



Facultad de Ciencias

Escuela de Química

***Síntesis de derivados de la 1,4-naftoquinona con grupos
adamantano como potenciales antimálaricos y antitumorales***

Tesis presentada como requisito parcial para optar por el grado
de Licenciatura en Química

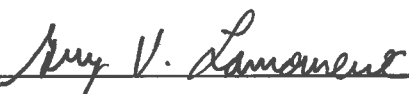
Graciela Artavia González

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio
San José, Costa Rica

2010

Este trabajo ha sido aceptado en su forma presente, por la Escuela de Química,
Facultad de Ciencias, Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar por
el grado de Licenciatura en Química

Aprobada por el Comité Examinador:



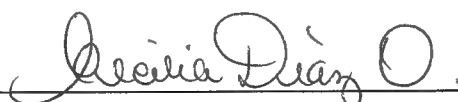
Guy V. Lamoureux Lamontagne, Ph. D

Director de la Tesis



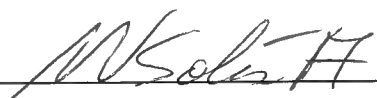
Alice L. Pérez Sánchez, Ph. D.

Miembro del Comité Asesor



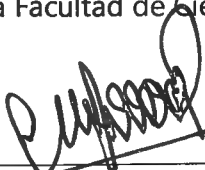
Cecilia Díaz Oreiro, Ph. D.

Miembro del Comité Asesor



Dra. Virginia Solís Alvarado

Decana de la Facultad de Ciencias, Presidenta del Tribunal



Carlos H. Herrera Ramírez, M. Sc.

Director de la Escuela de Química y Miembro del Tribunal

Agradecimientos

A Dios infinitas gracias por la fuerza, la salud, esperanza y confianza que me ha dado cada momento

Quiero agradecer muy especialmente a Guy Lamoureux, Ph. D. por todo lo que me ha enseñado a lo largo de mis años de preparación académica, gracias a él, he crecido a nivel profesional y como persona. Gracias por todo su apoyo y confianza.

A Alice Pérez, Ph. D. por abrirme las puertas del CIPRONA y darme la oportunidad de pulir mis conocimientos en Química. No hay palabras para expresar mi gratitud a ambos.

A mis compañeros del Laboratorio de Síntesis del CIPRONA y amigos, sus consejos y ayuda han sido invaluable.

Gracias a todas aquellas personas que de una u otra forma me han ayudado en todo este proceso.

Por último un agradecimiento de todo corazón a mi familia, que siempre ha estado ahí brindándome su cariño y comprensión, los amo profundamente.

Esta investigación consistió en la síntesis de derivados de la 1,4-naftoquinona con grupos adamantano o pseudoadamantano, a través de varias metodologías originales, con el fin de determinar la posible actividad biológica antimalárica y antitumoral de los compuestos sintetizados.

En el campo de la síntesis orgánica, se desarrolló una metodología novedosa y versátil de donde se obtuvo una familia de nueve compuestos nuevos, con buenos porcentajes de rendimiento y pureza. Todos los compuestos se caracterizaron por medio de espectroscopía IR, UV, ^1H -RMN, ^{13}C -RMN, MS-TOF y puntos de fusión. Las estructuras fueron analizadas por modelaje molecular usando DFT híbridos (B3LYP/6-31G*) para relacionar la estructura con las propiedades.

Con respecto a los ensayos biológicos, según resultados preliminares realizados por el Departamento de Parasitología de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid, todos los derivados muestran actividad antiparasitaria, en especial el 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona, el cual exhibe actividad antiparasitaria en cepas resistentes a la cloroquina.

Por otra parte, se realizó en la Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica pruebas de citotoxicidad de seis de los compuestos formados, en dos líneas celulares, Vero y MCF-7 (tumoral), para ello se empleó el ensayo de MTT, sin embargo se observó que algunos derivados sintéticos interfirieron con el MTT. Por esta razón, será un trabajo a futuro, la investigación de la actividad antitumoral usando otros métodos.

Tabla de Contenidos

| | |
|---|-----------|
| TABLA DE CONTENIDOS..... | I |
| ÍNDICE DE CUADROS | I |
| ÍNDICE DE FIGURAS | II |
| CAPÍTULO I..... | 1 |
| LAS QUINONAS Y SU ROL BIOLÓGICO | 1 |
| 1.1 INTRODUCCIÓN A LAS QUINONAS | 1 |
| 1.2 INTERÉS GENERAL DE LAS NAFTOQUINONAS | 2 |
| 1.2.1 <i>Actividad antineoplásica</i> | 3 |
| 1.2.2 <i>Actividad antiviral</i> | 5 |
| 1.2.3 <i>Actividad antifúngica</i> | 7 |
| 1.2.4 <i>Actividad antibacterial</i> | 8 |
| 1.2.5 <i>Actividad protozoocida</i> | 9 |
| 1.3 OTROS USOS DE LAS NAFTOQUINONAS | 12 |
| 1.4 MECANISMO DE ACCIÓN DE LAS QUINONAS A NIVEL BIOLÓGICO..... | 12 |
| CAPÍTULO II..... | 15 |
| ADAMANTANO Y SUS DERIVADOS..... | 15 |
| 2.1 GENERALIDADES DEL ADAMANTANO | 15 |
| 2.2 USOS PRINCIPALES DE LOS DERIVADOS DE ADAMANTANO EN EL CAMPO DE LA MEDICINA | 17 |
| 2.2.1 <i>Adamantano como agente modificador de propiedades ADME</i> | 17 |
| 2.2.2 <i>Grupo Adamantano como sitio de unión hidrofóbico</i> | 22 |
| 2.2.3 <i>El grupo adamantano y su relación con canales iónicos</i> | 23 |
| 2.2.4 <i>El grupo adamantano: andamio molecular</i> | 26 |
| 2.3 SÍNTESIS PREVIA DE DERIVADOS DE 1,4-NAFTOQUINONAS CON GRUPOS ADAMANTANO..... | 28 |
| CAPÍTULO III..... | 30 |
| DESARROLLO DE UNA NUEVA SÍNTESIS DE DERIVADOS DE NAFTOQUINONAS Y ADAMANTANO | 30 |
| 3.1 PERSPECTIVA INICIAL: SÍNTESIS DE UNA NUEVA FAMILIA DE COMPUESTOS..... | 30 |
| 3.2 CONSIDERACIONES SINTÉTICAS EN EL ACOPLE DE NAFTOQUINONAS Y GRUPOS ADAMANTANO | 31 |
| 3.2.1 <i>Rutas de formación de éteres de 1,4-naftoquinonas</i> | 31 |
| CAPÍTULO IV..... | 34 |
| SECCIÓN EXPERIMENTAL..... | 34 |
| 4.1 METODOLOGÍA PARA LA SÍNTESIS DE LOS DERIVADOS DE 1,4-NAFTOQUINONA | 34 |
| 4.1.1 <i>Reactivos e Instrumentación</i> | 34 |
| 4.1.2 <i>Síntesis previa de los derivados de 2-hidroxi-1,4-naftoquinona a partir de acoplamiento con (1S)-endo(-)-borneol</i> | 36 |
| 4.1.2.1 Procedimiento general de síntesis del 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-naftoquinona | 36 |
| 4.1.2.2 Procedimiento general de síntesis del 4-(2-endo-borneoxi)-1,2-naftoquinona | 37 |
| 4.1.3 <i>Síntesis de los derivados de 2-hidroxi-1,4-naftoquinona a partir de acoplamiento con derivados de adamantano</i> | 38 |
| 4.1.3.1 Procedimiento general de síntesis del 2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-naftoquinona | 38 |
| 4.1.3.2 Procedimiento general de síntesis del 2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-naftoquinona | 39 |
| 4.1.3.3 Procedimiento general de síntesis del 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona | 40 |
| 4.1.3.4 Procedimiento general de síntesis del 4-(2-adamantanoxi)-1,2-naftoquinona | 41 |
| 4.1.3.5 Procedimiento general de síntesis del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona | 42 |

| | |
|---|------------|
| 4.1.3.6 Procedimiento general de síntesis del 2-(1-aminoadamantil)-1,4-naftoquinona | 43 |
| 4.1.3.7 Procedimiento general de síntesis del 2-(1-adamantilmercapto)-1,4-naftoquinona | 44 |
| 4.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y ESPECTROSCÓPICA DE LOS COMPUESTOS SINTETIZADOS | 45 |
| 4.2.1 <i>Caracterización física y espectroscópica de los derivados de 2-hidroxi-1,4-naftoquinona acoplado con (1S)-endo-(-)-borneol.....</i> | <i>45</i> |
| 4.2.2 <i>Caracterización física y espectroscópica de los derivados de la 2-hidroxi-1,4-naftoquinona acoplado con derivados de adamantano.....</i> | <i>47</i> |
| 4.3 METODOLOGÍA PARA ENSAYOS ANTICÁNCER..... | 54 |
| 4.3.1 <i>Reactivos e Instrumentación.....</i> | <i>54</i> |
| 4.3.2 <i>Cultivo Celular y mantenimiento de líneas celulares.....</i> | <i>55</i> |
| 4.3.2.1 Mantenimiento de líneas celulares | 55 |
| 4.3.2.2 Selección del frasco de cultivo | 55 |
| 4.3.2.3 Tripsinización de líneas celulares adherentes | 56 |
| 4.3.2.4 Inoculación de microplatos | 57 |
| 4.3.2.5 Conteo de células para inoculación de platos | 57 |
| 4.3.2.6 Inoculación de los platos | 58 |
| 4.3.2.7 Tratamiento con muestras sintéticas | 59 |
| 4.3.2.8 Ensayo de viabilidad celular utilizando MTT..... | 59 |
| 4.4 PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE LOS POTENCIALES DE REDUCCIÓN DE VARIOS COMPUESTOS SINTETIZADOS | 60 |
| CAPÍTULO V: DISCUSIÓN DE RESULTADOS | 62 |
| 5.1 FORMACIÓN DE LOS DERIVADOS DE LAWSONA Y BORNEOL | 62 |
| 5.2 FORMACIÓN DE DERIVADOS DE NAFTOQUINONAS Y ADAMANTANO | 71 |
| 5.2.1 <i>Síntesis del 2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-naftoquinona [73]</i> | <i>71</i> |
| 5.2.2 <i>Síntesis del 2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-naftoquinona [74].....</i> | <i>72</i> |
| 5.2.3 <i>Síntesis del 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona [75]</i> | <i>73</i> |
| 5.2.4 <i>Síntesis del 4-(2-adamantanoxi)-1,2-naftoquinona [76]</i> | <i>76</i> |
| 5.2.5 <i>Síntesis del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona [77].....</i> | <i>78</i> |
| 5.2.6 <i>Síntesis del 2-(1-aminoadamantil)-1,4-naftoquinona [79]</i> | <i>81</i> |
| 5.2.7 <i>Síntesis de 2-(1-adamantilmercapto)-1,4-naftoquinona [80].....</i> | <i>84</i> |
| 5.2.8 <i>Otros derivados que se intentó sintetizar</i> | <i>86</i> |
| 5.2.8.1 Formación del 2-(1-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona | 87 |
| 5.2.8.2 Formación del 3-(2-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona | 90 |
| 5.3 CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA: CONSIDERACIONES ESTRUCTURALES | 93 |
| 5.3.1 <i>Efecto del heteroátomo: Consideraciones espectroscópicas</i> | <i>93</i> |
| 5.3.2 <i>Isómeros 1,2 y 1,4: Propiedades estructurales</i> | <i>103</i> |
| 5.3.3 <i>Análisis estructural del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona.....</i> | <i>109</i> |
| CAPÍTULO VI..... | 113 |
| ENSAYOS PRELIMINARES DE CITOTOXICIDAD DE LOS DERIVADOS SINTETIZADOS..... | 113 |
| 6.1 ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS DERIVADOS DE ADAMANTANO Y NAFTOQUINONA | 113 |
| 6.1.2 <i>Resultados de Citotoxicidad en células Vero y MCF-7.....</i> | <i>116</i> |
| 6.1.3 <i>Correlación entre citotoxicidad y potencial de reducción de naftoquinonas.....</i> | <i>121</i> |
| 6.2 OTRAS TÉCNICAS DE DETERMINACIÓN DE CITOTOXICIDAD: TRABAJO A FUTURO | 124 |
| CONCLUSIONES | 126 |
| BIBLIOGRAFÍA | 127 |
| ANEXOS | 141 |

Índice de Cuadros

| | |
|--|-----|
| Cuadro I. Ejemplos de compuestos con actividad antitumoral y antimalárica..... | 31 |
| Cuadro II. Equipo utilizado en caracterización espectroscópica | 34 |
| Cuadro III. Costo económico de diversos alcoholes en síntesis orgánica | 62 |
| Cuadro IV. Reacciones de acoplamiento entre la lawsona y Borneol | 65 |
| Cuadro V. Optimización de la síntesis de 4-borneoxi-1,2-naftoquinona | 69 |
| Cuadro VI. Optimización de la síntesis del 2-borneoxi-1,4-naftoquinona..... | 70 |
| Cuadro VII. Síntesis del 2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-naftoquinona | 73 |
| Cuadro VIII. Síntesis del 2-(2-adamantoxi)-1,4-naftoquinona | 75 |
| Cuadro IX. Síntesis del 4-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona | 77 |
| Cuadro X. Síntesis del 2-(1-aminoadamantil)-1,4-naftoquinona | 84 |
| Cuadro XI. Síntesis del 2-(1-adamantilmercapto)-1,4-naftoquinona | 84 |
| Cuadro XII. Síntesis del 2-(1-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona..... | 87 |
| Cuadro XIII. Síntesis del 2-(1-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona..... | 89 |
| Cuadro XIV. Comparación entre los 1-adamantanos monosustituídos | 90 |
| Cuadro XV. Síntesis del 3-(2-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona..... | 92 |
| Cuadro XVI. Energía de orbitales frontera de los 2-heterosustituido-1,4-NQ..... | 95 |
| Cuadro XVII. Comparación de frecuencias de vibración en derivados 80, 79 y 75..... | 98 |
| Cuadro XVIII. Distancias de enlaces de los derivados 80, 79 y 75 | 98 |
| Cuadro XIX. Comparación en los desplazamientos químicos en 2-heterosustituido-1,4-NQ | 100 |
| Cuadro XX. Diferencia de energía de orbitales de frontera de los isómeros 1,2 y 1,4-NQ | 104 |
| Cuadro XXI. Comparación en desplazamientos químicos de naftoquinonas O-alquiladas | 108 |
| Cuadro XXII. Actividad antiparasitaria <i>in vitro</i> de compuestos frente a <i>P. Falciparum</i> | 113 |
| Cuadro XXIII. Compuestos utilizados en pruebas de citotoxicidad..... | 114 |
| Cuadro XXIV. Potenciales de reducción de los compuestos quinónicos 2, 75, 77, 79 y 80..... | 121 |

Índice de Figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1. Clasificación estructural de las quinonas | 1 |
| Figura 2. Quinonas acarreadoras de electrones en sistemas biológicos. | 2 |
| Figura 3. Estructura de filoquinonas y menaquinonas | 2 |
| Figura 4. Hidronaftoquinonas extraídas de plantas medicinales | 3 |
| Figura 5. Estructura de lapachol y β -lapachona | 4 |
| Figura 6. Naftoquinonas inhibidores de topoisomerasas I..... | 4 |
| Figura 7. Estructura de la lawsona | 5 |
| Figura 8. Estructura de la conocurvona y análogo sintético | 6 |
| Figura 9. Estructura de dos inhibidores de Ribonucleasa H del VIH-1 | 6 |
| Figura 10. Antivirales extraídos del <i>Rhinacanthus nasutus</i> | 7 |
| Figura 11. Estructura de la diclona | 8 |
| Figura 12. Estructura de la diospirina e isodiospirina | 8 |
| Figura 13. Estructura de algunos antimaláricos conocidos | 10 |
| Figura 14. Huellas impresas después de tratamiento con una disolución de Lawsona..... | 12 |
| Figura 16. Mecanismo de acción de las naftoquinonas a nivel biológico | 14 |
| Figura 17. Estructura del diamante y del adamantano..... | 15 |
| Figura 18. Representación del adamantano y benceno..... | 16 |
| Figura 19. Algunos tipos de derivados de adamantano..... | 17 |
| Figura 20. Carboxamidas derivadas de adamantano..... | 18 |
| Figura 21. Estructuras de la Cloroquina y Artemisinina | 19 |
| Figura 22. Trioxanos sintéticos análogos de la Artemisinina | 20 |
| Figura 23. Estructura de Desferrioxamina B (DFOB)..... | 21 |
| Figura 24. Derivados de DFOB | 21 |
| Figura 25. Estructura del tetrahidrocannabinol y derivados con grupos adamantano | 22 |
| Figura 26. Estructura de agonistas del receptor CB2..... | 23 |
| Figura 27. Antivirales más conocidos derivados del adamantano..... | 23 |
| Figura 28. Estructura de antiviral derivado de adamantano utilizado contra influenza A | 24 |
| Figura 29. Modelos de inhibición viral de derivados de adamantano..... | 25 |
| Figura 30. Agentes bloqueadores de receptores NMDA | 26 |
| Figura 31. Agentes tripanocidas derivados de adamantano | 26 |

| | |
|--|----|
| Figura 32. Esquema básico de ligandos polivalentes enlazados a un núcleo de adamantano..... | 27 |
| Figura 33. Estructura de compuesto polivalente con propiedades anticancerígenas | 27 |
| Figura 34. Estructura del sialil Lewis ^x y un azúcar mimético..... | 28 |
| Figura 35. Estructura de 2-hidroxi-3-[ω -(1-adamantil)alquil]-1,4-naftoquinonas | 28 |
| Figura 36. Métodos de síntesis de 2-hidroxi-3-[ω -(1-adamantil)alquil]-1,4-naftoquinonas..... | 29 |
| Figura 37. Híbrido de naftoquinona y adamantano | 30 |
| Figura 38. Formación de éteres naftoquinónicos | 32 |
| Figura 39. Alquilación de lawsona | 32 |
| Figura 40. Sitios de alquilación de la lawsona en medio básico..... | 32 |
| Figura 41. Esterificación viníloga de Fischer | 33 |
| Figura 42. Carrusel de reacciones utilizado para realizar síntesis en paralelo | 35 |
| Figura 43. Equipo utilizado para cromatografía Versa-flash y de columna | 35 |
| Figura 44. Algunos materiales comúnmente utilizados en ensayos biológicos..... | 55 |
| Figura 45. Hematocitómetro requerido para el conteo de células viables | 57 |
| Figura 46. Esquema general de los cuadrantes observados en el hematocitómetro | 58 |
| Figura 47. Comparación entre el borneol y algunos alcoholes derivados de adamantano..... | 63 |
| Figura 48. Formación del subproducto 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-naftoquinona | 63 |
| Figura 49. Mecanismo de formación del enol éter | 64 |
| Figura 50. Productos de la reacción de acoplamiento entre lawsona y [(1 <i>S</i>)-endo]-(-)-Borneol ... | 66 |
| Figura 51. Mecanismo de formación de borneno..... | 67 |
| Figura 52. Diagrama del equipo tradicional, Dean-Stark y el sistema eliminación de agua..... | 68 |
| Figura 53. Reacción de acoplamiento de 2,3-dicloro-1,4-naftoquinona con borneol | 70 |
| Figura 54. Mecanismo de adición-eliminación de un alcóxido a 2,3-dicloro-1,4-NQ..... | 71 |
| Figura 55. Síntesis del 2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-naftoquinona | 72 |
| Figura 56. Regeneración de lawsona a partir de 2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-NQ..... | 72 |
| Figura 57. Dipolos del 2-(2-adamantanoxi)-1,4-NQ y 4-(2-adamantanoxi)-1,2-NQ..... | 76 |
| Figura 58. Síntesis del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona..... | 78 |
| Figura 59. Estado de transición para la reacción entre la lawsona y el 1-adamantanol..... | 79 |
| Figura 60. Orbital ocupado de mayor energía (HOMO) de la lawsona | 80 |
| Figura 61. Posibles subproductos de la reacción entre la lawsona y el 1-adamantanol..... | 81 |
| Figura 62. Irreversibilidad en la formación de derivados en C3 de la lawsona | 81 |
| Figura 63. Estructura de la base de Hünig y 1-adamantilamina..... | 82 |

| | |
|--|-----|
| Figura 64. Mecanismo de formación del 2-(1-aminoadamantil)-1,4-naftoquinona..... | 82 |
| Figura 65. Reacciones de acoplamiento entre 2-bromo-1,4-NQ y 1-adamantilamina..... | 83 |
| Figura 66. Mecanismo de formación del 2-(1-adamantilmercapto)-1,4-naftoquinona..... | 85 |
| Figura 67. Estructura del 1-adamantanotiol en dos y tres dimensiones..... | 86 |
| Figura 68. Comparación estructural entre 2-(1-adamantilmercapto) y 2-(1-aminoadamantil)..... | 86 |
| Figura 69. Estructura de algunas de las bases nitrogenadas utilizadas..... | 88 |
| Figura 70. Ruta de síntesis para la formación del 3-(2-adamantil)-2-hidroxi-1,4-NQ..... | 91 |
| Figura 71. Reacciones realizadas para la síntesis del 3-(2-adamantil)-2-hidroxi-1,4-NQ..... | 93 |
| Figura 72. Transiciones electrónicas de las 1,4-naftoquinonas..... | 93 |
| Figura 73. Orbitales de frontera de 1,4-naftoquinonas 2-heterosustituidas..... | 94 |
| Figura 74. Espectros UV experimentales de los compuestos 75, 79 y 80..... | 95 |
| Figura 75. Frecuencias típicas de carbonilos en amidas, ésteres y tioésteres..... | 97 |
| Figura 76. Deslocalización de electrones en amidas y ésteres..... | 97 |
| Figura 77. Híbridos de resonancia de 2-heterosustituido-1,4-naftoquinona..... | 98 |
| Figura 78. Momentos dipolares de 1,4-naftoquinonas 2-heterosustituidas..... | 99 |
| Figura 79. Espectro IR calculado para el 2-(1-adamantilmercapto)-1,4-NQ..... | 100 |
| Figura 80. 1,4-Naftoquinona 2-heterosustituida..... | 100 |
| Figura 81. MEP de 2-(1-adamantilmercapto), 2-(1-aminoadamantil) y 2-(2-adamantanoxi)..... | 102 |
| Figura 82. Espectros UV del 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-NQ y 4-(2-endo-borneoxi)-1,2-NQ..... | 103 |
| Figura 83. Espectros UV del 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-NQ y 4-(2-endo-borneoxi)-1,2-NQ..... | 104 |
| Figura 84. Orbitales frontera de 2-metoxi-1,4-naftoquinona y 4-metoxi-1,2-naftoquinona..... | 105 |
| Figura 85. Espectro infrarrojo del 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona..... | 106 |
| Figura 86. Espectro infrarrojo del 4-(2-adamantanoxi)-1,2-naftoquinona..... | 107 |
| Figura 87. Naftoquinonas 2 y 4 O-alkil sustituidas..... | 107 |
| Figura 88. MEP de 4-metoxi-1,2-naftoquinona y 2-metoxi-1,4-naftoquinona..... | 108 |
| Figura 89. Espectro ¹ H-RMN del compuesto 77..... | 109 |
| Figura 90. Espectro ¹ H-RMN del compuesto 75..... | 110 |
| Figura 91. MEP del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-NQ y 2-(2-adamantanoxi)-1,4-NQ..... | 110 |
| Figura 92. Espectro IR del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-NQ..... | 111 |
| Figura 93. Espectro IR calculado para 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-NQ..... | 112 |
| Figura 94. Espectro IR del 2-(1-aminoadamantil)-1,4-NQ..... | 112 |
| Figura 95. Reducción <i>in vitro</i> de MTT a formazán..... | 115 |

| | |
|---|-----|
| Figura 96. Estructura de la Doxorubicina | 115 |
| Figura 97. Curva normalizada de viabilidad evaluada en células Vero | 116 |
| Figura 98. Estructura de genisteína..... | 117 |
| Figura 99. Compuestos que interfieren en la sensibilidad del ensayo de MTT | 118 |
| Figura 100. Disoluciones estándar de naftoquinonas y MTT..... | 119 |
| Figura 101. MTT en presencia de las distintas naftoquinonas | 120 |
| Figura 102. Ciclovoltamperogramas de los compuestos 79, 80, 75 y 2 | 122 |
| Figura 103. Ciclovoltamperogramas de los compuestos 75, 77 y 2..... | 123 |
| Figura 104. Reacción de luciferina en presencia de ATP y luciferasa | 124 |
| Figura 105. Estructura de la sulforodamina B (SRB) | 125 |
| Figura 106. Espectro Infrarrojo del 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-naftoquinona..... | 142 |
| Figura 107. Espectro Ultravioleta del 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-naftoquinona | 142 |
| Figura 108. Espectro ¹ H-RMN del 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-naftoquinona..... | 143 |
| Figura 109. Ampliación de ¹ H-RMN del 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-NQ..... | 144 |
| Figura 110. Ampliación de ¹ H-RMN del 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-NQ (región de bornil)..... | 145 |
| Figura 111. Espectro ¹³ C-RMN del 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-naftoquinona | 146 |
| Figura 112. Espectro Infrarrojo del 4-(2-endo-borneoxi)-1,2-naftoquinona..... | 147 |
| Figura 113. Espectro Ultravioleta del 4-(2-endo-borneoxi)-1,2-naftoquinona | 147 |
| Figura 114. Espectro ¹ H-RMN del 4-(2-endo-borneoxi)-1,2-naftoquinona..... | 148 |
| Figura 115. Espectro ¹³ C-RMN del 4-(2-endo-borneoxi)-1,2-naftoquinona | 149 |
| Figura 116. Espectro Infrarrojo del 2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-naftoquinona | 150 |
| Figura 117. Espectro Ultravioleta del 2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-naftoquinona..... | 150 |
| Figura 118. Espectro ¹ H-RMN del 2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-naftoquinona..... | 151 |
| Figura 119. Espectro ¹³ C-RMN del 2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-naftoquinona..... | 152 |
| Figura 120. Espectro Infrarrojo del 2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-naftoquinona..... | 153 |
| Figura 121. Espectro Ultravioleta del 2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-naftoquinona..... | 153 |
| Figura 122. Espectro ¹ H-RMN del 2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-naftoquinona..... | 154 |
| Figura 123. Espectro ¹³ C-RMN del 2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-naftoquinona..... | 155 |
| Figura 124. Espectro Infrarrojo del 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona | 156 |
| Figura 125. Espectro Ultravioleta del 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona..... | 156 |
| Figura 126. Espectro ¹ H-RMN del 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona | 157 |
| Figura 127. Ampliación de ¹ H-RMN del 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona | 158 |

| | |
|---|-----|
| Figura 128. Espectro ^{13}C -RMN del 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona..... | 159 |
| Figura 129. Espectro Infrarrojo del 4-(2-adamantanoxi)-1,2-naftoquinona..... | 160 |
| Figura 130. Espectro Ultravioleta del 4-(2-adamantanoxi)-1,2-naftoquinona..... | 160 |
| Figura 131. Espectro ^1H -RMN del 4-(2-adamantanoxi)-1,2-naftoquinona..... | 161 |
| Figura 132. Espectro ^{13}C -RMN del 4-(2-adamantanoxi)-1,2-naftoquinona..... | 162 |
| Figura 133. Espectro infrarrojo del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona..... | 163 |
| Figura 134. Espectro Ultravioleta del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona..... | 163 |
| Figura 135. Espectro ^1H -RMN del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona..... | 164 |
| Figura 136. Ampliaciones de ^1H -RMN del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona..... | 165 |
| Figura 137. Espectro ^{13}C -RMN del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona..... | 166 |
| Figura 138. DEPT-1 del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona..... | 167 |
| Figura 139. DEPT-2 del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona..... | 168 |
| Figura 140. Espectro HSQC del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona..... | 169 |
| Figura 141. Espectro Infrarrojo del 2-(2-aminoadamantil)-1,4-naftoquinona..... | 170 |
| Figura 142. Espectro Ultravioleta-Visible del 2-(2-aminoadamantil)-1,4-naftoquinona..... | 170 |
| Figura 143. Espectro ^1H -RMN del 2-(2-aminoadamantil)-1,4-naftoquinona..... | 171 |
| Figura 144. Espectro ^{13}C -RMN del 2-(2-aminoadamantil)-1,4-naftoquinona..... | 172 |
| Figura 145. Espectro Infrarrojo del 2-(1-adamantilmercapto)- 1,4-naftoquinona..... | 173 |
| Figura 146. Espectro Ultravioleta del 2-(1-adamantilmercapto)- 1,4-naftoquinona..... | 173 |
| Figura 147. Espectro ^1H -RMN del 2-(1-adamantilmercapto)- 1,4-naftoquinona..... | 174 |
| Figura 148. Espectro ^{13}C -RMN del 2-(1-adamantilmercapto)- 1,4-naftoquinona..... | 175 |
| Figura 149. Ciclovoltamperograma de 1,4-naftoquinona..... | 176 |
| Figura 150. Ciclovoltamperograma de 2-(1-aminoadamantil)-1,4-naftoquinona..... | 176 |
| Figura 151. Ciclovoltamperograma de 2-(1-adamantilmercapto)-1,4-naftoquinona..... | 177 |
| Figura 152. Ciclovoltamperograma de 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona..... | 177 |
| Figura 153. Ciclovoltamperograma de 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona..... | 178 |
| Figura 154. Curvas de viabilidad celular en MCF-7, para 2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-NQ..... | 179 |
| Figura 155. Curvas de viabilidad celular en MCF-7, para 2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-NQ..... | 179 |
| Figura 156. Curvas de viabilidad celular en MCF-7, para 2-(2-adamantanoxi)-1,4-NQ..... | 180 |
| Figura 157. Curvas de viabilidad celular en MCF-7, para 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-NQ..... | 180 |
| Figura 158. Curvas de viabilidad celular en MCF-7, para 2-(1-aminoadamantil)-1,4-NQ..... | 181 |
| Figura 159. Curvas de viabilidad celular en MCF-7, para 2-(1-adamantilmercapto)-1,4-NQ..... | 181 |

| | |
|---|-----|
| Figura 160. Curvas de viabilidad celular en Vero, para 2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-NQ..... | 182 |
| Figura 161. Curvas de viabilidad celular en Vero, para 2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-NQ..... | 182 |
| Figura 162. Curvas de viabilidad celular en Vero, para 2-(2-adamantanoxi)-1,4-NQ..... | 183 |
| Figura 163. Curvas de viabilidad celular en Vero, para 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-NQ | 183 |
| Figura 164. Curvas de viabilidad celular en Vero, para 2-(1-aminoadamantil)-1,4-NQ..... | 184 |
| Figura 165. Curvas de viabilidad celular en Vero, para 2-(1-adamantilmercapto)-1,4-NQ..... | 184 |
| Figura 166. Curva de viabilidad de células Vero a distintas concentraciones de DMSO..... | 185 |

Capítulo I

Las Quinonas y su rol biológico

1.1 Introducción a las quinonas

Quinonas es un término general para una familia de compuestos que son comunes en varios productos naturales y procesos bioquímicos endógenos o derivados del metabolismo oxidativo de hidroquinonas y/o catecoles (1,2-dihidroxibencenos). Estructuralmente, las quinonas se clasifican según el sistema aromático que presentan, de tal manera que se subdividen comúnmente en tres grupos: benzoquinonas, naftoquinonas y antraquinonas (Fig. 1).¹

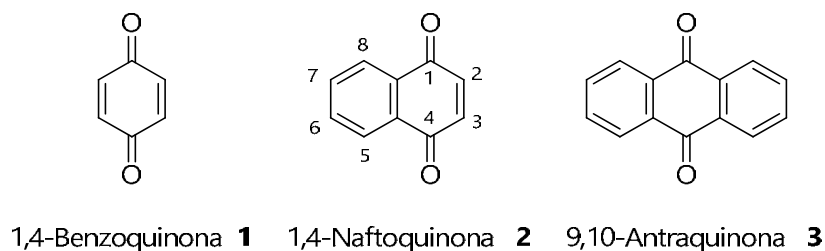


Figura 1. Clasificación estructural de las quinonas

Otra característica importante de las quinonas es que se les asocia la coloración o pigmentación de las plantas, hongos y animales que las contienen, esto debido a una alta conjugación electrónica del sistema quinona capaz de absorber luz visible. Desde la antigüedad, romanos y egipcios utilizaban alizarina (1,2-dihydroxiantraquinona) para teñir de rojo las telas de algodón, además de otros extractos quinoides.²

Por otra parte, tanto en animales como en plantas, las quinonas juegan un papel importante a nivel metabólico, tal es el caso de las plastoquinonas encargadas del transporte de electrones en las plantas durante la fotosíntesis y las ubiquinonas (coenzima Q) que se encuentran en la mayoría de los animales y que intervienen en el transporte de electrones en la mitocondria (Fig. 2).

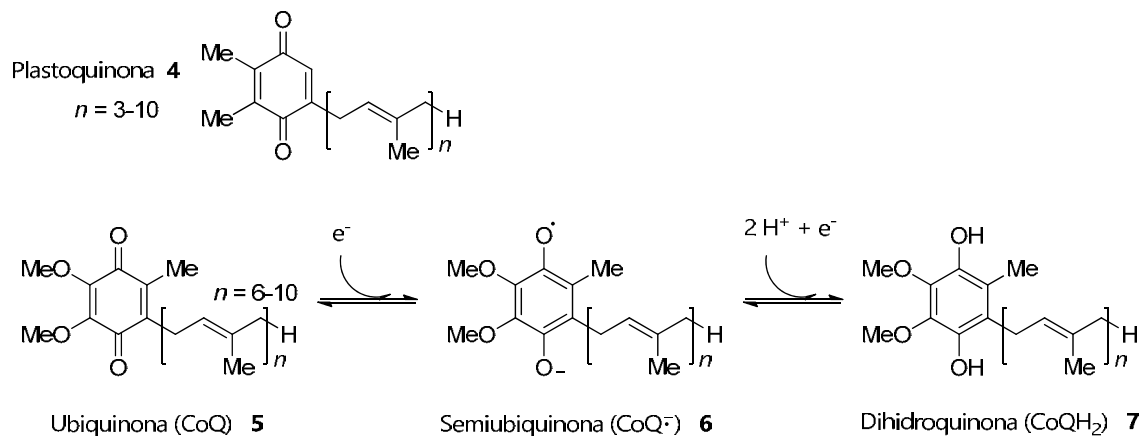


Figura 2. Quinonas acarreadoras de electrones en sistemas biológicos.

Otro ejemplo de la función metabólica de las quinonas, son las filoquinonas (vitamina K $_1$) que se encuentran en plantas y algas, y las menaquinonas (vitamina K $_2$) localizadas en bacterias y animales, cuya acción en el caso de los seres vivos, es participar en la carboxilación de los residuos de glutamato en determinadas proteínas para dar carboxiglutamato, modificación que permite a la proteína unir calcio, lo cual es esencial en la cascada de coagulación de la sangre (Fig. 3).³

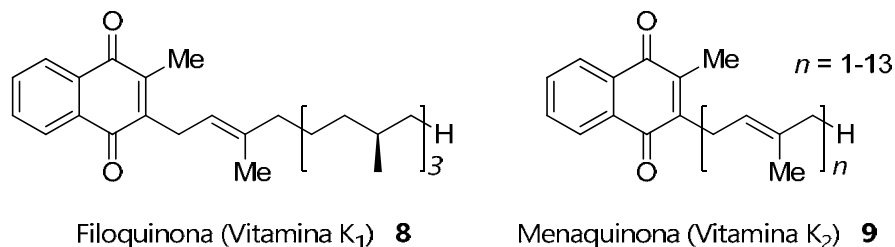


Figura 3. Estructura de filoquinonas y menaquinonas.

1.2 Interés general de las naftoquinonas

Las quinonas constituyen un grupo estructural de compuestos que exhiben un amplio rango de propiedades biológicas, por ejemplo, actividad antitumoral, antiinflamatoria, antimicótica, antileishmanial, antimalárica y tripanocida, las cuales han permitido su uso en distintas aplicaciones en el campo de la farmacia, medicina y agricultura.

La medicina tradicional alrededor del mundo ha utilizado plantas enriquecidas de quinonas para el tratamiento de diversas enfermedades.⁴ Por ejemplo, la medicina china ha utilizado la corteza del árbol de *Firmia plantanifolia* en el tratamiento del asma y reumatismo, cuyo principio activo es la firmianona (**10**, Fig. 4).⁵ Otra planta medicinal de origen chino es la *Rubia cordifolia*, de dicha planta se extrajo dos compuestos **11** y **12** potencialmente utilizables como antitumorales.⁶

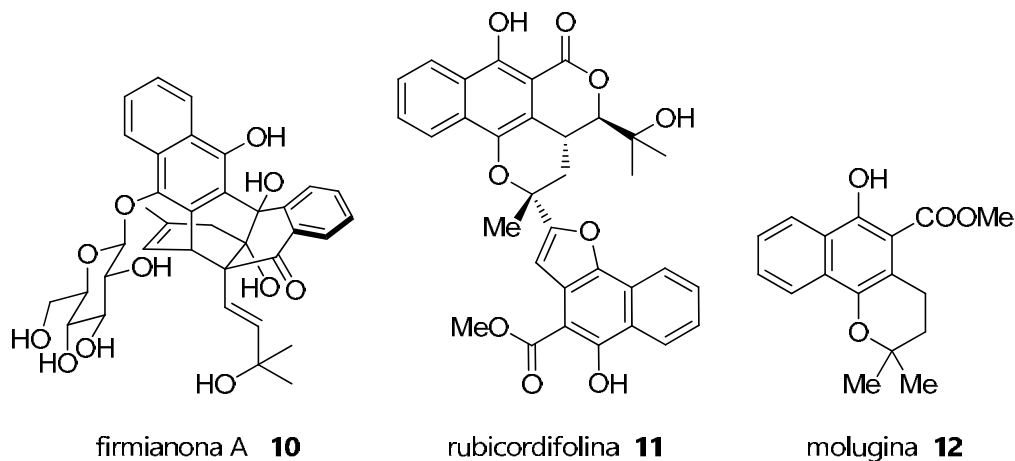


Figura 4. Hidronaftoquinonas extraídas de plantas medicinales.

Por otro lado, las naftoquinonas representan una subclase de quinonas que poseen un interés elevado ya que se han encontrado en la naturaleza múltiples ejemplos de actividad biológica (antiinflamatoria, antioxidante, antineoplásica, antiviral, entre otros) lo que ha constituido a esta familia de compuestos en una rama de estudio, tanto para la obtención de extractos naturales, como también en la síntesis, diseño y modificación de fármacos.⁴

A continuación se describe una serie de ejemplos que muestran la variedad de propiedades biológicas que ofrece esta familia.

1.2.1 Actividad antineoplásica

Las naftoquinonas exhiben una potente actividad antineoplásica, un claro ejemplo es el lapachol (**13**, Fig. 5) y sus derivados. Particularmente, el compuesto β -lapachona **14** que se extrae de las plantas del género *Tabebuia*, ha mostrado ser un nuevo inhibidor de la

ADN topoisomerasa I, así como también se ha encontrado que induce apoptosis en varias células cancerosas humanas, tales como cáncer de próstata,⁷ leucemia promielocítica HL-60⁸ y mielomas de varios tipos.⁹ Además, estudios muestran que la β -lapachona es mucho más potente que la camptotecina* en inducir un efecto citotóxico agudo en gliomas malignos en células humanas.¹⁰ Otros carcinomas y adenomas humanos, tales como el carcinoma de seno y ovario, el hepatoma celular y las células del tumor nasofaríngeal KB, muestran sensibilidad al efecto citotóxico de la β -lapachona.¹¹ Lo anterior sugiere que este compuesto es un buen candidato a añadirse en la quimioterapia contra el cáncer.

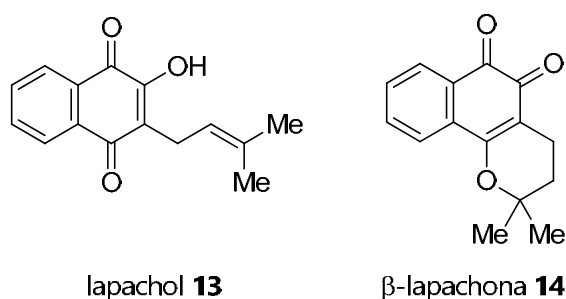


Figura 5. Estructura de lapachol y β -lapachona.

Otras naftoquinonas extraídas de fuentes naturales y que presentan actividad antineoplásica son la alkanina **15** y shikonina **16** (Fig. 6), estas actúan como potentes inhibidores de la topoisomerasa I.¹²

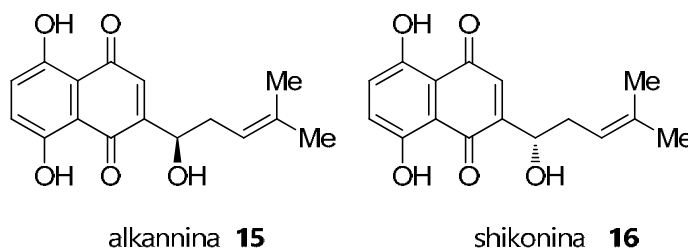
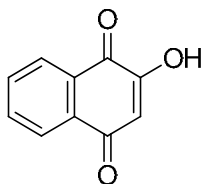


Figura 6. Naftoquinonas inhibidores de topoisomerasas I.

Por otra parte, un ejemplo de agentes antitumorales estudiados, es la serie de complejos metálicos con hidroxinaftoquinonas sintetizados por Gokhale y colaboradores,¹³ cuyos estudios citotóxicos contra cáncer de mama (MCF-7) revelan un aumento de actividad por parte de los complejos metálicos. Cabe destacar que el complejo de cobre y

* La camptotecina es el precursor de tocotecan e irinotecan, fármacos utilizados en quimioterapia.

lawsona (2-hidroxi-1,4-naftoquinona) (**17**, Fig. 7) presentó la mayor actividad entre la serie de compuestos analizados. Esta naftoquinona es un producto natural extraído de la *Lawsonia inermis*.



lawsona **17**

Figura 7. Estructura de la lawsona.

1.2.2 Actividad antiviral

Las poliquinonas son una nueva clase de inhibidores de proteasas del virus de inmunodeficiencia humana 1 (VIH-1) y enzimas esenciales para la duplicación del VIH, además las quinonas se perfilan como blancos importantes en el diseño de fármacos para el tratamiento del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Por ejemplo, la conocurvona (**18**, Fig 8), una naftoquinona trimérica que se extrae del *Conospermum* sp., al igual que su análogo trimérico sintético **19**, poseen actividad equipotente previniendo los efectos de citopático y duplicación de VIH en células humanas de T de linfoblastos (CEM-SS).¹⁴

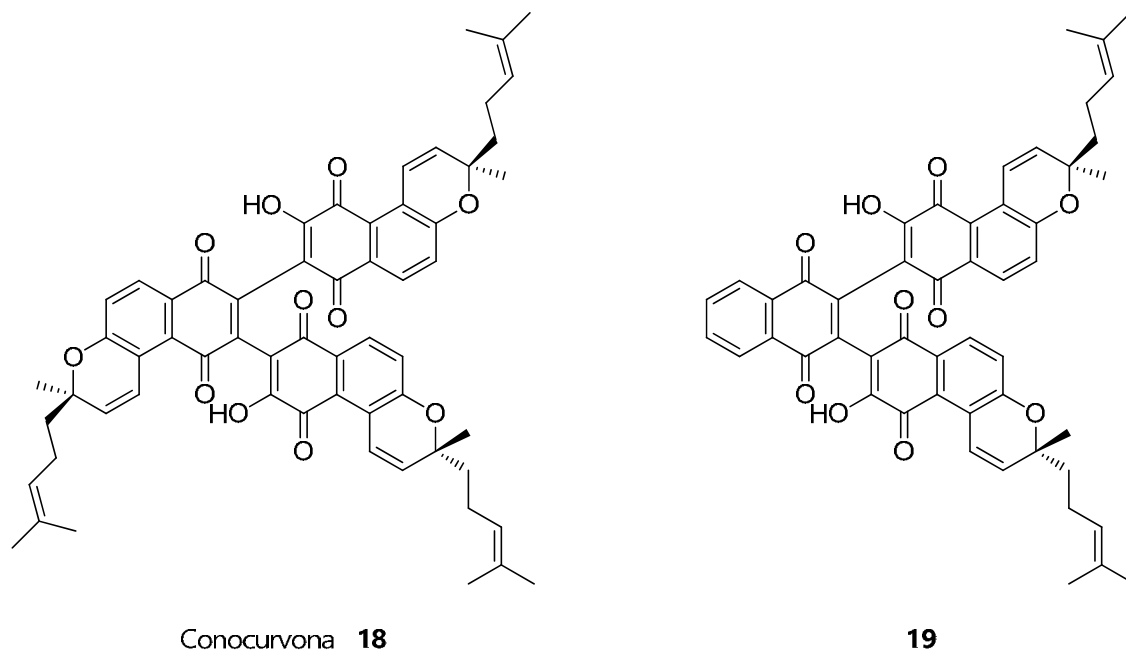


Figura 8. Estructura de la conocurvona y análogo sintético.

Por otro lado, algunas naftoquinonas, como la 1,4-naftoquinona **1**, vitamina K **9**, juglona **20** y plumbagina **21** (Fig. 9) inhiben moderadamente la actividad de la ribonucleasa H asociada con la transcriptasa reversa del VIH-1, por lo que disminuyen el crecimiento del virus.¹⁵

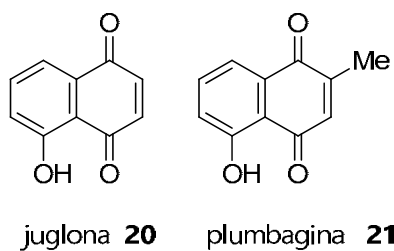


Figura 9. Estructura de dos inhibidores de Ribonucleasa H del VIH-1.

Por último, los compuestos **22** y **23** que se extraen de la planta medicinal *Rhinacanthus nasutus* utilizada en el sureste de Asia, son otros dos ejemplos de naftoquinonas con función antiviral. Según Kernan y colaboradores, estos compuestos poseen actividad inhibitoria contra el citomegalovirus humano (CMV).¹⁶

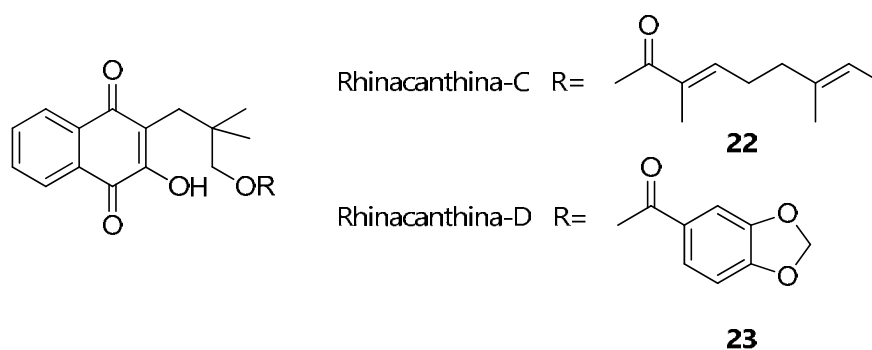


Figura 10. Antivirales extraídos del *Rhinacanthus nasutus*.

1.2.3 Actividad antifúngica

La creciente incidencia de resistencia a fungicidas por organismos patógenos en plantas, genera la necesidad de buscar nuevos agentes antifúngicos. Además, la química verde dirige las investigaciones a la búsqueda de agroquímicos que presenten toxicidad más baja tanto para el ambiente como para los mamíferos. Es por ello que los productos de origen natural se presentan como buenos candidatos de estudio.

Investigaciones se enfocan en el estudio del mecanismo de acción fungicida de las quinonas, por ejemplo, en el año 2003, Wedge y colaboradores¹⁷ estudiaron la actividad antifúngica de una serie de compuestos del tipo 1,4 y 1,2- naftoquinonas, 1,4-benzoquinonas y antraquinonas, extraídos de productos naturales. Los resultados de este estudio demostraron que las quinonas analizadas presentan actividad fungicida contra especies del género *Colletotrichum* asociadas a menudo con problemas graves para la fresa, tanto en la producción de la planta como en el fruto.

Comercialmente, es posible encontrar quinonas que se utilizan como fungicidas, tal es el caso de la diclona (2,3-dicloro-1,4-naftoquinona) (**24**, Fig. 11) que se emplea como agroquímico con acción fungicida (<http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/fung-nemat/acetacid-etridiazole/dichlone/fung-prof-dichlone.html>)

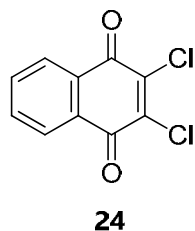


Figura 11. Estructura de la diclona.

1.2.4 Actividad antibacterial

Existe una gran variedad de ejemplos de naftoquinonas que presentan actividad antibacterial. Algunos de ellos son la diospirina **25** e isodiospirina **26** (Fig. 12) aisladas de la corteza del *Diospyros piscatonia* y *Euclea natalensis*. Estos compuestos han mostrado tener una amplio espectro de actividad antibacterial contra *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella choleraesuis*, *Mycobacterium chelonae* y *Mycobacterium tuberculosis*.¹⁸

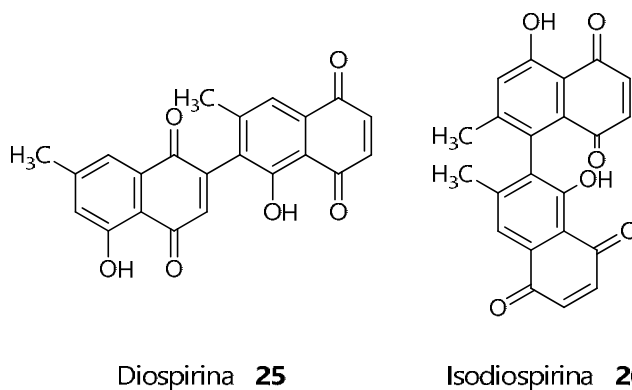


Figura 12. Estructura de la diospirina e isodiospirina.

Otro ejemplo lo representan los compuestos naftoquinónicos extraídos de *Rubia tinctorum* y *Juglans regia*, los cuales fueron estudiados por Mehrabian y colaboradores,¹⁹ detectando efectos antimicrobianos en *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* y *Bacillus mycoides*.

1.2.5 Actividad protozoocida

La actividad protozoocida de derivados de quinonas ha sido evaluada *in vitro* contra *Plasmodium*, *Leishmania*, *Trypanosoma*, *Trichomonas* y *Toxoplasma*. Ejemplos de algunos de esos derivados se describirán más adelante.

La malaria es una enfermedad de origen parasitario, transmitida a través del mosquito hembra *Anopheles*. Existen cuatro especies de *Plasmodium* (*Plasmodium ovale*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium malariae*) que producen la malaria en humanos, pero sin duda la infección causada por *Plasmodium falciparum* es la más peligrosa, ocasionando la muerte en muchos casos. Los principales síntomas de esta enfermedad son: fiebre, escalofríos y anemia (<http://www.rcs.org/Education/EiC/issues/2006July/Artemisinin.asp>)

Esta enfermedad tropical mata alrededor de dos millones de personas anualmente y presenta como inconveniente, que la población con riesgo de contraerla, se ha incrementado a causa de las dificultades que existen de erradicar el vector del mosquito en regiones endémicas y la resistencia del parásito a los antimaláricos comunes.

Desde los años 1940, la búsqueda de moléculas naturales y sintéticas útiles en el tratamiento de la malaria ha sido una meta importante.²⁰ Ciertas moléculas en uso actualmente para el tratamiento contra la malaria son las naftoquinonas: lapachol (natural) **13** y atovaquona (sintético) (**27**, Fig. 13).²¹ Su efectividad sin embargo, se ha visto afectada debido a la resistencia generada por el parásito contra estos fármacos.

El lapachol [2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona] se extrae del árbol conocido como lapacho y se ha usado como agente antimalárico, dada su fuerte actividad contra el *Plasmodium falciparum*.²² Este compuesto, presenta además otras numerosas y diversas aplicaciones en el ámbito de las ciencias de la salud como agente antitumoral, antibiótico, antiinflamatorio y antiulceroso,²³ siendo por ello motivo de numerosos estudios, observándose que es muy bien considerado por su actividad biológica y como

agente anticancerígeno²⁴ y con potencial actividad contra el *Trypanosoma cruzi*, agente causante del mal de Chagas.²⁵

Por su parte, la atovaquona es un producto sintético que inhibe la deshidroorotato deshidrogenasa malárica de *P. vivax* a través de la inhibición del transporte electrónico.²⁶ Además, es un agente quimioterapéutico usado en el tratamiento de neumonía causada por *Pneumocystis carinii*, en algunos pacientes inmunocomprometidos.²⁷

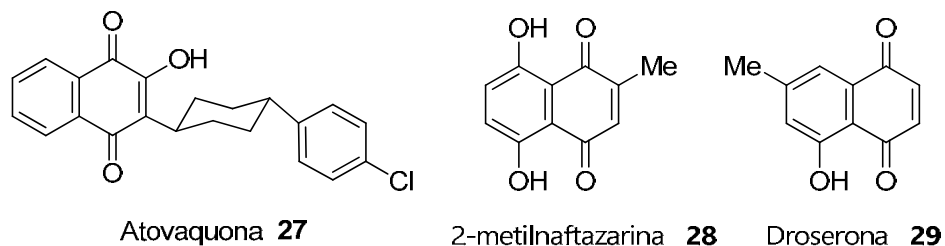


Figura 13. Estructura de algunos antimaláricos conocidos.

Otros compuestos de origen natural con potencial antimalárico son la plumbagina **21**, 2-metilnaftazarina **28** y droserona **29** (Fig. 13), todos ellos se extraen de la corteza de *Nephentes thorelii* (planta usada en la medicina tradicional).²⁸

Kapadia y colaboradores²⁹ han investigado la actividad contra *Plasmodium falciparum* en una serie de aminonaftoquinonas. Entre esos compuestos, el 2-amino-3-cloro-1,4-naftoquinona se caracterizó por ser el más potente. Por otro lado, también se han estudiado una serie de naftoquinonas monoméricas y diméricas que ofrecen potencial actividad para el tratamiento de infecciones por *Leishmania*.³⁰

Adicionalmente, gran variedad de naftoquinonas muestran un destacada actividad antitripanosomal, tal es el caso de cuatro compuestos aislados de *Kigelia pinnata*, la 2-(1-hidroxietil)-naftol[2,3-b]-furan-4,9-quinona, isopinatal, kigelinol and isokigelinol.³¹ En estos compuestos se evaluó la actividad antitripanosomal *in vitro* contra *Trypanosoma brucei brucei* y *Trypanosoma brucei rhodesiense*. También se determinó la actividad de naftoquinonas extraídas de *Calceolaria sessilis* D. C., donde se observó un incremento temporal en el consumo de oxígeno en *Trypanosoma cruzi*, lo que sugiere la generación y participación de radicales libres.³² Lo anterior, generó como siguiente objetivo, analizar la

influencia de potenciales de reducción en la actividad de tripanocida, por lo que se estudió una serie de quinonas *in vitro* contra *Trypanosoma cruzi*.³³ Ejemplos de potentes inhibidores de Tripanotona reductasa de *Trypanosoma cruzi* que se ha sintetizado pertenecen a las series de 1,4-naftoquinonas derivadas de la menaquinona **9**, plumbagina **21** y juglona **20**.³⁴

En este mismo campo, naftoquinonas extraídas de madera de árboles pertenecientes a las familias Bignoniaceae y Verbenaceae han sido sujeto de estudios interdisciplinarios desde los setenta, cuando la Universidad Federal de Rio de Janeiro, lanzó un programa en química de productos naturales activos contra enfermedades endémicas. Específicamente, De Moura y colaboradores,³⁵ tienen descrita la síntesis de cinco naftoimidazol derivados de este programa y su respectiva actividad hacia *Trypanosoma cruzi*.

Cabe mencionar que también se ha reportado la actividad tripanocida de los derivados alilo de lawsona **17** (compuesto inactivo contra *Trypanosoma cruzi*). Tal parece que la introducción del grupo alilo en la lawsona provoca que los derivados O-alil-lawsona y C-alil-lawsona posean actividad contra el parásito en cuestión.³⁶

Finalmente, la actividad de dos 3-alquil-sustituido-2-hidroxi-1,4-naftoquinonas ha sido evaluada *in vitro* contra *Toxoplasma gondii* y en modelos murinos de toxoplasmosis aguda. Los resultados obtenidos indican que el tratamiento con estos compuestos tiene un futuro prometedor.³⁷

El panorama de las investigaciones de compuestos naftoquinónicos es claro, cada vez son más las publicaciones que aparecen, refiriéndose a estudios de actividad realizados con naftoquinonas, ya sea de origen natural, sintético o productos derivados, por lo tanto debe destacarse la importancia de seguir buscando en esta familia de compuestos, posibles fármacos destinados a combatir las múltiples enfermedades que aquejan a las personas.

1.3 Otros usos de las naftoquinonas

La utilidad de las quinonas de origen natural como tintes, se conoce desde tiempos antiguos. Un ejemplo, son las hojas de *Lawsonia inermis* (popularmente conocida como henna), que han sido utilizadas como tinte de piel y cabello por milenios, su uso data desde alrededor de 1400 A.C.³⁸ El componente principal de dichas hojas es la lawsona (2-hidroxi-1,4-naftoquinona) **17**, mencionada anteriormente por la actividad tripanocida y antitumoral que presentan ciertos derivados de este compuesto.

Actualmente, se investiga la capacidad de la lawsona para revelar huellas dactilares en superficies de papel. Este compuesto genera impresiones de color marrón, además de presentar fotoluminiscencia (Fig. 14). Por lo tanto, la lawsona se perfila como el primero de una nueva clase de reactivos que podrían utilizarse en la detección de huellas.³⁹

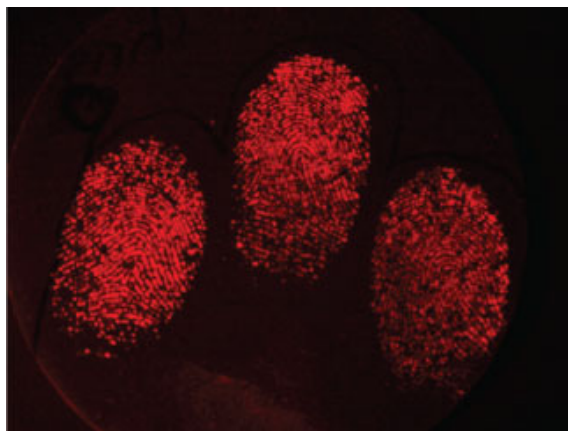


Figura 14. Huellas impresas después de tratamiento con una disolución de Lawsona.³⁹

1.4 Mecanismo de acción de las quinonas a nivel biológico

El grupo naftoquinona es una parte funcional importante en el área de productos naturales bioactivos. Se representa en muchas clases distintas de moléculas biológicamente activas incluyendo la familia de la vitamina K, antibióticos y drogas anticancerígenas. La difundida ocurrencia de la funcionalidad de las naftoquinonas en la naturaleza ha conllevado al desarrollo de muchos enfoques sintéticos para estas moléculas, la mayoría de los cuales dependen de la oxidación de un fenol sustituido apropiado o de la funcionalización de una naftoquinona preexistente.

En términos de reactividad química, las naftoquinonas se caracterizan principalmente por actuar como agentes oxidantes. Por otra parte, las naftoquinonas también pueden actuar como "aceptores de Michael", es decir, el grupo carbonilo α,β -insaturado de la quinona puede sufrir reacciones de adición nucleofílica 1,4 (Fig. 15); sin embargo, esto es más probable que ocurra en naftoquinonas que posean un grupo extractor de densidad electrónica en la posición 2.

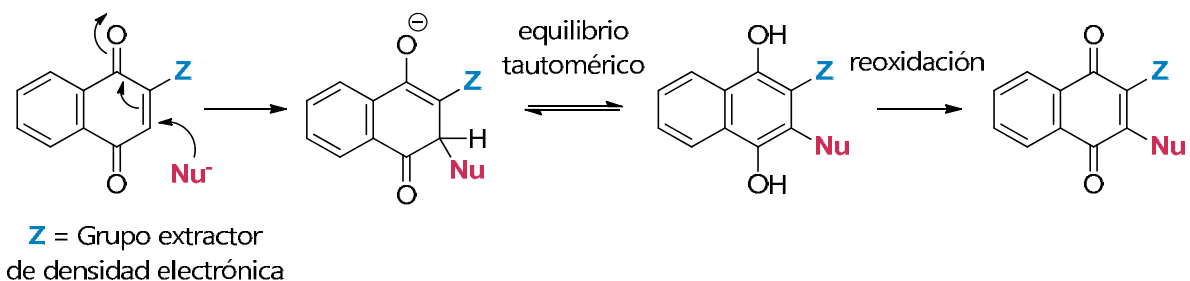


Figura 15. Adición conjugada a una naftoquinona.

Al nivel biológico, algunas naftoquinonas representan una clase de intermediario citotóxico, cuyo mecanismo de acción es muy complejo. Las naftoquinonas se caracterizan por ser moléculas altamente activas desde el punto de vista de reacciones de tipo oxidación-reducción, y pueden participar en ciclos de oxidación-reducción (de tipo enzimáticos o no enzimáticos) a través de sus semiquinonas radicalarias (Fig. 16), lo que conlleva a la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés), incluyendo superóxido, peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y finalmente radical hidroxilo (este se genera por la reacción del peróxido de hidrógeno, formado por dismutación espontánea o enzimática de aniones radicalarios superóxido, los cuales en presencia de trazas de metales de transición como el cobre o el hierro, producen radicales hidroxilo).⁴⁰

La producción de ROS puede causar estrés oxidativo severo dentro de la célula, a través de la formación de macromoléculas celulares oxidadas, incluyendo lípidos, proteínas y ácidos desoxirribonucleicos. Por ejemplo, la oxidación de residuos de cisteína en las proteínas lleva a la formación de puentes de disulfuro que pueden alterar de forma dramática la estructura de las proteínas y por tanto su función, o también la oxidación de

GSH (Glutati3n) a GSSG (Glutati3n de disulfuro) que conlleva una disminuci3n en la concentraci3n celular de GSH.⁴¹

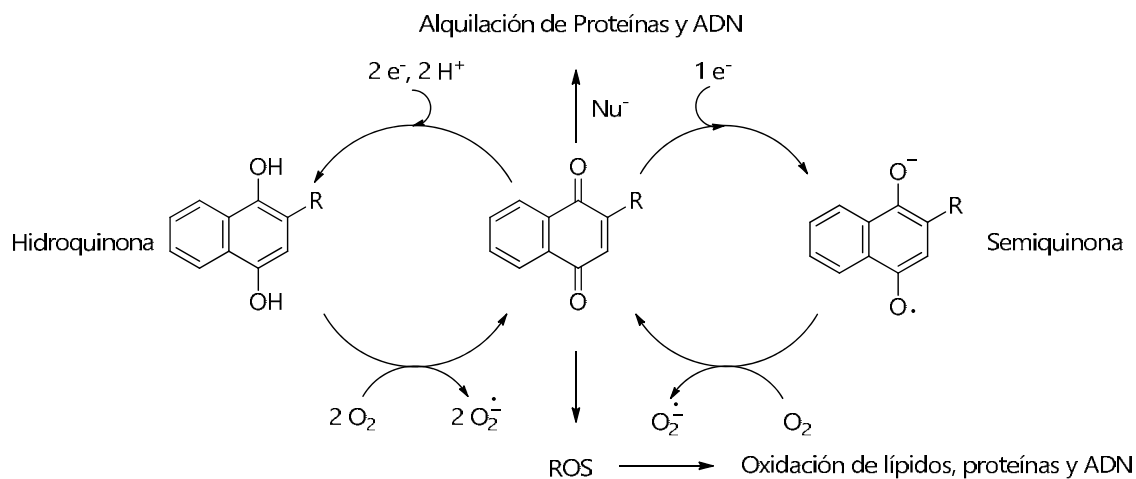


Figura 16. Mecanismo de acci3n de las naftoquinonas a nivel biol3gico.

De forma alternativa, en las naftoquinonas que actúan como aceptores de Michael, el daño molecular se debe a que estas especies interactúan con nucle3filos celulares. Por ejemplo, algunas naftoquinonas forman aductos con nucle3filos que poseen azufre, tales como el GSH o residuos de ciste3na en las prote3nas, lo que produce una disminuci3n de GSH y/o alquilaci3n de prote3nas que conlleva a la desactivaci3n de la prote3na. Adem3s, algunas otras quinonas pueden reaccionar con grupos amino nucleof3licos presentes en las prote3nas o en el ADN.⁴²

En ambos mecanismos, la actividad de los compuestos depende de los grupos conectados al n3cleo de la naftoquinona, afect3ndole el potencial redox y su adici3n conjugada. Esta es la raz3n, por la cual el inter3s de desarrollar nuevas familias de compuestos, es una meta com3n en el estudio de actividad biol3gica de las naftoquinonas.

Capítulo II

Adamantano y sus derivados

2.1 Generalidades del adamantano

En 1933, se logró aislar un componente cristalino del petróleo de Hodinin, en Checoslovaquia.⁴³ A dicho compuesto se le denominó adamantano, cuyo nombre proviene del vocablo griego para "diamante", debido a la estructura que presenta (Fig. 17)

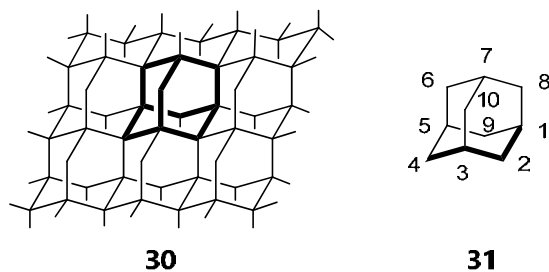


Figura 17. Estructura del diamante, **30** y del adamantano, **31**.

El adamantano exhibe propiedades físicas, químicas y estructurales muy peculiares. Su estructura molecular, está conformada por cuatro sillas de ciclohexano fusionadas, en su totalidad la molécula presenta alta rigidez y simetría (T_d), lo cual influye en su punto de fusión ($269\text{ }^\circ\text{C}$, inusual para un hidrocarburo).⁴³ Teóricamente, esta estructura altamente simétrica se encuentra libre de tensión torsional y angular. Experimentalmente, se sabe a partir de difracción de rayos X, que las distancias de enlace C-C son de $1,54 \pm 0,01\text{ \AA}$ y los ángulos de enlace C-C-C son de $109,5^\circ \pm 1,5^\circ$, lo cual corrobora la geometría tetraédrica que le brinda gran estabilidad al adamantano.⁴⁴

En términos topológicos, la estructura tridimensional del adamantano es una esfera de diámetro de alrededor $6,0\text{ \AA}$.⁴⁵ Comparado con el benceno (Fig. 18d), el adamantano ocupa un volumen mayor y no presenta efecto "Janus", es decir, a diferencia del benceno, su tamaño efectivo no depende de la orientación en el espacio.

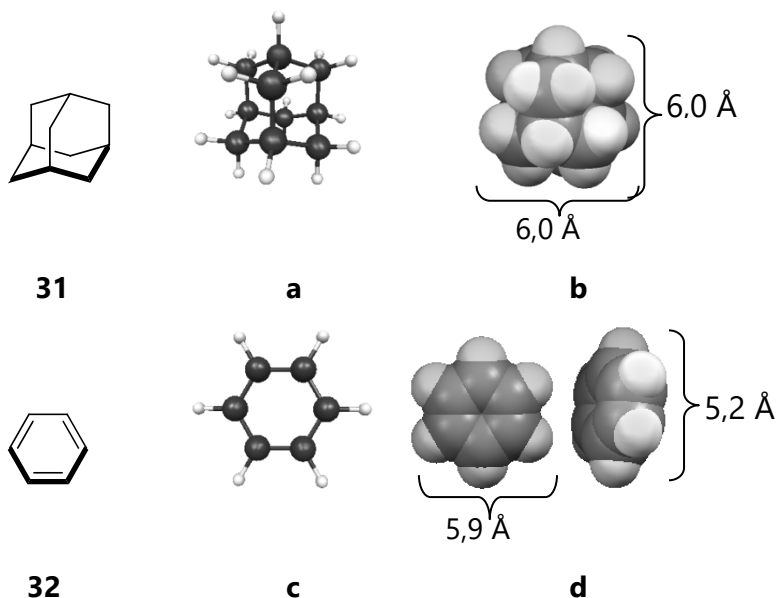


Figura 18. Representación del adamantano **31** y benceno **32** en modelo de bolas y varillas (a, c) y semiesferas (b, d), respectivamente.

Con respecto a la solubilidad del adamantano en agua, como es de esperarse, presenta un valor elevado de constante de partición octanol-agua ($\log P +5,2$), lo cual indica que es completamente insoluble en agua.

En lo que se refiere a la química del adamantano, al constituirse por solo carbonos de tipo alifáticos e hidrógenos, este compuesto es excepcionalmente inerte. También, al no poseer hidrógenos primarios o metílicos, restringe el grado de reactividad de la molécula (e.g. reacciones de oxidación). Adicionalmente, el sistema tricíclico inhibe reacciones de tipo eliminación o transposición que pueden ocurrir en otros sistemas reactivos. Sin embargo, es posible formar gran variedad de mono, di, tri y tetra derivados (donde los sustituyentes generalmente se ubican en las cabezas de puente), proporcionando así un núcleo tetraédrico único (Fig. 19).

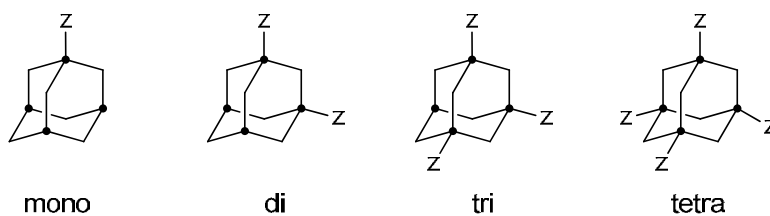


Figura 19. Algunos tipos de derivados de adamantano (los átomos de carbono resaltados por puntos representan las cabezas de puente del núcleo tetraédrico).

2.2 Usos principales de los derivados de adamantano en el campo de la medicina

Las propiedades químicas y físicas inusuales del adamantano, despertaron el interés de la población científica alrededor de los años 40.⁴⁶ Para 1973, se publicó acerca de algunos usos de los derivados del adamantano en el campo de la medicina, tales como agentes sedantes, antitumorales, hipoglicémicos, antiarrítmicos, antidepresivos y en el tratamiento contra la enfermedad de Parkinson, entre otros.⁴⁷ Más tarde, se publicó el uso del ácido adamantanocarboxílico en la modificación de fármacos y compuestos biológicamente activos.⁴⁸ De ahí en adelante, se siguió estudiando el efecto de esta pieza molecular en el diseño y modificación de fármacos y en la actualidad se continúa investigando.

A continuación se describe una serie de ejemplos que muestran la versatilidad y propiedades que ofrece la estructura de adamantano a nivel biológico.

2.2.1 Adamantano como agente modificador de propiedades ADME

Una de las principales propiedades que se alteran al adicionar un grupo adamantano en una molécula, es su carácter lipofílico o hidrofóbico. Esta modificación en el campo del diseño de fármacos afecta de forma significativa las propiedades ADME (Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción).

Con respecto a la absorción y distribución, la facilidad con que se atraviese una membrana celular, como la barrera hematoencefálica, BBB por sus siglas en inglés,[†] es un aspecto importante en la modulación del Sistema Nervioso Central (SNC). Es sabido que el 98% de los fármacos candidatos a emplearse en el SNC, no cruzan de forma eficiente la BBB.⁴⁹

Uno de los primeros ejemplos que muestra las ventajas del grupo de adamantano, son los sedantes basados en carboxamidas (Fig. 20). El 1-adamantilcarboxamida **33** y sus derivados han mostrado una potente actividad sedativa, la cual ha sido atribuida a la distribución a través de la BBB, favorecida por la estructura de adamantano.⁵⁰ Tal es el caso de la Dopamantina **34**, fármaco anti-Parkinson que ha pasado por ensayos clínicos.⁵¹ Y la N-adamantilcarboxamida **35**, la cual presenta una elevada actividad neuropsicotrópica.⁵¹

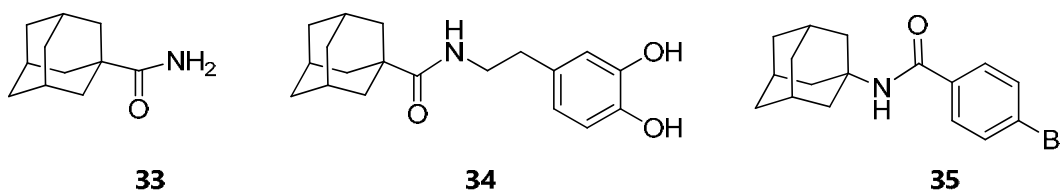


Figura 20. Carboxamidas derivadas de adamantano.

La adición del grupo adamantano como “acarreador lipofílico” permite que fármacos que presentan baja absorción, puedan penetrar más fácilmente la BBB y se incremente de esta forma la concentración del compuesto en el tejido cerebral. Actualmente se estudia el uso de prodrogas acopladas a adamantano para aumentar su absorción en el cerebro.⁵²

En 1965 Rapala y colaboradores⁵³ formaron adamantil ésteres de esteroides y observaron una mejora en el metabolismo de los derivados que incluían adamantano. Especialmente 19-nortestosterona-17-adamantanoato mostró en pruebas *in vivo* una prolongada duración de la actividad anabólica mucho más que otros ésteres alifáticos. Cabe mencionar que estudios adicionales mostraron que el aumento de actividad no se debía al cambio de compuestos alifáticos por 19-nortestosterona. En este caso, la resistencia del

[†]BBB = Blood-Brain Barrier

compuesto a nivel metabólico puede atribuirse a la ausencia de enzimas naturales o anticuerpos que puedan enlazarse efectivamente a la estructura o a la estabilidad que ofrece el adamantano (resistente a la oxidación, eliminación o hidrólisis).

Otro de los retos de la química medicinal es mejorar la velocidad con que un fármaco sea degradado o excretado del organismo y como afecta ese factor la eficacia del fármaco. Un ejemplo de ello es la artemisinina **37**, un compuesto utilizado en China desde 1960, obtenido de la hierba *Artemisia annua*.⁵⁴ Este compuesto se presenta como una buena opción contra la malaria, puesto que el parásito ha desarrollado resistencia a otros antimaláricos utilizados como la cloroquina **36** (Fig. 21).

El mecanismo de acción de este endoperóxido consiste en causar estrés oxidativo en los parásitos, específicamente, el grupo peróxido en contacto con el hierro II presente (liberado de la digestión de la hemoglobina por parte de los parásitos), es reducido para formar intermediarios radicalarios con características citotóxicas que destruyen el parásito. Sin embargo, su alta solubilidad en agua implica una rápida excreción del cuerpo (la vida media en plasma sanguíneo es aproximadamente una hora). Una mejora en las propiedades ADME es formar derivados semisintéticos de la artemisinina, manteniendo el sistema trioxano intacto.⁵⁵ Estos derivados altamente hidrofóbicos (logP 4-8) generalmente prolongan la eficacia oral de los fármacos. No obstante, los productos semisintéticos poseen un costo elevado y no son competitivos en términos económicos con respecto a la extracción de la fuente natural.

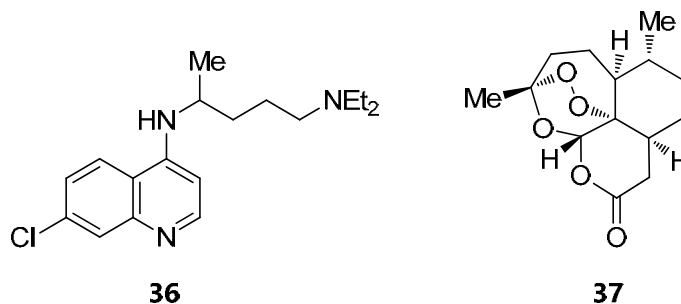


Figura 21. Estructuras de la Cloroquina **36** y Artemisinina **37**.

La síntesis de compuestos que contengan el sistema trioxano pero que sean más lipofílicos (por ejemplo que incluyan al grupo adamantano) sugiere mejoras en las propiedades ADME de potenciales agentes antimaláricos. Tal es el caso del compuesto **38** (Fig. 22) que ofrece como ventajas una síntesis sencilla y de bajo costo, además de toxicidad baja y estabilización del grupo 1,2,4-trioxolano.⁵⁶ A pesar de las ventajas mencionadas anteriormente, la lipofilidad elevada (<1 µg/mL en disolución acuosa) que presenta esta molécula hace que sea rápidamente excretado por un proceso metabólico de tipo oxidativo.⁵⁷ En investigaciones posteriores, se consideró además las reglas de 5 de Lipinski para optimizar el diseño del posible fármaco,⁵⁸ lo cual generó como resultado el compuesto **39**, el cual se encuentra en este momento en estudios clínicos en fase dos en África.⁵⁹

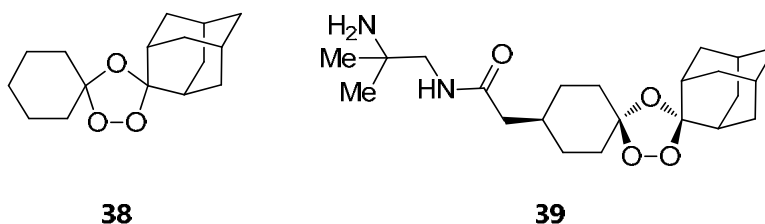


Figura 22. Trioxanos sintéticos análogos de la Artemisinina.

La talasemia es un trastorno sanguíneo hereditario, en el cual el cuerpo produce una forma anormal de hemoglobina. Este trastorno ocasiona destrucción excesiva de los glóbulos rojos y anemia (<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/000587.htm>). Los pacientes con formas severas de β -talasemia, requieren transfusiones de sangre de 2 a 4 veces por semana, a lo largo de toda su vida.⁶⁰ Estas transfusiones regulares de sangre aumentan el catabolismo macrófago-inducido de grupo hemo, que libera hierro en el suero. La falta de un activo mecanismo de excreción de hierro genera ROS que puede causar disfunción de corazón, hígado y páncreas. Es por ello que la búsqueda de nuevos y mejores agentes quelantes de hierro que eliminen el exceso de este metal en el organismo, es de suma importancia para mejorar la calidad de vida de los pacientes que poseen β -talasemia.⁶¹

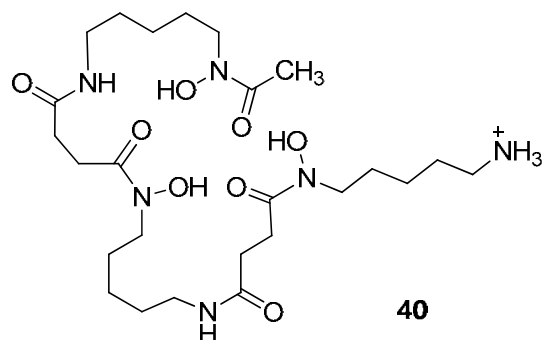


Figura 23. Estructura de Desferrioxamina B (DFOB).

Uno de los agentes quelantes que actualmente se utiliza es el desferrioxamina B (DFOB, **40**, Fig. 23). El mesilato de DFOB se suministra a los pacientes vía subcutánea o intravenosa alrededor de 60 horas por semana, lo cual genera un impacto negativo en la calidad de vida de los pacientes. Además, el DFOB por su carácter hidrofílico (solubilidad en agua 0,4 mol/L) tiene dificultad para atravesar membranas fosfolipídicas hacia fuentes intracelulares de hierro libre y es eliminado rápidamente del organismo.⁶²

Con el fin de mejorar las propiedades ADME del DFOB, recientemente Codd y colaboradores⁶³ sintetizaron una serie de derivados de DFOB que incluyen un grupo de carácter lipofílico (adamantano) (**41-43**, Fig. 24). Los derivados obtenidos mostraron un aumento en la movilidad intracelular y una reducción significativa en la citotoxicidad de los compuestos en diferentes tipos de células. De manera que estos nuevos compuestos prometen ser adecuados en el tratamiento de desórdenes ligados a la sobrecarga de hierro en el organismo.

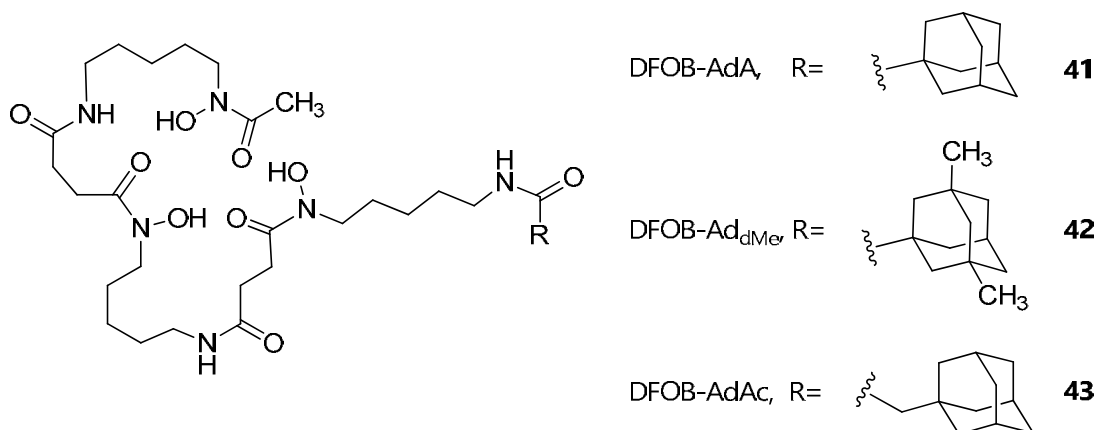


Figura 24. Derivados de DFOB.

2.2.2 Grupo Adamantano como sitio de unión hidrofóbico

Los cannabinoides son considerados buenos analgésicos, especialmente para el dolor crónico. La estructura de cannabinoides naturales (como Δ^8 -THC **44**, Fig. 25) tiene relación con dos tipos de receptores CB1 y CB2.[‡] Particularmente, se desarrollan agonistas de CB2, con el fin de utilizarse en el tratamiento de esclerosis múltiple y en la prevención de Alzheimer (<http://www.ucm.es/info/bioqcan/>). Por esta razón, la búsqueda de nuevos inhibidores específicos de CB2 es una importante meta en la química medicinal.

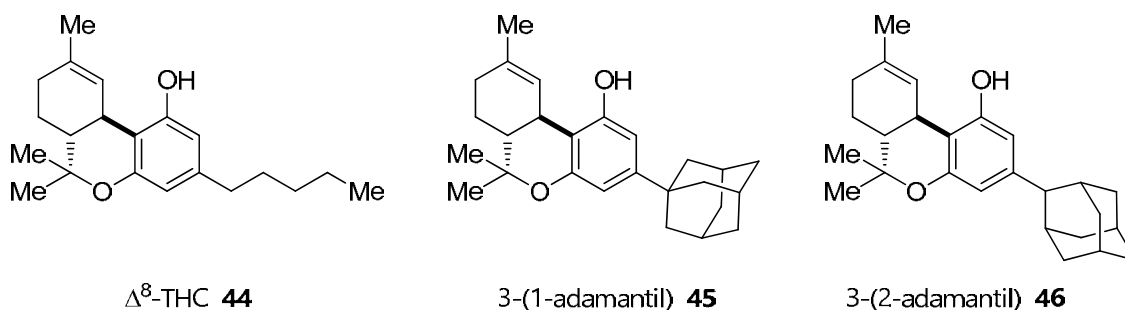


Figura 25. Estructura del tetrahidrocannabinol y derivados con grupos adamantano.

Estudios recientes han modificado la estructura del Δ^8 -THC, uno de los cambios fue sustituir el grupo pentilo conectado a C3 del anillo aromático por un grupo 1-adamantilo **45** y su regioisómero 2-adamantilo **46**. El análisis de selectividad de estos nuevos agonistas con relación a los receptores CB1 y CB2, mostró mayor selectividad del compuesto **45** para CB1 que el compuesto **46**, y en el caso del receptor CB2, el compuesto **46** mostró ser más selectivo.⁶⁴ Estos resultados sugieren que la orientación del grupo adamantano en la molécula, es vital para la interacción hidrofóbica que forma el agonista en el sitio activo del receptor cannabinoide.⁶⁵

Otro tipo de agonistas de CB2 desarrollados, son los que poseen de estructura base al 1,8-naftopiridina-4(1H)-on-carboxamida⁶⁶ (**47**, Fig. 26). En particular, la inclusión del adamantano como sustituyente de la quinolona (**48**, Fig 26),⁶⁷ mejora la selectividad del

[‡]El receptor CB1 se localiza principalmente en el cerebro (SNC), pero también en pulmones, hígado y riñones. El receptor CB2 se ubica primordialmente en el sistema inmunológico y células de hematopoyesis.

compuesto para CB2, posiblemente al aumentar las interacciones hidrofóbicas entre el compuesto y el sitio activo.⁶⁸

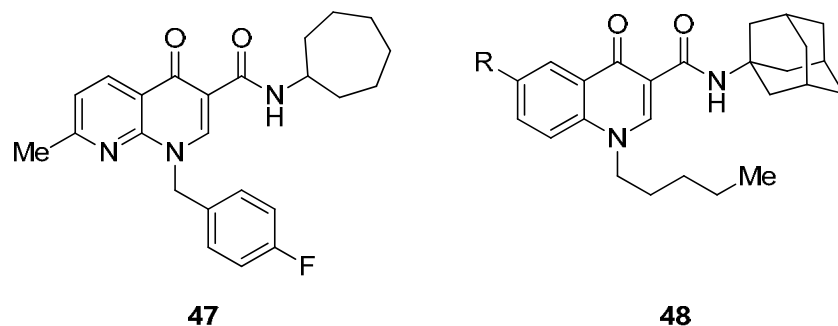


Figura 26. Estructura de agonistas del receptor CB2.

2.2.3 El grupo adamantano y su relación con canales iónicos

En 1960, se descubrió el efecto inhibitorio[§] del 1-aminoadamantano (nombre común amantadina, **49**) contra virus tales como influenza y rubéola.⁶⁹ Comercialmente se utiliza el clorhidrato de amantadina (conocida como midantano).⁷⁰ Luego de este descubrimiento, se han sintetizado muchos otros compuestos análogos que poseen actividad antiviral, tal es el caso de la Rimantadina (α -metil adamantanometanamina, **50**) y el compuesto **51**.⁷¹

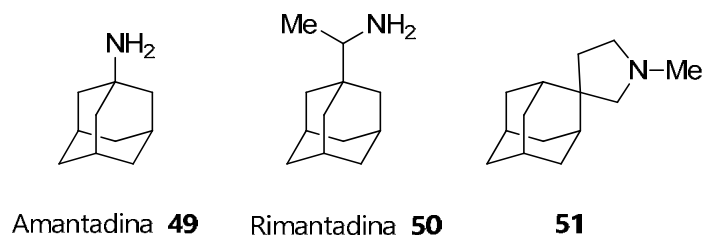
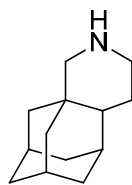


Figura 27. Antivirales más conocidos derivados del adamantano.

Existe una serie de derivados de adamantano que contienen heterociclos y se les ha determinado actividad antiviral.⁷² Dentro de este grupo, recientemente se sintetizó uno de los antivirales contra la influenza A, caracterizado por ser de los más potentes y selectivos que actualmente existen (**52**, Fig 28).⁷³

[§]Específicamente, inhiben la replicación del virus.



52

Figura 28. Estructura del antiviral derivado de adamantano utilizado contra influenza A.

Con respecto al mecanismo de acción de los derivados de adamantano contra el virus de la influenza, existen dos posibles modelos de acción que explican el efecto de los antivirales. Ambos modelos consideran la interacción que existe entre el compuesto antiviral y el canal iónico del virus formado por una proteína tetramérica helicoidal M2 (Fig. 29).

El primer modelo, se enfoca en el tamaño y forma de la molécula, de manera que se propone que la inhibición se da porque la esfera de adamantano bloquea el canal iónico e impide el flujo de protones transmembrana (Fig. 29a).⁷⁴ Por otra parte, el segundo modelo indica que el adamantano no se encuentra enlazado dentro de la cavidad, sino más bien se ubica entre la membrana y la proteína (Fig. 29b). Esta interacción lateral de la membrana con el adamantano inicia el proceso de inhibición, seguido de una transferencia dinámica dirigida hacia las hélices M2, que finaliza con la inhibición del canal iónico.⁷⁵

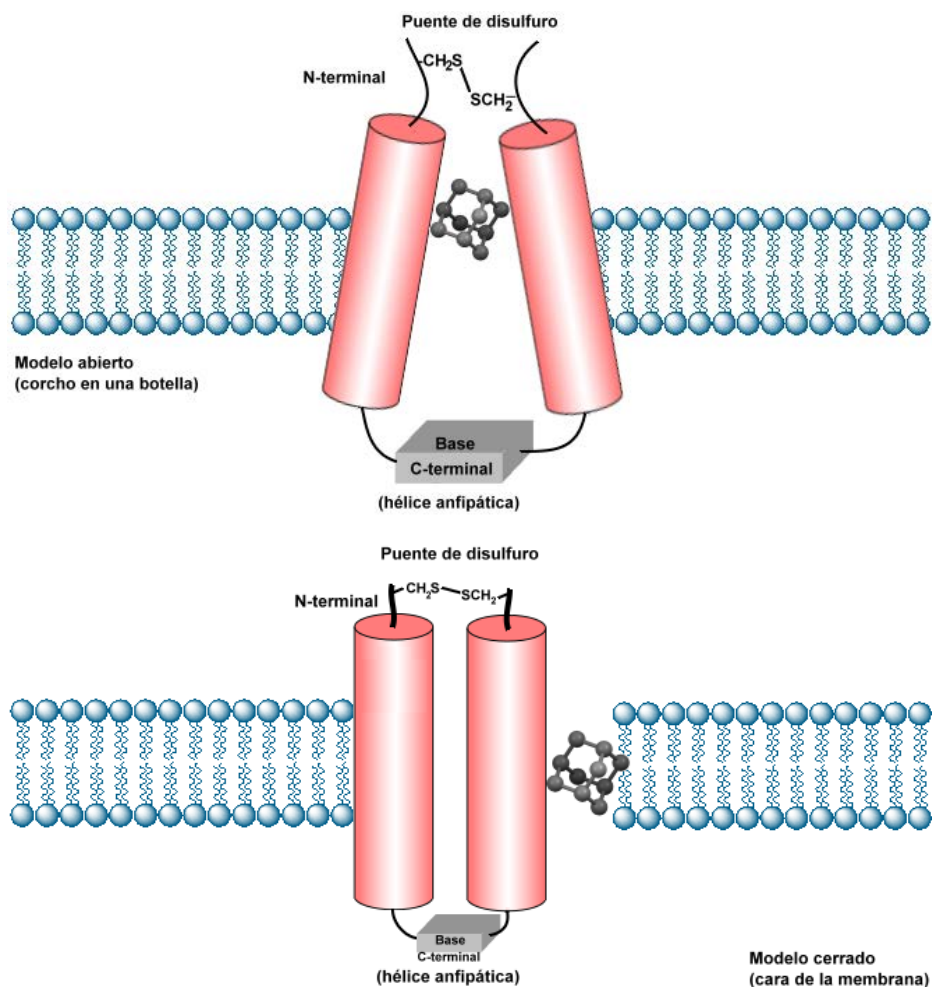


Figura 29. Modelos de inhibición viral de derivados de adamantano a través de canales iónicos.

Según estudios previos, el grupo adamantano debe definirse como un bloqueador de canales iónicos, ya que éste afecta directamente la permeabilidad del canal.⁷⁶ Cuando este tipo de drogas se enlazan a un receptor que controla el canal iónico, actúan como antagonistas, es decir, previenen que se dé la interacción con el mediador natural, de manera que se elimina la respuesta fisiológica asociada al canal.

La amantadina **49** y memantina (**55**, Fig. 30) son otro ejemplo de derivados de adamantano que influyen en la actividad de canales iónicos, particularmente estos dos compuestos compiten con la dizolcipina **53** y fenciclidina (PCP) **54**,⁷⁷ potentes

bloqueadores exitotóxicos de los receptores de ácido *N*-metil-D-aspártico (NMDA).^{**} Actualmente, amantadina y memantina son compuestos aprobados en el tratamiento contra Parkinson y Alzheimer, respectivamente, además pueden ofrecer otras aplicaciones tales como agentes ansiolíticos, analgésicos, antidepresivos, antiepilépticos.⁷⁸

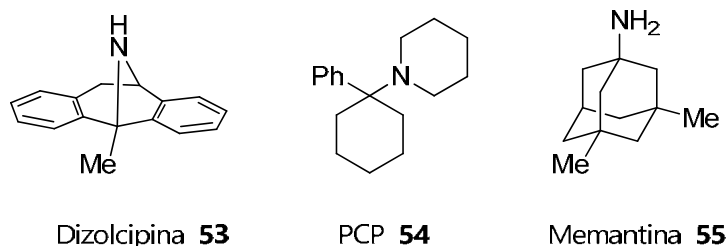


Figura 30. Agentes bloqueadores de receptores NMDA.

La amantadina **49** y rimantadina **50**, además de las propiedades farmacológicas mencionadas anteriormente, actúan como agentes tripanocidas, por lo que se utilizan en África para combatir la enfermedad del sueño.⁷⁹ Se sugiere que esta actividad puede asociarse con la obstrucción de un canal iónico de membrana. Otros derivados sintetizados (**56-59**, Fig, 31) también han mostrado actividad tripanocida, donde se destaca una correlación entre la lipofilidad y bioactividad *in vivo* contra *Trypanosoma brucei*.⁸⁰

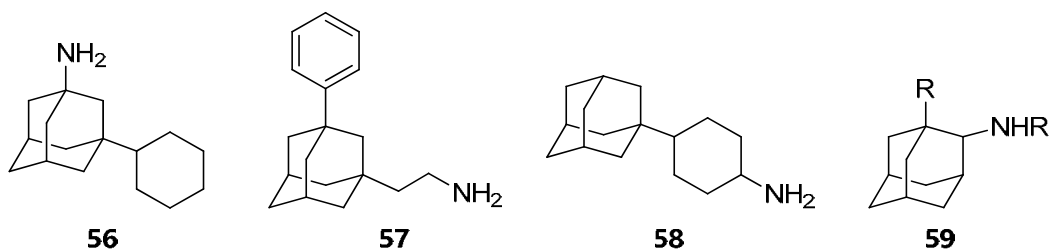


Figura 31. Agentes tripanocidas derivados de adamantano.

2.2.4 El grupo adamantano: andamio molecular

El concepto de polivalencia busca aumentar la afinidad y la especificidad de las interacciones entre un ligando y receptor, a través de variaciones en la geometría, número, solubilidad, y orientación de ligandos asociados a una misma estructura base.⁸¹

^{**}Los receptores NMDA son los encargados de controlar la plasticidad sináptica y la función de aprendizaje y memoria.

El adamantano por su parte, posee una estructura rígida y geometría bien definida, lo que lo convierte en un excelente andamio molecular para el diseño de ligandos polivalentes. Tal es el caso de Maison y colaboradores, quienes han utilizado al adamantano como base molecular para unir un grupo amino que actúe como efector y tres ácidos carboxílicos que conecten diversos ligandos a la base (Fig. 32).⁸²

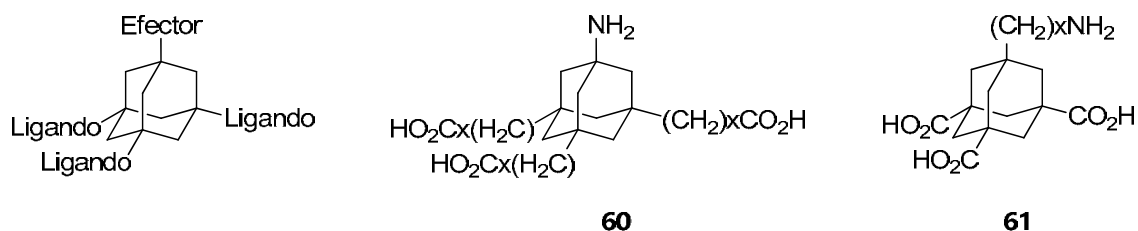


Figura 32. Esquema básico de ligandos polivalentes enlazados a un núcleo de adamantano.

Particularmente, el compuesto **62** presenta un arreglo tetraédrico formado por un grupo efector y tres ligandos conectados al adamantano. Esta rígida y organizada estructura ha sido probada como un agente selectivo en tumores de próstata (Fig. 33).⁸³

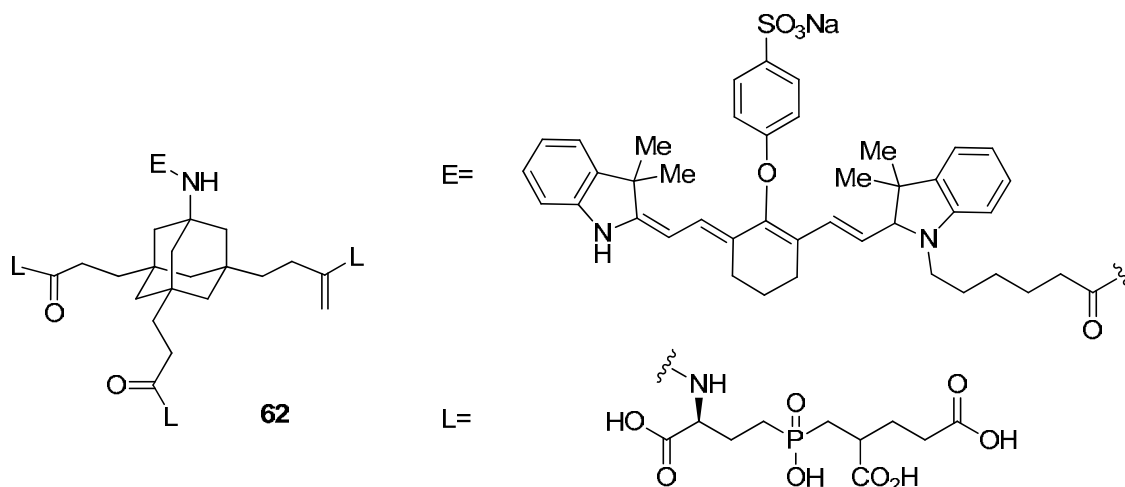


Figura 33. Estructura de compuesto polivalente con propiedades anticancerígenas.

Un último ejemplo del adamantano como base molecular rígida, es el efecto organizador que posee al incorporarse a un sacárido (Fig. 34).⁸⁴ Específicamente, el reemplazo del ácido N-acetil neuramínico (ácido siálico)^{††} del tetrasacárido sialil Lewis^x**63**, por el ácido adamantil láctico (compuesto **64**) presenta una ligera disminución de la

^{††} Grupo encargado de proveer una conformación definida y bioactiva.

afinidad del sacárido por E-Selectina.[‡] Es por ello que la preorganización y disminución de afinidad que ofrece un grupo voluminoso como el adamantano debe ser un factor a considerarse en la búsqueda de antagonistas de E-selectina.

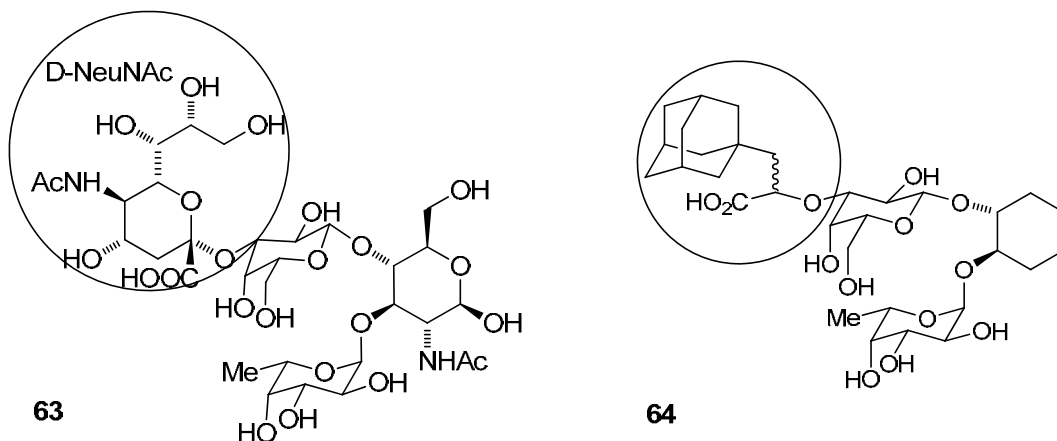


Figura 34. Estructura del sialil Lewis^x y un sácarido mimético.

2.3 Síntesis previa de derivados de 1,4-Naftoquinonas con grupos adamantano

En 1967, Fieser y colaboradores realizaron la preparación de una serie de 2-hidroxi-3-[ω-(1-adamantil)alquil]-1,4-naftoquinonas (Fig. 35), por medio de la diacilperóxido alquilación de la 2-hidroxi-1,4-naftoquinona o por oxidación de Hooker (Fig. 36). La obtención de los derivados n=0 y n=1, no fue posible, por otro lado los derivados n= 2, 3 y 4, se obtuvieron con rendimientos de 40-50%.⁸⁵

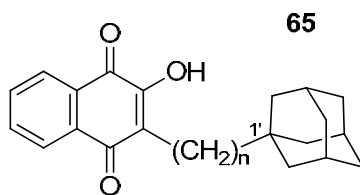


Figura 35. Estructura de 2-hidroxi-3-[ω-(1-adamantil)alquil]-1,4-naftoquinonas.

^{‡‡}Receptor de adhesión de leucocitos involucrados durante el proceso de inflamación.

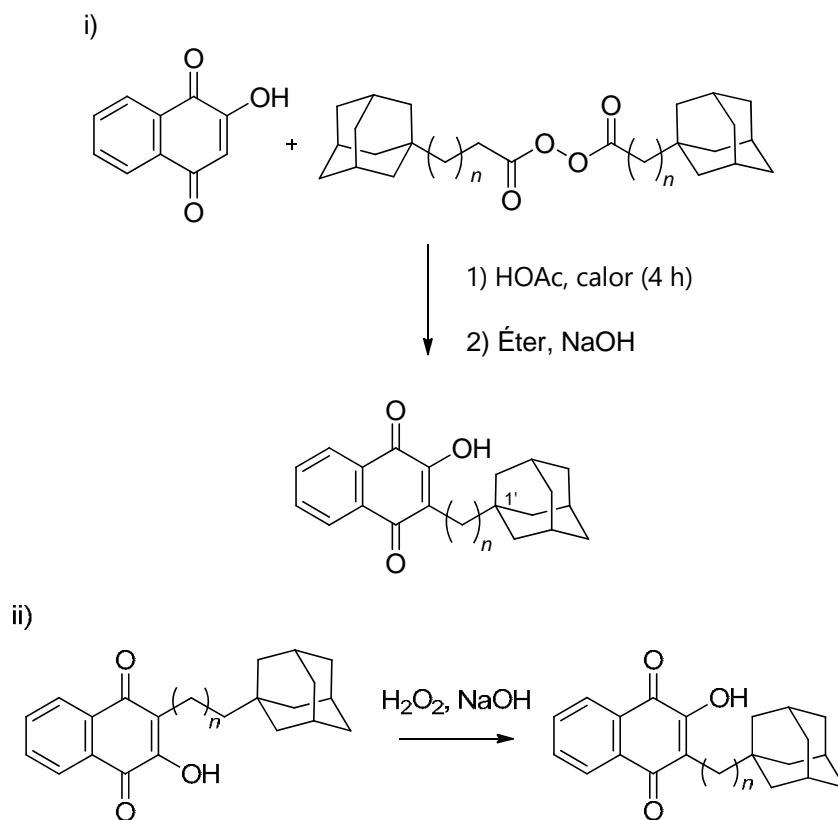


Figura 36. Métodos de síntesis de 2-hidroxi-3-[ω -(1-adamantil)alquil]-1,4-naftoquinonas: i) Diacilperóxido alquilación, ii) Oxidación de Hooker.

Las pruebas de actividad antimalárica contra *Plasmodium berghei*, mostraron que los derivados $n=2$ y $n=3$, eran activos. Desde esa fecha y hasta la actualidad no se ha reportado una síntesis nueva y alternativa para esta serie de compuestos, tampoco se registra la síntesis de éteres derivados de adamantano y naftoquinonas, por lo que existe un interés especial, en desarrollar una metodología para la síntesis de esta familia de compuestos y determinar si presentan actividad biológica significativa.

Capítulo III

Desarrollo de una nueva síntesis de derivados de naftoquinonas y adamantano

3.1 Perspectiva inicial: Síntesis de una nueva familia de compuestos

El interés principal de esta investigación consistió en combinar la habilidad oxidante de las naftoquinonas con el carácter del adamantano (Fig 37) con el fin de generar un nuevo agente antimalárico y/o antitumoral. Cabe mencionar que se consideró la presencia de un heteroátomo (O, N, S)⁸⁶ para controlar el potencial redox del sistema naftoquinónico y la influencia de la distancia entre la parte oxidante y lipofílica (puente de número de carbonos variado) en la actividad biológica de los compuestos que se sintetizaron.

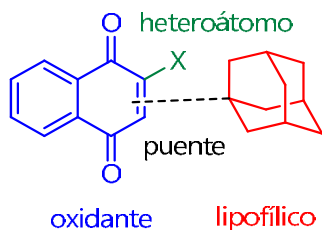


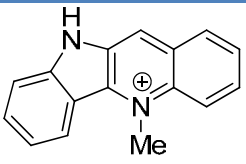
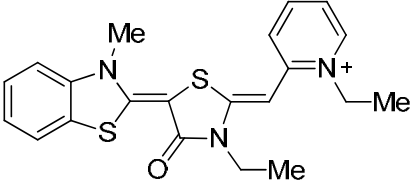
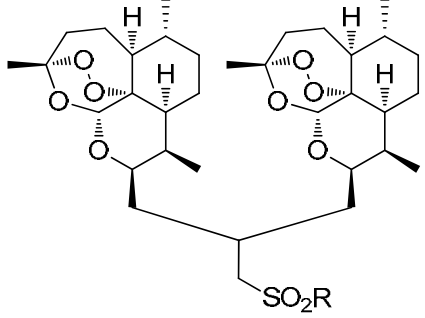
Figura 37. Híbrido de naftoquinona y adamantano.

Las dos ramas del estudio sintético que se abordaron en esta investigación fueron: variación estructural del producto con el fin de estudiar la respuesta antiparasitaria y/o antitumoral que se genera a partir de la modificación estructural del compuesto; la otra rama va dirigida a la optimización de la metodología de síntesis, por medio de variaciones en los reactivos y las condiciones de reacción, que permitan obtener adecuados porcentajes de rendimiento y una elevada pureza de los productos, que garantice su confiabilidad en los bioensayos antiparasitarios.

El interés de estudiar la actividad antimalárica y antitumoral de los compuestos sintetizados radica en el hecho de que existe una variedad de compuestos para los cuales se reporta actividad antiparasitaria y a la vez antitumoral, algunos ejemplos se muestran en el cuadro I. El mecanismo de acción es muy variado, sin embargo su principal

característica es la formación de especies citotóxicas, por lo que se espera que compuestos con propiedades antimaláricas también presenten otro tipo de actividad.

Cuadro I. Ejemplos de compuestos con actividad antitumoral y antimalárica.

| Compuesto | Uso Actual | Investigación |
|--|---|--|
|  Criptolepina, 66 | Agente antimalárico | Inhibe la síntesis <i>in vitro</i> de ADN en células de melanoma B16 ⁸⁷ |
|  Rodacianina (MKT-077), 67 | Agente antitumoral | Presenta actividad <i>in vitro</i> contra <i>Plasmodium falciparum</i> ⁸⁸ |
|  R= -Ph-4-CH ₂ OC(O)NMe ₂ R= -Ph-4-CH ₂ OH Trioxanos sulfonas, 68 | Actividad <i>in vivo</i> contra <i>P. berghei</i> | Actividad <i>in vitro</i> contra U-937-lymphoma, HL-60-leukemia, SK-MEL-5-melanoma, UACC-62-melanoma y HeLa-cervical ⁸⁹ |

3.2 Consideraciones sintéticas en el acople de naftoquinonas y grupos adamantano

3.2.1 Rutas de formación de éteres de 1,4-naftoquinonas

La formación de éteres de 1,4-naftoquinonas desarrollada por Fieser y Brown en 1949, estuvo conformada por dos rutas sintéticas distintas. Una primera ruta, la realizó a partir de la 2-cloro-1,4-naftoquinona (Fig. 38). Esta reacción requiere el uso de sodio metálico (peligroso de usar y desechar), el método se limita a alcoholes que sean líquidos y

volátiles y tiene como desventaja principal el bajo porcentaje de rendimiento que se obtiene.⁹⁰

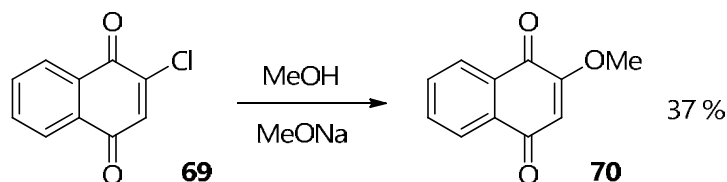


Figura 38. Formación de éteres naftoquinónicos.

La segunda estrategia consistió en la alquilación de la 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (Fig. 39). Cabe señalar que Fieser reportó la obtención de una mezcla de tres tipos distintos de éteres con porcentajes de rendimientos variados utilizando esta ruta, en otras palabras, este método no es regioselectivo.⁹¹

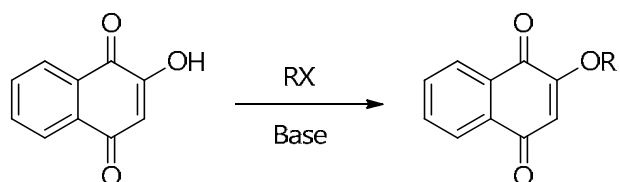


Figura 39. Alquilación de lawsona.

La baja selectividad en los éteres de lawsona que obtuvo Fieser, se debe a que el lawsonato que se forma en la reacción, es un anión multivalente, por lo que presenta tres sitios reactivos con carácter nucleofílico para efectuar la alquilación (Fig 40).

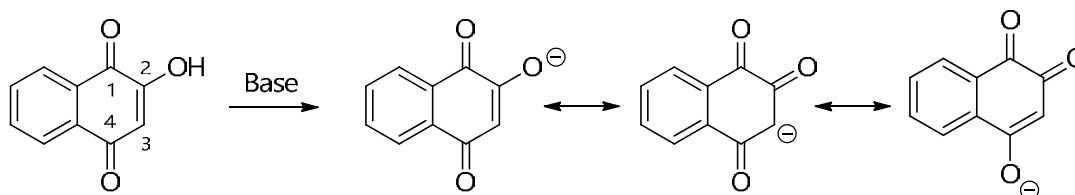


Figura 40. Sitios de alquilación de la lawsona en medio básico.

Por último, otro método de formación de éteres de lawsona es la esterificación vinílica de Fischer, es decir la formación de ésteres vinílicos (éster separado por un enlace doble) por medio del acople de entre la lawsona y un alcohol para formar 2-alcoxi-1,4-naftoquinona (Fig 41).

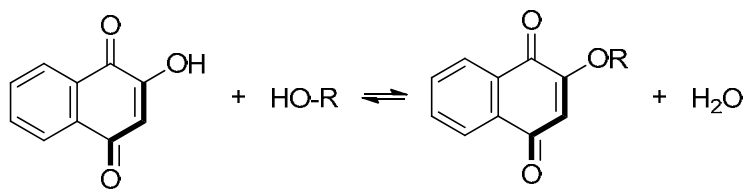


Figura 41. Esterificación viníloga de Fischer.

Es importante señalar que al no existir una síntesis previa de éteres derivados de naftoquinonas y adamantano, en este trabajo debe considerarse las posibles rutas de formación antes mencionadas, particularmente la alquilación de lawsona y esterificación viníloga de Fischer, además de sus posibles modificaciones, con el fin de obtener diversidad estructural y una síntesis óptima para la serie de compuestos que se propone formar.

El objetivo general de la investigación fue sintetizar derivados de 1,4-naftoquinonas con el grupo adamantano en rendimientos aceptables mediante distintas reacciones de acoplamiento, con el fin de mejorar la actividad antimalárica y antitumoral de los compuestos base. Como objetivos específicos se tiene los siguientes:

- Estudiar y desarrollar metodologías que permitan la síntesis de derivados de la 1,4-naftoquinona con grupos adamantano.
- Optimizar las condiciones de reacción que se emplearan en las síntesis de los diferentes compuestos quinoides.
- Determinar las propiedades físicas, estructurales y espectroscópicas de los compuestos sintetizados.
- Determinar la actividad biológica antimalárica (colaboración de la Universidad Complutense de Madrid) y antitumoral (colaboración del Laboratorio de Bioquímica, Escuela de Medicina, UCR) de los compuestos sintetizados.

Capítulo IV

Sección Experimental

4.1 Metodología para la síntesis de los derivados de 1,4-naftoquinona

4.1.1 Reactivos e Instrumentación

El 1-adamantanotiol se preparó a partir del procedimiento reportado en la literatura,⁹² se obtuvo cristales blancos puros según análisis de ¹H-NMR y un rendimiento de 35%. El [(1*S*)-endo]-(-)-Borneol, 1-adamantanol, 2-adamantanol, 1-adamantilamina, 1-adamantilmetanol y 2-(1-adamantanil)etanol), 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (lawsona) y 2-bromo-1,4-naftoquinona, se emplearon tal y como fueron adquiridos por la casa Aldrich. Los otros reactivos y disolventes fueron utilizados directamente, sin ningún otro procedimiento de purificación.

Cuadro II. Equipo utilizado en caracterización espectroscópica de los compuestos sintetizados.

| Espectro | Equipo | Especificaciones |
|------------|---|---|
| RMN | Varian-Mercury 400 BB de 400 MHz y 100 MHz (núcleos de ¹ H y ¹³ C, respectivamente) | Desplazamientos químicos se reportaron relativos al tetrametilsilano (TMS) y en partes por millón (ppm), se utilizó como referencia el CHCl ₃ (7.26 ppm para protón y 77.0 ppm para carbono) |
| UV | Perkin Elmer Lambda 25 UV/Vis Spectrometer | Se utilizó etanol anhidro como disolvente |
| IR | Perkin Elmer Spectrum 1000 Paragon (transformada de Fourier) | Mediciones en film de NaCl (se usó diclorometano anhidro para tomar la película) y en pastilla de KBr |
| MS | Synapt, compañía Waters | Modo positivo Electropray-Masas de alta resolución |

Se midió los puntos de fusión de los derivados sintetizados en un bloque de Fisher-Johns. Para la medición de los distintos espectros (resonancia magnética nuclear, infrarrojo, ultravioleta visible) se utilizó los instrumentos mencionados en el cuadro I.

La cristalería utilizada para las reacciones (específicamente balones de reacción, condensadores, cabezas de destilación y alargaderas) se calentó en horno de microondas junto con las pastillas de agitación de teflón, durante 5 minutos, para secarla, y después se enfrió en una atmósfera de N_2 seco. Además en algunos casos se utilizó un carrusel de reacción marca Radleys con tubos de reacción con una capacidad de 20 mL y pastillas de agitación de teflón. Para la purificación de los productos, se utilizó columnas de vidrio rellenas con gel sílice de 230-400 mesh, en otros casos se empleó cartuchos de gel de sílice de 230-400 mesh y equipo para cromatografía de columna marca VersaFlash.

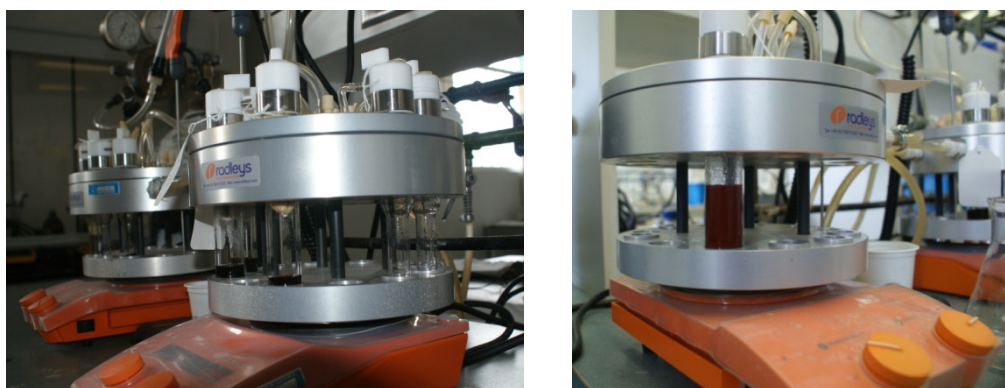


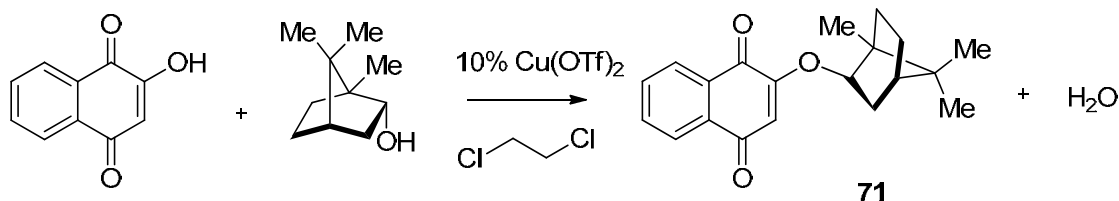
Figura 42. Carrusel de reacciones utilizado para realizar síntesis en paralelo.



Figura 43. Equipo utilizado para cromatografía Versa-flash (izquierda) y de columna (derecha).

4.1.2 Síntesis previa de los derivados de 2-hidroxi-1,4-naftoquinona a partir de acoplamiento con (1S)-endo(-)-borneol

4.1.2.1 Procedimiento general de síntesis del 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-naftoquinona

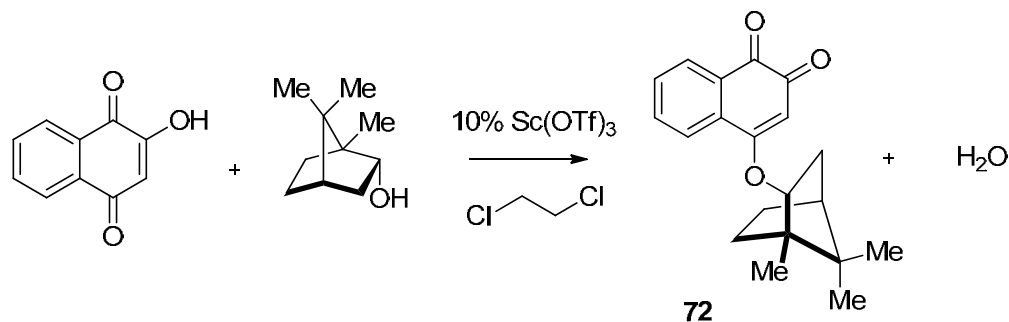


En un tubo de reacción se agregó una pastilla de agitación y se colocó 6 minutos en el microondas. Una vez seco el tubo, se agregó 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (689 mg; 3.96 mmol) y se disolvió en 15 mL de dicloroetano, luego se añadió el triflato de cobre (18 mg, 0.05 mmol), se observó una coloración rojo intenso característico del complejo de catalizador y la lawsona, por último se adicionó el (1S)-endo(-)-borneol (159 mg; 1.03 mmol). Después de dos horas de reflujo (~80 °C) y agitación constante bajo atmósfera de N₂, se añadió 5% más de catalizador. La condición de calentamiento, agitación y atmósfera de nitrógeno se mantuvo por tres horas y media.

Después de transcurrido el tiempo de reacción, la disolución se trasvasó a un embudo separador de 250 mL y se lavó con una disolución saturada de NaHCO₃ hasta que la capa acuosa dejó de presentar la coloración rojiza característica del lawsonato. La capa orgánica se apartó y los lavados de bicarbonato se extrajeron con diclorometano hasta que la capa orgánica resultante no presentó coloración. Se combinó las fases orgánicas y se les agregó MgSO₄ anhidro para eliminar restos de agua y se filtró por gravedad a través de un embudo de espiga corta provisto de papel filtro a un balón de 100 mL prepesado.

Por último, se eliminó el disolvente al vacío utilizando un rotavapor. Al producto crudo se le realizaron lavados con pentano frío y se obtuvo un sólido café claro (266 mg, 83% de rendimiento) de alta pureza según el espectro ¹H-RMN.

4.1.2.2 Procedimiento general de síntesis del 4-(2-endo-borneoxi)-1,2-naftoquinona



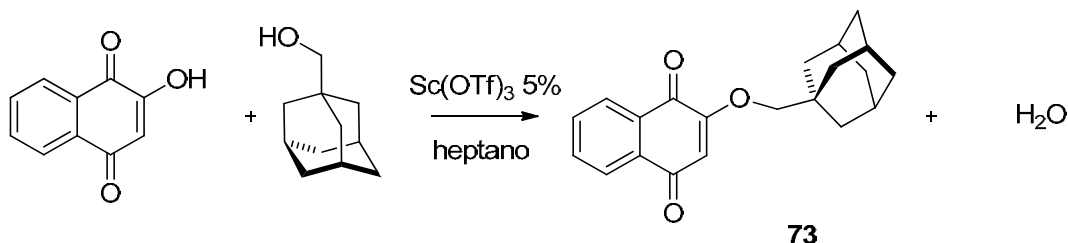
En un balón 14/20 de 50 mL se agregó una pastilla de agitación y se colocó 6 minutos en el microondas. Una vez seco, se agregó 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (525 mg; 3.02 mmol), (1S)-endo(-)-borneol (157 mg; 1.02 mmol) y el triflato de escandio (49 mg, 0.01 mmol). La mezcla de reactivos se disolvió en 15 mL de dicloroetano. Se monitoreó la formación de producto por TLC en tolueno y cloroformo puro.

Después de cuatro horas de reflujo (~80 °C), agitación constante y atmósfera de nitrógeno, la disolución se trasladó a un embudo separador de 250 mL y se lavó con una disolución saturada de K₂CO₃ hasta que la capa acuosa dejó de presentar la coloración rojiza característica del lawsonato. La capa orgánica se apartó y los lavados de carbonato se extrajeron con CHCl₃ hasta que la capa orgánica resultante no presentó coloración. Se combinaron las fases orgánicas, se agregó Na₂SO₄ anhidro para eliminar restos de agua y se filtró por gravedad a través de un embudo de espiga corta provisto de papel filtro a un balón de 100 mL prepesado y el disolvente se eliminó al vacío utilizando un rotavapor.

El producto crudo de reacción mostró en el espectro ¹H-RMN la formación del 4-(2-endo-borneoxi)-1,2-naftoquinona y 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-naftoquinona. Ambos productos se purificaron por cromatografía de columna, empleando mezclas de MTBE y ciclohexano. Se empleó un gradiente de concentración de la mezcla de disolventes (al inicio 10% MTBE seguido de un aumento gradual en la concentración de MTBE hasta un 50%). Se obtuvo un sólido café correspondiente al 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-naftoquinona (116 mg, 37 y 57% de rendimiento neto y con respecto a lawsona recuperada, respectivamente) y sólido amarillo de 4-(2-endo-borneoxi)-1,2-naftoquinona (70 mg, 22 y 34% rendimiento neto y con respecto a lawsona recuperada, respectivamente).

4.1.3 Síntesis de los derivados de 2-hidroxi-1,4-naftoquinona a partir de acoplamiento con derivados de adamantano

4.1.3.1 Procedimiento general de síntesis del 2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-naftoquinona

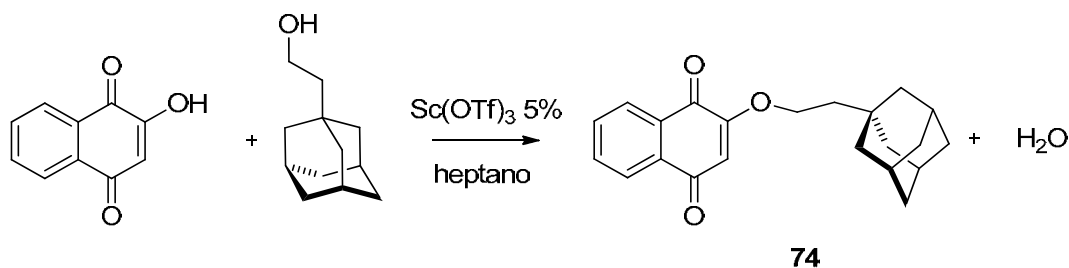


En un balón 24/40 de 50 mL se agregó una pastilla de agitación y se colocó seis minutos en el microondas. Una vez seco, se agregó 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (346 mg; 1.99 mmol), el triflato de escandio (25 mg, 0.05 mmol), junto con el 1-adamantilmetanol (167 mg; 1.00 mmol) y se disolvió la mezcla de reactivos en 10 mL de heptano. La mezcla se llevó a reflujo (~100 °C) durante seis horas con agitación constante y en atmósfera de nitrógeno. Se monitoreó el consumo de lawsona y formación de producto por TLC en benceno/ciclohexano en proporción 1:1.

Transcurrido el tiempo de reacción, la disolución se trasvasó a un embudo separador de 250 mL y se lavó con una disolución saturada de K₂CO₃ hasta que la capa acuosa dejó de presentar la coloración rojiza característica del lawsonato. La capa orgánica se apartó y los lavados de carbonato se extrajeron con CHCl₃ hasta que la capa orgánica resultante no presentó coloración. Se combinaron las fases orgánicas, se agregó Na₂SO₄ anhidro para eliminar restos de agua, se filtró por gravedad a través de un embudo de espiga corta provisto de papel filtro a un balón de 100 mL prepesado, y se eliminó el disolvente al vacío, utilizando un rotavapor. Para recuperar parte de la lawsona que no reaccionó, a la fase acuosa se le adicionó HCl concentrado para que precipitara la lawsona, luego el sólido obtenido se filtró y secó al vacío.

La purificación del producto se realizó por cromatografía de columna empleando benceno como eluyente. Se obtuvo un producto puro de color rosado (245 mg, 76 y 84% rendimiento neto y con base en la lawsona recuperada, respectivamente).

4.1.3.2 Procedimiento general de síntesis del 2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-naftoquinona

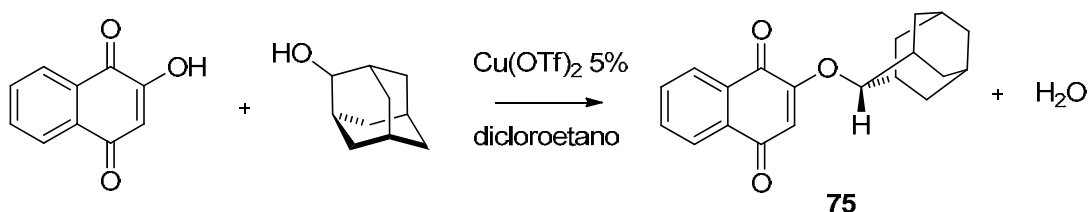


En un tubo de reacción se agregó una pastilla de agitación y se colocó seis minutos en el microondas. Una vez seco el tubo, se disolvió 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (179 mg; 1.03 mmol), y $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ (25 mg, 0.05 mmol) en 20 mL de heptano, la mezcla se agitó por 15 minutos y luego se adicionó 2-(1-adamantil)etanol (183 mg; 1.02 mmol) y un dedo de celulosa con CaH_2 colocado por encima de la disolución. La mezcla se dejó en agitación, reflujo y atmósfera de nitrógeno durante 24 horas. Durante ese tiempo, se monitoreó la presencia de adamantiletanol por TLC en MTBE y CHCl_3 puro, las placas de sílice con soporte de vidrio se revelaron en una disolución de anisaldehído.

Posteriormente, la disolución se trasvasó a un embudo separador de 250 mL y se lavó con una disolución saturada NaHCO_3 hasta que la capa acuosa dejó de presentar la coloración rojiza característica del lawsonato. La capa orgánica se apartó y los lavados de bicarbonato se extrajeron con CHCl_3 hasta que la capa orgánica resultante no presentó coloración. Se combinaron las fases orgánicas, se agregó Na_2SO_4 anhidro para eliminar restos de agua, se filtró por gravedad a través de un embudo de espiga corta provisto de papel filtro a un balón de 100 mL prepesado, y se eliminó el disolvente al vacío, utilizando un rotavapor.

La purificación del producto se realizó por cromatografía de columna empleando benceno como eluyente. Se obtuvo cristales puros de color ocre (202 mg, 59 y 86% rendimiento neto y basado en la lawsona recuperada, respectivamente).

4.1.3.3 Procedimiento general de síntesis del 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona

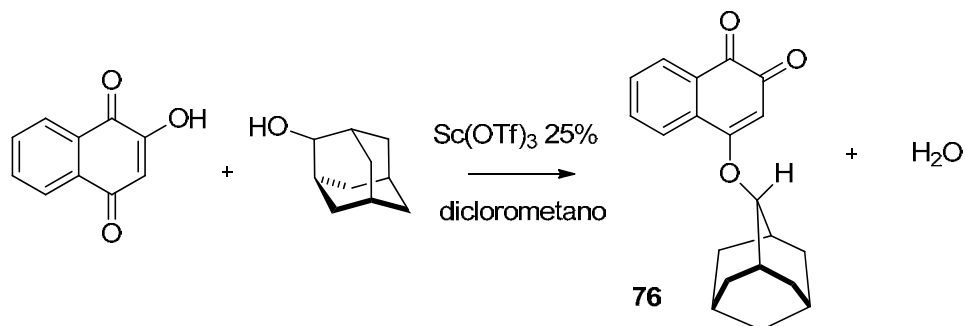


En un tubo de reacción se agregó una pastilla de agitación y se colocó seis minutos en el microondas. Una vez seco el tubo, se adicionó 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (347 mg; 1.99 mmol), triflato de cobre (18 mg, 0.05 mmol) y 2-adamantanol (150 mg; 0.98 mmol), se disolvió la mezcla de reactivos en 10 mL de dicloroetano, se incorporó un dedo de celulosa relleno parcialmente con CaH_2 y se dejó en reflujo, agitación constante y en atmósfera de nitrógeno. La reacción se monitoreó por TLC en benceno/ciclohexano en proporción 1:1, donde se empleó como revelador una disolución de anisaldehído.

Después de un periodo de reacción de aproximadamente 20 horas, la disolución se trasvasó a un embudo separador de 250 mL y se lavó con una disolución saturada NaHCO_3 fría, hasta que la capa acuosa dejó de presentar la coloración rojiza característica del lawsonato. La capa orgánica se apartó y los lavados de bicarbonato se extrajeron con diclorometano hasta que la capa orgánica resultante no presentó coloración. Se combinaron las fases orgánicas, se agregó MgSO_4 anhidro para eliminar restos de agua y se filtró por gravedad a través de un embudo de espiga corta provisto de papel filtro a un balón de 100 mL prepesado, y se eliminó el disolvente al vacío, utilizando un rotavapor.

El producto resultante se recrystalizó en heptano, y se obtuvo cristales puros de color amarillo (124 mg, 41% de rendimiento).

4.1.3.4 Procedimiento general de síntesis del 4-(2-adamantanoxi)-1,2-naftoquinona



En un tubo de reacción se agregó una pastilla de agitación y se colocó seis minutos en el microondas. Una vez seco el tubo, se adicionó 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (696 mg; 4.00 mmol) y Sc(OTf)₃ (369 mg, 0.75 mmol), ambos reactivos se disolvieron en 15 mL de diclorometano mediante agitación y calentamiento en atmósfera de nitrógeno. Posterior a la formación del complejo lawsona-triflato, se agregó 2-adamantanol (456 mg; 3.00 mmol) y un dedo de celulosa relleno parcialmente con hidruro de calcio. La mezcla de reacción se mantuvo en reflujo bajo las mismas condiciones por 3 días. Se monitoreó la aparición de producto (isómeros 1,2 y 1,4) por TLC en benceno y diclorometano.

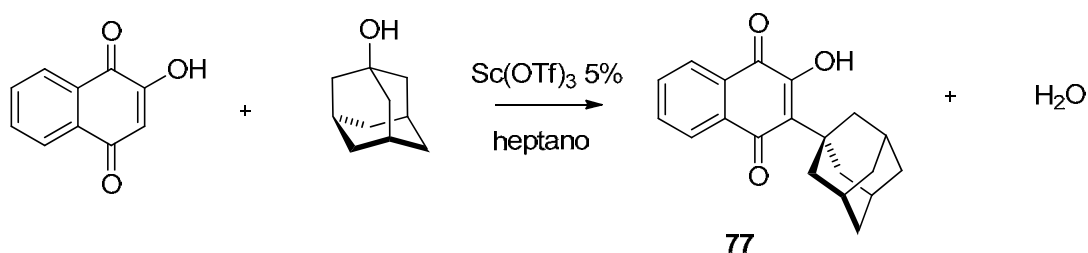
Posteriormente, la disolución se trasvasó a un embudo separador de 250 mL y se lavó con una disolución saturada NaHCO₃ fría, hasta que la capa acuosa dejó de presentar la coloración rojiza característica del lawsonato. La capa orgánica se apartó y los lavados de bicarbonato se extrajeron con diclorometano hasta que la capa orgánica resultante no presentó coloración. Se combinaron las fases orgánicas, se agregó MgSO₄ anhidro para eliminar restos de agua y se filtró por gravedad a través de un embudo de espiga corta provisto de papel filtro a un balón de 100 mL prepesado, por último, se evaporó el disolvente al vacío, por medio de un rotavapor.

El espectro ¹H-RMN del producto crudo mostró la formación de dos productos 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona y 4-(2-adamantanoxi)-1,2-naftoquinona en una proporción de 1:1.5. La mezcla de isómeros se purificó por cromatografía de columna, la fase móvil al inicio fue benceno puro y 0.5% de trietilamina, luego se hizo un gradiente de

concentración hasta alcanzar 2.5% de MTBE en benceno. Posteriormente, se recristalizó en metanol las fracciones obtenidas de la separación cromatográfica.

Finalmente, se obtuvo cristales puros color naranja de 4-(2-adamantanoxi)-1,2-naftoquinona (384 mg, 42% de rendimiento) y cristales amarillo paja 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona (101 mg, 11% de rendimiento) de según análisis de los espectros ^1H -RMN de las fracciones respectivas.

4.1.3.5 Procedimiento general de síntesis del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona

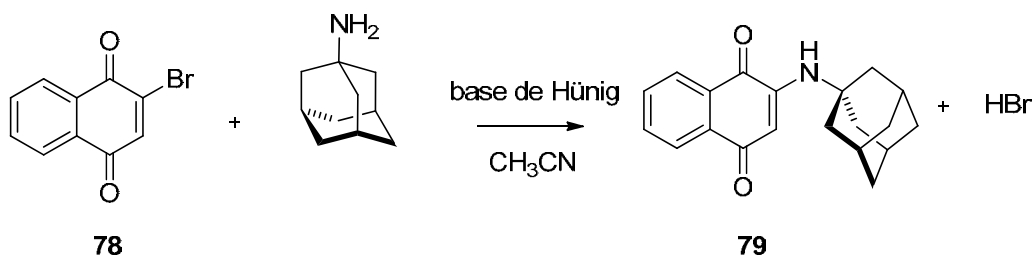


En un balón 24/40 de 50 mL limpio, se agregó 600 mg de sulfato de magnesio, una pastilla de agitación y se colocó cuatro minutos en el microondas. Transcurrido ese tiempo, se adicionó 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (347 mg; 1.99 mmol), 1-adamantanol (152 mg; 0.99 mmol), se disolvió la mezcla de reactivos en 20 mL de heptano, luego de obtener una disolución parcial de los reactivos, se añadió triflato de escandio (25 mg, 0.05 mmol). La reacción se mantuvo en reflujo, agitación constante y en atmósfera de nitrógeno. El consumo de 1-adamantanol se monitoreó por TLC en tolueno, y el revelador empleado fue una disolución de anisaldehído.

Después de aproximadamente 27 horas se concluyó el tiempo de reacción y la disolución se trasvasó a un embudo separador de 250 mL, donde se le adicionó H₃PO₄ al 25%, esta disolución se extrajo con CHCl₃. A la fase orgánica se le agregó Na₂SO₄ anhidro para eliminar restos de agua y se filtró por gravedad a través de un embudo de espiga corta provisto de papel filtro a un balón de 100 mL prepesado, y se evaporó el disolvente al vacío, utilizando un rotavapor.

El producto resultante se purificó por cromatografía de columna, empleando benceno como eluente, se obtuvo cristales puros color amarillo limón (273 mg, 89% de rendimiento).

4.1.3.6 Procedimiento general de síntesis del 2-(1-aminoadamantil)-1,4-naftoquinona

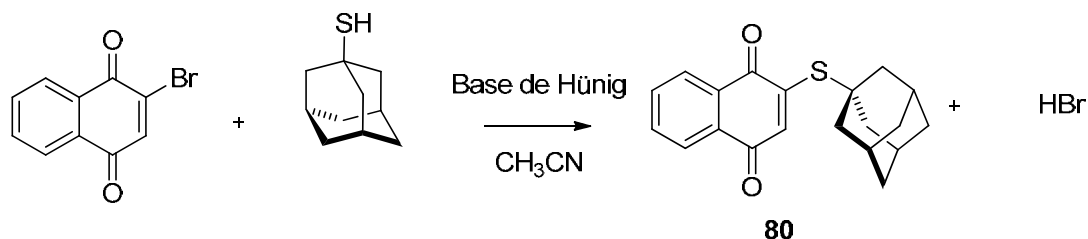


Un balón 14/20 de 25 mL limpio, se agregó una pastilla de agitación y se colocó cuatro minutos en el microondas. Posteriormente, se adicionó 2-bromo-1,4-naftoquinona (235 mg; 0.99 mmol), 1-aminoadamantano (153 mg; 1.01 mmol), base de Hünig (170 μ L, 1.00 mmol) y 1 mL de acetonitrilo. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación constante, atmósfera de nitrógeno y temperatura ambiente por 5 horas. El monitoreo del consumo de bromo lawsona en la reacción se hizo por TLC en benceno y las placas se revelaron en UV.

Luego de concluido el tiempo de reacción, la disolución resultante se trasvasó a un embudo separador de 125 mL donde se le adicionó ácido H₃PO₄ al 25%, y se extrajo con cloroformo. A la fase orgánica obtenida se le agregó Na₂SO₄ anhidro para eliminar restos de agua y se filtró por gravedad a través de un embudo de espiga corta provisto de papel filtro a un balón de 100 mL prepesado, y se evaporó el disolvente al vacío, por medio de un rotavapor.

El producto resultante se purificó por cromatografía de columna, la fase móvil inicialmente fue benceno puro, el cual se fue diluyendo por adición de CHCl₃, finalmente, se diluyó las últimas fracciones en CHCl₃ puro. Se obtuvo cristales color rojo ladrillo (230 mg, 76% de rendimiento).

4.1.3.7 Procedimiento general de síntesis del 2-(1-adamantilmercapto)-1,4-naftoquinona



Un balón 14/20 de 25 mL limpio, se agregó una pastilla de agitación y se colocó cuatro minutos en el microondas. Se adicionó, 1-adamantanotiol (132 mg; 0.78 mmol), base de Hünig (140 μ L, 0.80 mmol) y 3 mL de acetonitrilo, dicha mezcla se mantuvo en agitación a temperatura ambiente por 10 min. Transcurrido ese periodo, se añadió 2-bromo-1,4-naftoquinona (159 mg; 0.67 mmol) y se dejó en reflujo y atmósfera de nitrógeno por 24 horas. El monitoreo de bromo lawsona en la reacción se hizo por TLC en benceno/ciclohexano 1:1 y las placas se revelaron en UV.

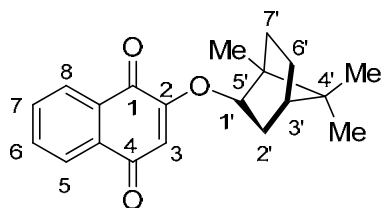
Posteriormente, la disolución resultante se trasvasó a un embudo separador de 125 mL donde se le adicionó H₃PO₄ al 25%, y se extrajo con MTBE. A la fase orgánica obtenida se le agregó Na₂SO₄ anhidro para eliminar restos de agua y se filtró por gravedad a través de un embudo de espiga corta provisto de papel filtro a un balón de 100 mL prepesado, y se evaporó el disolvente al vacío, por medio de un rotavapor.

El producto resultante se purificó por cromatografía de columna, la fase móvil usada fue un gradiente de 50% ciclohexano/benceno hasta eluir las últimas fracciones en benceno puro. Se obtuvo cristales café oscuro (105 mg, 48% de rendimiento).

4.2 Caracterización física y espectroscópica de los compuestos sintetizados

4.2.1 Caracterización física y espectroscópica de los derivados de 2-hidroxi-1,4-naftoquinona acoplado con (1S)-endo-(-)-borneol

2-(2-endo-borneoxi)-1,4-naftoquinona [71]



Estado: Sólido

Color: Café claro

Punto de Fusión: $(158-159) \pm 1$ °C



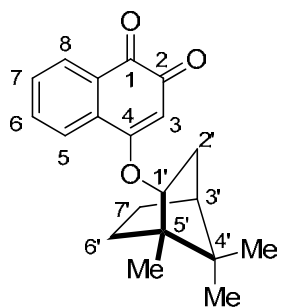
IR (KBr, cm^{-1}): 2955, 1686, 1648, 1606, 1249, 1209, 1021, 780, 723

UV (EtOH, nm): 210, 243, 249 (max), 276, 332

^1H -RMN (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): 8.12 (1H; ddd ; 1.3 Hz, 2.65 Hz, 8.6 Hz) H_8 , 8.07 (1H; ddd; 1.3 Hz, 2.65 Hz, 8.6 Hz) H_5 , 7.74 (1H; ddd; 2.65 Hz, 8.6 Hz, 8.6 Hz) H_6 , 7.69 (1H; ddd; 2.65 Hz, 8.6 Hz, 8.6 Hz) H_7 , 6.20 (1H; s) H_3 , 4.36 (1H; m) $\text{H}_{1'}$, 2.41 (1H; m) $\text{H}_{2'_{\text{exo}}}$, 2.32 (1H; m) $\text{H}_{2'_{\text{endo}}}$; 1.79 (2H; m) $\text{H}_{7'}$, 1.43 (1H; m) $\text{H}_{6a'}$, 1.27 (1H; m) $\text{H}_{6b'}$, 1.10 (1H; m) $\text{H}_{3'}$, 0.96 (3H; s) metilo enlazado a $\text{C}_{5'}$, 0.94 (3H; s) y 0.93 (3H; s) metilos enlazados a $\text{C}_{4'}$

^{13}C -RMN (CDCl_3 , 100 MHz, δ ppm): 185.2 (C_4), 180.2 (C_1), 159.9 (C_2), 134.0 (C_6), 133.1 (C_7), 132.0 (C_{5a}), 131.3 (C_{8a}), 126.5 (C_8), 126.0 (C_5), 110.9 (C_3), 85.1 ($\text{C}_{1'}$), 49.6 (C_5), 47.9 ($\text{C}_{4'}$), 45.0 (C_3), 36.1 ($\text{C}_{2'}$), 27.7 ($\text{C}_{6'}$ o $\text{C}_{7'}$), 26.7 ($\text{C}_{6'}$ o $\text{C}_{7'}$), 19.6 (metilo), 18.8 (metilo), 13.6 (metilo)

El-HRMS (m/z) calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 311.1647, encontrado 311.1644

4-(2-endo-borneoxi)-1,2-naftoquinona [72]

Estado: Sólido

Color: Amarillo

Punto de Fusión: $(150-152) \pm 1$ °CIR (KBr, cm^{-1}): 3431, 2953, 1635, 1245, 1208, 1091, 773, 724

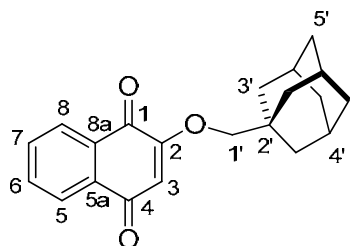
UV (EtOH, nm): 208, 250 (max), 281, 330, 405

^1H -RMN (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): 8.13 (1H; dd ; 1.3 Hz , 7.6 Hz) H_8 , 7.90 (1H; dd; 1.3 Hz, 7.8 Hz) H_5 , 7.71 (1H; td; 1.3 Hz, 7.7 Hz) H_6 , 7.59 (1H; td; 1.1 Hz, 7.6 Hz) H_7 , 5.85 (1H; s) H_3 , 4.50 (1H; m) $\text{H}_{1'}$, 2.47 (1H; dddd; 1,3 Hz, 3,9 Hz, 8,6 Hz, 13,7 Hz) $\text{H}_{2'_{\text{exo}}}$, 2.22 (1H; ddd; 3.9 Hz, 8.6 Hz, 13.7 Hz) $\text{H}_{2'_{\text{endo}}}$; 1.84 (2H; m) $\text{H}_{7'}$, 1.52 (1H; m) $\text{H}_{6a'}$, 1.30 (1H; m) $\text{H}_{6b'}$, 1.18 (1H; m) $\text{H}_{3'}$, 1.00 (3H, s) metilo enlazado a $\text{C}_{5'}$, 0.96 (3H; s) y 0.95 (3H; s) metilos enlazados a $\text{C}_{4'}$

^{13}C -RMN (CDCl_3 , 100 MHz, δ ppm): 179.7 (C_4), 179.5 (C_1), 167.8 (C_2), 134.9 (C_6), 132.7 (C_7), 131.4 (C_{5a}), 130.7 (C_{8a}), 129.0 (C_8), 124.7 (C_5), 104.8 (C_3), 86.0 ($\text{C}_{1'}$), 49.9 ($\text{C}_{5'}$), 47.9 ($\text{C}_{4'}$), 45.0 (C_3), 36.7 (C_2), 27.8 ($\text{C}_{6'}$ o $\text{C}_{7'}$), 27.4 ($\text{C}_{6'}$ o $\text{C}_{7'}$), 19.6 (metilo), 18.8 (metilo), 13.8 (metilo)

4.2.2 Caracterización física y espectroscópica de los derivados de la 2-hidroxi-1,4-naftoquinona acoplado con derivados de adamantano

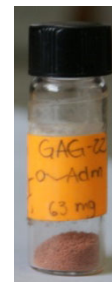
2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-naftoquinona [73]



Estado: Sólido

Color: Rosado

Punto de Fusión: $(179-180) \pm 1$ °C



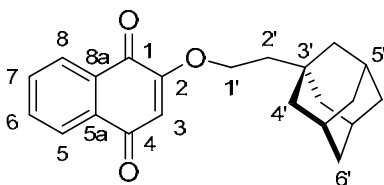
IR (KBr, cm^{-1}): 2905, 2849, 1606, 1251, 1212, 1039, 1018, 783, 723

UV (EtOH, nm): 242, 248 (max), 276, 331

^1H -RMN (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): 8.12 (1H; dd ; 1.9 Hz , 8.3 Hz) H_8 , 8.06 (1H; dd; 1.9 Hz, 8.3 Hz) H_5 , 7.74 (1H; ddd; 1.9 Hz, 8.3 Hz, 8.3 Hz) H_6 , 7.70 (1H; ddd; 1.9 Hz, 8.3 Hz, 8.3 Hz) H_7 , 6.20 (1H; s) H_3 , 3.50 (2H; s) $\text{H}_{1'}$, 2.10 (3H; s) $\text{H}_{4'}$, 1.75 (3H; s) $\text{H}_{5a'}$, 1.75 (3H; s) $\text{H}_{5b'}$, 1.70 (6H; s) $\text{H}_{3'}$

^{13}C -RMN (CDCl_3 , 100 MHz, δ ppm): 185.2(C_4), 180.1 (C_1), 160.3 (C_2), 134.1 (C_6), 133.2 (C_7), 132.0 (C_{5a}), 131.2 (C_{8a}), 126.6 (C_8), 126.0 (C_5), 110.0 (C_3), 79.1 ($\text{C}_{1'}$), 39.2 (C_3), 36.8 (C_5), 33.7 (C_2), 28.0 (C_4')

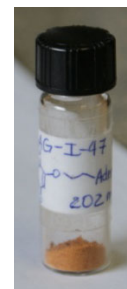
EI-HRMS (m/z) calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 323.1647, encontrado 323.1646

2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-naftoquinona [74]

Estado: Sólido

Color: Ocre

Punto de Fusión: (152-154) ± 1 °C

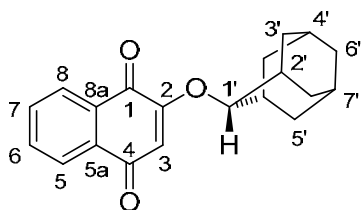
IR (film, cm⁻¹): 2900, 2846, 1684, 1652, 1607, 1578, 1246, 1211, 1039, 1016, 778, 723

UV (EtOH, nm): 202 (max), 241, 244, 248, 276, 329

¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm): 8.12 (1H; dd ; 1.7 Hz , 7.2 Hz) H₈ , 8.08 (1H; dd; 1.7 Hz, 7.2 Hz) H₅, 7.74 (1H; ddd; 1.7 Hz, 7.2 Hz, 7.2 Hz) H₆, 7.70 (1H; ddd; 1.7 Hz, 7.2 Hz, 7.2 Hz) H₇, 6.17 (1H; s) H₃, 4.09 (2H; t, 7.5 Hz) H_{1'}, 1.98 (3H; s) H_{5'}, 1.71 (2H, t, 7.5 Hz) H_{2'}, 1.60-1.66 (6H; m) H_{6'}, 1.70 (6H; d, 2,69 Hz) H_{4'}

¹³C-RMN (CDCl₃, 100 MHz, δ ppm):185.1(C₄), 180.1 (C₁), 159.9 (C₂), 134.2 (C₆), 133.2 (C₇), 132.0 (C_{5a}), 131.1 (C_{8a}), 126.7 (C₈), 126.1 (C₅), 110.1 (C₃), 66.0 (C_{1'}), 42.4 (C_{2'}), 41.7 (C_{4'}), 36.9 (C_{6'}), 31.8 (C_{5'}), 28.5 (C_{3'})

EI-HRMS (m/z) calculado para C₂₂H₂₄O₃ [M+H]⁺, 337.1804, encontrado 337.1801

2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona [75]

Estado: Sólido

Color: Amarillo-paja

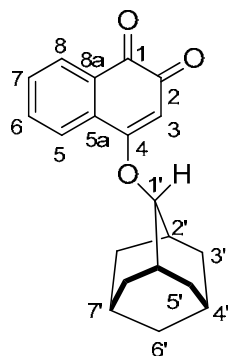
Punto de Fusión: (176-178) \pm 1 °CIR (film, cm^{-1}): 3057, 2955, 1686, 1648, 1606, 1249, 1209, 1021, 780, 723

UV (EtOH, nm): 201 (max), 243, 249, 277, 328

^1H -RMN (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): 8.11 (1H; dd ; 1.6 Hz , 7.4 Hz) H_8 , 8.07 (1H; dd; 1.6 Hz, 7.4 Hz) H_5 , 7.73 (1H; ddd; 1.6 Hz, 7.4 Hz, 7.4 Hz) H_6 , 7.69 (1H; ddd; 1.6 Hz, 7.4 Hz, 7.4 Hz) H_7 , 6.13 (1H; s) H_3 , 4.46 (1H; s) $\text{H}_{1'}$, 2.24 (2H, s) $\text{H}_{2'}$, 2.18 (2H; d; 12.8 Hz) $\text{H}_{3a'}$, 1.99-1.86 (4H; m) H_5' , 1.81-1.73 (4H; m) señales solapadas $\text{H}_{4'}$, $\text{H}_{6'}$, $\text{H}_{7'}$, 1.61 (2H; d; 12,7 Hz) $\text{H}_{3b'}$

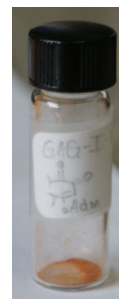
^{13}C -RMN (CDCl_3 , 100 MHz, δ ppm):185.4(C_4), 180.5 (C_1), 158.5 (C_2), 134.1 (C_6), 133.1 (C_7), 132.0 (C_{5a}), 131.4 (C_{8a}), 126.5 (C_8), 126.0 (C_5), 110.7 (C_3), 81.7 ($\text{C}_{1'}$), 37.1 (C_2), 36.1 (C_6), 31.4 (C_3), 30.9 (C_5), 27.0 (C_4'), 26.9 (C_7)

EI-HRMS (m/z) calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 309.1491, encontrado 309.1493

4-(2-adamantanoxi)-1,2-naftoquinona [76]

Estado: Sólido

Color: Naranja

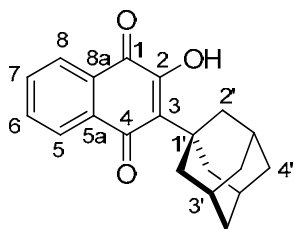
Punto de Fusión: (229-330) \pm 1 °CIR (KBr, cm^{-1}): 2914, 2854, 1644, 1602, 1563, 1243, 981, 773, 723.

UV (EtOH, nm): 214, 254 (max), 282, 331, 408

^1H -RMN (CDCl_3 , 400 MHz; δ ppm): 8.13 (1H; dd ; 7.6 Hz , 1.2 Hz) H_8 , 7.97 (1H; dd; 1.2 Hz, 7.8 Hz) H_5 , 7.71 (1H; td; 1.4 Hz, 7.6 Hz) H_6 , 7.60 (1H; td; 1.1 Hz, 7.6 Hz) H_7 , 6.00 (1H; s) H_3 , 4.65 (1H; s) $\text{H}_{1'}$, 2.31 (2H; s) $\text{H}_{2'}$, 2.15 (1 H, d, 12,4 Hz) $\text{H}_{3a'}$, 1.97 (4H, m) $\text{H}_{5'}$, 1.82 (4H, m) señales solapadas $\text{H}_{4'}$, $\text{H}_{6'}$, $\text{H}_{7'}$, 1.71 (1H, d, 12.4 Hz) $\text{H}_{3b'}$.

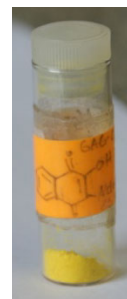
^{13}C -RMN (CDCl_3 , 100 MHz, δ ppm): 179.8 (C_2), 179.5 (C_1), 166.7 (C_4), 134.9 (C_6), 132.8 (C_7), 131.4 (C_{5a}), 130.7 (C_{8a}), 129.0 (C_8), 124.8 (C_5), 104.2 (C_3), 82.4 ($\text{C}_{1'}$), 37.0 ($\text{C}_{2'}$), 36.1 ($\text{C}_{6'}$), 31.9 (C_3), 31.4 (C_5), 27.0 ($\text{C}_{7'}$), 26.8 ($\text{C}_{4'}$)

EI-HRMS (m/z) calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 309.1491, encontrado 309.1488

3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona [77]

Estado: Sólido

Color: Amarillo Limón

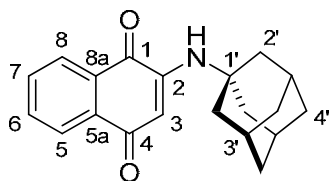
Punto de Fusión: $(189-190) \pm 1$ °CIR (film, cm^{-1}): 3345, 2886, 1660, 1643, 1613, 1593, 1367, 1290, 1255, 1006, 727, 682

UV (EtOH, nm): 202 (max), 228, 276

^1H -RMN (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): 8.04 (1H; dddd ; 1.3 Hz , 7.6 Hz, 0,5 Hz) H_8 , 8.02 (1H; dddd; 1.3 Hz, 7.6 Hz, 0,5 Hz) H_5 , 7.89 (1 H, s) -OH, 7.74 (1H; ddd; 1.3 Hz, 7.6 Hz, 7.6 Hz) H_6 , 7.64 (1H; ddd; 1.3 Hz, 7.6 Hz, 7.6 Hz) H_7 , 2.33 (6H; d, 2.7 Hz) H_2 , 2.04 (3H; s) H_3 , 1.83 (3H; d; 12.4 Hz) $\text{H}_{4a'}$, 1.74 (3H; d; 12.1 Hz) $\text{H}_{4b'}$

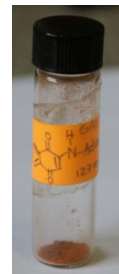
^{13}C -RMN (CDCl_3 , 100 MHz, δ ppm): 185.4(C_4), 182.5 (C_1), 152.8 (C_2), 135.1 (C_6), 134.7 (C_7), 132.3 (C_{5a}), 129.1 (C_{8a}), 128.2 (C_8), 126.9 (C_5), 125.6 (C_3), 40.5 ($\text{C}_{2'}$), 39.7 ($\text{C}_{1'}$), 36.9 ($\text{C}_{4'}$), 28.9 (C_3)

EI-HRMS (m/z) calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 309.1491, encontrado 309.1489

2-(1-aminoadamantil)-1,4-naftoquinona [79]

Estado: Sólido

Color: Rojo Ladrillo

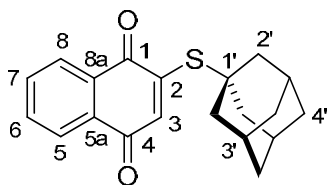
Punto de Fusión:(162-166) \pm 1 °CIR (film, cm^{-1}): 3351, 2907, 1673, 1601, 1574, 1514, 1353, 1267, 778, 726.

UV (EtOH, nm): 233, 271 (max), 454

^1H -RMN (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): 8.08 (1H; ddd; 1.7 Hz, 8.0 Hz, 0.6 Hz) H_8 , 8.03 (1H; ddd; 1.7 Hz, 8.0 Hz, 0.6 Hz) H_5 , 7.71 (1 H, ddd; 1.7 Hz, 8.0 Hz, 8.0 Hz) H_6 , 7.59 (1H; ddd; 1.7 Hz, 8.0 Hz, 8.0 Hz) H_7 , 6.05 (1H; s) H_3 , 5.92 (1H; s) -NH, 2.17 (3H; s) $\text{H}_{3'}$, 2.03 (6H; d; 1,7 Hz) $\text{H}_{2'}$, 1.72 (6H; m) $\text{H}_{4'}$

^{13}C -RMN (CDCl_3 , 100 MHz, δ ppm): 182.6(C_4), 182.5 (C_1), 145.4 (C_2), 134.7 (C_6), 133.4 (C_7), 131.8 (C_{5a}), 130.5 (C_{8a}), 126.4 (C_8), 126.0 (C_5), 103.1 (C_3), 52.5 ($\text{C}_{1'}$), 40.9 (C_2), 36.1 (C_4'), 29.3 (C_3')

EI-HRMS (m/z) calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{NO}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 308.1651, encontrado 308.1657

2-(1-adamantilmercapto)-1,4-naftoquinona [80]

Estado: Sólido

Color: Café oscuro

Punto de Fusión: (144-146) \pm 1 °CIR (KBr, cm^{-1}): 2910, 1666, 1643, 1589, 1548, 1295, 1260, 1121, 858, 783, 703

UV (EtOH, nm): 203 (max), 218, 228, 252, 271

^1H -RMN (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): 8.09 (1H; dd; 2.2 Hz, 7.8 Hz) H_8 , 8.06 (1H; dd; 2.2 Hz, 7.8 Hz) H_5 , 7.73 (1 H, ddd; 2.2 Hz, 7.8 Hz, 7.8 Hz) H_6 , 7.68 (1H; ddd; 2.2 Hz, 7.8 Hz, 7.8 Hz) H_7 , 7.06 (1H; s) H_3 , 2.17 (6H; d, 3.1 Hz) $\text{H}_{2'}$, 2.14 (3H; s) $\text{H}_{3'}$, 1.77 (6H; m) $\text{H}_{4'}$

^{13}C -RMN (CDCl_3 , 100 MHz, δ ppm): 182.8 (C_4), 181.9 (C_1), 151.8 (C_2), 134.1 (C_6), 133.2 (C_7), 132.1 (C_{5a}), 131.9 (C_{8a}), 131.5 (C_8), 127.0 (C_5), 126.3 (C_3), 49.9 ($\text{C}_{1'}$), 42.2 ($\text{C}_{2'}$), 36.1 ($\text{C}_{4'}$), 29.8 ($\text{C}_{3'}$)

EI-HRMS (m/z) calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 325.1262, encontrado 325.1263

4.3 Metodología para ensayos anticáncer

Se realizó ensayos de citotoxicidad para los compuestos **73**, **74**, **75**, **77**, **79** y **80**, para ello se empleó dos líneas celulares, Vero (no tumorales) y MCF-7 (carcinoma de mama), con el fin de determinar el IC₅₀ de dichos compuestos en ambas líneas.

Los reactivos e instrumentación que se utilizó se resumen a continuación:

4.3.1 Reactivos e Instrumentación

La disolución de tripsina y ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 10X (0,5% tripsina, 0,2 % EDTA, 0,9 % NaCl), azul de tripano al 10%, medio de cultivo Dulbecco's modified Eagle's médium (DMEM) (glucosa, L-glutamina, NaHCO₃, piridoxina-HCl), suero fetal bovino (FBS), penicilina, anfotericina B, doxorubicina, [4,5-Dimetil, 2-tiazolil (2,5-difenil-2*H*-bromuro de tetrazolio)] conocido como MTT al 98% TLC y DMSO anhidro se emplearon tal y como fueron adquiridos por la casa Sigma-Aldrich. El amortiguador de fosfatos en disolución salina (PBS) se empleó posterior a su esterilización y los disolventes misceláneos tales como disolución de cloro al 10% y etanol al 70% se utilizaron directamente, sin ningún tratamiento adicional.

Se trabajó con cepas de células Vero, donadas por el Departamento de Virología de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica y las cepas de MCF-7 se adquirieron del NCI (National Cancer Institute, Estados Unidos).

Con respecto a la parte de instrumentación, se empleó el equipo básico para el manejo y mantenimiento de líneas celulares, a saber: incubadora, microscopio invertido, hematocitómetro, micropipeta de volumen ajustable de 20 µL, 100 µL y 1000 µL, micropipeta multicanales de volumen ajustable de 50 µL, centrífuga y lector de microplatos Biotek 96.

Además, se usó material estéril de plástico y de vidrio requerido para el cultivo y tratamiento de las células, específicamente: frascos de cultivo de 50 mL, microplatos de 96

hoyos de fondo plano, microtubos estándar de 1,5 mL, reservorios o pozos, tubos cónicos de 15 y 50 mL tipo Falcon, puntas para micropipeta, pipetas de 1, 5, 10 mL, viales de 2 mL, entre otros (Fig. 44).



Figura 44. Algunos materiales comúnmente utilizados en ensayos biológicos. Microplato de 96 hoyos para células adherentes (izquierda) y Frasco de Cultivo con células Vero (derecha).

4.3.2 Cultivo Celular y mantenimiento de líneas celulares

Disoluciones requeridas: i) Tripsina-EDTA 1X (0,05% tripsina, 0,02% EDTA), ii) Medio cultivo constituido por DMEM, suero fetal bovino al 10% y suplementación de penicilina y anfotericina B, ambas al 1%.

4.3.2.1 Mantenimiento de líneas celulares

Cada línea celular con que se trabajó debió ser subcultivada semanalmente bajo condiciones de crecimiento óptimas y velocidad necesaria para el análisis preliminar de los compuestos anticáncer. El número de días requeridos para alcanzar la confluencia apropiada así como también el número de frascos requeridos y la tripsinización varió según la línea celular con que se trabajó.

4.3.2.2 Selección del frasco de cultivo

Cada vez que se efectuó un ensayo se debió seleccionar un frasco de cultivo. El criterio para ello consistió en observar las células microscópicamente. Los frascos

seleccionados cumplían con las siguientes características: confluencia de aproximadamente 70-95%, células con una apariencia saludable, libres de contaminación, mínimo de restos de células flotando y el color de los medios de cultivo rojo claro.^{§§}

4.3.2.3 Tripsinización de líneas celulares adherentes

Cada vez que se requirió subcultivar una línea celular o se realizó el conteo de células para la inoculación de los microplatos fue necesario tripsinizar las células adherentes. Dicho proceso se describe a continuación:

Se decantó el medio de los frascos de células a ser subcultivadas o inoculadas. Se enjuagó tres veces (aproximadamente 3 mL por lavado) la monocapa de células con PBS. Luego de descartar el PBS usado, se adicionó 2 mL de tripsina a cada frasco, distribuyéndolo en forma uniforme sobre la monocapa de células y se colocó en la incubadora por un periodo no mayor a 5 min.^{***}

Se verificó bajo el microscopio invertido si las células se habían desprendido. En algunos casos, se golpeó suavemente el frasco para facilitar el desprendimiento de las células. Una vez que las células se desprendieron en su totalidad del frasco, éstas se suspendieron en 4 mL de medio preparado y se centrifugaron a 1000 rpm por 5 min. Se eliminó el medio sobrenadante y resuspendió la película de células en 12 mL de medio preparado. Después de resuspender las células, se pipeteó suavemente el medio para romper los agregados de células en la suspensión.

Para realizar el subcultivo, se adicionó una alícuota de 3 mL de las células suspendidas mencionadas anteriormente, más 7 mL de medio fresco en cada frasco. Por

^{§§} El color del medio es un indicador del grado de confluencia (particularmente, el fenol rojo es añadido al medio para indicar cambios de pH relacionados con la actividad de las células). Un color rojo intenso generalmente indica baja confluencia de células o crecimiento inapropiado. Por otra parte, un medio de color amarillo es indicativo de un sobrecrecimiento celular (aumento de acidez del medio).

^{***} La tripsina es una enzima que rompe el "cemento celular" que mantiene las células unidas al frasco y el PBS ayuda a algunas células a separarse más fácilmente con tripsina. La adición de tripsina se controló porque un exceso de tripsina o tiempo de exposición prolongado daña la membrana celular reduciendo la viabilidad.

último se colocó los frascos en la incubadora (atmósfera 5% CO₂/95% aire) y se soltó las tapas (de un cuarto a un medio giro) para que se diera un intercambio de gases apropiado.

4.3.2.4 Inoculación de microplatos

Para la inoculación de microplatos, se llevó a cabo primero la selección de frascos de cultivo con adecuada confluencia (70-80%) tal y como se mencionó anteriormente, se descartó en algunas ocasiones frascos contaminados con hongos o bacterias. Seguido de esto, se llevó a cabo la tripsinización de las células contenidas en los frascos seleccionados. Luego de la tripsinización se tomó 1 mL de la suspensión de células en un microtubo para su posterior conteo.

4.3.2.5 Conteo de células para inoculación de platos

Se colocó 20 µL de la suspensión de células (previamente agitada) y 20 µL de azul de tripano al 10% en un microtubo. Se pipeteó suavemente la disolución para homogenizar la mezcla.

Con una micropipeta se tomó 20 µL de la mezcla anterior y se transfirió a uno de los bordes de la cámara del hematocitómetro,^{†††} se liberó lentamente de la micropipeta para que pasara por debajo del cubreobjetos por acción capilar.



Figura 45. Hematocitómetro requerido para el conteo de células viables. Imagen cortesía de <http://www.hausserscientific.com/reichertbrightline.htm>.

Se colocó el hematocitómetro bajo el microscopio invertido (lente objetivo 20X) y se contabilizó cuidadosamente las células teñidas de azul (muertas) y la células sin teñir

^{†††} Previamente el hematocitómetro y cubreobjetos se limpió con etanol al 70%.

(viables), que aparecen en cada uno de los cuatro cuadrantes identificados en el esquema de la figura 46. Se determinó el promedio de células viables por cuadrante (1 mm^2) y dicho valor se multiplicó por un factor de 2×10^4 para encontrar el valor aproximado de células/mL. El porcentaje de viabilidad celular se calculó como el número de células viables entre el número total de células (viables y muertas).

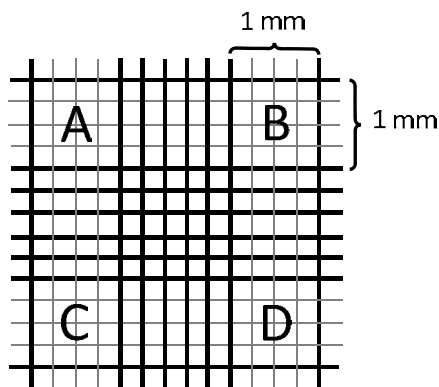


Figura 46. Esquema general de los cuadrantes observados en el hematocitómetro.

La cantidad de suspensión de células requerida para la inoculación de los microplatos se calculó de la siguiente forma:

$$V_s (\text{mL}) = \frac{D_i \left(\frac{\text{células}}{\text{mL}} \right) \times V_T (\text{mL})}{Cn_s \left(\frac{\text{células}}{\text{mL}} \right)}$$

donde V_s representa el volumen de suspensión de células requerido, D_i es la densidad celular de inoculación con que se quiere realizar el ensayo, V_T es el volumen total que se necesita (este valor depende del número de microplatos que se inoculen y el volumen por hoyo que se vaya a colocar) y Cn_s es la concentración aproximada de células en la suspensión (calculada a partir del conteo descrito anteriormente). En general, se trabajó con una densidad de 5×10^4 células/mL.

4.3.2.6 Inoculación de los platos

Una vez que se preparó la disolución de células requerida para el ensayo, se colocó en un reservorio estéril para la posterior colocación en los microplatos. Se procedió con ayuda de una pipeta de 12 canales a colocar aseptícamente $100 \mu\text{L}$ de la suspensión en

cada hoyo, hasta completar la adición de los microplatos requeridos para el experimento. Por último, los microplatos inoculados se mantuvieron en la incubadora por un periodo de 24 horas.

4.3.2.7 Tratamiento con muestras sintéticas

Transcurrido el periodo de inoculación, se sacó de la incubadora los microplatos, con el fin de adicionar las muestras sintéticas. Primero se eliminó el medio de cultivo original y se realizó dos lavados a cada pozo con PBS estéril, luego se agregó 100 μL del patrón correspondiente a cada línea. En la línea de control positivo, se adicionó doxorubicina (9,48 $\mu\text{mol/L}$). Después de colocar todos los patrones de cada muestra en los microplatos, se reingresa los microplatos a la incubadora por 48 horas.

Se trabajó con rangos de concentración de 150 $\mu\text{mol/L}$ a 1.0 $\mu\text{mol/L}$ y de 40 $\mu\text{mol/L}$ a 2.5 $\mu\text{mol/L}$ de las muestras sintéticas disueltas en DMSO anhidro (concentración máxima de DMSO en medio de cultivo menor al 2% v/v).^{***} Cada concentración se analizó por triplicado.

4.3.2.8 Ensayo de viabilidad celular utilizando MTT

Esta técnica utiliza como principio la capacidad que tienen las células viables de reducir compuestos como el MTT gracias a las diferentes enzimas oxidoreductas presentes en diferentes partes de la célula. En este caso una mayor coloración azul (mayor formación del compuesto formazán) correlaciona con una mayor viabilidad celular.

Las disoluciones que se utilizaron son las siguientes: MTT 5 mg/mL en PBS, pH 7.2; DMSO anhidro y medio de cultivo fresco.

El procedimiento se realizó después del tratamiento con la sustancia experimental. Primero se eliminó el medio de cultivo original y se realizó dos lavados a cada pozo con

^{***} Se realizó una curva de calibración para determinar la concentración de DMSO máxima permisible en medio de cultivo (ver anexo III).

PBS estéril y se agregó 100 μL de medio de cultivo fresco y MTT (concentración final de MTT 0.5 mg/mL) a cada pozo. Los microplatos se incubaron de 2 a 3 horas a 37 °C.

Transcurrido ese periodo, se removió el medio completamente y se adicionó 100 μL de DMSO con el fin de disolver los cristales de formazán, se realizó la lectura de los microplatos a 570 nm y los datos de absorbancia fueron normalizados para análisis posterior. El disolvente de la sustancia experimental se empleó como control negativo y la doxorubicina como control positivo.

Adicionalmente, se determinó el potencial de reducción para compararlo con los resultados de citotoxicidad. El procedimiento se describe en el siguiente apartado.

4.4 Procedimiento para la determinación de los potenciales de reducción de varios compuestos sintetizados

Por medio de voltamperometría cíclica se determinó los potenciales de reducción de los derivados **75**, **77**, **79** y **80**. La determinación se llevó a cabo bajo las siguientes condiciones:

- A) Se usó un Polarógrafo Autolab Echo Chemie PGSTAT10 para la medición y procesamiento de datos.
- B) Se utilizó un electrodo de vidrio permeable como electrodo de trabajo, su potencial se dio con referencia a un electrodo no polarizado de Ag/AgCl. Adicionalmente, se empleó un electrodo auxiliar de carbono, con el fin de evitar caídas de voltaje. Además se midió los potenciales a velocidades de 0.1, 0.3 y 0.5 voltios por segundo.
- C) Se trabajó a concentraciones de 0.001 mol/L del compuesto naftoquinónico y 0.100 mol/L de electrolito soporte, en este caso tetra-*N*-butilamonio hexafluorofosfato (TBAPF₆).
- D) El disolvente que se empleó fue acetonitrilo anhidro en atmósfera de nitrógeno (para eliminar el oxígeno gaseoso de medio) y temperatura ambiente.

Capítulo V: Discusión de resultados

En esta sección se detalla la optimización de la síntesis y caracterización de cada uno de los compuestos mostrados en el capítulo anterior. El capítulo se subdivide en tres partes, la primera de ellas está dedicada a la formación de compuestos derivados de lawsona y endo-borneol, la segunda a los derivados de naftoquinonas y adamantano, y la tercera a consideraciones especiales en la caracterización de los derivados sintetizados.

5.1 Formación de los derivados de lawsona y borneol

La síntesis de derivados de lawsona y [(1*S*)-endo]-(-)-Borneol constituyó la base de la optimización de los derivados de adamantano. Las razones por las cuales se escogió este alcohol principalmente son económicas (bajo costo respecto a los alcoholes derivados de adamantano, Cuadro III) y de tipo estructural (similitudes en hidrofobicidad y volumen comparado con el 1- y 2- adamantanol, Fig. 47).

Cuadro III. Costo económico de diversos alcoholes para utilización en síntesis orgánica.*

| Alcohol | Cantidad (g) | Precio (\$) | Precio por gramo (\$/g) |
|----------------------------------|--------------|-------------|-------------------------|
| [(1 <i>S</i>)-endo]-(-)-Borneol | 100 | 90 | 0.90 |
| 1-adamantanol | 5 | 65.80 | 13.16 |
| 2-adamantanol | 5 | 45.50 | 9.1 |
| 1-adamantanometanol | 10 | 89.50 | 8.95 |

*Precios consultados en línea en www.sigmaaldrich.com el 22/02/2010.

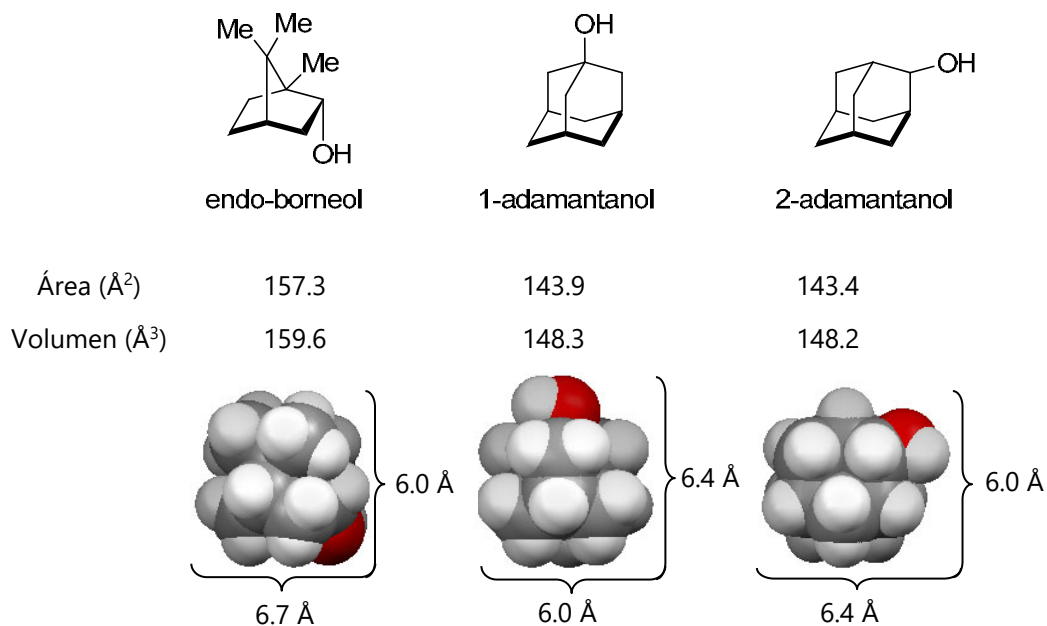


Figura 47. Comparación estructural entre el [(1*S*)-endo]-(-)-Borneol y algunos alcoholes derivados de adamantano.^{§§§}

Otro de los motivos por los cuales se decidió empezar a trabajar con borneol, fue la obtención del 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-naftoquinona como subproducto de la reacción de transesterificación del acetato de lawsona y el alcohol, en presencia de un ácido de Lewis en cantidades catalíticas, según lo reportado en la literatura (Fig. 48).⁹³

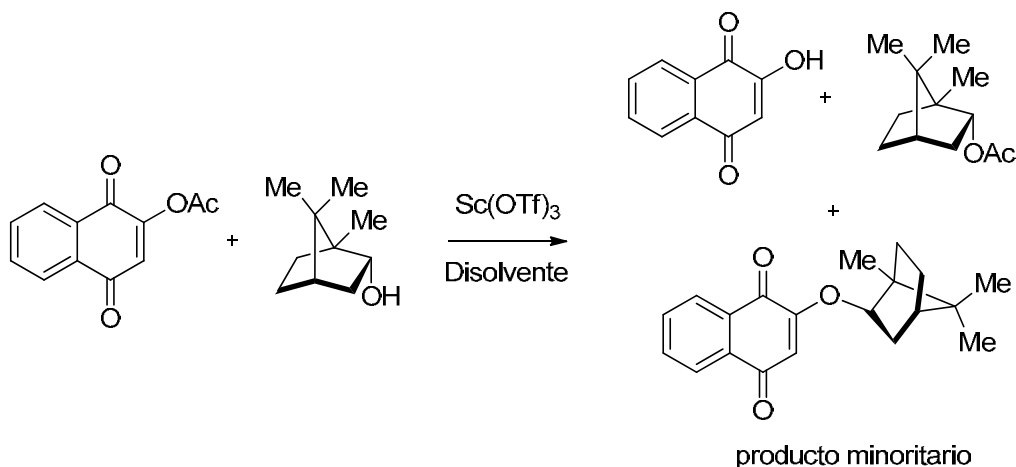


Figura 48. Formación del subproducto 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-naftoquinona.

^{§§§} Todas las estructuras fueron minimizadas en MM2 (ChemBio 3D Ultra 12). Para el cálculo de área y volumen aproximado se utilizó Chimera © 1.3

La generación de este producto se explica a través de un mecanismo que involucra a) la formación del α -dicetona de la lawsona (forma tautomérica poco favorecida)⁹⁴ estabilizado por un efecto quelato del ácido de Lewis, b) la activación del grupo carbonilo, c) el ataque del alcohol en la posición más electrofílica (en este caso en C2, puesto que los grupos carbonilo en C1 y C4 poseen conjugación con el anillo aromático y por consiguiente se disminuye el carácter electrofílico en esas posiciones), d) la formación del hemiacetal respectivo y finalmente, d) la formación del enol éter (Fig. 49).

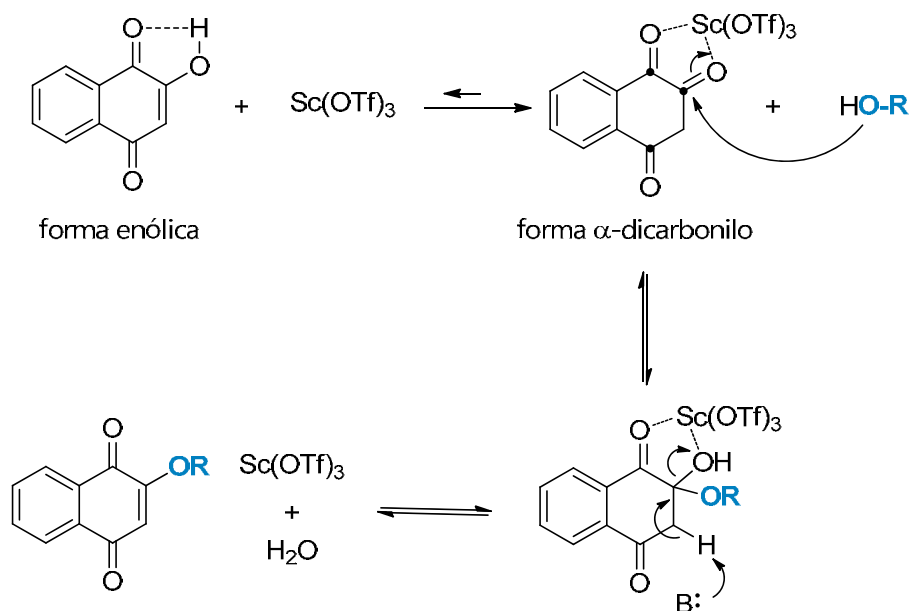


Figura 49. Mecanismo de formación del enol éter.

Dados estos antecedentes, se optó por formar el enol éter a partir de la esterificación viníloga de Fischer, utilizando como catalizador el triflato de escandio $\text{Sc}(\text{OTf})_3$, que se caracteriza por ser un ácido de Lewis fuerte, estable en agua y disponible comercialmente.⁹⁵

Inicialmente se efectuó la reacción a distintas proporciones molares de lawsona y alcohol (reacciones **1-4**, Cuadro IV), con el fin de determinar la razón estequiométrica más conveniente, las demás condiciones (disolvente, tiempo de calentamiento de la reacción, tipo y cantidad de catalizador) se mantuvieron constantes (excepto la reacción **5** que se discutirá más adelante).

Cuadro IV. Reacciones de acoplamiento entre la lawsona y [(1S)-endo]-(-)-Borneol.

| No. | L/B | Disolvente | Catalizador | Temp. /°C | Tiempo /h | L recup. / % | Rendimiento A/R % |
|-----|-----|--------------|--------------------------|--------------|--------------|-----------------|---|
| 1 | 2:1 | Dicloroetano | Sc(OTf) ₃ 10% | 85 | 6 | 54 | 2B-1,4N: 49 / 55 4B-1,2N: 9 / 11 |
| 2 | 1:2 | Dicloroetano | Sc(OTf) ₃ 10% | 85 | 6 | 29 | 2B-1,4N: NC 4B-1,2N: 21 / 30 |
| 3 | 1:4 | Dicloroetano | Sc(OTf) ₃ 10% | 85 | 6 | NC | Relación 2B/4B 1:2 4B-1,2N: 43 |
| 4 | 3:1 | Dicloroetano | Sc(OTf) ₃ 10% | 85 | 6 | 78 | Relación 2B/4B 1,22:1 2B-1,4N: 37 / 57 4B-1,2N: 22 / 34 |
| 5 | 3:1 | Heptano | Sc(OTf) ₃ 10% | 95 | 6 | 71 | 2B-1,4N: 35 / 41 subproducto: borneo |

L/B: relación molar entre reactivos, **L:** lawsona y **B:** borneol. **L recup.:** Lawsona recuperada.

Rendimiento A/R: Absoluto (después de purificación o recristalización) / Relativo (respecto a lawsona recuperada). **2B-1,4N:** 2-borneoxi-1,4-naftoquinona, **4B-1,2N:** 4-borneoxi-1,2-naftoquinon. **NC:** No cuantificado. **Relación 2B/4B:** proporción entre el 2B-1,4N y 4B-1,2N según espectro de ¹H-RMN del producto crudo.

De estas primeras cinco reacciones se observó lo siguiente:

1- Después de seis horas de calentamiento se recupera gran parte del reactivo de partida (lawsona), lo cual indica que la reacción hasta ese punto no es completa. Además, si se relaciona el porcentaje de lawsona recuperada con la velocidad de reacción, se deduce que entre mayor sea el exceso de lawsona al inicio de la reacción (reacciones **1** y **3**) la reacción ocurre más lento, por otro lado, un exceso de alcohol al inicio aumenta la velocidad de obtención del producto (reacción **2**). En otras palabras, la adición del alcohol a la naftoquinona se constituye en el paso lento de la reacción.

2- En las primeras cuatro reacciones se produce no solo el enol éter en la posición 2, sino que también se obtiene el enol éter en la posición 4. Se observa además que en las

reacciones donde se comienza con un exceso de lawsona (reacciones **1** y **3**), es mayor el porcentaje de enol éter en C2, es decir, se favorece el producto termodinámico, mientras que un exceso de alcohol favorece la posición C4, producto cinético (posee menos impedimento estérico). Adicionalmente, todas las reacciones presentan problemas en el aislamiento de los productos, específicamente se dificulta la eliminación del exceso de alcohol y existe la posibilidad de que el derivado se hidrolice por acción de los sitios ácidos del gel sílice, durante la purificación por cromatografía de columna.

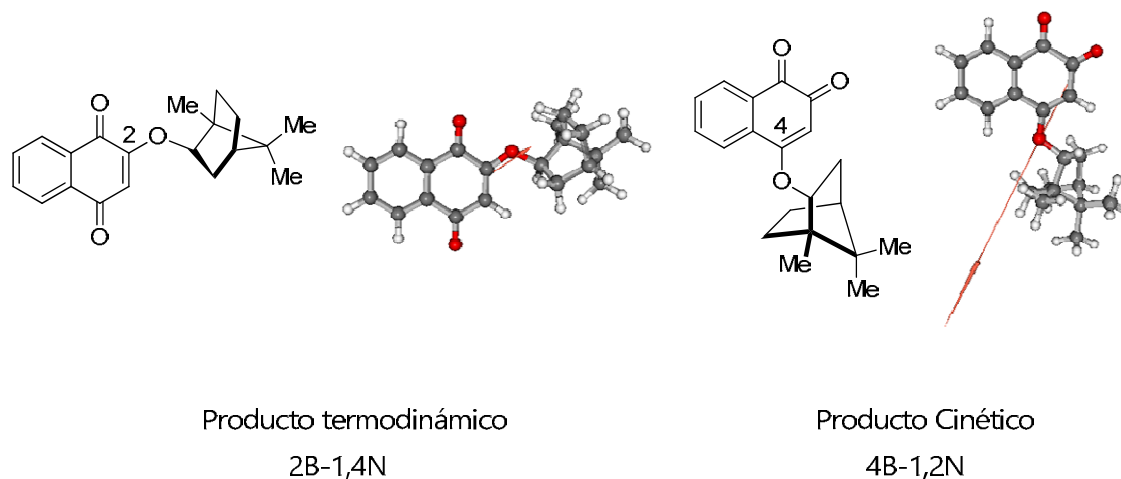


Figura 50. Productos formados de la reacción de acoplamiento entre lawsona y [(1S)-endo]-(-)-Borneol. Estructura en tres dimensiones muestra el dipolo que posee cada molécula (cálculos utilizando B3LYP/6-31G* en programa GAMESS).

Es importante señalar que el derivado 2B-1,4N se considera como el producto termodinámico (más estable) principalmente por efectos electrónicos, ya que este isómero posee un dipolo de menor magnitud que el derivado 4B-1,2N (Fig. 50).

3- En la reacción **5** a diferencia de las otras reacciones, se utilizó heptano como disolvente, dicho cambio implica una modificación en la temperatura de reacción y polaridad del disolvente, en este caso un ambiente no polar-aprótico y mayor temperatura favorecen solo la formación del producto termodinámico. Sin embargo, el rendimiento que se obtiene es bajo, debido a varias razones: primero el exceso de lawsona y la dificultad de tener un sistema completamente homogéneo (el heptano no disuelve muy bien los

reactivos) disminuye la velocidad de reacción (71% de lawsona recuperada), el otro factor es la reversibilidad de la reacción, según el espectro RMN del producto crudo, a partir de una reacción de eliminación E2 se forma borneno y por consiguiente se regenera lawsona (Fig. 51).

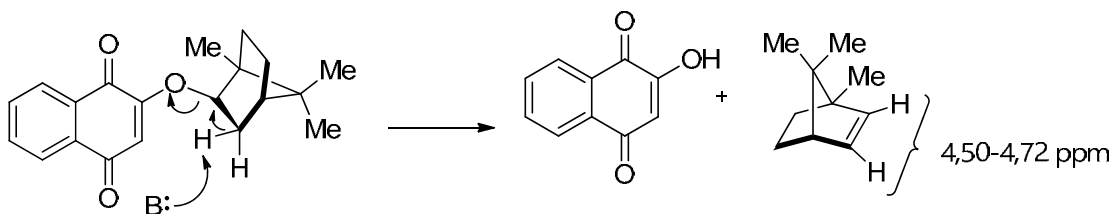


Figura 51. Mecanismo de formación de borneno.

Después de los resultados anteriores, se decidió probar con disolventes de mayor polaridad (clorobenceno, nitrometano, acetonitrilo y tetracloroetano) para ver si se alteraba la regioselectividad de la reacción, específicamente si se favorecía el producto cinético (reacciones **6-12**, Cuadro V), sin embargo no se obtuvo resultados satisfactorios, las reacciones se caracterizaron por no formar producto o generar gran cantidad de subproductos, la razón principal fue la elevada temperatura del sistema de reflujo (81-147 °C) que promueve el ataque del alcohol en C2 (reacciones **6** y **7**) y/o descomposición de reactivos y productos.

Cabe señalar que en las reacciones **6-9**, **15** y **16**, se utilizó un dedal de celulosa que contenía un desecante (CaH_2 o tamices moleculares) esto con el fin de extraer trazas de agua presentes en el vapor del disolvente (Fig. 52) y por principio de Le Châtelier desplazar la reacción hacia los productos. Lo anterior, se cumplió para las reacciones **6**, **7**, **15** y **16** donde se observó un incremento de producto 2B-1,4N.

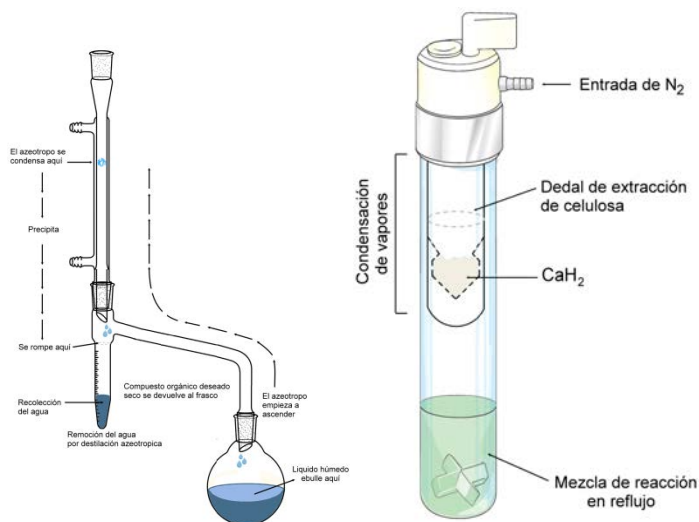


Figura 52. Diagrama del equipo tradicional, Dean-Stark (izquierda) y el sistema utilizado para eliminar agua del medio de reacción (derecha).

Adicionalmente, se varió la cantidad de catalizador en la reacción en dos disolventes similares (reacciones **13-18**). En las reacciones efectuadas en dicloroetano (**13-16**) se observó que una relación 1:1 lawsona: alcohol, disminuye la regioselectividad, sin embargo un mayor porcentaje de catalizador no logra aumentar de forma significativa la proporción del 4B-1,2N. Lo anterior es un reflejo de la termodinámica de la reacción, en la que altas temperaturas promueven la conversión del isómero menos estable al más estable. Dicha observación se corrobora en las reacciones **17** y **18**, donde se utilizó un disolvente de menor punto de ebullición (diclorometano, 40 °C) lo que trajo consigo un incremento en la proporción del producto cinético (prácticamente se obtiene 50% de ambos isómeros). El inconveniente que se presenta en la mayoría de las reacciones es el proceso de purificación de los productos, en particular, del 4B-1,2N que generalmente no logra obtenerse puro (trazas de borneol) o se descompone durante la purificación por cromatografía de columna.

En un futuro, la optimización del 4-borneoxi-1,2-naftoquinona debe enfocarse en el uso de disolventes de bajo punto de ebullición y ácidos de Lewis fuertes en combinación con un mayor número de equivalentes de alcohol al inicio de la reacción.

Cuadro V. Optimización de la síntesis de 4-borneoxi-1,2-naftoquinona.

| No. | L/B | Disolvente | Catalizador | Temp. /°C | Tiempo /h | Observaciones |
|-----------------|-----|-----------------|--------------------------|-----------|-----------|---|
| 6 ^a | 1:2 | Clorobenceno | Sc(OTf) ₃ 5% | 132 | 18 | 2B-1,4N y subproductos |
| 7 ^b | 1:2 | Nitrometano | Sc(OTf) ₃ 5% | 101 | 18 | 2B-1,4N y subproductos |
| 8 ^a | 1:2 | Acetonitrilo | Sc(OTf) ₃ 5% | 81 | 18 | NR |
| 9 ^a | 1:2 | Acetonitrilo | Sc(OTf) ₃ 10% | 81 | 4 | NR |
| 10 | 1:1 | Tetracloroetano | Sc(OTf) ₃ 1% | 147 | 24 | NR |
| 11 | 1:1 | Tetracloroetano | Sc(OTf) ₃ 10% | 147 | 4 | NR |
| 12 | 1:1 | Tetracloroetano | Sc(OTf) ₃ 20% | 147 | 3 | NR |
| 13 | 4:1 | Dicloroetano | Sc(OTf) ₃ 15% | 85 | 4 | Relación 2B/4B 4 : 1 2B-1,4N rend. A/R: 45/ 56 |
| 14 | 3:1 | Dicloroetano | Sc(OTf) ₃ 10% | 85 | 21 | 2B-1,4N 39% rend. |
| 15 ^a | 1:1 | Dicloroetano | Sc(OTf) ₃ 5% | 85 | 4 | Relación 2B/4B 1,5 : 1 L. recup. 65% |
| 16 ^a | 1:1 | Dicloroetano | Sc(OTf) ₃ 25% | 85 | 2 | Relación 2B/4B 1,86 : 1 |
| 17 | 1:1 | Diclorometano | Sc(OTf) ₃ 25% | 40 | 2 | Relación 2B/4B 1 : 1,17 L. recup. 63% |
| 18 | 1:1 | Diclorometano | Sc(OTf) ₃ 25% | 40 | 5 | Relación 2B/4B 1 : 1,17 L. recup. 57% |

^aSe utilizó dedal de celulosa con CaH₂ anhidro. ^bSe utilizó dedal de celulosa con tamices.

L/B: relación molar entre reactivos, **L:** lawsona y **B:** borneol. **L recup.:** Lawsona recuperada. **Rendimiento A/R:** Absoluto (después de purificación o recristalización) / Relativo (respecto a lawsona recuperada). **2B-1,4N:** 2-borneoxi-1,4-naftoquinona, **4B-1,2N:** 4-borneoxi-1,2-naftoquinon. **Relación 2B/4B:** proporción entre el 2B-1,4N y 4B-1,2N según espectro de ¹H-RMN del producto crudo. **NR:** No hay reacción.

Por otra parte, la optimización de la síntesis del 2B-1,4N se enfocó en variar el ácido de Lewis (reacciones **19-22**, Cuadro VI), con el fin de utilizar uno menos fuerte que el Sc(OTf)₃, y así impedir la formación de varios productos. En resumen, la combinación de un exceso de lawsona que desplace el equilibrio hacia los productos, una temperatura de reacción moderada (85 °C) que favorece la formación del producto termodinámico y el uso de Cu(OTf)₂ como catalizador, representa las condiciones óptimas para sintetizar de forma exclusiva el 2B-1,4N.

Cuadro VI. Optimización de la síntesis del 2-borneoxi-1,4-naftoquinona.

| No. | L/B | Disolvente | Catalizador | Temp. /°C | Tiempo /h | Observaciones |
|-----------------|-----|--------------|--------------------------|--------------|--------------|--------------------|
| 19 ^b | 1:1 | Nitrometano | Cu(OTf) ₂ 15% | 101 | 5 | Solo 2B-1,4N (77%) |
| 20 ^a | 1:1 | Dicloroetano | Cu(OTf) ₂ 5% | 85 | 2 | Solo 2B-1,4N |
| 21 | 4:1 | Dicloroetano | Cu(OTf) ₂ 10% | 85 | 4 | Solo 2B-1,4N (83%) |
| 22 | 4:1 | Dicloroetano | Bi(OTf) ₃ 5% | 85 | 4 | Solo 2B-1,4N (70%) |

^aSe utilizó dedal de celulosa con CaH₂ anhidro. ^bSe utilizó dedal de celulosa con tamices.

L/B: relación molar entre reactivos, **L**: lawsona y **B**: borneol. Los valores entre paréntesis indican el porcentaje de rendimiento después de purificación o recristalización. **2B-1,4N**: 2-borneoxi-1,4-naftoquinona. **NR**: No hay reacción.

Por último, otro derivado que se intentó formar fue el 2-borneoxi-3-cloro-1,4-naftoquinona, a partir de la dicloronaftoquinona y alcohol correspondiente, en condiciones básicas (Fig. 53). La idea fundamental de la ruta escogida fue combinar los siguientes factores: a) el uso de Cs₂CO₃ como base (pK_a de H₂CO₃ en agua ~10) en un disolvente orgánico, capaz de desprotonar un alcohol (pK_a~ 17)⁹⁶ b) la presencia de un buen grupo saliente (-Cl) y c) un disolvente polar-aprótico (dimetoxietano), el cual forma quelatos con el Cs⁺ y no solvata el alcóxido, por lo que el nucleófilo queda libre para reaccionar, d) la interacción entre un electrófilo duro (C2 de naftoquinona) y un nucleófilo duro (alcóxido) que puede favorecerse según las reglas de Saville,⁹⁷ las cuales establecen que si existe una diferencia en términos de teoría de ácidos y bases duros y suaves (HSAB) entre los reactivos (en este caso el ión cesio suave y el oxígeno duro del alcóxido), esto contribuye con la formación de los productos.

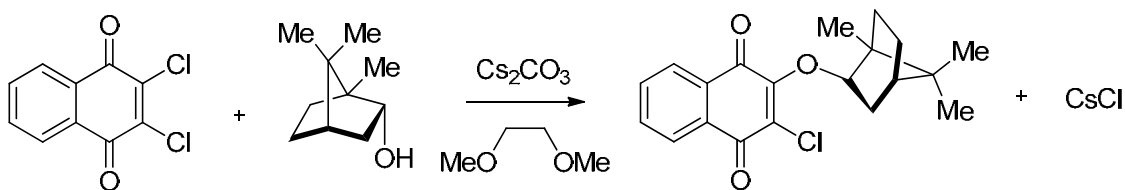


Figura 53. Reacción de acoplamiento de 2,3-dicloro-1,4-naftoquinona con borneol.

A pesar de los factores mencionados no se obtuvo producto, posiblemente el efecto ésterico entre el alcohol y el cloro en la posición 3, impidió que se llevara a cabo la reacción de adición-eliminación que se esperaba (Fig. 54).

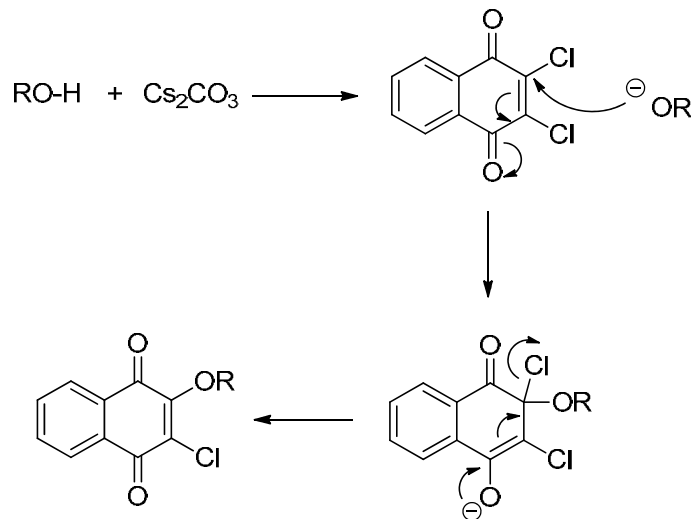


Figura 54. Mecanismo de adición-eliminación de un alcóxido a 2,3-dicloro-1,4-naftoquinona.

5.2 Formación de derivados de naftoquinonas y adamantano

5.2.1 Síntesis del 2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-naftoquinona [73]

El uso de un alcohol neopentílico como el 1-adamantanometanol disminuye la reversibilidad de la reacción, puesto que a partir del derivado es más difícil regenerar lawsona (no existen hidrógenos en posición beta al oxígeno, por lo que no ocurre eliminación E2). Dicha ventaja se observa al comparar el rendimiento de la reacción mostrada en la figura 55 (76 y 84 % rendimiento real y relativo a lawsona recuperada, respectivamente) versus el bajo rendimiento (35/41%) obtenido en la síntesis del derivado a partir de borneol, alcohol no neopentílico (reacción **5**, cuadro IV). En resumen, las ventajas de ruta sintética son: tiempo de reacción corto, uso de un disolvente "amarillo",⁹⁸ bajo porcentaje de catalizador utilizado y rendimiento alto.

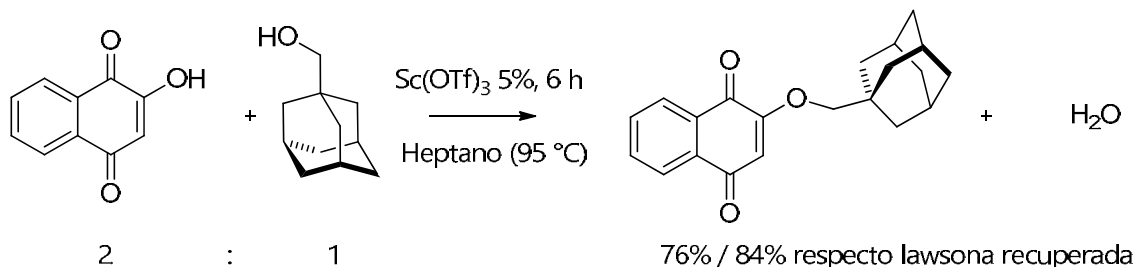


Figura 55. Síntesis del 2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-naftoquinona a partir de la reacción de lawsona y 1-adamantilmetanol.

5.2.2 Síntesis del 2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-naftoquinona [74]

La formación selectiva de 2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-naftoquinona en principio se llevó a cabo en las mismas condiciones que el derivado formado a partir de 1-adamantanometanol, a saber: uso de disolvente no polar-aprótico (heptano) que permitiera una temperatura de reacción alta para promover la formación del producto termodinámico (alquilación en C2) y exceso de lawsona para desplazar el equilibrio hacia los productos (reacción **1**, cuadro VII). Sin embargo, la cinética de la reacción es muy lenta (en 24 horas la reacción no se ha completado), por lo que estas condiciones no ofrecen un rendimiento alto. Sumado a lo anterior, el producto puede descomponerse y regenerar lawsona a partir de una reacción de eliminación E2 similar a la observada en el derivado de borneol (Fig. 56)

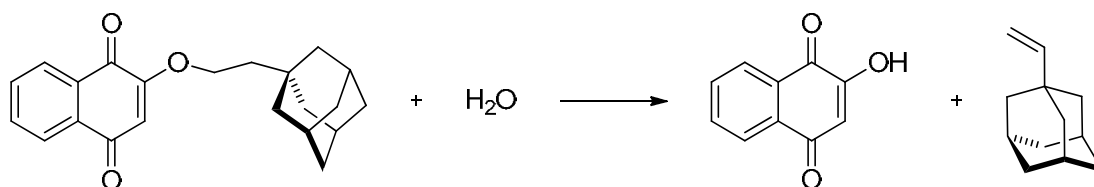
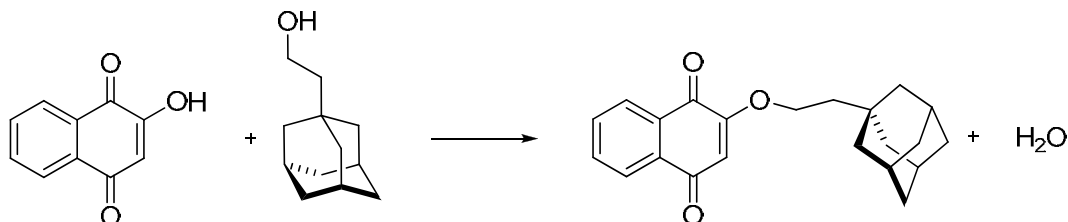


Figura 56. Regeneración de lawsona a partir de 2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-naftoquinona.

Cuadro VII. Síntesis del 2-(2-(1-adamantil)etanoi)-1,4-naftoquinona a partir de la reacción de lawsona y 2-(1-adamantil)etanol.



| No. | L/A | Disolvente | Catalizador | Temp. /°C | Tiempo /h | L. recup / % | Rendimiento A/R % |
|----------------------|-----|------------|-------------------------|-----------|-----------|--------------|-------------------|
| 1 | 2:1 | Heptano | Sc(OTf) ₃ 5% | 95 | 24 | 70 | 41 / 67 |
| 2^a | 1:1 | Heptano | Sc(OTf) ₃ 5% | 95 | 20 | 32 | 59 / 86 |

^a Se utilizó dedal de celulosa con CaH₂ anhidro.

L/A: relación molar entre reactivos, **L:** lawsona y **A:** alcohol. **L recup.:** Lawsona recuperada. **Rendimiento A/R:** Absoluto (después de purificación o recristalización) / Relativo (respecto a lawsona recuperada).

Los problemas que presenta la reacción **1** son principalmente la baja solubilidad de lawsona en heptano y la cinética de reacción lenta, por lo que se optó por mejorar la homogeneidad de la disolución (no usar exceso de lawsona) y eliminar agua del sistema a través del sistema "Dean-Stark modificado" (reacción **2**) para desplazar el equilibrio de la reacción hacia los productos. Como resultado se redujo el tiempo de reacción (de 24 a 20 horas el porcentaje de lawsona recuperada bajó a un 32%) y lo más importante, se aumentó el rendimiento de la reacción en un 18%.

5.2.3 Síntesis del 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona [75]

Para la formación del derivado de lawsona y 2-adamantanol se utilizó en un inicio las mismas condiciones empleadas en la síntesis del 2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-naftoquinona, dada la similitud estructural entre los alcoholes empleados. La única variable en el procedimiento de síntesis fue la adición de MgSO₄ anhidro con el fin de eliminar el agua que se genera en la reacción (reacción **1**, cuadro VIII), sin embargo el rendimiento obtenido no superó el 18%, por lo que se optó por aumentar la temperatura de reacción

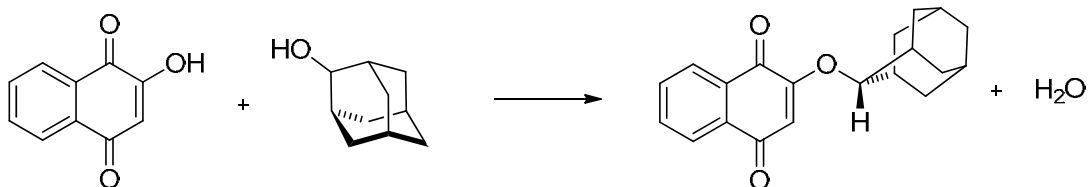
(se empleó octano como disolvente) para promover la formación de producto termodinámico, además se sustituyó el sulfato de magnesio por un dedal de celulosa con tamices moleculares. En este caso se obtuvo en menor tiempo (3 horas) un mayor rendimiento (38%, reacción **2**), cabe señalar que esta reacción presenta como inconveniente la baja solubilidad de la lawsona en octano, que obliga a usar más disolvente y tener una disolución de menor concentración que no favorece la cinética de la reacción.

Otra variable que se consideró fue el tiempo de reacción, específicamente se repitió la reacción **2** por un periodo de tiempo mayor (48 y 24 horas), a pesar de ello, parece ser que esta variable favorece la reversibilidad de la reacción, puesto que el porcentaje de producto obtenido disminuyó a un 12% y 10% en las reacciones **3** y **4** respectivamente.

Por otro lado, se probó otros catalizadores ($\text{Cu}(\text{OTf})_2$ y $\text{Bi}(\text{OTf})_3$), se cambió el disolvente a dicloroetano para aumentar la concentración de reactivos (en este disolvente la lawsona es más soluble) y se combinó el uso de un exceso de lawsona con la eliminación de agua, cuyo propósito fue desplazar la reacción hacia los productos (reacciones **5-9**). Según los resultados mostrados en el cuadro VIII, el uso de catalizadores menos ácidos disminuyen el efecto catalizador sobre la reacción inversa, en especial el $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ muestra un rendimiento mayor (41 %, reacción **9**) comparado con el triflato de escandio y bismuto.

Es importante señalar que la termodinámica de la reacción debe estudiarse más a fondo, ya que los resultados obtenidos indican que conforme aumenta el tiempo de reacción se favorece la reversibilidad de dicha reacción es decir, la descomposición del producto en los sustratos de partida (comparación entre reacciones **2** y **3**, **8** y **9**). Se recomienda en un futuro hacer un monitoreo del porcentaje de producto obtenido en función del tiempo, con el fin de optimizar dicha variable.

Cuadro VIII. Síntesis del 2-(2-adamantoxi)-1,4-naftoquinona a partir de la reacción de lawsona y 2-adamantanol.



| No. | L/A | Disolvente | Catalizador | Temp /°C | Tiempo /h | Rendimiento A/R (%) |
|----------------|-----|--------------|-------------------------|----------|-----------|---------------------|
| 1 ^a | 2:1 | Heptano | Sc(OTf) ₃ 6% | 95 | 24 | 18 / 31 |
| 2 ^b | 1:1 | Octano | Sc(OTf) ₃ 2% | 125 | 3 | 38 / 47 |
| 3 ^b | 1:1 | Octano | Sc(OTf) ₃ 2% | 125 | 48 | 12 / 15 |
| 4 ^c | 1:1 | Octano | Sc(OTf) ₃ 4% | 125 | 24 | 10 / 15 |
| 5 ^d | 2:1 | Dicloroetano | Sc(OTf) ₃ 4% | 85 | 26 | C. L 19% |
| 6 | 2:1 | Dicloroetano | Bi(OTf) ₃ 5% | 85 | 21 | 25 |
| 7 ^d | 2:1 | Dicloroetano | Bi(OTf) ₃ 5% | 85 | 26 | C. L 35% |
| 8 ^d | 2:1 | Dicloroetano | Cu(OTf) ₂ 5% | 85 | 26 | C. L 35% |
| 9 ^b | 2:1 | Dicloroetano | Cu(OTf) ₂ 5% | 85 | 21 | 41 |

^a Se añade 600 mg de MgSO₄ anhidro. ^b Se utiliza un dedal de celulosa con tamices. ^c Se utiliza un dedal de celulosa con CaH₂ anhidro. ^d A diferencia de 1-4, 6 y 9, el work-up consiste en lavados con H₃PO₄ al 25% en vez de NaHCO₃. En todas las reacciones se agrega de último el catalizador con excepción de la reacción 6 y 9. Los productos crudos de 5 a 8 se mezclaron para realizar purificación por cromatografía de columna.

L/A: relación molar entre reactivos, **L:** lawsona y **A:** alcohol. **Rendimiento A/R:** Absoluto (después de purificación o recristalización) / Relativo (respecto a lawsona recuperada). **C.L:** porcentaje de conversión de lawsona a producto según espectro ¹H-RMN del producto crudo.

5.2.4 Síntesis del 4-(2-adamantanoxi)-1,2-naftoquinona [76]

El 4-(2-adamantanoxi)-1,2-naftoquinona es el compuesto que se obtiene a partir del ataque del 2-adamantanol en C4 de la lawsona. Este derivado representa el producto cinético de la reacción, ya que por efecto electrónico al comparar los dipolos de los dos regioisómeros posibles (Fig. 57), se observa un mayor dipolo en este derivado y por lo tanto se constituye en el isómero menos estable.

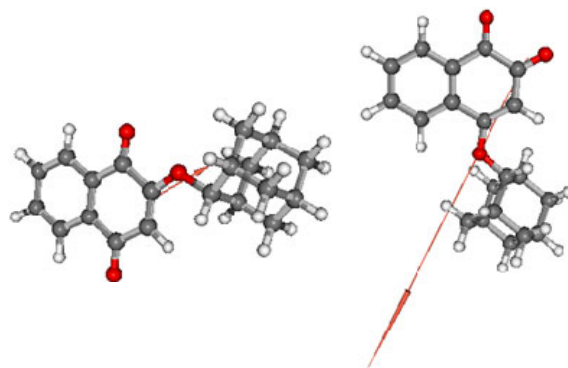


Figura 57. Comparación entre los dipolos del 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona y 4-(2-adamantanoxi)-1,2-naftoquinona (cálculos utilizando B3LYP/6-31G* en programa GAMESS).

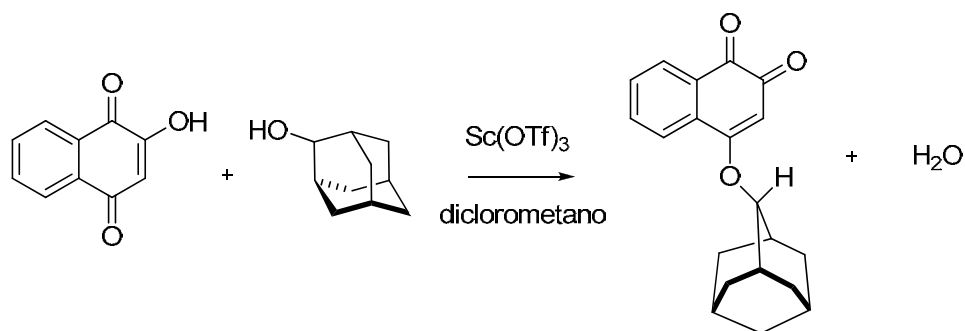
Dado lo anterior, debe existir un control de la temperatura de reacción que impida la formación del producto termodinámico, para ello se utilizó diclorometano como disolvente (punto de ebullición 40 °C), además el ambiente polar que genera el disolvente estabiliza o prefiere la formación del producto con mayor polaridad (en este caso, el 4-(2-adamantanoxi)-1,2-naftoquinona).

Adicionalmente se utilizó un ácido de Lewis fuerte y en un porcentaje elevado (50 y 25% de $\text{Sc}(\text{OTf})_3$) con el fin de tener de forma efectiva el quelato entre O1 y O2 y permitir el ataque del alcohol en el carbonilo menos impedido en términos estéricos, es decir, en O4. Los resultados obtenidos se resumen en el cuadro IX.

De las dos reacciones efectuadas se deduce que cuando se emplea un alto porcentaje de catalizador (reacción **1**) sumado a un tiempo de reacción largo, se obtiene

prácticamente el doble de producto termodinámico con respecto al cinético. Por otro lado, la reducción de la cantidad de catalizador y tiempo de reacción ofrece una preferencia por el producto cinético (proporción 1:1,5 entre isómero 1,4 e isómero 1,2, reacción **2**).

Cuadro IX. Síntesis del 4-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona a partir de la reacción de lawsona y 2-adamantanol.



| No.* | L/A | Catalizador / % | Temp / °C | Tiempo (días) | Relación 1,4 : 1,2 | Rendimiento isómero 1,2 / % |
|----------|-----|-----------------|-----------|---------------|--------------------|-----------------------------|
| 1 | 1:1 | 50 | 40 | 5 | 1.8 : 1 | 37 |
| 2 | 4:3 | 25 | 40 | 3 | 1 : 1.4 | 42 |

* Adicionalmente se utilizó un dedal de celulosa con CaH₂ anhidro.

L/A: relación molar entre reactivos, **L**: lawsona y **A**: alcohol. **Rendimiento A/R**: Absoluto (después de purificación o recristalización) / Relativo (respecto a lawsona recuperada).

Cabe señalar que no se realizó reacciones en las que se partiera de un exceso de alcohol, por lo que se sugiere en investigaciones futuras considerar esta nueva variable y así mejorar los porcentajes de rendimiento que se obtuvieron en este trabajo. Además, se recomienda monitorear el porcentaje de isómero 1,2 obtenido en función del tiempo, ya que se desconoce si durante el periodo de calentamiento de las reacciones que se efectuaron, se dio una conversión del producto menos al más estable.

5.2.5 Síntesis del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona [77]

Análogo a la síntesis del 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona, se intentó sintetizar el 2-(1-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona por medio de la esterificación viníloga de lawsona y 1-adamantanol (Fig. 58). Durante la extracción de la mezcla de reacción se adicionó una disolución Na_2CO_3 para separar la lawsona del producto (formar lawsonato soluble en agua), sin embargo se observó durante la extracción líquido-líquido, que la capa orgánica era incolora, lo que sugiere que el producto observado durante el monitoreo por TLC se encontraba en la capa acuosa y no era el derivado que se esperaba sintetizar, de tal manera que se adicionó ácido fosfórico al 25% y se recuperó en la capa orgánica tanto la lawsona en exceso como el producto formado para posteriormente purificarlo.

La caracterización espectroscópica (^1H -RMN y ^{13}C -RMN, DEPT y HSQC, ver anexo I) mostró que el derivado formado fue el 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona (producto alquilado en C3). Además este compuesto concuerda con lo observado durante la extracción (formación del grupo hidroxilo del derivado soluble en agua).

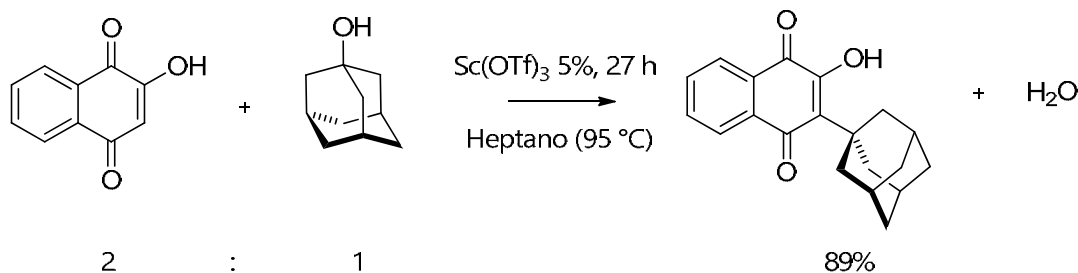


Figura 58. Síntesis del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona a partir de la reacción de lawsona y 1-adamantanol.

Ahora bien, la ruta de síntesis del producto alquilado en C3 se explica a partir de las siguientes consideraciones:

- 1- El efecto estérico del núcleo del 1-adamantanol evita la O-alquilación o disminuye la estabilidad del producto O-alquilado por lo que la reacción se revierte y genera los sustratos de partida.

- 2- El heptano es un disolvente de tipo no polar-aprótico capaz de formar "jaulas" alrededor de moléculas con carácter polar, lo cual permite una pre-organización de los sustratos que facilita la reacción entre estos.
- 3- La literatura reporta que $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ es un poderoso ácido de Lewis capaz de coordinarse con máximo siete ligandos,⁹⁹ por lo que sugiere que dicho ácido se coordina simultáneamente con la lawsona (entre O1 y O2) y el alcohol formando un complejo con geometría octaédrica (Fig. 59). Adicionalmente, existe la posibilidad de formar un puente de hidrógeno entre el H ácido de la lawsona y el O del 1-adamantanol. Como consecuencia el enlace C-O en el 1-adamantanol se debilita (aumenta longitud de enlace).

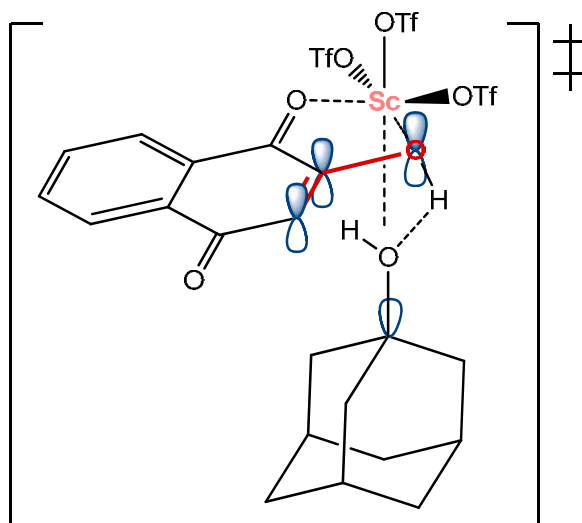


Figura 59. Estado de transición propuesto para la reacción entre la lawsona y el 1-adamantanol.

- 4- El complejo formado entre el triflato de escandio, lawsona y alcohol (Fig. 59) posee un arreglo geométrico tal que permite que ocurra una reacción intramolecular en la cual según orbitales de frontera interacciona el HOMO de la lawsona (Fig. 60) con el LUMO del 1-adamantanol (σ^*).

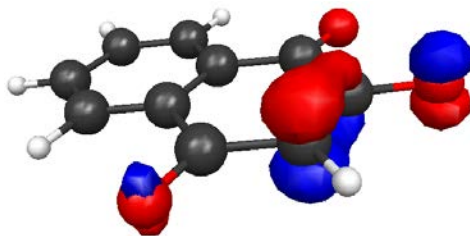


Figura 60. Orbital ocupado de mayor energía (HOMO) de la lawsona (cálculos utilizando B3LYP/6-31G* en programa GAMESS).

- 5- En términos termodinámicos, se favorece el factor entálpico gracias a la formación de interacciones entre sustratos y catalizador (puentes de Hidrógeno y formación de complejo) mientras que el factor entrópico disminuye al tener un estado de transición tan ordenado.
- 6- El periodo de reacción es muy largo (27 horas), probablemente debido a una energía de activación alta, producto de la disminución en la entropía de activación (ΔS^\ddagger) que se requiere para formar el estado de transición organizado.

Por otro lado, durante la purificación se obtuvo un subproducto (27 mg, ~8.8 % de rendimiento), sin embargo no fue posible elucidar la identidad del compuesto por métodos espectroscópicos. Dadas las condiciones de reacción puede suponerse la formación del enol éter (1-adamantanoxi). Otra posibilidad es un rearrreglo en el núcleo de adamantano para formar protoadamantano en la posición C3 o el derivado 3-(2-adamantil) (Fig. 61)¹⁰⁰. Además, la reacción del subproducto con una disolución de NaOH mostró un coloración roja asociada a la formación de lawsonato, ya sea por la descomposición del 1-adamantanoxi para formar lawsonato y el alcohol correspondiente, o la desprotonación del grupo -OH del derivado con 2-adamantanoxi o con protoadamantano. Dado lo anterior no se descarta la formación de estos derivados.

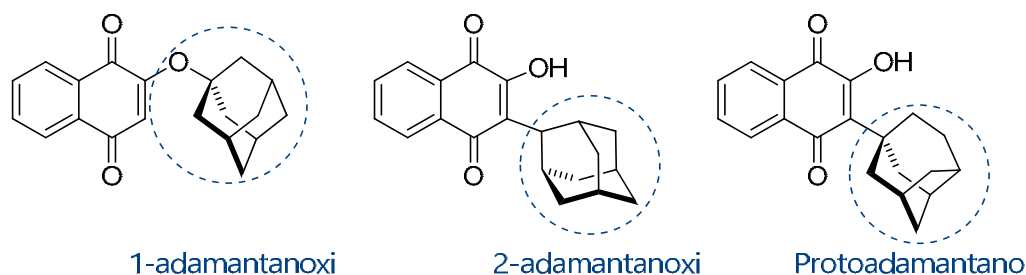


Figura 61. Estructuras posibles del subproducto obtenido en la reacción entre la lawsona y el 1-adamantanol.

El porcentaje de rendimiento alto (89%) que se obtuvo en la síntesis de este derivado se debe a que a diferencia de los otros productos de alquilación en C2 y C4 donde existe una reversibilidad de la reacción (regeneración de lawsona y alcohol a partir de producto), la formación del enlace C-C es irreversible por lo que no se presentan los mismos problemas de control de temperatura y tiempo de reacción observados en la formación de los otros derivados de lawsona y adamantano (Fig. 62).

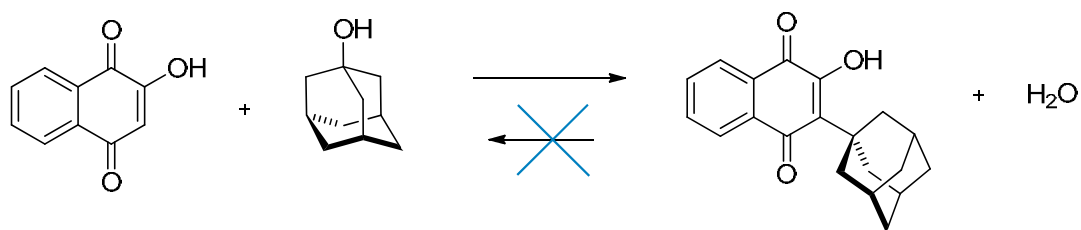


Figura 62. Irreversibilidad en la formación de derivados en C3 de la lawsona.

5.2.6 Síntesis del 2-(1-aminoadamantil)-1,4-naftoquinona [79]

Para la síntesis del 2-(1-aminoadamantil)-1,4-naftoquinona se utilizó la 2-bromo-1,4-naftoquinona en vez de la lawsona, por cuanto -Br es un donador de densidad electrónica débil y buen grupo saliente a diferencia del -OH de la lawsona. Por su parte, el grupo amino se caracteriza por ser un buen nucleófilo y de menor volumen que el grupo -OH de un alcohol, lo cual disminuye el impedimento estérico durante el acoplamiento de los sustratos y por lo tanto permite que ocurra la reacción.

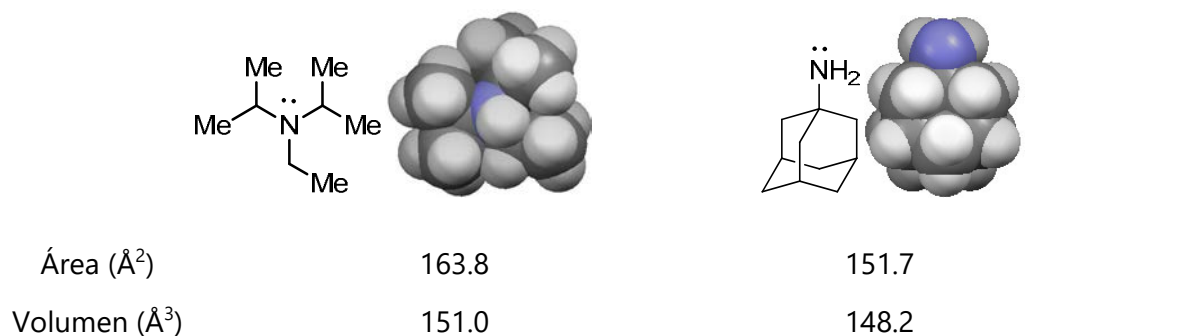


Figura 63. Estructura de la base de Hünig (izquierda) y 1-adamantilamina (derecha) en dos y tres dimensiones respectivamente. Estructuras minimizadas en MM2 (ChemBio 3D Ultra 12), cálculo de área y volumen aproximado en Chimera © 1.3.

Otro aspecto adicional es el uso de diisopropiletilamina (base de Hünig, pK_a del ácido conjugado 11.4) como activador de la reacción, esta base ofrece la ventaja de ser no nucleofílica gracias al gran impedimento estérico que posee (las dimensiones de la base son mayores que las de 1-adamantilamina, Fig. 63) por lo que no compite con el aminoadamantano en el ataque a C2 de la naftoquinona, tal y como se muestra el mecanismo de adición-eliminación que se supone ocurre en esta reacción (Fig. 64).

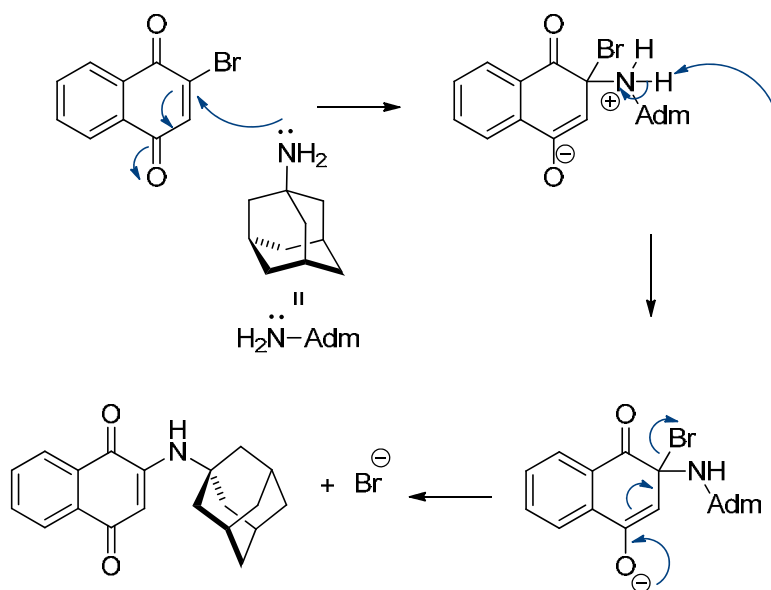


Figura 64. Mecanismo de formación del 2-(1-aminoadamantil)-1,4-naftoquinona.

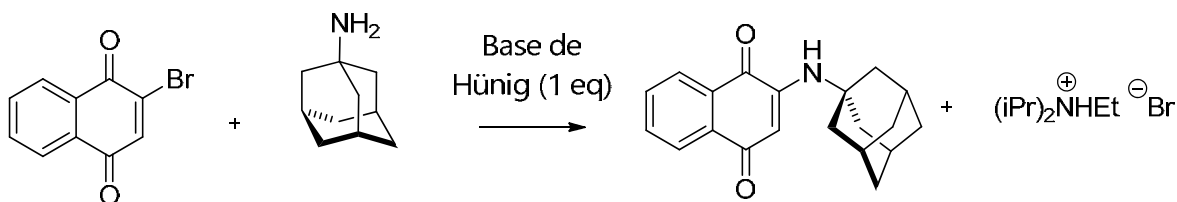
La combinación de todos los factores antes mencionados se constituyó en la base de la síntesis propuesta para la formación del compuesto **79** (cuadro X). Además se decidió trabajar a temperatura ambiente con el fin de minimizar la reversibilidad de la reacción y se efectuó la misma reacción en dos disolventes polares apróticos. Los resultados del cuadro X muestran que el acetonitrilo da un mejor rendimiento en menor tiempo (5 horas versus 24 horas en el dimetoxietano). La razón principal razón por la cual el acetonitrilo dio un mejor resultado se debe a que dada es un disolvente bastante polar ($\epsilon^{20^\circ\text{C}}$ 37,50 versus $\epsilon^{25^\circ\text{C}}$ 7,20 para el dimetoxietano, [http://depts.washington.edu/eoopic/linkfiles/dielectric_chart\[1\].pdf](http://depts.washington.edu/eoopic/linkfiles/dielectric_chart[1].pdf)) capaz de estabilizar por solvatación de forma efectiva el intermediario con cargas que se propone en el mecanismo de formación del derivado.

El único inconveniente de usar una amina terciaria es que existe una competencia entre la desprotonación del 1-aminoadamantano y la donación de electrones para formar un complejo de transferencia de carga entre la amina y la naftoquinona¹⁰¹ (el cual se evidencia porque el medio de reacción se torna oscuro, Fig. 65).



Figura 65. Reacciones de acoplamiento entre 2-bromo-1,4-naftoquinona y 1-adamantilamina en dimetoxietano (izquierda) y acetonitrilo (derecha).

Cuadro X. Síntesis del 2-(1-aminoadamantil)-1,4-naftoquinona a partir de la reacción 2-bromo-1,4-naftoquinona y 1-adamantilamina.



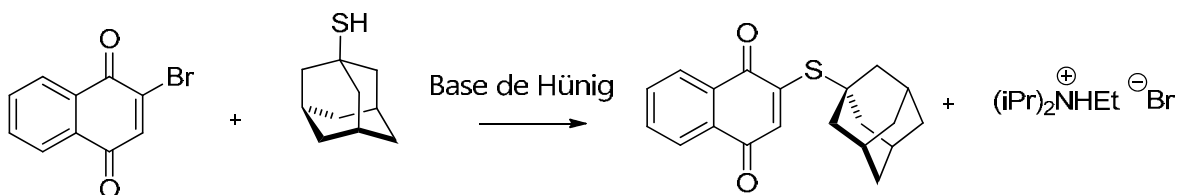
| No. | BN/A | Disolvente | Temp/°C | Tiempo /h | Rendimiento /% |
|-----|------|---------------|---------|-----------|----------------|
| 1 | 1:1 | MeCN | 25 | 5 | 76 |
| 2 | 1:1 | Dimetoxietano | 25 | 24 | 39 |

BN/A: Relación molar entre 2-bromo-1,4-naftoquinona y 1-aminoadamantano.

5.2.7 Síntesis de 2-(1-adamantilmercapto)-1,4-naftoquinona [80]

La formación del compuesto **80**, se llevó a cabo en condiciones similares a la síntesis del apartado anterior, es decir, se utilizó una base como activador, un disolvente aprótico y 2-bromo-1,4-naftoquinona. Los resultados se muestran en el siguiente cuadro.

Cuadro XI. Síntesis del 2-(1-adamantilmercapto)-1,4-naftoquinona a partir de la reacción 2-bromo-1,4-naftoquinona y 1-adamantanotiol.



| No. | BN/T | Disolvente | Constante Dieléctrica * $\epsilon_{20}^{\circ\text{C}}$ | Temperatura /°C | Tiempo /h | Rendimiento (%) |
|-----|------|------------|---|-----------------|-----------|-----------------|
| 1 | 1:1 | MeCN | 37,5 | 81 | 24 | 48 |
| 2 | 1:1 | Tolueno | 2,38 | 110 | 24 | 55* |

*El producto después de la purificación aún muestra impurezas **BN/T:** Relación molar entre bromonaftoquinona y tiol. * [http://depts.washington.edu/eo optic/linkfiles/dielectric_chart\[1\].pdf](http://depts.washington.edu/eo optic/linkfiles/dielectric_chart[1].pdf).

Con respecto al mecanismo de formación del derivado 2-(1-adamantilmercapto) se propone una adición-eliminación en la naftoquinona, que tiene como primer paso el equilibrio entre el tiol ($\text{pK}_a \sim 10$) y la base de Hünig (ácido conjugado $\text{pK}_a \sim 11,4$) para

desprotonar el tior y aumentar la nucleofilicidad del átomo de azufre. Seguido del ataque a la bromonaftoquinona en C2 y la posterior eliminación conjugada del bromo para dar el derivado esperado (Fig. 66)

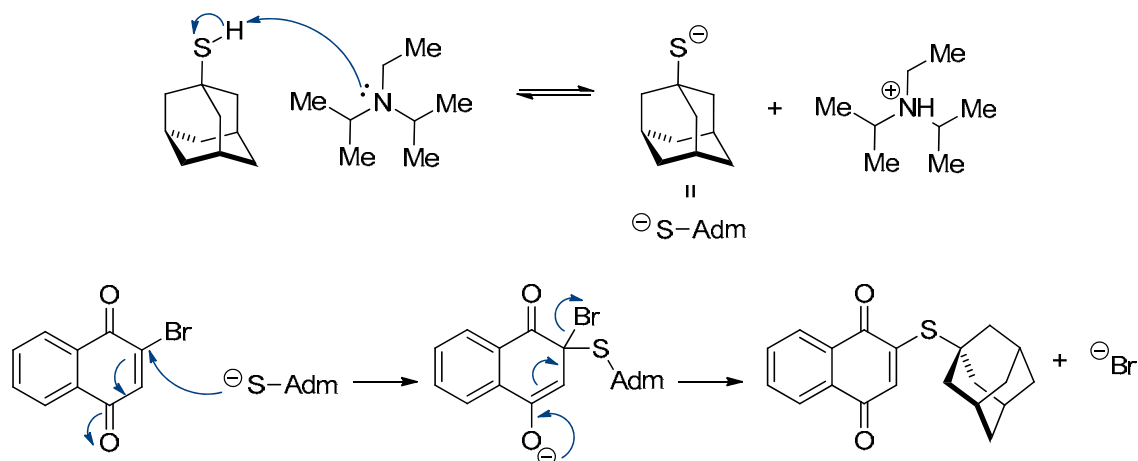


Figura 66. Mecanismo de formación del 2-(1-adamantilmercapto)-1,4-naftoquinona.

Se utilizó dos disolventes, acetonitrilo y tolueno, los cuales poseen polaridad distinta (ver constantes dieléctricas mostradas en el cuadro XI) con el fin de evaluar el efecto de solubilidad de los sustratos y la estabilización por solvatación que el disolvente pudiera ofrecer para las especies cargadas que se observan en el mecanismo. En el cuadro XI, se observa que una temperatura de reacción moderada (81 °C) y el carácter polar del acetonitrilo ofrece un mejor resultado (mayor pureza). En el caso de la reacción en tolueno, a pesar de obtener un rendimiento mayor (probablemente por disolver mejor los sustratos de partida y dar homogeneidad a la disolución), el producto que se obtuvo presenta impurezas aún después de realizarse la cromatografía de columna y recristalización en metanol, por lo que no se recomienda el uso de este disolvente en la síntesis.

El rendimiento obtenido en esta síntesis es bajo (48%) ya que el nucleófilo en este caso a pesar de ser un buen nucleófilo (Fig. 67), presenta gran tamaño lo cual dificulta el ataque en C2.

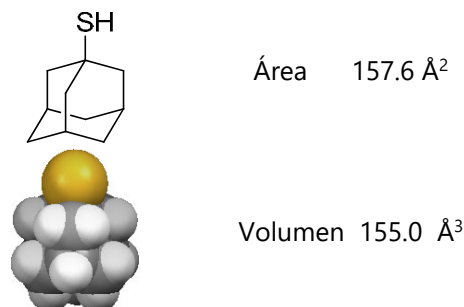


Figura 67. Estructura del 1-adamantanotiol en dos y tres dimensiones.

Cabe señalar que el enlace C-S tiene una longitud de enlace mayor que C-N por lo que tiene la posibilidad de distorsionar menos el ángulo de enlace para acomodar el grupo adamantano y disminuir el efecto estérico en el derivado que se forma (Fig. 68)

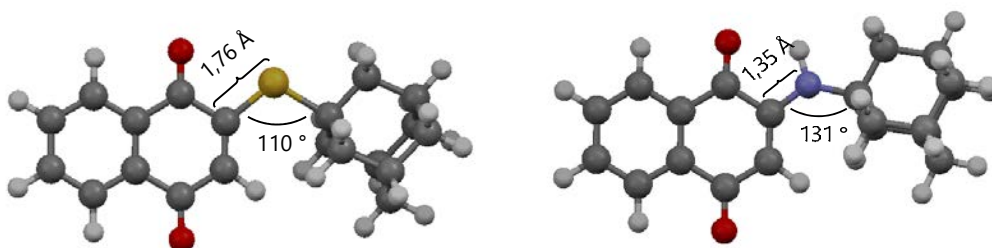


Figura 68. Comparación de las distancias y ángulos de enlaces de los derivados 2-(1-adamantylmercapto), izquierda y 2-(1-aminoadamantyl), derecha (cálculos utilizando B3LYP/6-31G* en programa GAMESS).

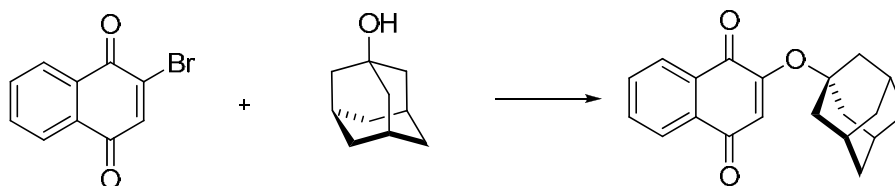
5.2.8 Otros derivados que se intentó sintetizar

Esta sección resume las distintas rutas de acoplamiento del 1-adamantanol y 2-adamantol a diferentes naftoquinonas, dichas rutas se llevaron a cabo con el fin de sintetizar los derivados 2-(1-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona y 3-(2-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona. Cabe señalar que no fue posible formar ninguno de los dos derivados, no obstante es importante discutir los aspectos más relevantes de las rutas realizadas para constituir un precedente significativo que oriente trabajos futuros en este tema.

5.2.8.1 Formación del 2-(1-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona

De forma similar a la síntesis de 2-(1-aminoadamantil)-1,4-naftoquinona y 2-(1-adamantilmercapto)-1,4-naftoquinona se sugirió la formación del enol éter, a partir de una reacción de adición-eliminación de bromonaftoquinona con el 1-adamantol en condiciones básicas (Cuadro XII).

Cuadro XII. Síntesis del 2-(1-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona a partir de la reacción de 3-bromo-1,4-naftoquinona y 1-adamantanol.



| No. | BN/A | Disolvente | Activador (eq) | Temp /°C | Tiempo /h | Observaciones |
|-----|------|---------------|--|----------|-----------|---------------|
| 1 | 1:1 | Diclorometano | DBU (1) | 25 | 24 | No reacciona |
| 2 | 1:1 | MeCN | NaH (10) | 25 | 24 | No reacciona |
| 3 | 1:1 | Dimetoxietano | Cs ₂ CO ₃ (1.2) | 85 | 24 | No reacciona |
| 4 | 1:1 | Tolueno | Cs ₂ CO ₃ (1.2) y DMAP (1) | 110 | 24 | No reacciona |
| 5 | 1:1 | THF | KH (2) | 65 | 24 | Subproducto |

BN/A: relación molar entre reactivos, **BN:** bromonaftoquinona y **A:** alcohol. **(eq):** Equivalentes molares de activador.

Una de las bases que se utilizó para formar el alcóxido fue 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno más conocida como DBU (pK_a del ácido conjugado ~ 12) (Fig. 69) junto con diclorometano, disolvente aprótico-polar capaz de estabilizar especies con carga ($\epsilon^{20^\circ\text{C}}$ 8.93). A pesar de reunir las condiciones que se deseaban para llevar a cabo la reacción, se obtuvo disoluciones muy oscuras y no se formó el producto deseado (reacción **1**). Una posible explicación es que según la literatura DBU es capaz de actuar como nucleófilo¹⁰² por lo que compite con el alcóxido y disminuye la probabilidad del ataque del alcóxido en la posición C2 de la naftoquinona.

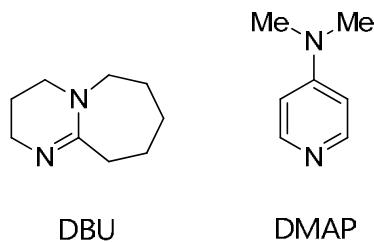
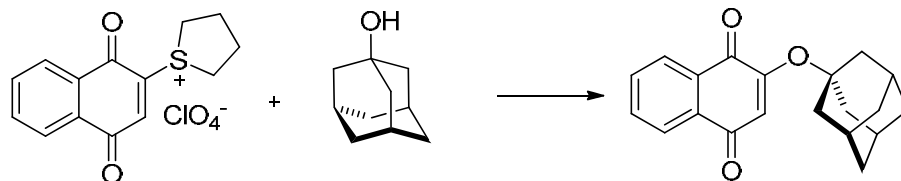


Figura 69. Estructura de algunas de las bases nitrogenadas utilizadas.

Otras bases que se utilizaron fueron el hidruro de sodio (NaH) en acetonitrilo, carbonato de cesio en dimetoxietano (solubiliza bien las sales de cesio y aumenta velocidad de alcoxilación)¹⁰³ y la combinación del carbonato de cesio con 4-dimetilaminopiridina (DMAP, fig. 69). En todos los casos la bromoquinona no reacciona de forma alguna con el alcóxido. Por otro lado se intentó la síntesis utilizando hidruro de potasio (KH) en exceso, en este caso se recuperó el alcohol y el KH redujo parte de la naftoquinona, por lo que se descarta el uso de hidruros.

A partir de los resultados anteriores, se pensó en modificar el grupo saliente, por lo que se cambió el bromo por el grupo 2-tetrahidrotiofensulfonio que posee una carga positiva sobre el átomo de azufre y representa un mejor nucleófilo. El cuadro XIII, muestra los resultados que se obtuvieron en esta reacción.

Cuadro XIII. Síntesis del 2-(1-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona a partir de la reacción de 2-tetrahidrotiofensulfonio-1,4-naftoquinona y 1-adamantanol.



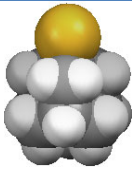
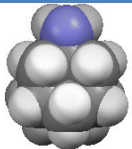
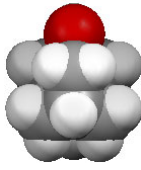
| No. | T/A | Disolvente | Activador (eq) | Temp /°C | Tiempo /h | Observaciones |
|-----|-----|-------------------------|-------------------|----------|-----------|---------------|
| 1 | 1:1 | Diclorometano | DBU (1) | 25 | 24 | No reacciona |
| 2 | 1:1 | Dicloroetano / MeOH 1:1 | Base de Hünig (1) | 25 | 24 | No reacciona |

T/A: Relación molar entre reactivos, **T:** 2-tetrahidrotiofensulfonio y **A:** Alcohol, **eq:** equivalente molar de activador.

En ambas reacciones se emplearon disolventes polares y bases no nucleofílicas (Hünig) o de baja nucleofilicidad (DBU). Sin embargo no se obtuvo producto, por lo que se concluye que el ataque en la posición *ipso* se ve desfavorecido por grupos voluminosos con gran impedimento estérico.

Es importante acotar que a diferencia del 1-adamantanotiol y 1-aminoadamantano, el 1-adamantanol no posee cualidades tan óptimas en términos de nucleofilicidad (el átomo de oxígeno es menos nucleofílico que el nitrógeno y azufre) y tamaño (de los tres heteroátomos el oxígeno es el más pequeño y electronegativo, por consiguiente la longitud de enlace C-X es menor y el efecto estérico del grupo adamantano es más pronunciado, Cuadro XIV). Es por ello que se no es posible formar el 2-(1-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona a través de esta ruta de síntesis.

Cuadro XIV. Comparación entre los 1-adamantanos monosustituídos utilizados como nucleófilos.

| Nucleófilo | Área / Å ² | Volumen / Å ³ | Longitud de enlace C-X / Å |
|---|-----------------------|--------------------------|----------------------------|
|  1-adamantanotiol | 157.6 | 155.0 | 1.84 |
|  1-aminoadamantano | 151.7 | 148.2 | 1.48 |
|  1-adamantanol | 148.0 | 143.7 | 1.40 |

*Estructuras minimizadas en MM2 (ChemBio 3D Ultra 12), cálculo de área y volumen aproximado en Chimera © 1.3.

5.2.8.2 Formación del 3-(2-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona

Se propuso la síntesis del 3-(2-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona, a partir de lawsona y 2-adamantanol. La idea inicial fue realizar la alquilación en C3 a través del 2-adamantano carbocatión (Fig. 70), para ello se intentó formar este carbocatión por medio de distintos ácidos de Brønsted y ácidos de Lewis (Cuadro XV y Fig. 71). La escogencia de esta ruta tiene como precedente la alquilación de adamantano con olefinas que reporta Olah y colaboradores, donde se propone la formación de carbocationes por la acción de superácidos.¹⁰⁴

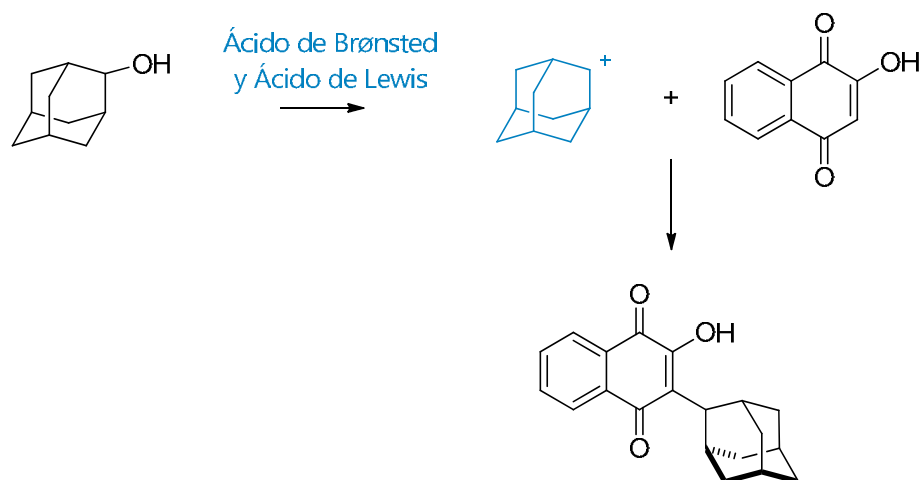
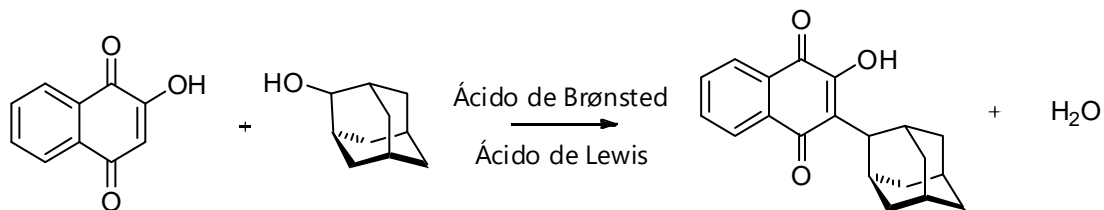


Figura 70. Ruta de síntesis propuesta para la formación del 3-(2-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona.

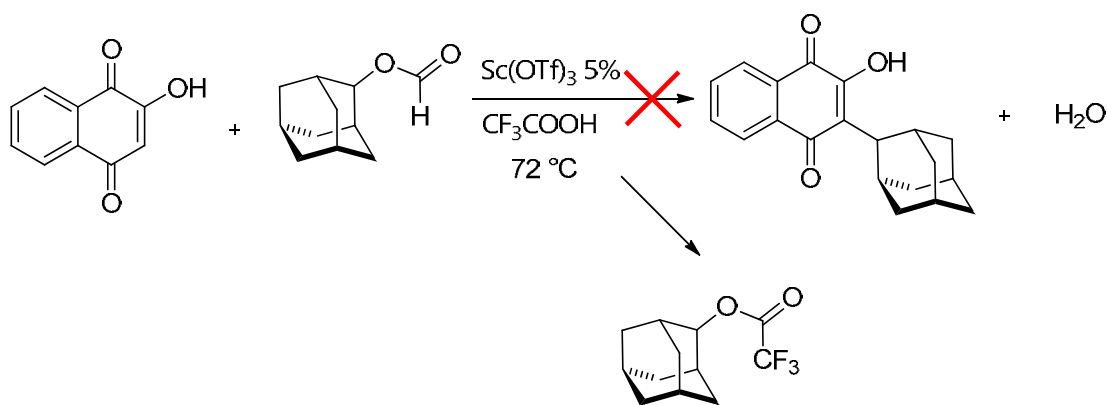
Se consideró además la posibilidad de rearrreglo de carbocationes,¹⁰⁵ es decir, transformación del 2-adamantano carbocatión (secundario) a 1-adamantano carbocatión (terciario), por lo que para disminuir este tipo de rearrreglo intermolecular, se empleó disoluciones altamente diluidas de ácido de Brønsted y sistemas de reacción heterogéneos (CCl_4/Agua y $\text{Agua}/\text{Detergente}$, reacciones 3 y 5b, respectivamente), pues según la literatura cuando el ácido posee una concentración menor a 0,004 mol/L no se observa interconversión entre carbocationes.¹⁰⁶

Cuadro XV. Síntesis del 3-(2-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona a partir de la reacción de lawsona y 2-adamantanol.



| No. | L/A | Disolvente | Catalizador | Temp /°C | Tiempo /h | Observaciones |
|----------------|-----|----------------------|---|----------|-----------|------------------------|
| 1 | 1:1 | HCOOH | Yb(OTf) ₃ | 100 | 22 | Formiato de adamantano |
| 2 | 1:1 | CF ₃ COOH | Sc(OTf) ₃ 5% | 72 | 6 | No reacciona |
| 3 | 1:1 | CCl ₄ | H ₂ SO ₄ | 25 | 4 días | No reacciona |
| 4 | 1:1 | HOAc glacial | H ₂ SO ₄ | 100 | 24 | Acetato de adamantano |
| 5 ^a | 1:1 | Agua | H ₂ SO ₄ 0.5 eq | 25 | 15 días | No reacciona |
| 5 ^b | 1:1 | Agua | H ₂ SO ₄ 0.5 eq / DBSA* | 80 | 6 | No reacciona |
| 6 ^a | 1:1 | Agua | HClO ₄ 1 eq | 25 | 15 días | No reacciona |
| 6 ^b | 1:1 | Agua | HClO ₄ 1 eq | 80 | 6 | No reacciona |

L/A: razón molar entre reactivos, *L*: lawsona, *A*: alcohol, *eq*: equivalente molar, *DBSA*: Ácido Dodecibencensulfónico.



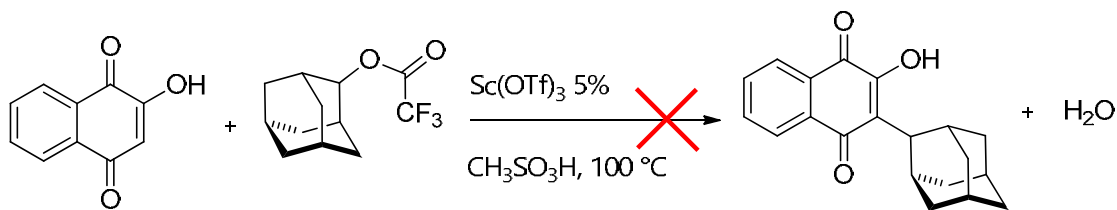


Figura 71. Otras reacciones realizadas para la síntesis del 3-(2-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona.

Los resultados obtenidos (cuadro XV) demuestran que no es posible formar y estabilizar el carbocatión secundario del adamantano (por eso se obtuvo formiato, acetato y mesilato de adamantano) bajo estas condiciones y mucho menos obtener el derivado esperado. Es por ello que se deja como trabajo a futuro la formulación de otra ruta de síntesis para la alquilación en C3 de la lawsona y alcoholes secundarios voluminosos.

5.3 Caracterización espectroscópica: Consideraciones estructurales

La familia de compuestos que se desarrolló presenta propiedades físicas y estructurales muy interesantes, es por ello que esta sección expone de forma resumida, características destacadas de los compuestos sintetizados, a partir de un análisis espectroscópico.

5.3.1 Efecto del heteroátomo: Consideraciones espectroscópicas

Las 1,4-naftoquinonas se caracterizan por tener bandas de absorción entre los 200-500 nm, debido a las transiciones electrónicas (figura 72). La transición prohibida $n \rightarrow \pi^*$ es en particular, la que posee menor energía y absorbanza, por consiguiente, en el espectro ultravioleta de un compuesto, esta transición se observa a mayor longitud de onda y menor intensidad ($E \propto 1 / \lambda$).¹⁰⁷

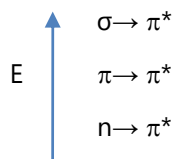


Figura 72. Transiciones electrónicas de las 1,4-naftoquinonas.

El efecto de donación o extracción de densidad electrónica por parte del heteroátomo enlazado a C2 en las 1,4-naftoquinonas, modifica la diferencia de energía entre el estado basal y excitado. Esta diferencia se puede observar en los orbitales de frontera calculados para el 2-(1-adamantilmercapto) y 2-(2-adamantanoxi) mostrados en la figura 73. El LUMO de ambos se ubica en los carbonilos. Sin embargo, el HOMO del 2-(2-adamantanoxi) se distribuye entre el oxígeno enlazado a C2 y el enlace doble C=C, mientras que en el compuesto con azufre, el HOMO se ubica casi por completo en el átomo de azufre, dada la poca donación electrónica de este grupo al sistema naftoquinónico (Cuadro XVI).

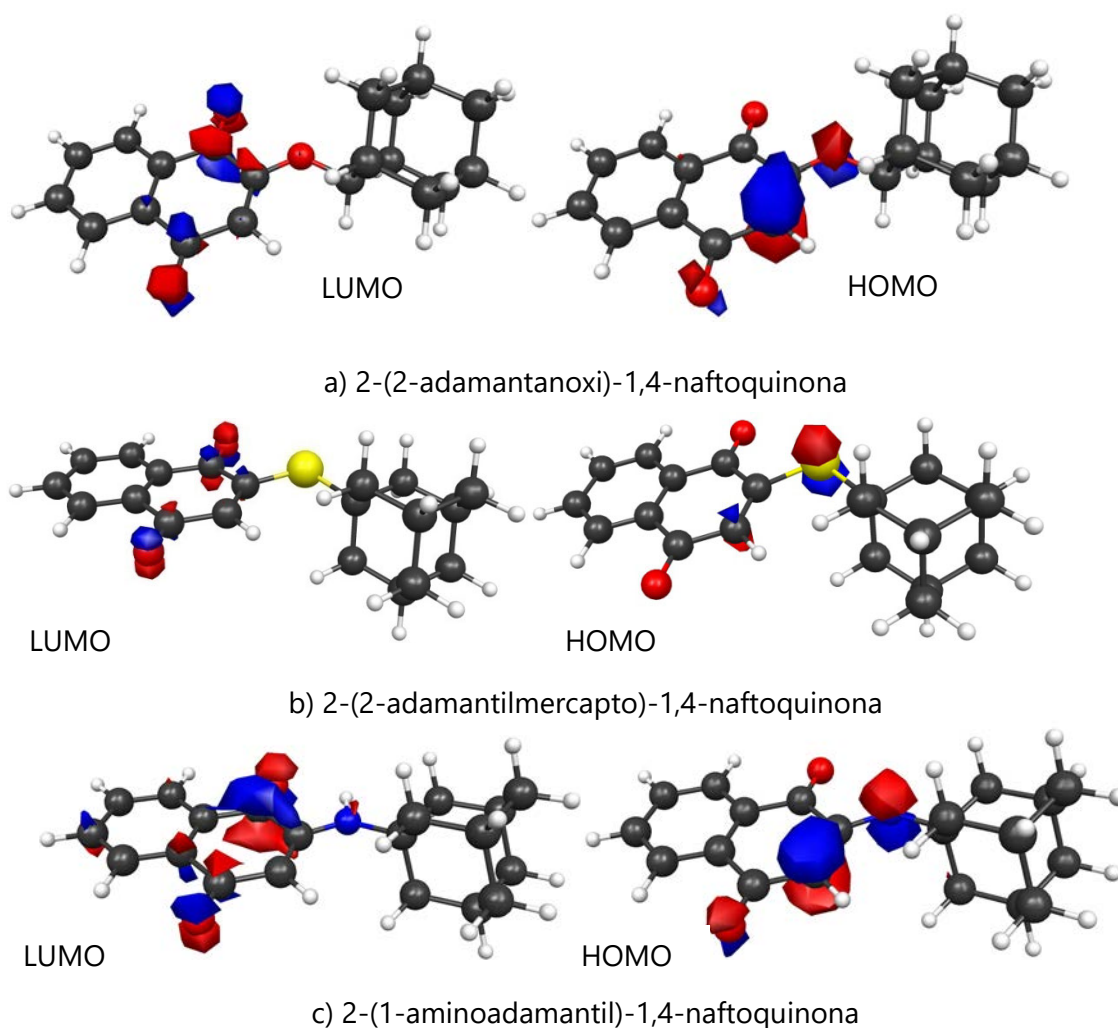


Figura 73. Orbitales de frontera de 1,4-naftoquinonas 2-heterosustituidas. Cálculos según B3LYP/6-31G* en programa GAMESS.

Como consecuencia de esta variación en el HOMO de los compuestos, la diferencia de energía entre los orbitales frontera de 2-(2-adamantanoxi) es menor que en el 2-(1-adamantilmercapto) (Cuadro XVI). Por esta razón, se explica que la transición $n \rightarrow \pi^*$ de este último compuesto, se observa a menor longitud de onda (271 nm) en comparación con los otros dos compuestos (328 nm en el oxígeno y 454 nm en el nitrógeno).

Cuadro XVI. Diferencia en los valores de energía de los orbitales frontera de los 2-heterosustituido-1,4-naftoquinonas.

| | HOMO (Hartree) | LUMO (Hartree) | $\Delta E_{\text{absoluta}}$ |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|------------------------------|
| 2-(2-adamantilmercapto)-1,4-NQ | -0.226 | -0.104 | 0.122 |
| 2-(2-adamantanoxi)-1,4-NQ | -0.244 | -0.098 | 0.146 |
| 2-(2-aminoadamantil)-1,4-NQ | -0.211 | -0.093 | 0.118 |

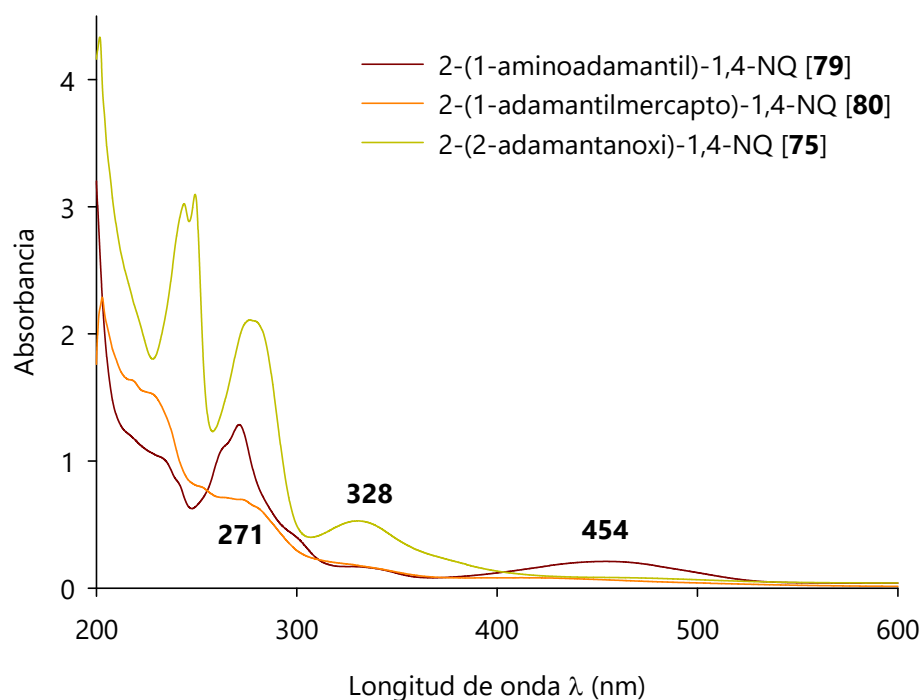


Figura 74. Espectros UV experimentales de los compuestos **75**, **79** y **80**.

En el caso del nitrógeno, al ser este átomo un mejor donador de electrones comparado con el átomo de oxígeno, disminuye la brecha de energía HOMO-LUMO y posee absorciones a mayores longitudes de onda (Fig. 74).

De forma similar al 2-(2-adamantanoxi)-1,4-NQ, los derivados 2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-NQ y 2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-NQ poseen una absorción máxima a 331 y 329 nm respectivamente, lo cual es de esperarse ya que los tres derivados poseen el mismo tipo de heteroátomo enlazado a C2.

Otra manera de caracterizar los compuestos sintetizados, es a partir de sus espectros infrarrojos. Las frecuencias de vibración que se observan en un espectro IR, se relacionan con el tipo de átomos y enlaces que existen en la molécula. Estas frecuencias dependen de varios factores principalmente la fuerza y tipo de enlace.

En caso de las amidas, la deslocalización de electrones en la molécula se da gracias a la donación del nitrógeno, esto implica un menor carácter de doble enlace en el carbonilo, es decir una distancia de enlace mayor y por lo tanto una frecuencia de vibración de menor energía respecto al éster (Fig 75 y 76). Por otra parte, la literatura señala que los tioésteres tienen menor frecuencia de vibración que los dos grupos anteriores, sin embargo no explica la razón de esta característica.¹⁰⁷

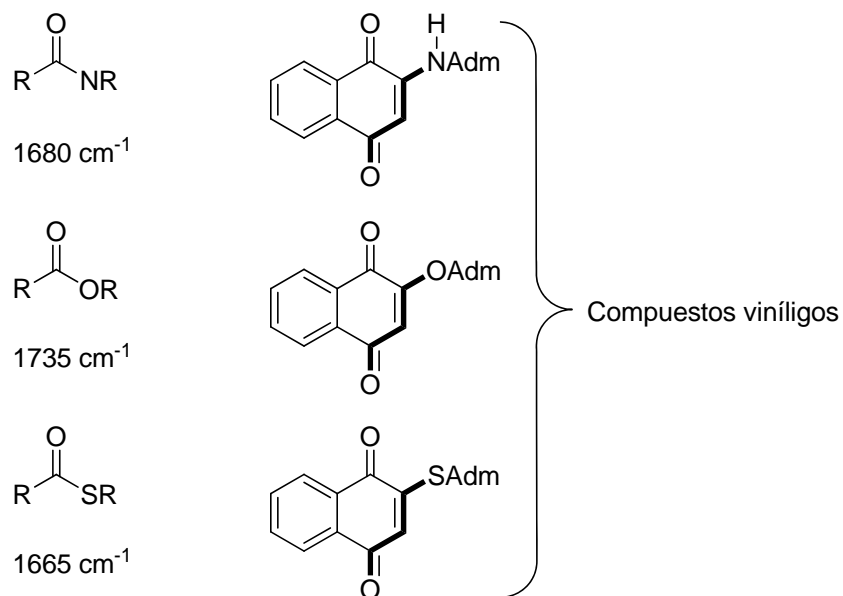


Figura 75. Frecuencias típicas de carbonilos en amidas, ésteres y tioésteres.

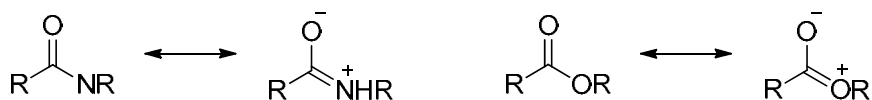


Figura 76. Deslocalización de electrones en amidas y ésteres.

De forma análoga se observa un comportamiento similar para los compuestos vinílicos de las amidas, ésteres y tioésteres (fig, 76), particularmente la frecuencia de vibración de $C_1=O$ (ver Cuadro XVII). En el caso de $\nu(C_4=O)$ y $\nu(C_2=C_3)$ de los derivados 75, 79 y 80 (Cuadro XVII), se observa la correspondencia entre la longitud de enlace y la frecuencia de vibración, tanto en el carbonilo como en el enlace doble carbono-carbono (Cuadro XVIII).

Cuadro XVII. Comparación de las frecuencias de vibración del IR de los derivados **80**, **79** y **75**.

| Frecuencia de vibración Experimental (cm ⁻¹) | ν (C ₁ =O) | ν (C ₄ =O) | ν (C ₂ =C ₃) |
|--|---------------------------|---------------------------|---|
| [75] 2-(2-adamantanoxi)-1,4-NQ | 1686 | 1648 | 1606 |
| [79] 2-(1-aminoadamantil)-1,4-NQ | 1673 | 1601 | 1574 |
| [80] 2-(1-adamantilmercapto)-1,4-NQ | 1666 | 1643 | 1589 |

 Cuadro XVIII. Distancias de enlaces de los derivados **80**, **79** y **75**.

| Distancia de enlace (Å) | C ₁ =O | C ₄ =O | C ₂ =C ₃ |
|-------------------------------------|-------------------|-------------------|--------------------------------|
| [75] 2-(2-adamantanoxi)-1,4-NQ | 1.221 | 1.229 | 1.358 |
| [79] 2-(1-aminoadamantil)-1,4-NQ | 1.228 | 1.234 | 1.372 |
| [80] 2-(1-adamantilmercapto)-1,4-NQ | 1.224 | 1.230 | 1.359 |

Los valores se obtienen de estructuras optimizadas según B3LYP/6-31G en GAMESS.

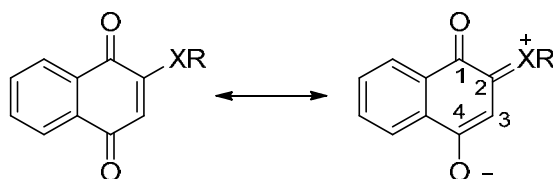


Figura 77. Híbridos de resonancia de 2-heterosustituido-1,4-naftoquinona.

Otra forma de medir la donación del heteroátomo al enlace doble (Fig. 77), es a partir del momento dipolar, de los derivados de lawsona sintetizados (Fig. 78). Los compuestos en los cuales el heteroátomo es nitrógeno u oxígeno, tienen un dipolo dirigido hacia el enlace doble, sin embargo en el nitrógeno la magnitud del dipolo es mayor, esto indica mayor donación electrónica del heteroátomo. En contra posición, el azufre invierte la dirección del dipolo hacia el carbonilo en la posición 1, es decir, no dona electrones al sistema naftoquinónico.

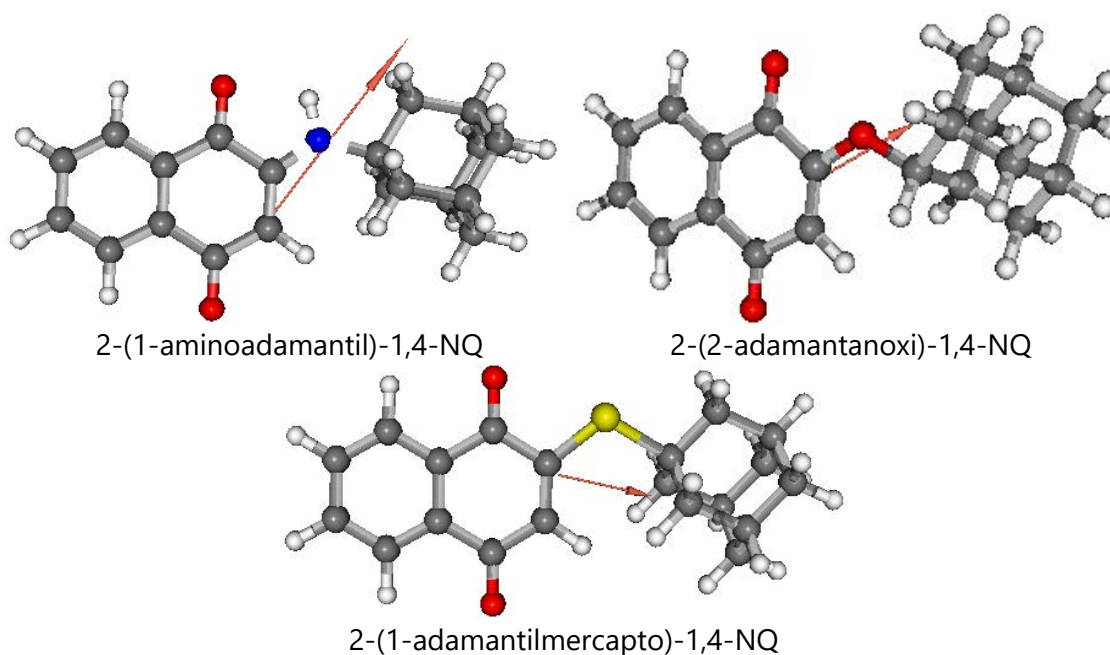


Figura 78. Momentos dipolares de 1,4-naftoquinonas 2-heterosustituidas (Las flechas son de tipo vectorial. La cabeza de la flecha indica el polo positivo).

Adicionalmente se realizaron cálculos de modelaje molecular, con el propósito de obtener los espectros IR teóricos de los derivados sintetizados y compararlos con el respectivo espectro experimental. Por ejemplo, en la figura 79, se muestra el espectro IR calculado para el compuesto **80**, en el cual las bandas a 1750, 1726 y 1607 cm^{-1} , corresponden a las frecuencias de vibración de $\text{C}_1=\text{O}$, $\text{C}_4=\text{O}$ y $\text{C}_2=\text{C}_3$ respectivamente, estos valores aunque difieren de los experimentales en un factor de aproximadamente 0.952, contribuyen a la asignación correcta de las señales en el espectro experimental.

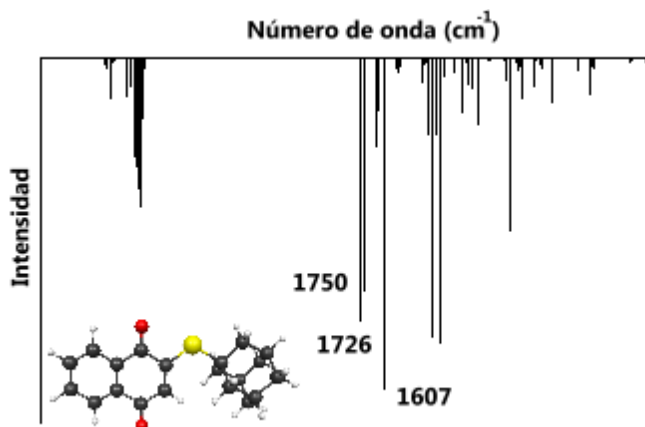


Figura 79. Espectro IR simulado del 2-(1-adamantilmercapto)-1,4-NQ. Cálculos basados en estructura optimizada según B3LYP/6-31G* en programa GAMESS.

Con respecto a la espectroscopia de resonancia magnética, la señal más importante que se utilizó para caracterizar los compuestos, fue el desplazamiento químico del hidrógeno enlazado a C3, por cuanto el patrón de los protones aromáticos es similar en la mayoría de los derivados de lawsona, mientras que la región donde aparece H3 depende del efecto de campo que ejerza el heteroátomo enlazado C2.

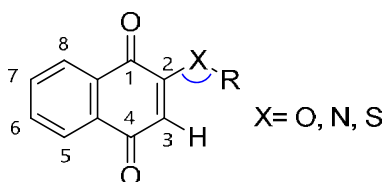


Figura 80. 1,4-Naftoquinona 2-heterosustituida.

Como puede observarse en el cuadro XIX, el desplazamiento químico para los compuestos que tienen como heteroátomo oxígeno, correlaciona con la carga parcial del carbono en la posición 3, entre más negativa es la carga, menos desprotegido está el átomo de hidrógeno y por lo tanto aparece a campo más alto. También en los primeros cuatro compuestos que se enlistan, se observa una distancia de enlace C=C prácticamente idéntica, lo cual indica una deslocalización electrónica a través del doble enlace similar en dichos compuestos.

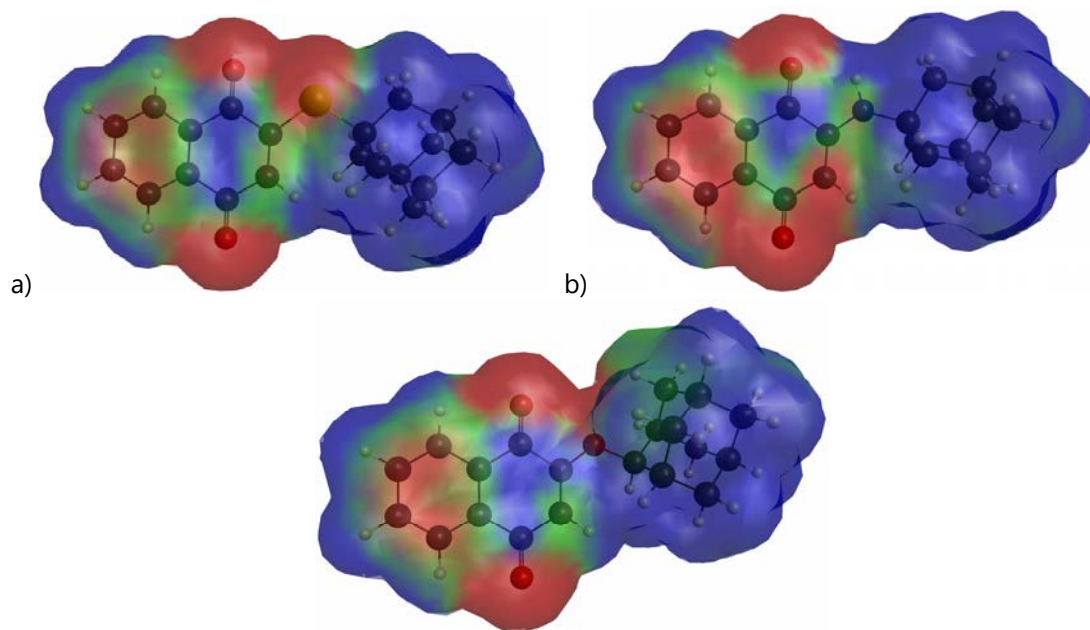
Cuadro XIX. Comparación en los desplazamientos químicos del hidrógeno enlazado a C3 en las 1,4-naftoquinonas 2-heterosustituidos.

| Sustituyente en C2 | δ (ppm) | Ángulo C ₂ -X-R (°) | Distancia de enlace C2-C3(Å) | Carga Parcial de Lowdin en C3 |
|----------------------------|----------------|--------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| 2-(2-endo-borneoxi) | 6.20 | 120 | 1.358 | -0.2486 |
| 2-(2-adamantanoxi) | 6.13 | 121 | 1.358 | -0.2507 |
| 2-(2-(1-adamantil)etanoxi) | 6.17 | 118 | 1.359 | -0.2494 |
| 2-(1-adamantilmetoxi) | 6.20 | 120 | 1.358 | -0.2489 |
| 2-(1-aminoadamantil) | 6.05 | 131 | 1.372 | -0.2704 |
| 2-(1-adamantilmercapto) | 7.06 | 110 | 1.359 | -0.2073 |
| 2-hidroxi | 6.37 | 106 | 1.354 | -0.1452 |

*Los valores de ángulos, distancia de enlace y carga parcial se obtienen de estructuras optimizadas según B3LYP/6-31G*en programa GAMESS.

La lawsona comparada con los otros compuestos con oxígeno, posee un ángulo C-O-R menor (106° versus 120°), este valor indica dos aspectos: el efecto estérico del grupo R es mucho menor en la lawsona y la formación de puente de Hidrógeno contribuye a la disminución del ángulo.

Con respecto a los derivados de lawsona con azufre y nitrógeno, dichos compuestos exhiben características opuestas. En el 2-(1-aminoadamantil) el protón aparece a campo más alto con respecto a los demás compuestos, es decir se encuentra más protegido, la carga parcial en C3 (-0.2704) es mayor que en los otros compuestos (cuadro XIX). Por su parte en el 2-(1-adamantilmercapto) el protón en C3 aparece a campo más bajo en comparación con los demás compuestos, lo anterior corresponde con la carga parcial asignada a C3 (-0.2073). Otra forma de observar el efecto de protección y desprotección de los distintos compuestos es a partir de los mapas de potencial electrostático (Fig. 81), donde los protones más desprotegidos se encuentran en regiones principalmente azules (este color indica ambiente positivo), mientras que protones protegidos se ubican en regiones verdes y rojas (ambiente negativo).



c)
Figura 81. Mapa de potencial electrostático de los derivados: a) 2-(1-adamantilmercapto) b) 2-(1-aminoadamantil) y c) 2-(2-adamantanoxi).

Adicionalmente, las diferencias en el ángulo C_2-X-R de los compuestos con nitrógeno y azufre que se observan en el cuadro XIX, demuestran lo siguiente:

- El nitrógeno al ser un átomo muy pequeño en comparación con el oxígeno y azufre tiene el ángulo C_2-X-R mayor (131°). Esto se debe al efecto estérico del grupo adamantil y al puente de hidrógeno intramolecular que se forma entre el NH y el carbonilo en C1.
- El azufre por su parte exhibe el menor ángulo C_2-X-R (110°) debido a que la distancia de enlace C-S es mayor, lo cual disminuye el efecto estérico del grupo adamantil. Además dicho ángulo sugiere que la geometría molecular alrededor del átomo de azufre es tetraédrica, contrario al caso de los compuestos con oxígeno que tienen ángulos de 120° y por ende una geometría plana trigonal alrededor del heteroátomo. En otras palabras, el enlace C_2-O tiene carácter de doble enlace producto de la donación del oxígeno al sistema naftoquinónico y en el caso del azufre es claro que no existe tal donación electrónica.

5.3.2 Isómeros 1,2 y 1,4: Propiedades estructurales

Esta sección resume las diferencias estructurales que existen entre los isómeros 1,2 y 1,4-naftoquinona en términos de espectroscopia ultravioleta, infrarroja y resonancia magnética nuclear. En el caso de la espectroscopia ultravioleta, se observó un desplazamiento batocrómico en las bandas de absorción de los isómeros 1,2-naftoquinona sintetizados (Fig. 82 y 83).

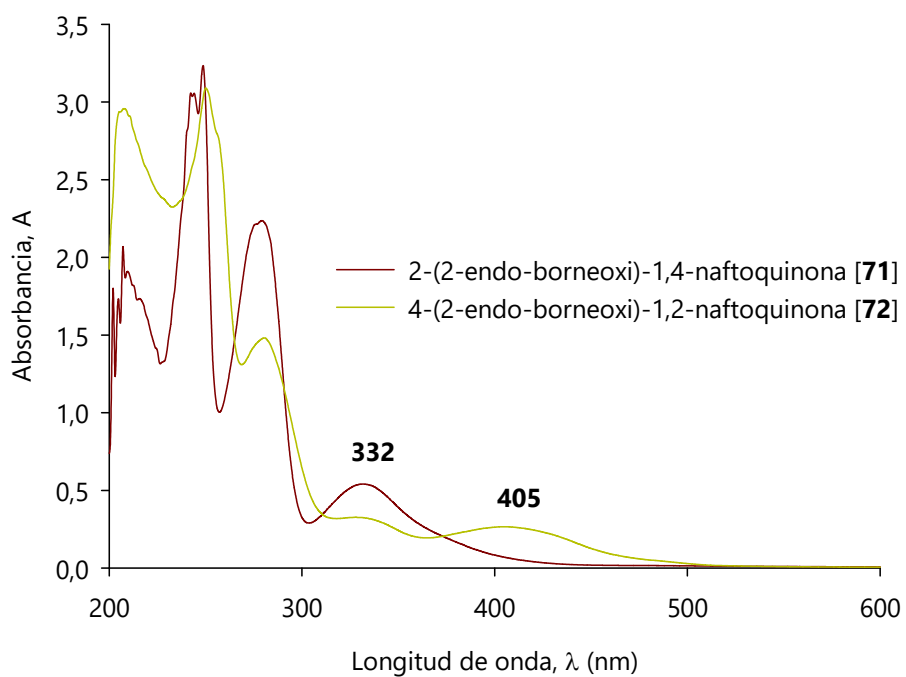


Figura 82. Espectros Ultravioleta del 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-naftoquinona y 4-(2-endo-borneoxi)-1,2-naftoquinona.

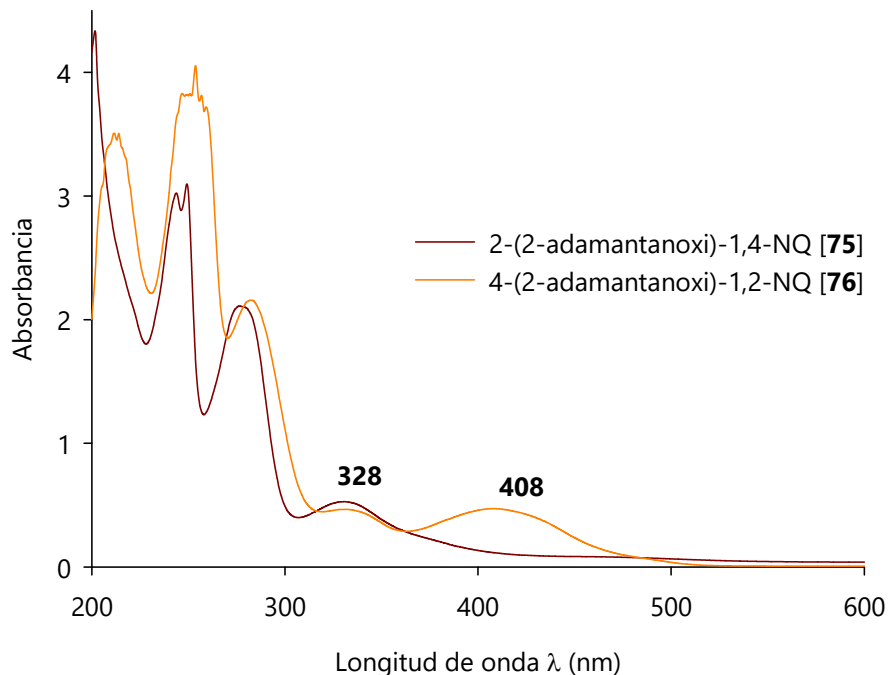


Figura 83. Espectros Ultravioleta del 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-naftoquinona y 4-(2-endo-borneoxi)-1,2-naftoquinona.

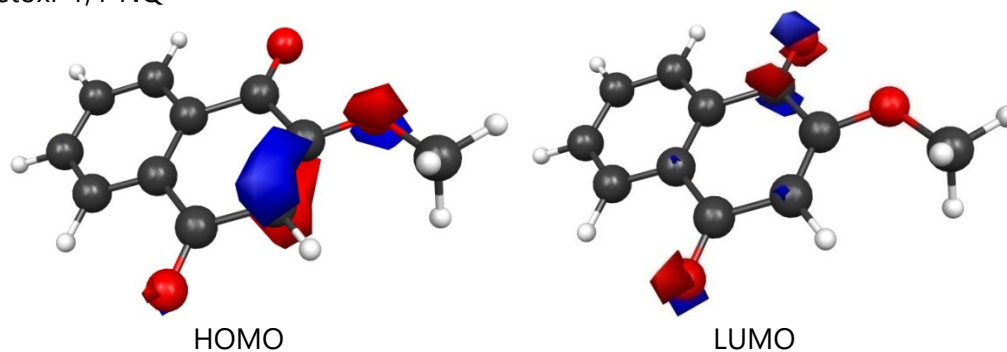
El desplazamiento batocrómico observado, indica una diferencia de energía menor para la transición $n \rightarrow \pi^*$. Esta diferencia se puede estimarse a partir de las diferencias de energía de los orbitales de frontera de los isómeros 1,2 y 1,4-naftoquinona, en este caso por razones de comodidad y ahorro de tiempo, se modeló los isómeros 2-metoxi-1,4-NQ y 4-metoxi-1,2-NQ. En el cuadro XX se muestra los valores de energía del HOMO y LUMO calculados para estos dos compuestos.

Cuadro XX. Diferencia de energía de los orbitales de frontera de los isómeros 1,2 y 1,4-naftoquinona.

| | HOMO (Hartree) | LUMO (Hartree) | $\Delta E_{\text{absoluta}}$ |
|-----------------|----------------|----------------|------------------------------|
| 2-metoxi-1,4-NQ | -0.252 | -0.101 | 0.151 |
| 4-metoxi-1,2-NQ | -0.232 | -0.101 | 0.131 |

Tal y como se observa en cuadro anterior, la diferencia de energía entre HOMO y LUMO es menor, lo cual justifica un desplazamiento a mayor longitud de onda en el UV. Aparte de los valores numéricos es posible identificar la ubicación y forma de los orbitales HOMO-LUMO entre estos dos isómeros (Fig. 84). El HOMO y LUMO en el isómero 1,2 se localiza entre los grupos carbonilo cercanos, mientras que en el isómero 1,4 el HOMO se ubica entre el heteroátomo y el enlace doble C=C y el LUMO se reparte entre los carbonilos.

a) 2-metoxi-1,4-NQ



b) 4-metoxi-1,2-NQ

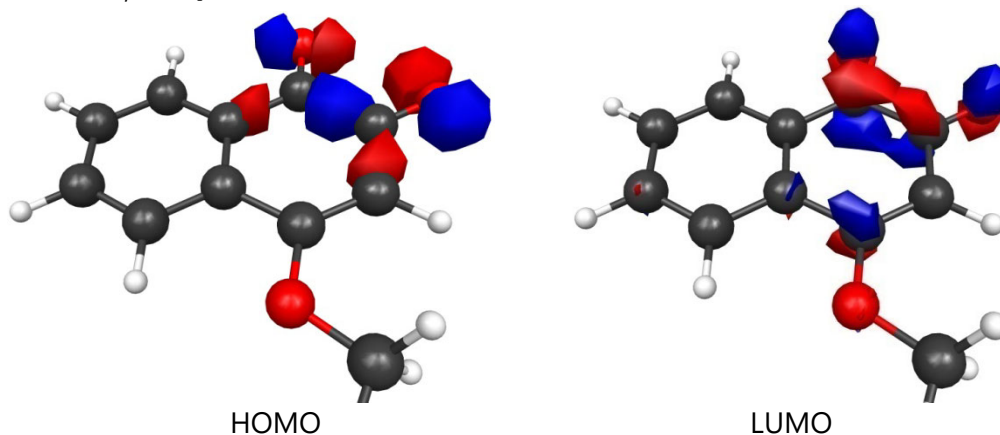


Figura 84. Orbitales frontera de 2-metoxi-1,4-naftoquinona y 4-metoxi-1,2-naftoquinona.

Por otro lado, en el espectro IR se observan diferencias principalmente en las bandas de vibración de los carbonilos y enlaces dobles. En el primer caso, la separación de los carbonilos en el isómero 1,4 y la disminución del momento dipolar en la molécula, permite diferenciar las bandas de vibración de los carbonilos y el enlace doble. El carbonilo

en C1 se observa a mayor número de onda, por cuanto la longitud de enlace es menor que la del carbonilo en C4, el cual posee un mayor grado de conjugación y por lo tanto una frecuencia menor (Fig. 85).

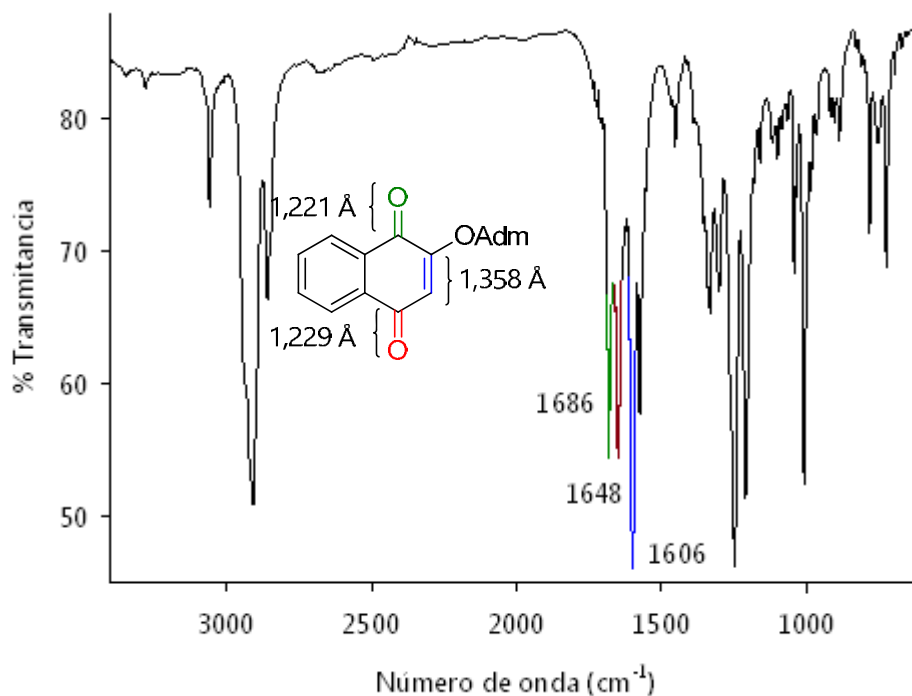


Figura 85. Espectro infrarrojo del 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona (film).

En el caso del isómero 1,2, la cercanía entre los carbonilos, distancia de enlace similar y aumento del momento dipolar de la molécula provocan que las bandas de vibración de los carbonilos se traslapen. En el espectro IR se observa el estiramiento asimétrico de los carbonilos a mayor frecuencia, seguido del estiramiento simétrico y la frecuencia de elongación de los enlaces dobles C=C (incluyendo los de anillo aromático).

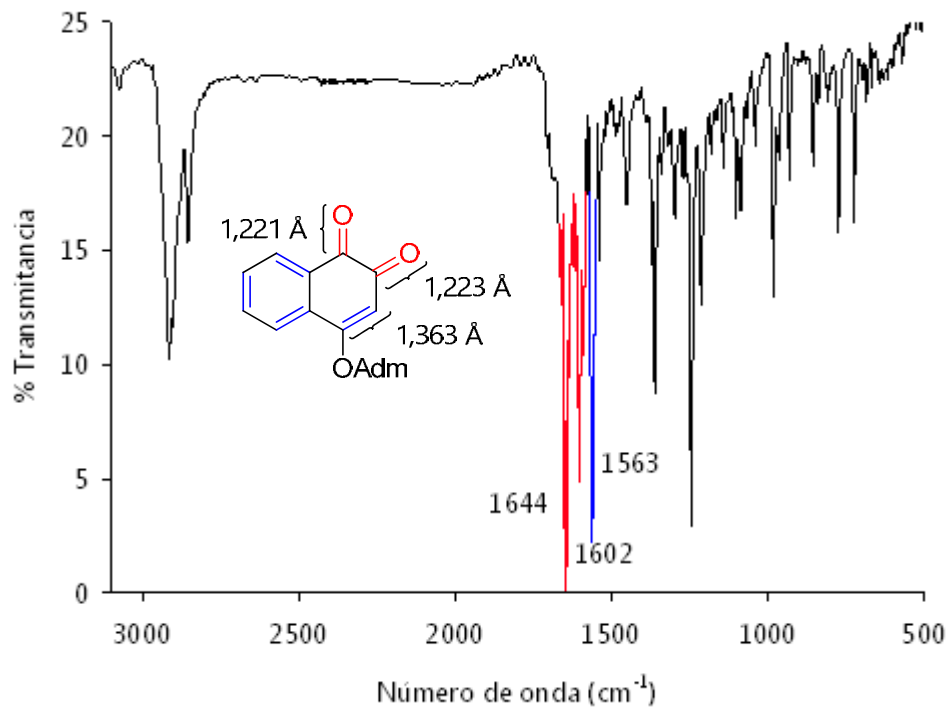


Figura 86. Espectro infrarrojo del 4-(2-adamantanoxi)-1,2-naftoquinona (KBr).

Por último, la caracterización estructural de los isómeros 1,2 y 1,4 a través de RMN, muestra que el desplazamiento de H3 depende del grado de desprotección que ese protón posea (Fig 86). En el cuadro XXI se muestra la carga parcial de C3 en cada isómero, nótese que en los isómeros 1,4 la carga parcial de C3 es menos negativa por lo que el protón está más desprotegido y aparece a campo más bajo que el protón de los isómeros 1,2.

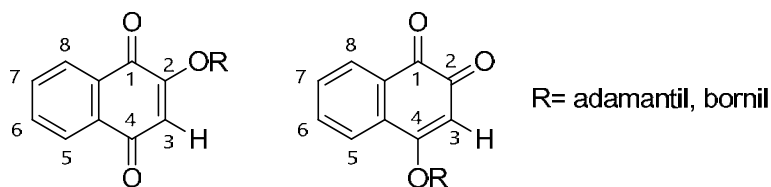


Figura 87. Naftoquinonas 2 y 4 O-alkil sustituidas.

Cuadro XXI. Comparación en los desplazamientos químicos del hidrógeno enlazado a C3 en naftoquinonas 2 y 4 O-alkil sustituidas.

| Compuesto | Desplazamiento químico δ (ppm) | Carga parcial de Lowdin en C3 |
|----------------------------|---------------------------------------|-------------------------------|
| 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-NQ | 6.20 | -0.2486 |
| 4-(2-endo-borneoxi)-1,2-NQ | 5.85 | -0.2729 |
| 2-(2-adamantanoxi)-1,4-NQ | 6.13 | -0.2507 |
| 4-(2-adamantanoxi)-1,2-NQ | 6.00 | -0.2750 |

Ese comportamiento se verifica al observar los mapas de potencial de los isómeros 2-metoxi-1,4-NQ y 4-metoxi-1,2-NQ (Fig. 88), donde el protón H3 del isómero 1,4 se encuentra en una región más azul (positiva) que el protón del isómero 1,2. Indicando así un mayor grado de desprotección en el isómero 1,4.

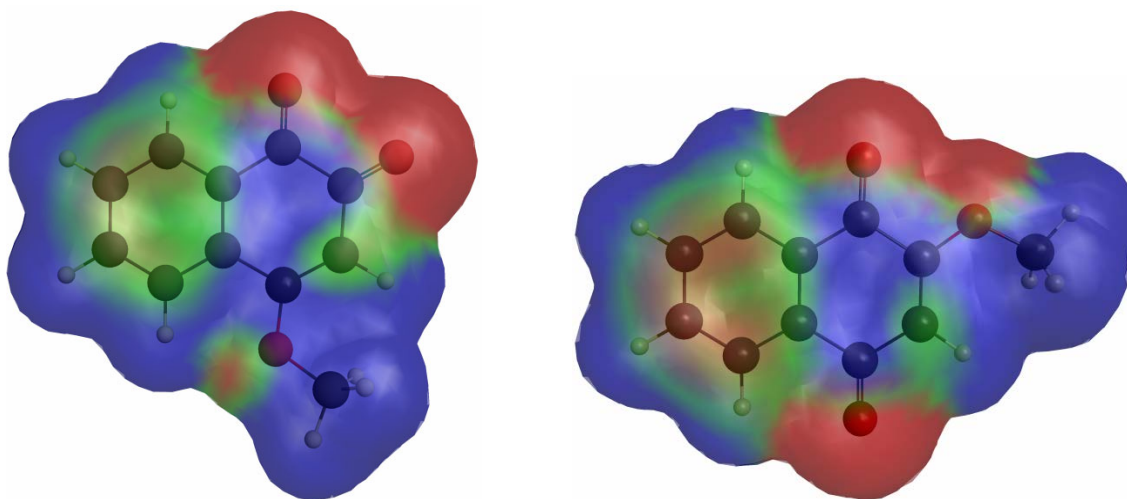


Figura 88. Mapas de potencial electrostático de a) 4-metoxi-1,2-naftoquinona (izquierda) y b) 2-metoxi-1,4-naftoquinona. Por convención el color rojo indica carga negativa, azul positiva y verde neutra.

5.3.3 Análisis estructural del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona

Finalmente, la identificación del producto C3-alquilado se fundamentó en que, a diferencia de los demás derivados sintetizados, C3 se encuentra sustituido por un grupo adamantil, por lo tanto no se observa la señal del protón entre 6.05-7.06 ppm, típica de los espectros ^1H -RMN de los derivados formados (Fig 89).

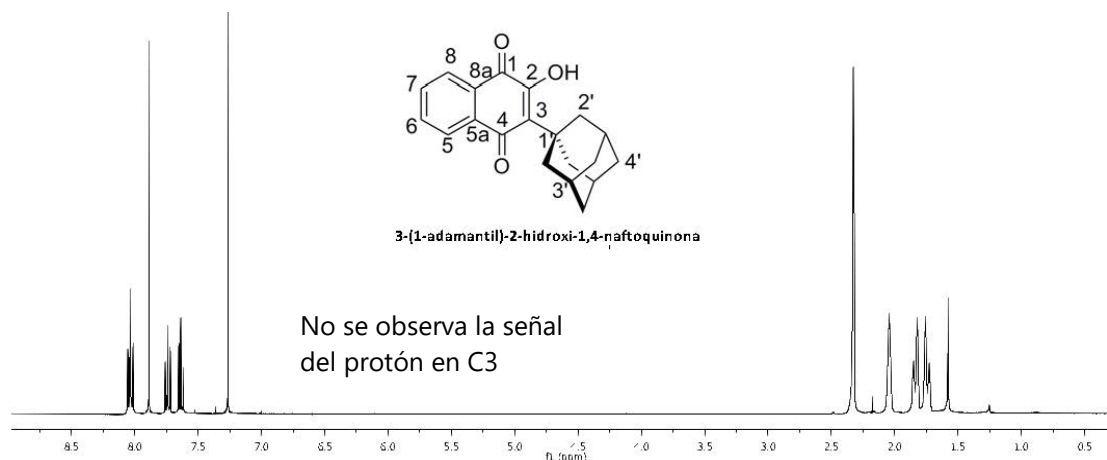


Figura 89. Espectro ^1H -RMN del compuesto 77.

Además, las señales de los protones aromáticos se desplazan a campo más alto (8.04-7.64 ppm) que su isómero constitucional, 2-(2-adamantanoxi) (8.11-7.69 ppm, Fig. 90), lo cual indica que los protones aromáticos del compuesto C-alquilado poseen una menor desprotección. Esta observación no concuerda con los mapas de potencial electrostático de ambos compuestos, donde se muestra una menor densidad electrónica alrededor del anillo aromático en el derivado C3-alquilado, por lo que debe considerarse aspectos adicionales para explicar este comportamiento (Fig. 91)

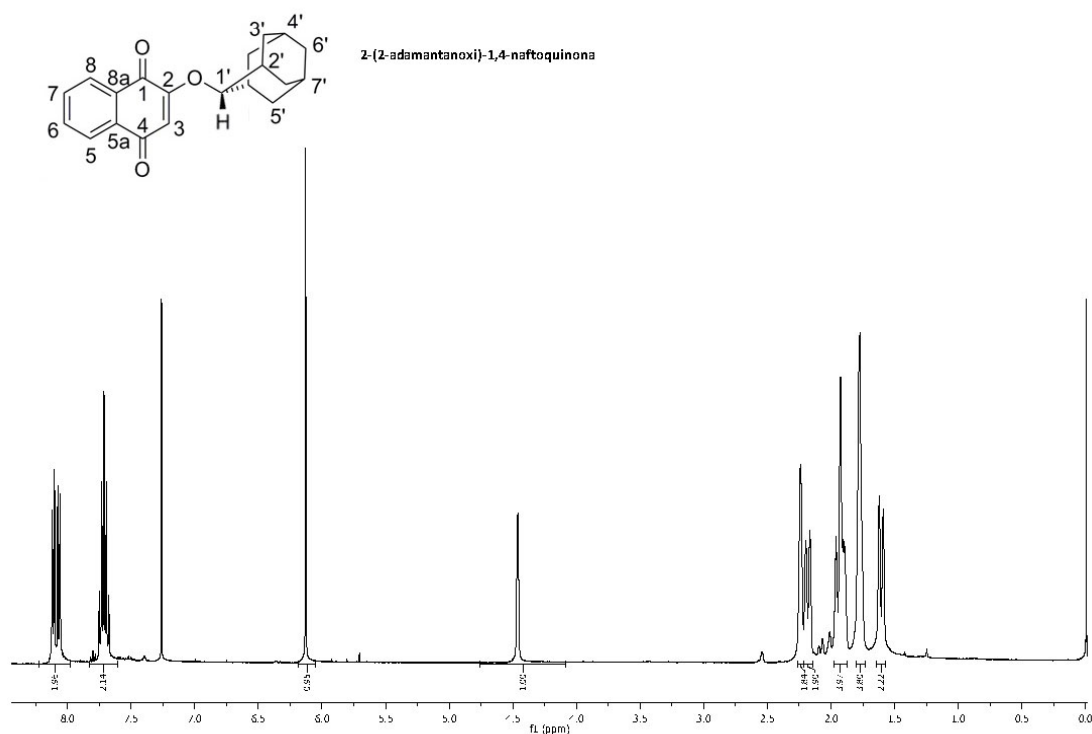


Figura 90. Espectro ^1H -RMN del compuesto 75.

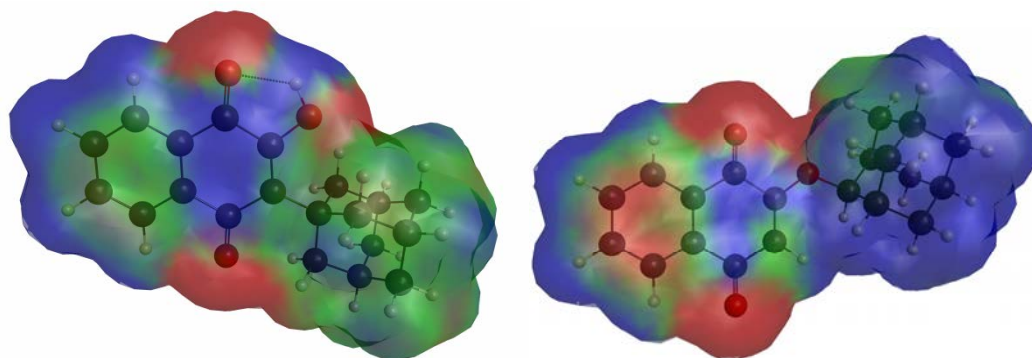


Figura 91. Mapas de potencial electrostático del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona (izquierda) y 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona (derecha), según cálculos B3LYP/6-31G* en programa GAMESS.

Por otro lado según los cálculos de modelaje molecular, el producto C-alquilado posee un puente de Hidrógeno intramolecular cuya distancia es 1.876 Å, dicha longitud es menor que el puente de Hidrógeno calculado en la lawsona (2.032 Å), posiblemente

debido al efecto estérico asociado al grupo adamantil en la posición 3, el cual obliga al protón a acercarse más al oxígeno del carbonilo. A partir del espectro infrarrojo (Fig 92) se comprueba la presencia del puente de hidrógeno intramolecular, ya que la banda de absorción que se observa para el grupo -OH es muy fina, lo cual implica que el grupo hidroxilo no está disponible para asociarse con el disolvente u otras moléculas de compuesto.

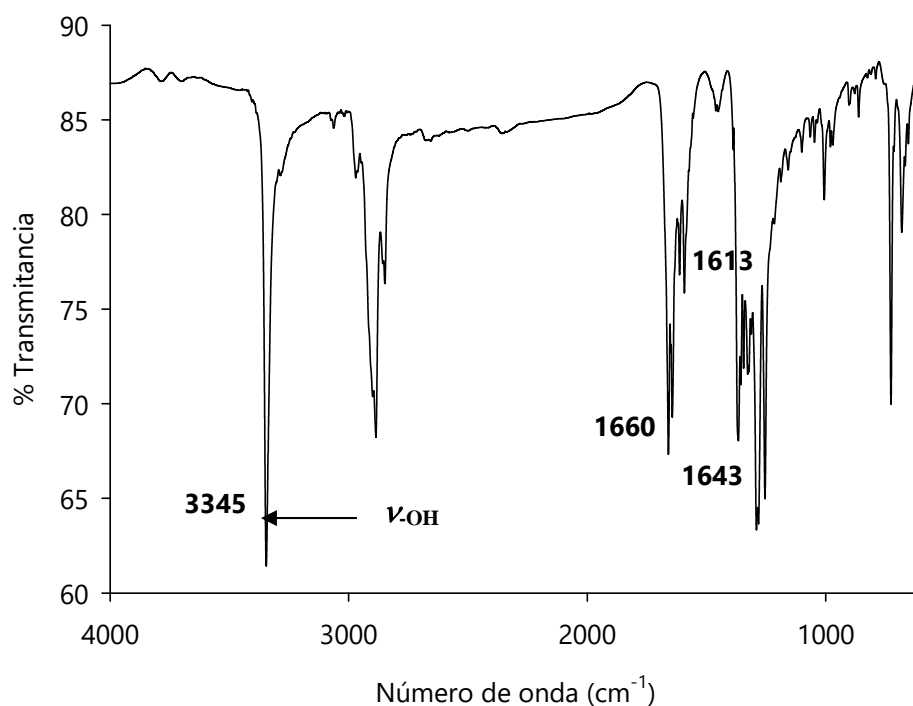


Figura 92 Espectro IR (film) del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-NQ.

Las otras señales importantes que se observan en el espectro IR corresponden a las vibraciones de los grupos carbonilo $\text{C}_1=\text{O}$ y $\text{C}_4=\text{O}$, y a los enlaces dobles $\text{C}=\text{C}$, 1660, 1643 y 1613 cm^{-1} , respectivamente. Dichas señales se corroboraron según espectro IR calculado para este compuesto (Fig. 93).

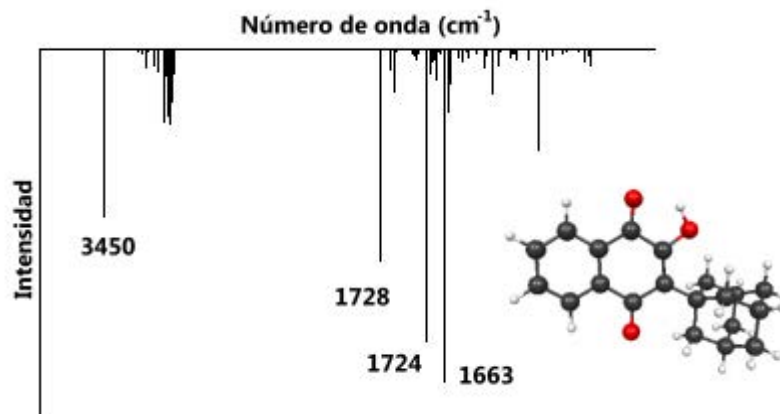


Figura 93. Espectro IR simulado para 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-NQ. Cálculos basados en estructura optimizada según B3LYP/6-31G* en programa GAMESS.

Por su parte, el derivado 2-(1-aminoadamantil) también posee un puente de hidrógeno intramolecular (2.065 Å, según cálculos de modelaje molecular). Por esta razón en el espectro infrarrojo la banda de absorción de la amida viníloga se caracteriza por ser fina (Fig. 94).

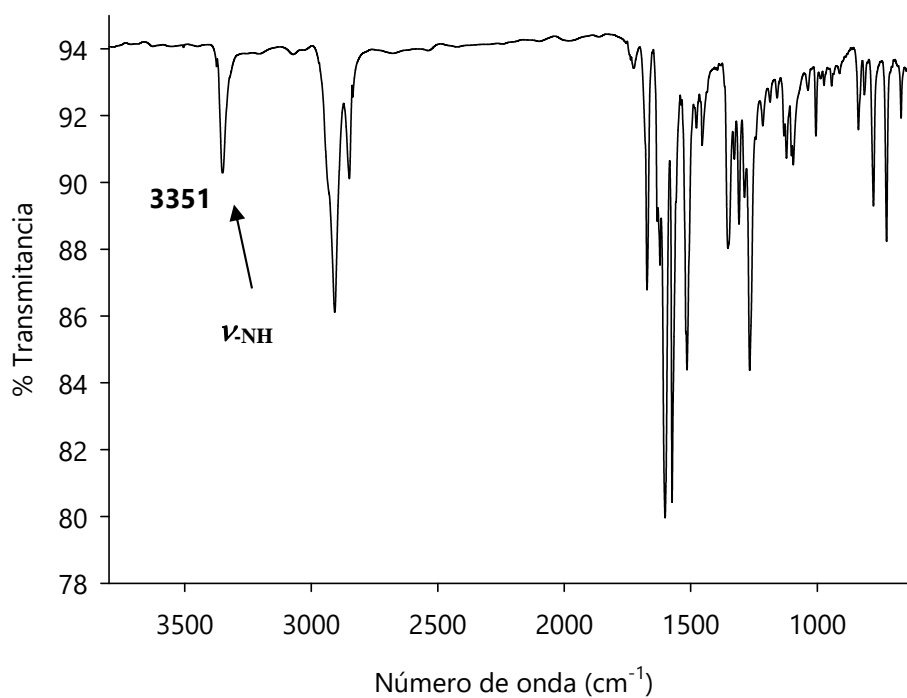


Figura 94. Espectro IR (film) del 2-(1-aminoadamantil)-1,4-NQ.

Capítulo VI

Ensayos preliminares de citotoxicidad de los derivados sintetizados

6.1 Actividad biológica de los derivados de adamantano y naftoquinona

Como se mencionó en el primer capítulo, en la literatura se encuentran múltiples ejemplos de naftoquinonas con potencial antimalárico y antitumoral. Uno de ellos es la 1,4-naftoquinona, y según Matsubara y colaboradores, este compuesto es un potente antitumoral.¹⁰⁸ A pesar de que dichos investigadores sugieren el uso de este compuesto en la terapia anticáncer, no debe olvidarse la elevada toxicidad que poseen muchos de los derivados de la 1,4-naftoquinona, de ahí la importancia de investigar la síntesis y transformación de mejores candidatos.

El Departamento de Parasitología de la Facultad de Farmacia, en la Universidad Complutense de Madrid ha evaluado la actividad antiparasitaria *in vitro* de los compuestos obtenidos en esta investigación. Los primeros estudios mostraron actividad inhibitoria frente a las formas intraeritrocitarias de la cepa 3D7 de *Plasmodium Falciparum* (sensible a la cloroquina), cuadro XXII. En dicho análisis, el compuesto que presentó mayor capacidad inhibitoria fue el 2-(2-endo-borneoxi), por lo que se evaluó la actividad de esta sustancia en el proceso de detoxificación de la Ferroprotoporfirina IX (uno de los mecanismos de acción asociado a la cloroquina).¹⁰⁹

Cuadro XXII. Actividad antiparasitaria *in vitro* de compuestos derivados de lawsona y borneol frente a la cepa 3D7 de *P. Falciparum*.¹⁰⁹

| Compuesto | Fluorimétrica CI ₅₀ (µg/mL) | FBIT CI ₅₀ (mg/mL) |
|----------------------------|---|----------------------------------|
| 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-NQ | 1.85 | - |
| 4-(2-endo-borneoxi)-1,2-NQ | 1.00 | 0.8 |
| Cloroquina | 0.02 | 0.04 |

CI₅₀= Concentración inhibitoria media, FBIT= Ferroprotoporphyrin IX Biomineralisation Inhibition Test

Posteriormente, se evaluó el resto de compuestos sintetizados. Los resultados preliminares indican que todos son activos frente a cepas de *P. falciparum*. En particular, es de especial interés el 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona, ya que este compuesto exhibe muy buena actividad antiparasitaria *in vitro* frente a cepas de *P. falciparum* resistentes a la cloroquina.¹⁰⁹ Por lo anterior, esta familia de compuestos se perfila como potenciales antimaláricos.

Igualmente, es de interés, evaluar la actividad antitumoral de estas sustancias. Para ello, se realizó un análisis preliminar de citotoxicidad en dos líneas celulares: Vero y MCF-7 (Cuadro XXIII).

Cuadro XXIII. Compuestos utilizados en pruebas de citotoxicidad.

| Número | Nombre |
|-----------|-----------------------------------|
| 73 | 2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-NQ |
| 74 | 2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-NQ |
| 79 | 2-(1-aminoadamantil)-1,4-NQ |
| 77 | 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-NQ |
| 75 | 2-(2-adamantanoxi)-1,4-NQ |
| 80 | 2-(1-adamantilmercaptop)-1,4-NQ |

NQ= naftoquinona

6.1.1 Protocolo de determinación de citotoxicidad: Consideraciones químicas y biológicas

La determinación de citotoxicidad se realizó utilizando el ensayo de MTT, este compuesto se caracteriza por ser comparativamente más barato y sencillo que los ensayos usados frecuentemente.¹¹⁰ En términos bioquímicos, el MTT es reducido por deshidrogenasas mitocondriales en células vivas a cristales de formazán de color azul oscuro (Fig. 95). La absorción en la región visible del formazán disuelto, en este caso en DMSO, correlaciona con el número de células intactas vivas.¹¹¹ Cabe mencionar que el MTT es introducido a la célula por endocitosis y reducido a formazán en el compartimento endosomal-lisosomal. El formazán es depositado de forma intracelular como gránulos de

color azul, que son luego excitados como cristales de formazán.¹¹² Basándose en este mecanismo, compuestos citotóxicos son capaces de dañar y destruir células, lo que conlleva un decrecimiento en la reducción de MTT a formazán de manera que es posible medir de forma indirecta viabilidad celular.

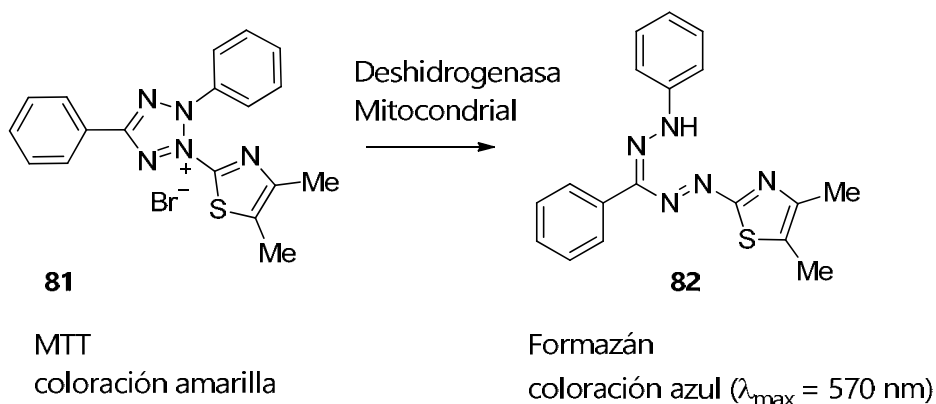


Figura 95. Reducción *in vitro* de MTT a formazán.

Es importante señalar que se utilizó doxorrubicina (también conocida comercialmente como adriamicina) como control positivo (Fig. 96). Este compuesto es un antibiótico con actividad antineoplásica, específicamente se intercala entre pares de bases nitrogenadas en la hélice de ADN, previniendo la duplicación de este y por consiguiente la síntesis de proteínas, además inhibe topoisomerasas II involucradas en el proceso de duplicación. Adicionalmente la doxorrubicina forma ROS, lo que resulta en un efecto citotóxico análogo al que se espera en las naftoquinonas evaluadas. (<http://www.cancer.gov/drugdictionary/>)

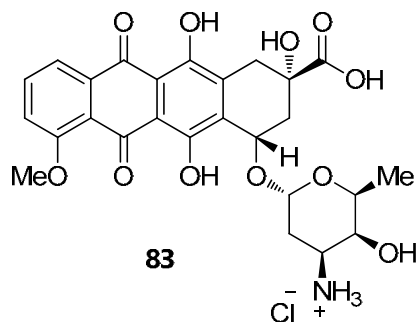


Figura 96. Estructura de la Doxorrubicina.

6.1.2 Resultados de Citotoxicidad en células Vero y MCF-7

El análisis de los ensayos realizados en células Vero y MCF-7, muestran en la mayoría de los casos una viabilidad mayor al control negativo en células tratadas con las distintas naftoquinonas (ver anexo III). Tal es el caso de los compuestos 2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-NQ, 2-(2-adamantanoxi)-1,4-NQ, 2-(1-adamantilmercapto)-1,4-NQ, que como puede observarse en la figura 97, en el rango de 0-30 $\mu\text{mol/L}$ presentan máximos de absorbancia superiores al control negativo (0 $\mu\text{mol/L}$, células en ausencia de droga), lo cual sugiere proliferación celular o una interferencia en la medición de absorbancia.

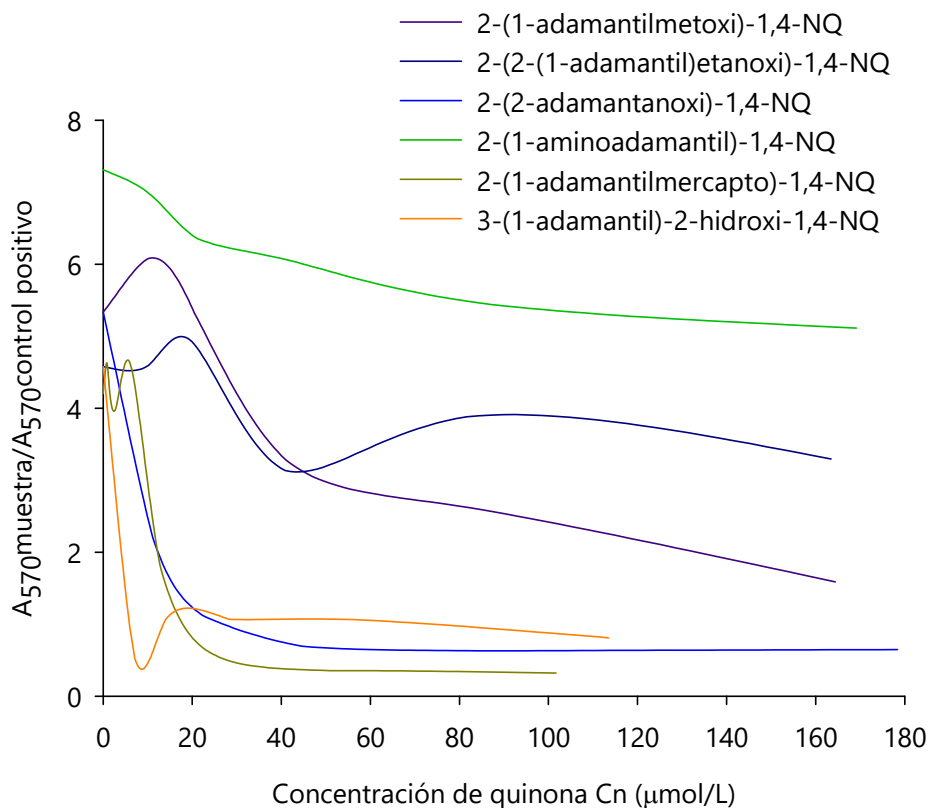


Figura 97. Curva normalizada de viabilidad evaluada en células Vero.

Lo anterior puede explicarse a partir de varias consideraciones. Primero, se ha demostrado que algunas células logran expresar su actividad deshidrogenasa a pesar de estar muriendo, como resultado, en comparación a otros ensayos, el ensayo de MTT

relativamente sobreestima la viabilidad celular. Segundo, la droga en sí misma puede explicar también la inconsistencia de los resultados. Diferentes drogas pueden requerir distintos tipos de ensayos para poder realizar una medición más adecuada de su potencial de inhibición de crecimiento. Lo más adecuado es tomar en consideración el mecanismo de muerte celular supuesto, para escoger un ensayo de citotoxicidad acorde.¹¹³ Tercero, existe la posibilidad de que la droga interfiera con el MTT en sí,¹¹⁴ tal es el caso de la genisteína (Fig. 98), compuesto que inhibe el crecimiento de células tumorales pero favorece la producción de formazán, lo que resulta en falsos negativos en el ensayo de MTT.¹¹⁵

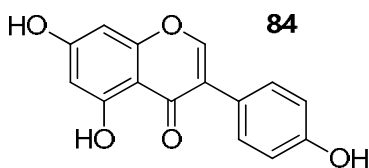


Figura 98. Estructura de genisteína

La literatura además reporta otros ejemplos de compuestos que interfieren con el MTT, entre ellos la epirubicina, paclitaxel, docetaxel y cisplatino (Fig. 99). Específicamente, estos compuestos causan un incremento significativo en los valores de absorbancia, de tal forma que se obtiene falsos negativos y como consecuencia un aparente incremento de viabilidad celular.¹¹⁶

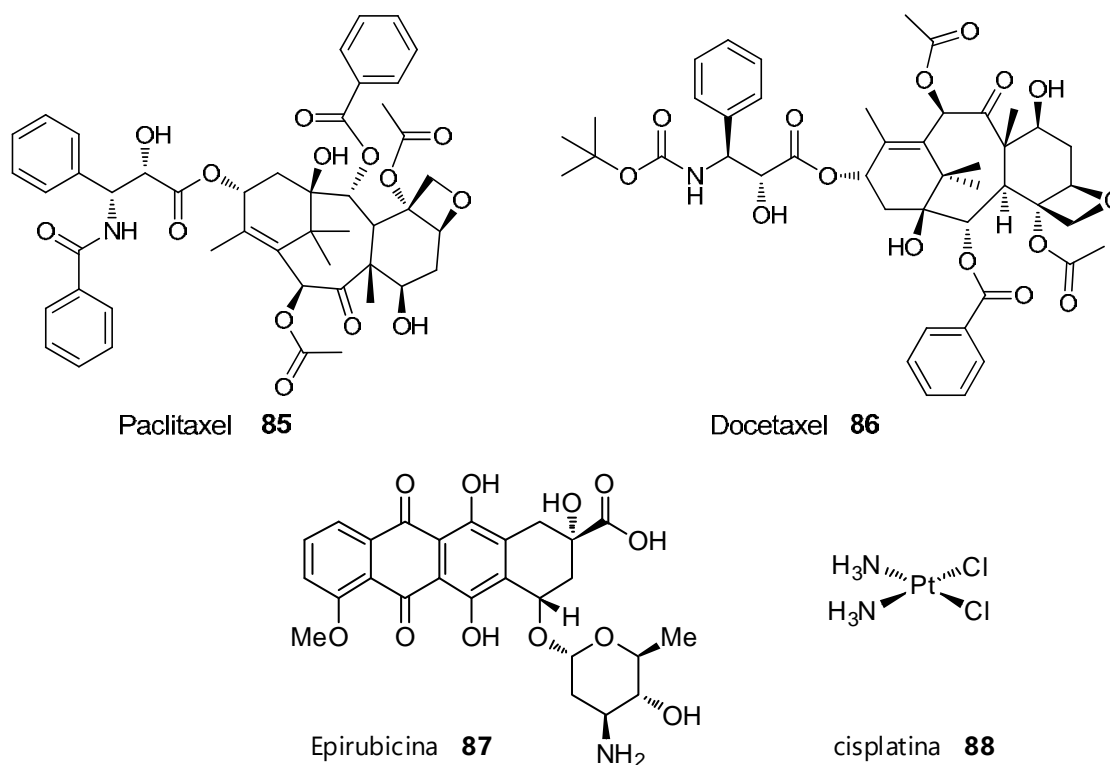


Figura 99. Compuestos que interfieren en la sensibilidad del ensayo de MTT.

Otro aspecto a considerar es que a pesar de que hay células que se consideran vivas (según la tinción con azul de tripano), el ensayo de MTT puede indicar pérdida de viabilidad,¹¹⁷ esto implica que la actividad deshidrogenasa de estas células puede ser inhibida por un mecanismo desconocido de la droga misma, sin observar necesariamente muerte celular aparente. Adicionalmente se debe tomar en cuenta que las células que se encuentran metabólicamente inactivas, pueden ser también detectadas como células muertas por medio de estos ensayos, a pesar de que no todas las células inactivas se encuentran muertas.¹¹⁸ Lo anterior es considerado una desventaja en ensayos basados en metabolismo. De hecho, se ha reportado que diferentes sustancias químicas causan diferentes patrones en los cambios metabólicos. Inclusive el medio de cultivo influye en el proceso de reducción de MTT, Talorete y colaboradores indican que para ciertos compuestos, el medio de cultivo influye fuertemente en el ensayo, en el caso de flavonoides ellos demostraron que existe una reducción significativamente mayor de MTT en DMEM (medio de cultivo usado en esta investigación) que en otros medios similares como RPMI 1640 y F12.¹¹⁹

Por otra parte, se quiso estudiar si existe una interacción química entre las naftoquinonas y el MTT, para ello se realizó un experimento en el cual se observó el efecto que ocasionan las naftoquinonas en el MTT (Figuras 100 y 101). En dicho experimento se observó una coloración morada de diferente intensidad, similar al color de los cristales de formazán disueltos, esta coloración producto de una reacción o interacción química no conocida, provoca una interferencia en la medición de absorbancia durante el ensayo de MTT y por consiguiente porcentajes de viabilidad celular superiores al 100 %, tal y como se obtuvo en los ensayos realizados.



Figura 100. Disoluciones estándar de naftoquinonas y MTT. De izquierda a derecha: **C**=3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-NQ, **S**=2-(1-adamantilmercapto)-1,4-NQ, **O-Adm**=2-(2-adamantanoxi)-1,4-NQ, **N**=2-(1-aminoadamantil)-1,4-NQ, **EtO**=2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-NQ, **MeO**=2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-NQ y MTT.

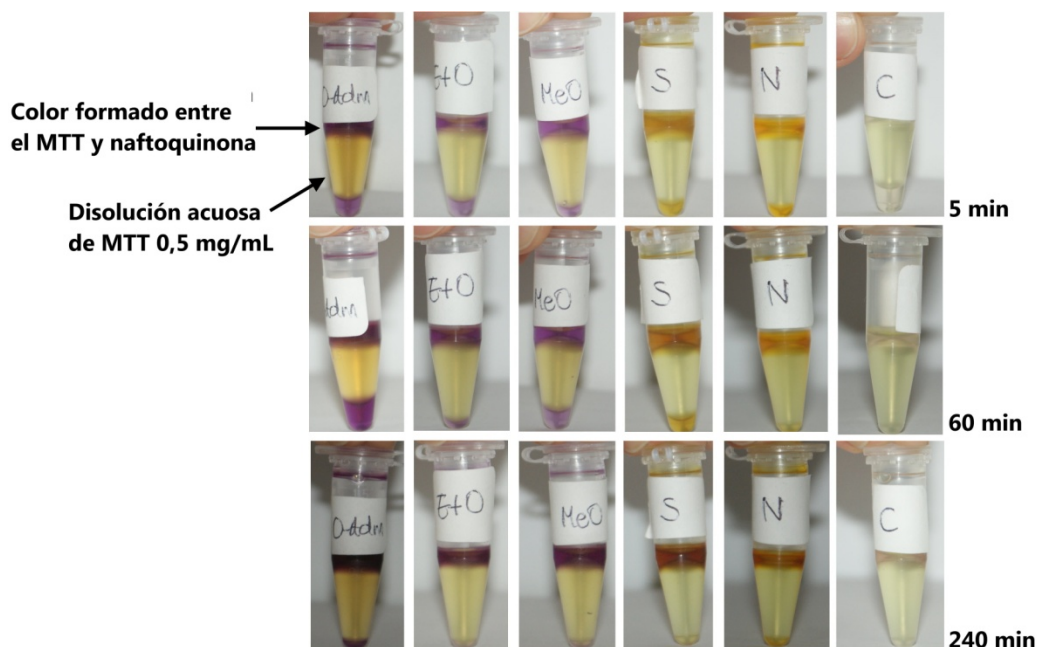


Figura 101. MTT en presencia de las distintas naftoquinonas. De izquierda a derecha: **Adm**= 2-(2-adamantanoxi)-1,4-NQ, **EtO**= 2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-NQ, **MeO**= 2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-NQ, **S**= 2-(1-adamantilmercapto)-1,4-NQ, **N**= 2-(1-aminoadamantil)-1,4-NQ, **C**= 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-NQ.

Plumb sugiere incluir un periodo de crecimiento después de la remoción de la droga (dos días adicionales durante los cuales se cambie diariamente el medio de cultivo), en el cual las células se recuperen de los efectos de la droga, o se mueran. Con esto se logra eliminar la droga restante que por lipofiliencia sea difícil de extraer de las células y así evitar la interferencia en la reducción del MTT.¹²⁰ Dado lo anterior, se recomienda para futuros ensayos considerar si se disminuye la interferencia que se observó durante la evaluación de citotoxicidad de los derivados naftoquinónicos.

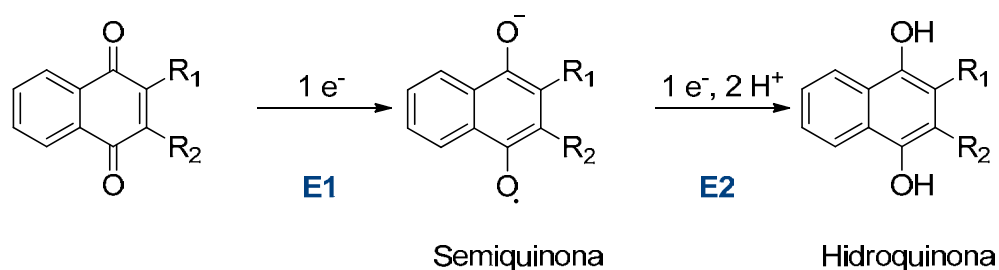
Por último, se concluye que antes de emplear el ensayo MTT, es necesario que en los compuestos que serán analizados, se pruebe si existe una posible interacción entre los compuestos y el MTT, de otra forma es imposible evaluar correctamente los resultados de viabilidad obtenidos del ensayo.

6.1.3 Correlación entre citotoxicidad y potencial de reducción de naftoquinonas

En términos biológicos, uno de los mecanismos de citotoxicidad que se les atribuyen a las naftoquinonas es formar parte de ciclos redox en los cuales se generan ROS, la producción de especies radicalarias incrementa el estrés oxidativo en las células.

Particularmente, las naftoquinonas son capaces de oxidar componentes celulares tales como lípidos, proteínas y ADN.¹²¹ De tal modo que se quiso determinar el potencial de reducción de varios de los derivados sintetizados para así correlacionar los valores con su poder oxidante y posiblemente citotóxico (Cuadro XXIV).

Cuadro XXIV. Potenciales de reducción de los compuestos quinónicos **2**, **75**, **77**, **79** y **80**.



| Compuesto | R ₁ | R ₂ | Potencial de Reducción | |
|----------------------------------|----------------|----------------|------------------------|--------|
| | | | E1 (V) | E2 (V) |
| 1,4-naftoquinona (1,4-NQ) | [2] | H | -1,102 | -2,222 |
| 2-(2-adamantanoxi)-1,4-NQ | [75] | OAdm | -1,380 | -2,378 |
| 2-hidroxi-3-(1-adamantil)-1,4-NQ | [77] | Adm | -0,940 | -2,718 |
| 2-(1-aminoadamantil)-1,4-NQ | [79] | NHAdm | -1,580 | -2,298 |
| 2-(1-adamantilmercapto)-1,4-NQ | [80] | SAdm | -1,020 | -2,178 |

Adm = Adamantil

Para determinar el potencial de reducción se realizó un análisis ciclovoltamperométrico donde se comparó la variación en el potencial según el heteroátomo unido al carbono 2 (Fig. 102) y la diferencia entre un producto O-alquilado y C-alquilado (Fig. 103).

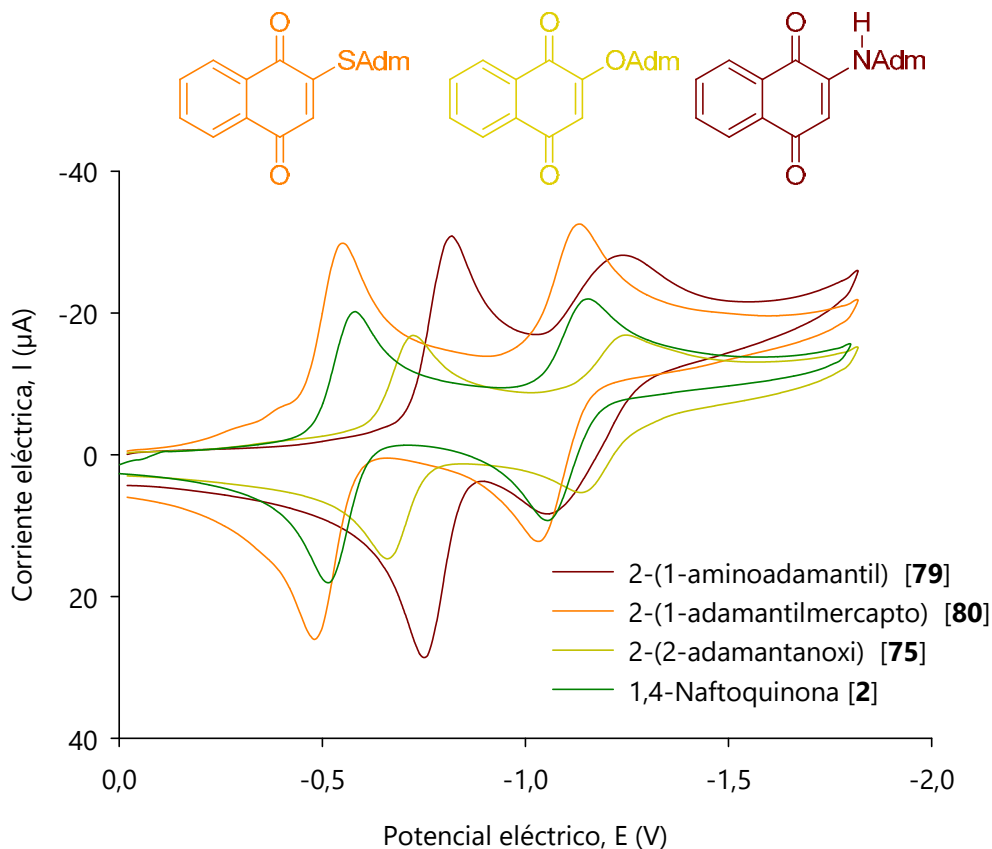


Figura 102. Ciclovoltamperogramas de los compuestos **79**, **80**, **75** y **2**.

En el primer caso se observa que conforme aumenta la donación de electrones del heteroátomo unido a C2 ($N > O \gg S$), el potencial de reducción es más negativo (se observa un desplazamiento de los máximos hacia potenciales eléctricos más negativos, Fig. 102), es decir, el compuesto disminuye su actividad como agente oxidante ($N < O < S$). En el segundo caso, el producto C-alquilado posee un potencial de reducción similar a la 1,4-naftoquinona (máximos se observan a potenciales eléctricos similares, Fig 103) y en comparación con el producto O-alquilado, este último posee un potencial de reducción menor, es decir, el producto C-alquilado es el mejor agente oxidante.

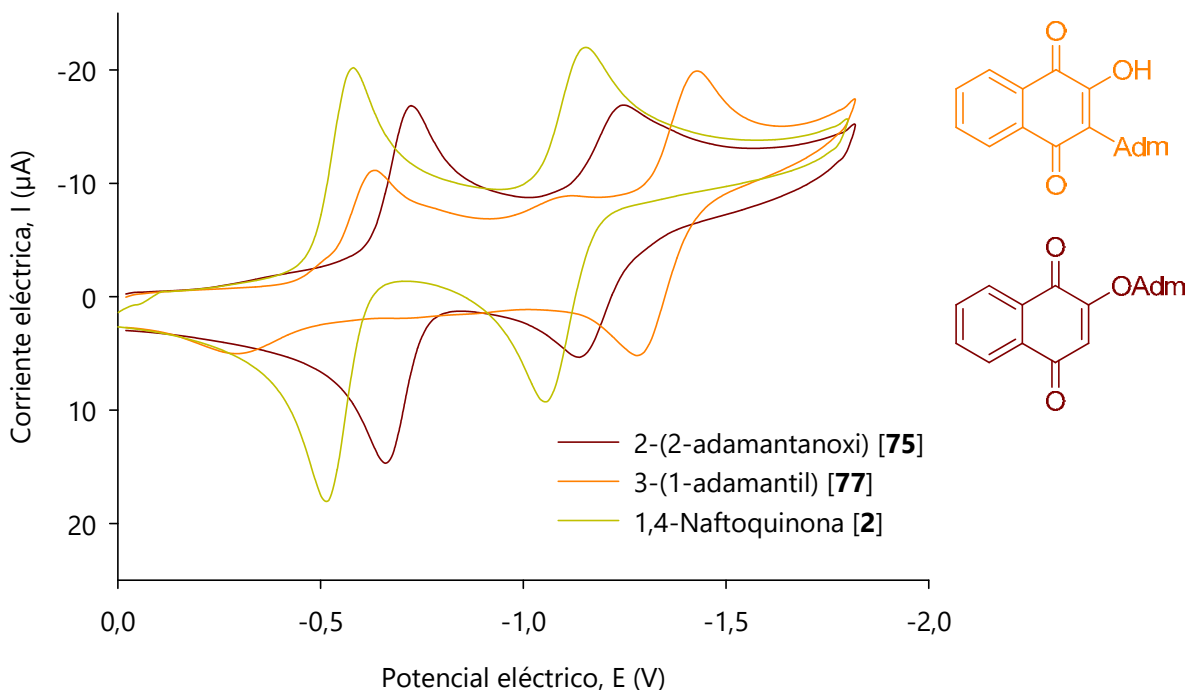


Figura 103. Ciclovoltamperogramas de los compuestos **75**, **77** y **2**.

Además debe señalarse que los ciclovoltamperogramas obtenidos en todos los casos cumplen con los criterios de reversibilidad (intensidad y separación de picos), por lo que se asegura que las naftoquinonas estudiadas participan en ciclos redox, además los dos máximos de intensidad que se observan en todos los ciclovoltamperogramas (ver anexo II), indican que los compuestos poseen un sistema de transferencia múltiple de electrones (dos electrones en total), este sistema representa los cambios de estado de reducción posibles para naftoquinona (semiquinona e hidroquinona, ver encabezado de cuadro XXIV). Adicionalmente, los potenciales de reducción negativos indican que el proceso de reducción de la quinona no es espontáneo, en otras palabras, las naftoquinonas son más estables que sus especies reducidas.

Por último, a partir de los potenciales de reducción medidos y las curvas de viabilidad celular mostradas en la figura 97, se observa que el 2-(1-aminoadamantil) posee el potencial de reducción más negativo (peor agente oxidante) y la mayor viabilidad celular (valores de absorbancia mayores), por otro lado, los derivados 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-

1,4-NQ y 2-(1-adamantilmercapto)-1,4-NQ poseen un potencial de reducción mayor (mejores agentes oxidantes) y una menor viabilidad celular (valores de absorbancia menores) , lo cual concuerda con el mecanismo de acción propuesto para las naftoquinonas. Sin embargo, debe destacarse que el derivado 3-(1-adamantil)-2-hidroxi a diferencia de los otros compuestos, posee un grupo voluminoso en el carbono 3 que le impide participar en reacciones de adición de Michael, por lo que su actividad biológica se limita a reacciones redox.

6.2 Otras técnicas de determinación de citotoxicidad: Trabajo para el futuro

Como se discutió en la sección anterior, los derivados sintetizados tienen la capacidad de interactuar con el MTT, por lo que es necesario buscar métodos alternativos para determinar citotoxicidad. Por ejemplo, el ensayo de ATP o el uso de sulforodamina B (SRB), los cuales se describen brevemente en esta sección.

En el caso del ensayo de ATP, este se fundamenta en la disminución dramática de los niveles de ATP asociada al daño celular. El método consiste en la reacción de luciferina a oxiluciferina catalizada por la enzima luciferasa en presencia de iones Mg^{2+} y ATP (Fig. 104) dicha reacción genera una señal luminiscente. La ventaja de usar este método es que existe una relación lineal entre la intensidad de la luminiscencia y la concentración de ATP o el número de células. Se dice que este método es más sensible que el ensayo de MTT, debe notarse que a pesar de que ambos ensayos miden actividad metabólica de las células, existe una diferencia importante en cuanto a los principios en los que se basa el ensayo.¹¹⁸

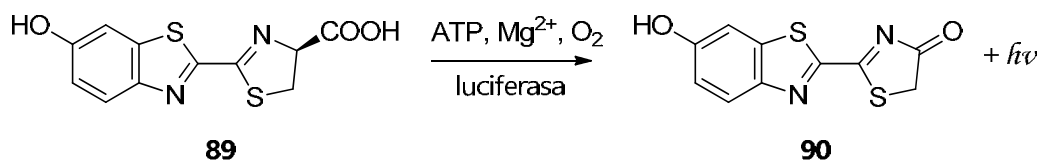


Figura 104. Reacción de luciferina en presencia de ATP y luciferasa.

Por su parte el ensayo con SRB consiste en la tinción de proteínas para su cuantificación en cultivos de células adherentes o en suspensión. El ensayo se basa en la habilidad del SRB de enlazarse a componentes proteicos de células que han sido fijadas a platos de tejido celular por acción del ácido tricloroacético. El SRB es un tinte aminoxantano, de color rosado brillante, el cual posee dos grupos sulfónicos (Fig. 105) que se enlazan a residuos de amino ácidos bajo condiciones levemente ácidas y se disocia bajo condiciones básicas. En cuanto a la estequiometría de SRB, la cantidad de tinte extraído de las células teñidas, es directamente proporcional a la biomasa.¹²²

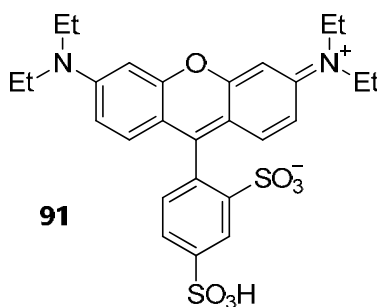


Figura 105. Estructura de la sulforodamina B (SRB).

El método con SRB, en contraste al MTT que solo detecta células viables, no distingue entre células viables y células muertas, esta diferencia sin embargo, no compromete la habilidad del ensayo para detectar efectos citotóxicos de compuestos.¹²² De hecho, este método ha remplazado los ensayos basados en sales de tetrazolio, debido a que el análisis de SRB exhibe ciertas ventajas, incluyendo mejor linealidad, mayor sensibilidad y un punto final estable que no requiere mediciones sensibles al tiempo.¹²³

Conclusiones

Se realizó la síntesis de una nueva familia de nueve compuestos, a partir del acoplamiento de 1,4-naftoquinonas (lawsona y 2-bromo-1,4-naftoquinona) con compuestos de adamantano y borneol. Para ello, se desarrolló una metodología de síntesis muy versátil, que comprendió el uso de disolventes "verdes y amarillos", ácidos de Lewis en cantidades catalíticas y en otros casos bases de Brønsted como activadores. Se obtuvo porcentajes de rendimiento entre 41-89% para los derivados de 1,4-naftoquinona y 11-34% para los derivados de 1,2-naftoquinona. En general, los procedimientos de síntesis se consideran amigables con el ambiente. Adicionalmente, se realizó una extensa caracterización espectroscópica y cálculos de modelaje molecular de los compuestos sintetizados, que respaldan la reactividad y características físicas observadas en estas sustancias.

En cuanto a la actividad biológica de los nuevos compuestos, gracias a la colaboración del Departamento de Parasitología de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid, se determinó que todos los compuestos poseen actividad antiparasitaria en cepas de *Plasmodium falciparum*, en especial el 3-(1-adamantill)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona, el cual posee muy buena actividad inhibitoria en una cepa del parásito resistente a la cloroquina. Se concluye que los derivados naftoquinónicos formados, representan una nueva familia de compuestos con potencial antimalárico.

Con respecto al estudio de actividad antitumoral, no fue posible obtener resultados satisfactorios puesto que se empleó el ensayo de MTT para la determinación de citotoxicidad y posteriormente se observó que las naftoquinonas interfirieron en la determinación. A pesar de que el ensayo en algunos casos es viable *in vitro*, no debe de olvidarse que la escogencia de la droga puede ser un punto crítico en la exactitud del ensayo de citotoxicidad, más aún en compuestos nuevos de origen sintético. Sin embargo, a partir de ciclovoltamperometría, si fue posible determinar el poder oxidante de las naftoquinonas, el cual puede asociarse al mecanismo de acción a nivel biológico que se conoce en compuestos de este tipo.

Bibliografía

1. IUPAC Compendium of Chemical Terminology, 2ed, **1995**.
2. a) Roderick, W. Structural Variety of Natural Products. *J. Chem. Educ.* **1962**, *39*, 2-11. b) Patai, S. *The Chemistry of the Quinonoid Compounds*. Academy Press: New York, **1974**.
3. a) Lodish, H.; Berk, A.; Zipursky, L.; Matsudaira, P.; Baltimore, D.; Darnell, J. *Molecular Cell Biology* 5th ed. W. H. Freeman: New York, **2003**. b) Dewick, P. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach* 2nd ed. Wiley & Sons: Chichester, **2002**.
4. Martínez, M.; Bermejo, P. Biological Activity of quinones. *Studies in Natural Products Chemistry*, Elsevier: Amsterdam, **2005**, *30*, 303-366.
5. Bai, H.; Li, S.; Yin, S.; Hu, L. Isoprenylated Naphthoquinone Dimers Firmianones A, B, and C from *Firmiana platanifolia*. *J. Nat. Prod.* **2005**, *68*, 1159-1163.
6. Singh, R.; Geetanjali, S.; Chauhan, M. S. 9-10-Anthraquinones and Other Biological Active Compounds from the Genus *Rubia*. *Chem. Biodiversity*, **2004**, *1*, 1241-1264.
7. a) Dolan, M. E.; Frydman, B.; Thompson, C. B.; Diamond, A. M.; Garbiras, B. J.; Safa, A. R.; Beck, W. T.; Marton, L. J. Effects of 1,2-naphthoquinones on human tumor cell growth and lack of cross-resistance with other anticancer agents. *Anticancer Drugs*, **1998**, *9*, 437-448. b) Don, M.; Chang, Y. H.; Chen, K. K.; Ho, L. K.; Chau, Y. P. Induction of CDK Inhibitors (p21^{WAF1} and p27^{Kip1}) and Bak in the β -Lapachone-Induced Apoptosis of Human Prostate Cancer Cells. *Mol. Pharmacol.* **2001**, *59*, 784-794.
8. Chau, Y. P.; Shiah, S. G.; Don, M. J.; Kuo, M. L. Involvement of Hydrogen Peroxide in Topoisomerase Inhibitor β -Lapachone-induced Apoptosis and Differentiation in Human Leukemia Cells—Involvement of free radicals. *Free Radic. Biol. Med.* **1998**, *24*, 660-670.
9. Li, Y.; Li, C.; Yu, D.; Pardee, A. B. Potent Induction of Apoptosis by β -Lapachone in Human Multiple Myeloma Cell Lines and Patient Cells *Mol. Med.* **2000**, *6*, 1008-1015.
10. Weller, M.; Winter, S.; Schmidt, C.; Esser, P.; Fontana, A.; Dichgans, J.; Groscurth, P. Topoisomerase-I inhibitors for human malignant glioma: differential modulation of p53, p21, bax and bcl-2 expression and of cd95-mediated apoptosis by camptothecin and β -lapachone *Int. J. Cancer*, **1997**, *73*, 707-714.

- 11.** a) Pink, J.; Planchon, S.; Tagliarino, C.; Varnes, M. E.; Siegel, D.; Boothman, D. NAD(P)H:Quinone Oxidoreductase Activity Is the Principal Determinant of β -Lapachone Cytotoxicity *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 5416-5424. b) Lai, C.; Liu, T. J.; Ho, L. H.; Don, M. J.; Chau, Y. P. beta-Lapachone induced cell death in human hepatoma (HepA2) cells. *Histol. Histopathol.* **1998**, *13*, 89-97. c) Krishnan, P.; Bastow, K. F. Novel mechanism of cellular DNA topoisomerase II inhibition by the pyranonaphthoquinone derivatives alpha-lapachone and beta-lapachone. *Cancer Chem. Pharmacol.* **2001**, *47*, 187-198.
- 12.** a) Plyta, Z. F.; Li T.; Papageorgiou V. P.; Mellidis A. S.; Assimopoulou A. N.; Pitsinos E. N.; Couladouros E. A. Inhibition of Topoisomerase I by Naphthoquinone Derivatives *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *5*, 3385-3390. b) Hisa, T.; Kimura, K.; Takada, K.; Suzuki, F.; Takigawa, M. Shikonin, an ingredient of *Lithospermum erythrorhizon*, inhibits angiogenesis in vivo and in vitro. *Anticancer Res.* **1998**, *18*, 783-790.
- 13.** Gokhale, N.; Padhye, S.; Newton, C.; Pritchard, R. Hydroxynaphthoquinone metal complexes as antitumor agents x: synthesis, structure, spectroscopy and in vitro antitumor activity of 3-methyl-phenylazo lawsone derivatives and their metal complexes against human breast cancer cell line mcf-7. *Met. Based Drugs*, **2000**, *7*, 121-128.
- 14.** Decosterd, L.; Parsons, I.; Gustafson, K.; Cardellina II, J.; McMahon, J.; Cragg, G.; Murata, Y.; Pannell, L.; Steiner, J. HIV inhibitory natural products. 11. Structure, absolute stereochemistry, and synthesis of conocurvone, a potent, novel HIV-inhibitory naphthoquinone trimer from a *Conospermum* sp. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 6673-6679.
- 15.** Min, B. S.; Miyashiro, H.; Hattori, M. Inhibitory effects of quinones on RNase H activity associated with HIV-1 reverse transcriptase *Phytother. Res.* **2002**, *16*, 57-62.
- 16.** Sendl, A.; Chen, J.; Jolad, S. D.; Stoddart, C.; Rozhon, E.; Kernan, M., Two New Naphthoquinones with Antiviral Activity from *Rhinacanthus nasutus*. *J. Nat. Prod.* **1996**, *59*, 808-811.
- 17.** Meazza, G.; Dayan, F.; Wedge, D. Activity of Quinones on Colletotrichum Species. *J. Agric. Food. Chem.* **2003**, *51*, 3824-3828.
- 18.** a) Adeniyi, B., Fong, H. H.; Pezzuto, J. M.; Luyengi, L.; Odelola, H. A. Antibacterial activity of diospyrin, isodiospyrin and bisisodiospyrin from the root of *Diospyros piscatoria* (Gurke)

(Ebenaceae). *Phytother. Res.* **2000**, *14*, 112-117. b) Lall, N.; Meyer, J. Inhibition of drug-sensitive and drug-resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* by diospyrin, isolated from *Euclea natalensis*. *J. Ethnopharmacol.* **2001**, *78*, 213-216.

19. Mehrabian, S.; Majd, A.; Majd, I. Antimicrobial effects of three plants (*rubia tinctorum*, *carthamus tinctorius* and *juglans regia*) on some airborne microorganisms *Aerobiologia* **2000**, *16*, 455-458.

20. Fieser, L. Berliner, E.; Bondhus, F.; Chang, F. C.; Dauben, W. G.; Ettliger, M. G.; Fawaz, G.; Fields, M.; Fieser, M.; Heidelberger, C.; Heymann, H.; Seligman, A. M.; Vaughang, W. R. Naphthoquinone antimalarials. *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, *70*, 3151-3155.

21. Rosenthal, P. J. *Antimalarial Chemotherapy*, Human Press: Totowa, **2001**.

22. Danoun, S.; Baziard-Mousysset, G.; Stigliani, J. L.; Ane-Margil, M.; Payard, M.; Leger, J. M.; Cannon, X.; Vial, H.; Bories, C. Synthesis and protozoocidal activity of new 1,4-naphthoquinones *Heterocycl. Comm.* **1999**, *5*, 343-348.

23. Ferraz, P. A. L.; Abreu, F. C.; Pinto, A. V.; Glezer, V.; Tonholo, J.; Goulart, M. O. F. Electrochemical aspects of the reduction of biologically active 2-hydroxy-3-alkyl-1,4-naphthoquinones. *J. Electroanal. Chem.* **2001**, *507*, 275-286.

24. Rafiullah, M., Suleiman, M. 5-Hydroxylapachol: a cytotoxic agent from *Tectona grandis* *Phytochemistry* **1999**, *50*, 439-442.

25. Oliveira, M.; Lemos, T.; de Mattos, M.; Segundo, T.; Santiago, G.; Braz-Filho, R. New enamine derivatives of lapachol and biological activity. *An. Acad. Bras. Cienc.* **2002**, *74*, 211-221.

26. Ittarat, I.; Asawamahasakda, W.; Bartlett, M. S.; Smith, J. W.; Meshnick, S. R. Effects of Atovaquone and Other Inhibitors on *Pneumocystis carinii* Dihydroorotate Dehydrogenase. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1995**, *39*, 325-328.

27. Ball, M. D.; Bartlett, M. S.; Shaw, M.; Smith, J. W.; Nasr, M.; Meshnick, S. R. Activities and Conformational Fitting of 1,4-Naphthoquinone Derivatives and Other Cyclic 1,4-Diones Tested In Vitro against *Pneumocystis carinii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2001**, *45*, 1473-1479.

- 28.** Likhitwitayawuid, K.; Kaewamatawong, R.; Ruangrunsi, N.; Krungkrai, J. Antimalarial naphthoquinones from *Nepenthes thorelii*. *Planta Med.* **1998**, *64*, 237-241.
- 29.** Kapadia, G. J.; Azuine, M. A.; Balasubramanian, V.; Sridhar, R. Aminonaphthoquinone: A novel class of compounds with potent antimalarial activity againsts *Plasmodium falciparum*. *Pharmacol. Res.* **2001**, *43*, 363-367.
- 30.** a) Kayser, O.; Kiderlen, A. F.; Loatsch, H.; Croft, S. L. In vitro leishmanicidal activity of monomeric and dimeric naphthoquinones *Acta Trop.* **2000**, *76*, 131-138. b) *Ibid.* **77**, 307-314.
- 31.** Moideen, S. V.; Houghton, P. J.; Rock, P.; Croft, S. L.; Aboagye-Nyame, F. Activity of extracts and naphthoquinones from *Kigelia pinnata* against *Trypanosoma brucei brucei* and *Trypanosoma brucei rhodesiense*. *Planta Med.* **1999**, *65*, 536-540.
- 32.** Morello, A.; Pavani, M.; Garbarino, J. A.; Chamy, M. C.; Frey, C.; Mancilla, J.; Guerrero, A.; Repetto, Y.; Ferreira, J. Effects and mode of action of 1,4-naphthoquinones isolated from *Calceolaria sessilis* on tumoral cells and *Trypanosoma* parasites. *Comp. Biochem. Physiol. C. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.* **1995**, *112*, 119-128.
- 33.** Goulart M. O. F.; Zani C. L.; Tonholo J.; Freitas L. R.; de Abreu F. C.; Oliveira A. B.; Raslan D. S.; Starling S.; Chiari E. Trypanocidal activity and redox potential of heterocyclic- and 2-hydroxy-naphthoquinones *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 2043-2048.
- 34.** a) Salmon, C. L.; Lemaire, A.; De Freitas, S.; Deprez, B.; Sergheraert, C.; Davioud-Charvet, E. Parallel synthesis of a library of 1,4-naphthoquinones and automated screening of potential inhibitors of trypanothione reductase from *Trypanosoma cruzi*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 631-635. b) Salmon, L.; Buisine, E.; Yardley, V.; Kohler, S.; Debreu, M.; Landry, V.; Sergheraert, C.; Croft, S.; Krauth-Siegel, R.; Davioud-Charvet, E. 2- and 3-Substituted 1,4-Naphthoquinone Derivatives as Subversive Substrates of Trypanothione Reductase and Lipoamide Dehydrogenase from *Trypanosoma cruzi*: Synthesis and Correlation between Redox Cycling Activities and in Vitro Cytotoxicity. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 548-565. c) Grellier, P.; Sarlauskas, J.; Anusevicius, Z.; Maroziene, A.; Houee-Levin, C.; Schrevel, J.; Cenas, N. Antiplasmodial activity of nitroaromatic and quinoidal compounds:

redox potential vs. inhibition of erythrocyte glutathione reductase. *Arch. Biochem. Biophys.* **2001**, *393*, 199-206.

35. De Moura, K.; Emery, F. S.; Neves, P. C.; Pinto, M.; Dantos, A. P.; Salomao, K.; de Castro, S. L.; Pinto, A. V. Trypanocidal activity of isolated naphthoquinones from *Tabebuia* and some heterocyclic derivatives: a review from an interdisciplinary study. *J. Brazilian Chem. Soc.* **2001**, *12*, 325-338.

36. Pinto, A. V.; Pinto, C. N.; Pinto, M.; Rita, R. S.; Pezzella, C. A.; de Castro, S. L. Trypanocidal activity of synthetic heterocyclic derivatives of active quinones from *Tabebuia* sp. *Arzneimittelforschung* **1997**, *47*, 74-79.

37. Khan, A. A., Nasr, M., Araujo, F. G. Two 2-Hydroxy-3-Alkyl-1,4-Naphthoquinones with *In Vitro* and *In Vivo* Activities against *Toxoplasma gondii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1998**, *42*, 2284-2289.

38. Petkewich, R. Henna *Chem. Eng. News*, **2006**, *84*, (6) 28.

39. Jelly, R.; Lewis, S.; Lennard, C.; Lim, K. F.; Almog, J. Lawsone: a novel reagent for detection of latent fingerprints on paper surfaces. *Chem. Commun.* **2008**, 3513-3515.

40. a) Monks, T. J.; Hanzlik, R. P.; Cohen, G. M.; Ross, D.; Graham, D. C. Quinone chemistry and toxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **1992**, *112*, 2-16. b) Powis, G. Metabolism and reactions of quinoid anticancer agents. *Pharmacol. Ther.* **1987**, *35*, 57-162. c) O'Brien, P. J. Molecular mechanisms of quinone toxicity. *Chem. Biol. Interact.* **1991**, *80*, 1-41.

41. a) Ölliger, K.; Brunmark, A. Effect of Hydroxy Substituent Position on 1,4-Naphthoquinone Toxicity to Rat Hepatocytes. *Am. Soc. Biochem. Molec. Bio.* **1991**, *268*, 21496-21503. b) Scultz, T. W., Bearden, A. P. Structure-Toxicity Relationship for Selected Naphthoquinone to *Tetrahymena pyriformis*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **1998**, *61*, 405-410.

42. Martin, Y. C., Bustard, T. M., Riley, L. K. Relationship between physical properties and antimalarial activity of 1,4-naphthoquinones. *J. Med. Chem.* **1973**, *16*, 1089-1093.

43. Fort, R. C.; von R. Schleyer, P. Adamantane: Consequences of the Diamondoid Structure. *Chem Rev.* **1964**, *64*, 277-300.

44. Nowacki, W.; Hedberg, K. An Electron Diffraction Investigation of the Structure of Adamantane. *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, *70*, 1497-1500.
45. Morel-Desrosiers, N.; Morel, J. P. Standard molar enthalpies, volumes, and heat capacities of adamantane in cyclohexane, n-hexane, and carbon tetrachloride. Interpretation using the scaled-particle theory. *J. Solution Chem.* **1979**, *8*, 579-592.
46. a) Fort, R. C.; von R. Schleyer, P. Adamantane: Consequences of the Diamondoid Structure. *Chem. Rev.* **1964**, *64*, 277-300. b) Fort, R. C. Adamantane: the Chemistry of Diamond Molecules Marcel Dekker: New York, **1976**.
47. a) Wishnok, J. S. Medicinal properties of adamantine derivatives. *J. Chem. Educ.* **1973**, *50*, 780-781.
48. Kovtun, V. Y.; Plakhotnik, V. M. Use of adamantanecarboxylic acid for the modification of drugs and biologically active compounds *Pharmaceut. Chem. J.* **1987**, *21*, 555-563.
49. Terasaki, T.; Pardridge, W. M. Targeted drug delivery to the brain; (blood-brain barrier, efflux, endothelium, biological transport). *J. Drug Target*, **2000**, *8*, 353-355.
50. Gerson, K.; Tobias, D. J.; Holmes, R. E.; Rathbun, R. E.; Kattau, R. W. The adamantyl group in medicinal agents. IV. Sedative action of 3,5,7-trimethyladamantane-1-carboxamide and related agents. *J. Med. Chem.* **1967**, *10*, 603.
51. Kas'yan, L. I., Karpenko, D. V., Kas'yan, A. O., Isaev, A. K., Prid'ma, S. A. Carboxamides and amines having two and three adamantine fragments. *Russ. J. Org. Chem.* **2007**, *43*, 1642-1650.
52. a) Tsuzuki, N.; Hama, T.; Hibi, T.; Konishi, R.; Futaki, S.; Kitagawa, K. Adamantane as a brain-directed drug carrier for poorly absorbed drug: antinociceptive effects of [D-Ala²]Leu-enkephalin derivatives conjugated with the 1-adamantane moiety. *Biochem. Pharmacol.* **1991**, *41*, R5-R8. b) Tsuzuki, N.; Hama, T.; Kawada, M.; Hasui, A.; Konishi, R.; Shiwa, S.; Ochi, Y.; Futaki, S.; Kitagawa, K. Adamantane as a brain-directed drug carrier for poorly absorbed drug. II: AZT derivatives conjugated with the 1-adamantane moiety. *J. Pharmaceut. Sci.* **1994**, *83*, 481-484.
53. Rapala, R. T.; Kraay, R. J.; Gerzon, K. The Adamantyl Group in Medicinal Agents. II Anabolic Steroid 17- β -Adamantoates. *J. Med. Chem.* **1965**, *8*, 580-583.

- 54.** a) Singh, C.; Kanchan, R.; Sharma, U.; Puri, S. K. New Adamantane-Based Spiro 1,2,4-Trioxanes Orally Effective against Rodent and Simian Malaria. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 521-527. b) Tripathi, R.; Mishra, D.; Rizvi, A.; Singh, C. Evaluation of some adamantane-based synthetic trioxanes against *Plasmodium knowlesi* in rhesus monkeys. *Life Sciences*, **2007**, *81*, 1544-1548.
- 55.** a) Posner, G. H.; Paik, I.-H.; Chang, W.; Borstnik, K.; Sinishtaj, S.; Rosenthal, A. S.; Shapiro, T. A. Malaria-Infected Mice Are Cured by a Single Dose of Novel Artemisinin Derivatives. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 2516-2519. b) Posner, G. H.; Chang, W.; Hess, L.; Woodard, L.; Sinishtaj, S.; Usera, A. R.; Maio, W.; Rosenthal, A. S.; Kalinda, A. S.; D'Angelo, J. G.; Petersen, K. S.; Stohler, R.; Chollet, J.; Santo-Tomas, J.; Snyder, C.; Rottmann, M.; Wittlin, S.; Brun, R.; Shapiro, T. A. Malaria-Infected Mice Are Cured by Oral Administration of New Artemisinin Derivatives. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 1035-1042.
- 56.** Vennerstrom, J. L.; Arbe-Barnes, S.; Brun, R.; Charman, S. A.; Chiu, F. C. K.; Chollet, J.; Dong, Y.; Dorn, A.; Hunziker, D.; Matile, H.; McIntosh, K.; Padmanilayam, M.; Tomas, J. S.; Scheurer, C.; Scorneaux, B.; Tange, Y.; Urwyler, H.; Wittlin, S.; Charman, W. N. Identification of an Antimalarial Synthetic Trioxolane Drug Development Candidate. *Nature*, **2004**, *430*, 900-904.
- 57.** a) van de Waterbeemd, H.; Smith, D. A.; Beaumont, K.; Walker, D. K. Property-Based Design: Optimization of Drug Absorption and Pharmacokinetics. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 1313-1333. b) Palm, K.; Stenberg, P.; Luthman, K.; Artursson, P. Polar Molecular Surface Properties Predict the Intestinal Absorption of Drugs in Humans. *Pharm. Res.* **1997**, *14*, 568-571.
- 58.** Lipinski, C.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *J. Adv. Drug Deliv. Rev.* **1997**, *23*, 3-26.
- 59.** Tang, Y.; Dong, Y.; Vennerstrom, J. L. Synthetic peroxides as antimalarials. *Med. Res. Rev.* **2004**, *24*, 425-448.
- 60.** Nick, H. Iron chelation, quo vadis? *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2007**, *11*, 419-423.

- 61.** Kalinowski, D. S., Richardson, D. R. *Pharmacol. Rev.* The Evolution of Iron Chelators for the Treatment of Iron Overload Disease and Cancer. **2005**, *57*, 547–583.
- 62.** Olivieri, N. F., Brittenham, G. M. Iron-Chelating Therapy and the Treatment of Thalassemia. *Blood* **1997**, *89*, 739–761.
- 63.** Liu, J.; Obando, D.; Schipanski, L. G.; Groebler, L. K.; Witting, P. K.; Kalinowski, D. S.; Richardson, D.; Codd, R. Conjugates of Desferrioxamine B (DFOB) with Derivatives of Adamantane or with Orally Available Chelators as Potential Agents for Treating Iron Overload, *J. Med. Chem.* **2009**, *53*, 1370-1382.
- 64.** Lu, D.; Meng, Z.; Thakur, G. A.; Fan, P.; Steed, J.; Tartal, C. L.; Hurst, D. P.; Reggio, P. H.; Deschamps, J. R.; Parrish, D. A.; George, C.; Järbe, T. U. C.; Lamb, R. J.; Makriyannis, A. Adamantyl Cannabinoids: A Novel Class of Cannabinergic Ligands. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 4576–4585.
- 65.** Lu, D.; Guo, J.; Duclos, R. I.; Bowman, A. L.; Makriyannis, A. Bornyl- and Isobornyl- Δ^8 -tetrahydrocannabinols: A Novel Class of Cannabinergic Ligands. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 6393–6399.
- 66.**(a) Manera, C.; Benetti, V.; Castelli, M. P.; Cavallini, T.; Lazzaretti, S.; Pibiri, F.; Saccomanni, G.; Tuccinardi, T.; Vannacci, A.; Martinelli, A.; Ferrarini, P. L. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of New 1,8-Naphthyridin-4(1H)-on-3-carboxamide and Quinolin-4(1H)-on-3-carboxamide Derivatives as CB₂ Selective Agonists. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 5947–5957. (b) Manera, C.; Cascio, M. G.; Benetti, V.; Allara, M.; Tuccinardi, T.; Martinelli, A.; Saccomanni, G.; Vivoli, E.; Ghelardini, C.; Di Marzo, V.; Ferrarini, P. L. New 1,8-naphthyridine and quinoline derivatives as CB₂ selective agonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 6505–6510.
- 67.** Stern, E.; Muccioli, G.; Millet, R.; Goossens, J. F.; Farce, A.; Chavatte, P.; Poupaert, J. H.; Lambert, D. M.; Depreux, P.; Hénichart, J. P. Novel 4-Oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxamide derivatives as new CB₂ cannabinoid receptors agonist: synthesis, pharmacological properties and molecular modeling. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 70–79.
- 68.** Pasquini, S.; Botta, L.; Semeraro, T.; Mugnaini, C.; Ligresti, A.; Palazzo, E.; Mainone, S.; di Marzo, V.; Corelli, F. Investigations on the 4-Quinolone-3-carboxylic Acid Motif. 2. Synthesis

and Structure-Activity Relationship of Potent and Selective Cannabinoid-2 Receptor Agonists Endowed with Analgesic Activity in Vivo. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 5075-5084.

69. Davies, W. L.; Grunert, R. R.; Haff, R. F.; McGahen, J. W.; Neumayer, E. M.; Paulshock, N.; Watts, J. C.; Wood, T. R.; Hermann, E. C.; Hoffman, C. E. Antiviral Activity of 1-Adamantanamine (Amantadine) *Science*, **1964**, *144*, 862-863.

70. Cochran, K. W.; Maassab, H. F. *Fed. Proc. Fed Amer. Soc. Exp. Biol.* **1964**, *23*, 387.

71. Lundahl, K.; Schut, J.; Schlatmann, J. L. M. A.; Paerels, G. B.; Peters, A. Synthesis and Antiviral Activities of Adamantane Spiro Compounds. 1. Adamantane and Analogous Spiro-3'-pyrrolidines. *J. Med. Chem.* **1972**, *15*, 129-132.

72. De Clercq, E. Antiviral agents active against influenza A viruses. *Nat. Rev. Drug Disc.* **2006**, *5*, 1015.

73. Zoidis, G.; Kolocouris, N.; Naesens, L.; De Clercq, E. Design and synthesis of 1,2-annulated adamantane piperidines with anti-influenza virus activity. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 1534-1541.

74. a) Sansom, M. S. P.; Kerr, I. D. Influenza virus M2 protein: a molecular modelling study of the ion channel *Protein Eng.* **1993**, *6*, 65-74. b) Hu, J.; Asbury, T.; Achuthan, S.; Li, C.; Bertram, R.; Quine, J. R.; Fu, R.; Cross, T. A. Backbone Structure of the Amantadine-Blocked Trans-Membrane Domain M2 Proton Channel from Influenza A Virus. *Biophys. J.* **2007**, *92*:4335-4343. c) Stouffer, A. L., Acharya, R.; Salom, D.; Levine, A. S.; Di Costanzo, L.; Soto, C. S.; Tereshko, V.; Nanda, V.; Stayrook, S.; DeGrado, W. F Structural basis for the function and inhibition of an influenza virus proton channel. *Nature* **2008**, *451*:596-599.

75. a) Subczynski, W. K.; Wojas, J.; Pezeshk, V.; Pezeshk, A. Partitioning and localization of spin-labeled amantadine in lipid bilayers: an EPR study. *J. Pharm. Sci.* **1998**, *87*, 1249-1254. b) Wang, J. F.; Schnell, J. R.; Chou, J. J. Amantadine partition and localization in phospholipids membrane: a solution NMR study. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2004**, *324*, 212-217. c) Schnell, J. R.; Chou, J. J. Structure and Mechanism of the M2 Proton Channel of Influenza A Virus. *Nature* **2008**, *451*, 591-596. d) Chew, C. F.; Guy, A.; Biggin, P. C. Distribution and dynamics of adamantanes in a lipid bilayer. *Biophys. J.* **2008**, *95*, 5627-5636.

- 76.** Landry, Y.; Gies, J.-P. Drugs and their molecular targets: an updated overview. *Fund. Clin. Pharm.* **2008**, *22*, 1-18.
- 77.** a) Morozov, I. S.; Ivanova, I. A.; Lukicheva, T. A. Actoprotector and adaptogen properties of adamantine derivatives. *Pharm. Chem. J.* **2001**, *35*, 235-240. b) Svensson, T. H. Dopamine release and direct dopamine receptor activation in the central nervous system by D-145, an amantadine derivative. *Eur. J. Pharmacol.* **1973**, *3*, 232-238.
- 78.** a) Lipton, S. A. Paradigm shift in neuroprotection by NMDA receptor blockade: Memantine and beyond. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2006, *5*, 160-170. b) Duque, D.; Camps, P.; Profire, L.; Montaner, S.; Vázquez, S.; Sureda, F.; Mallol, J.; López, M.; Naesens, L.; De Clercq, E.; Prathalingam, S.; Kelly, J. M. Synthesis and pharmacological evaluation of (2-oxadamant-1-yl)amines. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 3198-3206.
- 79.** Kelly, J. M.; Miles, M. A.; Skinner, A. C. The Anti-Influenza Virus Drug Rimantadine Has Trypanocidal Activity. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1999**, *43*, 985-987.
- 80.** a) Kelly, J. M.; Quack, G.; Miles, M. A. *In Vitro* and *In Vivo* Activities of Aminoadamantane and Aminoalkylcyclohexane Derivatives against *Trypanosoma brucei*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2001**, *45*, 1360-1366. b) Papanastasiou, I.; Tsoinias, A.; Kolocouris, N.; Prathalingam, S. R.; Kelly, J. M. Design, Synthesis, and Trypanocidal Activity of New Aminoadamantane Derivatives. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 1496-1500.
- 81.** Mammen, M.; Choi, S.-K.; Whitesides, G. M. *Angew. Chem., Int. Ed. Eng.* **1998**, *37*, 2755-2794. Choi, S.-K. Synthetic Multivalent Molecules: Concepts and Biomedical Applications John Wiley: Hoboken, **2004**.
- 82.** a) Maison, W.; Frangioni, J. V.; Pannier, N. Synthesis of Rigid Multivalent Scaffolds Based on Adamantane. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4567-4569. b) Nasr, K.; Pannier, N.; Frangioni, J. V.; Maison, W. Rigid Multivalent Scaffolds Based on Adamantane. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 1056-1060.
- 83.** Humblet, V.; Misra, P.; Bhushan, K. R.; Nasr, K.; Ko, Y.-S.; Tsukamoto, T.; Pannier, N.; Frangioni, J. V.; Maison, W. Multivalent Scaffolds for Affinity Maturation of Small Molecule Cell Surface Binders and Their Application to Prostate Tumor Targeting. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 544-550.

- 84.** Titz, A.; Patton, J.; Alker, A. M.; Porro, M.; Schwardt, O.; Hennig, M.; Francotte, E.; Magnani, J.; Ernst, B. Is adamantane a suitable substituent to pre-organize the acid orientation in E-selectin antagonists? *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 1046-1056.
- 85.** Fieser, L.; Nazer, M.; Archer, S.; Berberian, D. A.; Slighter, R. G. Naphthoquinone Antimalarials. XXX. 2-hydroxy-3-[ω -(1-adamantyl)alkyl]-1,4-naphthoquinone. *J. Med. Chem.* **1967**, *10*, 517-521.
- 86.** Fieser, L., Fieser, M. The Reduction Potentials of Various Naphthoquinones. *J. Am. Chem. Soc.* **1935**, *57*, 491- 494
- 87.** Lisgarten, J.; Coll, M.; Portugal, J.; Wrigth, C.; Aymami, J. The antimalarial and cytotoxic drug cryptolepine intercalates into DNA at cytosine-cytosine sites. *Nat. Struct. Biol.* **2002**, *9*, 57-60.
- 88.** Takasu, K.; Inoue, H.; Kim, H.; Suzuki, M.; Shishido, T.; Wataya, Y.; Ihara, M. Rhodacyanine Dyes as Antimalarials. 1. Preliminary Evaluation of Their Activity and Toxicity. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 995-998.
- 89.** Rosenthal, A.; Chen, X.; Liu, J.; West, D.; Hergenrother, P.; Shapiro, T.; Posner, G. H. Malaria-Infected Mice Are Cured by a Single Oral Dose of New Dimeric Trioxane Sulfones Which Are Also Selectively and Powerfully Cytotoxic to Cancer Cells. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 1198–1203.
- 90.** Fieser, L.F.; Brown, R. H. Synthesis of naphthoquinone for studies of the inhibition of enzyme systems. *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, *71*, 3609-3614.
- 91.** Fieser, L. F. Naphthoquinone Antimalarials. III. Diene synthesis of 1,4-naphthoquinones. *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, *70*, 3165-3174.
- 92.** Dameron, A.A.; Charles, L. F.; Weiss, P. S. Structures and Displacement of 1-Adamantanethiol Self-Assembled Monolayers on Au{111}. *J. Am. Chem.Soc.* **2005**, *127*, 8697-8704.
- 93.** M. Araya, "Ésteres derivados de la 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (*Lawsonia*) y su aplicación como agentes de transferencia de grupos acilo" Tesis de Licenciatura, Universidad de Costa Rica, **2007**.

- 94.** Lamoureux, G.; Perez, A.; Araya, M.; Agüero, C. Reactivity and structure of derivatives of 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone (lawsone). *J. Phys. Org. Chem.* **2008**, *21*, 1022-1028.
- 95.** Kobayashi, S.; Nagayama, S.; Busujima, T. Lewis Acid Catalysts Stable in Water. Correlation between Catalytic Activity in Water and Hydrolysis Constants Exchange Rate Constants for Substitution of Inner-Sphere Water Ligands. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8287-8288.
- 96.** a) Dijkstra, G.; Kruizinga, W.H.; Kellog, R. M. An Assessment of the Causes of the "Cesium Effect". *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 4230-4234. b) Galli, C. The Cesium Effect. *Org. Prep. Proced. Int.* **1992**, *24*, 287-299.
- 97.** Ho, T. L. Chemoselectivity of Organometallic Reactions. A HSAB Appraisal. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 1-86.
- 98.** Alfonsi, K.; Colberg, J.; Dunn, P.D.; Feving, T.; Jennings, S.; Johnson, T. A.; Kleine, P.; Knight, C.; Nagy, M. A.; Perry, D.A.; Stefaniak, M. Green Chemistry Tools to Influence a Medicinal Chemistry and Research Chemistry Based Organization. *Green Chem.* **2008**, *10*, 31-36.
- 99.** Kobayashi, S.; Sugira, M.; Kitagawa, H.; Lam, W. Rare-Earth Metal Triflates in Organic Synthesis. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 2227-2302.
- 100.** a) Engler, E. M.; Farcasiu, M.; Sevin, A.; Cense, J. M.; Schleyer, P. On the Mechanism of Adamantane Rearrangements. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 5769-5771. b) Janjatovik, J.; Skare, D.; Majerski, Z. Sulfuric Acid Catalyzed Rearrangements of 1- and 3-Homoadamantanols. *J. Org. Chem.* **1974**, *38*, 651-654.
- 101.** a) Hall, H. K.; Padias, A. B.; Williams, P.A.; Gosau, J. M.; Boone, H. W.; Park, D. K. Novel Polyaromatic Quinone Imines. *Macromolecules*, **1995**, *28*, 1-8. b) Stills, B. L.; Lauzon, C. B.; Otsuki, T. Chemoselective Reaction of 2-bromo-3-methoxy-1,4-naphthoquinone. *Chem. Lett.* **2002**, 306-307.
- 102.** Sutherland, J. Reaction of 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-8-ene with methyl 3,5-dinitrobenzoate and 1,3,5-trinitrobenzene. *Chem. Commun.* **1997**, 325.
- 103.** Kondo, Y.; Inamoto, K.; Uchiyama, M.; Sakamoto, T. Palladium Catalyzed Arylation of Malonate Accompanying *in situ* Dealkoxycarbonylation. *Chem. Commun.* **2001**, 2704-2705.

- 104.** Olah, G.; Farooq, O.; Krishnamurthy, V.; Prakash, G.; Laalilb, K. Superacid-Catalyzed Alkylation of Adamantane with Olefins. *J. Am. Chem. Soc.* 1985, *107*, 7541-7545.
- 105.** Olah, G.; Liang, G.; Mateescu, G. Stable Carbocations. CLXXII. Adamantyl Cations. *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 3750-3754.
- 106.** Schleyer, P.; Lam, L. Raber, D.; Fry, J. L.; McKervey, M. A.; Alford, J. R.; Cuddy, B. D.; Keizer, V. G.; Geluk, H. W.; Schlatmann, J. L. Stereochemical Inhibition of Intramolecular 1,2 Shifts. The intermolecular Nature of Hydride Shifts in the Adamantane Series. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 5246-5247.
- 107.** Pavia, D. L.; Lampman, G. M.; Kriz, G. S. *Introduction to Spectroscopy. A guide for sutudents of Organic Chemistry*, 3rd ed.; Harcourt College: Orlado, Fl., **2001**.
- 108.** Kayashima, T.; Mori, M.; Yoshida, H.; Mizushina, Y.; Matsubara, K. 1,4-naphthoquinone is a potent inhibitor of human cancer cell growth and angiogenesis. *Cancer Letters* **2009**, *278*, 34-40.
- 109.** Martín, B.; Solórzano, P.; García-Sánchez, N.; Nogal-Ruiz, J. J.; Pérez, A. L.; Lamoureux, G.; Sánchez, A.; Lakey, J.; Agüero, C.; Artavia, G.; Gómez-Barrio, A.; Martínez-Fernández, A. R.; San Feliciano, A. Actividad Antimalárica de 2-alcoxinaftoquinonas *IX Congreso de Sociedad Española en Medicina Tropical y Salud (SEM-TSI)*, **2008**.
- 110.** Martínez, J. M.; Ramírez, M. J.; Mayas, M. D.; García, M. J.; Ramírez, M. Utility of the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) assay to measure mitochondrial activity in K⁺ and ATP-stimulated rodent cortex synaptosomes. *Neurosci. Res. Commun.* **2000**, *27*, 103-107.
- 111.** Mosmman, T.; Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Meth.* **1983**, *65*, 55-63.
- 112.** Molinari, B. L.; Tasat, D. R.; Palmieri, M. A.; Cabrini, R. L. Kinetics of MTT-formazan exocytosis in phagocytic and non-phagocytic cells *Micron*, **2005**, *36*, 177-183.
- 113.** Weyermann, J.; Lochmann, D.; Zimmer, A. A. Practical note on the use of cytotoxicity assays. *Int. J. Pharm.* **2005**, *288*, 369-376.

- 114.** Ulukaya, E.; Colakogullari, M., Wood, E. J. Interference by anticancer chemotherapeutic agents in the MTT- tumor chemosensitivity assay. *Chemotherapy* **2004**, *50*, 43-50.
- 115.** Pagliacci, M. C.; Spinozzi, F.; Migliorati, G.; Fumi, G.; Smacchia, M.; Grignani, F.; Riccardi, C.; Nicoletti, I. Genistein inhibits tumor-cell growth *in vitro* but enhances mitochondrial reduction of tetrazolium salts- a further pitfall in the use of the MTT assay for evaluating cell-growth and survival. *Eur. J. Cancer* **1993**, *29A*, 1573-1577.
- 116.** Ulukaya, E.; Colakogullari, M.; Wood, E. J. Interference by Anti-Cancer Chemotherapeutic Agents in the MTT-Tumor Chemosensitivity Assay. *Chemother.* **2004**, *50*, 43-50.
- 117.** Ahmad, S.; Ahmad, A.; Schneider, K. B.; White, C. W. Cholesterol interferes with the MTT assay in human epithelial-like (A549) and endothelial (HLMVE and HCAE) cells. *Int. J. Toxicol.* **2006**, *25*, 17-23.
- 118.** Ulukaya, E.; Ozdikicioglu, F.; Yilmaztepe-Oral, A.; Demirci, M. The MTT assay yields a relatively lower result of growth inhibition than the ATP assay depending on the chemotherapeutic drugs tested. *Toxicology in vitro* **2008**, *22*, 232-239.
- 119.** Talorete, T.; Bouaziz, M.; Sayadi, S.; Isoda, H. MTT reduction by flavonoids in the absence of cells: influence of medium type and serum in *Animal Cell Technology: Basic & Applied Aspects*, Springer Science: New York, **2009**, *15*, 317-324.
- 120.** Plumb, J. A. Cell Sensitivity Assays: The MTT Assay in *Cancer Cell Culture Methods and Protocols*. Humana Press: New Jersey, **2004**, 165-169.
- 121.** Bolton, J.; Trush, M. A.; Penning, T. M.; Dryhurst, G.; Monks, T. Role of Quinones in Toxicology. *Chem. Res. Toxicol.* **2000**, *13*, 135-160.
- 122.** Vichai, V.; Kirtikara, K. Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. *Nat. Protocol.* **2006**, *1*, 1112-1116.
- 123.** Papazisis, K. T.; Geromichalos, G. D.; Dimitriadis, K. A.; Kortsaris, A. H. Optimization of the sulforhodamine B colorimetric assay. *J. Immunol. Meth.* **1997**, *208*, 151-158.

Anexos

Anexo I. Espectros Infrarrojo, ultravioleta, ^1H -RMN y ^{13}C -RMN de cada compuesto sintetizado.

Anexo II. Ciclovoltamperogramas de varios de los compuestos sintetizados.

Anexo III. Curvas de citotoxicidad de varios algunos de los derivados de lawsona formados, según ensayo de MTT.

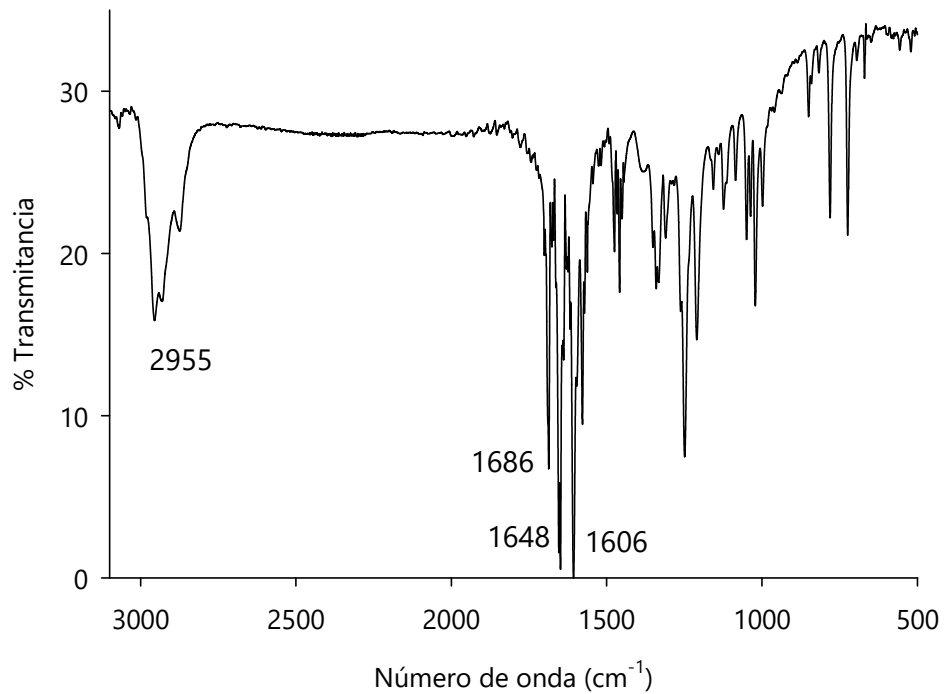


Figura 106. Espectro Infrarrojo del 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-naftoquinona (KBr).

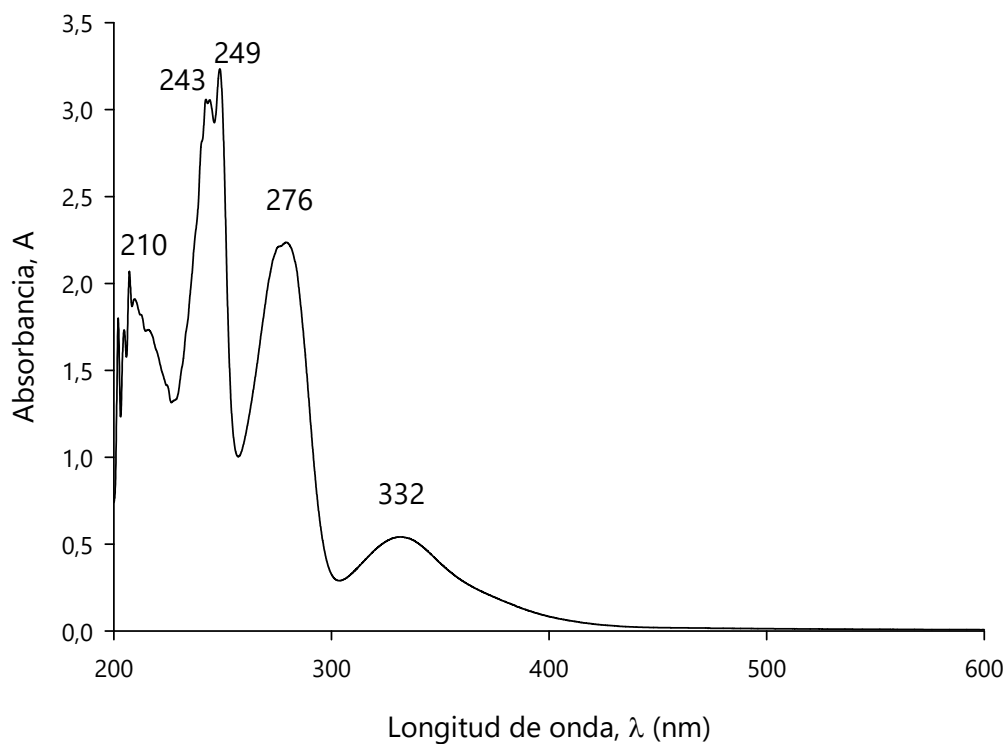


Figura 107. Espectro Ultravioleta del 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-naftoquinona en etanol.

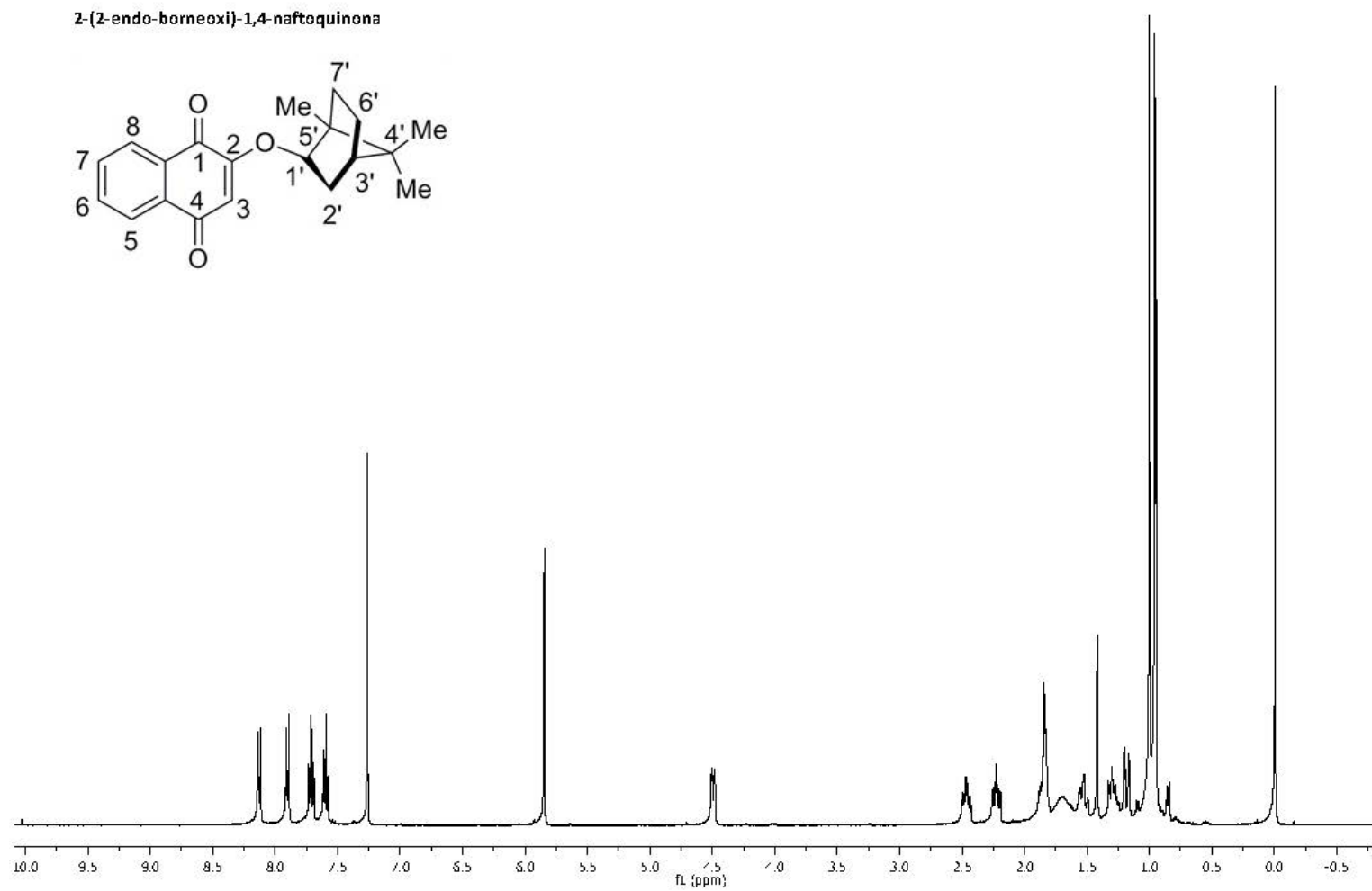
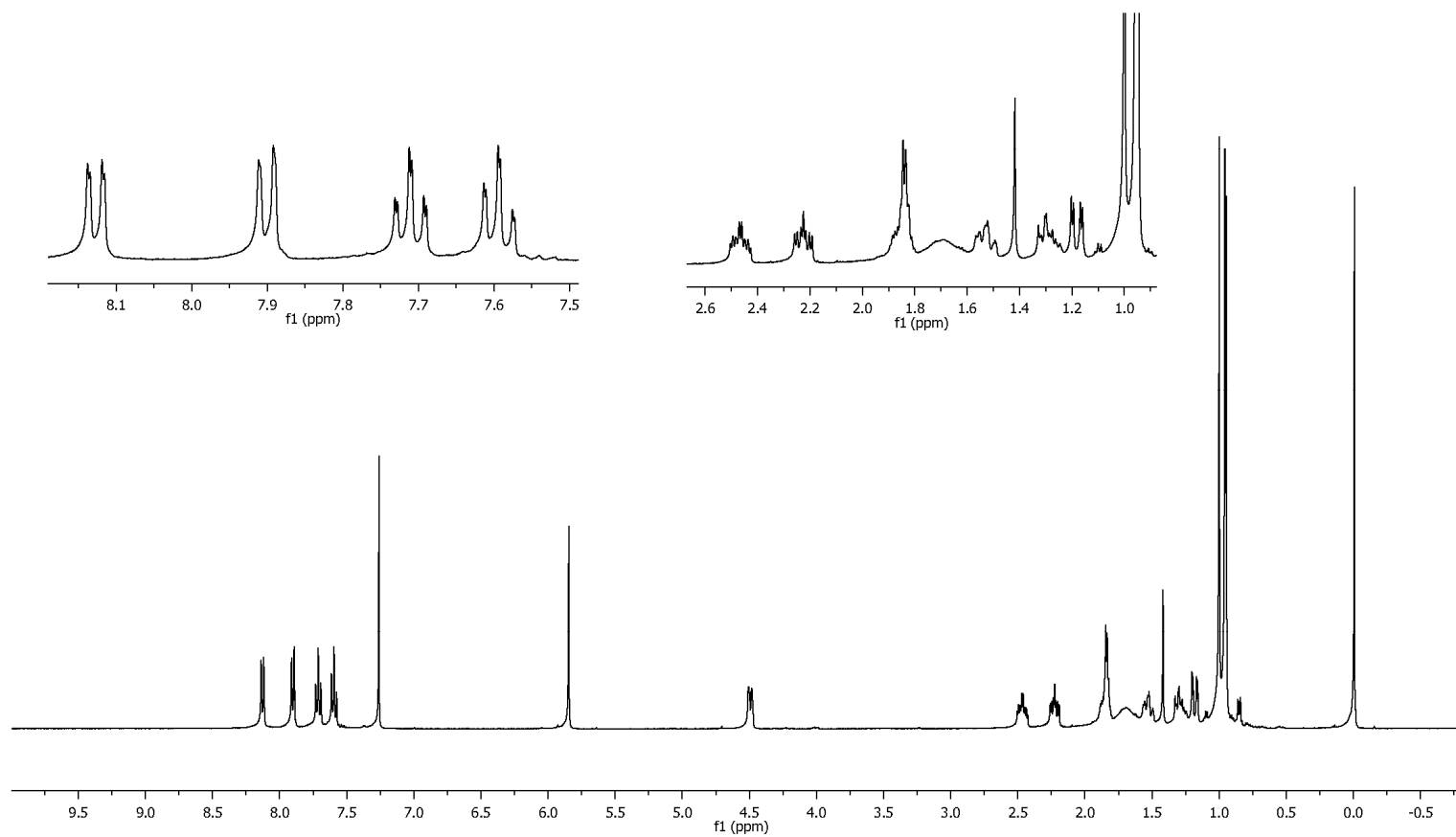


Figura 108. Espectro ^1H -RMN del 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-naftoquinona.

2-(2-endo-borneoxi)-1,4-naftoquinona

Figura 109. Ampliación del espectro ^1H -RMN del 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-naftoquinona.

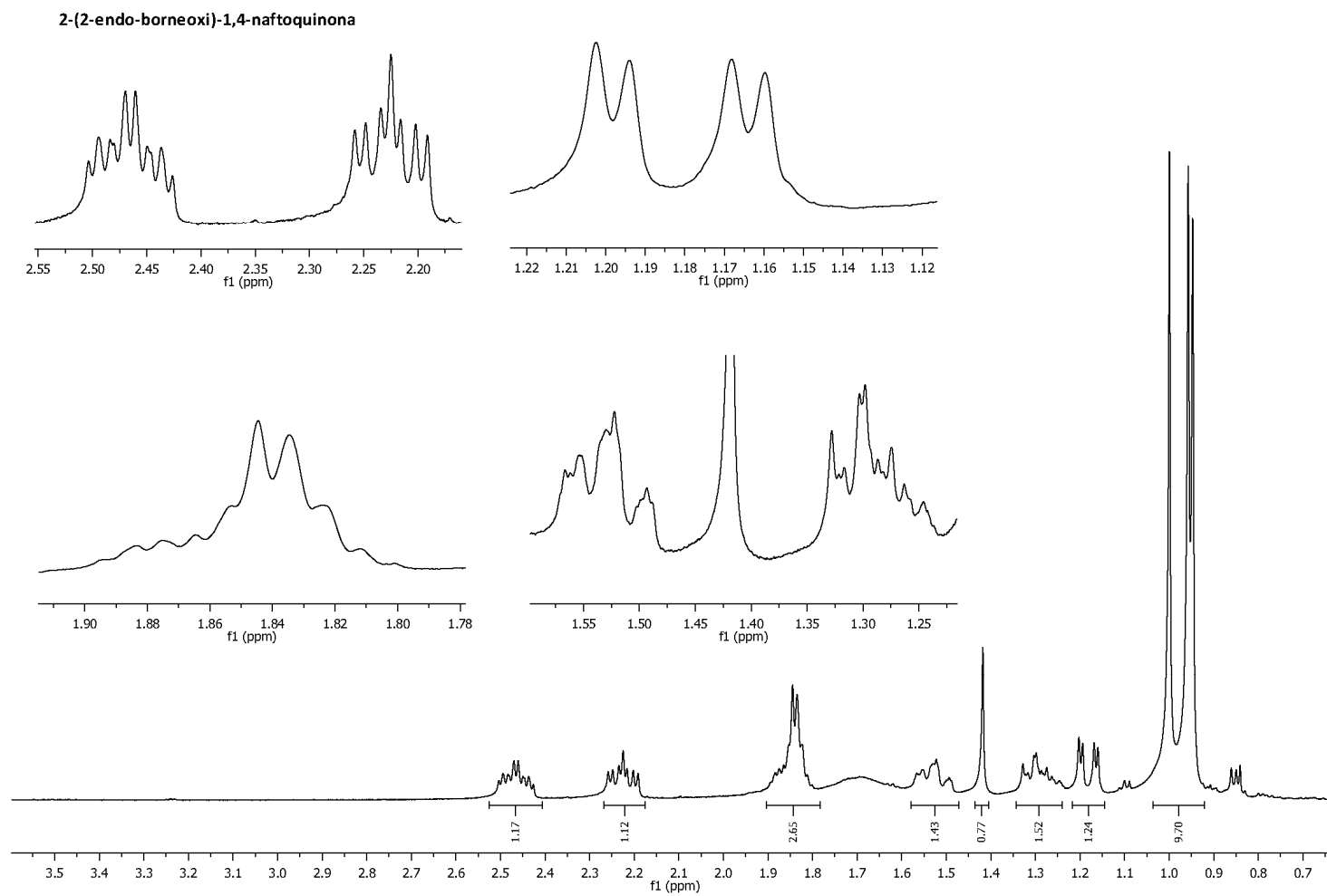
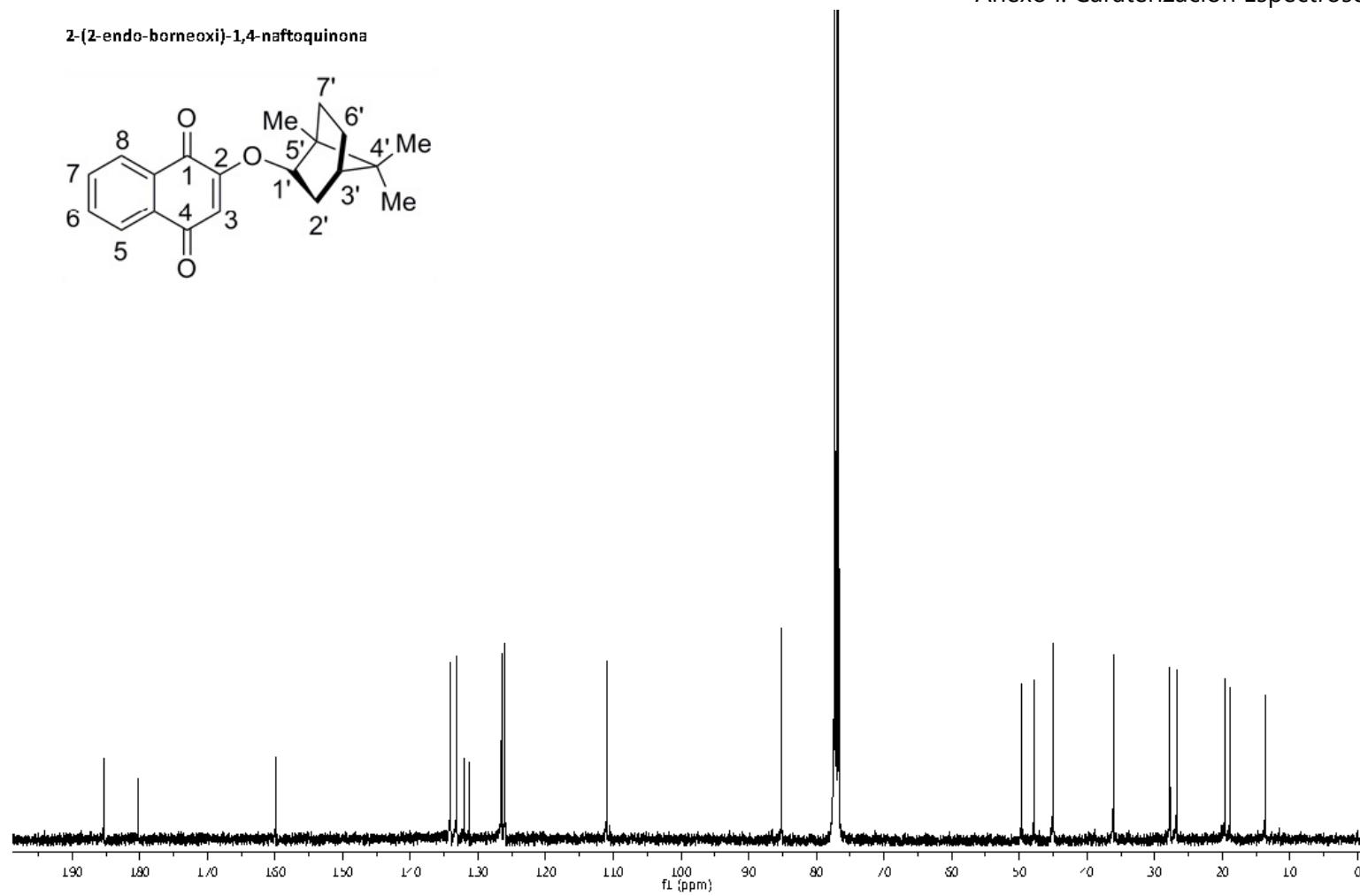


Figura 110. Ampliación del espectro $^1\text{H-RMN}$ del 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-naftoquinona en la región de los protones del grupo bornil.

Figura 111. Espectro ^{13}C -RMN del 2-(2-endo-borneoxi)-1,4-naftoquinona.

Anexo I. Caraterización Espectroscópica

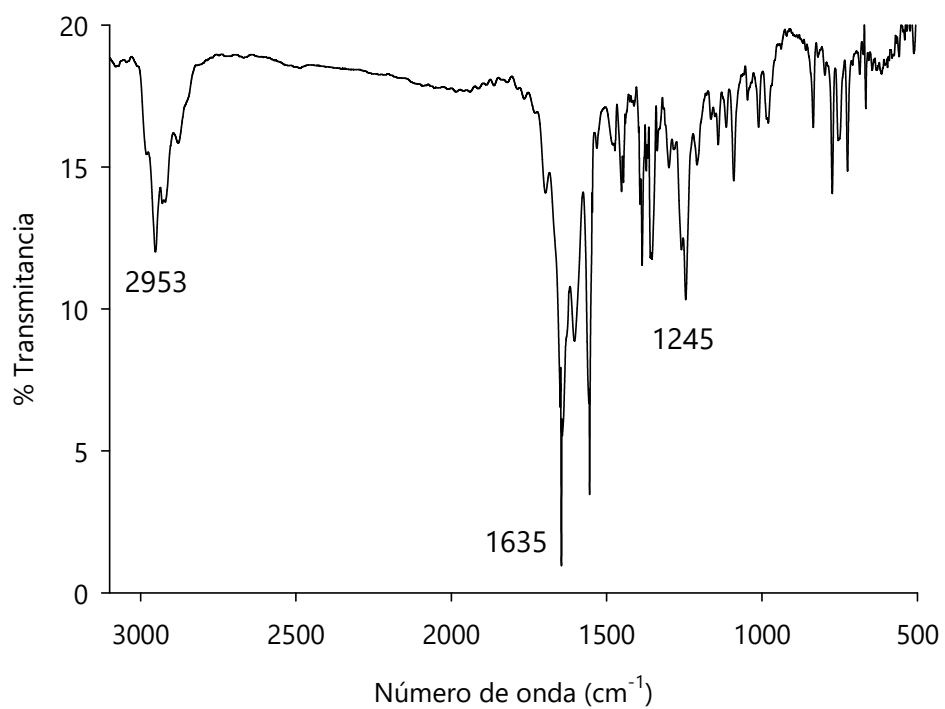


Figura 112. Espectro Infrarrojo del 4-(2-endo-borneoxi)-1,2-naftoquinona (KBr).

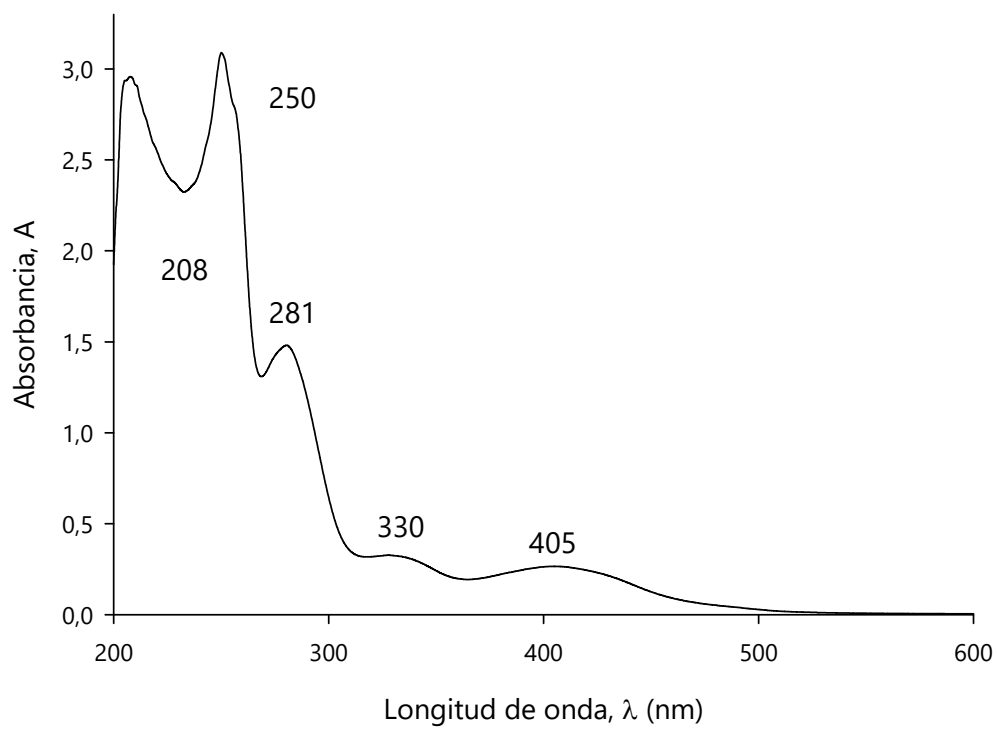
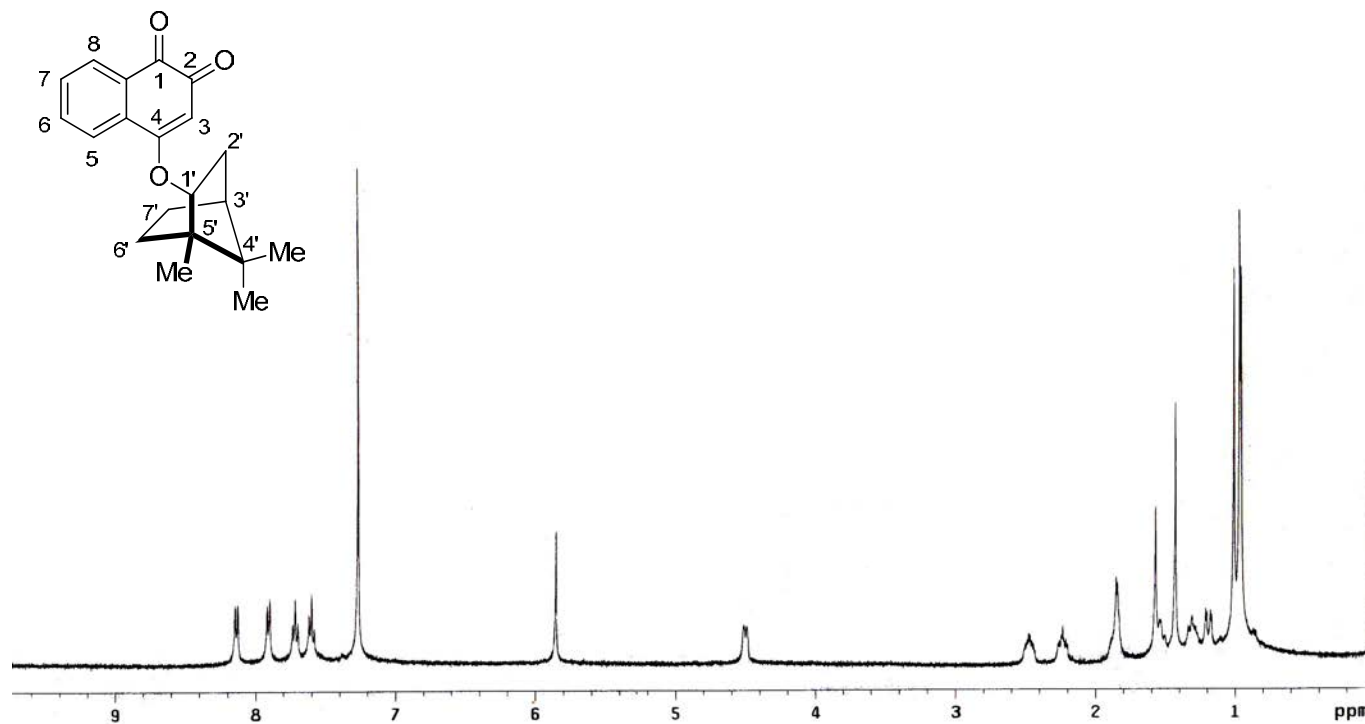
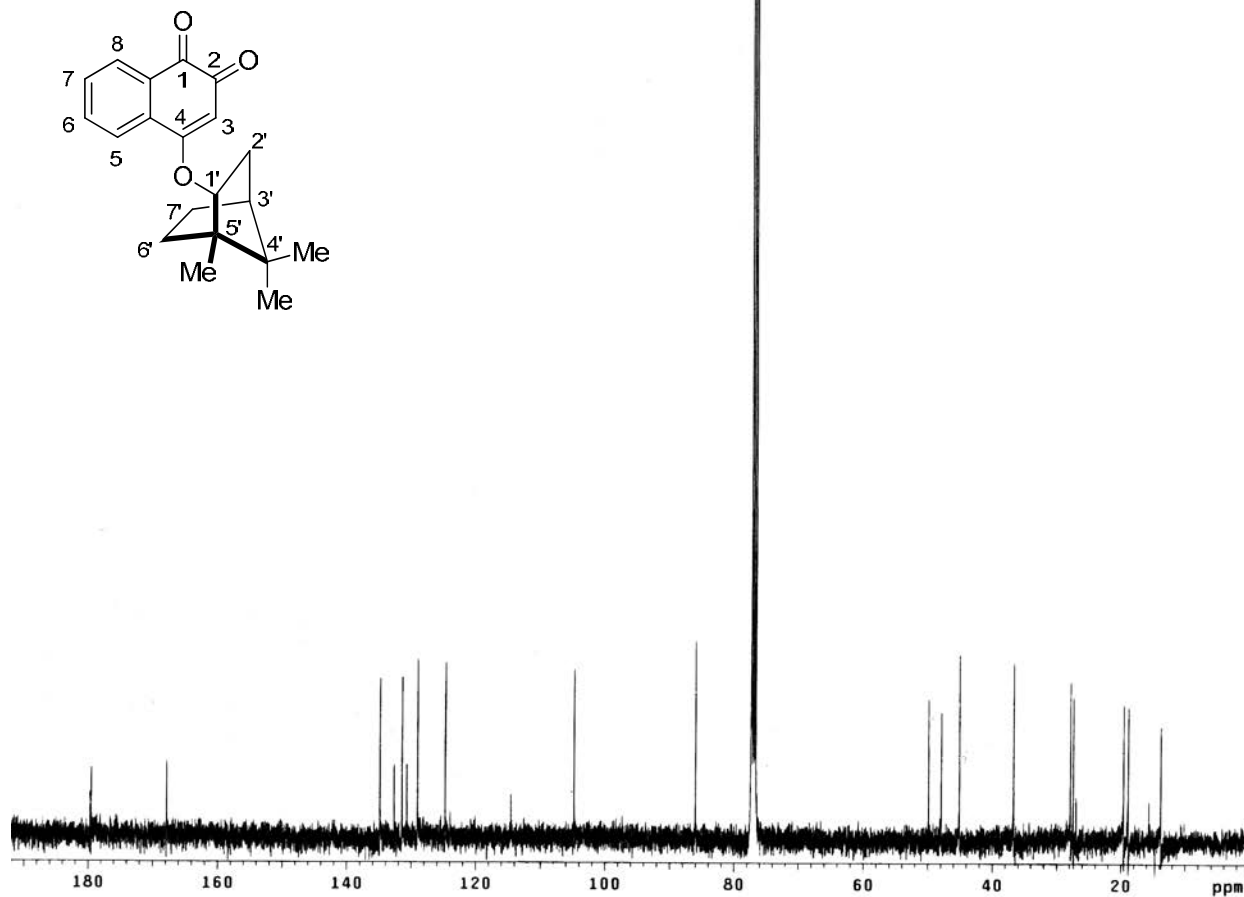


Figura 113. Espectro Ultravioleta del 4-(2-endo-borneoxi)-1,2-naftoquinona en etanol.

4-(2-endo-borneoxi)-1,2-naftoquinonaFigura 114. Espectro ¹H-RMN del 4-(2-endo-borneoxi)-1,2-naftoquinona.

4-(2-endo-borneoxi)-1,2-naftoquinonaFigura 115. Espectro ^{13}C -RMN del 4-(2-endo-borneoxi)-1,2-naftoquinona.

Anexo I. Caraterización Espectroscópica

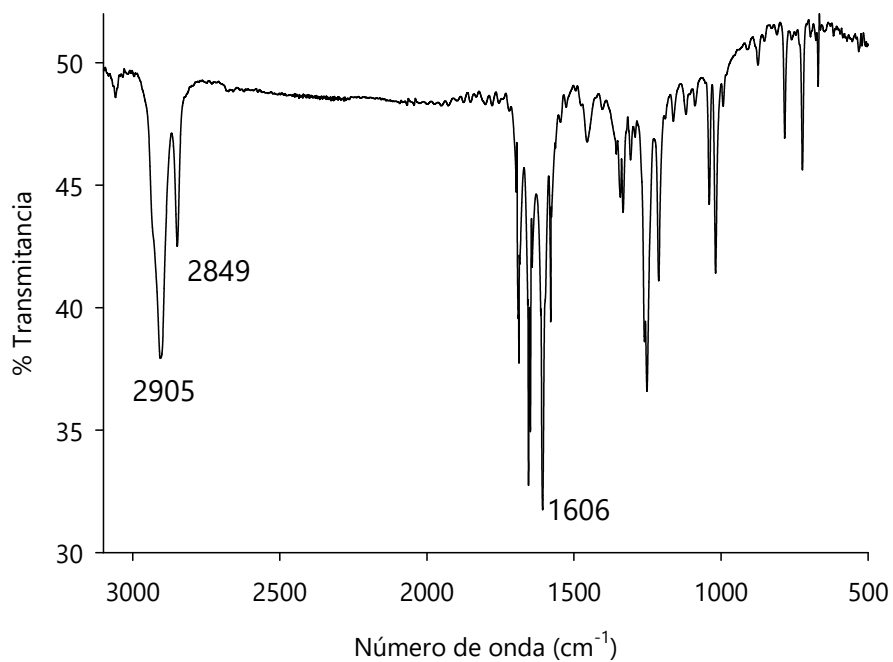


Figura 116. Espectro Infrarrojo del 2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-naftoquinona (KBr).

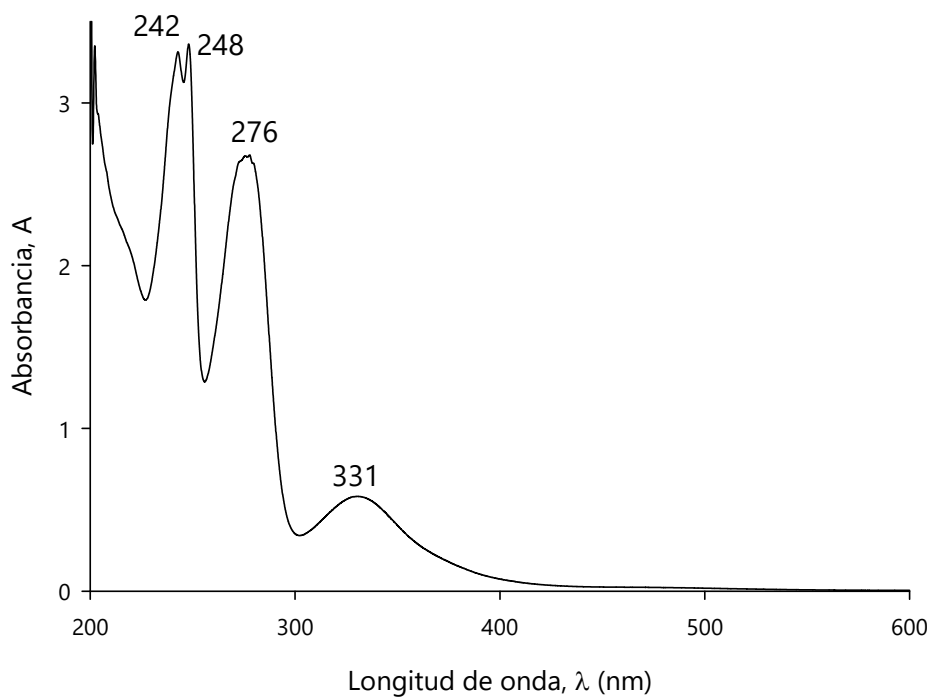
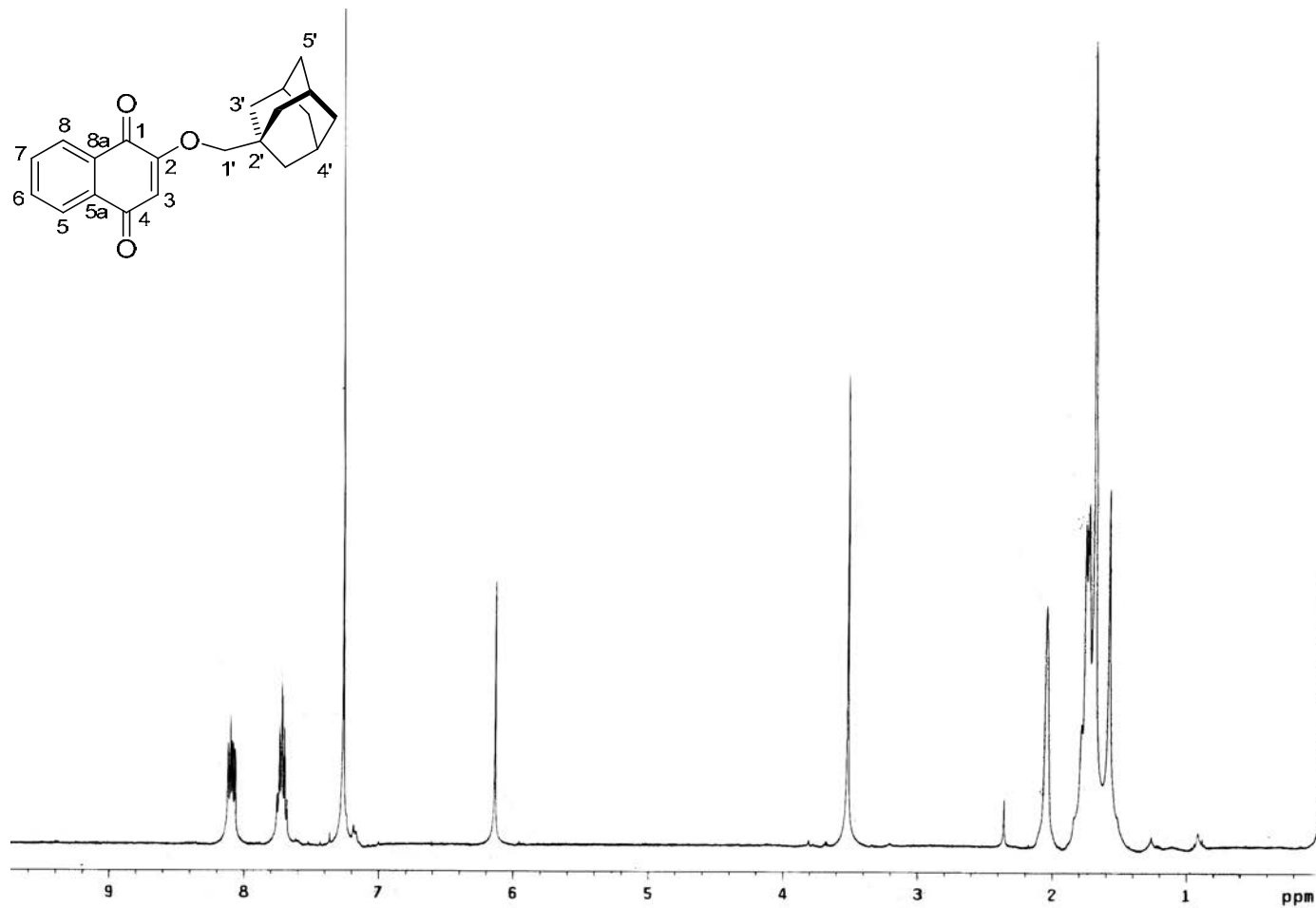
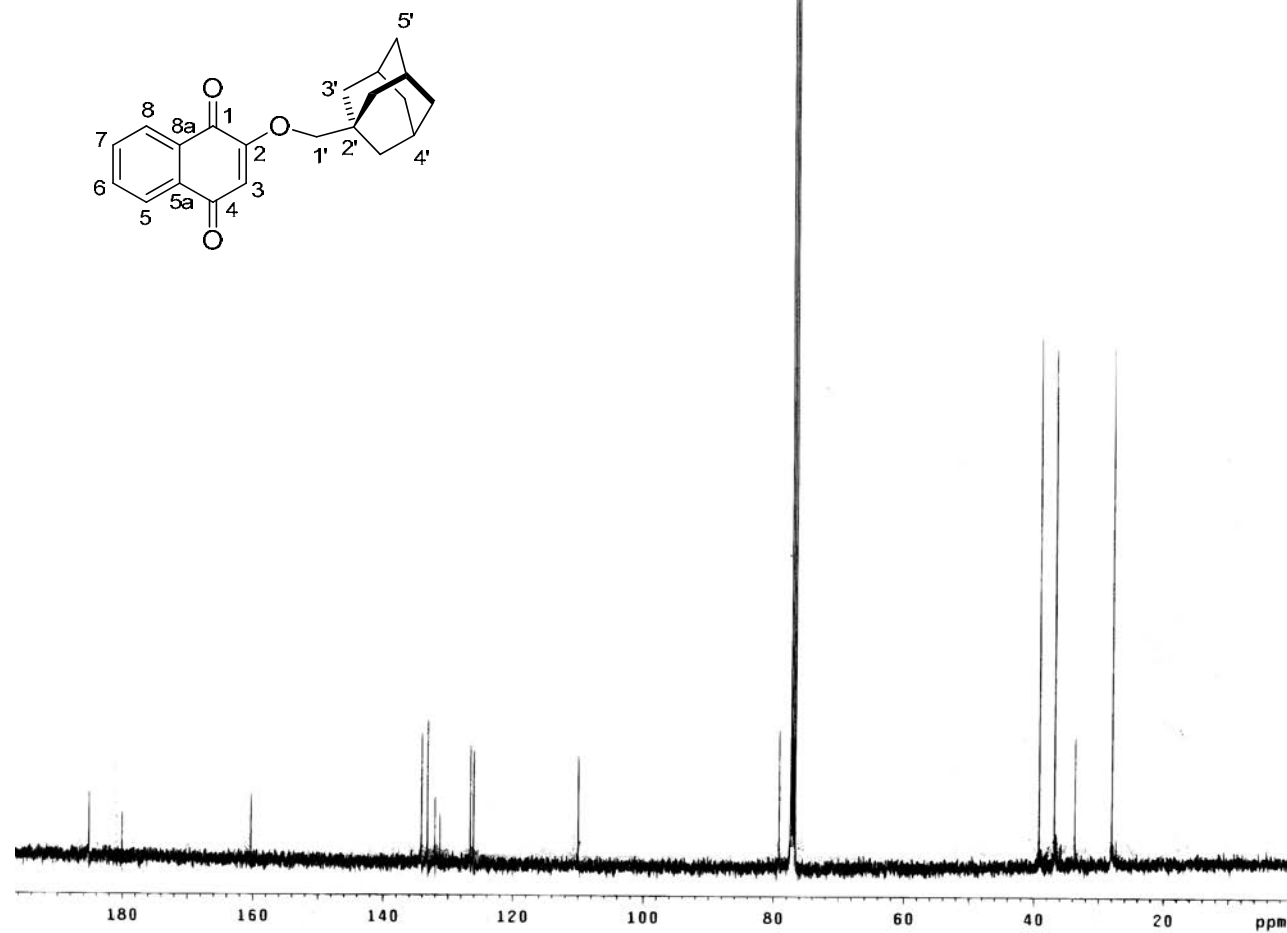


Figura 117. Espectro Ultravioleta del 2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-naftoquinona en etanol.

2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-naftoquinonaFigura 118. Espectro ¹H-RMN del 2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-naftoquinona.

2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-naftoquinonaFigura 119. Espectro ^{13}C -RMN del 2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-naftoquinona.

Anexo I. Caraterización Espectroscópica

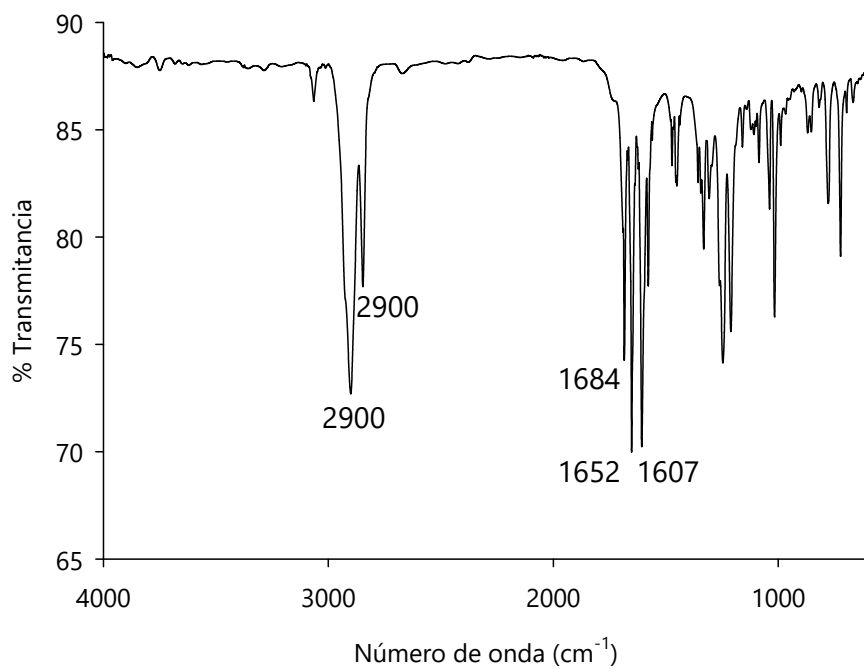


Figura 120. Espectro Infrarrojo del 2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-naftoquinona (film).

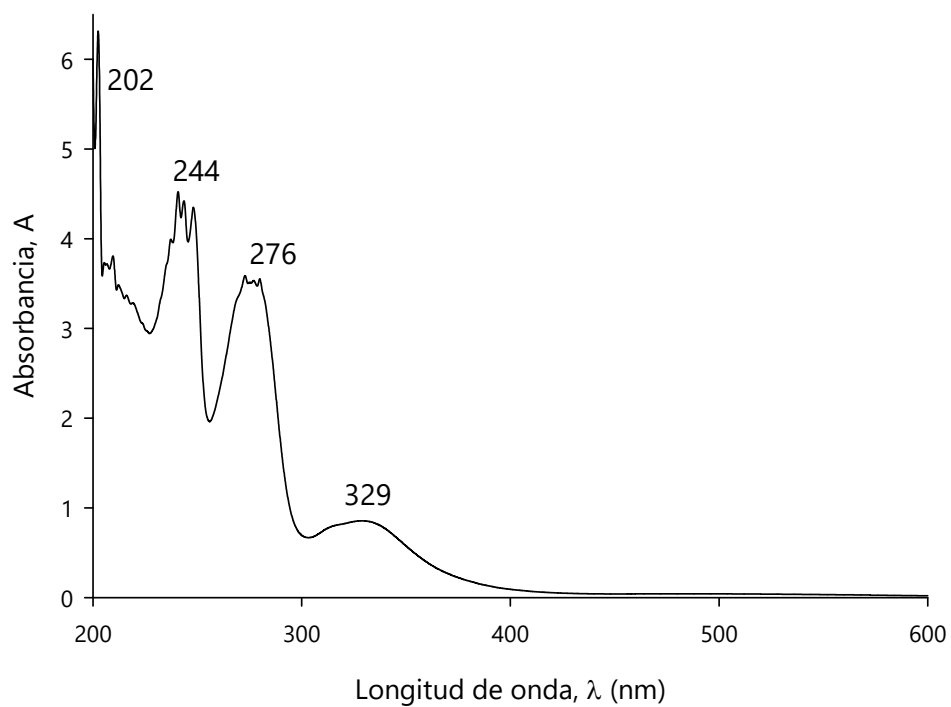
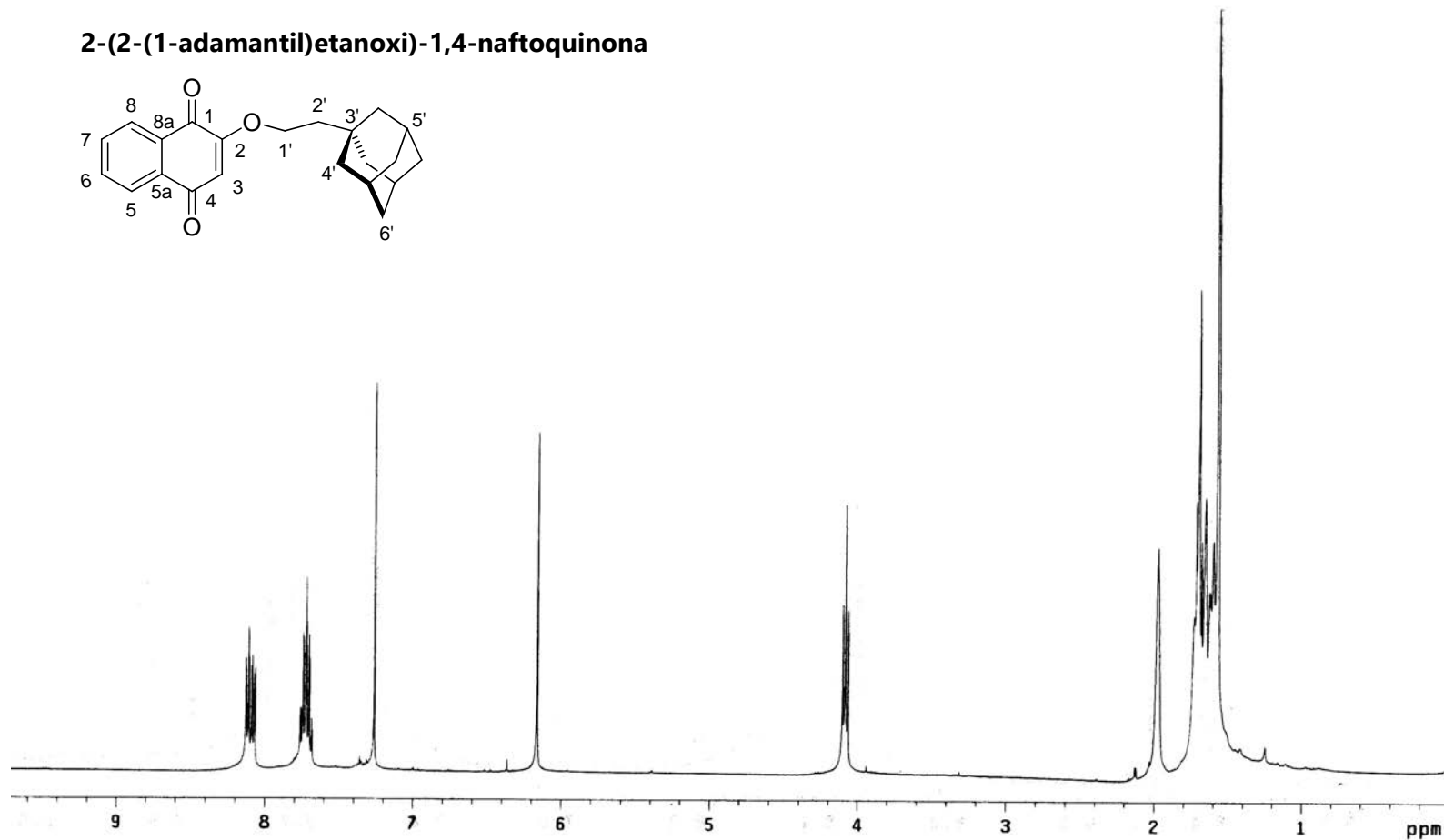
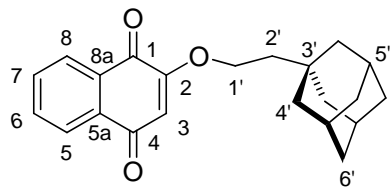
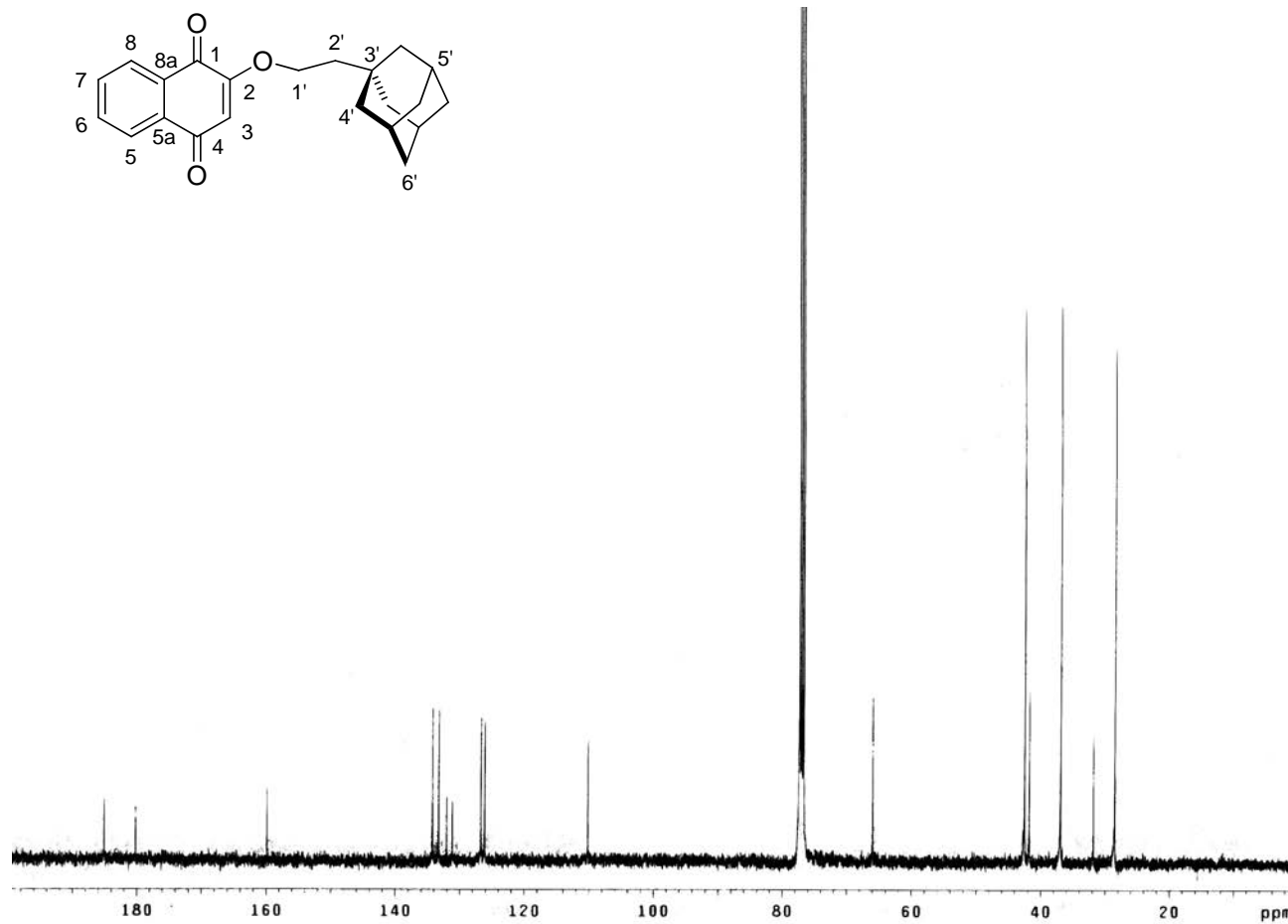


Figura 121. Espectro Ultravioleta del 2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-naftoquinona en etanol.

2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-naftoquinonaFigura 122. Espectro ¹H-RMN del 2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-naftoquinona.

2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-naftoquinonaFigura 123. Espectro ¹³C-RMN del 2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-naftoquinona.

Anexo I. Caraterización Espectroscópica

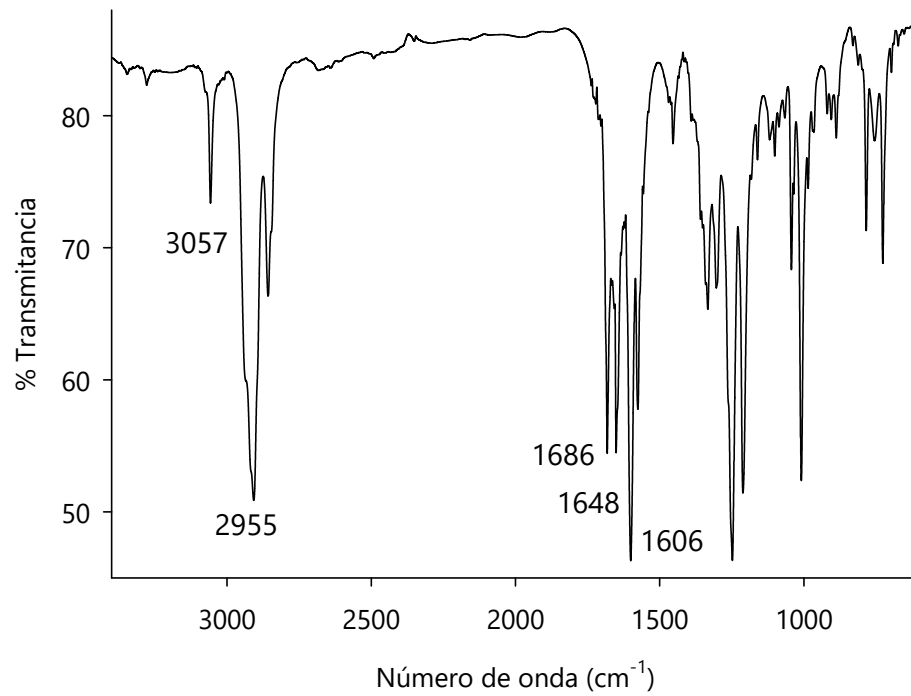


Figura 124. Espectro Infrarrojo del 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona (film).

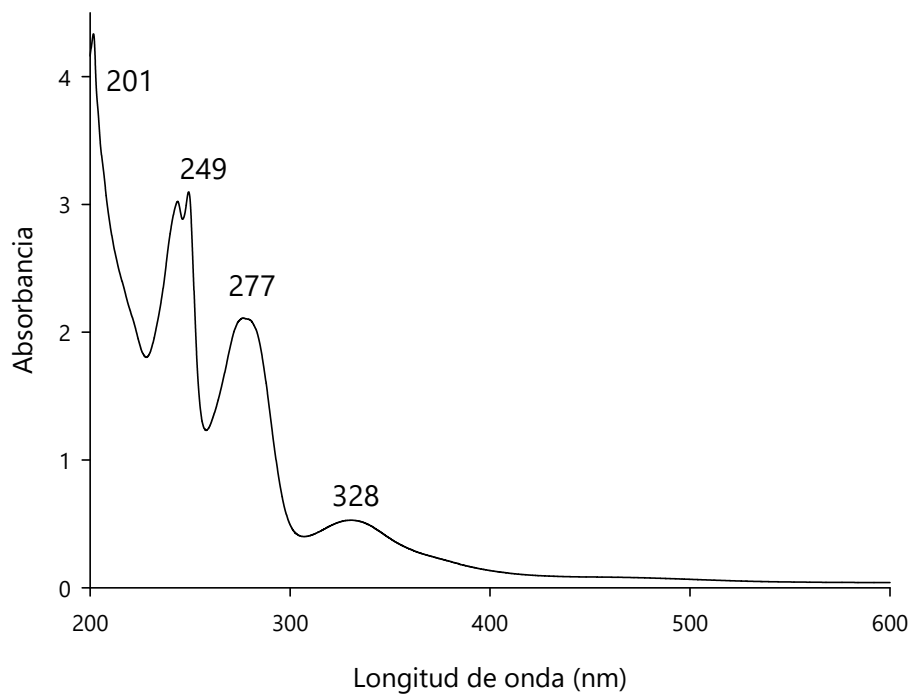
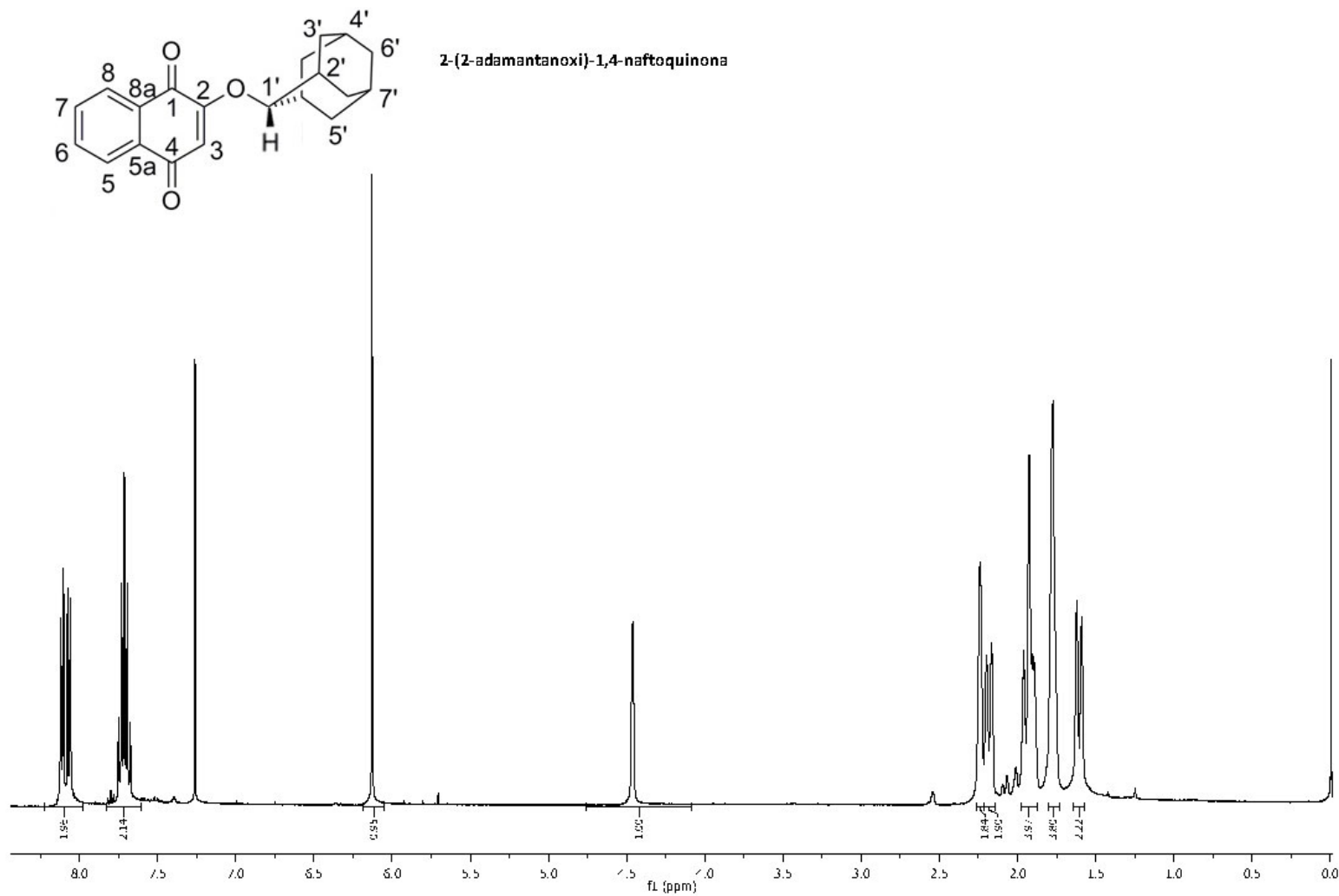


Figura 125. Espectro Ultravioleta del 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona en etanol.

Figura 126. Espectro ^1H -RMN del 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona.

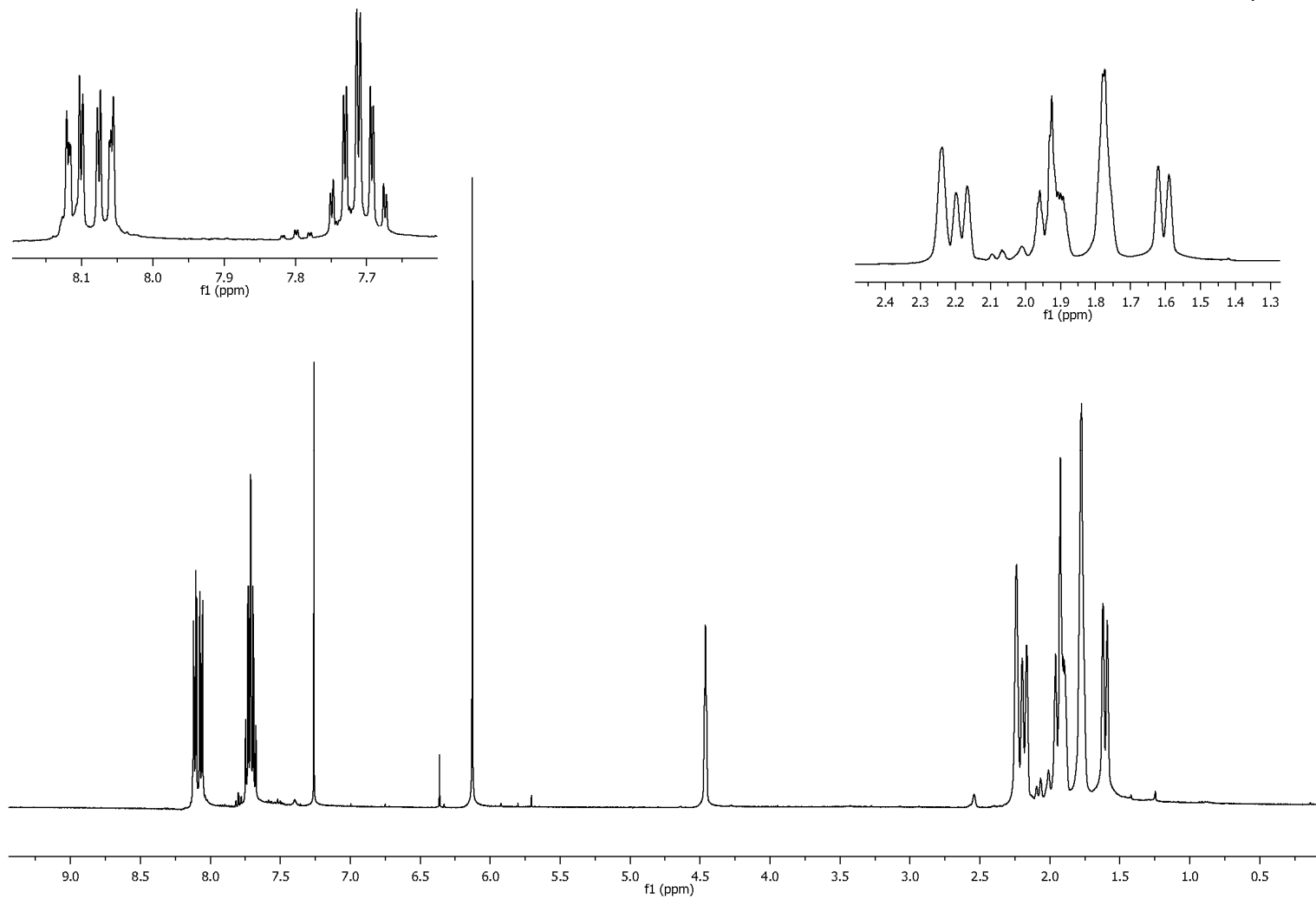
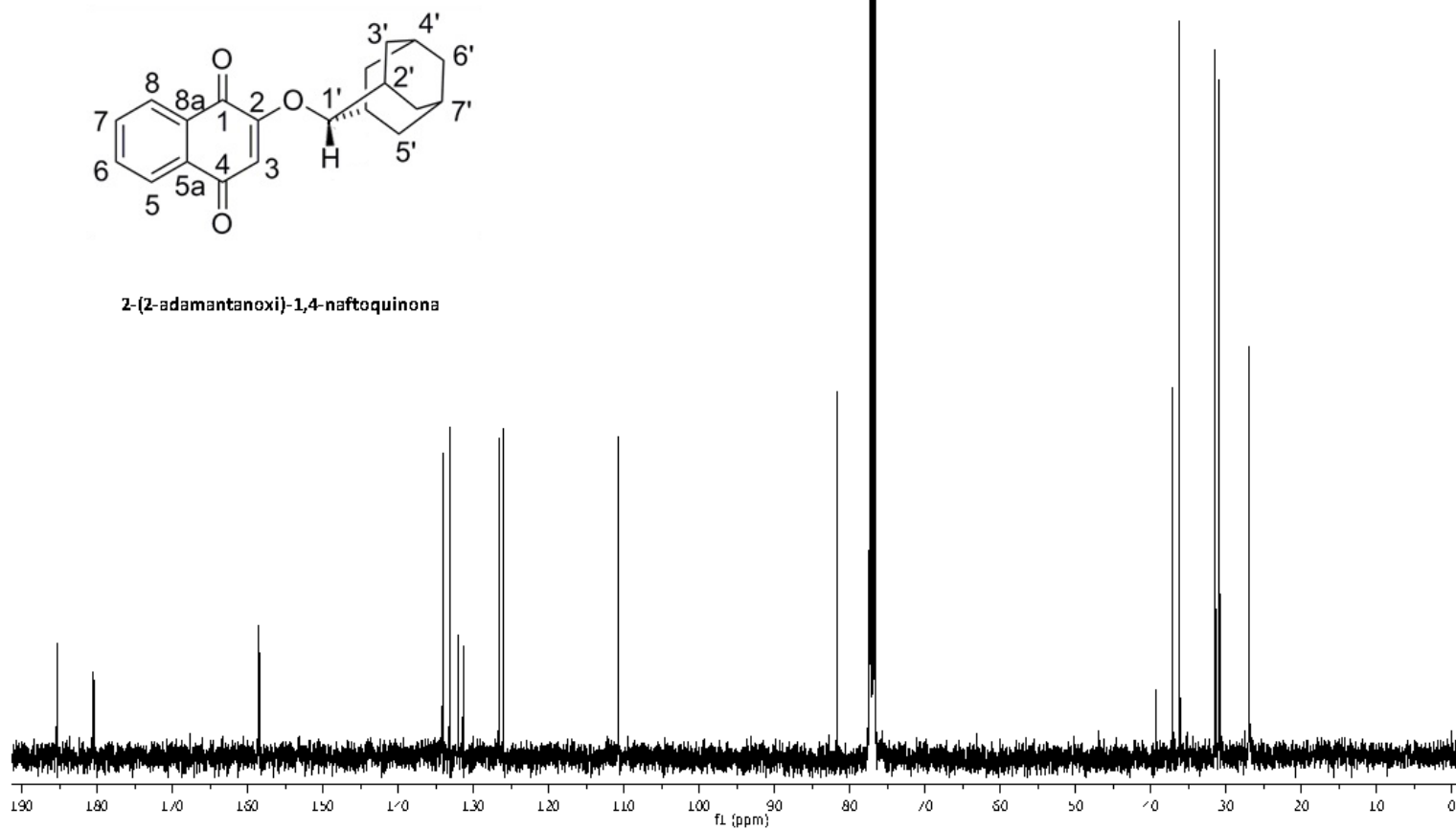


Figura 127. Ampliación del espectro $^1\text{H-NMR}$ del 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona.

Figura 128. Espectro ^{13}C -RMN del 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona.

Anexo I. Caraterización Espectroscópica

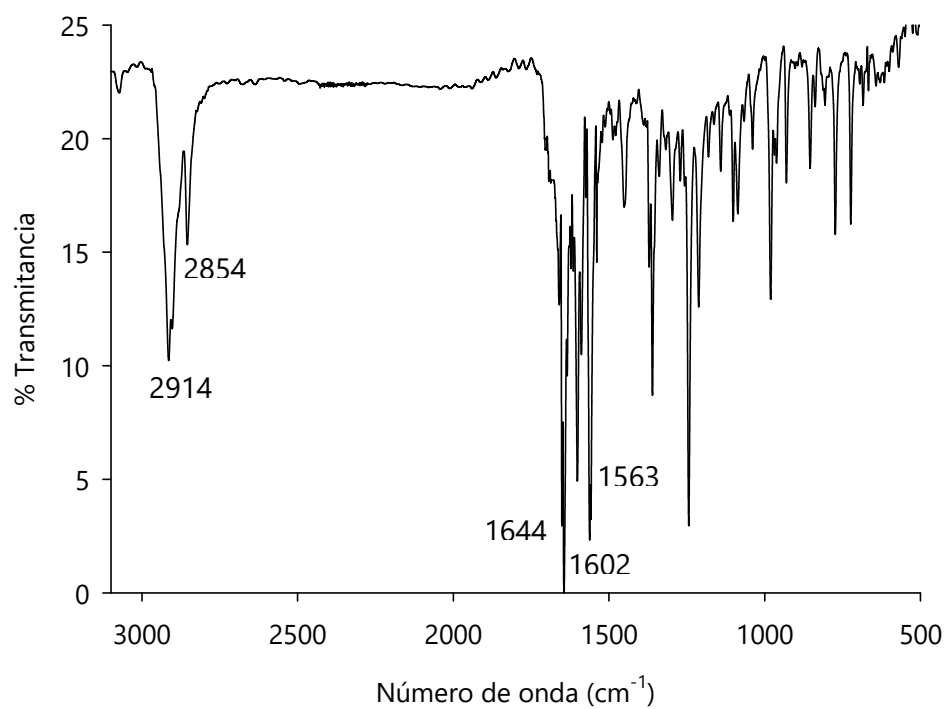


Figura 129. Espectro Infrarrojo del 4-(2-adamantanoxi)-1,2-naftoquinona (KBr).

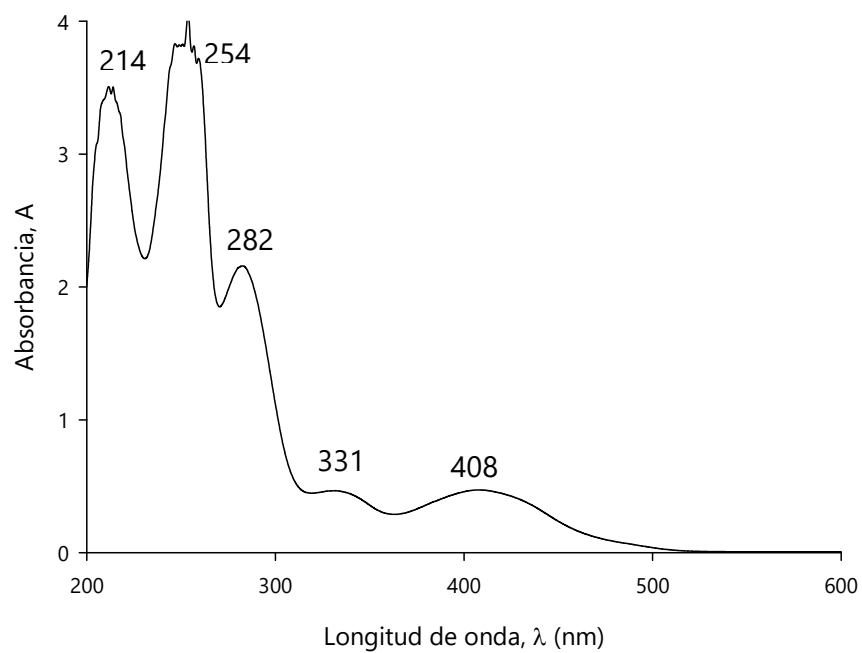
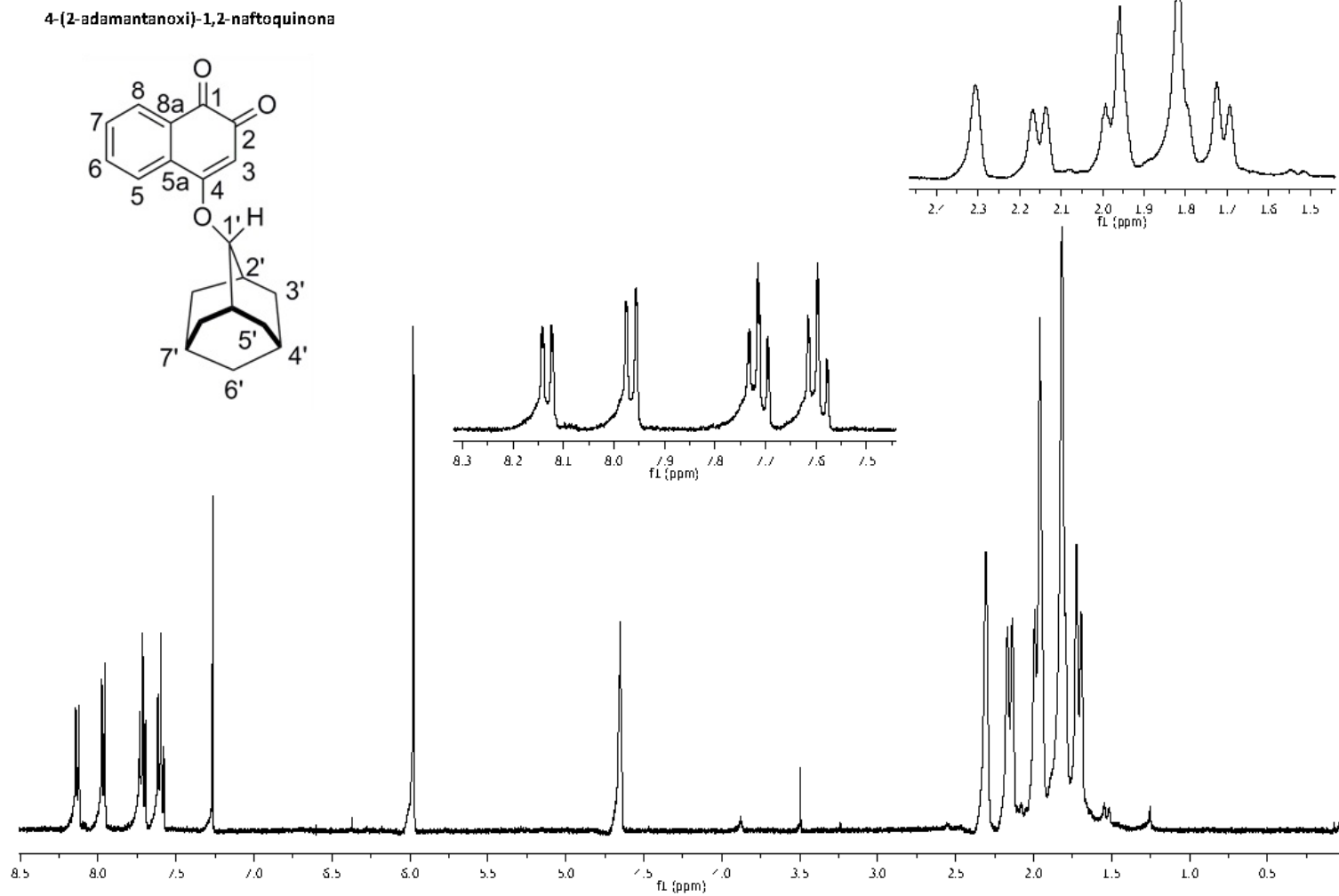
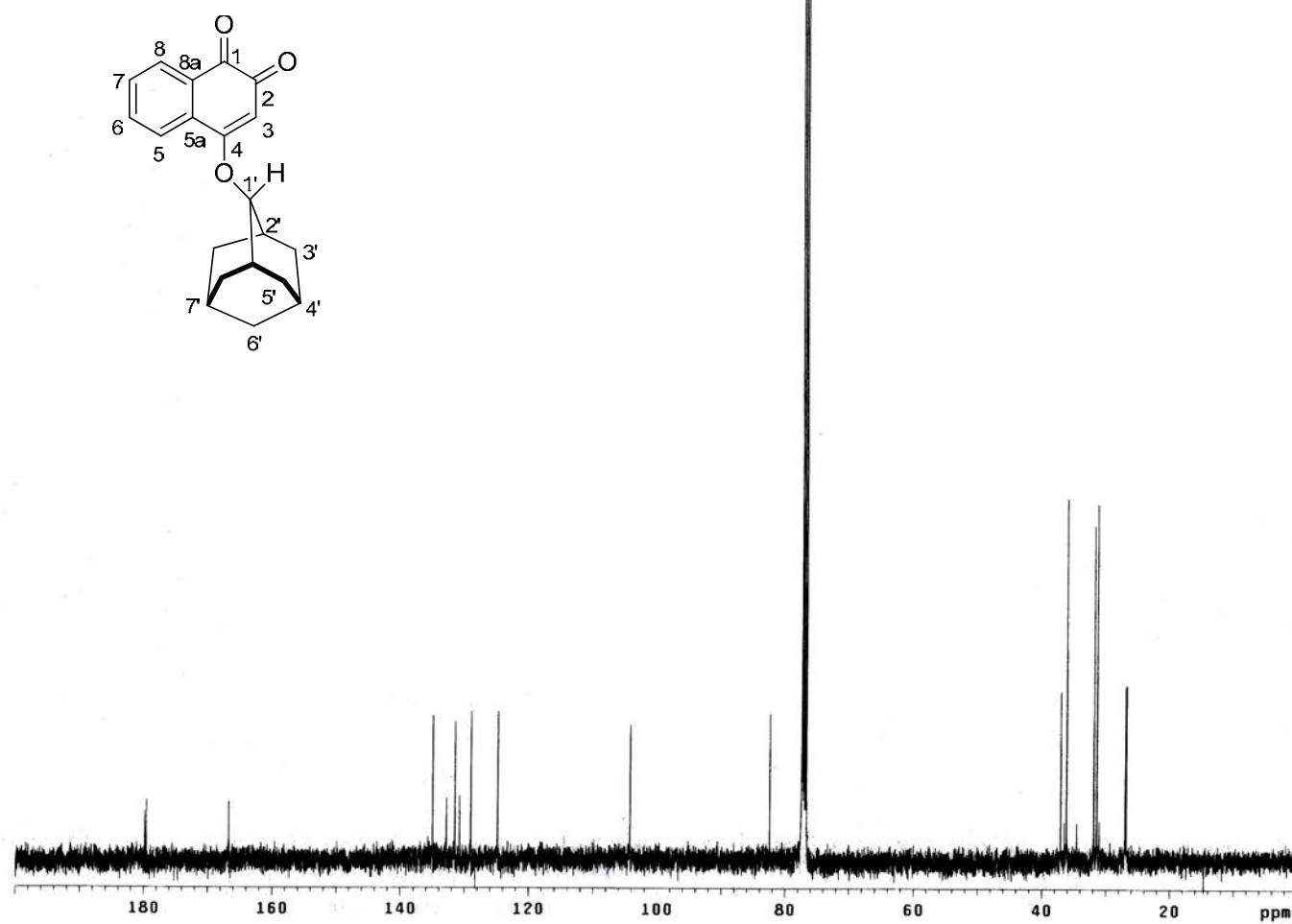


Figura 130. Espectro Ultravioleta del 4-(2-adamantanoxi)-1,2-naftoquinona en etanol.

Figura 131. Espectro ^1H -RMN del 4-(2-adamantanoxi)-1,2-naftoquinona.

4-(2-adamantanoxi)-1,2-naftoquinona

Figura 132. Espectro ^{13}C -RMN del 4-(2-adamantanoxi)-1,2-naftoquinona.

Anexo I. Caracterización Espectroscópica

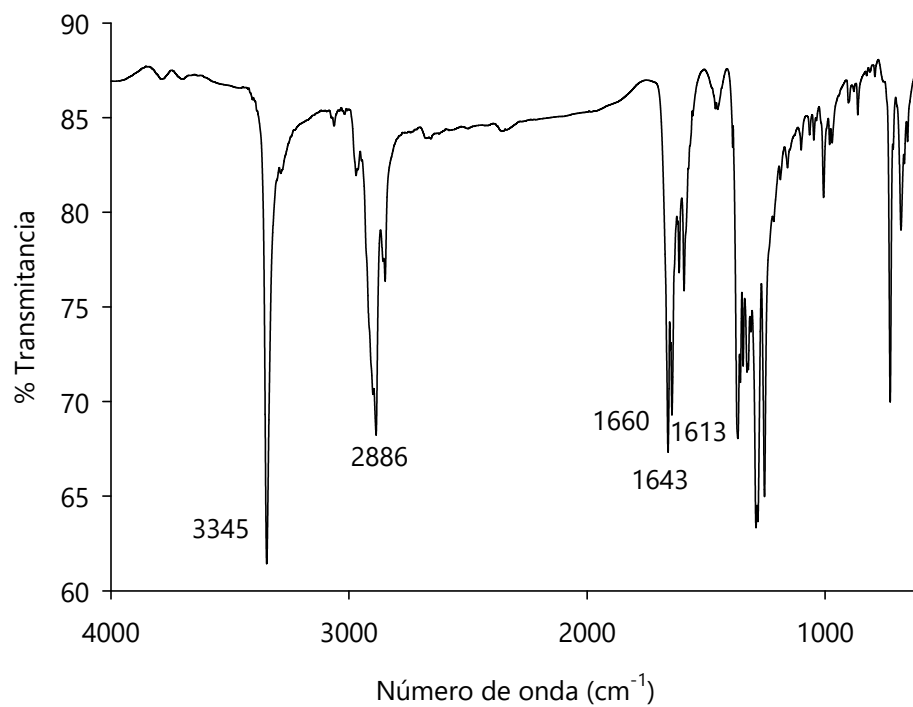


Figura 133. Espectro infrarrojo del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona (film).

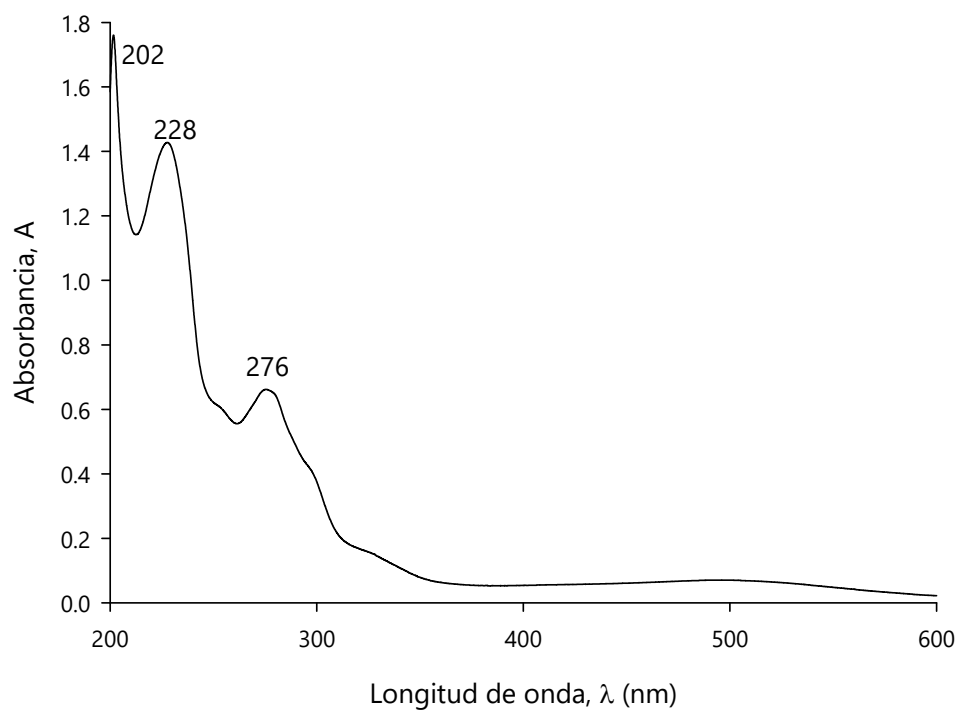
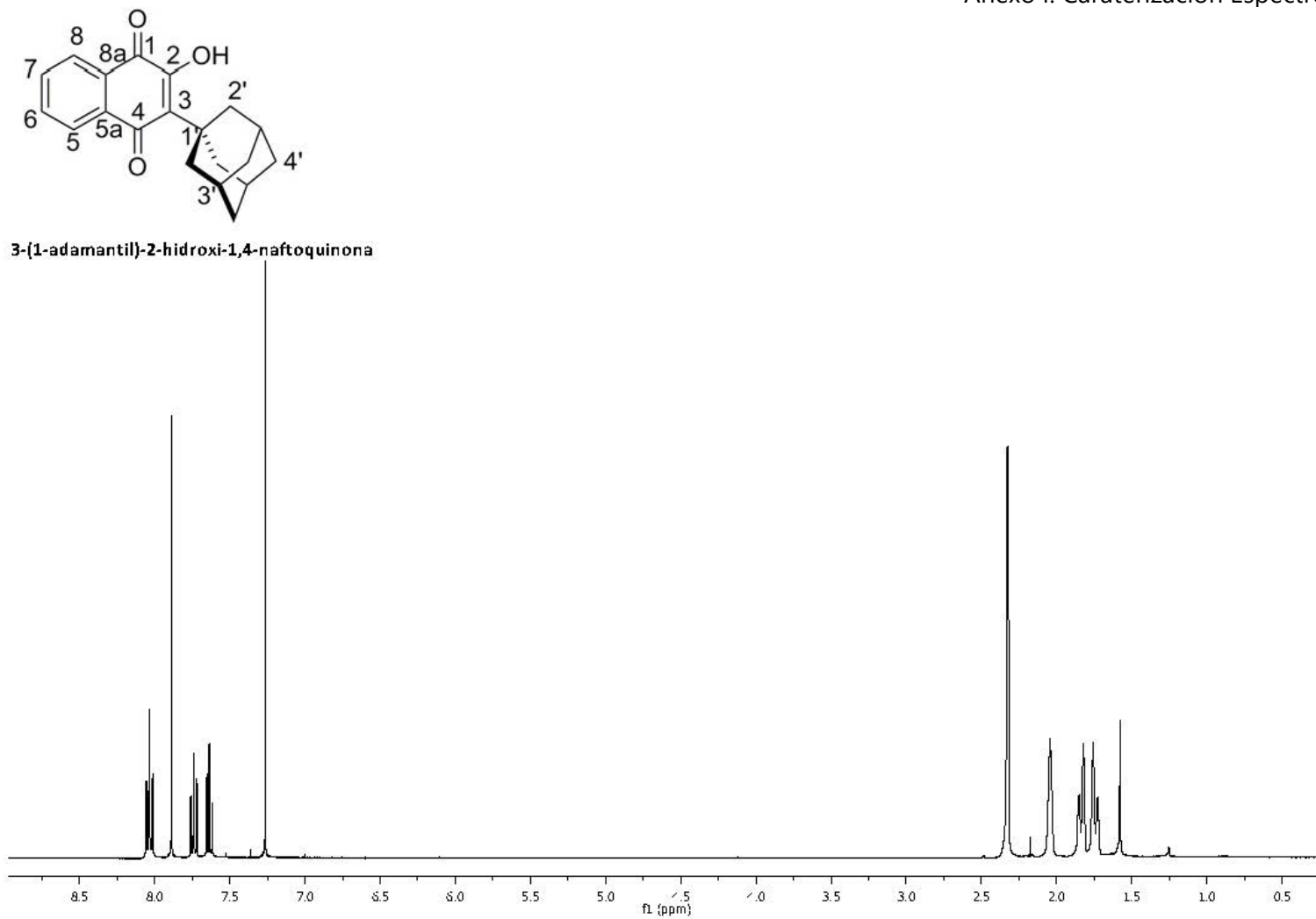


Figura 134. Espectro Ultravioleta del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona en etanol.

Figura 135. Espectro ¹H-RMN del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona.

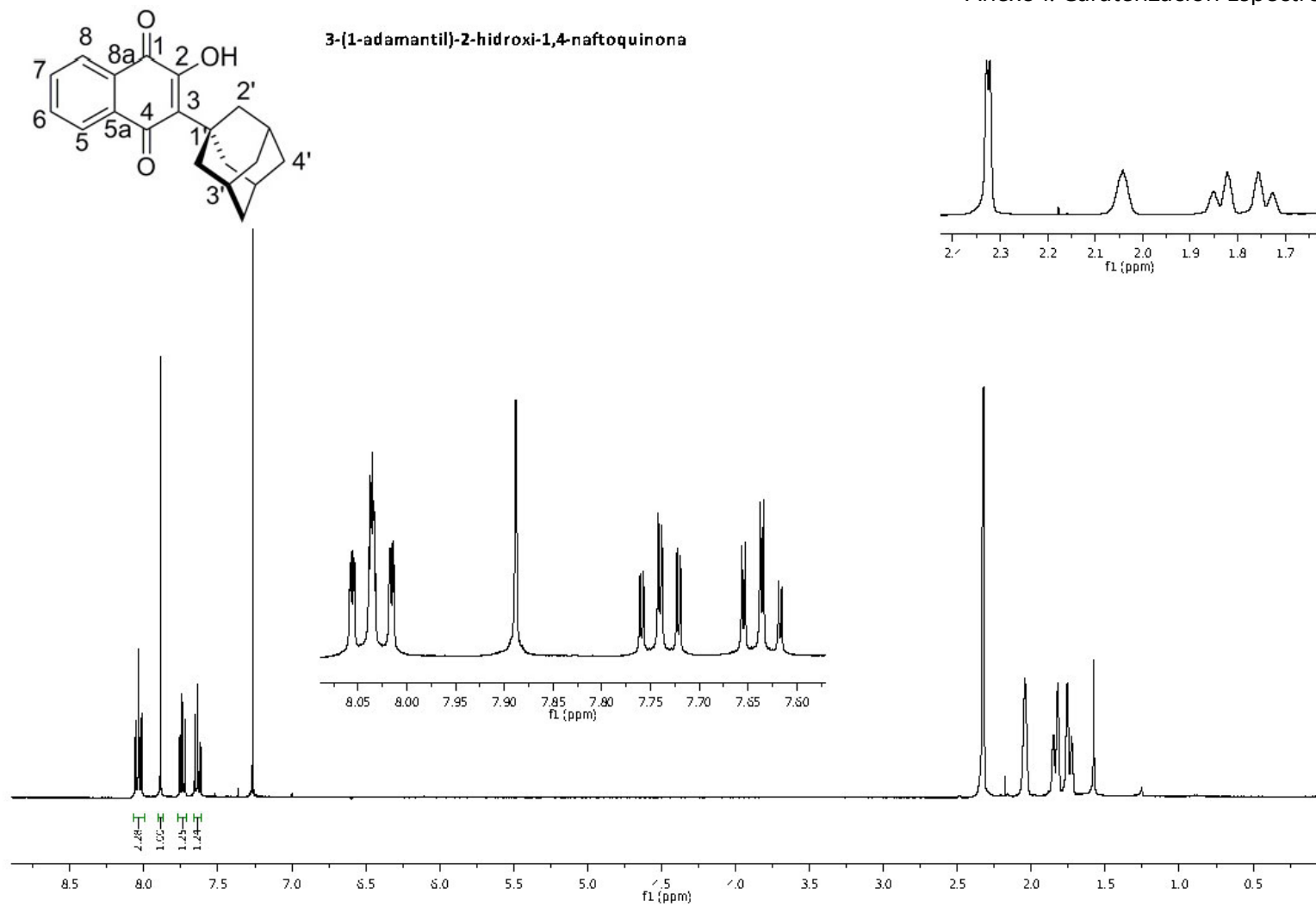
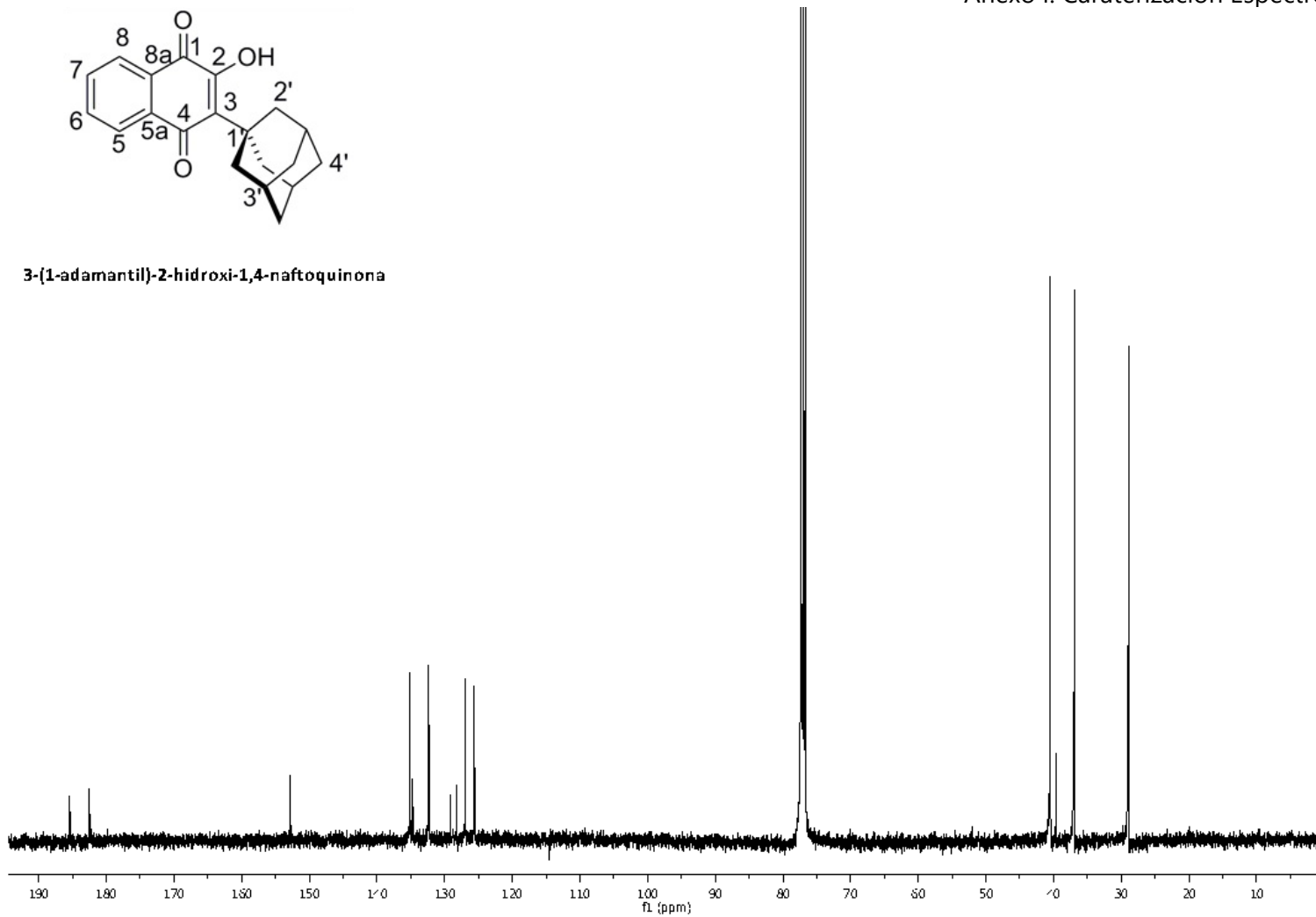


Figura 136. Ampliaciones del espectro ^1H -RMN del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona.

Figura 137. Espectro ^{13}C -RMN del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona.

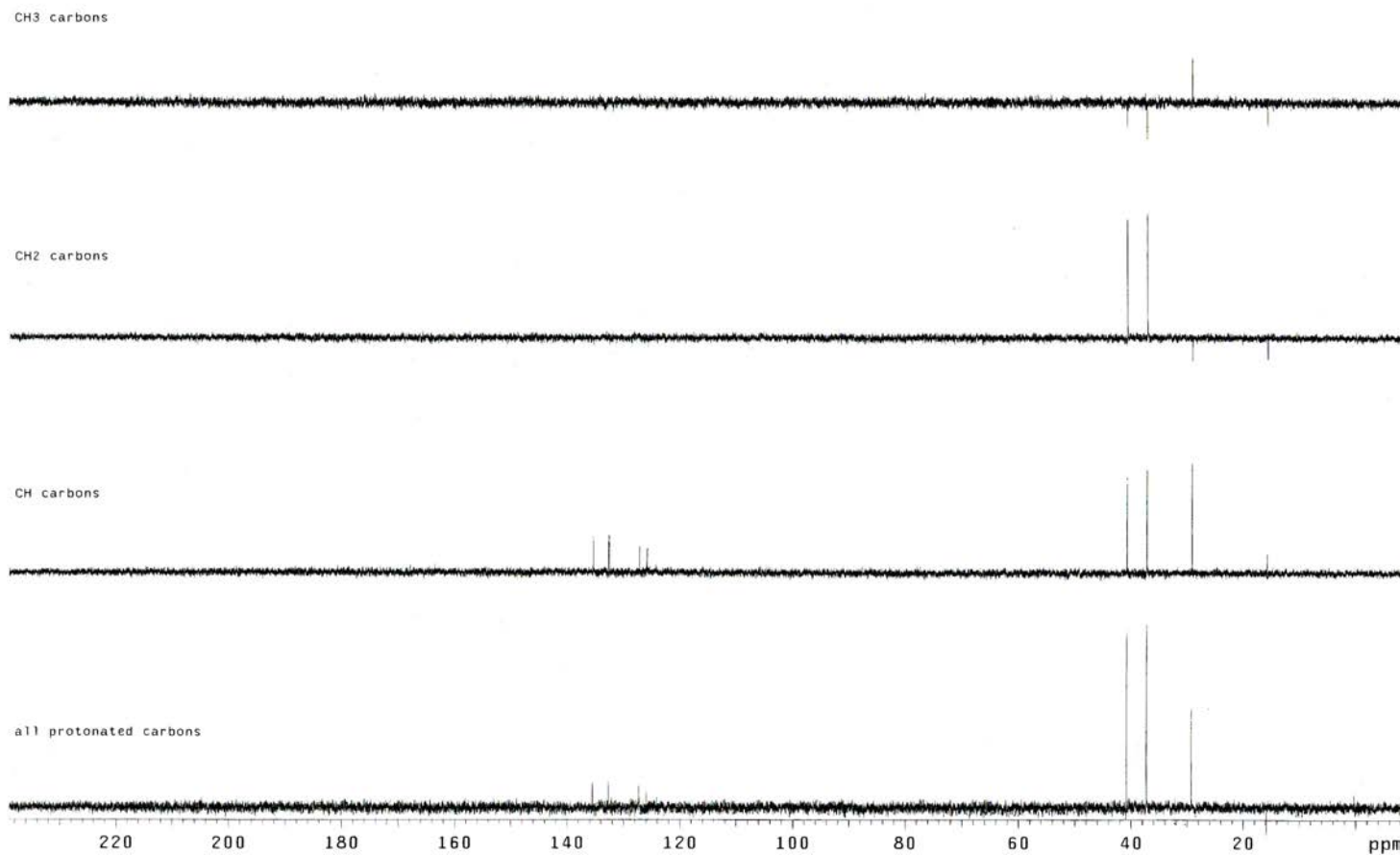


Figura 138. DEPT-1 del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona.

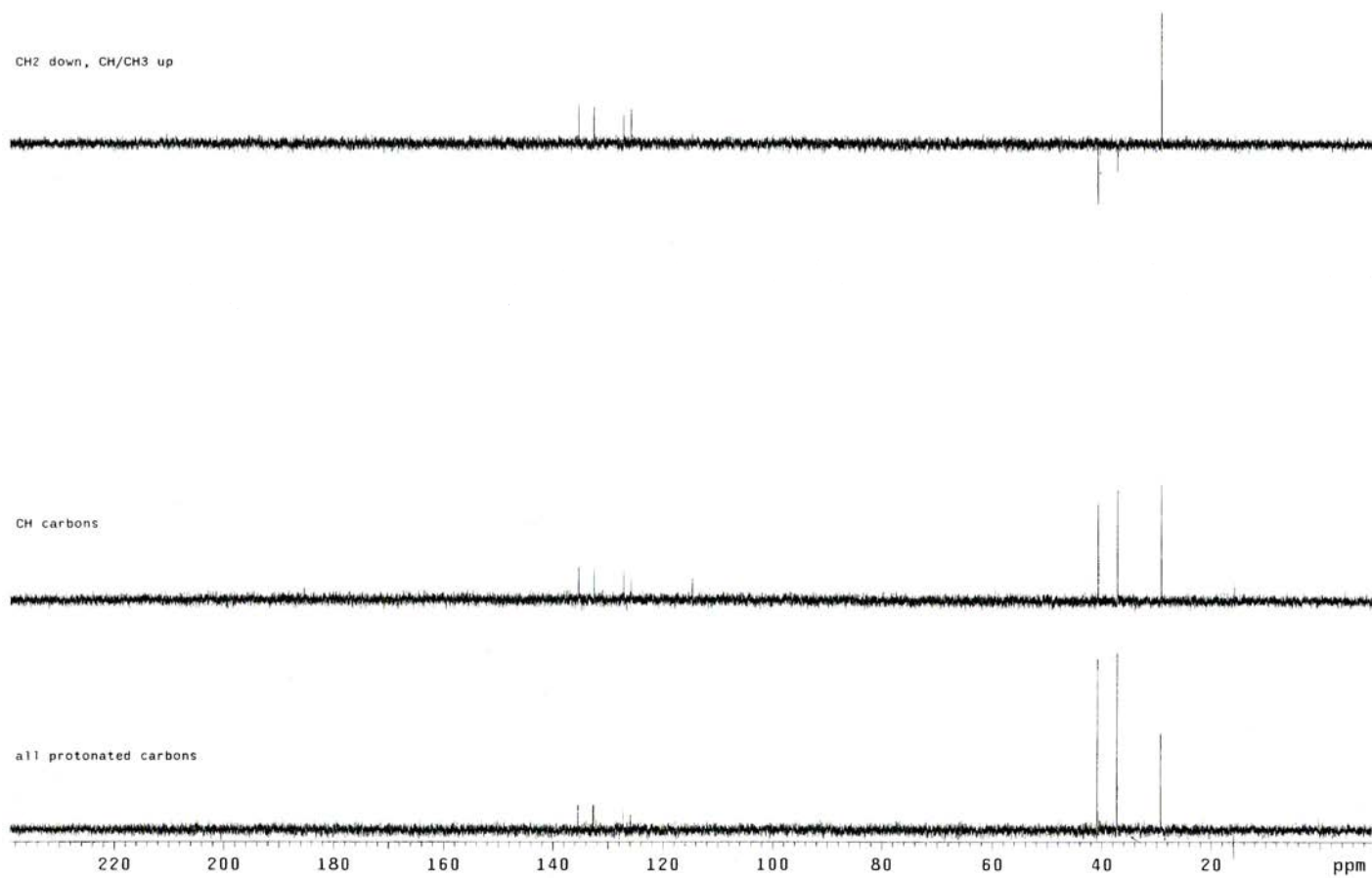


Figura 139. DEPT-2 del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona.

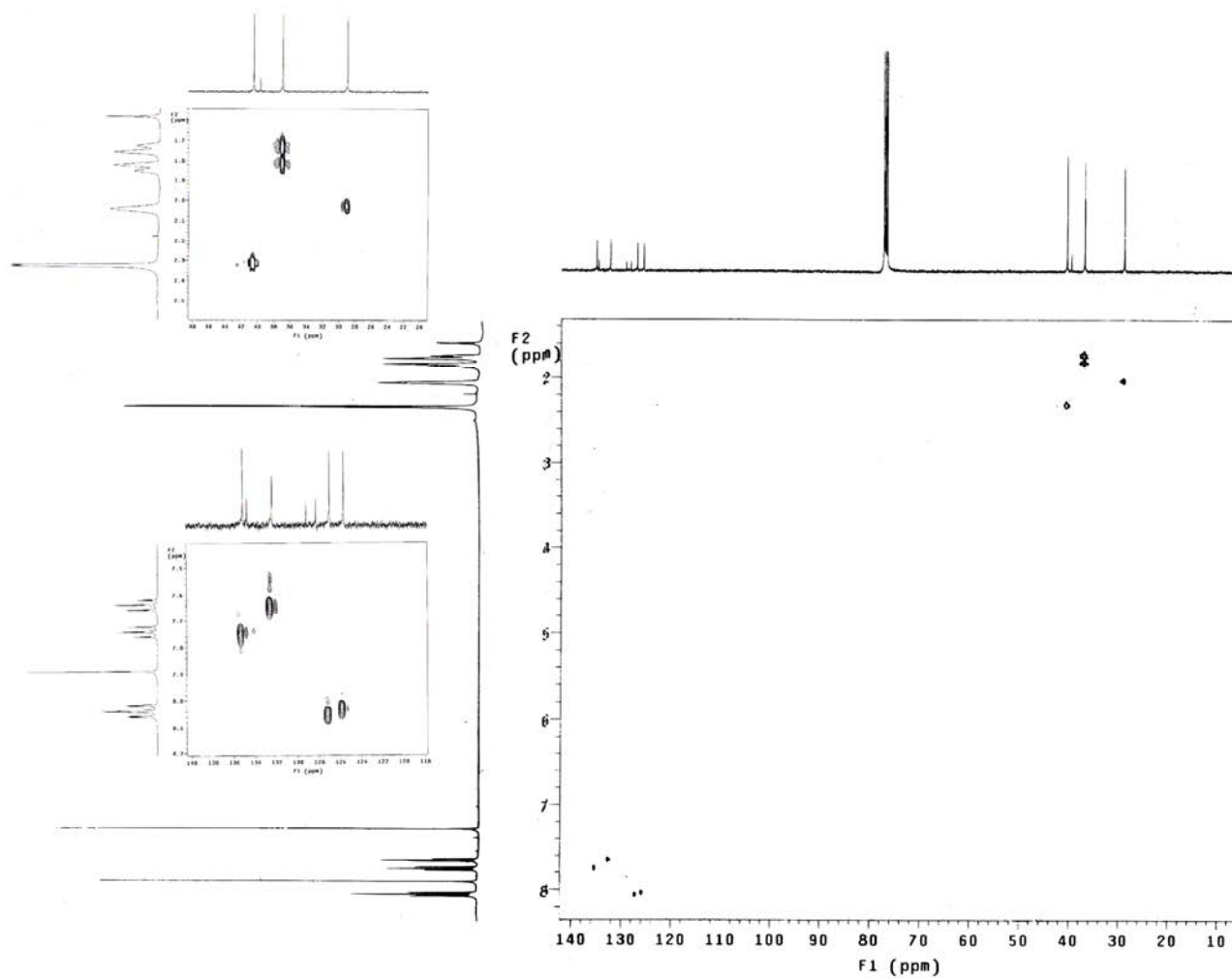


Figura 140. Espectro HSQC del 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona (ampliaciones se muestran a la izquierda de la figura).

Anexo I. Caraterización Espectroscópica

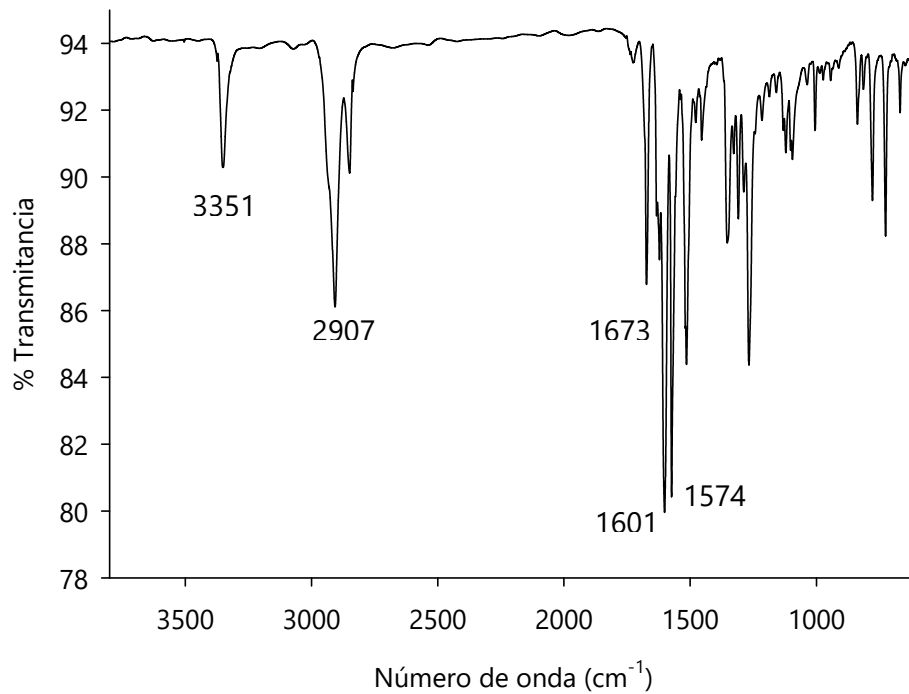


Figura 141. Espectro Infrarrojo del 2-(2-aminoadamantil)-1,4-naftoquinona (film).

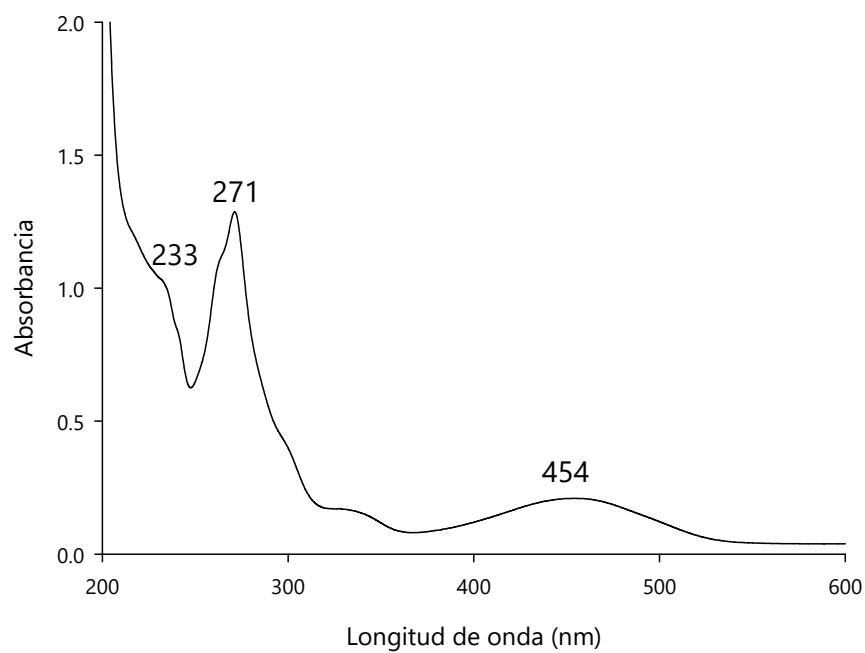
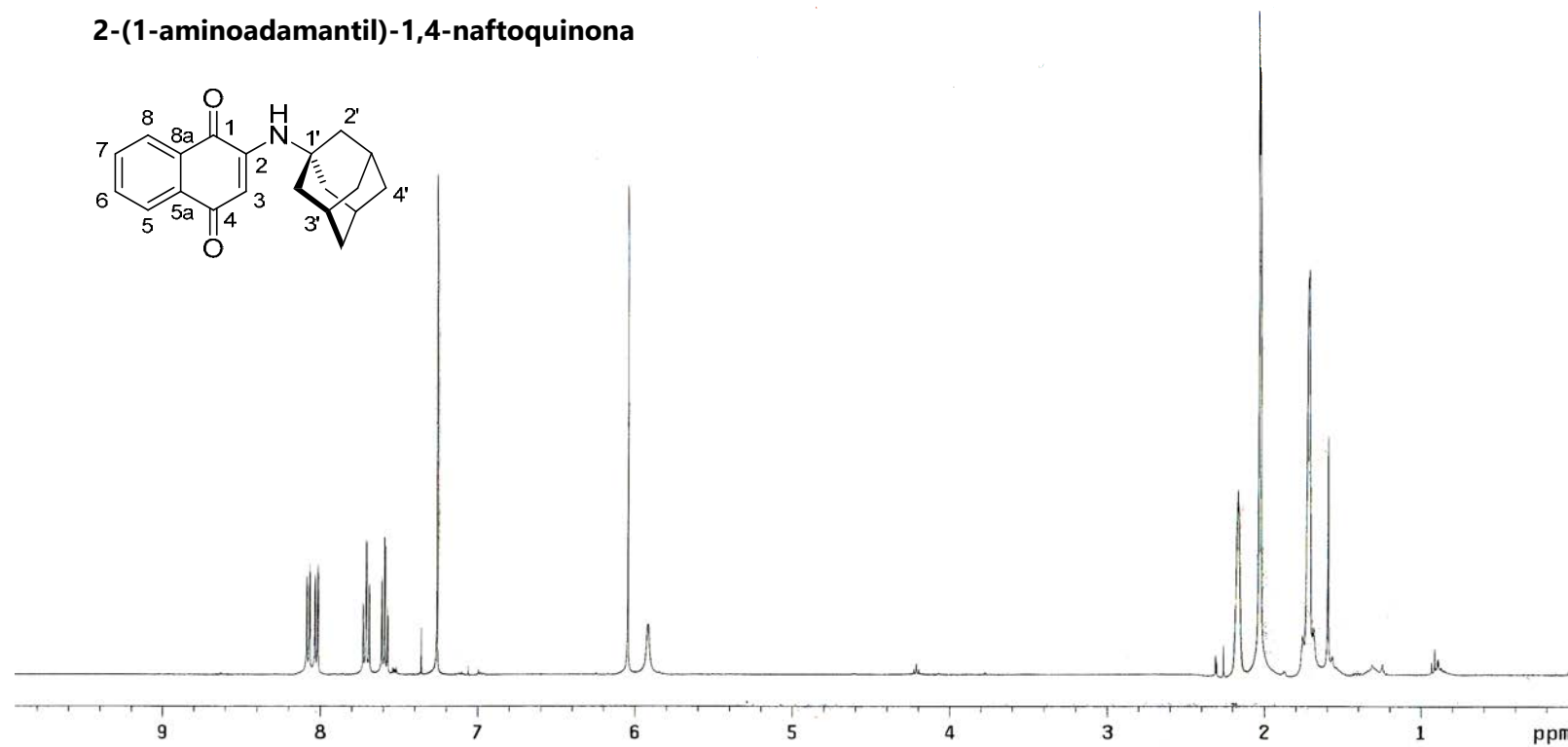
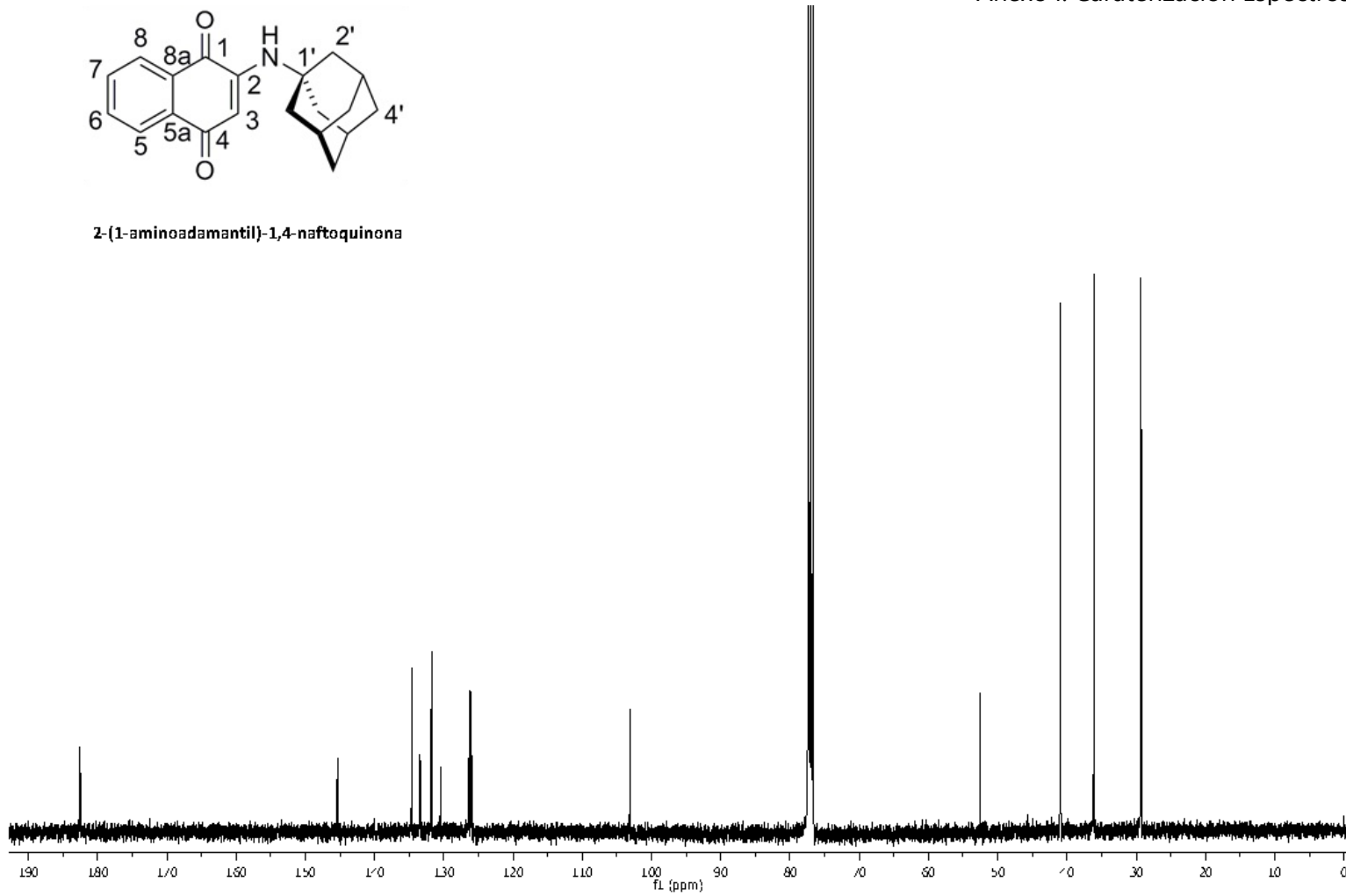


Figura 142. Espectro Ultravioleta-Visible del 2-(2-aminoadamantil)-1,4-naftoquinona en etanol.

2-(1-aminoadamantil)-1,4-naftoquinonaFigura 143. Espectro ¹H-RMN del 2-(2-aminoadamantil)-1,4-naftoquinona.

Figura 144. Espectro ^{13}C -RMN del 2-(2-aminoadamantil)-1,4-naftoquinona.

Anexo I. Caraterización Espectroscópica

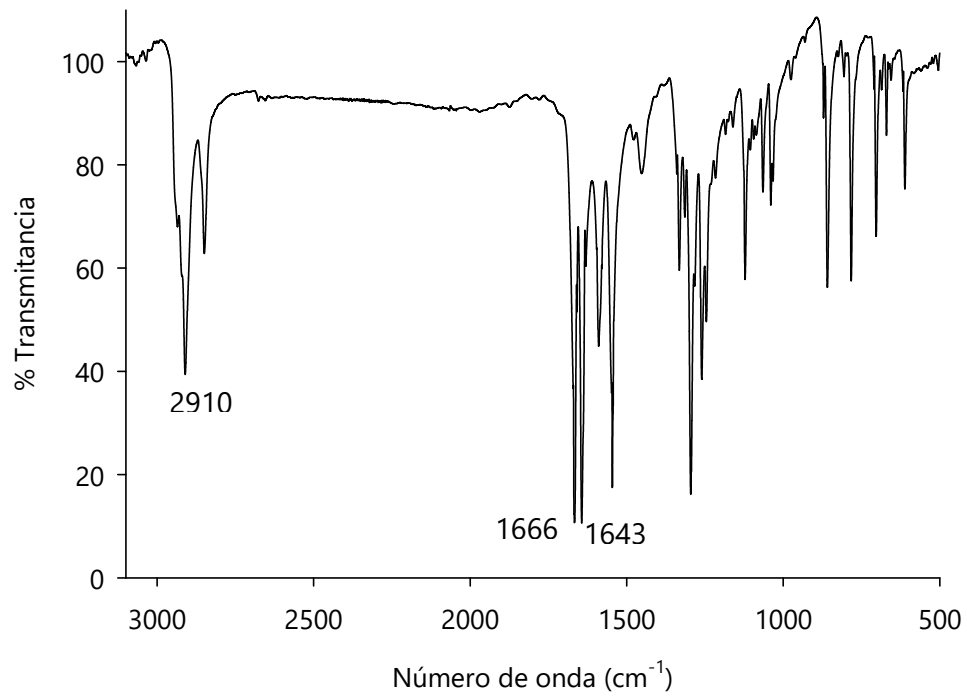


Figura 145. Espectro Infrarrojo del 2-(1-adamantilmercapto)- 1,4-naftoquinona (KBr).

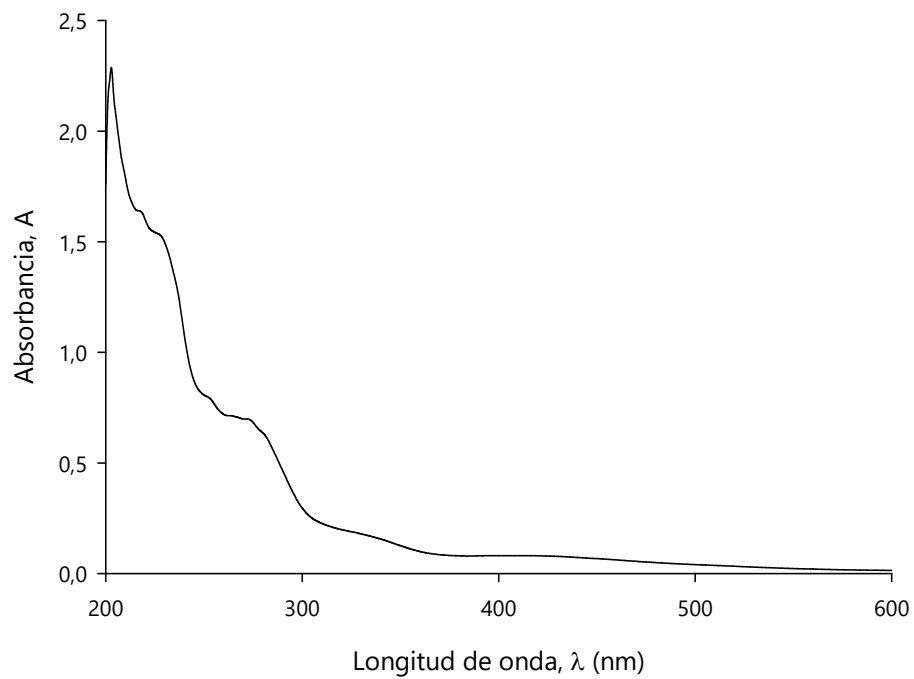
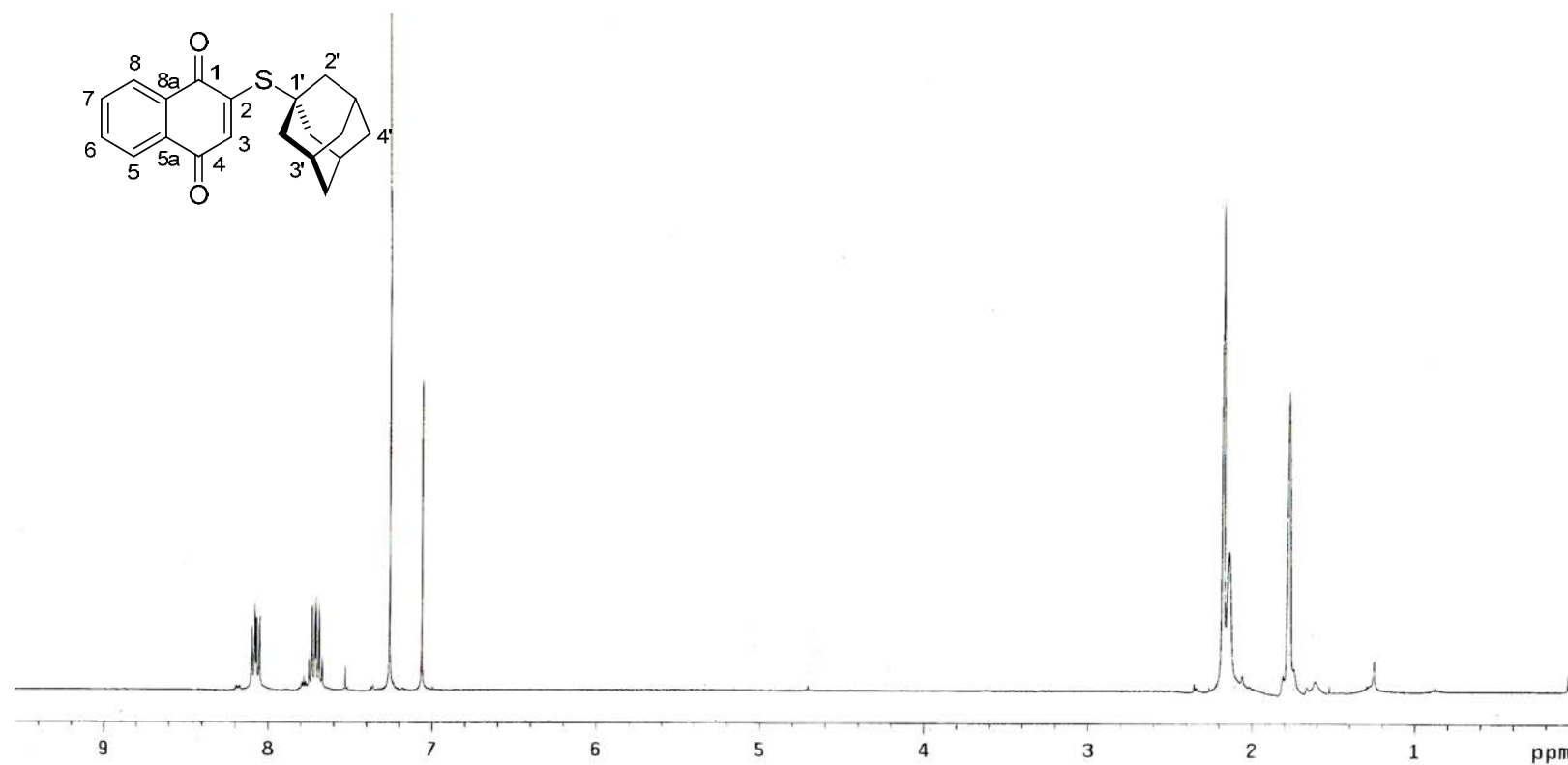
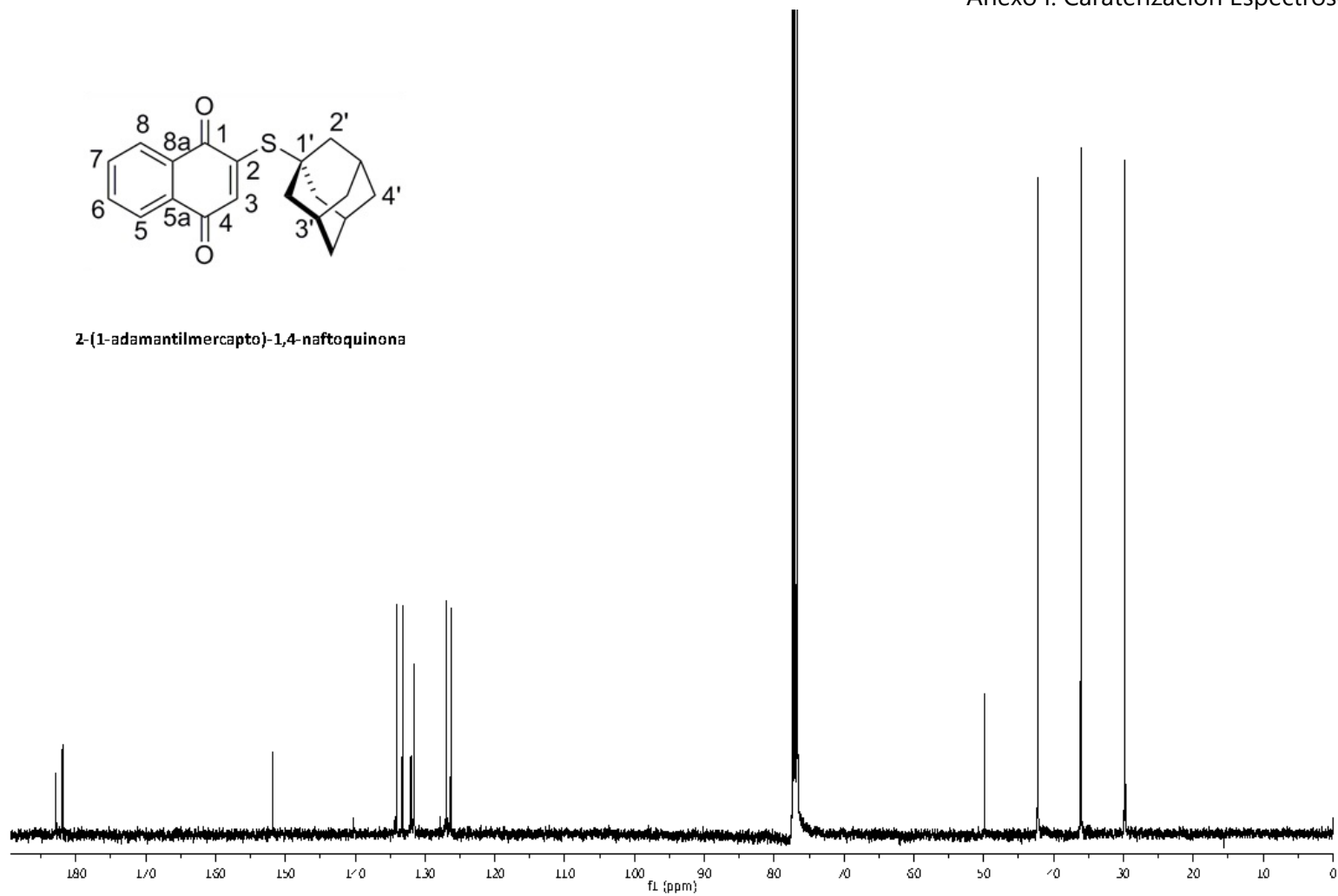


Figura 146. Espectro Ultravioleta del 2-(1-adamantilmercapto)- 1,4-naftoquinona en etanol.

2-(1-adamantilmercapto)-1,4-naftoquinonaFigura 147. Espectro ¹H-RMN del 2-(1-adamantilmercapto)- 1,4-naftoquinona.

Figura 148. Espectro ^{13}C -RMN del 2-(1-adamantilmercapto)- 1,4-naftoquinona.

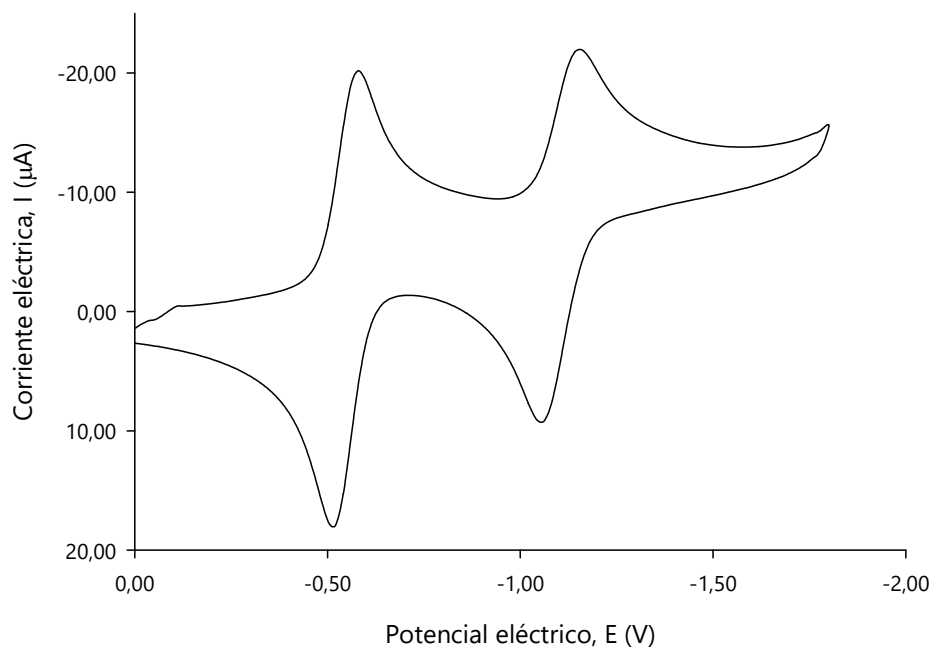


Figura 149. Ciclovoltamperograma de 1,4-naftoquinona en 0,1 mol/L TBAPF₆, MeCN.

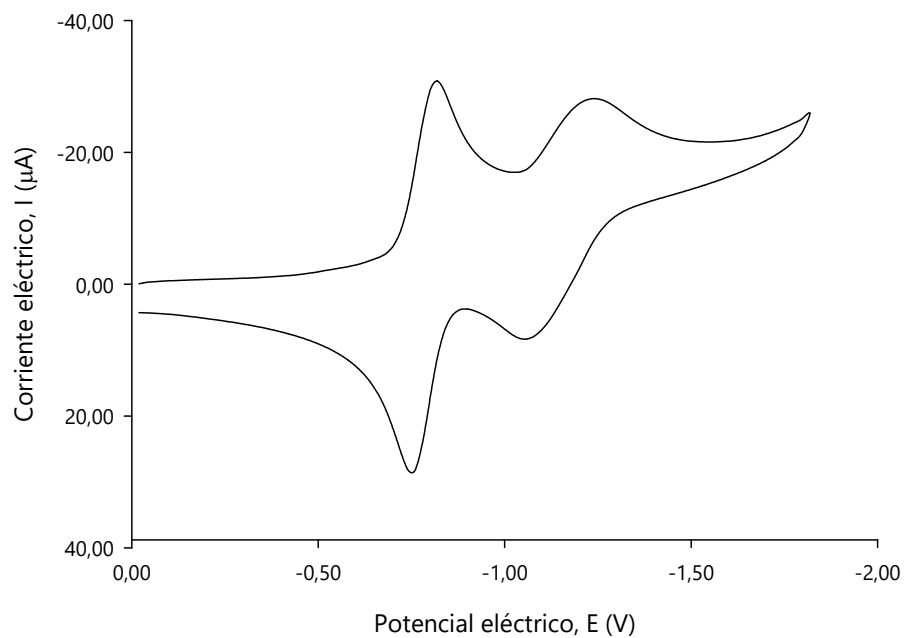


Figura 150. Ciclovoltamperograma de 2-(1-aminoadamantil)-1,4-naftoquinona en 0,1 mol/L TBAPF₆, MeCN.

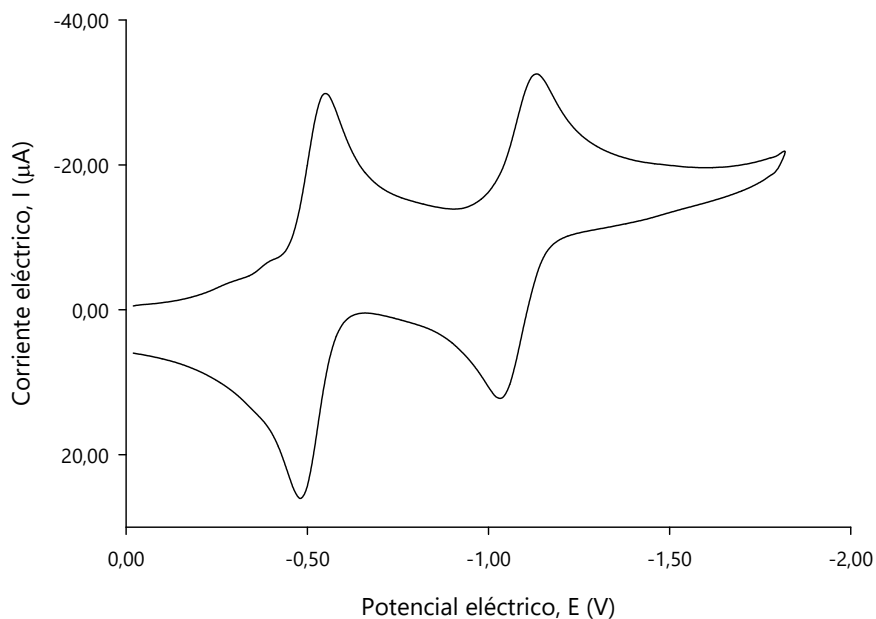


Figura 151. Ciclovoltamperograma de 2-(1-adamantilmercapto)-1,4-naftoquinona en 0,1 mol/L TBAPF₆, MeCN.

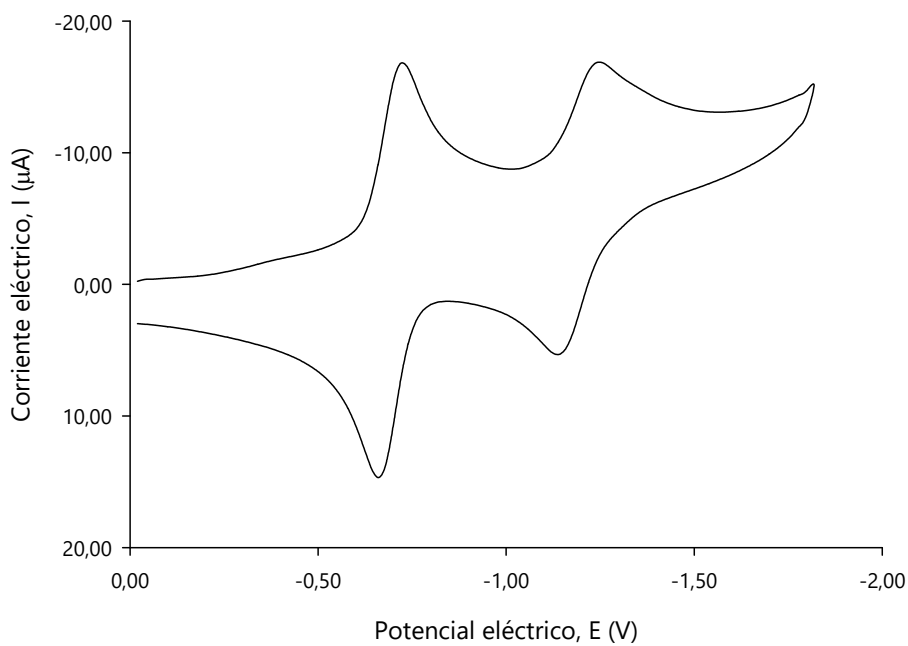


Figura 152. Ciclovoltamperograma de 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona en 0,1 mol/L TBAPF₆, MeCN.

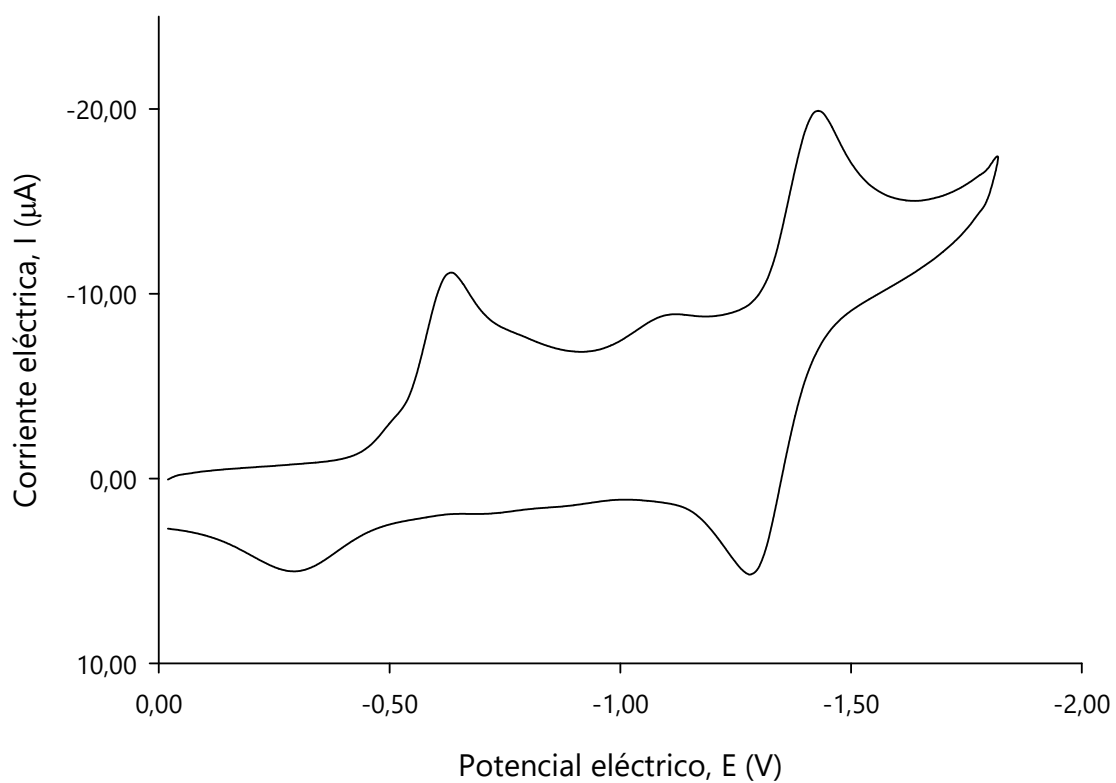


Figura 153. Ciclovoltamperograma de 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona en 0,1 mol/L TBAPF₆, MeCN.

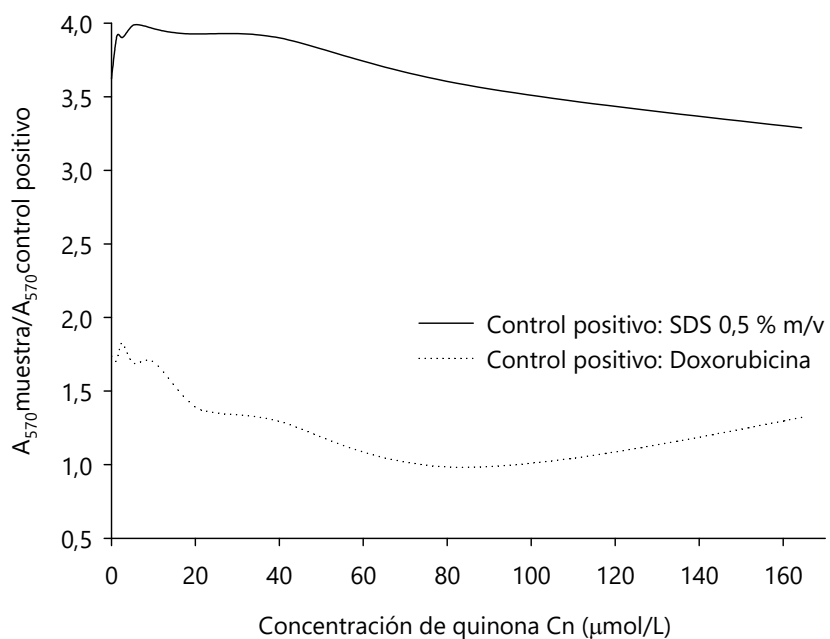


Figura 154. Curvas de viabilidad celular en células MCF-7, en presencia de 2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-naftoquinona.

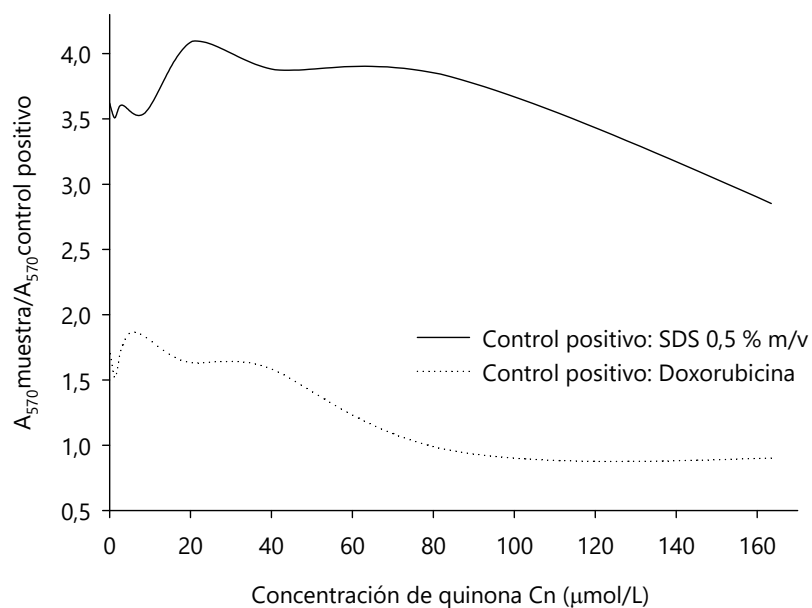


Figura 155. Curvas de viabilidad celular en células MCF-7, en presencia de 2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-naftoquinona.

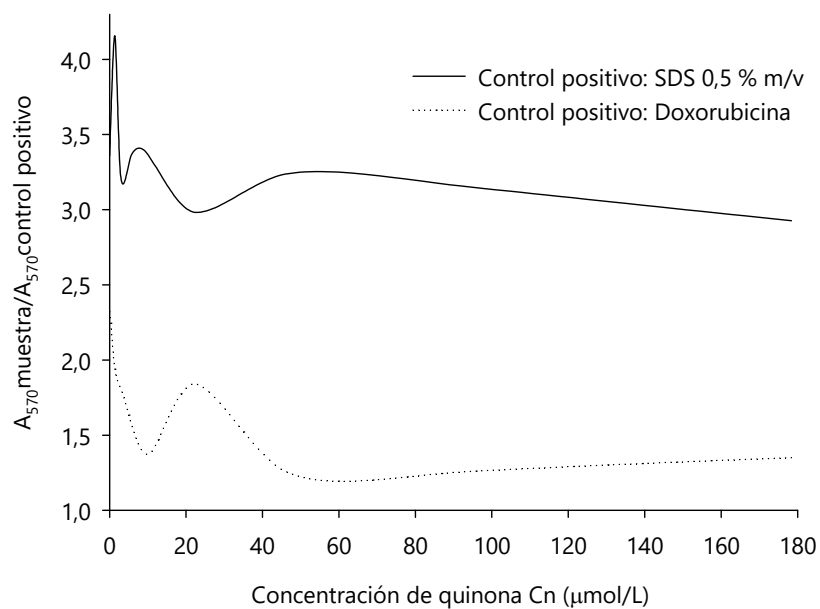


Figura 156. Curvas de viabilidad celular en células MCF-7, en presencia de 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona.

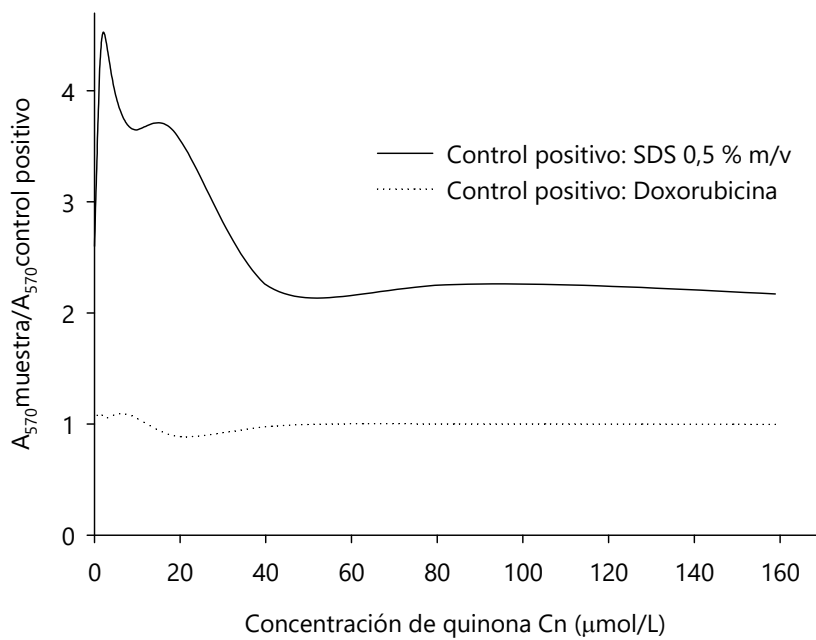


Figura 157. Curvas de viabilidad celular en células MCF-7, en presencia de 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona.

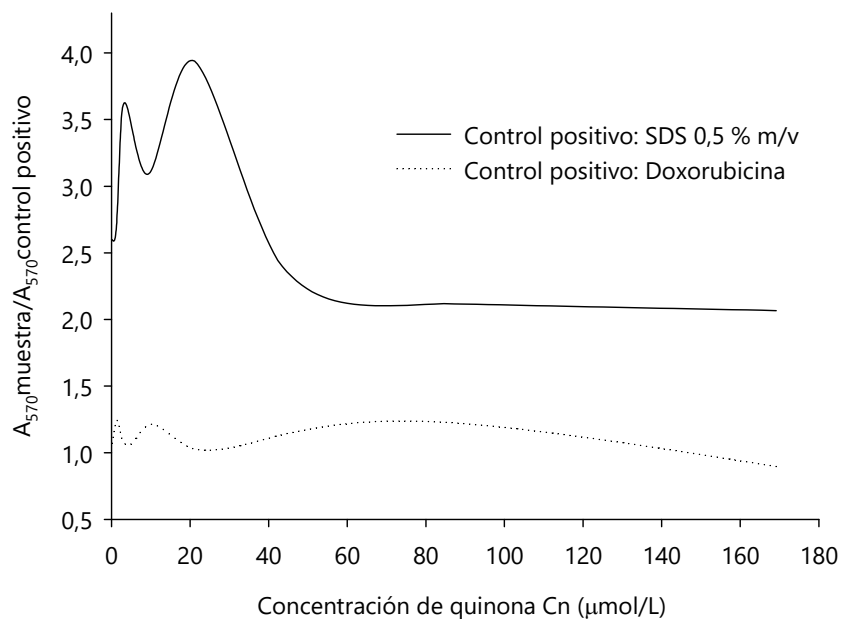


Figura 158. Curvas de viabilidad celular en células MCF-7, en presencia de 2-(1-aminoadamantil)-1,4-naftoquinona.

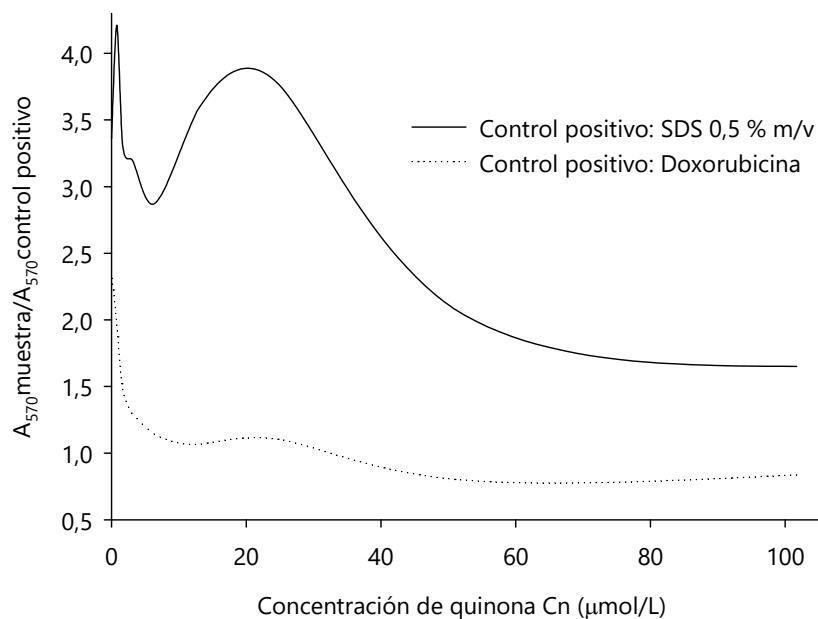


Figura 159. Curvas de viabilidad celular en células MCF-7, en presencia de 2-(1-adamantilmercapto)-1,4-naftoquinona.

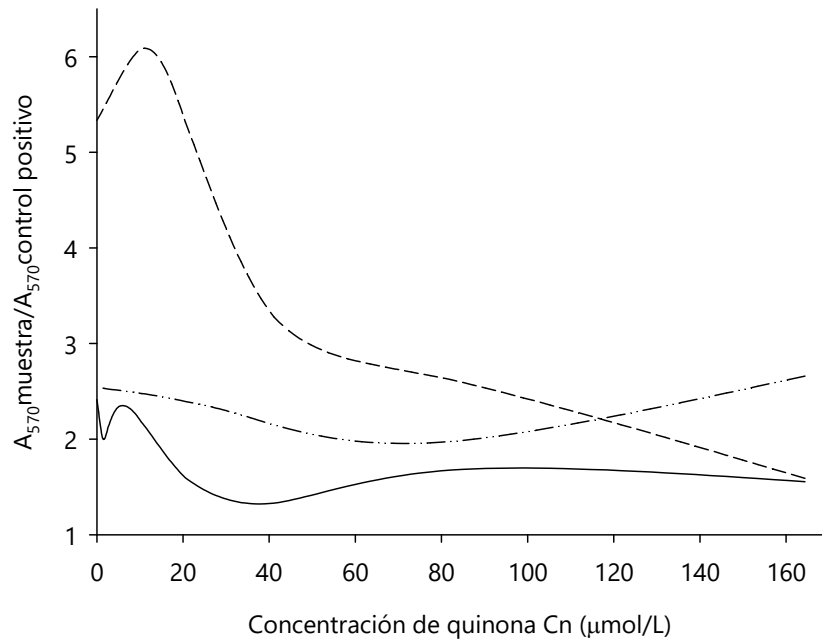


Figura 160. Curvas de viabilidad celular en células Vero, en presencia de 2-(1-adamantilmetoxi)-1,4-naftoquinona.

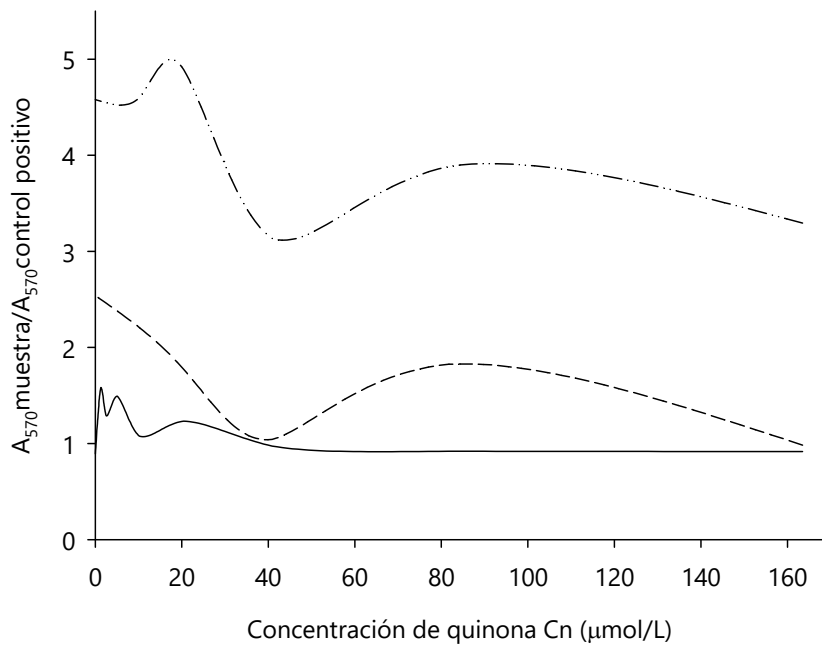


Figura 161. Curvas de viabilidad celular en células Vero, en presencia de 2-(2-(1-adamantil)etanoxi)-1,4-naftoquinona.

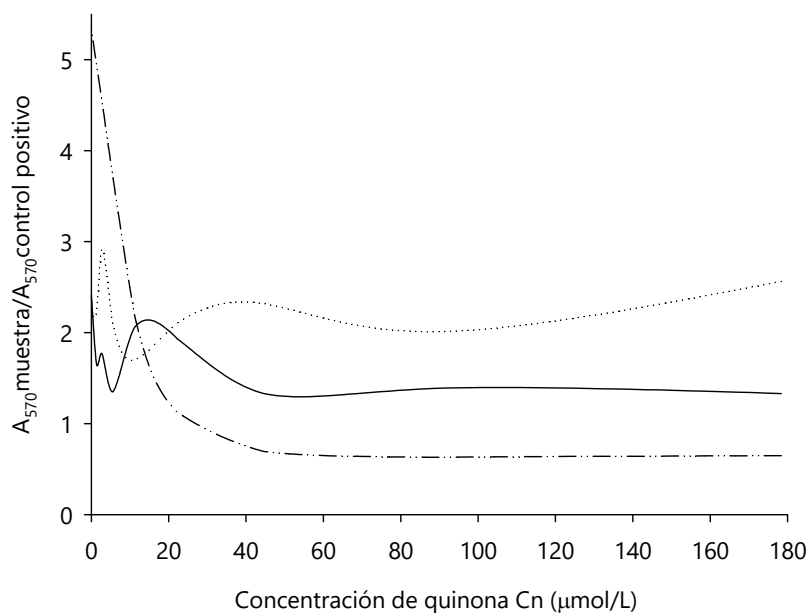


Figura 162. Curvas de viabilidad celular en células Vero, en presencia de 2-(2-adamantanoxi)-1,4-naftoquinona.

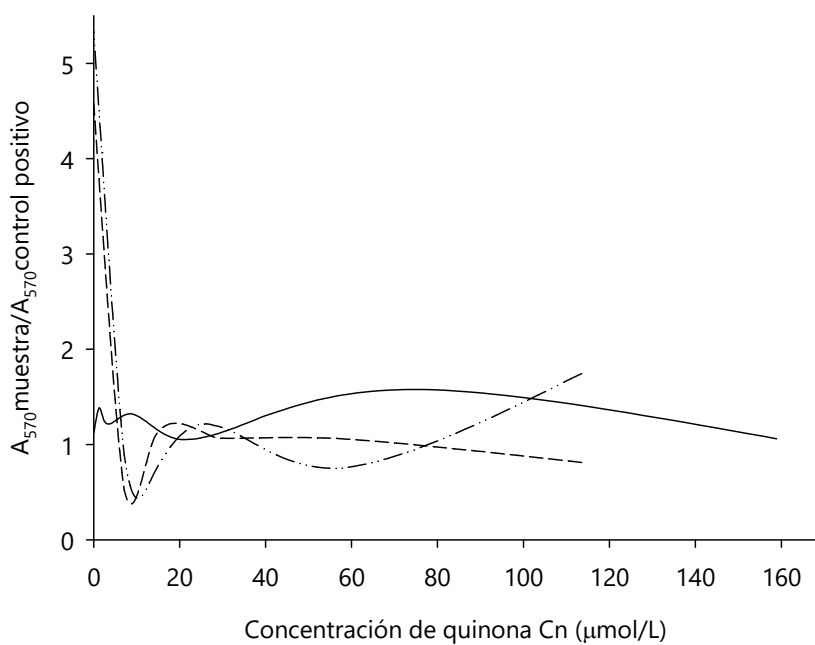


Figura 163. Curvas de viabilidad celular en células Vero, en presencia de 3-(1-adamantil)-2-hidroxi-1,4-naftoquinona.

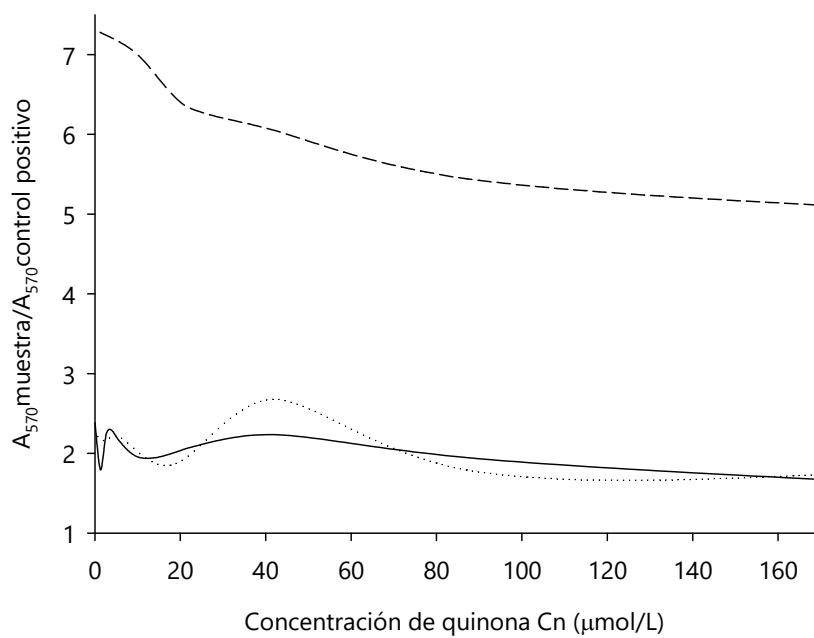


Figura 164. Curvas de viabilidad celular en células Vero, en presencia de 2-(1-aminoadamantil)-1,4-naftoquinona.

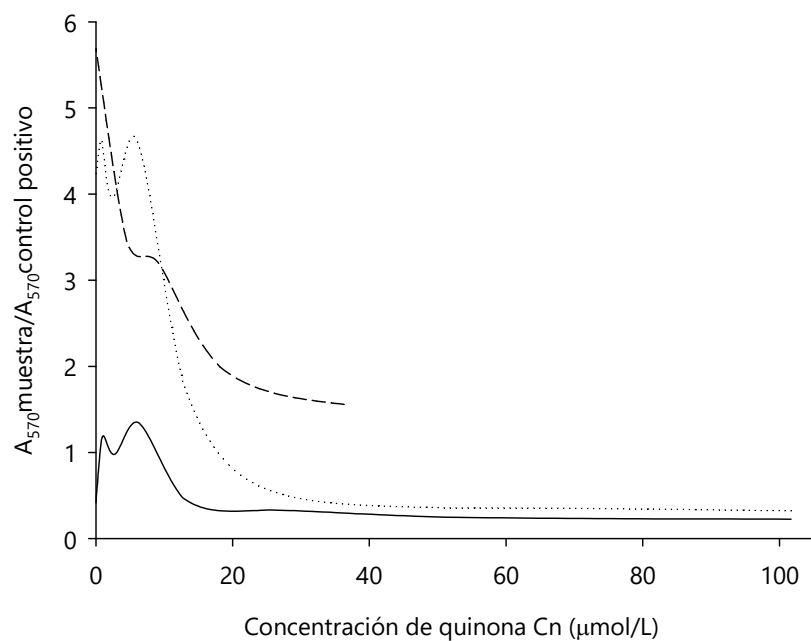


Figura 165. Curvas de viabilidad celular en células Vero, en presencia de 2-(1-adamantilmercapto)-1,4-naftoquinona.

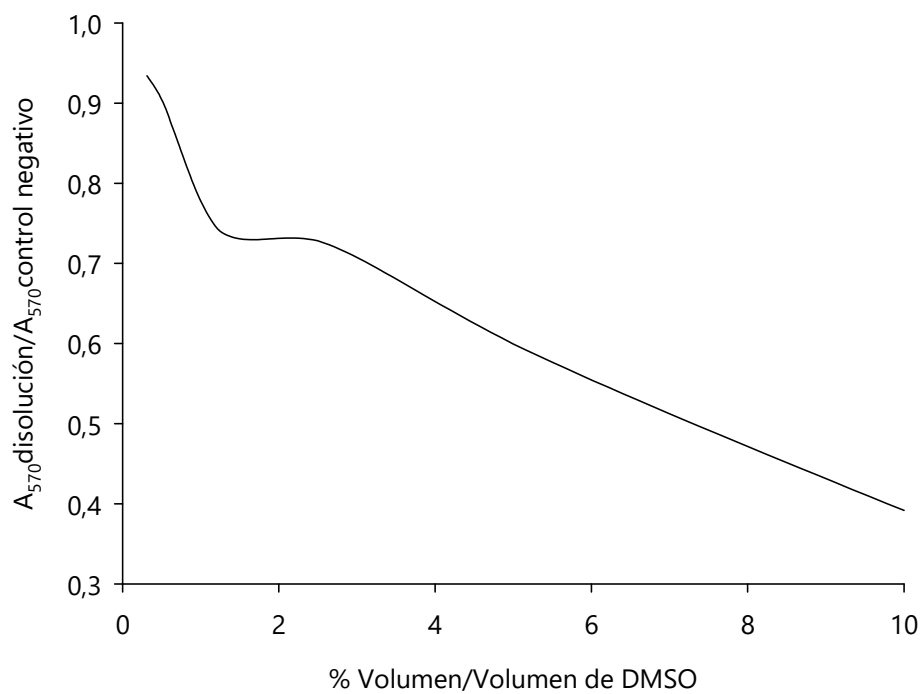


Figura 166. Curva de viabilidad de células Vero a distintas concentraciones de DMSO.