), 770 (g), 669 (m)
<b>EM m/z (%)</b>	<b>259 M<sup>+</sup></b> , 199, 186 (99%), 104, 76, 43
<b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)<math>\delta</math></b>	8.02 (d, 1H), 7.98 (d, 1H), 7.66 (t, 1H), 7.57 (t, 1H), 6.04 (s, 1H), 5.7 (s, 1H), 4.26 (t, 2H), 2.03 (s, 3H)

Se empleó para su síntesis y preparación la metodología explicada a detalle en el apartado 5.5.1 sin ninguna modificación particular. Las cantidades empleadas fueron:

Compuesto	Peso Molecular	mmol	Masa/Volumen
AA-1	217 g/mol	1	217 mg
Cloruro de Acetilo	78.5 g/mol	1.5	0.12 mL

<b>Rendimiento</b>	<b>96 % (248 mg)</b>
--------------------	----------------------

## 5.6.2 Síntesis del Acetato de 3-((1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)amino)propilo.



**Esquema 20-** Preparación del Acetato de 3-((1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)amino)propilo.

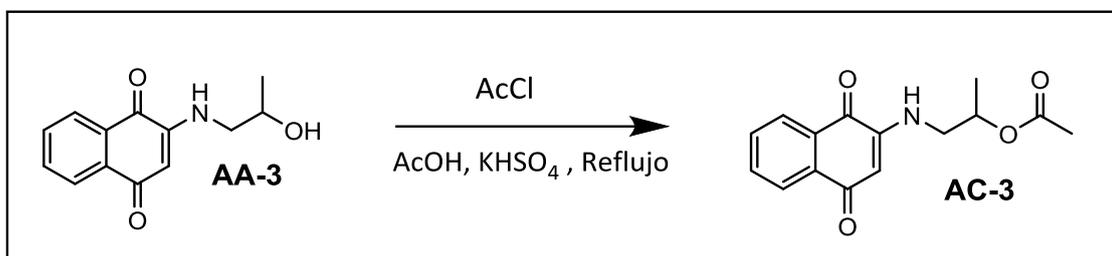
<b>Clave</b>	Propna-Ac (AC-2)
<b>IUPAC</b>	Acetato de 3-((1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)amino)propilo
<b>P.F</b>	<b>112-119 °C</b>
<b>IR (cm<sup>-1</sup>)</b>	3684 (c), 3019 (m), 2400 (c), 1716 (g), 1630 (g), 1516 (c), 1423 (c), 1215 (g), 1045 (c), 928 (c), 756 (g), 669 (m)
<b>EM m/z (%)</b>	<b>273 M<sup>+</sup></b> , 213, 196 (99%), 186, 101, 89, 76, 43

Se empleó para su síntesis y preparación la metodología explicada a detalle en el apartado 5.5.1 sin ninguna modificación particular. Las cantidades empleadas fueron:

Compuesto	Peso Molecular	mmol	Masa/Volumen
AA-2	231 g/mol	1	231 mg
Cloruro de Acetilo	78.5 g/mol	1.5	0.12 mL

<b>Rendimiento</b>	<b>94 % (256.6 mg)</b>
--------------------	------------------------

### 5.6.3 Síntesis del Acetato de 1-((1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)amino)propan-2-ilo.



**Esquema 21-** Obtención del Acetato de 1-((1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)amino)propan-2-ilo

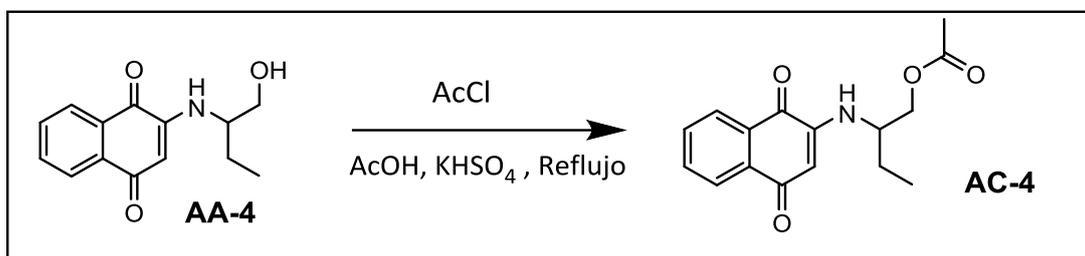
<b>Clave</b>	DL2P-Ac (AC-3)
<b>Nombre IUPAC</b>	Acetato de 1-((1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)amino)propan-2-ilo
<b>P.F</b>	111-116 °C
<b>IR (cm<sup>-1</sup>)</b>	3681 (c), 3615 (c), 3019 (m), 2400 (c), 1722 (g), 1634 (g), 1522 (c), 1422 (c), 1215 (g), 757 (g), 669 (m)
<b>EM m/z (%)</b>	<b>273 M<sup>+</sup></b> , 213, 196 (100%), 186, 101, 76
<b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)δ</b>	8.02 (d, 1H), 7.98 (d,1H), 7.66 (t, 1H), 7.57 (t, 1H), 6.04 (s,1H), 5.70 (s,1H), 4.26 (t, 2H), 3.39 (c, 2H), 2.03 (s, 3H), 1.26 (d, 3H)

Se empleó para su síntesis y preparación la metodología explicada a detalle en el apartado 5.5.1 sin ninguna modificación particular. Las cantidades empleadas fueron:

Compuesto	Peso Molecular	mmol	Masa/Volumen
AA-3	231 g/mol	1	231 mg
Cloruro de Acetilo	78.5 g/mol	1.5	0.12 mL

<b>Rendimiento</b>	<b>93 % (254 mg)</b>
--------------------	----------------------

### 5.6.1 Síntesis del Acetato de 2-((1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)amino)butilo.



**Esquema 22-** Obtención del Acetato de 2-((1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)amino)butilo

<b>Clave</b>	2A1B-Ac (AC-4)
<b>Nombre IUPAC</b>	Acetato de 2-((1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)amino)butilo
<b>P.F</b>	122-126 °C
<b>IR (cm<sup>-1</sup>)</b>	3374 (m), 3019 (g), 1721 (g), 1711 (g), 1429 (g), 1361 (g), 1356 (g), 1222 (g), 1082 (g), 883 (m), 778 (m), 531 (g)
<b>EM m/z (%)</b>	<b>287 M<sup>+</sup></b> , 227, 214 (99%), 198, 186, 105, 76, 43

Se empleó para su síntesis y preparación la metodología explicada a detalle en el apartado 5.5.1 sin ninguna modificación particular. Las cantidades empleadas fueron:

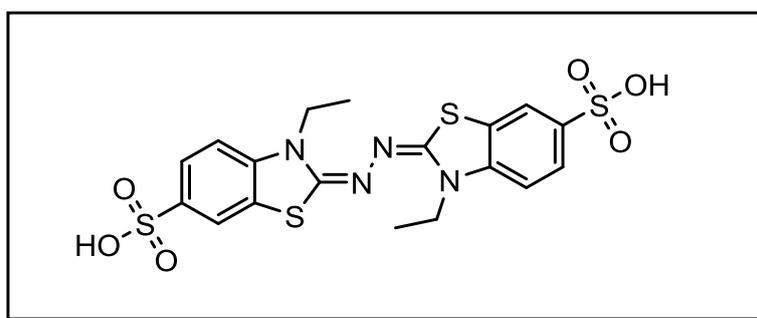
Compuesto	Peso Molecular	mmol	Masa/Volumen
AA-4	245 g/mol	1	245 mg
Cloruro de Acetilo	78.5 g/mol	1.5	0.12 mL

<b>Rendimiento</b>	<b>95 % (273 mg)</b>
--------------------	----------------------

## 5.7 Ensayos de actividad biológica. Determinación de la capacidad antioxidante por el método del ABTS.

Como ya se mencionó, los radicales libres y las especies reactivas de oxígeno o ROS (*ingl. Reactive Oxygen Species*) son moléculas altamente reactivas que se pueden generar de forma natural por distintos procesos celulares, contaminantes del medio ambiente y hasta la radiación ultravioleta. Estos ROS son capaces de reaccionar con múltiples componentes celulares y dañarlos, como puede ser el ADN, carbohidratos, proteínas y lípidos de membrana conduciendo eventualmente al daño o muerte celular. La producción excesiva de estos ROS también puede conducir a inflamación, desordenes de envejecimiento temprano, disminución de las funciones mentales y hasta existe evidencia que podría conducir a condiciones más preocupantes, como el cáncer, diabetes y arterosclerosis. [Guohua C. 1998].

El método del ABTS es un ensayo que permite determinar la capacidad antioxidante de ciertos fluidos biológicos, células o tejidos, también, se utiliza con más frecuencia para evaluar esta misma actividad antioxidante de extractos de productos naturales o compuestos puros que tengan el potencial de emplearse como suplementos dietéticos o terapéuticos [Kambayashi Y. 2009].



**Figura 11-** La molécula del ABTS o 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)

En resumen, este ensayo mide la capacidad de un compuesto determinado de neutralizar un catión radicalario (el ABTS<sup>+</sup>) que se genera in-vitro, empleando controles positivos conocidos para determinar si el compuesto en cuestión resulta ser un buen antioxidante o no [Gupta R. 2009].

### **5.7.1 Ensayos de actividad biológica. Determinación de la capacidad antioxidante por el método del ABTS. Metodología general.**

El método utilizado está basado en el propuesto por *Kambayashi Y. et al* y posteriormente modificado por *Gupta R. et al*, con algunas ligeras modificaciones.

Se prepara una solución inicial que contiene 0.003 g de persulfato de potasio, 0.0194 g de ABTS y 5 mL de agua destilada. Se mezcla y deja reposar por 16 h en completa oscuridad. Transcurrido este tiempo se toman 150 µL de esta solución y se diluyen en exactamente 15 mL de EtOH. De aquí en adelante se procura trabajar con la menor cantidad de luz posible, ya que el radical ABTS es fotolábil. Se mide la absorbancia de la solución diluida a 754 nm y se registra como la ABS Inicial. De esta solución diluida se toma exactamente 1 mL y se mezclan con 20 µL de una solución del compuesto a la concentración que se desee evaluar y una vez adicionado se espera 7 min. Transcurrido este tiempo se procede a medir la absorbancia de cada solución de compuesto o compuestos evaluados y se registra esta como la ABS Final. Se calcula el porcentaje de inhibición del radical ABTS empleando la siguiente formula:

$$\% \text{ inhibición} = \left( \frac{\text{ABS Inicial} - \text{ABS Final}}{\text{ABS Inicial}} \right) 100$$

**Figura 12-** Formula para el cálculo del porcentaje de inhibición del radical ABTS

De acuerdo a la ecuación presentada, se obtuvieron los resultados de actividad antioxidante de los compuestos 2-alkilaminonaftoquinona y sus respectivos acetil éster y se resumen en el párrafo 6.4 del capítulo **Discusión de Resultados (Esquema 22)**. En todos los casos el resultado obtenido representa el promedio de haber realizado el ensayo tres veces, por separado, evaluado los compuestos a una concentración de 1 mg/mL y empleado ácido ascórbico (vitamina C) como control positivo.

## **5.8 Ensayos de actividad biológica. Actividad antiproliferativa.**

### **5.8.1 Cultivo celular previo al ensayo.**

Las líneas celulares de tumores humanos A549 (adenocarcinoma alveolar), HBL-100 (de epitelio mamario), HeLa (cervico-uterino), SW1573 (de células alveolares), WiDR (adenocarcinoma) y T-47D (de glándula mamaria) utilizadas en este ensayo se mantienen en un cultivo continuo, en viales o tubos cónicos que contienen 25 mL de medio RPMI 1640 suplementado al 5% con suero fetal bovino y ajustado al 2  $\mu$ M con L-glutamina, manteniéndose a una temperatura constante de 37 °C en una atmosfera 95% aire 5% CO<sub>2</sub> dentro de una incubadora. En estas condiciones, las células rápidamente empezaran a crecer y son teñidas con el colorante azul tripano y se re-suspenden nuevamente en medio RPMI que contiene 100 U de penicilina G y 0.1 mg de estreptomycin por cada mL de medio. Las suspensiones celulares que mostraran > 97% de viabilidad (por exclusión del colorante azul tripano) se cuentan y se realizan diluciones para obtener las densidades requeridas para inoculación en placa de 96 pocillos. Las células se inoculaban en un volumen de 100  $\mu$ L por pocillo con densidades de 15,000 (WiDr, T-47D y HeLa) y 10,000 (A549, SW1573 y HBL-100) células por pocillo, basándose en su habilidad de replicación.

### 5.8.2 Técnica del ensayo antiproliferativo.

El ensayo se realizó utilizando la técnica de la sulforhodamina B (SRB) como recomienda el Instituto Nacional del Cáncer [Skehan P. 1990] de los Estados Unidos de Norteamérica (NCI) con algunas ligeras modificaciones realizadas por Padrón JM. et al del Instituto Canario de Investigación del Cáncer, lugar en donde se llevó a cabo el ensayo [Padrón JM. 2009]. Las células que se han de emplear como control negativo se exponen a una concentración de DMSO al 0.25% V/V. Cada compuesto se analiza por triplicado en diluciones que van desde 100 hasta 1  $\mu$ M en DMSO. La exposición a los compuestos inicia desde que se inoculan las células en la placa de 96 pocillos. Se incuban por 48 h. Posteriormente las células se precipitan con 25  $\mu$ L de ácido tricloroacético al 50% frío. Se realiza el ensayo de la sulforhodamina y se determina la densidad óptica de cada pocillo a una longitud de onda de 492 nm utilizando un lector de microplacas Biotek PowerWave XS, utilizándose como blanco los pocillos que solamente fueron inoculados con puro medio. Se calcula el porcentaje de crecimiento (o porcentaje de inhibición de crecimiento) comparando las células que fueron tratadas con los compuestos, las células que fueron tratadas con controles positivos y las células del control negativo. Este se expresa como concentración de inhibición media, o la concentración de compuesto a la que se inhibe el crecimiento de la mitad de la población. Un porcentaje de crecimiento de 0% o cercano a él representa la misma cantidad de células al inicio del ensayo, en otras palabras, una posible actividad citoestática; un porcentaje de 100% o cercano a él representa que no hubo inhibición del crecimiento y un porcentaje de crecimiento negativo implica una posible citotoxicidad o muerte de las células tumorales.



# **DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

## 6. Discusión de Resultados

### 6.1 Sobre la síntesis y caracterización

Se plantean los 3 métodos ensayados. Primeramente, el detallado en el apartado 5.2, este es la síntesis de las 2-Alquilaminonaftoquinonas simplemente empleando algún disolvente orgánico, asumiendo que esta reacción procede por un mecanismo que inicia como una reacción aza-Michael y una posterior Oxido-Reducción para producir un intermediario tipo diol que puede ser revertido a la forma quinónica por efectos del oxígeno atmosférico o una segunda molécula de 1,4-Naftoquinona.

Las desventajas del empleo de esta metodología son bastante evidentes. Primeramente se tiene la abundante aparición de productos colaterales, como se explicó en la sección 2.5, surgen posiblemente debido a las propiedades Red/Ox del par “Quinona-Hidroquinona” y desafortunadamente esta metodología particular no presenta ninguna posibilidad o manera consistente de reducir la aparición de estos compuestos. Segundo, se tiene los largos periodos de reacción, que dependiendo de la amina o aminoalcohol utilizados pueden extenderse desde 24 hasta 240 hr, obviamente esto resulta impráctico a gran escala.

La posible explicación de este inconveniente podría ser debido a la ineficacia tanto del oxígeno atmosférico como de una segunda molécula de 1,4-Naftoquinona de regresar al intermediario tipo diol de vuelta a la forma quinónica, posible evidencia de esto es una alta concentración inicial del intermediario diol en la placa de CCF y una gradual disminución de este a medida que la concentración de producto aumenta con el tiempo.

Si bien, algunas modificaciones a las condiciones de reacción como el burbujeo directo de aire al medio de reacción y aumentar ligeramente la temperatura pueden aminorar en cierto grado el tiempo requerido, no se obtuvo algún ejemplo donde la disminución fuese drástica.

Finalmente, como se explica en el apartado 4.2.2 el uso de disolventes polares aproticos como el DMSO y DMF resultaba benéficos en el sentido que mejoraban el tiempo de reacción y disminuían la aparición de productos colaterales, sin embargo, una limitante considerable al uso de estos es el alto costo, por ejemplo , comparando el que mostro mejores resultados, el THF con MeOH, de acuerdo con *Sigma-Aldrich*<sup>2014</sup> el costo del THF es 10 veces mayor, considerando que los rendimientos obtenidos eran buenos pero no sorprendentes, no consideramos que sea justificable su uso, pudiéndose emplear los más prácticos y económicos alcoholes. Esta alternativa seria más aceptable si de alguna manera se pudiese reducir la aparición de productos colaterales y reducir el tiempo de reacción.

Después, tenemos la segunda alternativa, el empleo de un detergente aniónico como catalizador de la misma reacción anterior en medio acuoso como se explicó en el apartado 5.2.3, según explica *Tandon et al*, es posible preparar compuestos similares a las 2-Alquilaminonaftoquinonas en un medio acuoso [*Tandon V. 2009, 2011*], esto inicialmente resulto contradictorio a lo encontrado hasta este momento, puesto que previos intentos de realizar las reacciones utilizando agua como disolvente fueron infructíferos, debido a la insolubilidad de la 1,4-Naftoquinona en este medio, sin embargo, es aquí la utilización de agentes tensoactivos la clave.

Se montó el procedimiento, basado principalmente en las metodologías expuestas por *Tandon et al*, y los resultados fueron interesantes. De acuerdo con *Tandan et al*, son las micelas formadas por el detergente que tienen la función de micro-reactor dentro del medio acuoso, esto se evidenció al tomar una pequeña muestra del medio de reacción y centrifugarla, se analizó un extracto de DCM del sobrenadante por CCF y no revelaba la presencia de ningún compuesto, salvo por algunas impurezas minúsculas, acto seguido, a otra muestra del mismo medio de reacción tras la adición de una pequeña cantidad de HCl al 0.5% se aprecia inmediatamente una precipitación de un producto, que tras ser filtrado, era soluble en disolventes orgánicos y tanto la CCF, EM y el punto de fusión indicaban que se trataba del producto de interés y no la sal de  $\text{Cl}^-$ , pudiéndose inferir que la adición de una cantidad pequeña de HCl diluido resulta ideal para finalizar la reacción, ya que probablemente causa la ruptura de las micelas formadas por el detergente por repulsiones electrostáticas sin causar la precipitación de sus respectivas sales.

Sin embargo, siendo críticos, la utilización de este método, si bien es innovadora a cierto grado y aparenta ser más amable al medio ambiente, no posee ventajas significativas comparado con los otros métodos, prácticamente la única mejora que plantea es la de utilizar agua como medio de reacción en vez de algún otro disolvente, también, los productos colaterales observados en las otras metodologías siguen apareciendo, lo que implica la necesidad de una futura purificación donde sí se requieran disolventes, se debe considerar el costo de adquirir el detergente que habrá de emplearse, reduciendo la ventaja del ahorro de disolventes, pero más importante y crucial, la necesidad de emplear ácidos inorgánicos como HCl o  $\text{H}_2\text{SO}_4$  para finalizar la reacción

resulta contradictorio a la premisa inicial de que este es un método amigable al medio ambiente.

Finalmente tenemos la tercera alternativa, el empleo de activadores o mediadores que promuevan la síntesis de las 2-Alquilaminonaftoquinonas en condiciones muy similares a las presentadas en la primera alternativa. La metodología se explica a fondo en el apartado 5.2.5 y en resumen, todos los compuestos empleados contribuyen a activar la posición 2-C para facilitar la introducción del átomo de nitrógeno de la amina o aminoalcohol empleado. Con la mayoría de los compuestos se obtuvieron buenos resultados, como se aprecia en la **Tabla 2** del apartado 5.2.5, sin embargo no estaban sin algunas desventajas, por ejemplo, el Nitrato de Bismuto (III) era completamente insoluble en el disolvente empleado, por lo tanto la reacción lógicamente se comportó como si este no estuviese presente, con Cloruro de Aluminio (III) y Cloruro Férrico se apreció una disminución en el tiempo de reacción muy considerable, desafortunadamente las impurezas ya conocidas continúan apreciándose en la CCF, incluso, utilizando Cloruro de Aluminio, al final de la reacción, el crudo de reacción se encontraba en una forma de resina oscura sumamente difícil de remover y de purificar.

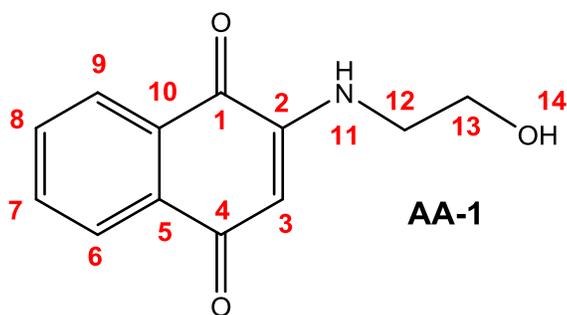
Fueron las sales de  $\text{Cu}^{+2}$ , el Acetato de Cobre (II) y el Sulfato de Cobre (II) los que se comportaron de manera ideal, reduciendo el tiempo y la aparición de impurezas; con esto se puede inferir que no influye mucho la fuente de iones  $\text{Cu}^{+2}$  para acelerar la reacción, ya que ambos reducen el tiempo de reacción y la aparición de productos colaterales en la misma magnitud, tienen un costo aproximadamente igual, sin embargo el Acetato es aparentemente más soluble que el Sulfato, por lo tanto se seleccionó este

como el que se emplearía en la metodología revisada. De acuerdo a *Lisboa et al*, la bibliografía sugiere hasta hoy que el  $\text{Cu}^{+2}$  puede ejercer más de un papel, mecanísticamente hablando, ya que por una parte puede coordinarse con alguno de los carbonilos de la 1,4-Naftoquinona, compartiendo este parte de su densidad electrónica con el átomo de Cobre, dejando el átomo de carbono alfa al carbonilo más desprotegido y lábil al ataque por el grupo amino; por otra parte, *Lisboa et al* también sugiere que la contribución del  $\text{Cu}^{+2}$  puede ser auxiliando al oxígeno atmosférico en regenerar al intermediario tipo diol de vuelta a la forma carbonilica [*Lisboa C. 2011*].

En cuanto a la purificación, comparando ambas técnicas empleadas, la extracción acido/base mencionada en el apartado 5.2.4 y la purificación por columna, es razonable considerar la segunda opción como la más adecuada, ya que como se mencionó, la extracción acido/base requiere ácidos inorgánicos, además de que se obtienen rendimientos muy bajos (< 35%), sugiriendo pérdidas de producto o descomposición. Sin embargo, la columna cromatográfica tiene la ventaja de que no se requieren grandes cantidades de disolvente para purificar un crudo de reacción donde se ha utilizado el Acetato de Cobre (II), puesto que las trazas de 1,4-Naftoquinona que pueden permanecer se eliminan simplemente con pasar por la columna una porción de *n*-hexano, y posteriormente eluyendo con DCM, AcOEt o una mezcla de cualquiera de ellos con *n*-Hexano se obtiene los productos deseados en estado puro; además, las sales de Cobre permanecen en el origen, sin desplazarse por la columna a no ser que se utilice algún eluyente muy polar, como el MeOH. Es por este motivo que se seleccionó la purificación por columna cromatográfica como la técnica a emplear para la purificación de todos los

compuestos. Siguiendo exactamente esta metodología se preparó y purifico la primera serie de derivados 2-hidroxi alquilamino-1,4-naftoquinonas:

**AA-1**, 2-((2-Hidroxi etil)amino)naftalen-1,4-diona: Este compuesto es un sólido color rojo escarlata, con P.F entre 146-148 °C, la información de CG/EM (Anexo 11) obtenida del compuesto revela que se encuentra puro y se aprecia un M<sup>+</sup> de 217.2 que corresponde con su fórmula molecular C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>. En su espectro de IR (Anexo 1) se aprecia principalmente, una banda muy ancha en 3427 cm<sup>-1</sup> característica del estiramiento de un enlace O-H, una banda grande y delgada en 3019 cm<sup>-1</sup> que corresponde al estiramiento de los enlaces C-H del anillo aromático y al estiramiento de un enlace C-H de una olefina, además una banda ancha con dos picos definidos en 1742 y 1714 cm<sup>-1</sup> que corresponde al estiramiento de los enlaces C=O de la porción 1,4-dicetona del anillo de naftoquinona. La información obtenida de su espectro de RMN-H (Anexo 21) se encuentra resumida en la **Tabla 5** y la integración de cada una de sus señales corresponde a 10 protones de la molécula, sin observarse el protón del grupo hidroxilo (#14):

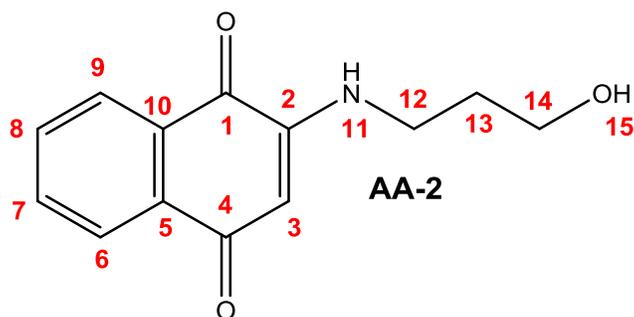


**Tabla 5-** Resumen de datos de RMN para el compuesto AA-1

Asignación	$\Delta\delta$ ppm (H)
1	-
2	-
3	5.71 (s, 1H)
4	-
5	-
6	7.98 (d, 1H)
7	7.55 (t, 1H)
8	7.66 (t, 1H)
9	8.03 (d, 1H)
10	-
11	6.13 (s, 1H)
12	3.30 (c, 2H)
13	3.86 (t, 2H)
14	*

**AA-2**, 2-((3-Hidroxietil)amino)naftalen-1,4-diona: Este compuesto es un sólido color naranja, con P.F entre 122-125 °C, la información de CG/EM (Anexo 12) obtenida del compuesto revela que se encuentra puro y se aprecia un M<sup>+</sup> de 231 que corresponde con su fórmula molecular C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>3</sub>. En su espectro de IR (Anexo 2) se aprecia principalmente, una banda muy ancha en 3422 cm<sup>-1</sup> característica del estiramiento de un enlace O-H, una banda grande y delgada en 3019 cm<sup>-1</sup> que corresponde al estiramiento de los enlaces C-H del anillo aromático y al estiramiento de un enlace C-H de una olefina, una banda ancha con dos picos definidos en 1742 y 1714 cm<sup>-1</sup> que corresponde al estiramiento de los enlaces C=O de la porción 1,4-dicetona del anillo de naftoquinona. La información obtenida de su espectro de RMN-H (Anexo 22) y de RMN-C (Anexo 25) se encuentra resumida en la **Tabla 6** y la integración de cada una de sus señales corresponde exactamente a los 13 protones y 13 átomos de carbono de la molécula:

Asignación	Δδ ppm (H)	Δδ ppm (C)
1	-	182.99
2	-	148.18
3	5.74 (s, 1H)	100.36
4	-	181.7
5	-	133.55
6	8.01 (d, 1H)	130.38
7	7.58 (t, 1H)	126.06
8	7.70 (t, 1H)	126.16
9	8.06 (d, 1H)	131.85
10	-	134.64
11	6.42 (s, 1H)	-
12	3.36 (c, 2H)	40.24
13	1.96 (q, 2H)	30.34
14	3.84 (t, 2H)	60.53
15	2.56 (s, 1H)	-



**Tabla 6.** Resumen de datos de RMN para el compuesto AA-2

**AA-3**, 2-((2-Hidroxipropil)amino)naftalen-1,4-diona: Este compuesto es un sólido color naranja claro, con P.F entre 132-136 °C, la información de CG/EM (Anexo 13) obtenida del compuesto revela que se encuentra puro y se aprecia un  $M^+$  de 231 que corresponde con su fórmula molecular  $C_{13}H_{13}NO_3$ . En su espectro de IR (Anexo 3) se aprecia principalmente, una banda muy ancha en  $3410\text{ cm}^{-1}$  característica del estiramiento de un enlace O-H, una banda grande y delgada en  $3019\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al estiramiento de los enlaces C-H del anillo aromático y al estiramiento de un enlace C-H de una olefina, además una banda ancha con dos picos definidos en 1743 y  $1714\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al estiramiento de los enlaces C=O de la porción 1,4-dicetona del anillo de naftoquinona y una banda delgada y grande en  $1215\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al estiramiento del enlace C-N.

**AA-4**, 2-((1-Hidroxibut-2-il)amino)naftalen-1,4-diona: Este compuesto es un sólido color naranja intenso, con P.F entre 151-157 °C, la información de CG/EM (Anexo 14) obtenida del compuesto revela que se encuentra puro y se aprecia un  $M^+$  de 245 que corresponde con su fórmula molecular  $C_{14}H_{15}NO_3$ . En su espectro de IR (Anexo 4) se aprecia principalmente, una banda muy ancha en  $3468\text{ cm}^{-1}$  característica del estiramiento de un enlace O-H, una banda mediana y delgada en  $3019\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al estiramiento de los enlaces C-H del anillo aromático y al estiramiento de un enlace C-H de una olefina, además una banda ancha con dos picos definidos en 1742 y  $1714\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al estiramiento de los enlaces C=O de la porción 1,4-dicetona del anillo de naftoquinona y una banda delgada y grande en  $1215\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al estiramiento del enlace C-N.

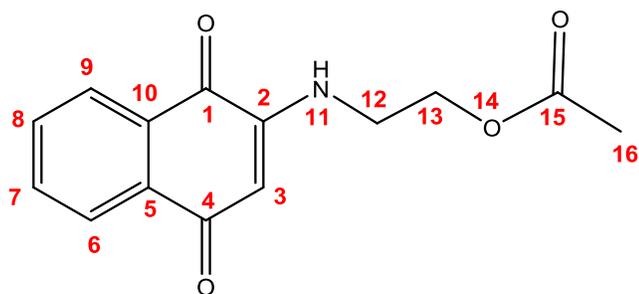
**AA-5**, *2-(2-(Feniletil)amino)naftalen-1,4-diona*: Este compuesto es un sólido color naranja brillante, con P.F entre 136-138 °C, la información de CG/EM (Anexo 15) obtenida del compuesto revela que se encuentra puro y se aprecia un M<sup>+</sup> de 277 que corresponde con su fórmula molecular C<sub>18</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>2</sub>. En su espectro de IR (Anexo 5) se aprecia principalmente, una banda mediana en 3478 cm<sup>-1</sup> que corresponde al estiramiento del enlace N-H de una amina secundaria, una banda grande alrededor de los 3019 cm<sup>-1</sup> que corresponde al estiramiento de los enlaces C-H del anillo aromático y al estiramiento de un enlace C-H de una olefina, además una banda ancha con dos picos definidos en 1742 y 1714 cm<sup>-1</sup> que corresponde al estiramiento de los enlaces C=O de la porción 1,4-dicetona del anillo de naftoquinona y una banda delgada y grande en 1215 cm<sup>-1</sup> que corresponde al estiramiento del enlace C-N.

**AA-6**, *2-(2-(4-Hidroxifeniletil)amino)naftalen-1,4-diona*: Este compuesto es un sólido color naranja , con P.F entre 156-161 °C, la información de CG/EM (Anexo 16) obtenida del compuesto revela que se encuentra puro y se aprecia un M<sup>+</sup> de 293 que corresponde con su fórmula molecular C<sub>18</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub>. En su espectro de IR (Anexo 6) se aprecia principalmente, una banda ancha y grande en 3422 cm<sup>-1</sup> característica del estiramiento de un enlace O-H, una banda mediana alrededor de los 3019 cm<sup>-1</sup> que corresponde al estiramiento de los enlaces C-H del anillo aromático y al estiramiento de un enlace C-H de una olefina, además una banda ancha con dos picos definidos en 1742 y 1714 cm<sup>-1</sup> que corresponde al estiramiento de los enlaces C=O de la porción 1,4-dicetona del anillo de naftoquinona y una banda delgada y grande en 1218 cm<sup>-1</sup> que corresponde al estiramiento del enlace C-N.

En cuanto a la derivatización de los compuestos previamente mencionados, se optó por una metodología que no empleara Piridina como base catalizadora, por su toxicidad y eliminación engorrosa. Como se menciona en el apartado 5.5 en la búsqueda bibliográfica se determinó que, de acuerdo a varios autores [*Heravi M. 2007, Jiabo L. 2008, Shafeek A. 2012*], se puede utilizar bisulfatos como promotores de reacciones de acetilación y transesterificación, que de acuerdo a los mismos autores, tendría un papel similar al de la piridina promoviendo la formación de un intermediario bisulfato-agente acetilante que es fácilmente desplazado por el grupo hidroxilo que se desea acetilar, sin embargo, a diferencia de la piridina el bisulfato por ser una sal, es más fácilmente eliminado del medio de la reacción a la hora de purificar. Se montó un ensayo para determinar cuál agente acetilante ( $\text{AcO}_2$  y  $\text{AcCl}$ ) resulta más efectivo y el efecto del bisulfato, si es que tenía alguno. Se determinó que ambos agentes acetilantes logran esterificar el grupo hidroxilo con rendimientos relativamente altos (81% a 90%) con solo algunas horas de reacción (de 3.5 hr a 1.5 hr) y sin aditivo alguno, sin embargo al utilizar el  $\text{KHSO}_4$  se encontró que el tiempo de reacción se reducía considerablemente (de 2.5 hr a 45 min) y se aumentaba ligeramente el rendimiento final (de 88% a 95%) en todas las repeticiones. El mejor rendimiento y el menor tiempo se obtuvo al utilizar  $\text{AcCl}$  con  $\text{KHSO}_4$  y fue el agente acetilante de elección para esterificar la primera serie de compuestos por obvias razones.

El método a detalle se explica en el apartado 5.1.1 y fue el empleado para preparar la segunda serie de derivados:

**AC-1**, 2-((1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)amino)etil acetato: Este compuesto es un sólido color rojo oscuro , con P.F entre 118-126 °C, la información de CG/EM (Anexo 17) obtenida del compuesto revela que se encuentra puro y se aprecia un M<sup>+</sup> de 259 que corresponde con su fórmula molecular C<sub>14</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>4</sub>. En su espectro de IR (Anexo 7) se aprecia principalmente, una banda chica en 3620 cm<sup>-1</sup> que corresponde con la absorción del enlace N-H de una amina secundaria, una banda mediana alrededor de los 3019 cm<sup>-1</sup> que corresponde al estiramiento de los enlaces C-H del anillo aromático y al estiramiento de un enlace C-H de una olefina, además una banda muy ancha con dos picos definidos en 1694 cm<sup>-1</sup> y 1626 cm<sup>-1</sup> que probablemente surge por el solapamiento de señales entre el enlace C=O del éster y la señal del estiramiento de los enlaces C=O de la porción 1,4-dicetona del anillo de naftoquinona. La información obtenida de su espectro de RMN-H (Anexo 23) se encuentra resumida en la **Tabla 7** y la integración de cada una de sus señales corresponde exactamente a los 13 protones de la molécula:



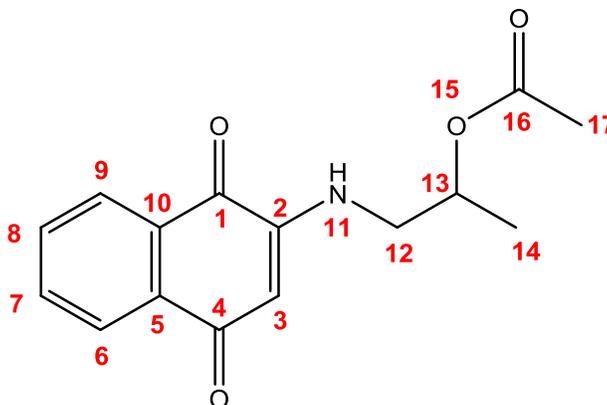
Asignación	$\Delta\delta$ ppm (H)
1	-
2	-
3	5.70 (s,1H)
4	-
5	-
6	7.98 (d,1H)
7	7.57 (t, 1H)
8	7.66 (t, 1H)
9	8.02 (d, 1H)
10	-
11	6.04 (s,1H)
12	3.39 (c, 2H)
13	4.26 (t, 2H)
14	-
15	-
16	2.03 (s, 3H)

**Tabla 7-** Resumen de datos de RMN para el compuesto AC-1

**AC-2**, *3-((1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)amino)propil acetato*: Este compuesto es un sólido color naranja oscuro , con P.F entre 112-119 °C, la información de CG/EM (Anexo 18) obtenida del compuesto revela que se encuentra puro y se aprecia un  $M^+$  de 273 que corresponde con su fórmula molecular  $C_{15}H_{15}NO_4$ . En su espectro de IR (Anexo 8) se aprecia principalmente, una banda chica en  $3684\text{ cm}^{-1}$  que corresponde con la absorción del enlace N-H de una amina secundaria, una banda mediana alrededor de los  $3019\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al estiramiento de los enlaces C-H del anillo aromático y al estiramiento de un enlace C-H de una olefina, también una banda ancha con dos picos definidos en  $1716\text{ cm}^{-1}$  y  $1630\text{ cm}^{-1}$  que probablemente surge por el solapamiento de señales entre el enlace C=O del éster y la señal del estiramiento de los enlaces C=O de la porción 1,4-dicetona del anillo de naftoquinona.

**AC-3**, *1-((1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)amino)propan-2-il acetato*: Este compuesto es un sólido color naranja , con P.F entre 111-116 °C, la información de CG/EM (Anexo 19) obtenida revela que se encuentra puro y se aprecia un  $M^+$  de 273 que corresponde con su fórmula molecular  $C_{15}H_{15}NO_4$ . En su espectro de IR (Anexo 9) se aprecia, una banda chica en  $3615\text{ cm}^{-1}$  que corresponde con la absorción del enlace N-H de una amina secundaria, una banda mediana alrededor de los  $3019\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al estiramiento de los enlaces C-H del anillo aromático y al estiramiento de un enlace C-H de una olefina, también una banda ancha con dos picos definidos en  $1723\text{ cm}^{-1}$  y  $1635\text{ cm}^{-1}$  que probablemente surge por el solapamiento de señales entre el enlace C=O del éster y la señal del estiramiento de los enlaces C=O de la porción 1,4-dicetona del anillo de naftoquinona. La información obtenida de su espectro de RMN-H (Anexo 24) se resume en la **Tabla 8** y la integración de cada una de sus señales corresponde exactamente a los 13 protones de la molécula:

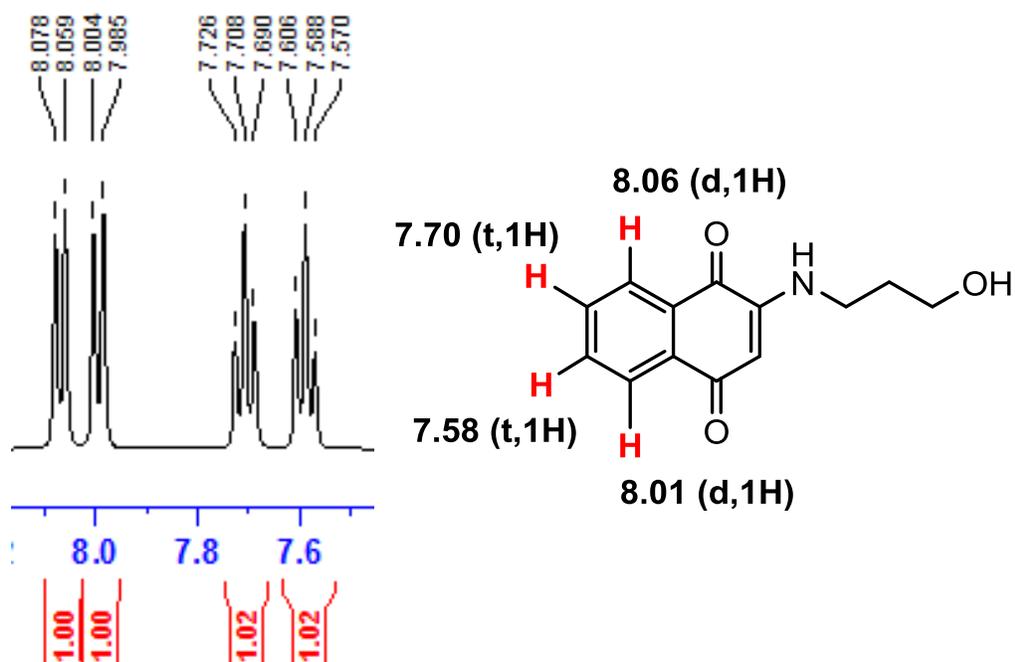
Asignación	$\Delta\delta$ ppm (H)
1	-
2	-
3	5.71 (s,1H)
4	-
5	-
6	7.98 (d,1H)
7	7.55 (t, 1H)
8	7.66 (t, 1H)
9	8.02 (d, 1H)
10	-
11	6.07 (s,1H)
12	3.25 (t, 2H)
13	5.11 (m, 1H)
14	1.27 (d, 3H)
15	-
16	-
17	2.01 (s, 3H)



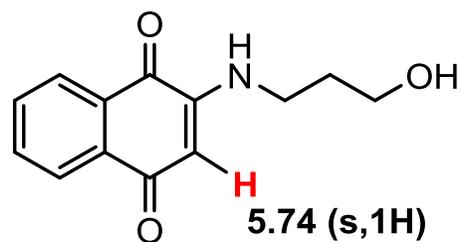
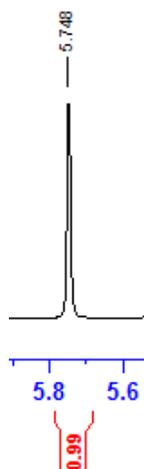
**Tabla 8-** Resumen de datos de RMN para el compuesto AC-3

**AC-4**, 2-((1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)amino)butil acetato: Este compuesto es un sólido color naranja, con P.F entre 122-126 °C, la información de CG/EM (Anexo 20) obtenida del compuesto revela que se encuentra puro y se aprecia un  $M^+$  de 287 que corresponde con su fórmula molecular  $C_{16}H_{17}NO_4$ . En su espectro de IR (Anexo 10) se aprecia principalmente, una banda chica en  $3374\text{ cm}^{-1}$  que corresponde con la absorción del enlace N-H de una amina secundaria, una banda mediana alrededor de los  $3019\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al estiramiento de los enlaces C-H del anillo aromático y al estiramiento de un enlace C-H de una olefina y una banda ancha con dos picos definidos en  $1721\text{ cm}^{-1}$  y  $1711\text{ cm}^{-1}$  que probablemente surge por el solapamiento de señales entre el enlace C=O del éster y la señal del estiramiento de los enlaces C=O de la porción 1,4-dicetona del anillo de naftoquinona.

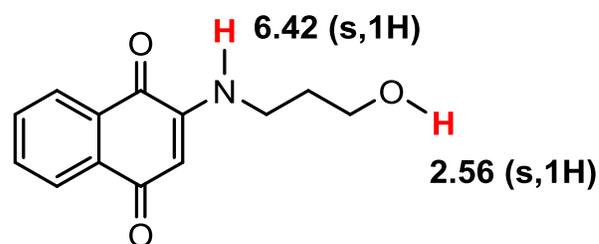
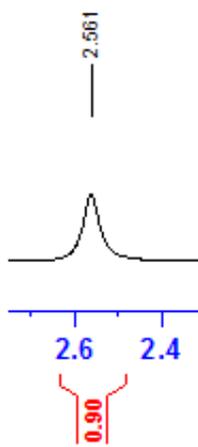
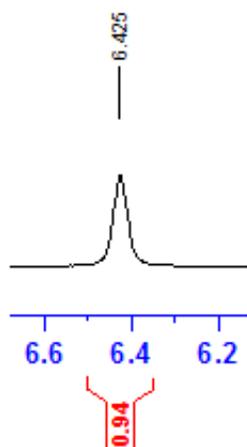
Si observemos a detalle como ejemplo la evidencia de caracterización que se tiene para el compuesto AA-2, elegido particularmente por su pureza y la alta definición de sus señales en los espectros. Su cromatograma revela que se encuentra considerablemente puro y su espectro de masas muestra un  $M^+$  que coincide con el peso molecular del producto (ver CG-EM en Apéndice AA-2). La evidencia de RMN-H muestra:



Cuatro señales distintas en la región aromática, 2 dobletes que integran para 1 protón cada uno, que en este caso en la molécula de AA-2 representarían los 2 protones aromáticos más próximos a los carbonilos (8.06 y 8.01), por lo tanto más desprotegidos y a un desplazamiento químico mayor. Seguido se muestra 2 tripletes que integran para 1 protón cada uno, en la molécula AA-2 representarían los 2 protones restantes del anillo aromático (7.70 y 7.58), su multiplicidad coincide con la regla de  $n+1$ .

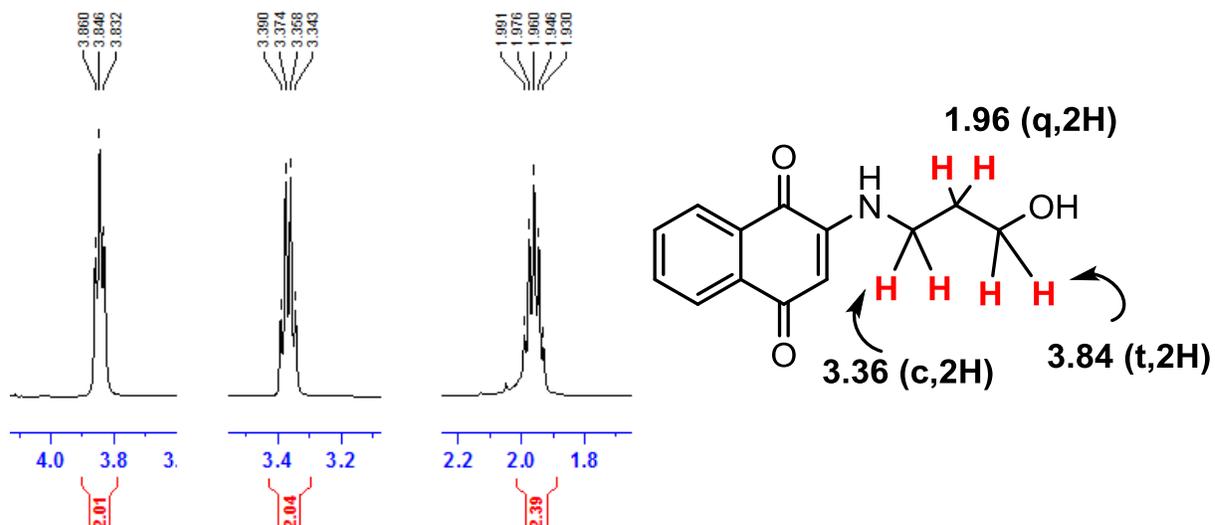


Se observa un singlete que integra para 1 protón en la región olefinica (5.74) que representaría al hidrógeno del doble enlace de la molécula AA-2.



Dos singletes de forma característica que integran para 1 protón cada uno, uno en 6.42 que se asigna al hidrógeno unido al nitrógeno y el otro en 2.56 que representa al hidrógeno unido al átomo de oxígeno. La discrepancia en desplazamientos químicos se puede explicar por las distribuciones electrónicas en la molécula. Mientras que el protón en 6.42 pertenece a un sistema enamínona que contribuye a su desprotección magnética

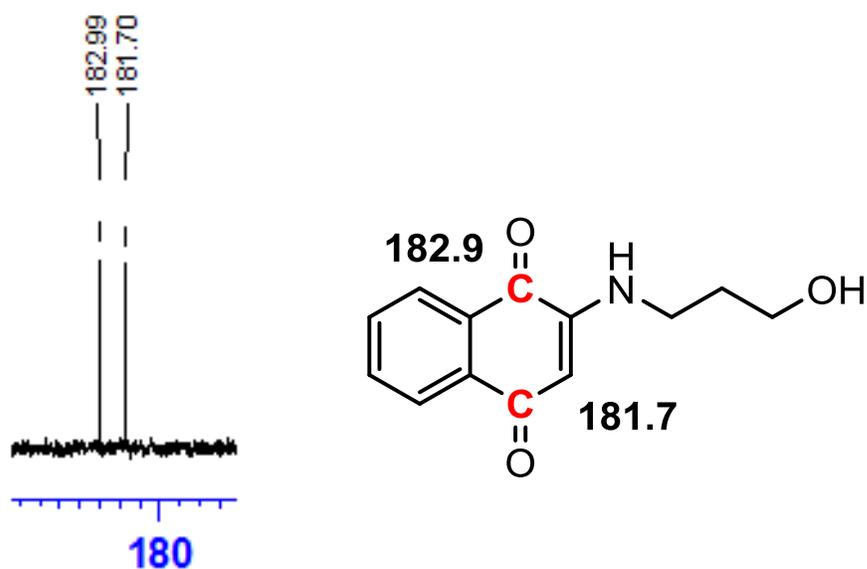
debido a que es un sistema altamente conjugado, en cambio el protón en 2.56 solamente se encuentra unido a un átomo de oxígeno.



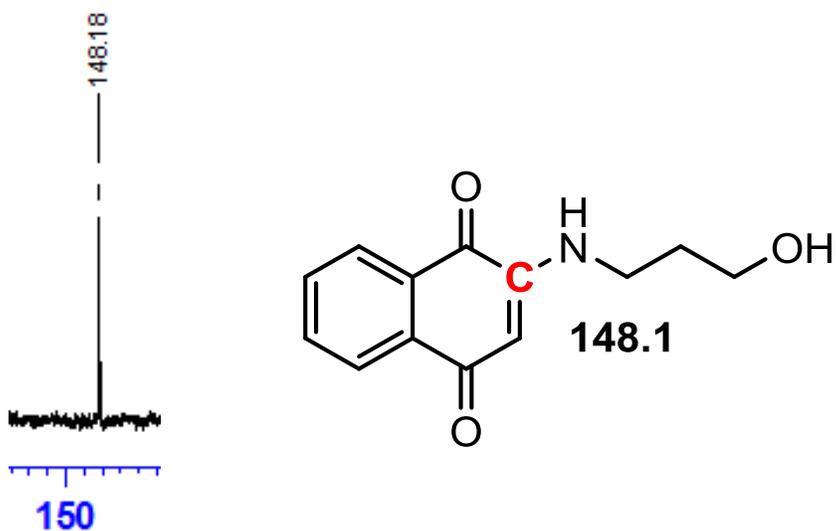
Finalmente, el espectro muestra 1 triplete en 3.84 que integra para 2 protones, magnéticamente desprotegidos por su proximidad al átomo de oxígeno, sin embargo este efecto es menos fuerte en el par de protones representados por el cuadruplete en 3.36 que integra para 2 protones, ya que en comparativa el átomo de nitrógeno anexo es menos electronegativo que el átomo de oxígeno, por lo tanto estos aparecen en campo ligeramente más alto. Por último, un quintuplete en 1.96 que integra para 2 protones, se razona que, por estar rodeado de la protección magnética que brindan las cadenas alquílicas, o más precisamente, por el efecto de hiperconjugación, estos átomos de hidrógeno son los que aparecen a campo más alto en toda la molécula. De esta forma se justifica la presencia de los 13 átomos de hidrógeno que conforman a la molécula y así también la caracterización del compuesto por de RMN-H.

Ahora se presenta a detalle la evidencia de RMN- $C^{13}$  para el mismo compuesto.

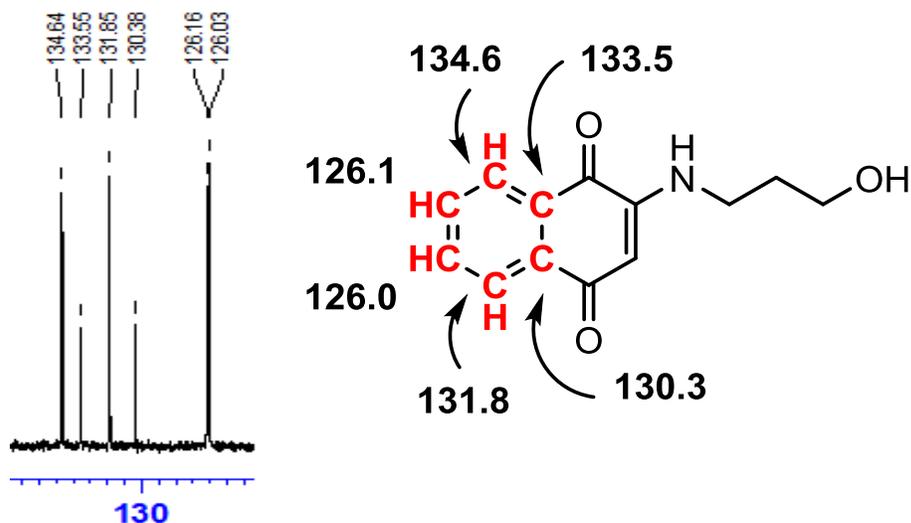
Primeramente se tiene:



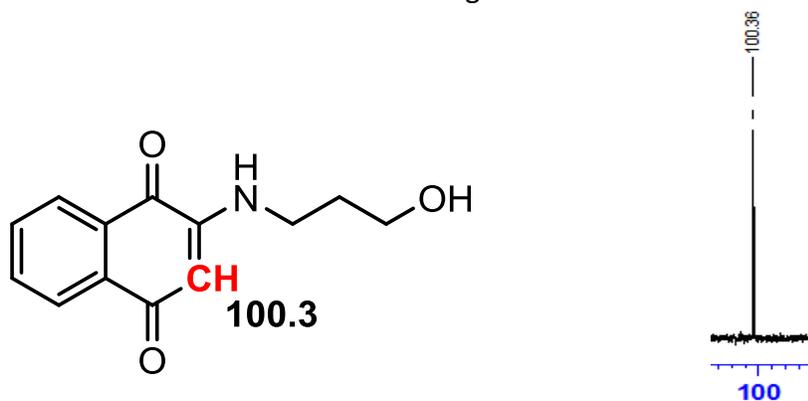
Dos picos (182.9 y 181.7), las 2 señales más desprotegidas en cuanto al espectro de RMN- $C$  de la molécula, que se correlacionan bien con los 2 átomos de carbono carbonílicos, el primero, ligeramente más desprotegido por su mayor cercanía al átomo electronegativo nitrógeno.



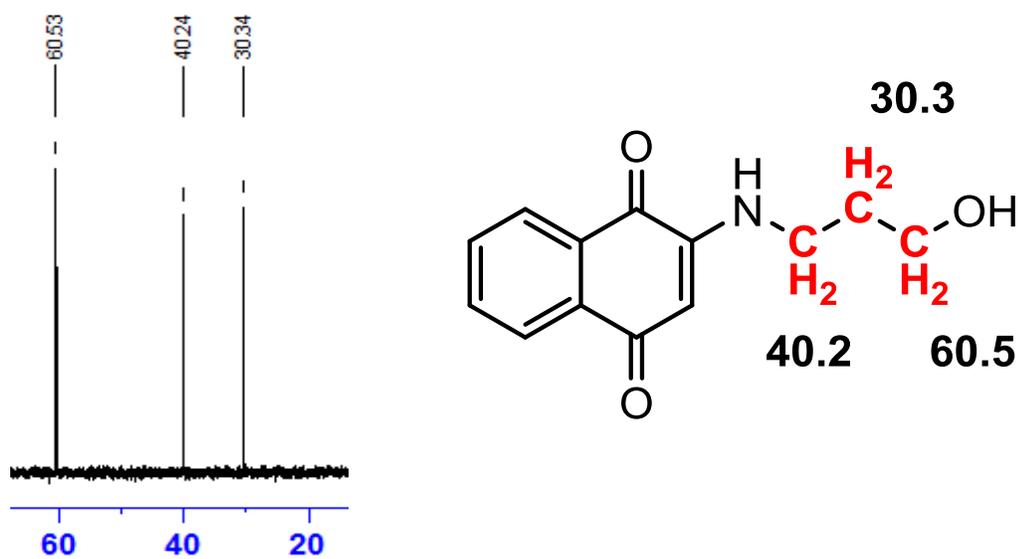
Un pico en 148.1, el siguiente a cuanto a desprotección por su proximidad al átomo de nitrógeno, al carbonilo y además de pertenecer a un sistema olefinico.



Seis picos en la región aromática, que por orden de protección aparecen en 134.6, 133.5, 131.8, 130.3, 126.1 y 126.0 a medida que se alejan del efecto de desprotección de los grupos carbonilos y amino, además apareciendo como señales más intensas aquellas que corresponden a un átomo de carbono unido a un átomo de hidrógeno.



Un pico en 100.36, en la región donde es posible que aparezcan las señales de los carbonos olefinicos (100-150 ppm).



Finalmente se encuentran 3 picos, la señal en 60.5 correspondería a el átomo de carbono metilénico que se encuentra unido al átomo de oxígeno, viéndose mayormente desprotegido en comparación con el átomo de carbono metilénico que correspondería a la señal en 40.2, ya que en comparativa el átomo de nitrógeno es menos electronegativo que el átomo de oxígeno, por lo tanto el efecto de desprotección es menor. Por último, el átomo de carbono metilénico que correspondería a la señal en 30.3 se puede justificar a este desplazamiento químico gracias al efecto de protección que brindan las cadenas alquílicas que le rodean.

## 6.2 Sobre los Ensayos Biológicos

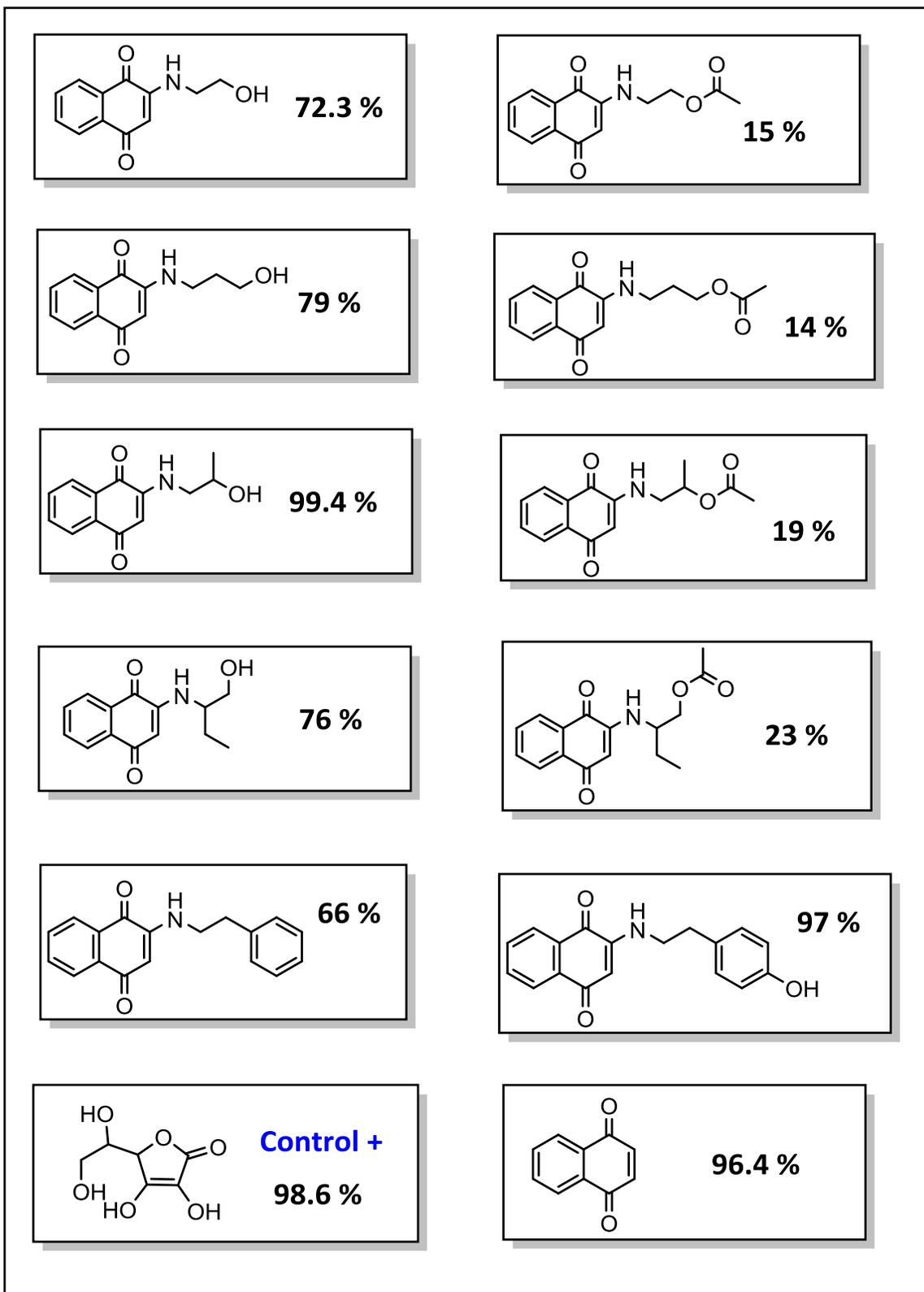
Los ensayos biológicos que aquí se realizaron podrán servir como precedente en caso que se desee expandir más en el estudio de las 2-hidroxiálquilamino-1,4-naftoquinonas o realizar algún ensayo estructura/actividad. Son principalmente dos, actividad antioxidante y actividad antiproliferativa, debido a que la bibliografía sugiere que este tipo de compuestos deberían tener

un buen perfil antioxidante y ser potenciales citotóxicos [Ōmura S. 1973, Furasaki A. 1972, Mithani S. 1996, Brisson M. 2005, Calonghi N. *ibid*, Chen X. 2003, Lin T. 1991 ]. Una vez que se tienen preparado los compuestos y sus derivados, se procedió a realizar los bioensayos correspondientes y a comparar los resultados obtenidos.

La técnica del **ensayo ABTS** se describe a detalle en el apartado 5.7.1, se realizó 3 veces con 3 series de repeticiones cada uno y el resultado promedio de la actividad antioxidante de cada compuesto se encuentra resumida en el **esquema 22**, además, se utilizó ácido ascórbico (Vitamina C) como control positivo ya que resulta ser un conocido antioxidante con cierta similitud estructural con las quinonas preparadas.

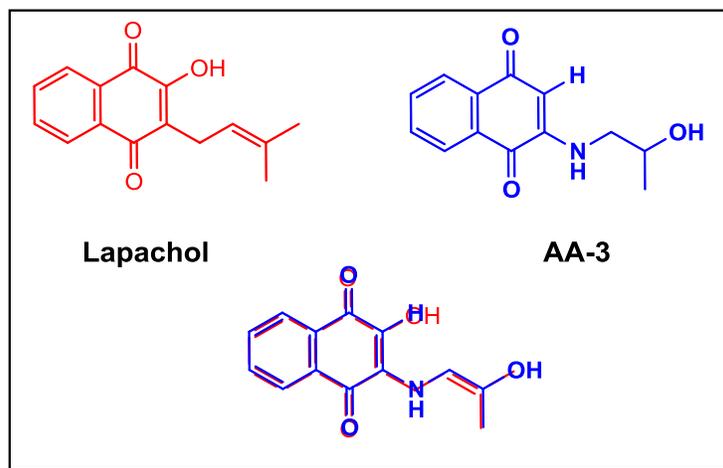
En resumen, se puede observar que los compuestos preparados, en general tienen buena actividad antioxidante, en particular aquellos que son tipo aminoalcohol (porcentajes de inhibición desde 72% hasta 99.4%), que al compararse con los resultados obtenidos de los compuestos derivados (donde el grupo hidroxilo se encuentra acetilado) se observa que la actividad disminuye drásticamente, este mismo fenómeno se observa en el compuesto **AA-5** (derivado de Feniletilamina) que no cuenta con grupo hidroxilo (66% de actividad), comparado con el compuesto **AA-6** (derivado de Tiramina) que cuenta con un hidroxilo fenólico y aparentemente por este aumenta su actividad antioxidante a un poco menos del doble (97%).

Si bien no se cuenta con suficientes compuestos para poder deducir la influencia de los constituyentes estructurales sobre la actividad biológica de las moléculas preparadas, si se pueden observar algunas tendencias.



**Esquema 23-** Resultados el ensayo de actividad antioxidante por el método del ABTS

Resulta particularmente interesante que el compuesto **AA-3**, el cual supero incluso al control positivo en actividad antioxidante (AA-3 99.4%, Vit. C 98.6%) a concentraciones iguales, es estructuralmente muy parecido a un conocido antioxidante y citotóxico del tipo naftoquinona llamado **Lapachol**, el cual se ha estudiado intensamente debido a su potencial farmacológico, de momento la mayoría de los expertos coinciden en que parte de su actividad citotóxica debe a su interacción con las bases nitrogenadas del ADN, además de que se descubrió que tiene actividad anti-topoisomerasa I y II [Rodriguez E, 2009], sin embargo se requiere de más ensayos para poder corroborar esta posible actividad.



**Esquema 24-** Superposición de la molécula del Lapachol y el compuesto AA-3

En cuanto al ensayo de **actividad antiproliferativa**, cuya técnica se encuentra detallada en el apartado 5.8, se determinó que todos los compuestos preparados presentan actividad citotóxica de forma consistente, como fue previsto por la bibliografía, a continuación en la **tabla 9 y 10** se concentra la información sobre los compuestos ensayados, las líneas celulares empleadas y la concentración de inhibición media:

Compuesto	Linea Celular	GI <sub>50</sub> (mM)
AA-1	<b>A549</b> (adenocarcinoma alveolar)	0.039
	<b>HBL-100</b> (carcinoma epitelio mamario)	0.07
	<b>HeLa</b> (cervix)	0.0056
	<b>SW1573</b> (non-small cell lung)	0.028
	<b>T-47D</b> (mama)	0.038
	<b>WiDr</b> (colon)	0.041
AA-2	<b>A549</b> (adenocarcinoma alveolar)	0.036
	<b>HBL-100</b> (carcinoma epitelio mamario)	0.048
	<b>HeLa</b> (cervix)	0.023
	<b>SW1573</b> (non-small cell lung)	0.027
	<b>T-47D</b> (mama)	0.035
	<b>WiDr</b> (colon)	0.039
AA-3	<b>A549</b> (adenocarcinoma alveolar)	0.036
	<b>HBL-100</b> (carcinoma epitelio mamario)	0.039
	<b>HeLa</b> (cervix)	0.015
	<b>SW1573</b> (non-small cell lung)	0.028
	<b>T-47D</b> (mama)	0.082
	<b>WiDr</b> (colon)	0.08
AA-4	<b>A549</b> (adenocarcinoma alveolar)	0.034
	<b>HBL-100</b> (carcinoma epitelio mamario)	0.073
	<b>HeLa</b> (cervix)	0.041
	<b>SW1573</b> (non-small cell lung)	0.03
	<b>T-47D</b> (mama)	0.05
	<b>WiDr</b> (colon)	0.05
AA-5	<b>A549</b> (adenocarcinoma alveolar)	0.1
	<b>HBL-100</b> (carcinoma epitelio mamario)	0.1
	<b>HeLa</b> (cervix)	0.1
	<b>SW1573</b> (non-small cell lung)	0.08
	<b>T-47D</b> (mama)	0.1
	<b>WiDr</b> (colon)	0.1
AA-6	<b>A549</b> (adenocarcinoma alveolar)	0.033
	<b>HBL-100</b> (carcinoma epitelio mamario)	0.025
	<b>HeLa</b> (cervix)	0.017
	<b>SW1573</b> (non-small cell lung)	0.024
	<b>T-47D</b> (mama)	0.056
	<b>WiDr</b> (colon)	0.05

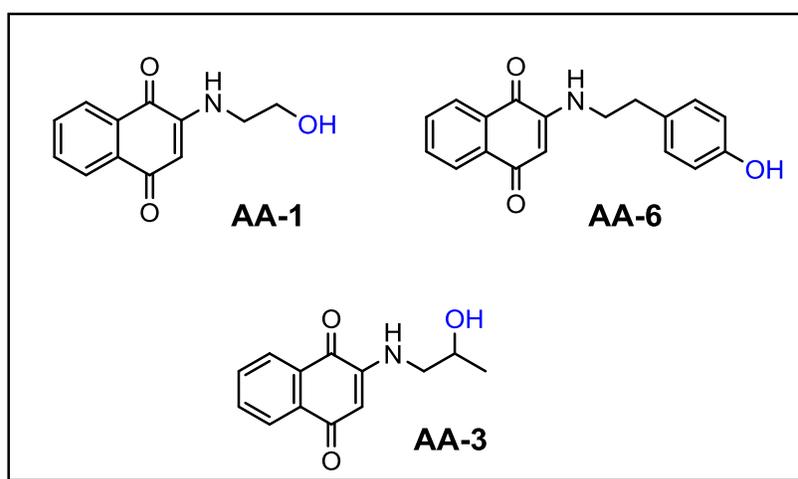
**Tabla 9-** Concentración de inhibición media de la primera serie de derivados

Compuesto	Linea Celular	GI <sub>50</sub> (mM)
AC-1	<b>A549</b> (adenocarcinoma alveolar)	0.039
	<b>HBL-100</b> (carcinoma epitelio mamario)	0.062
	<b>HeLa</b> (cervix)	0.023
	<b>SW1573</b> (non-small cell lung)	0.03
	<b>T-47D</b> (mama)	0.085
	<b>WiDr</b> (colon)	0.078
AC-2	<b>A549</b> (adenocarcinoma alveolar)	0.047
	<b>HBL-100</b> (carcinoma epitelio mamario)	0.053
	<b>HeLa</b> (cervix)	0.03
	<b>SW1573</b> (non-small cell lung)	0.028
	<b>T-47D</b> (mama)	0.083
	<b>WiDr</b> (colon)	0.072
AC-3	<b>A549</b> (adenocarcinoma alveolar)	0.044
	<b>HBL-100</b> (carcinoma epitelio mamario)	0.043
	<b>HeLa</b> (cervix)	0.035
	<b>SW1573</b> (non-small cell lung)	0.027
	<b>T-47D</b> (mama)	0.076
	<b>WiDr</b> (colon)	0.072
AC-4	<b>A549</b> (adenocarcinoma alveolar)	0.046
	<b>HBL-100</b> (carcinoma epitelio mamario)	0.055
	<b>HeLa</b> (cervix)	0.035
	<b>SW1573</b> (non-small cell lung)	0.026
	<b>T-47D</b> (mama)	0.056
	<b>WiDr</b> (colon)	0.076

**Tabla 10-** Concentración de inhibición media de la segunda serie de derivados (acetilados)

De lo anterior, se encuentra que los compuestos que presentan mayor actividad de inhibición fueron los siguientes, para **A549**: AA-6, para **HBL-100**: AA-6, para **HeLa**: AA-1, para **SW1573**: AA-6, para **T-47D**: AA-2 y para **WiDr**: AA-2. Resulta interesante que en el bioensayo antiproliferativo, ninguno de los compuestos acetilados tuvo actividad superior a los compuestos con el grupo hidroxilo sin acetilar, lo que hace pensar que al igual que para la actividad antioxidante, para la actividad citotóxica de estos compuestos el grupo hidroxilo resulta elemental, también digno de mención es la concentración a la que el

compuesto AA-1 logra inhibir a la línea celular HeLa (0.0056 mM), siendo de entre 6 a 10 veces más potente para ello que el resto de los derivados. No es de sorprender que el compuesto AA-6, el compuesto que posee un anillo fenólico, resulto ser el compuesto que inhibió el mayor número de líneas celulares con la menor concentración, quien junto al compuesto AA-1 serían los candidatos ideales si se desea profundizar en la optimización estructural de los compuestos para incrementar su actividad biológica.



**Esquema 25-** Compuestos que presentaron la mejor actividad biológica

Con el número actual de productos sintetizados y sus respectivas variaciones estructurales, la tendencia parece sugerir que la actividad antioxidante/citotóxica aumenta de forma recíproca a la polaridad del compuesto.



# **CONCLUSIONES**

## 7. Conclusiones y Posible Trabajo a Futuro

### 7.1 Conclusiones

#### Síntesis

Que de las metodologías empleadas, la utilización de activadores tipo ácido de Lewis resulta la más eficaz, y de estos, el que cumple mejor con los objetivos iniciales es sin duda el  $\text{Cu}(\text{OAc})_2$  obteniéndose rápidamente productos en rendimientos altos y fáciles de aislar.

Que de las reacciones de derivatización que se proponen para obtener las 2-Acetoxialquilaminonaftoquinonas el empleo de  $\text{AcCl}/\text{KHSO}_4$  es la más directa y práctica, sin necesidad de emplear reactivos tóxicos o difíciles de manejar y con un proceso de purificación relativamente sencillo.

Que de los métodos de purificación ensayados, se concluye que es la purificación por cromatografía por columna la más adecuada y amable al medio ambiente, lográndose obtener compuestos puros.

Que se prepararon exitosamente 10 compuestos tipo 1,4-naftoquinona siguiendo los objetivos inicialmente planteados: 4 compuestos tipo hidroxialquilamino (**AA-1**, **AA-2**, **AA-3**, y **AA-4**), 4 compuestos tipo acetoxialquilamino (**AC-1**, **AC-2**, **AC-3**, y **AC-4**) y 2 compuestos tipo feniletilamino (**AA-5** y **AA-6**).

Que se obtuvo evidencia espectroscópica y espectrométrica confirmatoria para la caracterización de cada uno de los productos preparados, en IR se identificó principalmente las señales características de grupos hidroxilo, cetonas y ésteres, gracias a

CG/EM se confirmó su pureza y la concordancia de los  $M^+$  con la fórmula molecular de cada uno de los productos y con la técnica de RMN tanto la integración de las señales como sus multiplicidades de igual forma muestran concordancia con la estructura molecular.

## **Biológicos**

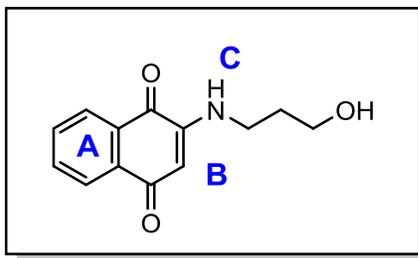
Que de acuerdo al ensayo de actividad antioxidante del ABTS se puede concluir que, primeramente, el núcleo 1,4-naftoquinona si posee considerable actividad antioxidante (96.4% Inh.), también, que el compuesto que presenta un mejor perfil antioxidante resulta ser el compuesto **AA-3** (99.4 % de Inh.), superando no por mucho al compuesto fenólico **AA-6** (97% Inh.). Con el mismo ensayo se demuestra que la actividad de los derivados en los que el grupo hidroxilo se encuentra acetilado disminuye drásticamente (14 – 23%), por lo tanto se puede inferir que el grupo hidroxilo es importante para una buena actividad antioxidante.

Que de acuerdo al ensayo de actividad antiproliferativa realizado por *Padrón et al* se concluye que el compuesto con mejor perfil citotóxico resultan ser nuevamente, **AA-6** el derivado tipo fenol, al presentar CIM mucho más bajas que cualquiera de los 10 compuestos ensayados en 3 de las 6 líneas celulares empleadas. También dignos de mención son los compuestos **AA-1** y nuevamente, el compuesto **AA-6**.

Se puede concluir que de los compuestos preparados, el producto **AA-6**, es justificadamente el más bioactivo de los 10 sintetizados, comparando ambas técnicas.

## Posible trabajo a futuro

Considerando la información bibliográfica relevante, existen múltiples opciones si lo que se desea es expandir en el conocimiento del comportamiento químico/biológico de los compuestos tipo 2-hidroalquilamino-1,4-naftoquinona



**Figura 13-** Posibles opciones de modificaciones estructurales

Por mencionar solo algunas relativamente obvias, tenemos por ejemplo:

- **A:** Modificaciones al anillo aromático, principalmente halogenaciones. La evidencia sugiere que la presencia de grupos halógenos aumenta significativamente su actividad antiparasitaria [Tandon V., 2010].
- **B:** El bloqueo de la posición opuesta a la del grupo amino sobre el doble enlace sugiere que favorece enormemente la bioactividad, al ser un potencial blanco de moléculas endógenas inactivadoras [Hileman E, 2004], [Otero J. 2012], [Tandon V., 2011].
- **C:** Derivados quinónicos empleando nucleófilos de azufre en vez de nitrógeno, la evidencia también apunta a que estos posiblemente tengan mayor aplicación como fungicidas, antiparasitarios, entre otros [Ibis C, 2011], [Katritzky A. 2008].



# **BIBLIOGRAFÍA**

## **Bibliografía**

Abraham, E.P.; Chain, E.; Fletcher, C.M. Further observations on penicillin. *Lancet* **1941**, 16,177–189.

Alder, A.L. *The History of Penicillin Production*; American Institute of Chemical Engineers: New York, NY, USA, **1970**.

Aniszewski, T. Alkaloids—Secrets of Life. In *Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role*; Elsevier Science: Amsterdam, The Netherlands, **2007**; p. 334.

Baggish A. and D. R. Hill, "Antiparasitic Agent Atovaquone", *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2002**, 46, 1163-1173.

Behrend, L.; Henderson, G.; Zwacka, R. M. "Reactive oxygen species in oncogenic transformation". *Biochem Soc Trans* **2003**, 31, 1441-4.

Bolognesi M., N. Calonghi, C. Mangano, L. Masotti and C. Melchiorre, " Parallel synthesis and cytotoxicity evaluation of a polyamine-quinone conjugates library", *J. Med. Chem.*, **2008**, 51, 5463-5467.

Boveris, A.; Chance, B. "The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen". *Biochem J* **1973**, 134, 707-16.

Bowen R., Mahmood T., Maitland D., "Evidence of structure-selective fragmentations in the tandem mass spectra of protonated hydroxyalkylamino-1,4-naphthoquinones formed by electrospray ionisation", *Eur. J. of Mass Spectrom.*, **2009**; 15(5) :617-26.

Brisson M., Nguyen T., Wipf P., Joo B., Day BW., Skoko JS., Schreiber EM. "Redox regulation of Cdc25B by cell-active quinolinediones", *Mol. Pharmacol.* **2005** 68: 1810-1820.

Bruneton J. **1991**. "Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia", ACRIBIA, S.A., España.

Bruneton J. **2001**. "Farmacognosia, Fitoquímica y Plantas medicinales", 2ª ed. ACRIBIA, S. A., España.

Butler, M.S. "The role of natural product in chemistry in drug discovery". *J. Nat. Prod.* **2004**, 67, 2141–2153.

Calonghi N., E. Pagnotta, C. Parolin, C. Mangano, M.L. Bolognesi, C. Melchiorre, L. Casotti, "A new EGFR inhibitor induces apoptosis in colon cancer cells", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 354, 409-413, **2007**.

Chen X., Y. Yang, N. Zhang, J. A. Turpin, R. W. Buckheit, C. Osterling, J. J. Oppenheim and O. M. Z. Howard, "Shikonin, a component of chinese herbal medicine, inhibits chemokine receptor function and suppresses human immunodeficiency virus type 1", *Antimicrob. Agents chemotherapy*, **2003**, 47, 2810-2816.

Colegate, S.M.; Molyneux, R.J. "Bioactive Natural Products: Detection, Isolation and Structure Determination"; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, **2008**; pp. 421–437.

Couladouros E., Z.F. Plyta and V.P. Papageorgiou: "A general procedure for the efficient Synthesis of (Alkylamino)naphthaquinones" *J. Org. Chem.*, 61(9), 3031-3033, **1996**.

Cragg, G.M.; Newman, D.J. "Biodiversity: A continuing source of novel drug leads". *Pure Appl.Chem.* **2005**, 77, 7–24.

Der Marderosian, A.; Beutler, J.A. *The Review of Natural Products*, 2nd ed.; Facts and Comparisons; Seattle, WA, USA, **2002**; pp. 13–43.

Dewick, P.M. "Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach", 2nd ed.; John Wiley and Son: West Sussex, UK, **2002**; p. 520.

Engel, R. H.; Evens, A. M. "Oxidative stress and apoptosis: a new treatment paradigm in cancer". *Front Biosci* **2006**, 11, 300-12.

Furusaki A., Matsui M., Watanabe T., Ōmura S., Nakagawa A. and Hata T., "The crystal and molecular structure of kinamycin C-p-bromo-benzoate", *Israel J. Chem.*, 10, 173-187, **1972**.

Guohua C. and Ronald L. Priori., "Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum", *Clinical Chemistry* 44:6 1309–1315, **1998**.

Gupta R., Sharma M., Lakshmy R., Prabhakaran D. and Reddy KS., "Improved method of total antioxidant assay", *Indian J. Biochem. Biophys.* **2009** Feb; 46(1):126-9.

Haefner, B. "Drugs from the deep: Marine natural products as drug candidates". *Drug Discov.Today* **2003**, 8, 536–544.

Hasan S. and A. Hamit, "An Efficient Acetylation of Primary and Secondary Aliphatic Alcohols with Acetic Anhydride in the Presence of Graphite Bisulphate", *Turk. J. Chem.*, **1999**, 23 : 27-30.

Hensley, K.; Robinson, K. A.; Gabbita, S. P.; Salsman, S.; Floyd, R. A. "Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury". *Free Radic Biol Med* **2000**, 28, 1456-62.

Heravi M., Farahnaz K. Behbahani, and Fatemeh F. Bamoharram, "Acetylation of alcohols, phenols and salicylic acid by heteropoly acids in acetic anhydride: a green and eco-friendly protocol for synthesis of acetyl salicylic acid", *ARKIVOC* **2007** 16: 123-131.

Heravi M., Bakhtiari K., Saeedi M., "Selective transesterification of alcohols in the presence of amines and phenols catalyzed by KHSO<sub>4</sub>", Iranian Journal of Organic Chemistry 2, **2009**, 84-86.  
Hicks, S. Desert Plants and People, 1st ed.; Naylor Co.: San Antonio, TX, USA, 1966.

Hileman, E. O.; Liu, J.; Albitar, M.; Keating, M. J.; Huang, P. "Intrinsic oxidative stress in cancer cells: a biochemical basis for therapeutic selectivity". Cancer Chemother. Pharmacol **2004**, 53, 209-19.

Ibis C., Tuyun A., Ozsoy Z., Bahar A., "Synthesis and biological evaluation of novel nitrogen and sulfur containing hetero-1,4-naphthoquinones as potent antifungal and antibacterial agents", European J. of Medicinal Chem., **2011**, 46, 5861-5867.

Illos R., D. Shamir, L. J. W. Shimon, I. Zilbermann and S. Bittner, "N-Dansyl-carbazoloquinone; a chemical and electrochemical fluorescent switch", Tetrahedron Lett., **2006**, 47, 5543-5546.

Jiabo L. and Yaowu S., "A Convenient Synthesis of Amino Acid Methyl Esters", Molecules **2008**, 13, 1111-1119.

Joachim C. and Gimzewski K., "Molecular Machines and Motors", 3ed. Springerlag, Berlin, **2001**, pag. 307.

Kambayashi Y., Binh N., Asakura H., Hibino Y., Hitomi Y., Nakamura H. and Ogino K., "Efficient assay for total antioxidant capacity in human plasma using a 96-well microplate", J. Clin. Biochem. Nutr., 44: 46–51, Jan **2009**.

Katritzky A., Fedoseyenko D., Mohapatra P., "Reactions of p-Benzoquinone with S-Nucleophiles", Synthesis, Issue 5, pages 777-787, **2008**.

Keinan S., Paquette W., Skoko J., Beratan D., Yang W., "Computational Design, Synthesis and Biological Evaluation of p-Quinone-Based Inhibitors for Redox Regulation of the Dual-Specificity Phosphatase Cdc25B", Org Biomol. Chem., **2008**.

Kinghorn, A.D.; Pan, L.; Fletcher, J.N.; Chai, H. The relevance of higher plants in lead compound discovery programs. J. Nat. Prod. **2011**, 74, 1539–1555.

Kuklinskli C. **2000**. "Farmacognosia", 1er Edición, Omega S.A, España.

Lakshmi M., B. Neelima, Venkat R. and Rajashree C., "Aza-Michael Addition of Imidazoles to alpha,beta-Unsaturated Compounds and Synthesis of alpha-Amino Alcohols via Nucleophilic Ring Opening...", Ind. Eng. Chem. Res. **2007**, 46, 8614-8619.

Lax, E. The Mold in Dr. Florey's Coat: The Story of the Penicillian Miracle; John Macrae, Henry Hol: New York, NY, USA, **2004**; p. 308.

Liebig J., A. Woskressenski, "Oxidation of Quinic Acid", trans. from Ann. Chem. 27, 268 , **1838**.

Lin T., L.-Y. Zhu, S.-P. Xu, A. A. Divo and A. C. Sartorelli, "Synthesis and antimalarial activity of 2-aziridiny- and 2,3-bis(aziridiny)-1,4-naphthoquinonyl sulfonate and acylate derivatives" J. Med. Chem., **1991**, 34, 1634-1639.

Lisboa C., Vaessa G., Boniek G., de Lucas, Eberlin M. and Garden S., "C–H Functionalization of 1,4-Naphthoquinone by Oxidative Coupling with Anilines in the Presence of a Catalytic Quantity of Copper(II) Acetate", J. Org. Chem., **2011**, 76 (13), pp 5264–5273.

Liu B. Ji S., "Facile synthesis of 2-amino-1,4-naphthoquinone catalyzed by molecular iodine under ultrasonic irradiation", Synth. Commun. 38(8): 1201-1211, **2008**.

Liu, H.; Nishitoh, H.; Ichijo, H.; Kyriakis, J. M. "Activation of apoptosis signal regulating kinase 1 (ASK1) by tumor necrosis factor receptor-associated factor 2 requires prior dissociation of the ASK1 inhibitor thioredoxin". Mol Cell Biol **2000**, 20, 2198-208.

Lluvia L., Elisa L., Ramón F., "Las naftoquinonas: más que pigmentos naturales", Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, vol. 42, núm. 1, enero-marzo, **2011**, pp.

Mann, J. Murder, Magic, and Medicine; Oxford University Press: New York, NY, USA, **1994**;pp. 164–170.

Mann, J. The Elusive Magic Bullet: The Search for the Perfect Drug; Oxford University Press:New York, NY, USA, **1999**.

Maplestone, R.A.; Stone, M.J.; Williams, D.H. "The evolutionary role of secondary metabolites— A review". Gene **1992**, 115, 151–157.

Mishra, B.B.; Tiwari, V.K. "Natural products: An evolving role in future drug discovery". Eur. J. Med. Chem. **2011**, 46, 4769–4807.

Mithani S., "Synthetic Studies Related to Reductively Activated Antitumor Antibiotics", A thesis for the degree of Doctor of Philosophy in Chemistry Waterloo, Ontario, Canada, **1996**.

MSDS 1, Material Safety Data Sheet provided by Alconox, Inc.30 Glenn St., Suite 309 White Plains, NY 10603, Phone: 914-948-4040. Published online on 31 December **2013**.

Müller, K. "Pharmaceutically relevant metabolites from lichens". Appl. Microbiol. Biotechnol. **2001**, 56, 9.

Nawar S., Huskinson B. and Michael Aziz, "Benzoquinone-Hydroquinone Couple for Flow Battery", Mater. Res. Soc. Symp. Proc., **2013**, 1491-08-09.

Ōmura S., Nakagawa A., Yamada H., Hata T., Furusaki A., and Watanabe T., "Structures and biological properties of kinamycins A, B, C, and D.", *Chem. Pharm. Bull.*, 21, 931-940, **1973**.

Otero J., Barcia J., Salas C., Thomas P., and Estevez J., "Studies on the Michael addition of naphthoquinones to sugar nitro olefins: first synthesis of polyhydroxylated hexahydro-11H-benzo[a]carbazol-5,6-diones and hexahydro-11bH-benzo[b]carbazol-6, 11-diones.", *Tetrahedron*, 68, 1612-1621, **2012**.

Padrón JM., Leticia L., Osvaldo D., Carlos T., "Tessaric acid derivatives induce G2/M cell cycle arrest in human solid tumor cell lines", *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 17, **2009**; 6251–6256.

Pelicano, H.; Carney, D.; Huang, P. "ROS stress in cancer cells and therapeutic implications". *Drug Resist Updates* **2004**, 7, 97-110.

Rajeshwar P. Verma, "Anti-Cancer Activities of 1,4-Naphthoquinones: A QSAR Study", *Anti-Cancer Agents in Med. Chemistry*, **2006**, 6, 489-499.

Rey Ladino, J.; Ross, A.G.; Cripps, A.W.; McManus, D.P.; Quinn, R. "Natural products and the search for novel vaccine adjuvants". *Vaccine* **2011**, 29, 6464–6471.

Rodriguez E. Preclinical and Clinical Studies of Lapachol and Beta-Lapachone. Center of Biological Science, Department of Antibiotics, Federal University of Pernambuco, (UFPE), Recife, Pernambuco Brazil, Brazil. *The Open Natural Products Journal*, **2009**, 2, 42-47.

Russkikh V., "On The Photochemical Reactions of Certain Nitrogen Compounds", *ingl. trans. from Russ. Chem. Bull.*, **1992**, 41, 555-561.

Sarker, S.D.; Latif, Z.; Gray, A.I. *Methods in Biotechnology: Natural Product Isolation*; Satyajit D., Ed.; Human Press Inc: Totowa, NJ, USA, **2006**; p. 528.

Shafeek A., Suleman M., Mohsinkhan Y. and Santosh S., "Highly Efficient Cobalt (II) Catalyzed O-Acylation of Alcohols and Phenols under Solvent-Free Conditions", *Journal of Synthesis Theory and Applications*, **2012**, 1, 31-35.

Singh M., Karmakar A., Barooah N., Baruah B., "Variations in product in reactions of naphthoquinone with primary amines" *Beilstein J. Org. Chem.*, **2007**.3, 10.

Skehan P., Storeng P., Scudeiro D., Monks A., McMahon J., Vistica D., Warren J., Bokesch H., "New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening", *J. Natl. Cancer Inst.* **1990**, 82, 1107.

Stadtman, E. R. "Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences". *Free Radic Biol Med* **1990**, 9, 315-25.

Tandon V., Maurya H., "Micelles catalyzed chemoselective synthesis 'in water' and biological evaluation of oxygen containing hetero-1,4-naphthoquinones as potential antifungal agents", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Volume 21, Issue 21, Nov **2011**, Pag. 6398–6403.

Tandon V., Maurya H., "Water promoted unprecedented chemoselective nucleophilic substitution reactions of 1,4-quinones with oxygen nucleophiles in aqueous micelles", *Tetrahedron Letters*, Issue 51, May **2010**, Pag. 3843–3847.

Tandon V., Maurya H., "On water unprecedented nucleophilic substitution and addition reactions with 1,4-quinones in aqueous suspension", *Tetrahedron Letters*, Volume 50, Issue 43, October **2009**, Pag. 5896–5902.

Thomson, R.H., "Naturally Occurring Quinones", ButterWorths Scientific Publications, USA. **1957**.

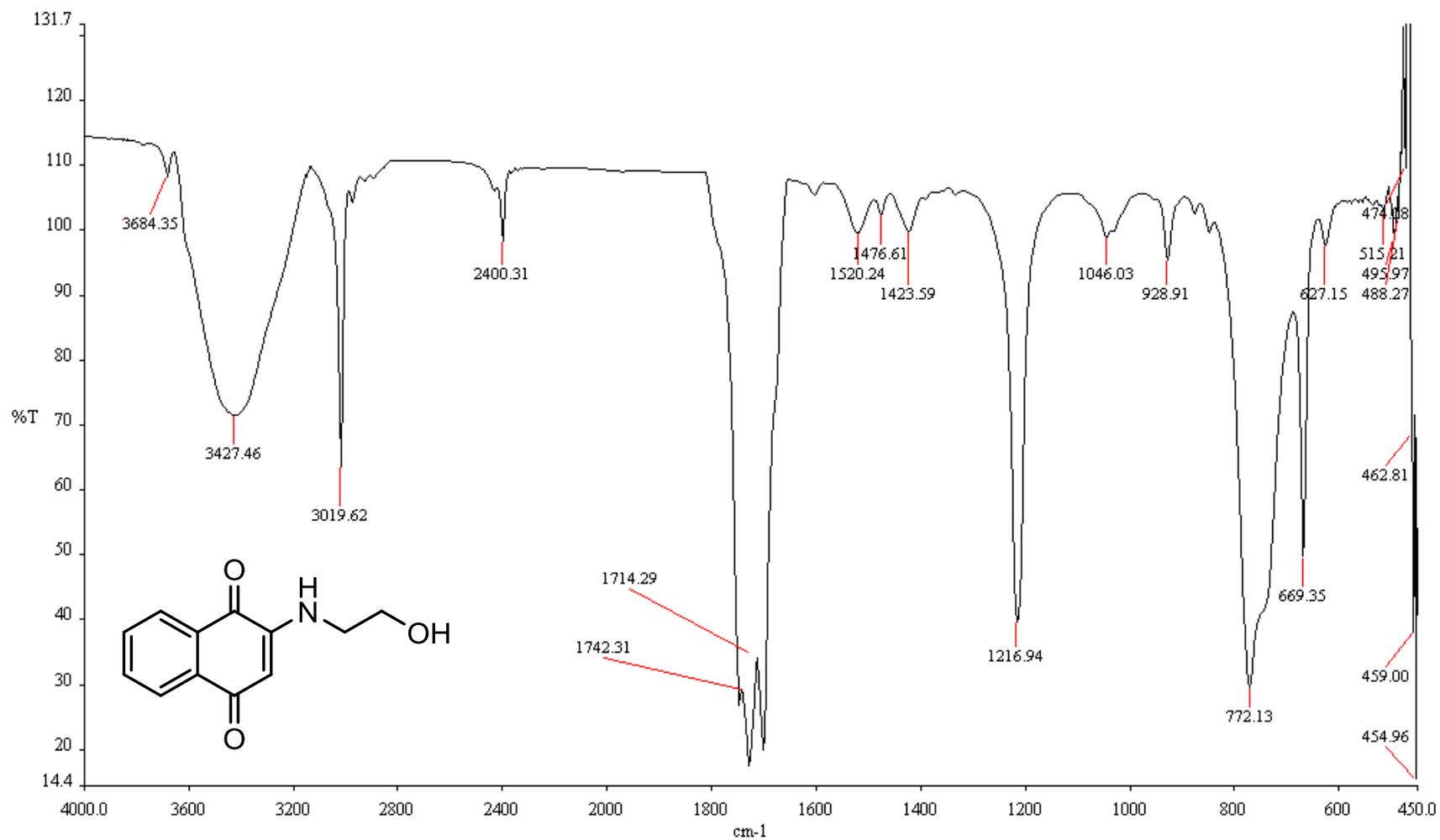
Tomoko K., Masaharu M., Hiromi Y., Yoshiyuki M., Kiminori M., "1,4-Naphthoquinone is a potent inhibitor of human cancer cell growth and angiogenesis", *Cancer Letters* Volume 278, Issue 1, 8 June **2009**, Pag. 34–40.

Wainwright, M. *Miracle Cure: The Story of Penicillin and the Golden Age of Antibiotics*; Blackwell Scientific: Oxford, UK, **1990**; p. 57.

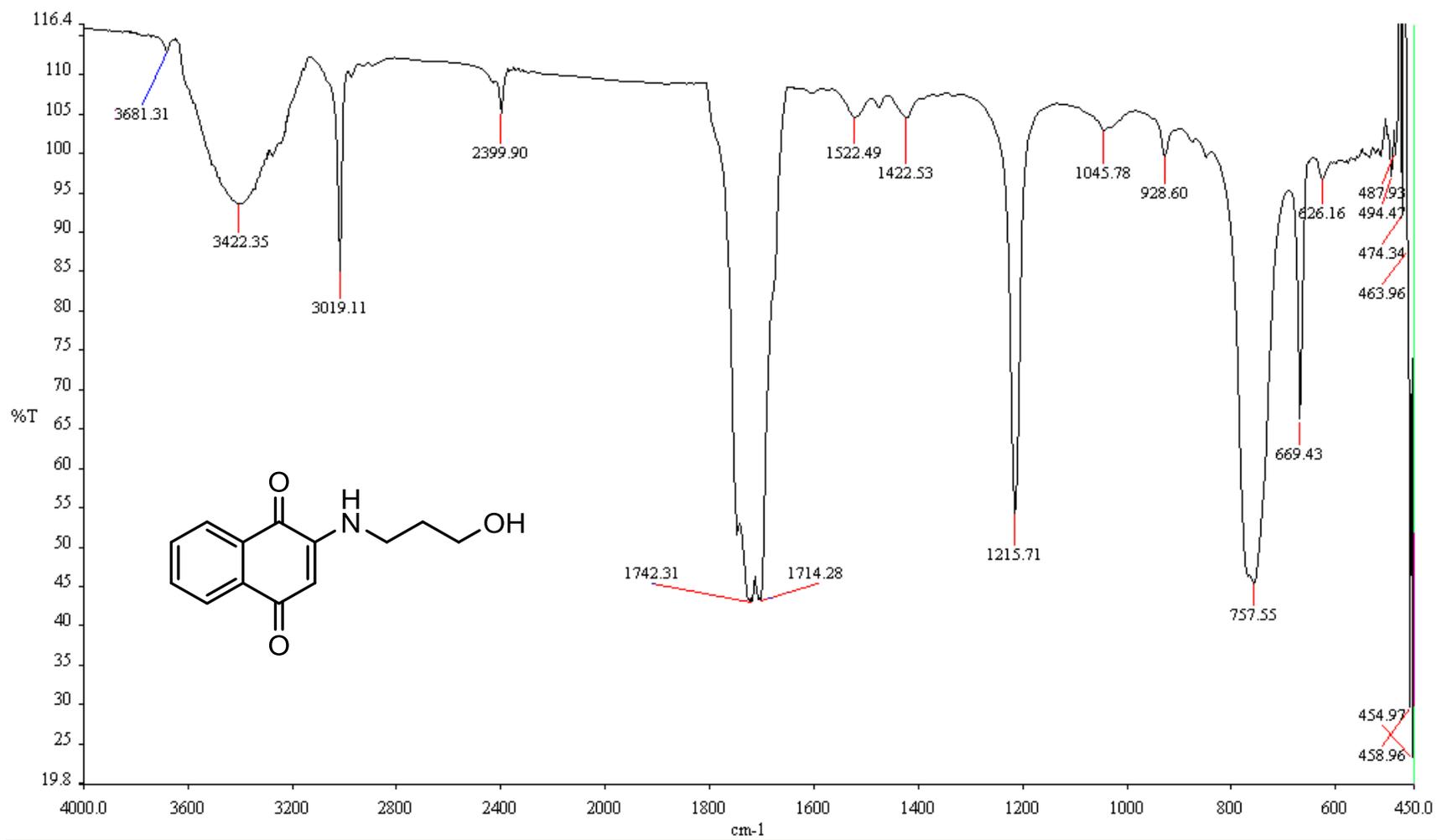
Williams, J.D. "β-lactamases and β-lactamase inhibitors" . *Int. J. Antimicrob. Agents* **1999**, 12 (Suppl. 1), S2–S7.



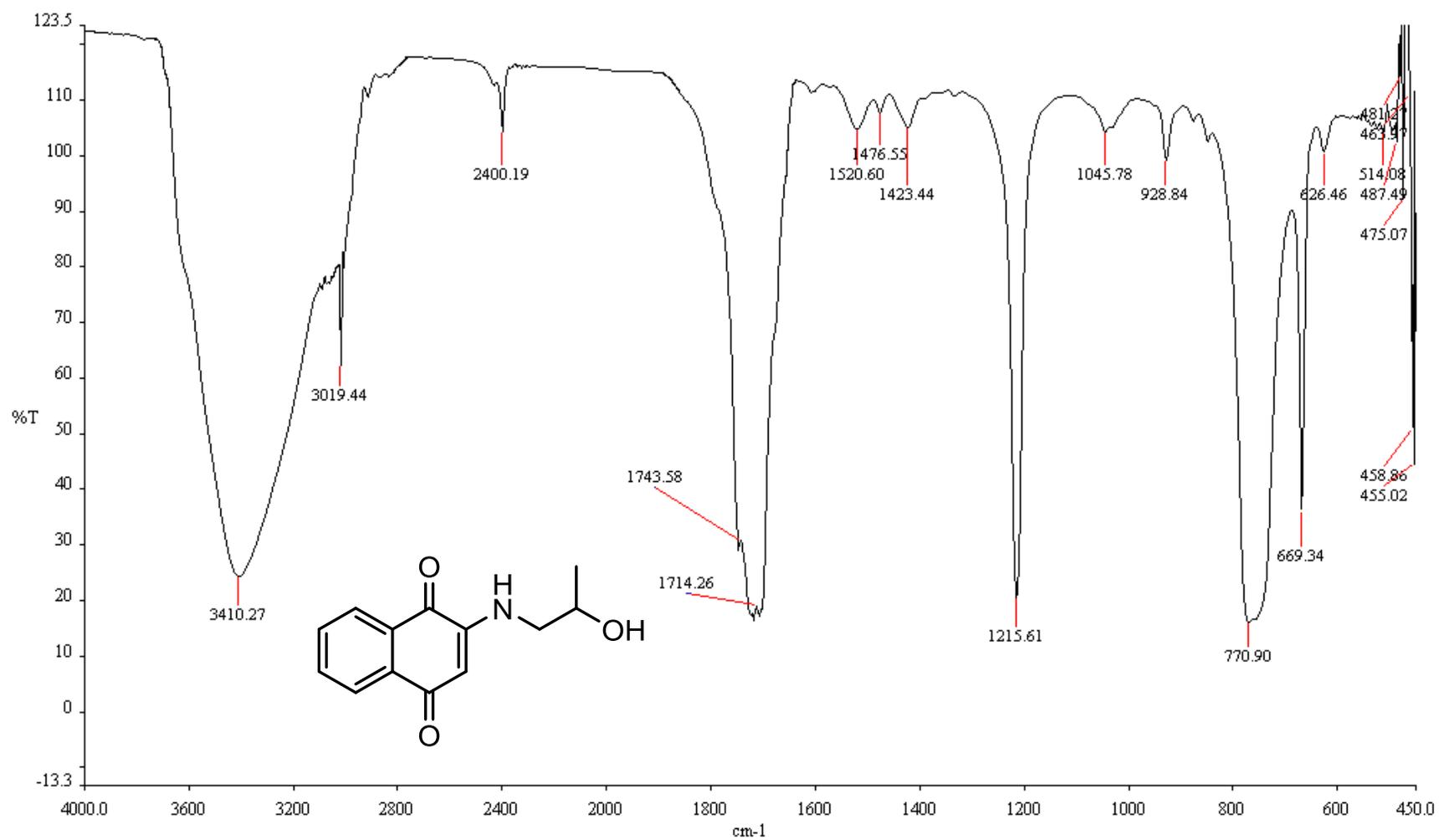
# APÉNDICE



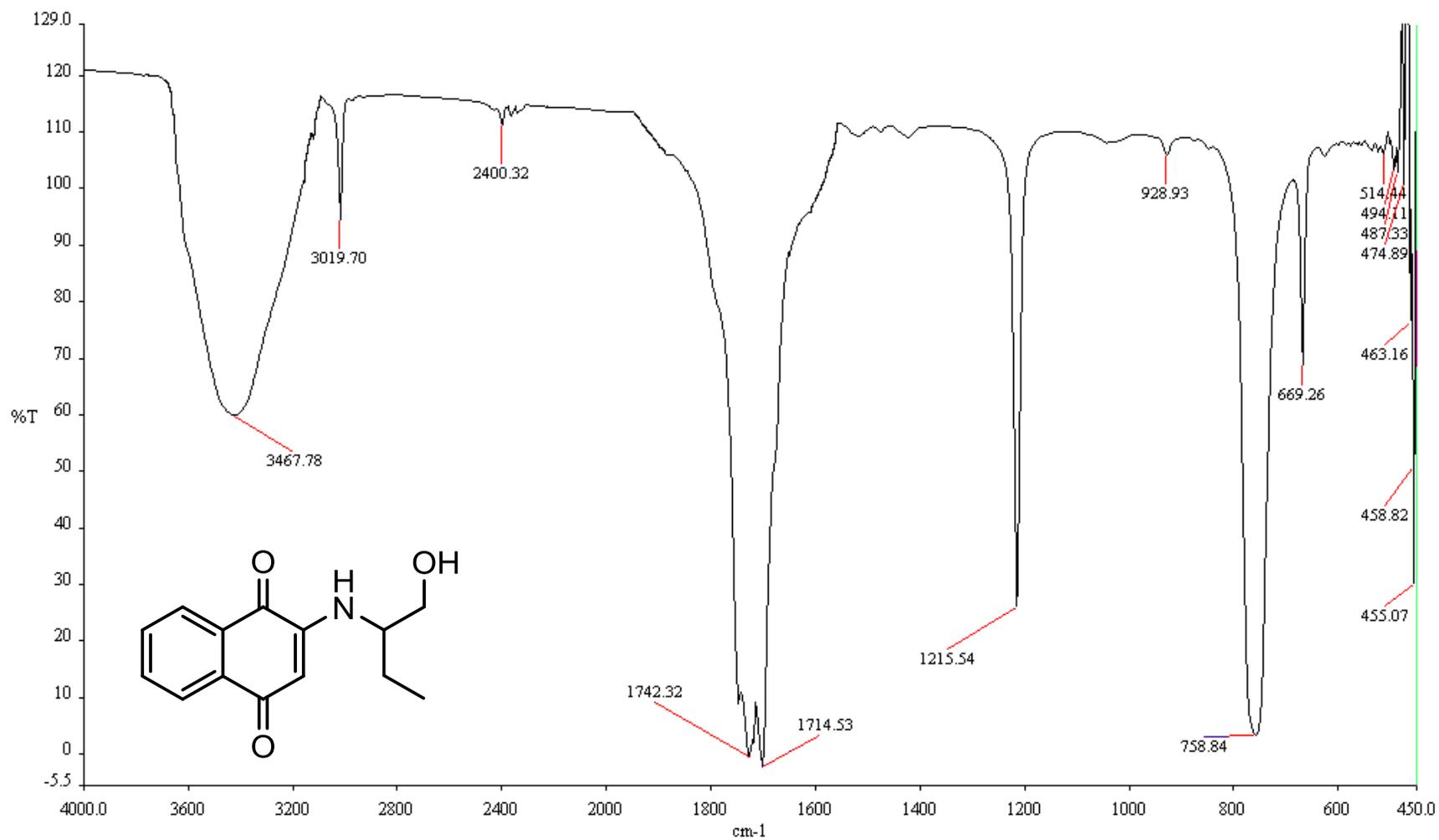
Anexo 1. Espectro de Infrarrojo del Compuesto AA-1



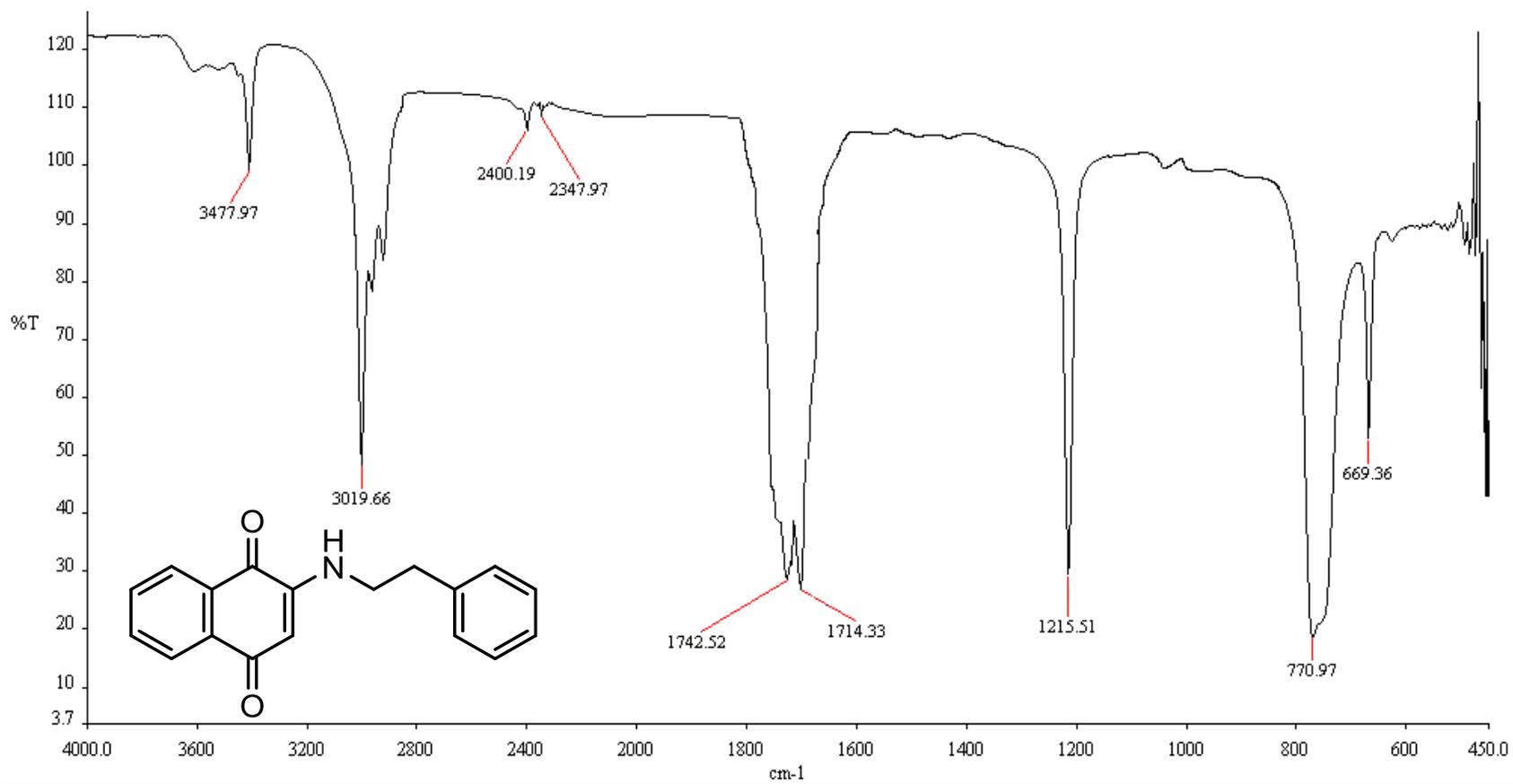
Anexo 2. Espectro de Infrarrojo del Compuesto AA-2



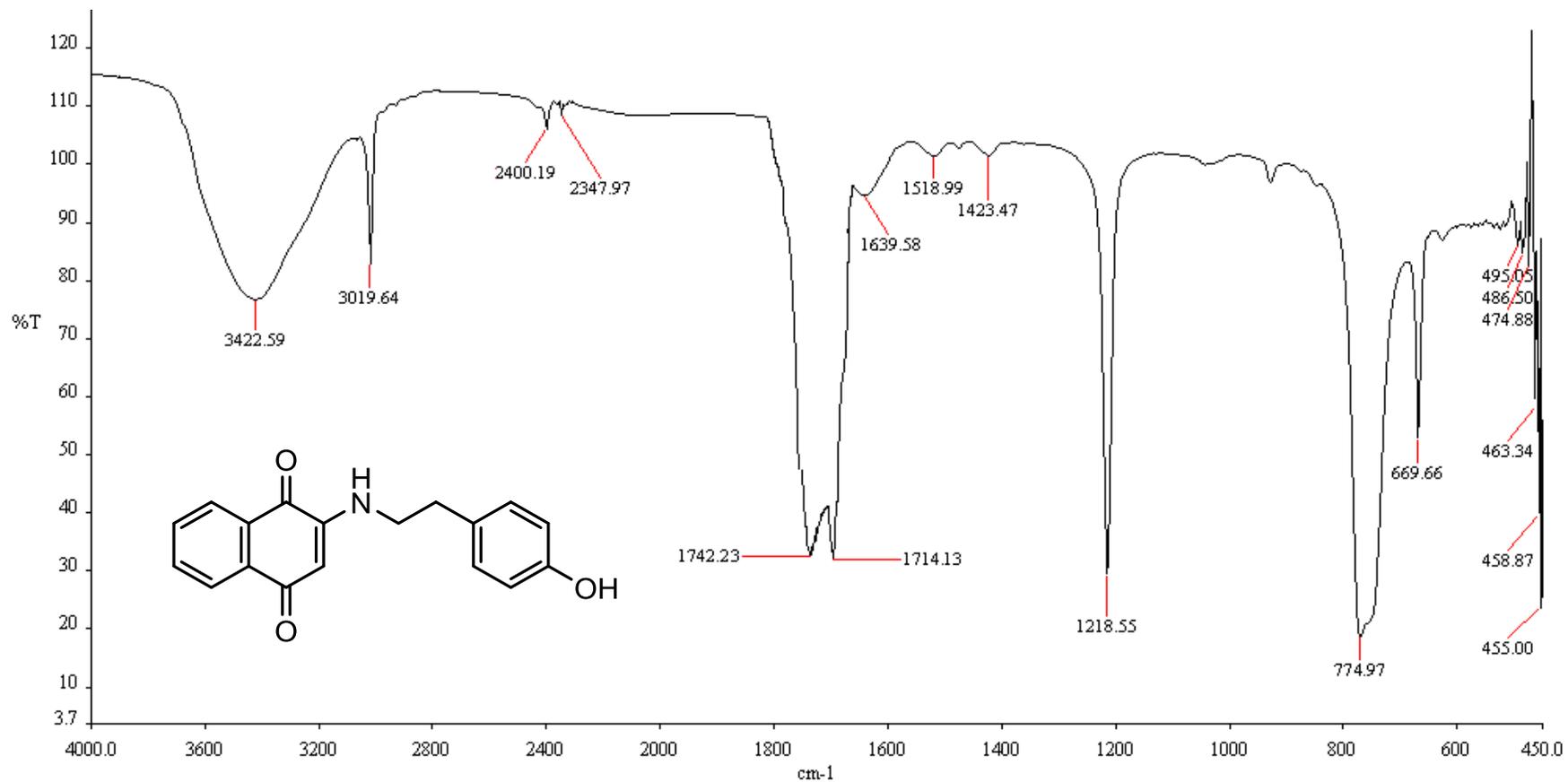
Anexo 3. Espectro de Infrarrojo del Compuesto AA-3



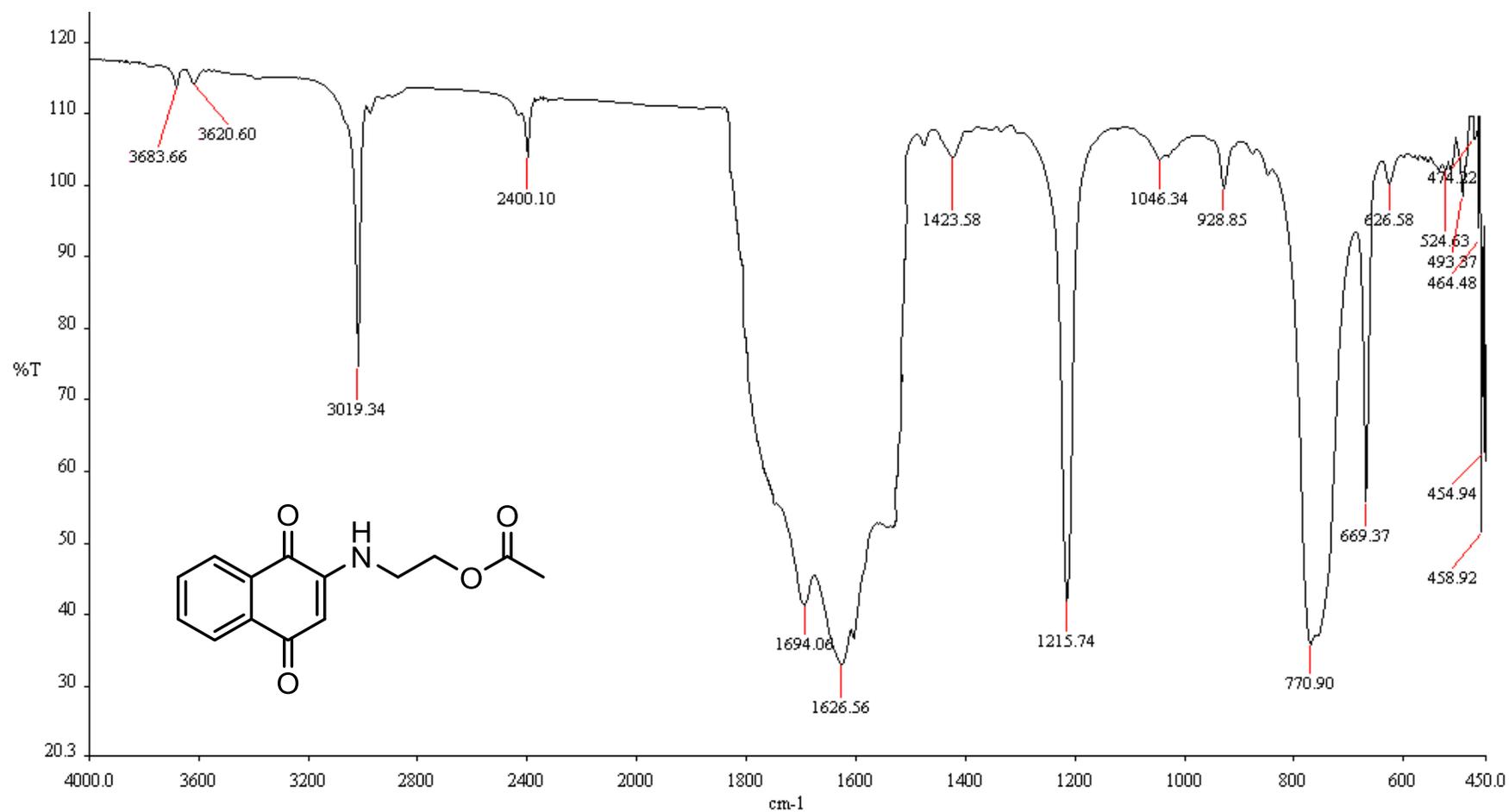
Anexo 4. Espectro de Infrarrojo del Compuesto AA-4



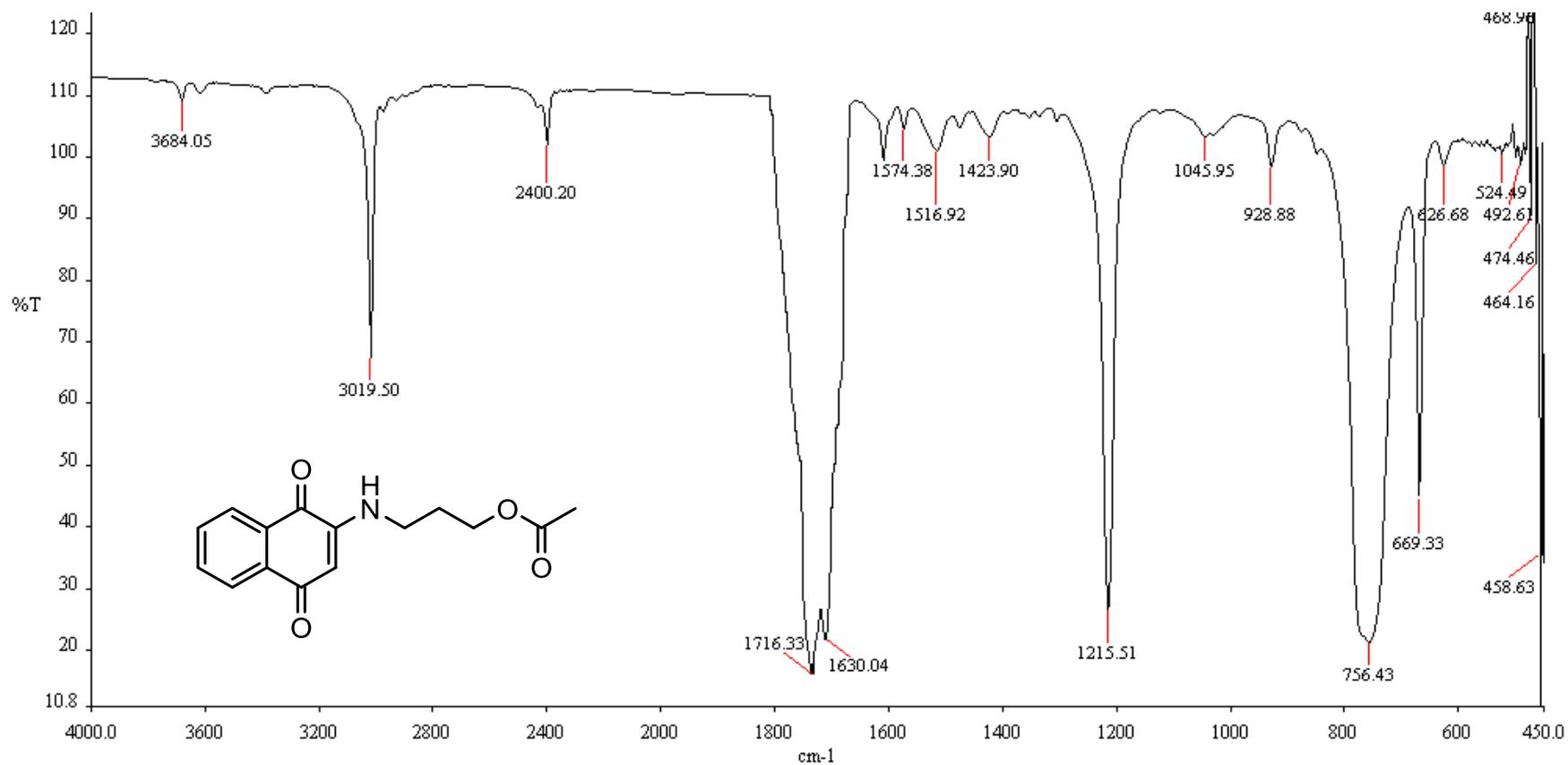
Anexo 5. Espectro de Infrarrojo del Compuesto AA-5



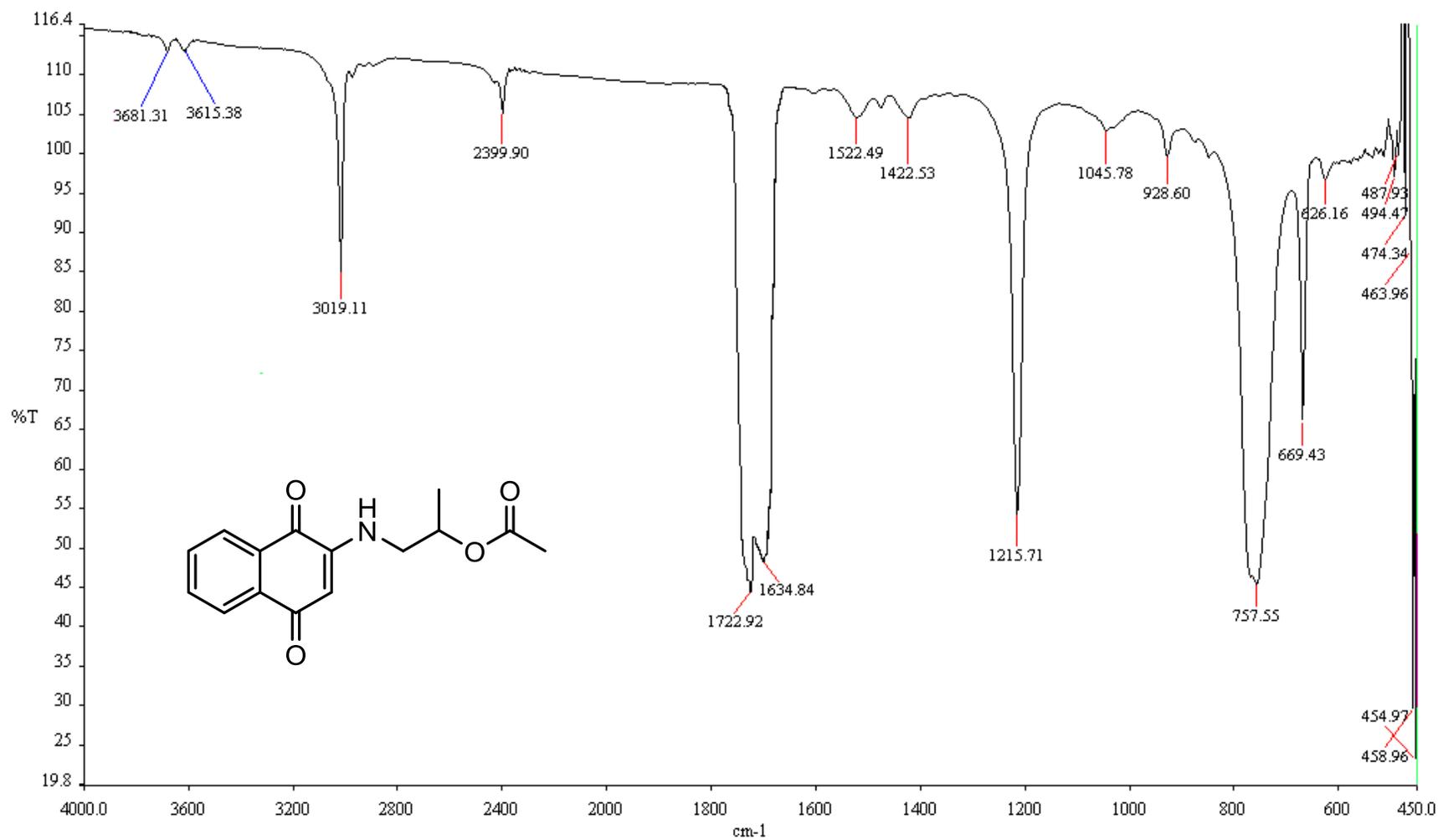
Anexo 6. Espectro de Infrarrojo del Compuesto AA-6



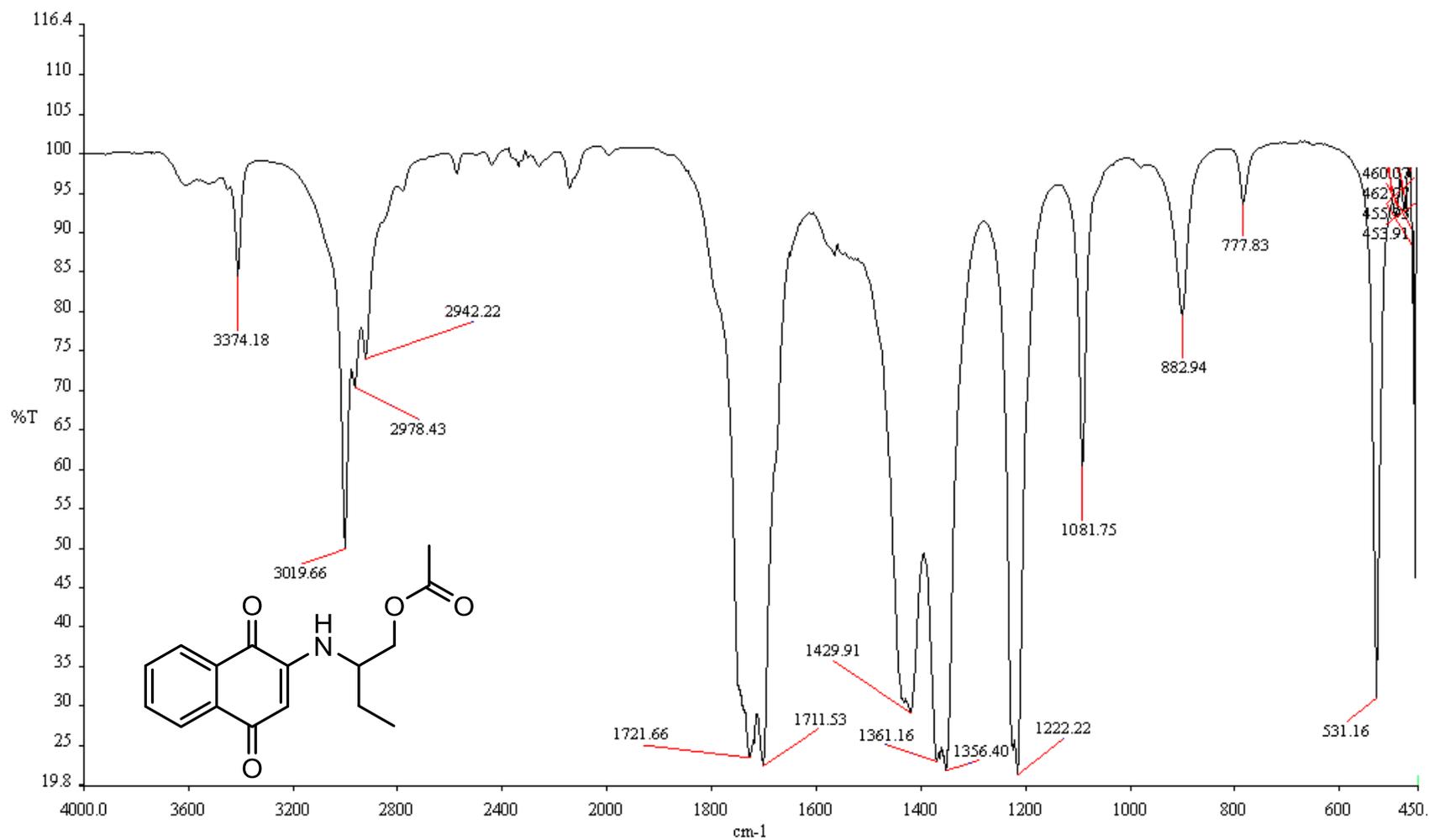
Anexo 7. Espectro de Infrarrojo del Compuesto AC-1



Anexo 8. Espectro de Infrarrojo del Compuesto AC-2

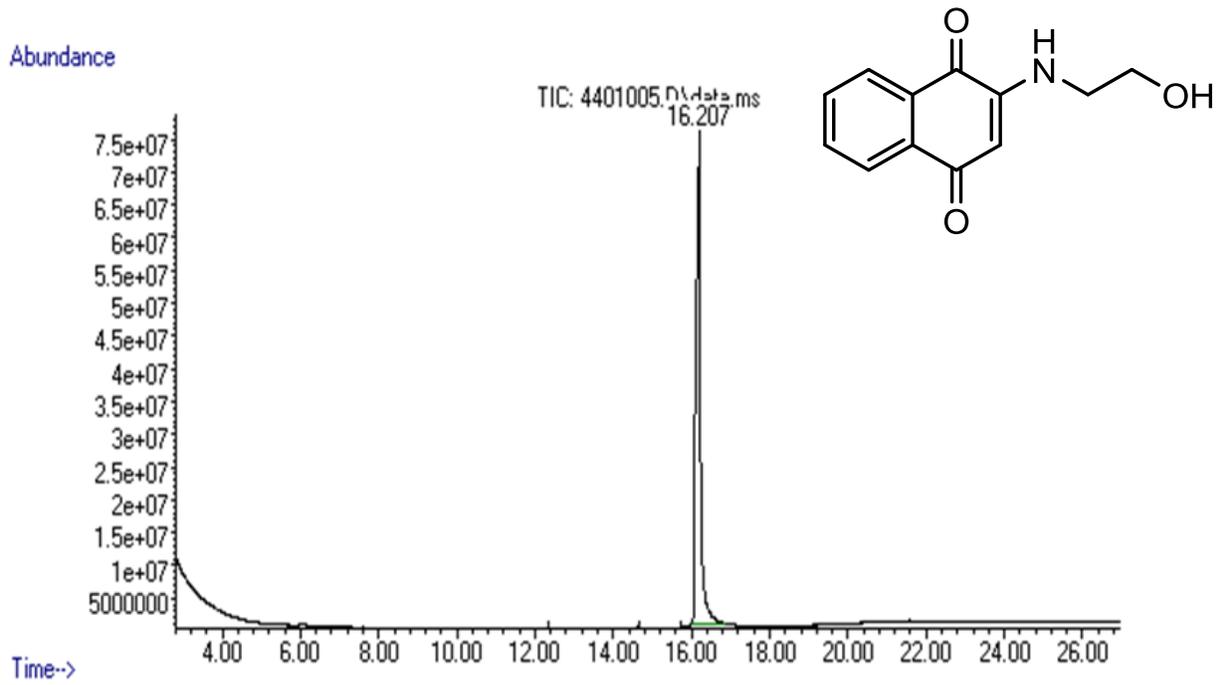


Anexo 9. Espectro de Infrarrojo del Compuesto AC-3

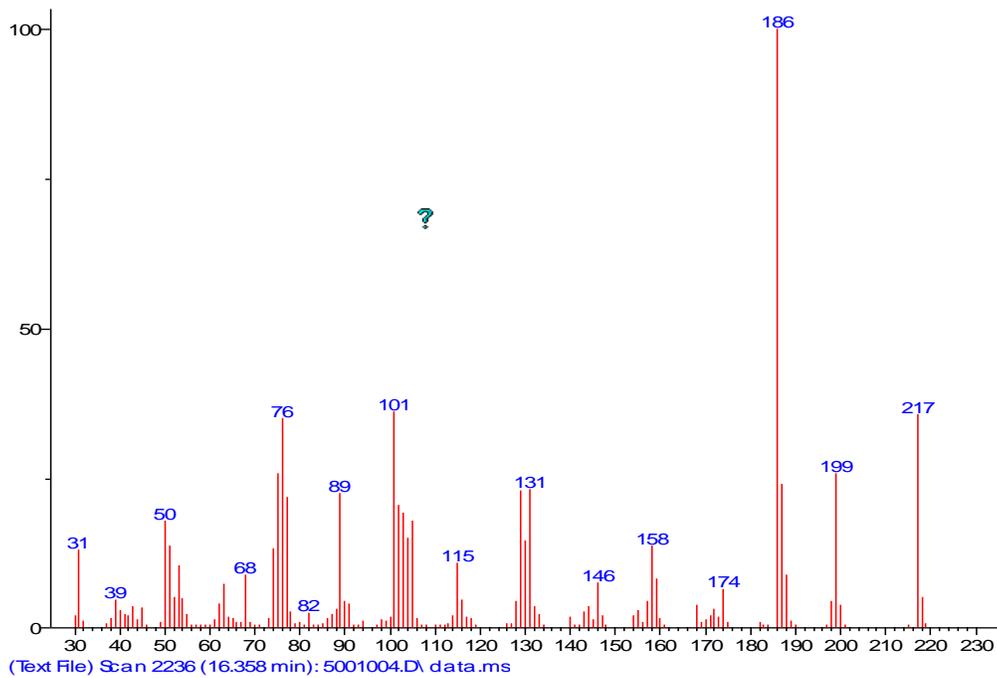


Anexo 10. Espectro de Infrarrojo del Compuesto AC-4

Anexo 11.

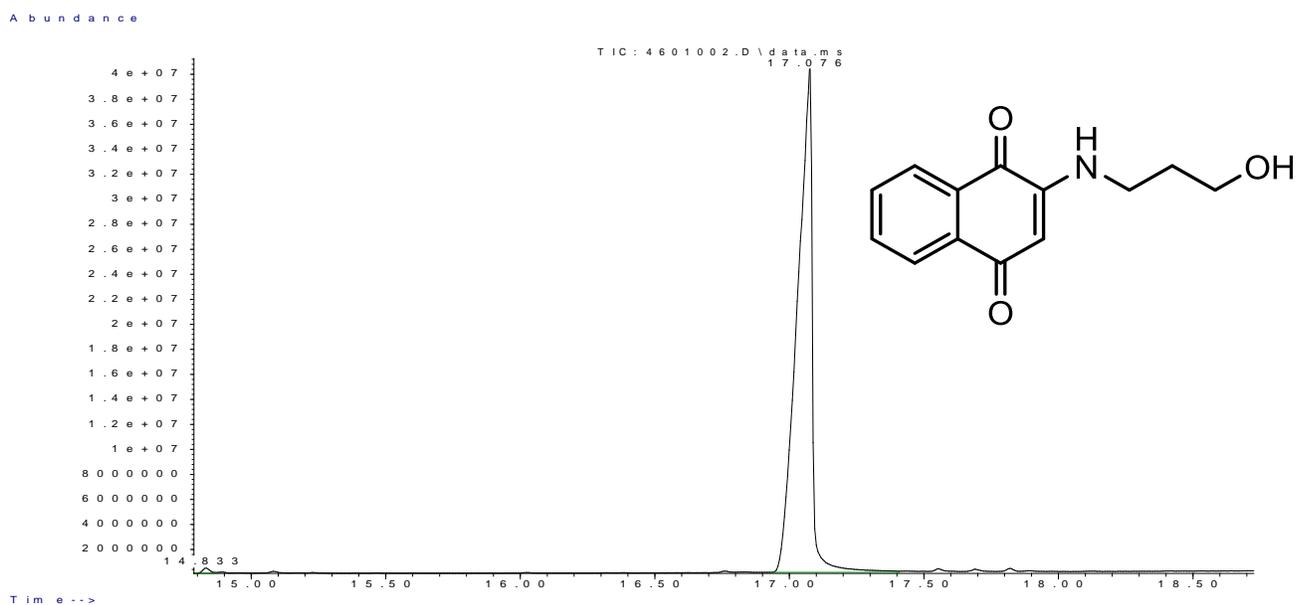


Cromatograma del Compuesto AA-1

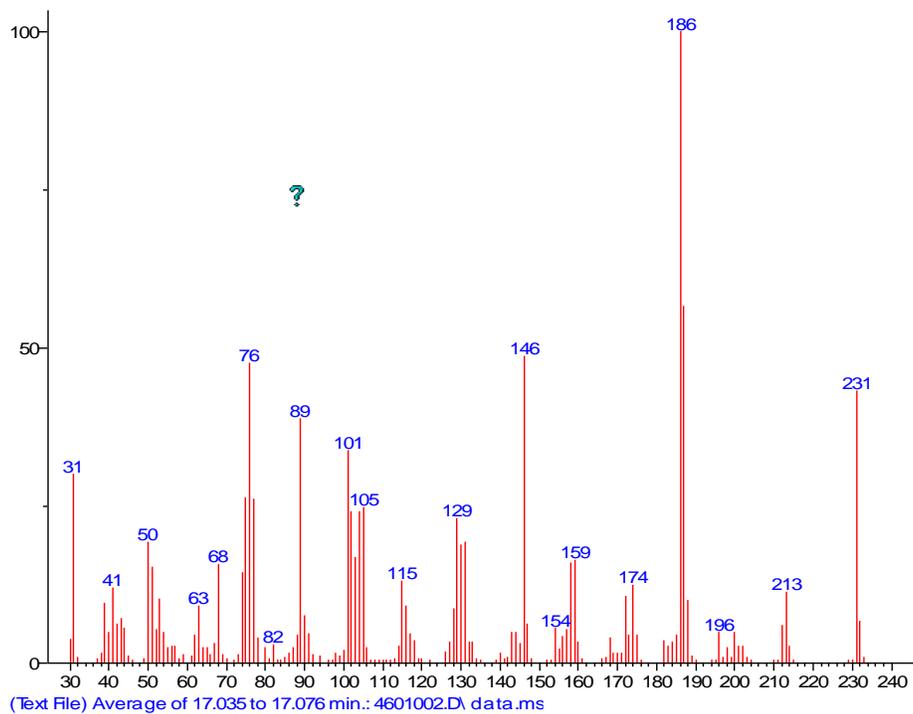


Espectro de Masas del Compuesto AA-1

## Anexo 12.



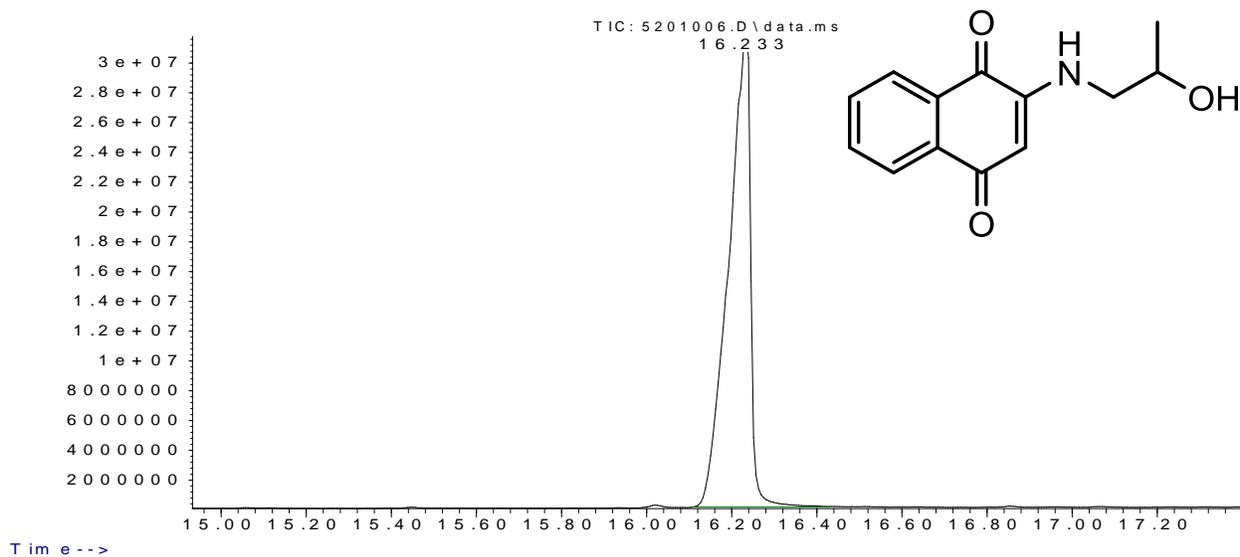
Cromatograma del Compuesto AA-2



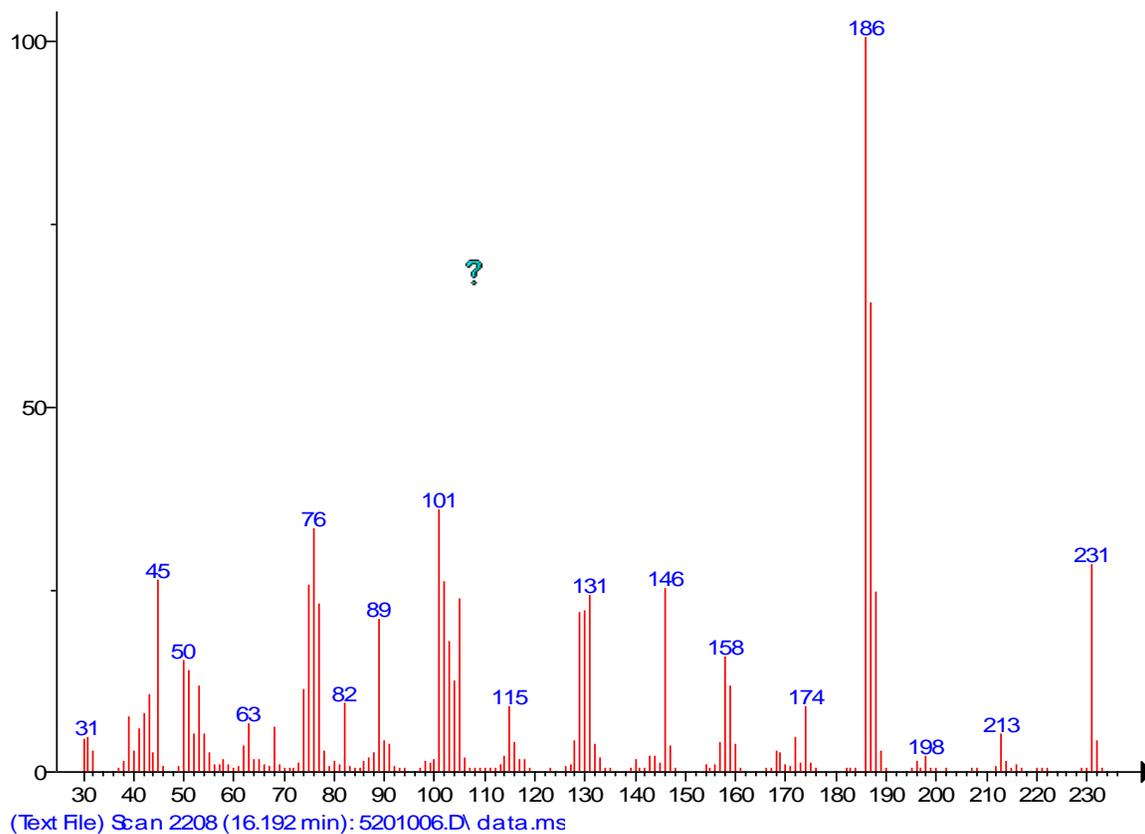
Espectro de Masas del Compuesto AA-2

### Anexo 13.

Abundance



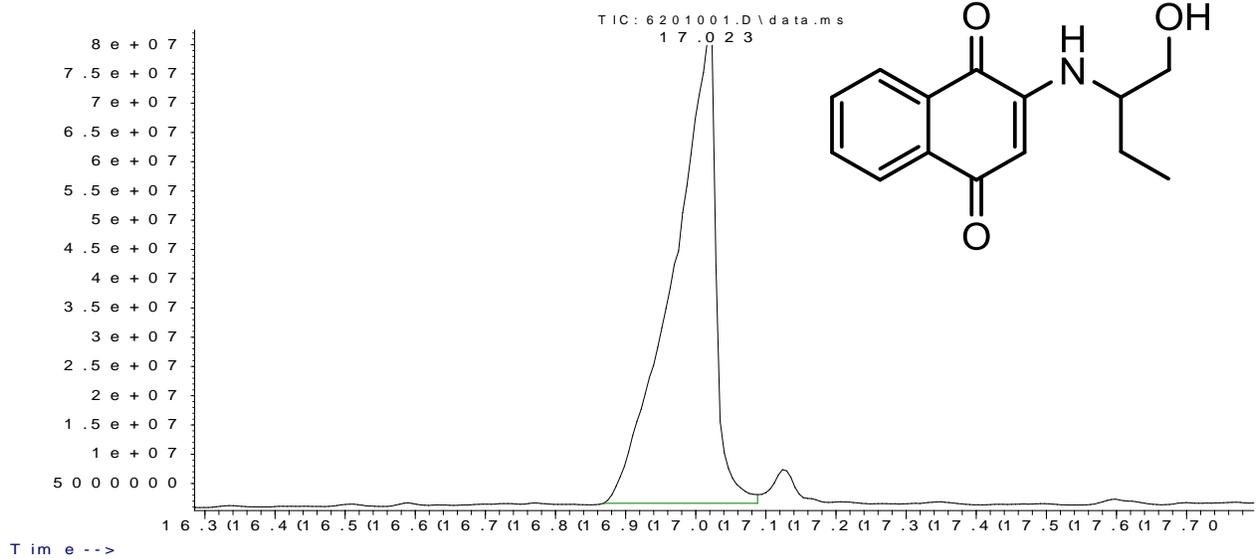
Cromatograma del Compuesto AA-3



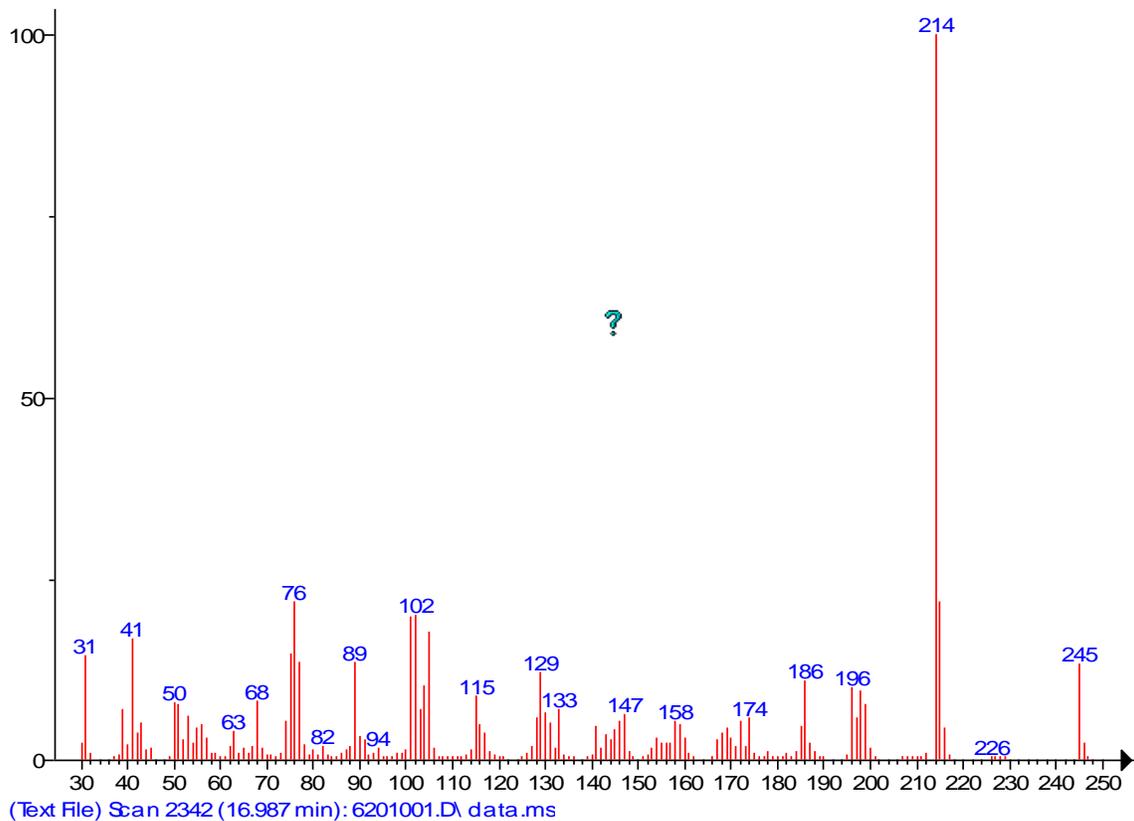
Espectro de Masas del Compuesto AA-3

## Anexo 14.

Abundance



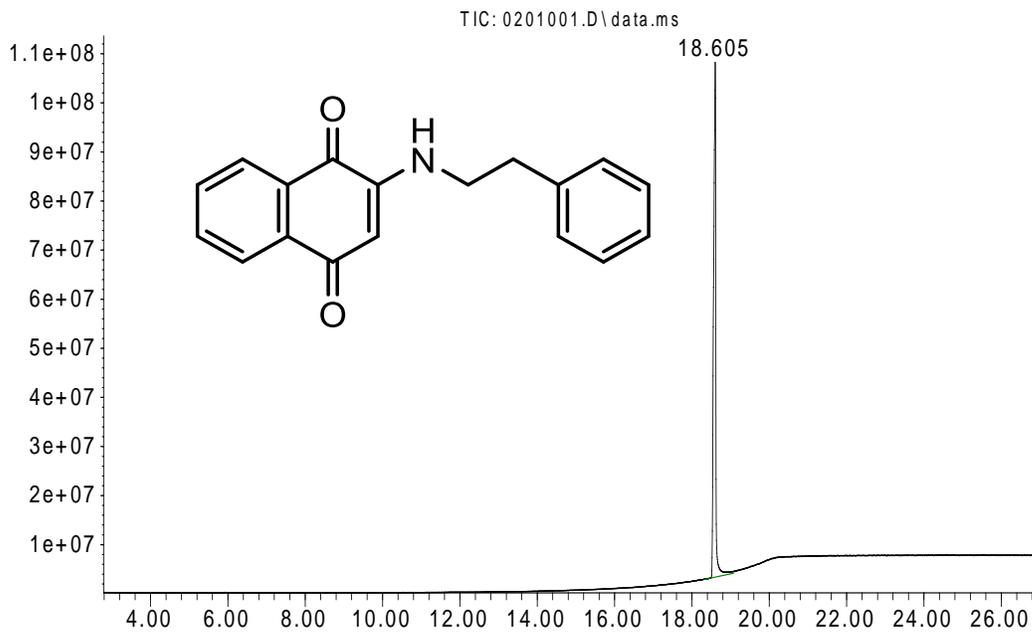
Cromatograma del Compuesto AA-4



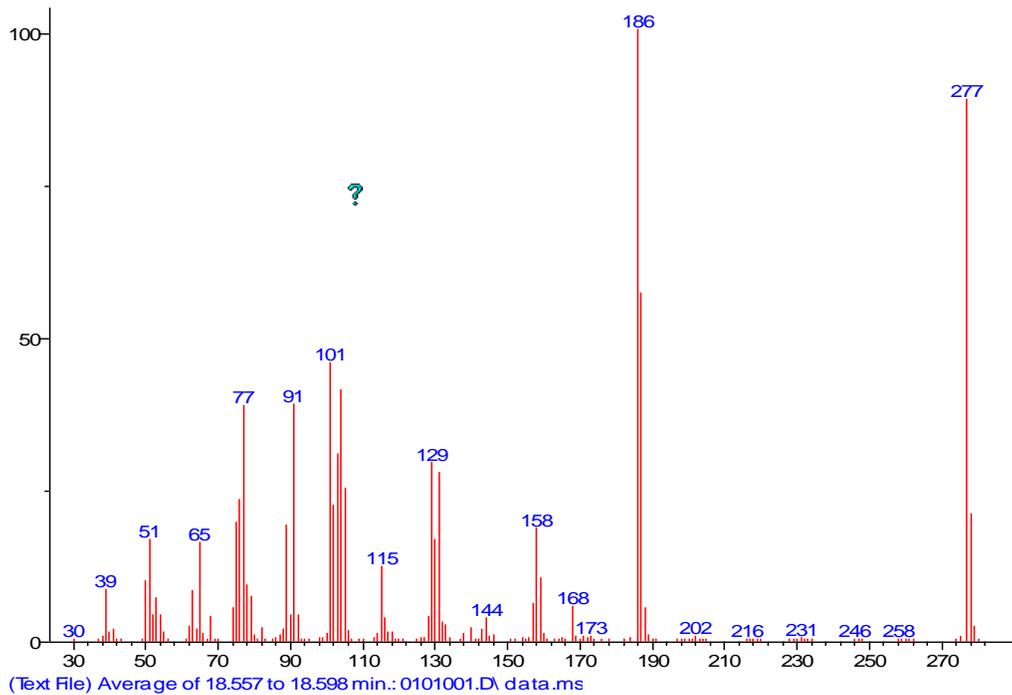
Espectro de Masas del Compuesto AA-4

## Anexo 15.

Abundance



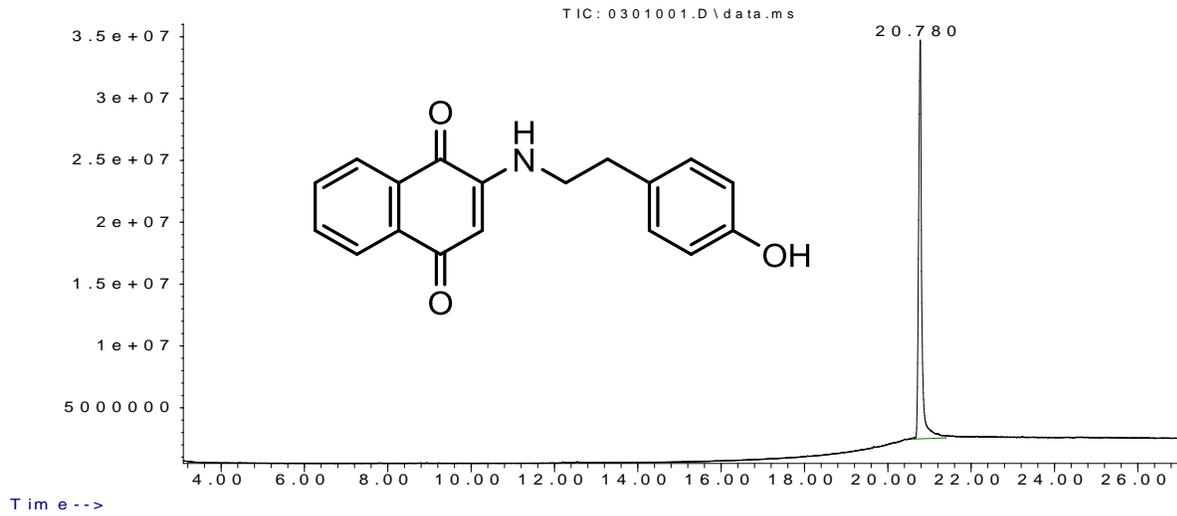
Cromatograma del Compuesto AA-5



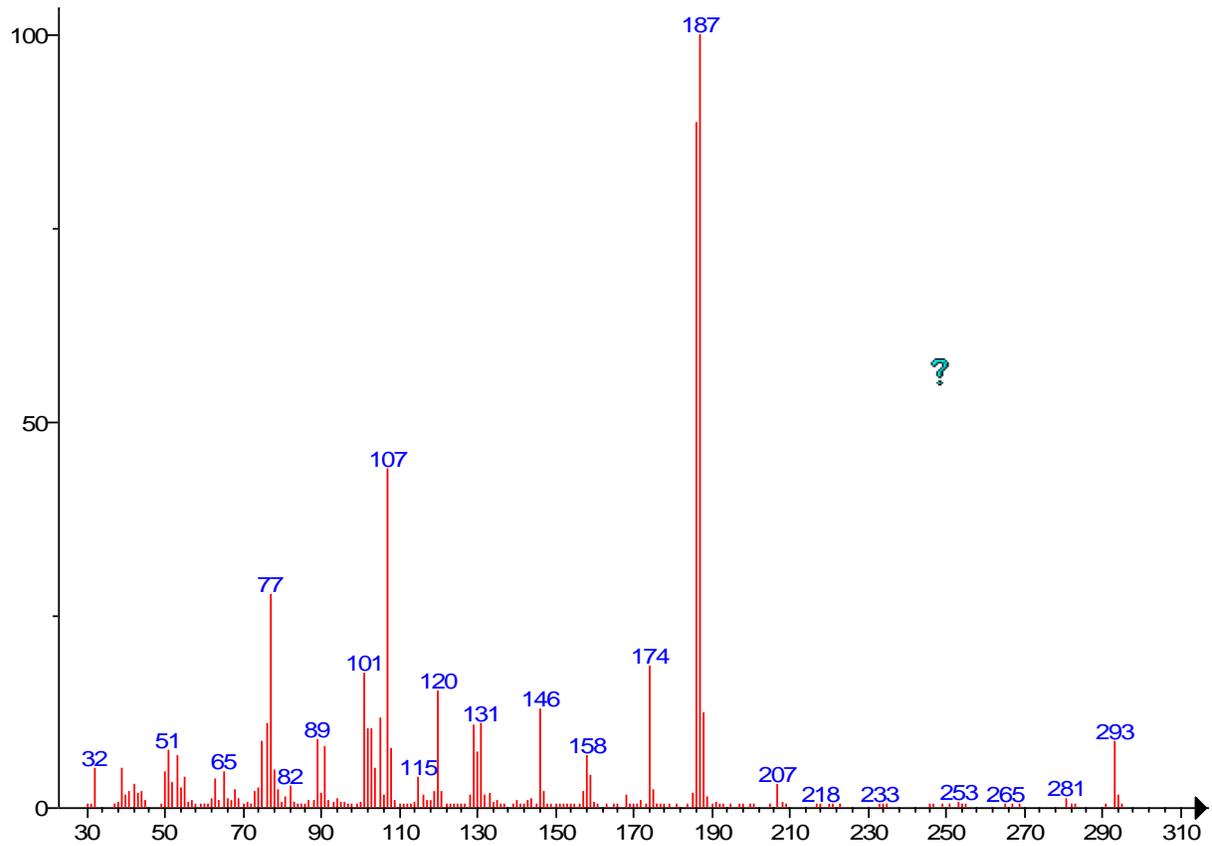
Espectro de Masas del Compuesto AA-5

## Anexo 16.

Abundance



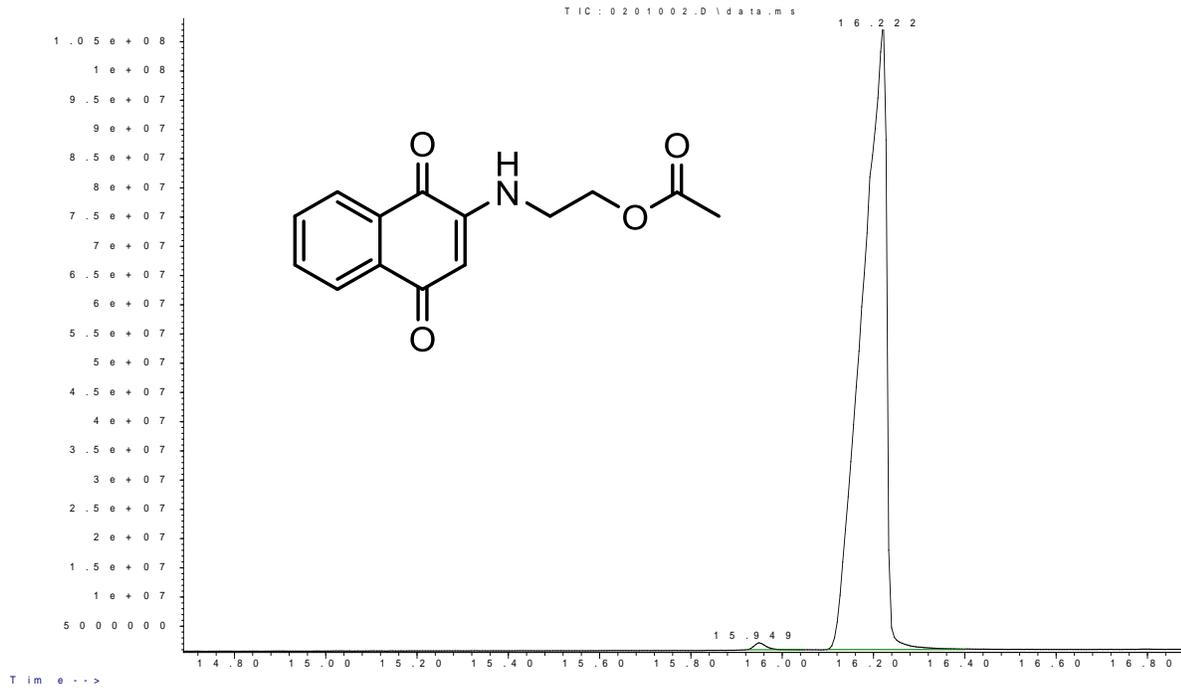
Cromatograma del Compuesto AA-6



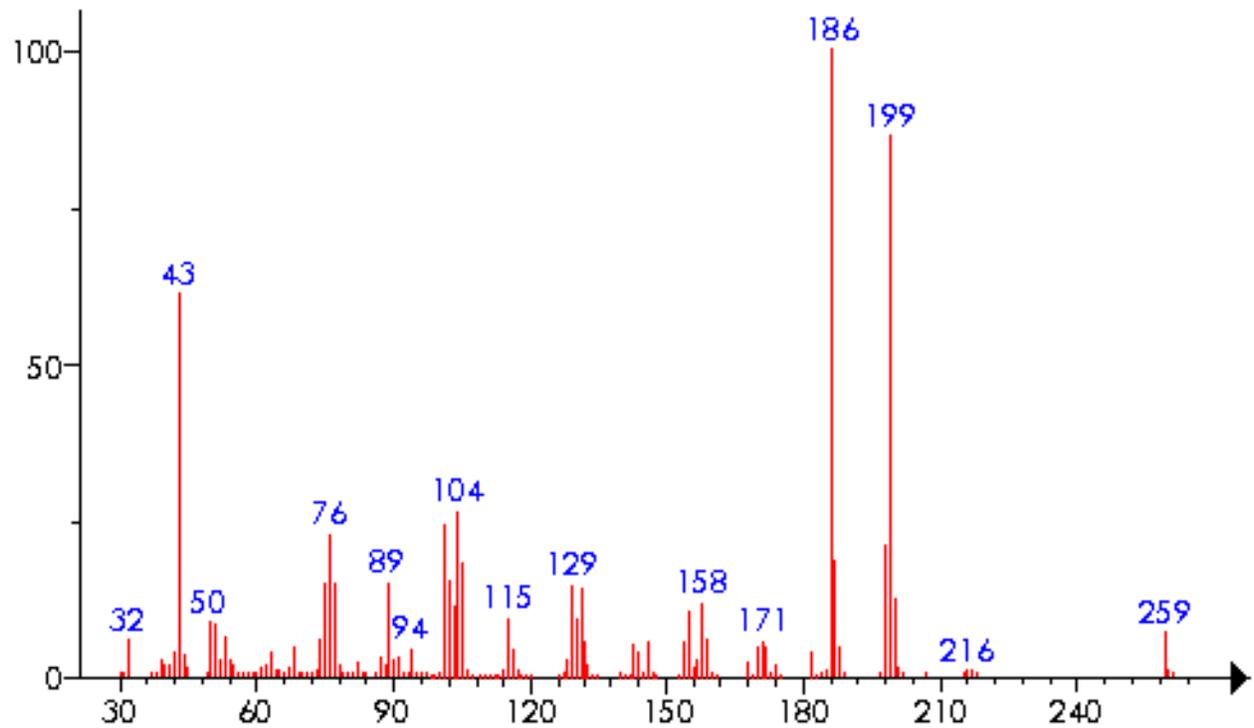
Espectro de Masas del Compuesto AA-6

## Anexo 17.

Abundance



Cromatograma del Compuesto AC-1

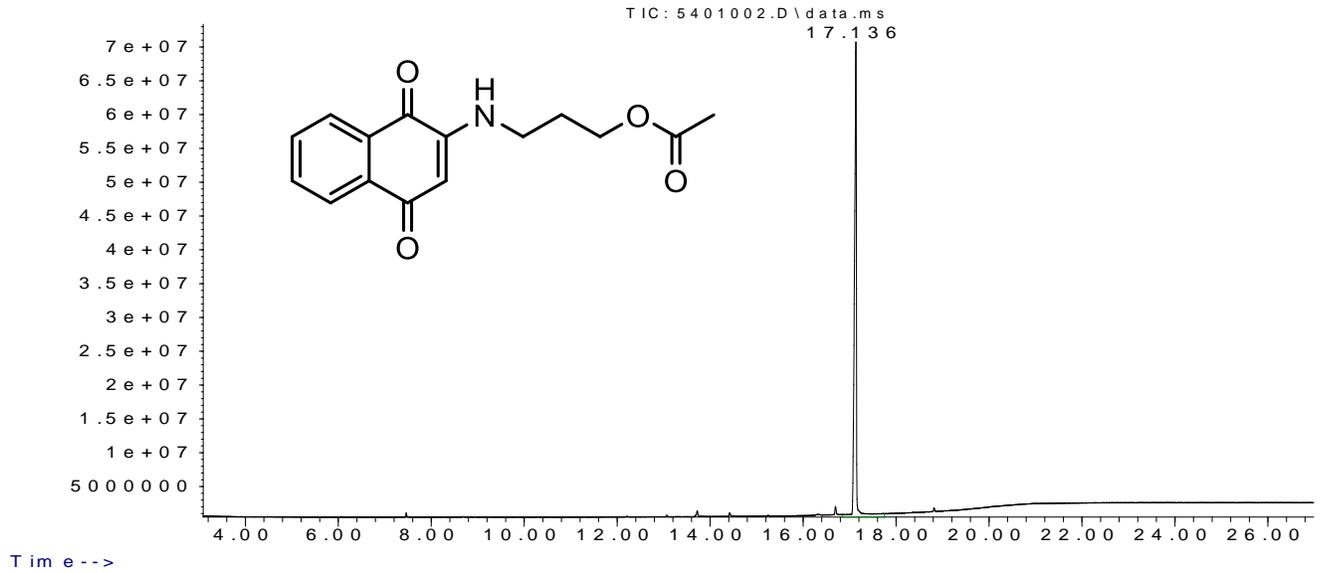


(Text File) Scan 2201 (16.150 min): 0201002.D\data.ms

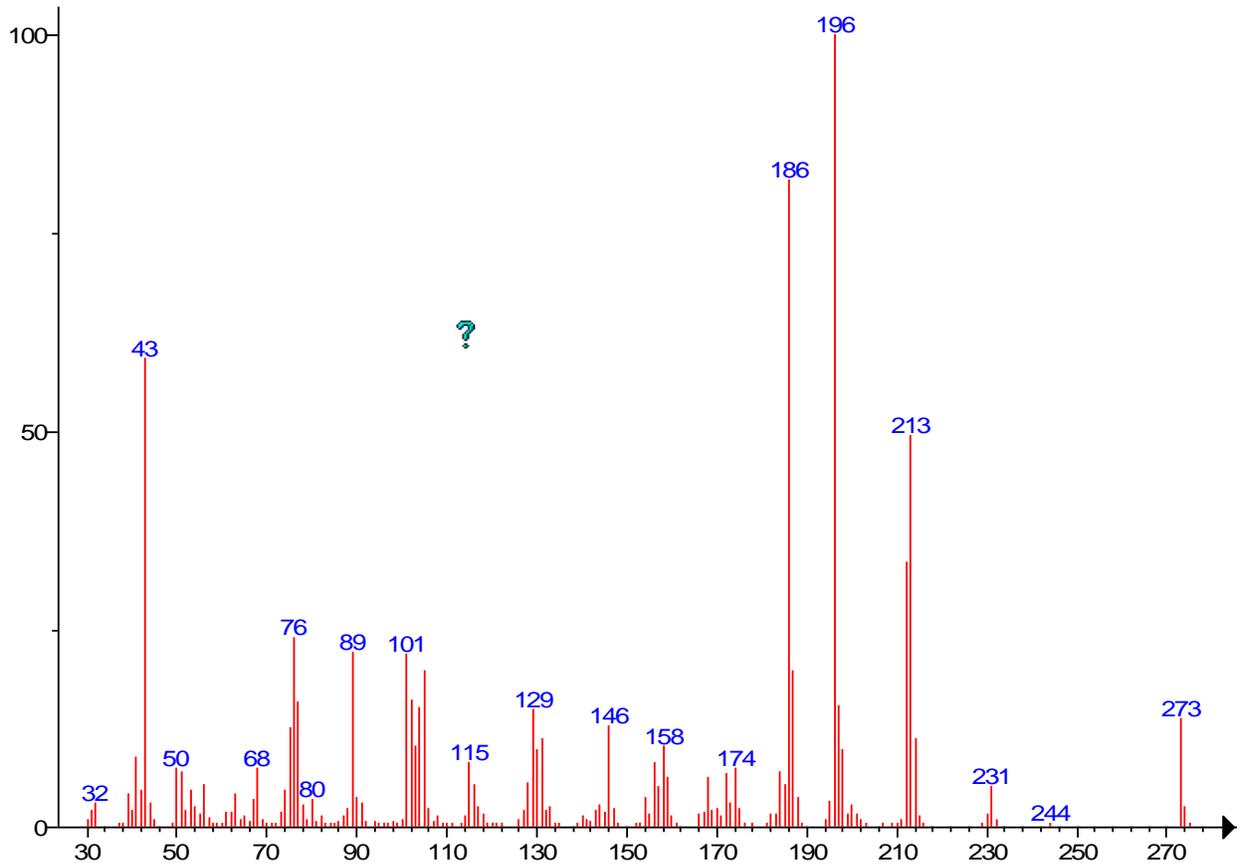
Espectro de Masas del Compuesto AC-1

## Anexo 18.

Abundance



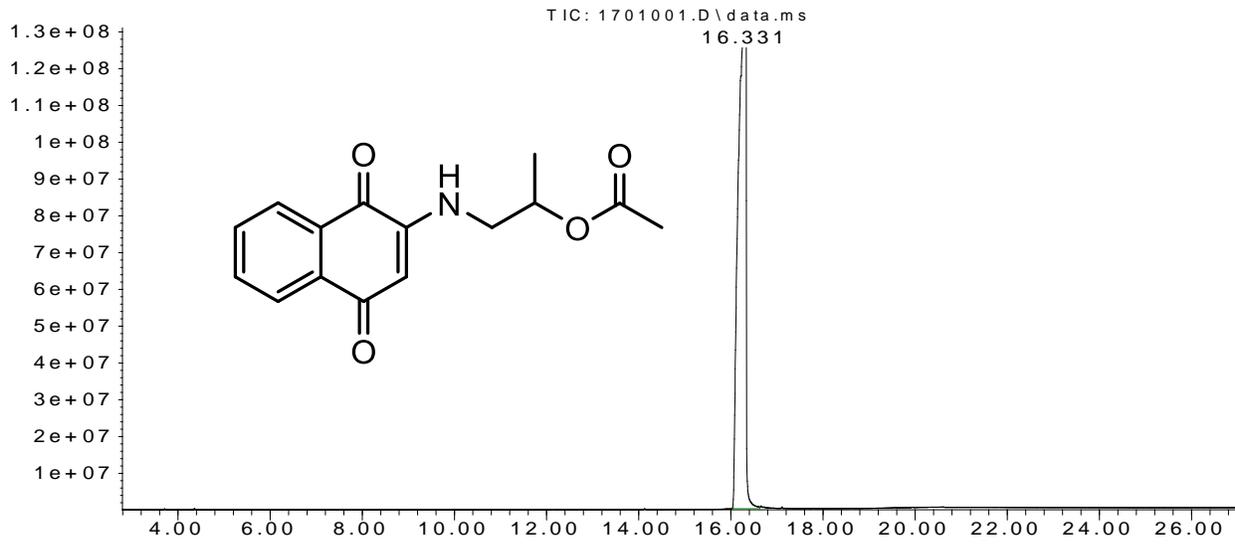
Cromatograma del Compuesto AC-2



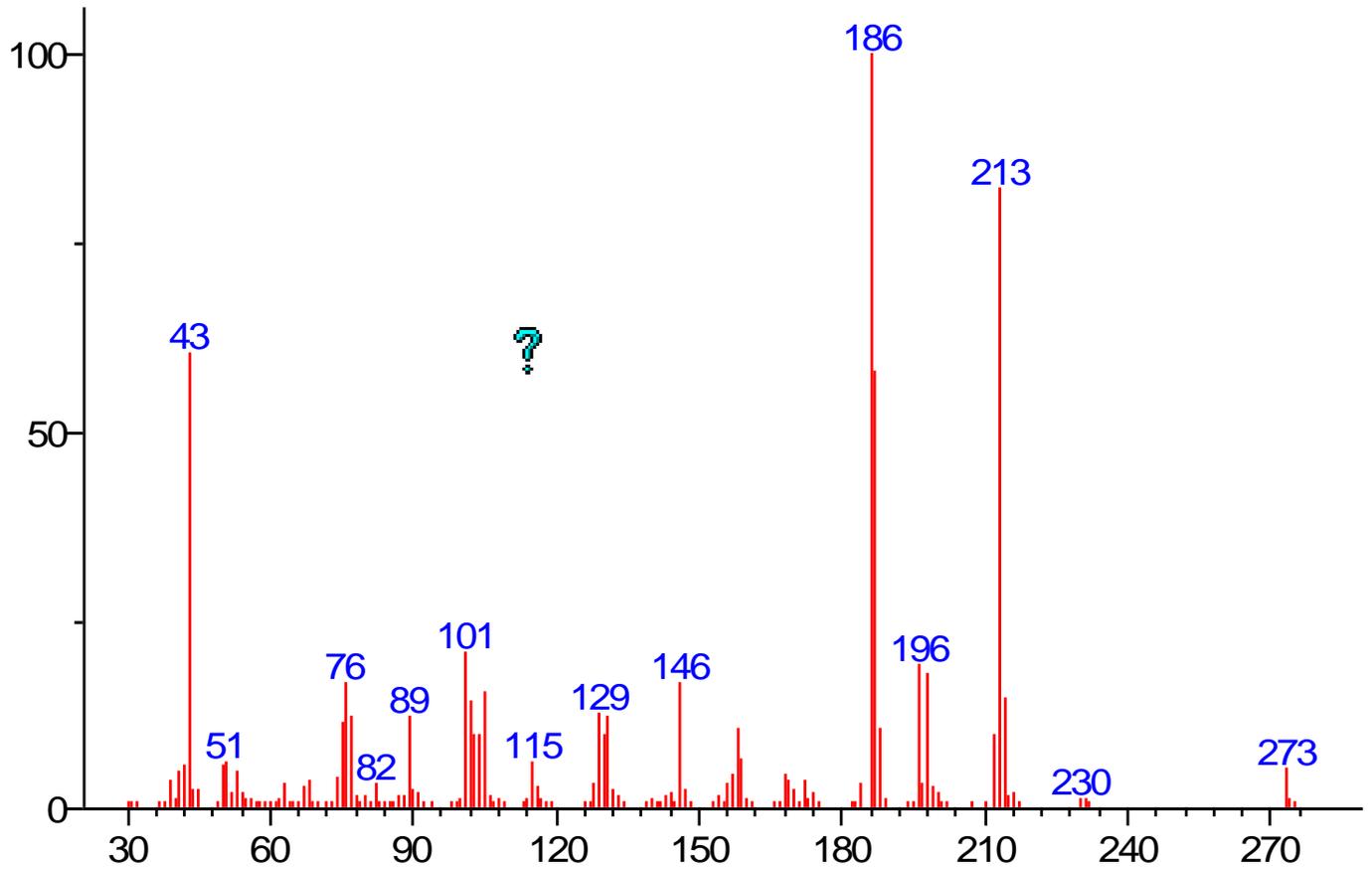
(Text File) Scan 2365 (17.124 min): 5401002.D\data.ms

Espectro de Masas del Compuesto AC-2

Anexo 19.



Cromatograma del Compuesto AC-3

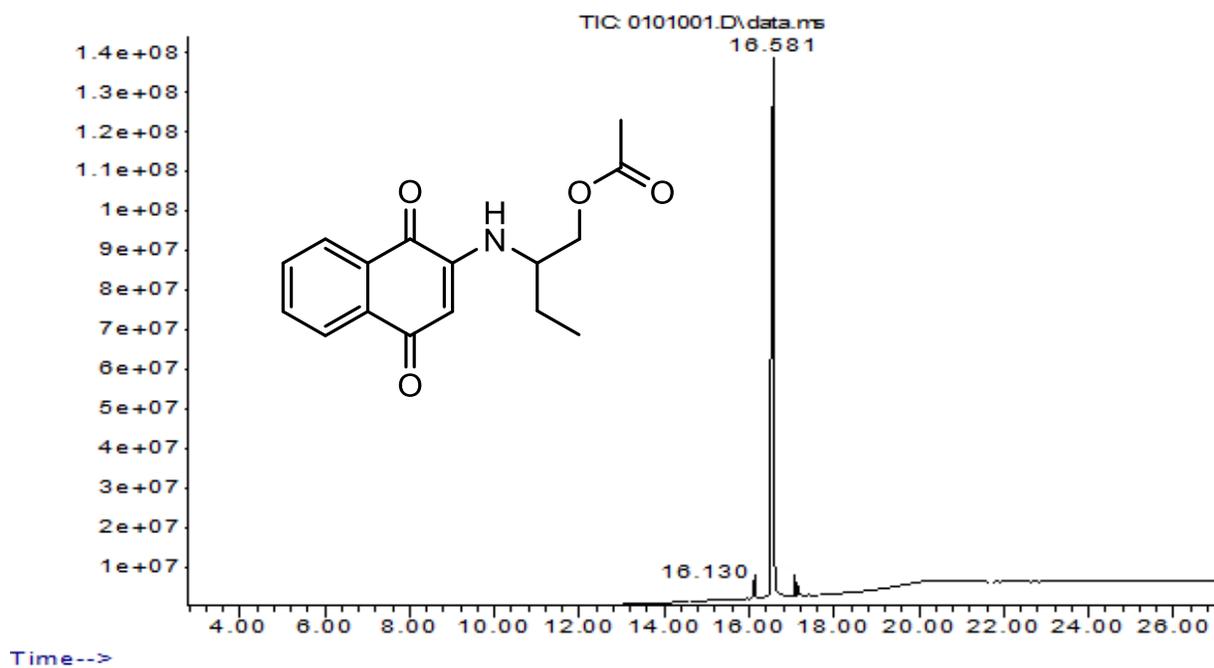


(Text File) Scan 2244 (16.106 min): 1701001.D\data.ms

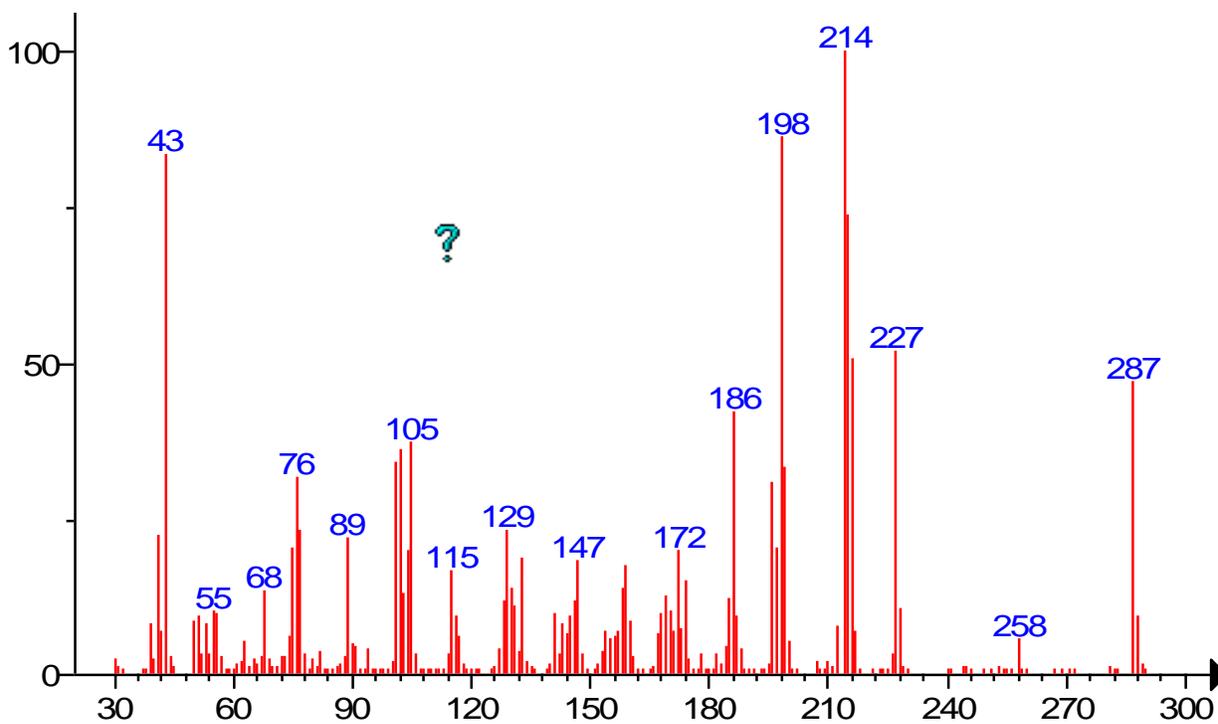
Espectro de Masas del Compuesto AC-3

## Anexo 20.

Abundance



Cromatograma del Compuesto AC-3

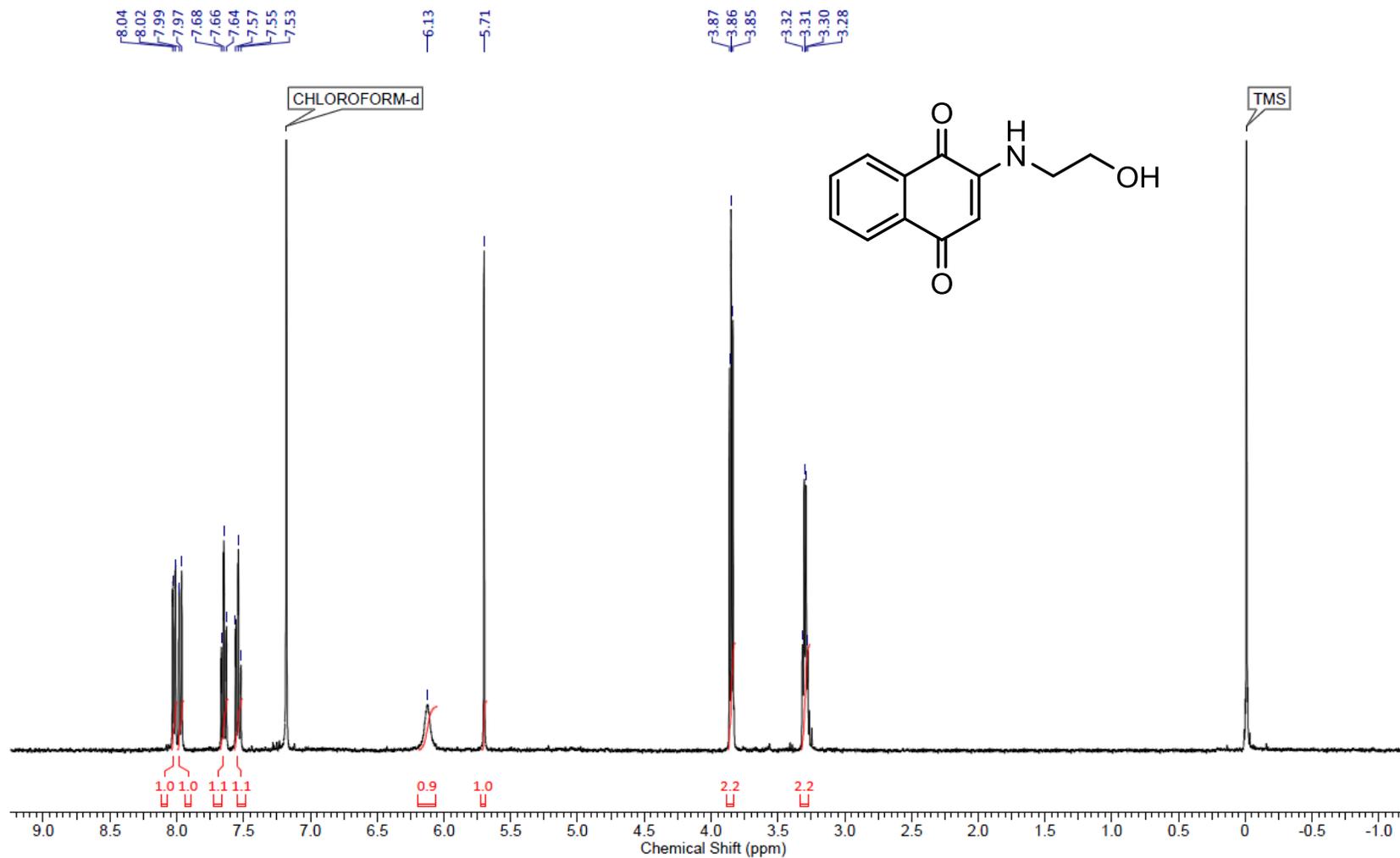


(Text File) Scan 2322 (16.569 min): 0101001.D\data.ms

Espectro de Masas del Compuesto AC-3

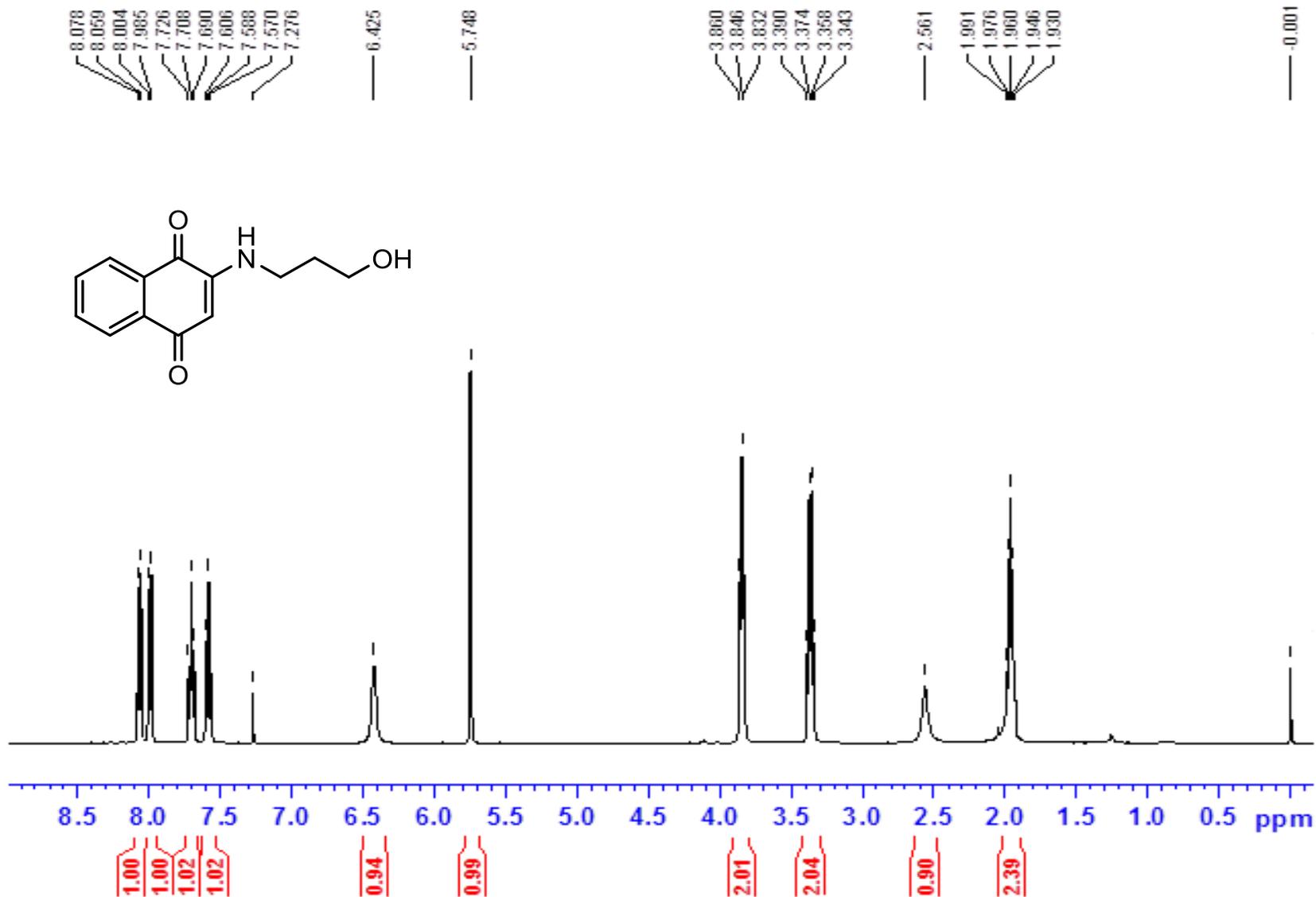
# AA-1 RMNH

AA1 RMNH.esp



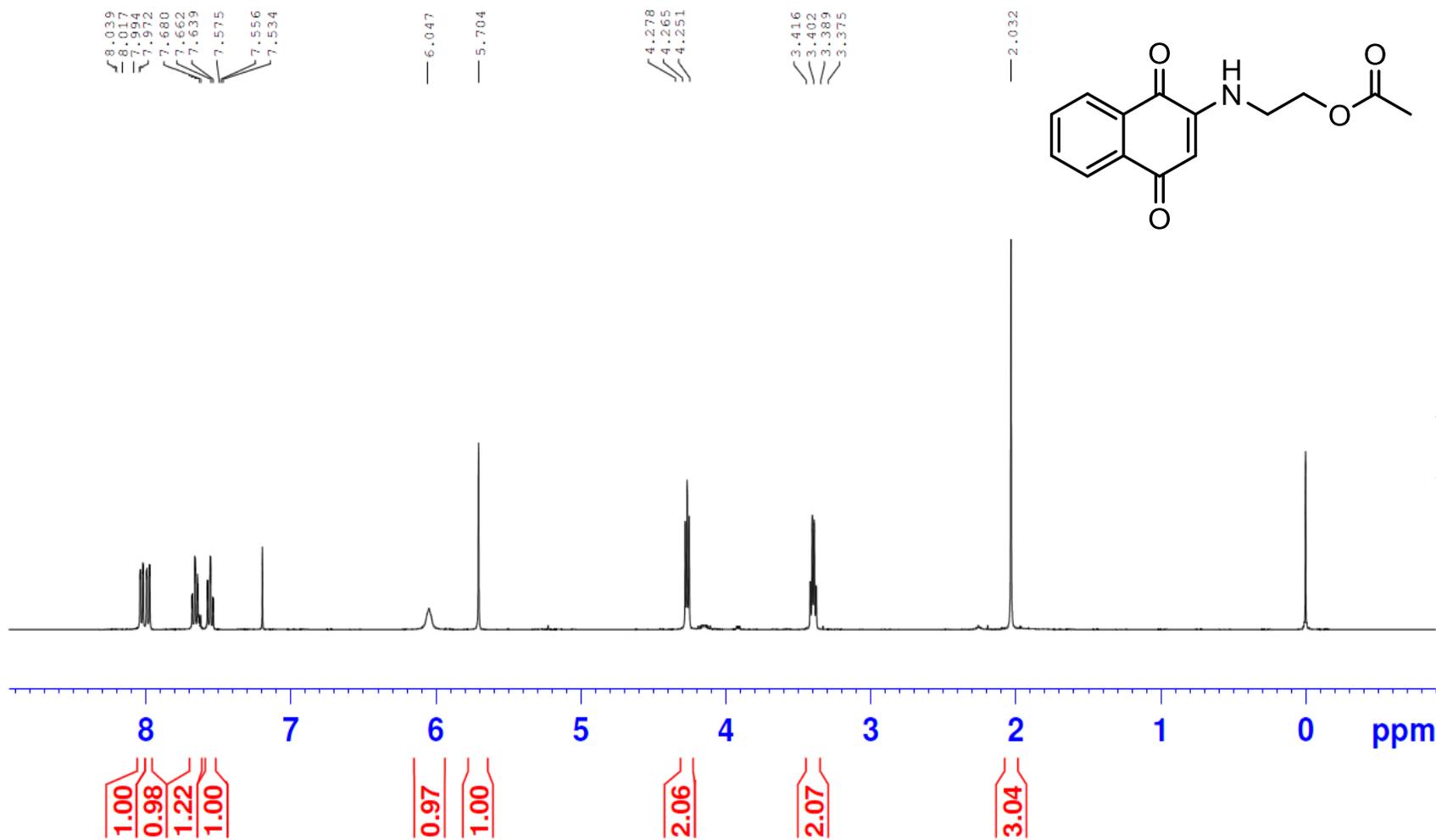
Anexo 21. Espectro de RMN-H del compuesto AA-1

ICG-RUINA, CDCl<sub>3</sub>, 1HNMR



Anexo 22. Espectro de RMN-H del compuesto AA-2

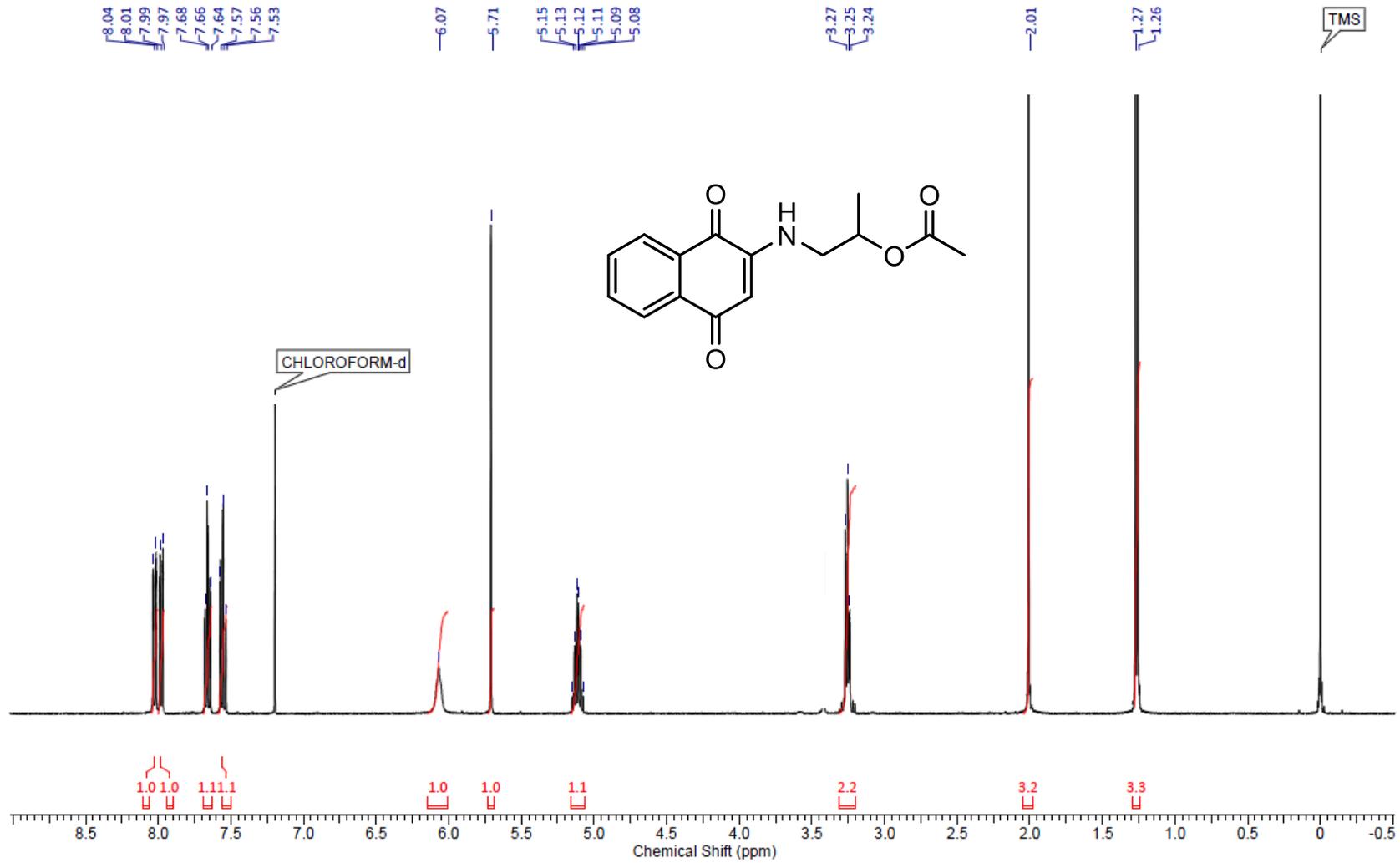
IC-AM-AC



Anexo 23. Espectro de RMN-H del compuesto AC-1

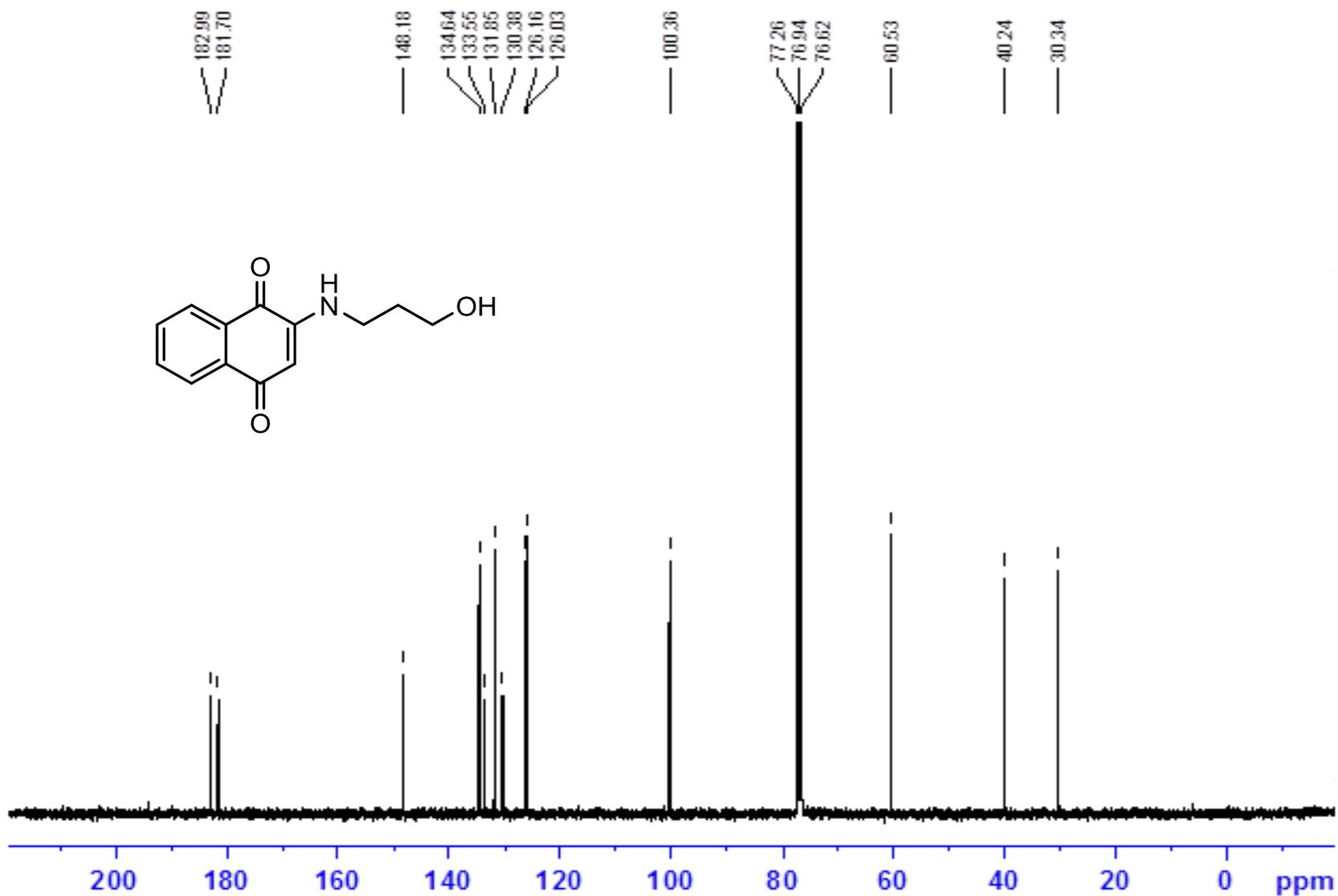
# AC-3 RMNH

ACETYL DL.010.esp



Anexo 24. Espectro de RMN-H del compuesto AC-3

ICG-RUINA, <sup>13</sup>CNMR



Anexo 25. Espectro de RMN-C del compuesto AA-2

## **Apéndice. Instrumental**

### **Resonancia Magnética Nuclear**

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) se realizaron en un equipo BRUKER de 400 MHz. Se utilizó  $\text{CDCl}_3$  como disolvente, y TMS como referencia interna. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en ppm.

### **Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas**

Los productos se analizaron por cromatografía de gases-espectrometría de masas, utilizando un cromatógrafo de gases Agilent 7890 equipado con una columna capilar HP-5MS de 30 m X 0.25 mm X 0.25  $\mu\text{m}$ , el puerto de inyección a una temperatura de 280 °C y como detector un espectrómetro de masas serie 5975C. Para tal propósito se siguió un programa de temperaturas que inicia a 45 °C, permaneciendo 2 min a esta temperatura y luego incrementándose 35 °C/min hasta 135 °C; finalmente la temperatura se incrementa 12 °C/min hasta 320 °C y se queda 7 min en este punto. Se utiliza un flujo de 1 ml/min y no se usa split. La identidad de cada componente se establece por comparación de los espectros de masas obtenidos experimentalmente con los del archivo de espectros de masas NIST98.

### **Espectroscopia de Infrarrojo**

Los espectros de IR fueron realizados en un espectrofotómetro PERKIN-ELMER Modelo SPECTRUM 1, utilizando pastillas de NaCl y acetona o cloroformo como disolvente. Los valores están expresados en  $\text{cm}^{-1}$ .

### **Espectroscopia Ultravioleta-Visible**

Las mediciones de absorbancia de las técnicas antioxidantes se realizaron en un

Espectrofotómetro THERMO SCIENTIFIC, modelo Genesys 20, en una celda de cuarzo de 10mm. Como disolvente se empleó MeOH o agua destilada según fuera el caso.

### **Punto de Fusión**

Se realizaron en un aparato Electrothermal No. Modelo IA6304, 110 Watts, 120 Volts, de fase simple 50/60 Hz, temperatura máxima de 360 °C. Los datos se expresan en grados centígrados (°C).

### **Cromatografía en capa fina (CCF)**

Las cromatografías en capa fina fueron realizadas con placas FLUKA de SIGMA Analytic de 0.2 mm, como agente visualizador se usó luz ultravioleta (UV), a 254 nm. No fue necesario el revelado de las placas puesto que los compuestos se aprecian a simple vista y/o luz UV.

### **Cromatografía en Columna**

Los productos se purificaron utilizando columnas con gel de sílice de 70-230 mesh y 60 Å. Las columnas se preparaban por el método del slurry, suspendiendo la sílice en n-Hexano. Los eluyentes más utilizados fueron mezclas de n-Hexano /AcOEt en diferentes proporciones y en algunos casos se barrían con MeOH.

### **Programas de Computadora**

El nombre IUPAC de cada compuesto y las imágenes de cada estructura se obtuvieron mediante el programa ChemBioDraw Ultra, versión 13.0. El procesamiento de algunos espectros de RMN se llevó a cabo en el programa 1D NMR Processor de ACD Labs, versión de prueba.