



**UNIVERSIDAD DE TALCA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**SINTESIS DE NOVEDOSOS DERIVADOS DE QUINONAS USANDO CLICK  
CHEMISTRY**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO  
DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

**ALUMNO: MATÍAS BRAVO TORRES**

**PROFESOR GUÍA: Dr. MARIANO PERTINO**

**Talca, Chile**

**2018**

## CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2019

*Dedicatoria:*

*A cada persona que fue participe de mi proceso en la universidad, principalmente a mi familia de la cual siempre tuve el apoyo, de mis amigos los cuales hicieron que la estadía fuera mucho mas agradable y a mí para recordar siempre que a pesar de las dificultades se puede salir adelante.*

## *Agradecimientos*

A mi familia principalmente a mi mamá Gabriela por estar presente cuando la he necesitado y ser el pilar de la familia, a mi mamá Margarita por siempre creer en mí y darme el amor que solo una abuela sabe entregar, y a mi hermana Natalia por ser la persona con quien más he compartido y será así hasta que seamos viejitos.

Quiero agradecer al profesor Mariano por darme la oportunidad de realizar mi tesis en química, dándome todo el apoyo a todas las personas del laboratorio por estar dispuestas a ayudar cuando era necesario.

Finalmente, a cada persona que ha sido parte de mi vida durante estos años y me ha entregado energía positiva.

## INDICE

1. RESUMEN.....	5
2. INTRODUCCIÓN .....	6
2.1. HIPÓTESIS .....	7
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	8
3.1. QUINONAS .....	8
3.2. NAFTOQUINONAS.....	11
3.3. LAPACHOL.....	20
3.4. TRIAZOLES .....	24
3.5. CLICK CHEMISTRY .....	27
4. OBJETIVOS .....	33
4.1. OBJETIVO GENERAL .....	33
4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	33
5. MATERIALES Y METODOS .....	34
5.1. MATERIALES.....	34
5.2. MÉTODOS.....	35
5.3. PREPARACION DE DERIVADOS TRIAZOL.....	37
6. RESULTADOS.....	40
6.2. DERIVADOS DE TRIAZOL.....	42
7. DISCUSION .....	46
8. CONCLUSION .....	49
9. ANEXOS .....	50
10. BIBLIOGRAFIA .....	53

## 1. RESUMEN

El desarrollo científico ha permitido la generación de técnicas las cuales han servido para combatir diversos problemas sanitarios dentro del cual los parásitos han sido un grupo importante debido a que afectan a los países más pobres del mundo principalmente de América Latina y África. El lapachol una naftoquinona de origen natural ha sido estudiada por sus propiedades dentro de las que destaca tripanocida, antiprotozoaria, antifúngica etc; Mediante la introducción de 1,2,3 triazol algunas de estas actividades se ven potenciadas por lo cual resulta de gran interés asociarlo a lapachol. Esto se consigue mediante “click chemistry” la cual al emular reacciones naturales destaca por su rápida acción y fiabilidad.

El objetivo general es preparar derivados del lapachol conteniendo anillo triazol utilizando la técnica “click chemistry”. Para esto se realizan reacciones de semisíntesis obteniendo productos los cuales posteriormente deben ser purificados para su identificación y de esta manera en estudios posteriores poder evaluar su actividad biológica.

## 2. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades por parásitos han sido causa de diversos problemas en las comunidades desde hace bastantes años, pero gracias al desarrollo científico se han combatido estos inconvenientes, sin embargo, los países más pobres del planeta principalmente de América latina y África aun presentan altos niveles de prevalencia por parásitos, por lo cual es necesario buscar diversas opciones que permitan un mejor tratamiento, de esta manera se han estudiado compuestos naturales debido a su gran disponibilidad que puedan tener alguna actividad antiparasitaria.

Un grupo importante de moléculas que se ha estudiado corresponde a la familia de las quinonas las cuales se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza principalmente en plantas otorgando coloración, aunque también se encuentra en hongos, bacterias e incluso animales. Dentro de esta familia las naftoquinonas cobran importancia debido a la gran diversidad de actividades que han demostrado como antimaláricos, anticancerígenos y antifúngicos entre otras.

Los compuestos de origen natural como el lapachol, una naftoquinona, destacan por su gran versatilidad en diferentes usos tecnológicos y debido a sus propiedades biológicas como por ejemplo su actividad anti protozoaria que ha sido ampliamente estudiada.

Algunos estudios han comprobado que asociar lapachol a triazoles potencia la actividad anti protozoaria de estos derivados por lo cual es importante descubrir nuevas metodologías de uniones entre estas moléculas para intentar potenciar su actividad biológica.

Estas uniones del lapachol con los anillos triazol se logran mediante técnicas químicas como “Click Chemistry” en las cuales su fiabilidad y su formación rápida han sido importantes debido a que emulan reacciones que ocurren en la naturaleza.

## 2.1. HIPÓTESIS

Diferentes quinonas naturales y semisintéticas han demostrado poseer numerosas actividades biológicas. El lapachol una naftoquinona obtenida de la madera o corteza de los troncos de *Tabebuia* (Bignoniaceae) ha sido extensamente estudiado por su actividad anticancerígena y tripanocida. Recientes publicaciones demostraron que introducir anillos triazol a análogos del lapachol genera derivados con muy interesante actividad anti-protozoaria y anticancerígena. Teniendo en cuenta estos antecedentes, en búsqueda de derivados del lapachol con potencial actividad biológica, se postula la siguiente hipótesis de trabajo:

“La modificación estructural del lapachol o análogos semisintéticos para generar derivados de tipo Quinona-triazol permitirá acceder a compuestos biológicamente activos”.

### 3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. QUINONAS

Las quinonas corresponden a compuestos de origen orgánico formados por anillos de carbono, que son oxigenados y que se forman por la oxidación de compuestos aromáticos generando la correspondiente dicetona (1). Las quinonas naturales son productos de la oxidación del fenol (2).

Este grupo se encuentra ampliamente distribuido en componentes aromáticos en la naturaleza y pueden ser hallados en variadas familias de plantas, como también en algas e incluso bacterias (3). Los compuestos quinoides ocupan un largo número en la naturaleza desde compuestos que pueden ser desde amarillos hasta rojos dependiendo de su estructura química, formando uno de los grupos más diversos de pigmentos en plantas (4). Son compuestos sólidos con puntos de fusión superiores a los 100°C, de color amarillo, anaranjado, rojo, o morado, insolubles en agua y parcialmente solubles en solventes no polares (5) (6).

Las quinonas se clasifican de acuerdo con su complejidad química en benzoquinonas (monocíclicas), naftoquinonas (bicíclicas) y antraquinonas (tricíclicas) (1).

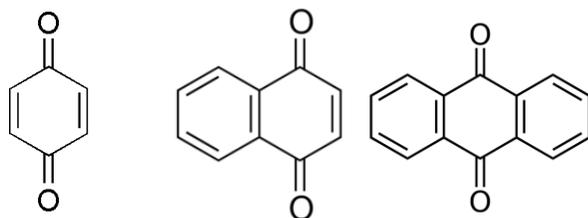


FIGURA 1: QUINONAS CON 1, 2 Y 3 ANILLOS CORRESPONDIENTES (*imagen obtenida de Yusuf, M, Natural Colorants: Historical, Processing and Sustainable Prospects.2017*) (7).

La distribución de esta clase de sustancias en diversos organismos pone en evidencia que actúan en diferentes procesos bioquímicos; Por ejemplo, la coenzima Q y la plastoquinona funcionan como transportadores de electrones en la cadena respiratoria y en la fotosíntesis, respectivamente (8). Además, la coenzima Q actúa como un poderoso antioxidante y estabilizador de membrana previniendo el daño celular resultante de los procesos metabólicos normales (9). Las vitaminas K, derivados del tipo naftoquinona, son de vital importancia para los seres vivos por su acción en el control de la coagulación sanguínea (10).

Las quinonas pueden formar puentes de hidrógeno ya sea intramolecular o intermolecular. Se ha observado la formación de puente de hidrógeno entre las quinonas y proteínas en sistemas biológicos; siendo estas uniones las responsables del ajuste del potencial redox de las quinonas (11).

Una característica importante de las quinonas es la capacidad para convertirse en hidroquinonas, es decir, cambiar la función cetona a la función hidroxilo (-OH), en su estructura química. Las quinonas son agentes oxidantes débiles con tendencia a adherirse a nucleófilos; estas características permiten que se encuentren distintos métodos de extracción. Las quinonas insolubles en agua se pueden extraer con disolventes orgánicos utilizando para su purificación métodos cromatográficos, mientras que las moléculas más polares, como las naftoquinonas y benzoquinonas, se pueden arrastrar con vapor de agua, pero estos métodos no aseguran que se extraigan completamente puras (12).

El anillo de la quinona puede experimentar procesos de óxido-reducción. Ya que tiene la capacidad de aceptar uno o dos electrones y formar el correspondiente radical anión o dianión. También las quinonas poseen propiedades ácido-base ya que tienen en su estructura

grupos fenólicos. Las quinonas se unen a iones metálicos en su forma de radical anión o dianión, formando complejos de coordinación con diferentes propiedades magnéticas y electroquímicas (13).

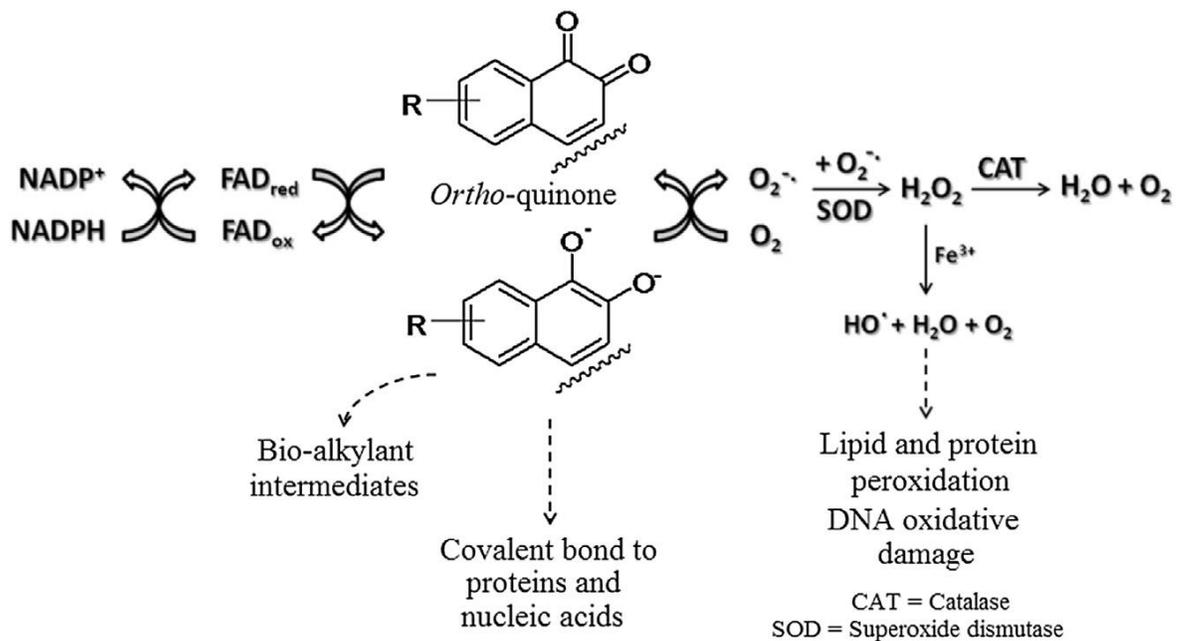


FIGURA 2: REPRESENTACION CICLO REDOX DE QUINONAS Y GENERACION DE METABOLITOS (imagen extraida de *Synthesis of quinoidal molecules: Strategies towards bioactive compounds with an emphasis on lapachones*, 2013) (14).

Debido a todos los procesos bioquímicos en los que participan las quinonas ha existido un interés dentro del área de la farmacología para desarrollar diversos compuestos con actividad biológica utilizando quinonas y gracias a esto se han conocido variadas propiedades para estas moléculas como antiinflamatorias, antivirales, antitumorales, antimicrobianas, antitripanosómica.

## 3.2. NAFTOQUINONAS

### 3.2.1. GENERALIDADES

Las naftoquinonas se pueden encontrar en un gran número de compuestos de origen natural y están asociadas con diversas propiedades biológicas. Su distribución en la naturaleza es bastante amplia, se encuentran en mayor proporción, en plantas superiores de determinadas familias de angiospermas (15).

Su estructura, es un derivado de la naftalina, teniendo 2 átomos de oxígeno formando grupos carbonilo frecuentemente en las posiciones 1,4 y de manera menor en la posición 1,2.

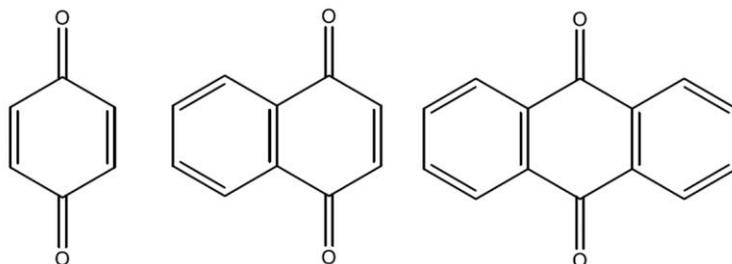


FIGURA 3: ESTRUCTURA DE LA 1,4 Y 1,2-NAFTOQUINONAS (*imagen extraída de Las naftoquinonas más que pigmentos naturales,2011*) (16).

Dentro este grupo existen diversos tipos de naftoquinonas que han sido aisladas desde plantas dentro de las que se encuentran el lapachol, lawsona, juglona y plumbagina que pueden ser distinguidas por su uso tradicional en la medicina India “ (3).

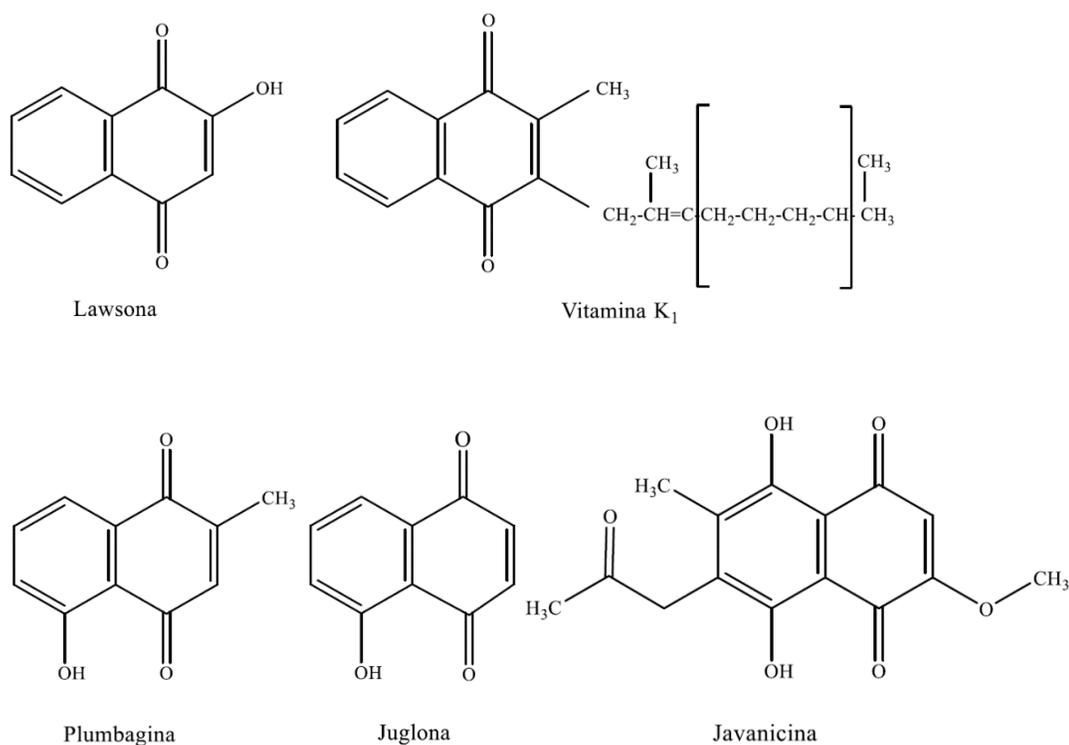


FIGURA 4: ESTRUCTURAS DE ALGUNAS NAFTOQUINONAS DE ORIGEN NATURAL (imagen extraída de *Las naftoquinonas: más que pigmentos naturales*, 2011) (16).

### 3.2.2. BIOSINTESIS

“Las naftoquinonas en los vegetales se sintetizan a través del metabolismo secundario de las plantas donde además se producen un elevado número de compuestos fenólicos. Los anteriores se caracterizan por tener en su estructura un núcleo aromático con uno o varios grupos hidroxilo” (1).

Las naftoquinonas se pueden formar a través de dos rutas biosintéticas: la ruta de los poliacetatos y la del ácido shikímico como muestra la Figura 5 Y 6. La primera ruta de los poliacetatos una molécula de acetil-CoA se condensa sucesivamente con moléculas de malonil-CoA para formar la estructura de las naftoquinonas. En la siguiente ruta esta inicia

con una molécula de ácido shikímico que se condensa con ácido  $\alpha$ -cetoglutarato, el cual proviene del ciclo de los ácidos cítricos. Posteriormente, ocurre una ciclación intramolecular entre el grupo carbonilo del ácido shikímico y el metileno unido al grupo ácido del  $\alpha$ -cetoglutarato, formándose un compuesto biciclo. Finalmente, a través de procesos de descarboxilación y oxidación se forman las naftoquinonas (1).

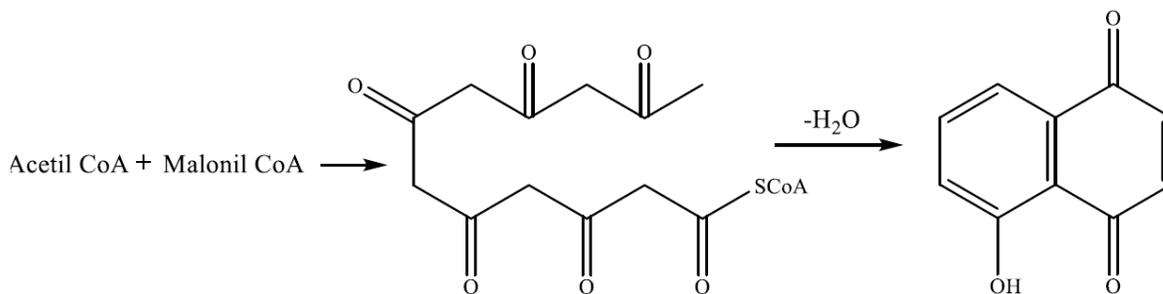
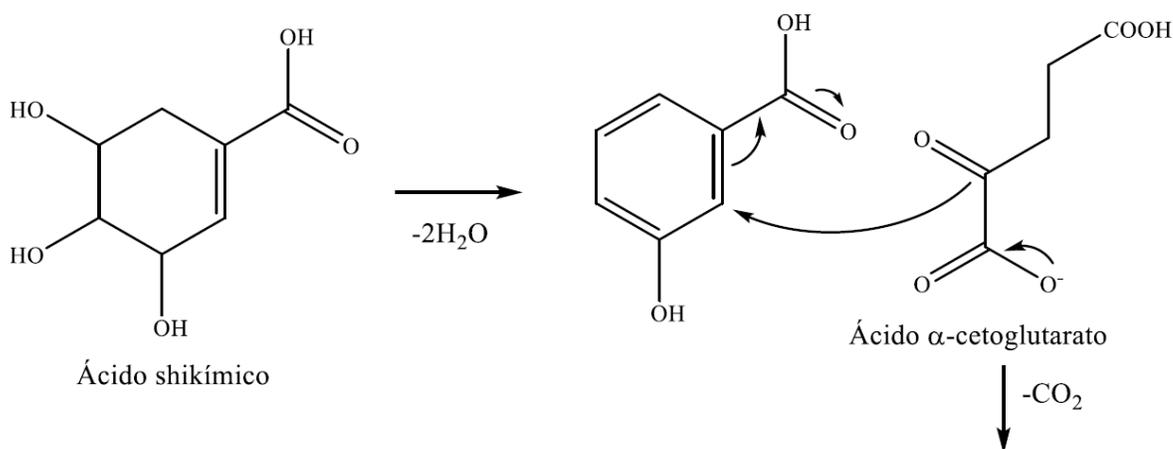


FIGURA 5: RUTA DE LOS POLIACETATOS (imagen extraída de *Importancia química y biológica de naftoquinonas. Revisión bibliográfica, 2015*) (17).



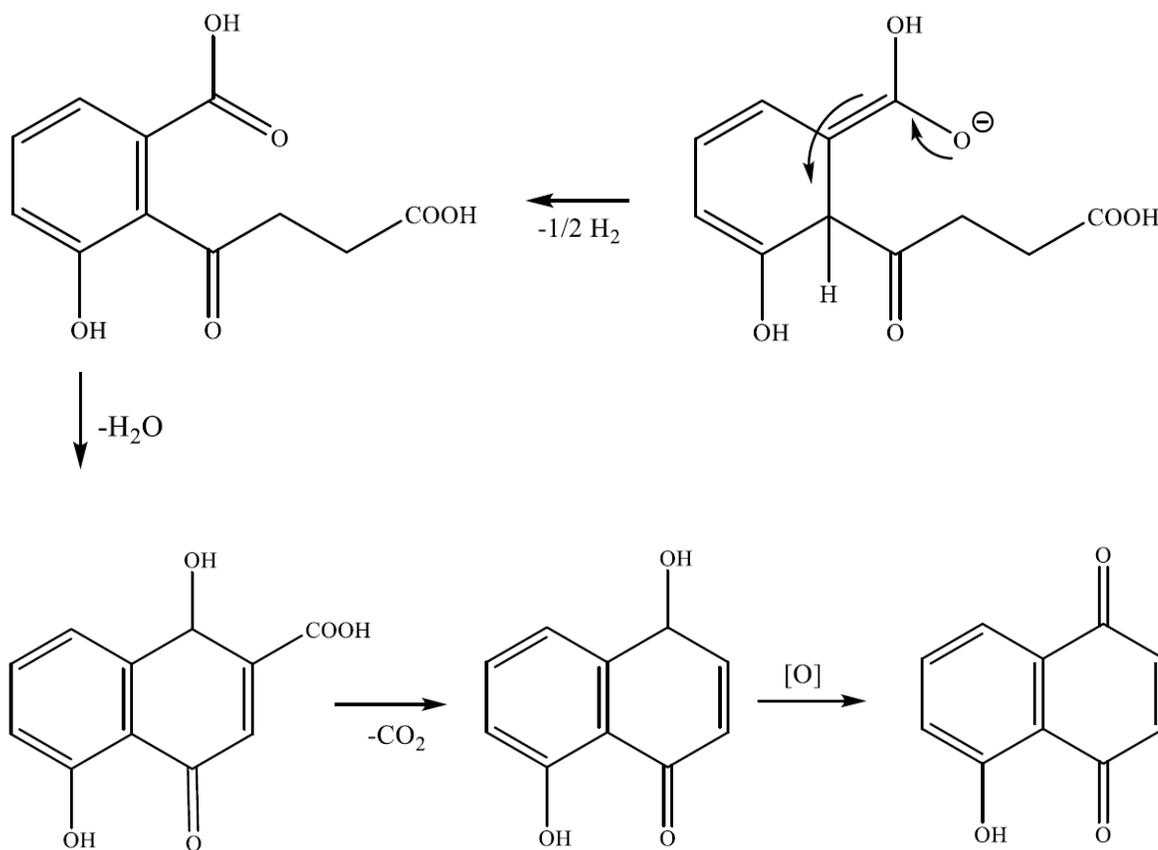


FIGURA 6: RUTA EL ACIDO SHIKIMICO (imagen extraída de *Importancia química y biológica de naftoquinonas. Revisión bibliográfica, 2015*) (17).

### 3.2.3. SINTESIS DE NAFTOQUINONAS

La síntesis y reactividad de las naftoquinonas han sido ampliamente estudiadas. La estructura básica de estos compuestos se emplea para la construcción de numerosos compuestos más complejos. La síntesis del anillo biciclo o triciclo de las naftoquinonas y antraquinonas se realiza principalmente a través de una reacción de Diels-Alder, para obtener anillos de seis miembros (18).

Esta reacción es una estrategia que se usa para formar un conjunto inicial de anillos. La reacción tiene lugar entre un compuesto con dos dobles enlaces conjugados (dieno) y una olefina simple (dienófilo), se lleva a cabo entre el orbital de más baja energía desocupado (LUMO) del dienófilo y el orbital de más alta energía ocupado (HOMO) del dieno, disminuyendo de este modo la energía de activación necesaria para lograr la cicloadición 4+2. Para la síntesis de naftoquinonas se utiliza una quinona con características de dienófilo por sus grupos electroattractores y un dieno (19).

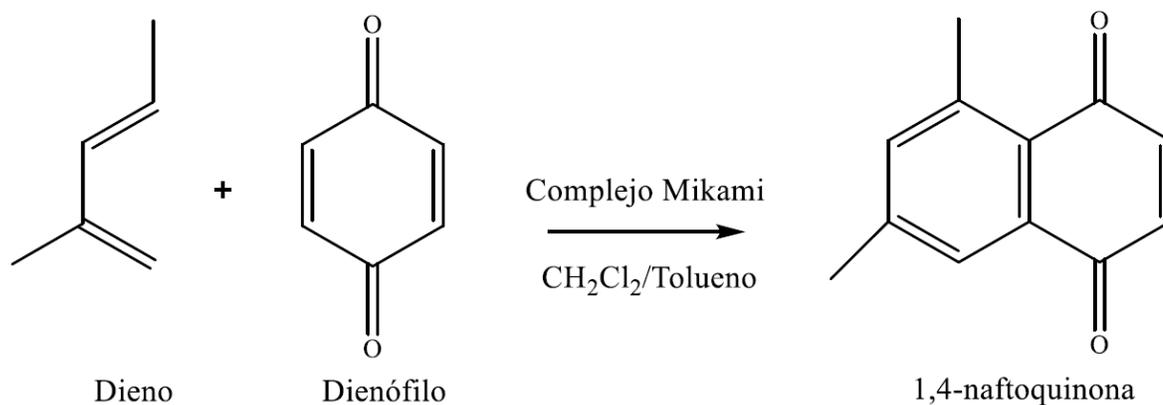


FIGURA 7: REACCION DE DIELS-ALDER EN LA SINTESIS DE 1,4-NAFTOQUINONA (imagen extraída de *Importancia química y biológica de naftoquinonas. Revisión bibliográfica, 2015*) (17).

### 3.2.4. PROPIEDADES QUIMICAS

Las naftoquinonas, se caracterizan, como todas las quinonas, por una alta reactividad de los grupos carbonilos, lo que facilita reacciones de tipo redox en las que acepta uno o dos electrones, a partir de lo cual se generan radicales libres aniónicos (semiquinona) o dianiónico (FIGURA 8). Esta propiedad química explicaría su actividad biológica.

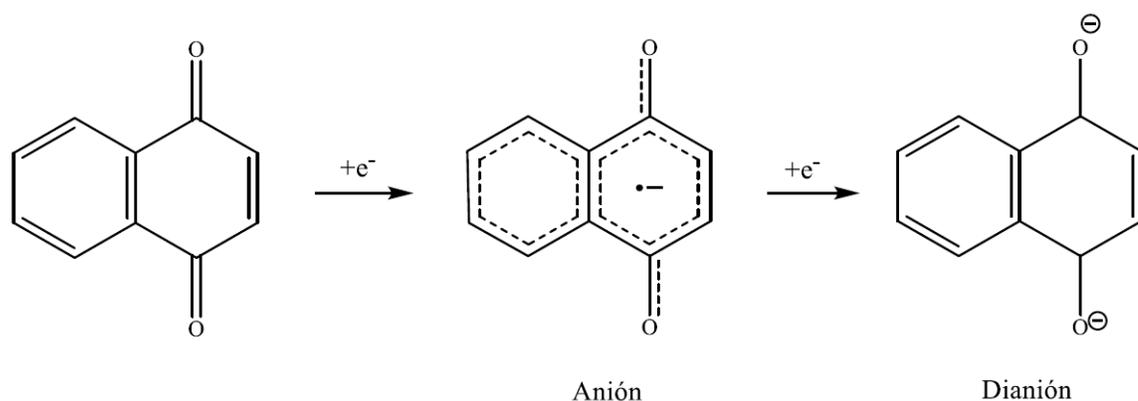


FIGURA 8: FORMACION DE RADICALES ANIONICO Y DIANIONICO EN LAS NAFTOQUINONAS (imagen extraída de *Importancia química y biológica de naftoquinonas. Revisión bibliográfica, 2015*) (17).

Las quinonas son compuestos orgánicos cuyas propiedades químicas les permiten interactuar con target biológicos mediante la formación de enlaces covalentes y actuando como agente transferente de electrones en reacciones de oxido-reducción. (20). “En la mayoría de los casos, la actividad biológica de las naftoquinonas se ha relacionado con sus propiedades de oxidación-reducción y acido- base” (15).

### 3.2.5. ACTIVIDAD BIOLÓGICA

La Figura 9, muestra el ciclo redox típico de una quinona, en el proceso aparecen especies reactivas de oxígeno (ROS) que son las que causarían estrés oxidativo. Las quinonas se oxidan a semiquinona, luego forman un intermediario radicalario que al reaccionar con oxígeno molecular puede generar el anión superóxido, que a su vez pueden producir peróxido de hidrógeno.

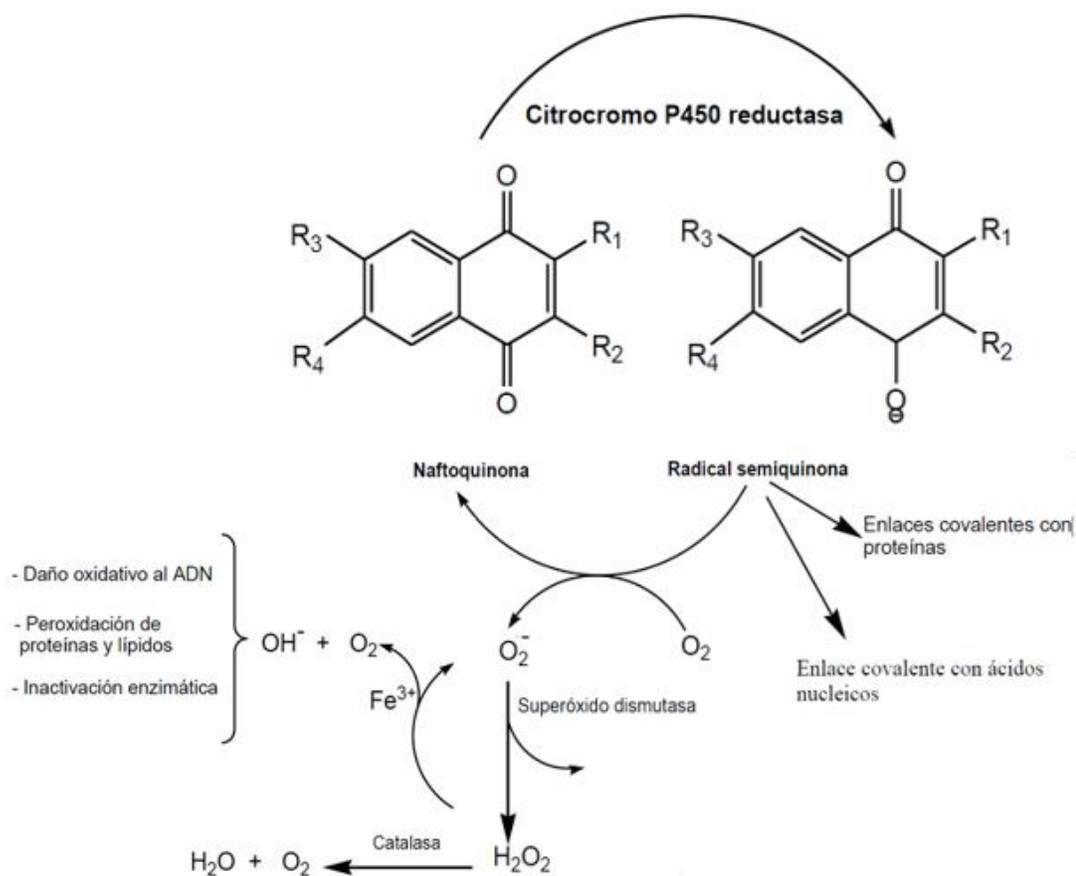


FIGURA 9: CICLO REDOX TÍPICO DE UNA NAFTOQUINONA (imagen extraída de tesis doctoral ESTUDIO QUÍMICO – BIOLÓGICO DE DERIVADOS DE NAFTOQUINONAS CON PORTENCIAL ACTIVIDAD TRIPANOCIDA, 2015) (21).

A partir del anión radical superóxido, ya sea por catálisis con metales de transición o por reacción con  $\text{H}_2\text{O}_2$  se generan radicales hidroxilos, los cuales son extremadamente tóxicos a los que se les atribuye la toxicidad de las quinonas. El  $\text{H}_2\text{O}_2$  no es un radical libre, pero es una sustancia bastante reactiva por lo cual puede promover la oxidación de algunas moléculas, de esta manera el  $\text{O}_2^{\cdot-}$  y el  $\text{H}_2\text{O}_2$  se consideran las especies reactivas del oxígeno (ROS) (22).

“El desbalance entre la formación y la remoción de ROS (especies reactivas del oxígeno) causa daño a las células en los ácidos nucleicos, proteínas y membranas lipídicas esto provocando serios problemas de salud asociados a la edad como problemas cardiovasculares o enfermedades coronarias” (23). El *trypanosoma cruzi* es deficiente en mecanismo de detoxificación, propiedad que lo hace muy susceptible de estrés oxidativo por efecto de ROS (24).

La estimulación de estrés oxidativo es causada por un desequilibrio entre la formación de especies reactivas de oxígeno, como anión superóxido, peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo, entre otros y la capacidad del sistema biológico de reaccionar frente a estos agentes, que pueden causar incluso la muerte celular. Los radicales de oxígeno pueden actuar con macromoléculas generando peroxidación de lípidos y destrucción de membranas, inactivación de enzimas, degradación de ADN y mutagénesis.

Las naftoquinonas son conocidas por alterar la función mitocondrial y la inhibición de la respiración mediante la interferencia con el complejo citocromo bc1, además de promover la generación de especies reactivas del oxígeno (25).

### 3.2.6. PROPIEDADES

“Debido al aumento de enfermedades producidas por microorganismos se ha necesitado encontrar diferentes moléculas que ya sea de manera sintética o semisintética sean activas y un grupo que por sus propiedades ha cobrado importancia son las naftoquinonas” (15).

Se han investigado diferentes características de las naftoquinonas y estas han demostrado por un lado “que presentan actividad antiparasitaria descrita en *Plasmodium*, parásito causante de la malaria donde un fármaco utilizado presenta en su estructura 1,4-naftoquinonas” (26). “Al incorporar a un grupo arilamino, ariltiol o átomos de halógeno a la estructura 1,4-naftoquinona aumenta la eficacia de la actividad biológica” (27), también en *Toxoplasma gondii* se han observado efectos por la generación de ROS (28).

“Dentro de la actividad farmacéutica se tiene por ejemplo a la vitamina K1, un nutriente esencial ya que participa en el proceso de coagulación sanguínea, actúa como cofactor de algunas proteínas plasmáticas como la protrombina”. Además, investigaciones recientes han demostrado que la vitamina K y otras naftoquinonas poseen actividad anticancerígena, esta se atribuye principalmente al estrés oxidativo que generan especies de oxígeno muy reactivas ( $O_2^{\bullet-}$ ,  $HO^{\bullet}$ ,  $H_2O_2$ ) capaces de inhibir al complejo de topoisomerasa, lo que induce el desencadenamiento de la apoptosis celular (29).

La presencia de halógenos o hidroxilos sustituidos en posición 2 incrementa la actividad, esta actividad también incrementa con la sustitución de halógenos en las posiciones 2 y 3 (20).

### 3.3. LAPACHOL

#### 3.3.1. GENERALIDADES

Lapachol es una naftoquinona de origen natural encontrada en plantas medicinales de Sudamérica y de Asia (30); Principalmente en la corteza y la madera de las plantas de los géneros *Tabebuia spp* y *Tecoma spp*. (Bignoniáceas) presentando actividad antitumoral, antibacteriana, antimalárico y antifúngica (16).

El lapachol es un polvo fino amarillento levemente ácido ( $pK_a=6,15$ ) y tiene un punto de fusión entre 139 y 142 °C además tiene un peso relativamente bajo ( $242 \text{ g mol}^{-1}$ ) (31).

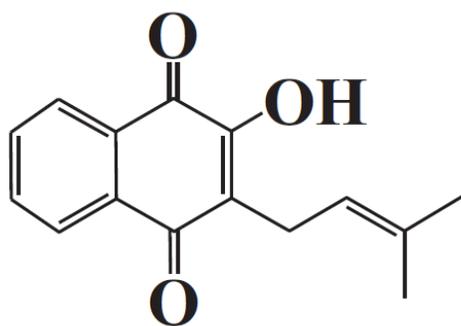


FIGURA 10: ESTRUCTURA DEL *LAPACHOL* (imagen extraída de *Structural elucidation of the metabolites of lapachol in rats by liquid chromatography–tandem mass spectrometry, 2013*) (32).

En solución acuosa el lapachol muestra un cambio de color de un rojo intenso en condiciones alcalinas a amarillo cuando el pH disminuye entre 5 y 6, en estas condiciones de pH el lapachol comienza a precipitar como un polvo amarillo. Debido a la presencia de un

hidroxilo en la molécula el lapachol muestra el típico comportamiento de un ácido débil. La absorción UV máxima del lapachol es a los 251, 278 y 331 nm (2).

El lapachol es fácilmente soluble en soluciones acuosas alcalinas, éter dietílico, acetona y éter de petróleo, además es bastante soluble en metanol, etanol, cloroformo y benceno (33)(34).

### 3.3.2. PROPIEDADES

Desde los años setenta en el siglo XX el lapachol ha sido activamente estudiado en modelos *in vitro* e *in vivo* por sus propiedades anti-oncológicas y anti-microbianas). El interés biológico del lapachol puede ser centralizado en sus mecanismos citotóxicos por inducción del estrés oxidativo generando especies reactivas de oxígeno (ROS) y la alquilación de células nucleofílicas (35). Una característica importante es que la presencia en la madera del lapachol es la principal razón detrás de la gran durabilidad de esta debido a su actividad antimicrobiana (2).

El lapachol debido a su baja toxicidad superficial puede ser aplicado tópicamente para el tratamiento sistémico de enfermedades de la piel, (36) también el lapachol puede mejorar la capacidad de los macrófagos para controlar el crecimiento micobacteriano, debido a su acción extra e intra macrófago, como también su acción inmunomoduladora (25).

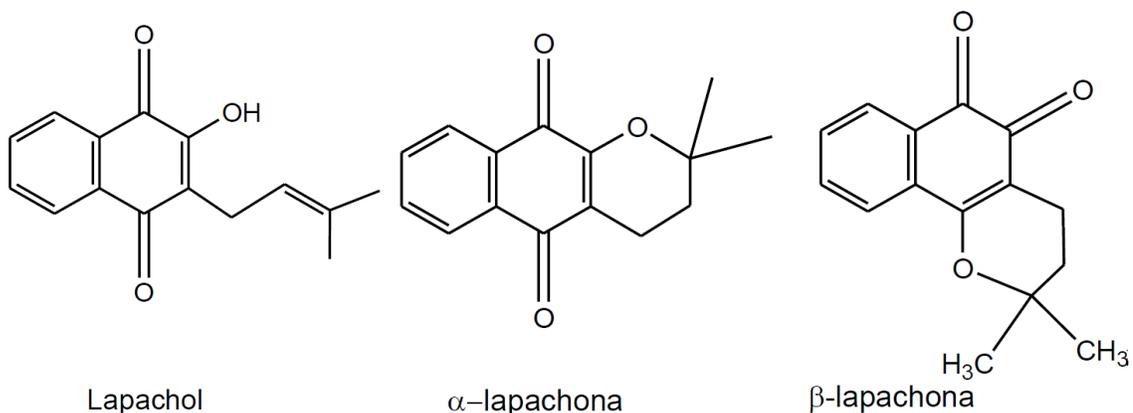
Estudios han demostrado que lapachol es una droga inmunosupresora que atenúa experimentalmente la artritis autoinmune a través de la inhibición de la actividad dihidroorotato deshidrogenasa (fumarato, DHODH) por lo tanto, lapachol podría

considerarse como un posible candidato principal con implicaciones terapéuticas para Artritis reumatoide (36).

Por otro lado, la actividad del lapachol contra *Candida albicans*, *C. tropicalis* y *Cryptococcus neoformans* es similar a la anfotericina B. La actividad antifúngica del lapachol reside en su interacción con la membrana celular del hongo (37); El lapachol también ha sido identificado como agente antifúngico contra la *Cándida elegans* (38).

Un aspecto importante de la presencia del lapachol está dado debido a que es conocido como agente hemorrágico/sangrante, la administración oral de altas dosis de lapachol 100 mg/kg a ratas ha entregado indicios de toxicidad y anemia reversible. En dosis aun mas altas se ha observado náuseas y efectos anticoagulantes, esto se debe a la similaridad estructural entre la vitamina K y el lapachol, además puede inducir una reacción alérgica si entra en contacto con los ojos o asma si es inhalado (33).

En la Figura 11, se muestran tres estructuras de naftoquinonas naturales extraídas de plantas, que, debido a sus propiedades biológicas son reconocidas en la medicina popular y han sido tomadas como estructuras básicas en la síntesis de nuevas moléculas tripanocidas.



*FIGURA 11: ESTRUCTURAS DE NAFTOQUINONAS NATURALES CON ACTIVIDAD TRIPANOCIDA (imagen extraída de tesis doctoral estudio químico -biológico de derivados de naftoquinonas con potencial actividad tripanocida,2015) (21).*

El lapachol y sus análogos han sido utilizados en el tratamiento de la tiña, diarrea, gonorrea e infecciones parasitarias; también son conocidas sus propiedades antitumorales y antifúngicas (39). La ruta para obtener el derivado  $\alpha$ -lapachona es haciendo reaccionar lapachona con ácido clorhídrico (HCl), mientras que la obtención de  $\beta$ -lapachona es utilizando ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (ver Figura 11). El  $\alpha$ -lapachona es más estable en condiciones no ionizantes, mientras que  $\beta$ -lapachona precipita luego del tratamiento con agua (40).

Compuestos relacionados estructuralmente con el lapachol y la  $\beta$ -lapachona han mostrado buena actividad antimalárica contra *Plasmodium falciparum* (41).

$\beta$ -lapachona es una orto-naftoquinona natural análoga del lapachol, presente en pequeñas cantidades en *Tabebuia spp.* Es fácilmente sintetizada mediante el tratamiento del lapachol con ácido sulfúrico y tiene un amplio rango de actividad biológica, incluyendo tripanocida, antibacteriana y anticancerígena (42). La actividad antiinflamatoria también ha sido estudiada, en particular la  $\beta$ -lapachona mostró bloquear de manera dosis dependiente la expresión de citocinas proinflamatorias como la interleucina IL-1b, IL-6 y el factor de necrosis tumoral TF- $\alpha$  (43).

La atovacuona, un análogo de la ubiquinona y relacionado con el lapachol por su estructura química, interfiere en el proceso normal de electrones en la cadena de electrones en la mitocondria. Se ha demostrado que en especies de *Plasmodium*, el sitio primario de acción del compuesto se localiza entre el citocromo B y el c1 del complejo III (44) y que corresponde al acarreador electrónico Fe-S del complejo III (45).

### 3.4. TRIAZOLES

Un triazol es un compuesto heterocíclico de cinco miembros que contiene tres átomos de nitrógeno; en dos formas isoméricas diferentes: los 1,2,3-triazoles, y 1,2,4-triazoles

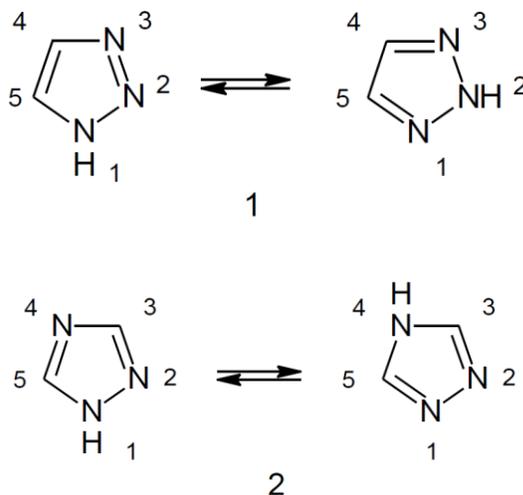


FIGURA12: ISOMEROS DEL TRIAZOL, 1 CORRESPONDE A 1,2,3 TRIAZOL Y 2 CORRESPONDE A 1,2,4 TRIAZOL (imagen obtenida de AL-SOUD, Yaseen., Najim. *Synthesis, antitumor and antiviral properties of some 1,2,4-triazole derivatives*. En: *Il Farmaco*, 2004. Vol 59, p 775-783 (46).

Los 1,2,4-triazoles son heterociclos que presentan una estructura planar aromática que posee tautomerismo anular (46). También por tener un núcleo de alta estabilidad inherente de su naturaleza atómica se forma un sexteto aromático por el aporte de un electrón  $\pi$  de cada átomo que se une por dobles enlaces y los dos electrones restantes son del tercer átomo de nitrógeno (47). Este tipo de estructuras se estabiliza por resonancia y aunque el núcleo del triazol puede estar representado por sus formas tautoméricas, cada tautómero es capaz de resonar extendidamente y su estructura se representa en una forma correcta como un híbrido (48).

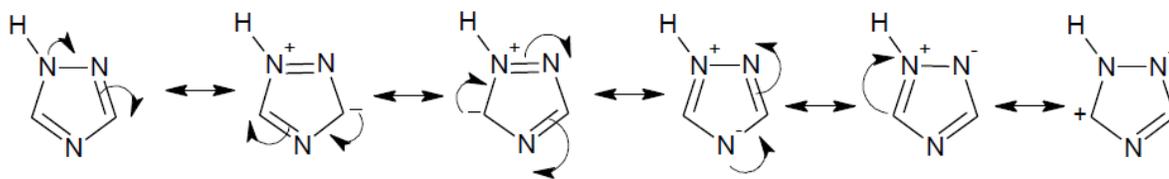


FIGURA 13: ESTRUCTURAS RESONANTES DEL 1,2,4 TRIAZOL (*imagen obtenida de SÍNTESIS DE NUEVOS 1,2,4-TRIAZOLES POR REACCIÓN DE AROILIMIDOTIOCARBONATOS, 2017*) (49)

### 3.4.1. PROPIEDADES QUÍMICAS Y FÍSICAS DE LOS TRIAZOLES.

La gran mayoría de los 1,2,3-triazoles son sólidos a temperatura ambiente de color que varía entre blanco a café oscuro. “Son solubles en disolventes polares como etanol, cloroformo, DMSO, DMF o THF e insolubles en disolventes no polares como los éteres” (48). El comportamiento ácido-base de este grupo de compuestos ha sido bien estudiado, principalmente se comportan como ácidos débiles, formando sales por reacción con bases fuertes como por ejemplo metóxido de sodio (NaOMe) o hidruro de sodio (NaH). Los aniones así formados pueden reaccionar rápidamente con reactivos electrofílicos (Figura 14) (50).

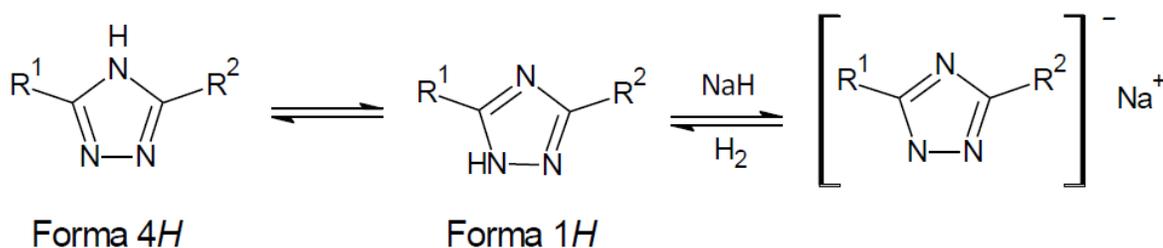


FIGURA 14: COMPORTAMIENTO ACIDO-BASE DE LOS 1,2,4-TRIAZOLES (*imagen obtenida de STRAIN Harold, Metallic salts of lophine, 1,2,4-triazole and tetrazole.*

*En Journal of the American Chemical Society, 3 de agosto de 1927. Vol 49, p. 1995-2000 (50).*

### 3.4.2. IMPORTANCIA FARMACOLÓGICA Y BIOLÓGICA DE LOS 1,2,3-TRIAZOLES

Los 1,2,3-triazoles presentan variadas aplicaciones tales como anticonvulsionantes, antimicrobianos, antibacteriales e incluso como moduladores de sistema nervioso central (51) , dentro de la actividad biológica importante, se ha encontrado 1,2,3-triazoles en pesticidas, en materiales funcionales, como ligandos en catálisis (52), a su vez se han reportado diferentes compuestos que contienen el anillo 1,2,3-triazólico como sustituyente o como estructura central en la molécula.

### 3.4.3. REACCIONES DE CICLOADICION 1,3 DIPOLARES A ALQUINOS

Las reacciones de cicloadición [3+2] de compuestos 1,3-dipolares (cicloadición de Huisgen) con sustratos que contienen enlaces C-C triples son procesos conocidos desde hace varios años. Desde un punto de vista sintético, estas reacciones permiten la preparación de heterociclos de cinco eslabones con una total economía atómica. Además, debido a que presentan una compatibilidad elevada con la presencia de una considerable variedad de grupos funcionales, su aplicación en procesos de síntesis convergente resulta particularmente adecuada. La formación de los heterociclos resultantes de estas cicloadiciones suele encontrarse muy favorecida termodinámicamente.

Las azidas son derivados 1,3-dipolares cuya descomposición se encuentra muy favorecida termodinámicamente, aunque debido a su elevada estabilidad cinética pueden ser aisladas.

La reacción de azidas con alquinos es una cicloadición [3+2] térmica concertada que conduce, salvo en casos muy favorables, a la formación de 1,2,3-triazoles de modo no regio selectivo.

Las reacciones de cicloadición [3+2] de derivados 1,3-dipolares y alquinos catalizadas por cobre constituyen una herramienta de enorme potencial para la construcción de compuestos, particularmente heterocíclicos, de utilidad sintética y farmacológica (53).

Los triazoles poseen la capacidad de interactuar en varios niveles de la síntesis del ergosterol, siendo el más importante y mejor estudiado el bloqueo de la enzima 14-lanosterol desmetilasa dependiente del citocromo P450, la cual escinde un grupo metilo del lanosterol, produciendo un intermediario que es sustrato del siguiente paso. Los triazoles de 2<sup>o</sup> generación (fluconazol, voriconazol, itraconazol), demostraron además la capacidad de intervenir en pasos posteriores de esta vía sintética, actuando por ejemplo sobre la 24-metileno dihidrolanosterol demetilasa (54).

### 3.5. CLICK CHEMISTRY

La química clic es un término global que se refiere a reacciones altamente químio selectivas y reactivas donde 2 grupos funcionales reaccionan exclusivamente entre sí, incluso en presencia de otras funcionalidades reactivas. “Este método de inmovilización bioortogonal tiene la capacidad de ensamblar covalentemente dos moléculas químicamente diferentes en condiciones suaves, como los carbohidratos complejos con péptidos” (55).

Kolb et al. (56) pionero en la química clic menciona que “la reacción debe ser modular, con amplio alcance, que obtenga altos rendimientos, que genere subproductos inofensivos

que puedan ser eliminados por métodos no cromatográficos y que sea estereoespecífica (pero no necesariamente enantioselectiva)”.

La química clic tiene como objetivo promover el uso de reacciones orgánicas que permiten una reacción fácil, selectiva y de alto rendimiento bajo condiciones de reacción leves con pocos o ningún subproducto (57). Los enlaces dobles de carbono-carbono o triple enlace carbono-carbono proporcionan la energía base para la conexión clic y sirven como material de partida (58).

Existen requisitos entre ligandos y polímeros para que ocurran las reacciones clic dentro de los cuales, es importante que los rendimientos deben ser cuantitativos, debe existir una alta tolerancia de grupos funcionales, no deben reaccionar con los disolventes, independientemente de su carácter polar / no polar, y finalmente las reacciones deben ocurrir en varios tipos de interfaces, como sólido /líquido, líquido/líquido, o incluso sólido /sólido (59).

George Hammond (60) menciona que “El objetivo fundamental de la síntesis no es la generación de nuevos compuestos, sino la producción de nuevas propiedades”. Dentro de los requerimientos para este proceso en la química clic se deben incluir condiciones de reacciones simples, idealmente que no reaccione con agua y oxígeno o que estos sean fácilmente removidos, que los reactivos sean fáciles de conseguir, evitar el uso de solventes o que sean solventes benignos o fácilmente removibles; La purificación si es requerida debe ser idealmente por métodos no cromatográficos como la cristalización o destilación y los productos deben ser estables bajo condiciones fisiológicas.

Las reacciones clic toman lugar en agua o medios acuosos, aunque también pueden ser usados buffers para las reacciones, incluso es biocompatible por lo cual pueden tomar lugar en células vivas (61) . La presencia de agua es importante y beneficiosa no solo por razones de reactividad, sino también porque es el mejor disipador de calor, lo cual es muy importante

en reacciones clic a magnitudes más grandes, además que el hecho que se utilice como disolvente permite que evita la interferencia de grupos funcionales como alcoholes o amidas que pueden reaccionar en moléculas biológicamente activas. (62). Las reacciones clic tienen características como tener una alta termodinámica usualmente más altas que  $20 \text{ kcal mol}^{-1}$  (56).

Las reacciones clic no son pH sensibles, ya que no se necesita un control del pH para generar la reacción, tampoco es necesario agregar algún buffer ya sea ácido o básico, debido a que trabaja bien esta metodología entre intervalos de 4 a 11 en la escala de pH (63). Además, este procedimiento se puede realizar in vivo para medir actividad enzimática (64).

La química clic tiene como principios que la búsqueda debe ser restringida a moléculas que sean fáciles de hacer. Estos principios no reemplazan métodos ya existentes para la búsqueda de drogas o medicamentos, sino más bien son un complemento. Dentro de los tipos de química clic encontramos las reacciones de la familia 1,3-dipolar (46), pero también las reacciones Diels-Alder (65) (48). reacciones nucleofílicas de anillo abierto, por mencionar algunas.

Un grupo de la química clic que cobra importancia es la llamada cicloadición 1,3-dipolar la cual fue reportada por Huisgen por primera vez para la síntesis de 1,2,3 triazoles, que ocurre con dos diferentes grupos funcionales como precursores, un azida ( $R_1-N_3$ ) y un alquino ( $R_2-C\equiv CH$ ).

Para producir estas reacciones de cicloadición 1,3 dipolar es necesario contar con los grupos azida y alquino en los extremos de 2 polímeros diferentes, con esto se han podido sintetizar macromoléculas quiméricas (66). Estas reacciones son muy selectivas ya que toman lugar entre azidas y alquinos, donde no interfieren otros grupos orgánicos presentes en el ADN o proteínas como son los grupos amino o carboxilos (67).

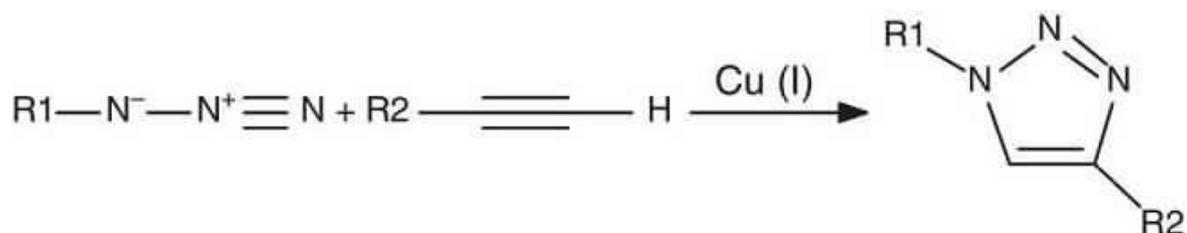


FIGURA 15: CICLOADICION 1,3-DIPOLAR ENTRE AZIDAS Y ALQUINOS (*imagen obtenida de El crecimiento en los extremos: reactividad de grupos terminales en polímeros para la síntesis de copolímeros bloque, 2015*) (66).

Las reacciones clic en algunos casos podían ser muy lentas, pero mediante la introducción de la catálisis de cobre (Cu) se han conseguido mejoras significativas tanto en la regioselectividad como también en las tasas de reacción (68).

Las aplicaciones de la química clic con triazoles son bastante variadas desde tratamiento Anticancerígeno como también inhibidor de la proteasa en VIH, antituberculosos, antifúngico y antibacteriano (69).

### 3.5.1. CLICK CHEMISTRY ASOCIADO A QUINONAS

La siguiente imagen muestra diferentes reacciones en las cuales por un lado  $\beta$ -lapachona y no  $\beta$ -lapachona interactúan con grupos 1,2,3 triazoles produciéndose modificaciones en los anillos de las naftoquinonas, obteniéndose con esto mejora en la actividad tripanocida de las moléculas quinoides.

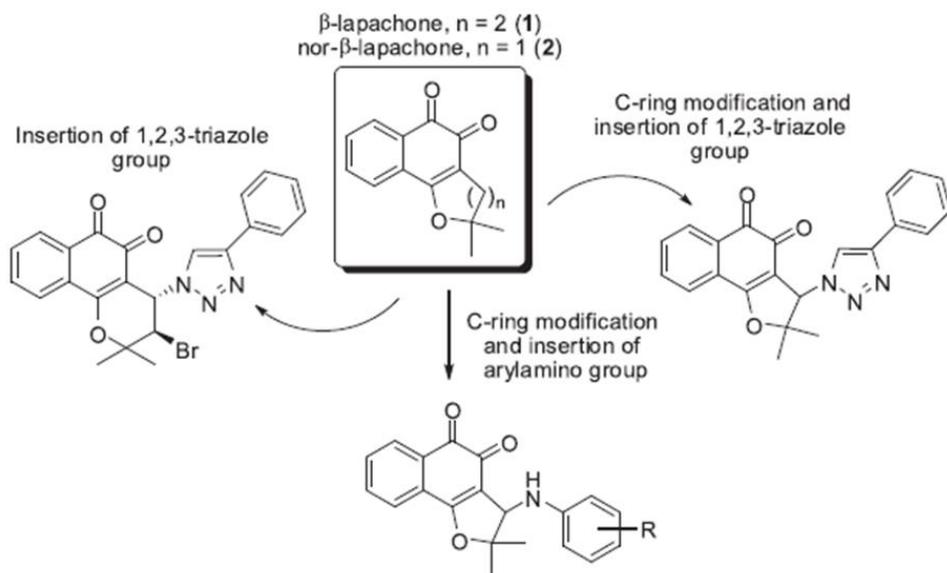


FIGURA 16: NAFTOQUINONAS TRIPANOCIDAS OBTENIDAS POR MODIFICACION DE LOS ANILLOS (*imagen obtenida de On the search for potential anti-Trypanosoma cruzi drugs: Synthesis and biological evaluation of 2-hydroxy-3-methylamino and 1,2,3-triazolic naphthoquinoidal compounds obtained by click chemistry reactions, 2012*) (70).

En la siguiente reacción mediante química clic se utiliza el 2 bromo-1,4-naftoquinona con el triazol para obtener la reacción gracias a la presencia del grupo alquino y la azida. También es importante la presencia del cobre ya que ayuda a que la reacción ocurra más rápido.

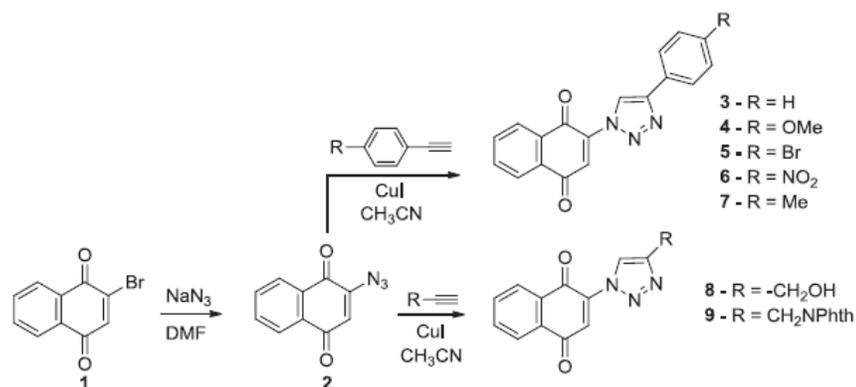


FIGURA 17: COMPUESTOS NAFTOQUINOIDES ASOCIADOS A 1,2,3 (imagen obtenida de *On the search for potential anti-Trypanosoma cruzi drugs: Synthesis and biological evaluation of 2-hydroxy-3-methylamino and 1,2,3-triazolic naphthoquinoidal compounds obtained by click chemistry reactions, 2012*) (70).

La figura 18 muestra la 1,4 naftoquinona y como mediante distintos grupos radicales su función puede variar desde tripanocida como también antialérgico o antibacterial, mediante la asociación de 1,2,3 triazoles en distintas partes de su anillo.

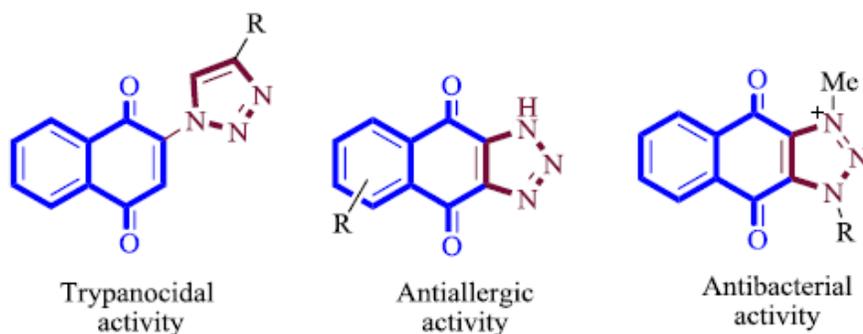


FIGURA 18: ESTRUCTURAS QUE PREVIAMENTE FUERON REPORTADAS ASOCIANDO 1,2,3 TRIAZOLES A 1,4 NAFTOQUINONAS (imagen obtenida de *Sequential synthesis of amino-1,4-naphthoquinone-appended triazoles and triazole-chromene hybrids and their antimycobacterial evaluation, 2014*) (71).

## 4. OBJETIVOS

### 4.1. OBJETIVO GENERAL

Preparar derivados del lapachol conteniendo anillo triazol utilizando la técnica “click chemistry”.

### 4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Introducir grupos azida y/o alquino al lapachol mediante reacciones de semisíntesis.
- Obtener mediante reacciones de click chemistry entre 10 y 15 derivados del lapachol con grupo triazol.
- Purificar los derivados obtenidos por métodos cromatográficos mediante columnas conteniendo silica gel o sephadex LH-20.
- Identificar la generación de los derivados preparados mediante métodos espectroscópicos y espectrométricos ( $^1\text{H}$ -RMN,  $^{13}\text{C}$ -RMN, IR, MS, etc.).

## 5. MATERIALES Y METODOS

### 5.1. MATERIALES

Tabla 1: REACTIVOS Y MATERIALES

<b>Reactivos</b>	<b>Materiales</b>
Ácido pentanoico (C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> )	Agitador magnético
Diclorometano (CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> )	Balón sin base
1,3-diciclohexilcarbodiimida	Matraz Erlenmeyer
Lapachol (C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub> )	probeta
Dimetilaminopiridina (DMAP)	Embudo de separación
Sulfato de sodio (Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	Vaso precipitado
tetrahidrofurano (THF)	Soporte universal
Sulfato de cobre pentahidratado (CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O)	Balanza de precisión
ascorbato sódico (C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> O <sub>6</sub> Na)	Pinzas
acetato de etilo (EtOAc)	Gradillas
Carbonato de sodio Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Embudo
Cloruro de sodio (NaCl)	Silica gel
dimetilformamida (DMF)	Pizeta
Catalizador de rutenio (Cp* <i>Ru</i> (PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl)	Papel filtro
	Bureta

#### **Material vegetal.**

A partir de extractos etanolicos de la madera del árbol “lapacho” (*Tabebuia heptaphylla*), recolectada en el sur de Chile, se aisló la naftoquinona lapachol.

## 5.2. MÉTODOS

### 5.2.1. AISLAMIENTO

Para el aislamiento se utilizaron técnicas cromatográficas en columna conteniendo Sílica gel utilizando como solventes mezclas de hexano con acetato de etilo. Se recolectaron fracciones y se combinaron teniendo en cuenta sus patrones de TLC los cuales se compararán con un estándar de lapachol para identificar el compuesto.

### 5.2.2. MODIFICACIONES QUIMICAS

Las metodologías de reacción utilizadas en esta tesis fueron optimizadas en trabajos anteriores realizados en el instituto de química de recursos naturales (73) (74) (75).

### 5.2.3. PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA PREPARACION DE ESTERES DE LAPACHOL:

A una disolución del ácido pentinoico (1,0 mmol) en diclorometano (DCM) seco (2,5 ml) se le agregara 1,3-diciclohexilcarbodiimida (DCC) (1,0 mmol), esta solución se agita durante 10 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se adiciona lapachol (1,0 mmol) disuelto en DCM seco (2,5 ml), junto con una cantidad catalítica de dimetilaminopiridina (DMAP) y se deja en agitación durante 24 h. La reacción se detiene con agua y se extrae dos veces con DCM. La fase orgánica se seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , y se purifica por cromatografía en columna de sílica gel.

#### 5.2.4. REACCION DE LAPACHOL CON ACIDO 4-PENTINOICO

Se hizo reaccionar lapachol (242 mg, 1 mmol) y ácido 4-pentinoico (196 mg, 2 mmol, 2 equiv.) en DCM (10 ml) de acuerdo con el procedimiento general. Se purificó por cromatografía en columna rápida (Hex / EtOAc 8:2) obteniéndose un sólido amarillo correspondiente al compuesto **2**.

#### 5.2.5. REACCION DE LAPACHOL CON ACIDO 5-AZIDO-PENTANOICO

Se hizo reaccionar lapachol (242 mg, 1 mmol) y ácido 5-azidopentanoico (286 mg, 2 mmol, 2 equiv.) en DCM (10 ml) de acuerdo con el procedimiento general. Se purificó por cromatografía en columna rápida (Hex / EtOAc 8:2) obteniéndose un sólido amarillo correspondiente al compuesto **3**.

#### 5.2.6. PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA PREPARACION DE ETER DE LAPACHOL:

A una solución de lapachol (500 mg, 2,06 mmol) disuelto en acetona se le agregó  $K_2CO_3$  y se agito por 10 minutos. Luego una solución de 3-bromo-1-propino fue adicionada de a gotas a temperatura ambiente. Posteriormente la reacción se calentó a reflujo por 12 horas a 60 °C. Se concentró y se extrajo con AcOEt y agua, se secó sobre  $Na_2SO_4$  y el crudo se purificó mediante cromatografía en columna rápida (Hex / EtOAc 9:1) obteniéndose un sólido amarillo correspondiente al compuesto **4**.

### 5.3. PREPARACION DE DERIVADOS TRIAZOL

#### 5.3.1. PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA PREPARACION DE DEIVADOS 1,2,3-TRIAZOL-QUINONA 1,5-DISUBSTITUIDOS

A la quinona con grupo alquino (1,0 equiv.) disuelta en tetrahidrofunano (THF) se le agregó la correspondiente azida aromática (1,0 equiv.). Posteriormente se adicionó  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (20 mol%) y ascorbato sódico (40 mol%) y se dejó en agitación durante 24 h a temperatura ambiente. La reacción se detuvo con agua, se extrajo con acetato de etilo (EtOAc) y la fase orgánica se lavó sucesivamente con  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (sat.), solución de NaCl (sat.) y finalmente agua. La fase orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se concentró y se purificó por cromatografía de columna de sílica gel.

#### 5.3.2. OBTENCION DE DEIVADOS 1,2,3-TRIAZOL-QUINONA 1,4-DISUBSTITUIDOS A PARTIR DEL COMPUESTO 2

*Se probaron 4 metodologías ocupando catalizador de rutenio (RuAAC) en busca de derivados con anillo triazol-1,4-disustituidos. Sin embargo, solo una de ellas dio el producto deseado, esta es la siguiente:*

A una solución del compuesto **2** (32 mg, 0,1 mmol) y *p*-nitrobencilazida (220  $\mu\text{l}$ , 0,11 mmol,  $c = 0,5 \text{ M}$ , 1,1 equiv.) en dioxano (1 ml) se le agregó catalizador de rutenio  $[\text{Cp}^*\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2]$  (0,02 equiv.) en dioxano 1 mL. La reacción fue llevada a microondas (150W) a  $60^\circ\text{C}$  por 30 minutos. Posteriormente se agregó tolueno (20 mL) y el solvente fue removido bajo vacío. El crudo fue particionado en acetato de etilo (EtOAc, 20 mL) y agua (20 mL), la fase acuosa fue extraída con EtOAc (2x20 mL). La fase orgánica fue secada sobre  $\text{MgSO}_4$ , filtrada y concentrada al vacío. Luego se Purificó por cromatografía en columna (Hex / EtOAc 7: 3) que proporcionó **2A**.

### 5.3.3. OBTENCION DE DERIVADOS 1,2,3-TRIAZOL-QUINONA 1,5-DISUBSTITUIDOS A PARTIR DEL COMPUESTO 2

Se hizo reaccionar el compuesto **2** (32 mg, 0,1 mmol), con una solución de *p*-nitrobencilazida (220 µl, 0,11 mmol, c = 0,5 M, 1,1 equiv.) en THF (1 ml) de acuerdo con el procedimiento general (5.3.1), Se Purificó por cromatografía en columna (Hex / EtOAc 7: 3) que proporcionó **2B**.

### 5.3.4. OBTENCION DE DERIVADOS 1,2,3-TRIAZOL-QUINONA A PARTIR DEL COMPUESTO 3

Se hizo reaccionar el compuesto **3** (37 mg, 0,1 mmol), con una solución de azidobenceno (220 µl, 0,11 mmol, c = 0,5 M, 1,1 equiv.) en THF (1 ml). Posteriormente se adicionó CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (20 mol%) y ascorbato sódico (40 mol%) y se dejó en agitación durante 24 h a temperatura ambiente. La reacción se detuvo con agua, se extrajo con acetato de etilo (EtOAc) y la fase orgánica se lavó sucesivamente con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (sat.), solución de NaCl (sat.) y finalmente agua. La fase orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró bajo vacío. Se purificó por cromatografía en columna (Hex / EtOAc 7: 3) que proporcionó **3A**.

### 5.3.5. OBTENCION DE DERIVADOS 1,2,3-TRIAZOL-QUINONA A PARTIR DEL ETER 4:

#### COMPUESTO 4A:

Se hizo reaccionar el compuesto **4** (28 mg, 0,1 mmol), con una solución de 1-azido-4-fluorobenceno (220 µl, 0,11 mmol, c = 0,5 M, 1,1 equiv.) en THF (1 ml) de acuerdo con el procedimiento general (5.3.1), Se Purificó por cromatografía en columna (Hex / EtOAc 8:2) que proporcionó **4A**.

#### COMPUESTO **4B**:

Se hizo reaccionar el compuesto **4** (28 mg, 0,1 mmol), con una solución de y 1-azido-4-bromobenceno (220  $\mu$ l, 0,11 mmol, c = 0,5 M, 1,1 equiv.) en THF (1 ml) de acuerdo con el procedimiento general (5.3.1), Se Purificó por cromatografía en columna (Hex / EtOAc 8:2) que proporcionó **4B**.

#### COMPUESTO **4C**:

Se hizo reaccionar el compuesto **4** (28 mg, 0,1 mmol), con una solución de y 1-azido-4-iodobenceno (220  $\mu$ l, 0,11 mmol, c = 0,5 M, 1,1 equiv.) en THF (1 ml) de acuerdo con el procedimiento general (5.3.1), Se Purificó por cromatografía en columna (Hex / EtOAc 8:2) que proporcionó **4C**.

#### COMPUESTO **4D**:

Se hizo reaccionar el compuesto **4** (28 mg, 0,1 mmol), con una solución de y 1-azido-4-(trifluorometil) benceno (220  $\mu$ l, 0,11 mmol, c = 0,5 M, 1,1 equiv.) en THF (1 ml) de acuerdo con el procedimiento general (5.3.1), Se Purificó por cromatografía en columna (Hex / EtOAc 8:2) que proporcionó **4D**.

## 6. RESULTADOS

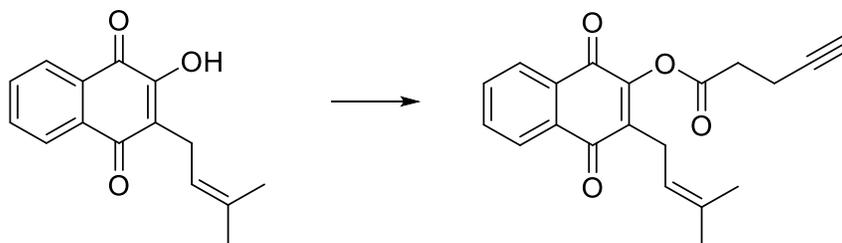
Las modificaciones a la naftoquinona lapachol (compuesto **1**) permitieron la obtención de 10 derivados. Las reacciones se hicieron de acuerdo a los procedimientos descritos en la sección Materiales y Métodos.

Se prepararon dos derivados esteres de lapachol, uno con unidad alquino terminal (compuesto **2**) y el otro con unidad azida terminal (compuesto **3**) los cuales luego se hicieron reaccionar para generar los derivados triazolicos **2A**, **2B** y **3A**. Los compuestos **2A** y **2B** son isómeros que solo se diferencian en la posición en la cual se fusiona el anillo triazol utilizando la técnica “click chemistry”. El derivado triazol 1,4-disustituido (compuesto **2A**) se logra obtener utilizando catalizador de Rutenio mientras que el derivado triazol 1,5-disustituido (compuesto **2B**) se prepara por medio de catalizador de Cobre. Cabe destacar que los derivados triazoles 1,4-disustituidos son bastante difíciles de obtener por lo que la puesta a punto de la metodología para la preparación de este derivado fue un gran logro dentro de la tesis.

Por otra parte se preparó un derivado de lapachol con grupo funcional éter conteniendo unidad de alquino terminal (compuesto **4**). Este se hizo reaccionar con diferentes azidas aromáticas sustituidas utilizando catalizador de Cobre obteniéndose los derivados **4A**, **4B**, **4C** y **4D** con rendimientos bastante buenos (entre 57-65 %).

A continuación se detallan las estructuras y porcentajes de rendimiento de las reacciones mencionadas:

### 6.1.1. REACCION DE LAPACHOL CON ACIDO 4-PENTINOICO



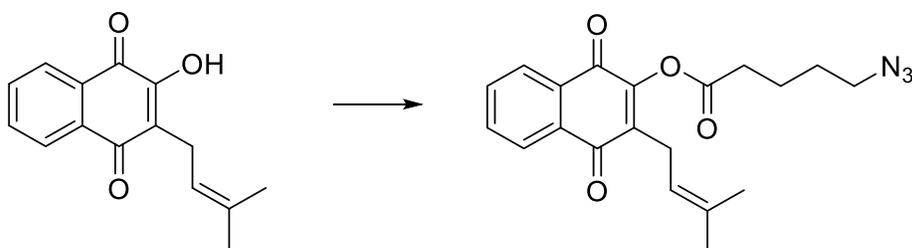
Lapachol

2

Figura 19: Reacción de Formación del Compuesto 2

**Rendimiento: 73% (235mg)**

### 6.1.2. REACCIÓN DE LAPACHOL CON ÁCIDO 5-AZIDO-PENTINOICO



Lapachol

3

Figura 20: Reacción de formación del compuesto 3

**Rendimiento: 43% (162 mg)**

### 6.1.3. REACCIÓN DE LAPACHOL CON 3-BROMO-1-PROPINO

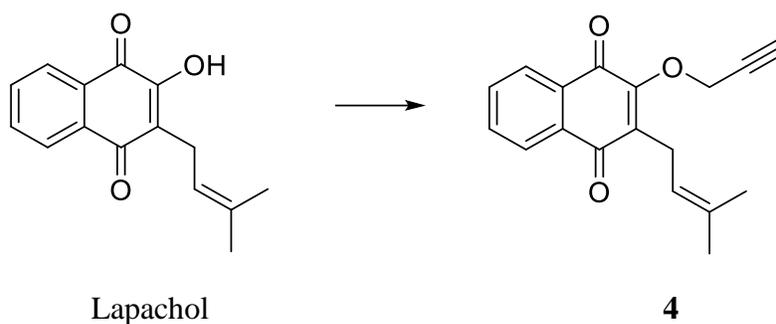


Figura 21: Reacción de formación del compuesto 4

**Rendimiento: 56% (323 mg)**

## 6.2. DERIVADOS DE TRIAZOL

### 6.2.1. OBTENCIÓN DEL DERIVADO 1,2,3-TRIAZOL-QUINONA 1,4-DISUBSTITUIDO A PARTIR DEL COMPUESTO 2

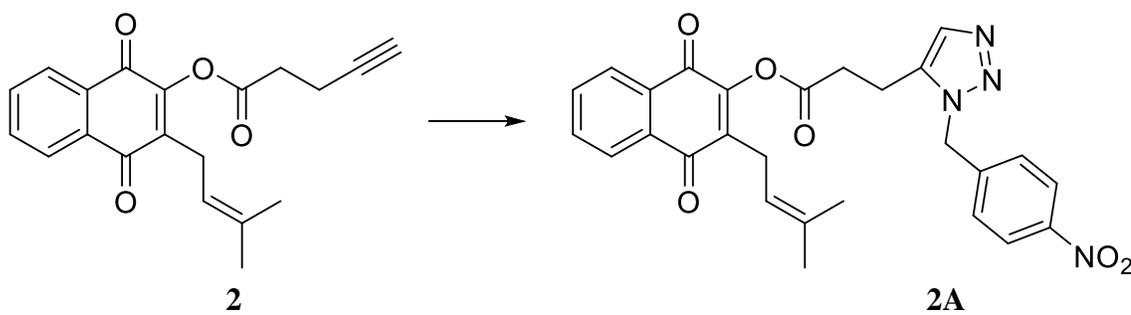


Figura 22: Reacción de formación del compuesto 2A

**Rendimiento: 53% (26 mg)**

6.2.2. OBTENCIÓN DEL DERIVADO 1,2,3-TRIAZOL-QUINONA 1,5-DISUBSTITUIDO A PARTIR DEL COMPUESTO 2

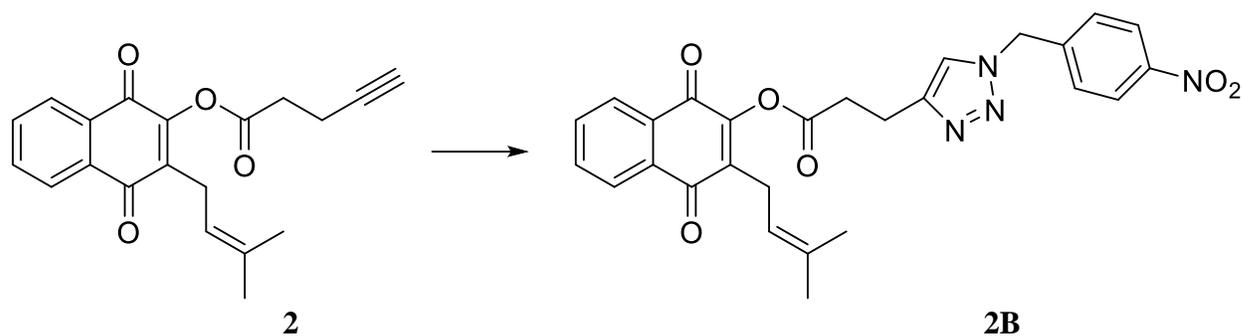


Figura 23: Reacción de formación del compuesto 2B

**Rendimiento: 67% (34 mg)**

6.2.3. OBTENCIÓN DE DERIVADOS 1,2,3-TRIAZOL-QUINONA A PARTIR DEL COMPUESTO 3:

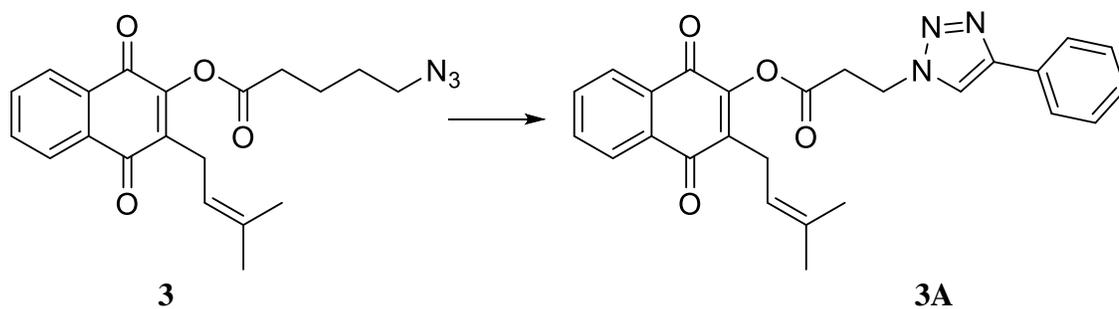


Figura 24: Reacción de formación del compuesto 3A

**Rendimiento: 66% (29 mg)**

#### 6.2.4. OBTENCION DEL DERIVADO 4A A PARTIR DEL COMPUESTO 4

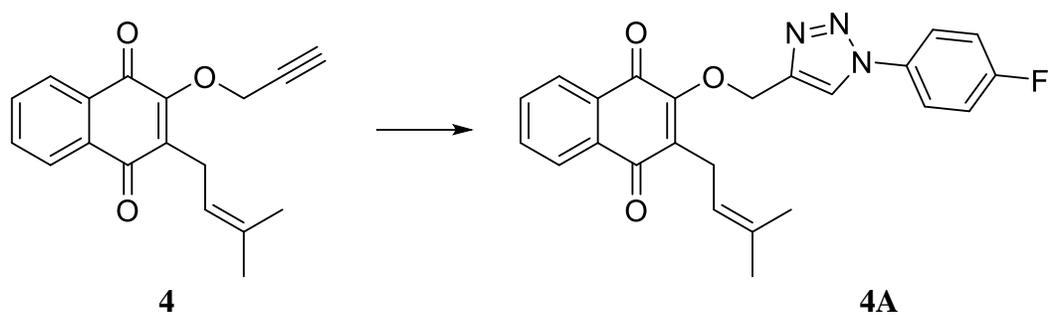


Figura 25: Reacción de formación del compuesto 4A

**Rendimiento: 57% (46 mg)**

#### 6.2.5. OBTENCION DEL DERIVADO 4B A PARTIR DEL COMPUESTO 4

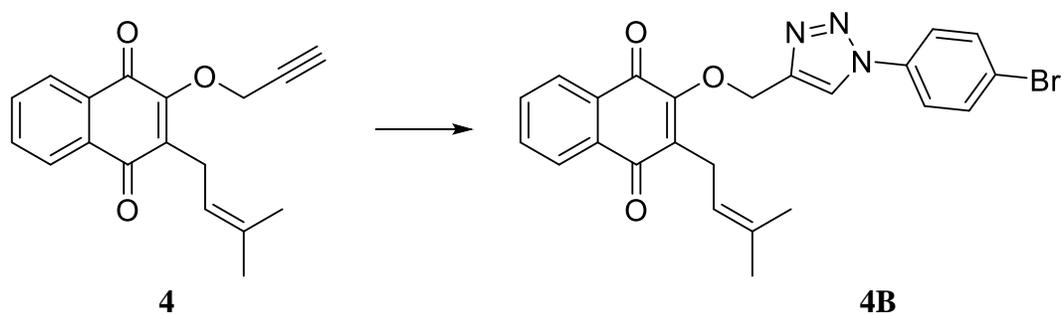


Figura 26: Reacción de formación del compuesto 4B

**Rendimiento: 63% (65 mg)**

#### 6.2.6. OBTENCION DEL DERIVADO 4C A PARTIR DEL COMPUESTO 4

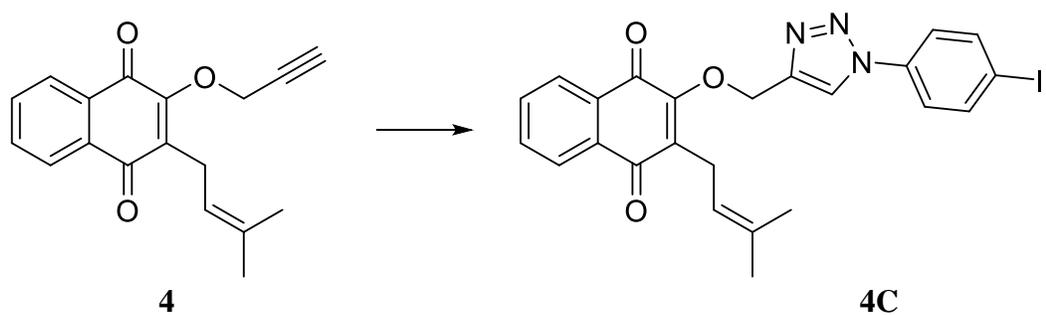


Figura 27: Reacción de formación del compuesto 4C

**Rendimiento: 64% (54 mg)**

#### 6.2.7. OBTENCION DEL DERIVADO 4D A PARTIR DEL COMPUESTO 4

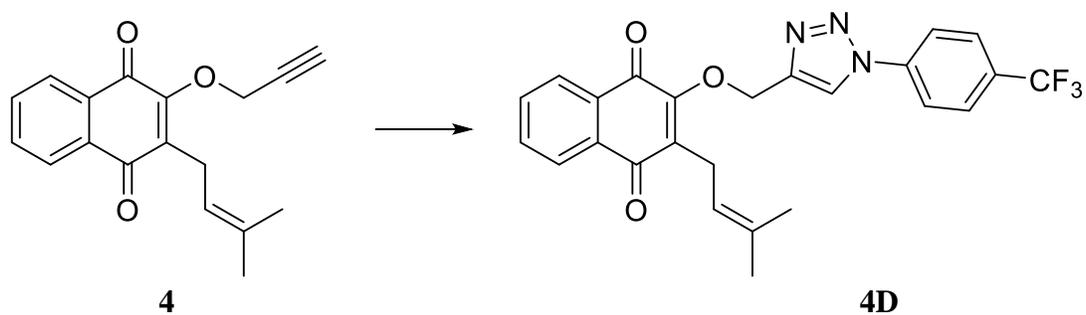


Figura 28: Reacción de formación del compuesto 4D

**Rendimiento: 65% (59 mg)**

## 7. DISCUSION

El lapachol una naftoquinona de origen natural obtenida de árboles *Tabebuia spp.* en sudamerica y asia ha sido muy importante por las diversas propiedades que se han estudiado.

La generación de nuevas estructuras derivadas del Lapachol es beneficiosa para la obtención de compuestos que tengan actividad biológica, dentro de los cuales su formación con azidas ha demostrado que presentan actividad antibacteriana y antiprotozoaria por ejemplo.

En este trabajo se obtuvieron 10 compuestos a partir del lapachol, dentro de los cuales el 2,3 y 4 fueron los iniciales para obtener 7 derivados restantes.

En el caso del compuesto 2 y 3 corresponden a esterés de lapachol producidos mediante la reacción con ácido 4-pentinoico y 5-azido-pentanoico respectivamente, el rendimiento en el caso del compuesto 2 fue de 73% y en el compuesto 3 de 43% por lo cual son considerados aceptables para trabajar con ellos.

A partir de los compuestos 2 y 3 se obtuvo derivados con anillos triazólicos generándose respectivamente 2A, 2B y 3A con rendimientos entre 53% y 67%. Estos rendimientos tienen relación con otros obtenidos por de Oliveira et al. (76) mediante el uso de 1,2,3 triazoles usando “click chemistry”.

Para las reacciones click generalmente se usa cobre (Cu) como catalizador, este fue el caso del compuesto 2B para la reacción entre la naftoquinona y el 1,2,3-triazol (77), pero en

el caso del 2A se usó Rutenio (RuAAC) como catalizador, el cual es usado como un análogo al cobre desde el 2005, debido a que gracias a sus propiedades permite que las reacciones ocurran más rápido lo cual evita largos tiempo de espera (78).

En la preparación de éter de lapachol se obtuvo el compuesto 4 con un rendimiento de un 56% lo cual es aceptable y con este se generaron los derivados (4A,4B,4C y 4D) usando catalizador de cobre, los rendimientos de estos fueron entre 57% a 65 % y para esto se utilizaron azidas aromáticos.

Los compuestos fueron separados por sílica gel y sephadex ya que estas técnicas presentan diferentes propiedades, en el primer caso la separación de los diferentes compuestos se realiza por la polaridad de la muestra y en el segundo, es decir, con sephadex ocurre por el tamaño de los diferentes compuestos, a pesar de esto la utilidad de ambas solo depende de las características de la muestra que se quiere purificar (79), luego de esto se visualiza en placas de TLC sílica gel usando rayos UV para la identificación de los compuestos como se demuestra en la literatura (80).

La estructura de los 10 compuestos se determinó con  $^1\text{H-RMN}$  a través de la comparación con datos en su espectroscopia de compuestos similares ya determinados, esta técnica está ampliamente distribuida en la semisíntesis de compuestos de origen natural como el lapachol, usada por da silva et al. (81) para la obtención de compuestos que tuvieran actividad contra *Trypanosoma cruzi* mediante derivados de  $\beta$ - lapachona con 1,2,3-triazol.

Diogo et al. (76) Utilizó 1,2,3-triazoles y  $\alpha$  lapachona para la generación de compuestos que tuvieran actividad contra *P. falciparum* de los 30 que lograron sintetizar 12 de ellos presentaban la actividad requerida para continuar haciendo estudios.

Como se mencionó anteriormente derivados naftoquinónicos han sido utilizados como gracias a su actividad antitripanosoma, también en la generación de especies reactivas del oxígeno y en diversos mecanismos del ciclo redox (80).

Gracias a todas las propiedades que se han conocido de estos derivados, la generación de nuevos permite ampliar el tratamiento a diversos problemas que aquejan a la sociedad, primero que nada, evaluando si presentan actividad biológica importante.

## 8. CONCLUSION

A partir del lapachol se pueden obtener derivados que presenten actividad biológica mediante diversas técnicas, por las cuales resulta beneficioso la introducción de grupos azida y/o alquino al lapachol en reacciones de semisíntesis.

En este trabajo se obtuvo 10 compuestos cuyos rendimientos oscilan entre 43 y 73% los cuales permiten que se pueda medir su actividad biológica.

La técnica “click chemistry” es útil para preparar derivados de lapachol debido a que los requerimientos que presenta están disponibles en el laboratorio.

Las columnas que contienen sílica gel o sephadex LH-20 permiten la separación de compuestos por polaridad y por tamaño respectivamente las cuales son fundamentales para la obtención de productos con mayores niveles de pureza.

Las reacciones se pueden ver beneficiadas en tiempo al utilizar catalizador de rutenio, sin embargo, es necesario estandarizar la técnica para que los resultados sean los adecuados.

Los derivados obtenidos del lapachol pueden ser identificados por técnicas como  $^1\text{H}$ -RMN ya que estas permiten identificar la absorción de energía de núcleos que se encuentren activos magnéticamente, lo que permite su identificación de manera más adecuada al ya tener una idea de los productos obtenidos.

## 9. ANEXOS

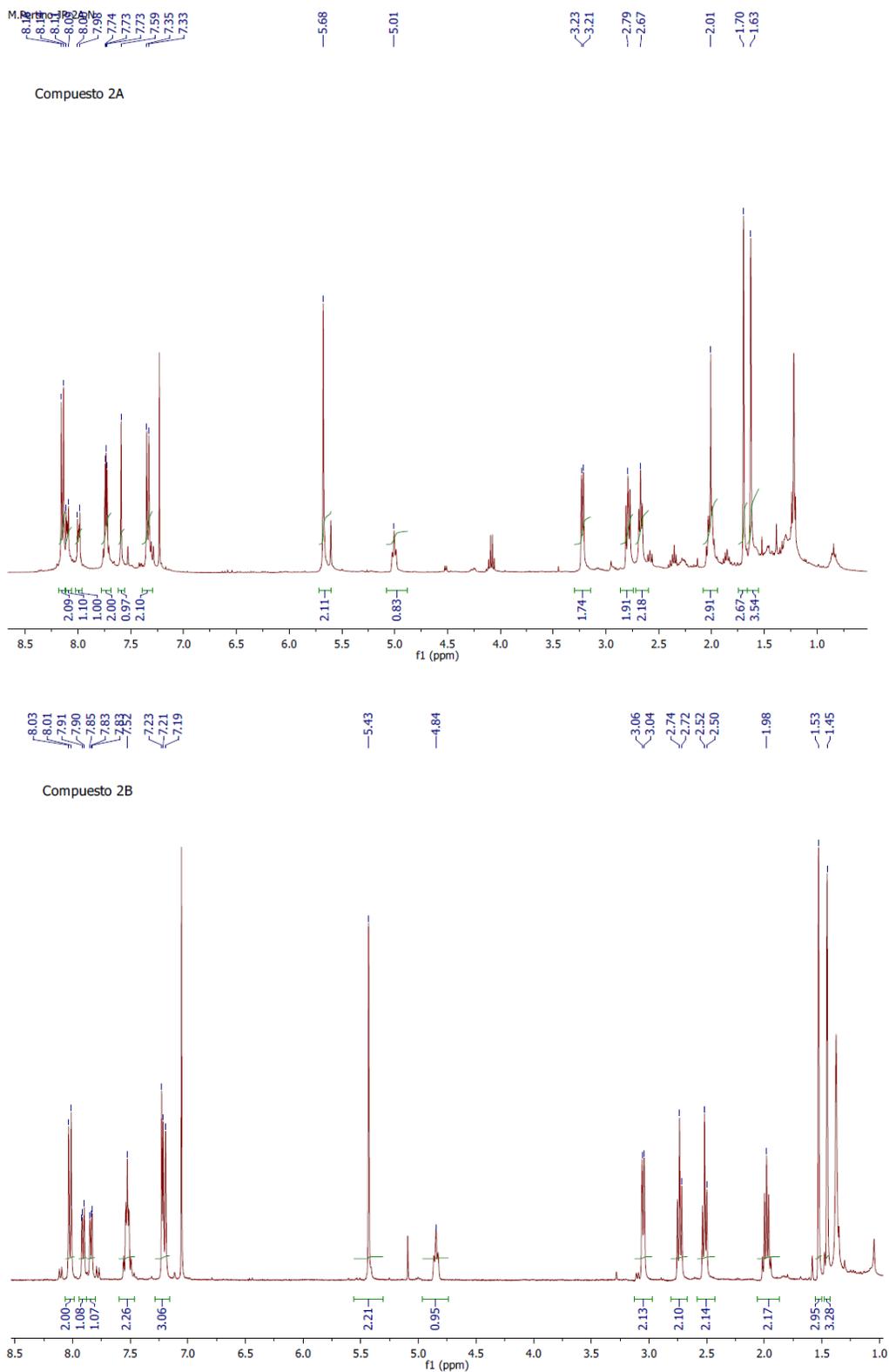
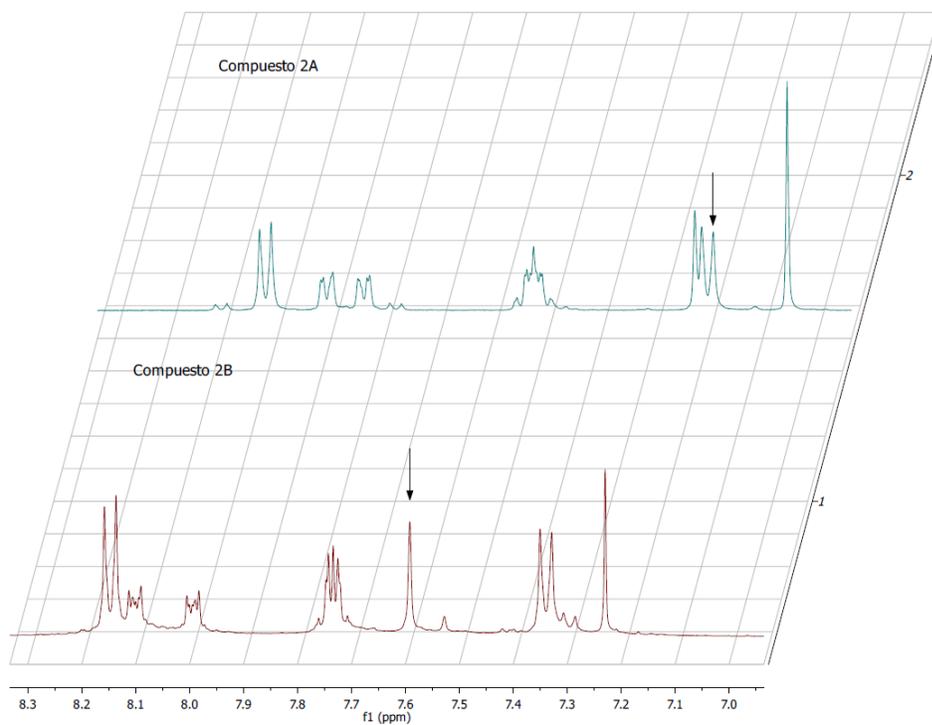
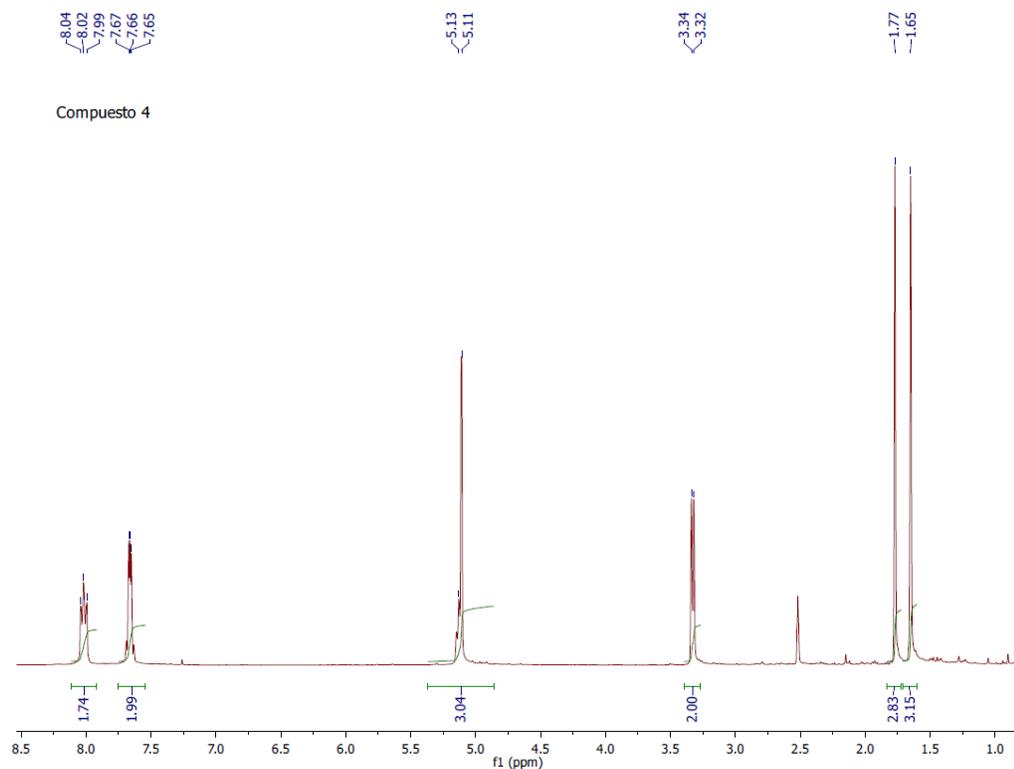


Figure S1. Espectro  $^1\text{H}$  RMN en  $\text{CDCl}_3$  de los compuestos isómeros **2A** y **2B**.



**Figure S2.** Comparación entre los protones aromáticos de los compuestos **2A** y **2B**. Se resalta el protón correspondiente al anillo triazol para cada compuesto.



**Figure S3.** Espectro  $^1\text{H}$  RMN en  $\text{CDCl}_3$  del compuesto **4**.

MP-MT 11PP (2.119) Is (1.00,1.00) C<sub>24</sub>H<sub>20</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

TOF MS ES+  
7.51e12

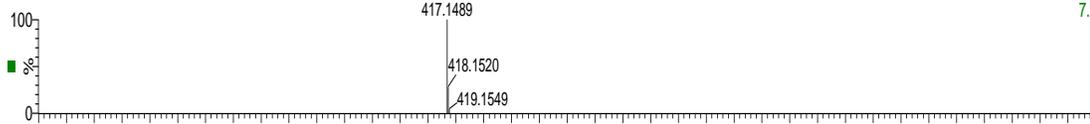
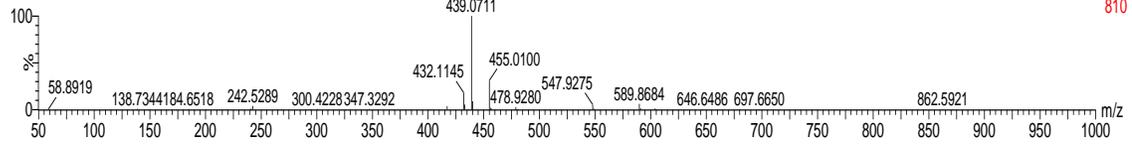


Figura S4 . HREIMS espectro del compuesto 4A.

MP-MT 11PP 207 (2.119)

TOF MS ES+  
810



MP-MT 12PPP (2.336) Is (1.00,1.00) C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>BrN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

TOF MS ES+  
3.87e12

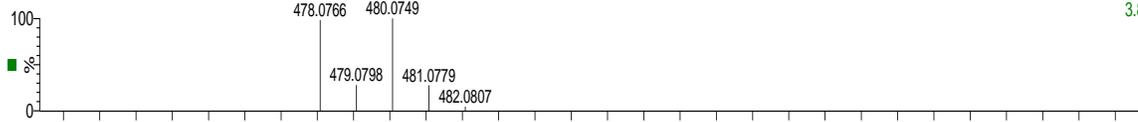
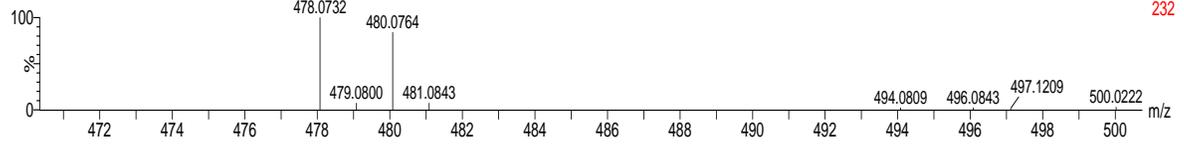


Figura S5 . HREIMS espectro del compuesto 4B.

MP-MT 12PPP 228 (2.336)

TOF MS ES+  
232



MP-MT 12PP (0.492) Is (1.00,1.00) C<sub>24</sub>H<sub>20</sub>IN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

TOF MS ES+  
7.51e12

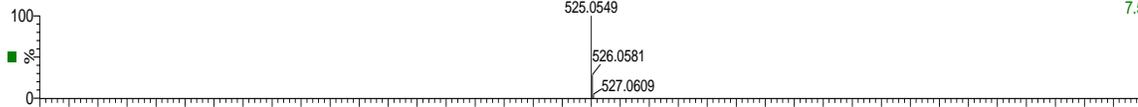
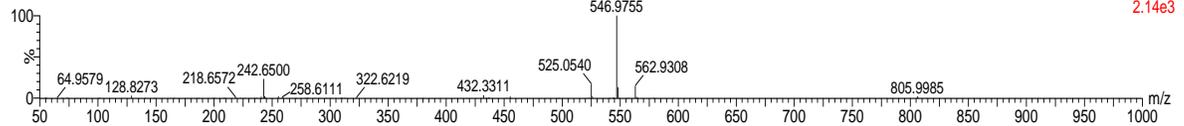


Figura S6 . HREIMS espectro del compuesto 4C.

MP-MT 12PP 48 (0.492)

TOF MS ES+  
2.14e3



MP-MT 140 (0.329) Is (1.00,1.00) C<sub>25</sub>H<sub>20</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

TOF MS ES+  
7.43e12

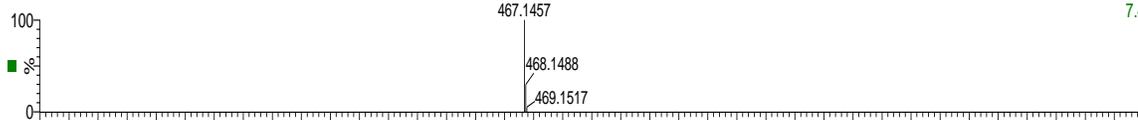
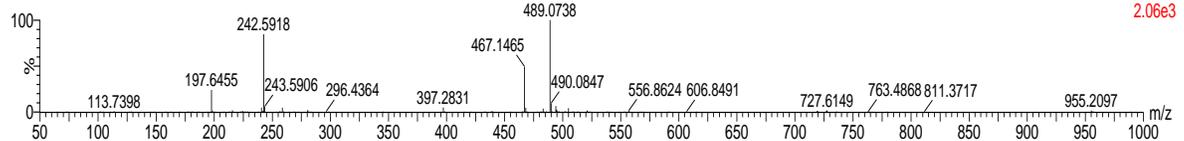


Figura S7 . HREIMS espectro del compuesto 4D.

MP-MT 140 32 (0.329)

TOF MS ES+  
2.06e3



## 10. BIBLIOGRAFIA

1. Accame M. compuestos fenolicos: quinonas. Panorama actual del medicamento. 2000; 24: p. 778-782.
2. Segoloni E, Di maria F. UV–VIS spectral and GC–MS characterization of *Handroanthus serratifolius* (Vahl.) Grose (a.k.a. *Tabebuia serratifolia* (Vahl.) Nichols/Lapacho) heartwood main extractives: a comparison of protocols aimed at a practical evaluation of Lapachol and Dehydro. *European Journal of Wood and Wood Products*. 2018;; p. 1547-1561.
3. López L, Nery S, Silva S. Napthoquinones : Biological properties and synthesis of lawsone and derivatives- a structured review. *Vitae, Revista de a facultad de quimica farmaceutica*. 2014.
4. Mohd Y, Mohd S, Faqeer M. Natural colorants: Historical, processing ad sustainable Prospects. *Natural Products ad bioprospecting*. 2017;; p. 123.
5. Kumagai Y, Shinkai Y, Miura T. The chemical biology of naphthoquinones and its environmental. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 2012;; p. 221-247.
6. Baltriukiene S, Razumas M. Study of cytotoxic activity of new 1,4-naphthoquinone. *Biology*. 2006;; p. 104-108.
7. Yusuf M, Shabbir M. Natural Colorants: Historical, Processing and Sustainable Prospects. *Nat Prod Bioprospect*. 2017;; p. 123-145.
8. Da silva M, Ferreira V, de Souza M. Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na b-lapachona e derivados. *quimica nova*. 2003;; p. 407-416.
9. Nageswara R, Kumar M. Simultaneous separation and determination of coenzyme Q10 and its process related impurities by NARP-HPLC and atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry (APCI-MS). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2008;; p. 230-237.
10. Ahmed S, Kishikawa N, Nakashima K. Determination of vitamin K homologues by high-performance liquid chromatography with on-line photoreactor and peroxyoxalate chemiluminescence detection. *Anal Chim Acta*. 2007;; p. 148-154.
11. Huber R. A structural basis of light energy. *EMBO J*. 1989;; p. 848-869.
12. Ramirez O. Doctor en quimica. facultad de quimica de la universidad de Chile. 2011 octubre 27.

13. Hsieh Y, Lin L. Determination. *Journal Chromatography A*. 2005;; p. 141-145.
14. de Castro S, Emery F. Synthesis of quinoidal molecules: Strategies towards bioactive. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2013;; p. 678-700.
15. Macias MA, López L, Sáenz G, Silva S. Síntesis de Derivados de 1,4-Naftoquinona por Metodologías Verdes y su importancia biológica. *Revista científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*. 2013.
16. López L, Leyva E, Garcia de la cruz. Las naftoquinonas: mas que pigmentos naturales. *Revista Mexicana de ciencias farmacéuticas*. 2011.
17. Leyva E, Loredó S. Importancia química y biológica de las naftoquinonas.Revisión Bibliográfica. *Facultad ciencias químicas: Universidad de San Juan de Potosí*. 2015.
18. Jimenez A, Chavez H, Estévez A. Design and synthesis of a novel series of pyranonaphthoquinones as topoisomerase II calytic inhibitors. *Medicinal Chemistry*. 2008;; p. 7132-7143.
19. White J, Choi Y. Catalyzed asymmetric Diels-Alder reactions of benzoquinone. Total synthesis of (-)ibogamine. *Helvetica Chimica*. 2002;; p. 4306-4327.
20. Chinchilla N, Guerrero G, Varela R. Phytotoxic studies of naphthoquinone intermediates from the synthesis of the natural product Naphthotectone. *Chemical Intermediates*. 2017;; p. 4387-4400.
21. Rojas M. Estudio Químico-Biológico de derivados de naftoquinonas con potencial actividad tripanocida. Tesis presentada a la Universidad de Chile para optar al grado de Magíster en Química. 2015.
22. Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C. Airborne Particulate Matter in Urban Areas: A Study of the Role of Reactive Oxygen Species on the Toxic and Carcinogenic Effects and Implications to Human Health [Nova pbls, New York, 2009]. *Journal of Environmental Science and Health*. 2009;; p. 120-139.
23. Oliveira A, Brighente I, Lund R, Llanes L. Antioxidant and Antifungal Activity of Naphthoquinones Dimeric Derived From Lawsone. *Journal of biosciences and Medicine*. 2017.
24. Da Silva J, Menna R. Naphthoquinoidal [1,2,3]-triazole, a new structural moiety active against *Trypanosoma cruzi*. *Eur J med Chem*. 2008;; p. 1774-1780.
25. Oliveira R, Correia J, Tang L, Garcia R. A proteomic insight into the effects of the immunomodulatory hydroxynaphthoquinone lapachol on activated macrophages. *Int Immunopharmacol*. 2012;; p. 54-65.

26. León C, Dominguez J, Rojas c. Síntesis y Actividad Antimalárica de Derivados 3-Cloro-2N-Aminosustituído-1,4-Naftoquinona. *Revista de investigacion*. 2008;; p. 189-209.
27. Cardenas A, Leyva E, Loredó S. Síntesis de derivados de 2-anilino-3-cloro1,4-naftoquinona. *Facultad de ciencias quimicas: universidad autonoma de San Luis Potosí*. 2017.
28. Ferreira R, Oliveira A, Ribeiro M. *Toxoplasma gondii*: in vitro and in vivo activities of the hydroxynaphthoquinone 2-hydroxy-3(1 propen-3-phenyl)-1,4- naphtoquinone alone or combined with sulfadiazine. *Experimental Parasitology*. 2006;; p. 125-129.
29. Silva M, Ferreira V, Souza M. Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na beta-lapachona e derivados. *Química Nova*. 2003.
30. Hussain H, Krohn k, Ahmad V. Lapachol: an overview. *ARkivoc*. 2007;; p. 147-171.
31. Tabosa M, de Melo E, de Souza I. Physicochemical characterization of lapachol. *Afr j Pharm Pharmacology*. 2015;; p. 131-138.
32. Lu B, Ying H, Jinfeng , Yao. Structural elucidation of the metabolites of lapachol in rats by liquidchromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*. 2013;; p. 128-135.
33. Goncalves da cruz S, Carvalho R, Pereira D. lapachol chemistry, pharmacology and assay methods. *REview Brasil Farmacology*. 2003;; p. 9-16.
34. Lima N, Correia C, Leon L. Antileishmanial activity of lapachol analogues. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2004;; p. 757-761.
35. Niehues M, Barros V, da Silva F. Biomimetic in vitro oxidation of lapachol: A model to predict and analyse the in vivo phase I metabolism of bioactive compounds. *European Journal Of medicinal Chemistry*. 2012;; p. 804-812.
36. Lira A, Sester E, Carvalho A, Strattmann R, Albuquerque M. Development of lapachol topical formulation: anti-inflammatory study of a selected formulation. *PharmSciTech*. 2008;; p. 163-168.
37. Peres R, Santos G, Cecilio N. Lapachol, a compound targeting pyrimidine metabolism, ameliorates experimental autoimmune arthritis. *Arthritis Research & Therapy*. 2017.
38. Guiraud P, Steiman R, Campos G, Seigle F. comparison of antibacterial and antifungal activities of lapachol and beta lapachona. *Planta medica*. 1994;; p. 373-374.
39. Breger J, Burgwyn B, Aperis G, Moy T, Ausubel F. Antifungal Chemical Compounds Identified Using a *C. elegans* Pathogenicity Assay. *Plos Pathogens*. 2007.

40. Salas C, Tapia R, Ciudad K, Amstrong V, Orellana M. Trypanosoma cruzi: Activities of lapachol and  $\alpha$ - and  $\beta$ -lapachone derivatives against epimastigote and trypomastigote forms. Elsevier. 2008;; p. 668-674.
41. Rios L, Bonifazi E, Leon L, Montero J, Burton G.  $\beta$ -Lapachone analogs with enhanced antiproliferative activity. Eur J Med Chem. 2012;; p. 264-274.
42. Pérez-Sacau E, Estévez-Braun A, Ravelo A, Gutiérrez D, Giménez A. Antiplasmodial activity of naphthoquinones related to lapachol and beta-lapachone. Chemistry & Biodiversity. 2005;; p. 264-74.
43. Mata T, Pinta N, Mata H. Anthelmintic activity of Lapachol,  $\beta$ -Lapachone and ITS derivatives against Toxocara canis larvae. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. 2015;; p. 197-204.
44. Moon D, Choi Y, KIM N. Antiinflammatory effects of beta lapachone in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglia. International Immunopharmacology. 2007;; p. 506-514.
45. Fry M, Pudney M. Site of action of the antimalarial hydroxynaphthoquinone, 2-[trans-4-(4'-chlorophenyl) cyclohexyl] 3 hydroxy-1,4 naphthoquinone. Biochemical Pharmacology. 1992;; p. 1545-1553.
46. Harmon H, Struble V. Effects of 2 hydroxy 3 undecyl 1,4 naphthoquinone on respiration of electron transport particules a mitochondria: topographical location of the rieske iron sulfur protein and the quinine binding site. Biochemistry. 1983;; p. 4394-4400.
47. Al-Soud Y, Al-Dweri M. Synthesis antitumor and antiviral properties of some 1,2,4 triazole derivatives. Farmaco. 2004;; p. 775-783.
48. Temple C, Montgomery J. Chemistry of Heterocyclic Compounds: 1,2,4 -Triazoles. John Wiley & Sons. 2008;; p. 773-791.
49. Barradas J. Síntesis de azoles derivados de hidratos de carbono con potente actividad biológica. Tesis doctoral. 2012.
50. Hidalgo A. Síntesis de nuevos 1,2,4-triazol por reacción de Aroilimidotiocarbonatos de O,S-Dietilo o Aroilimidoditocarbonatos de S,S-Dietilo con Hidrazinas. Universidad De Nariño Facultad de Ciencias Exactas y Naturales grupo de investigación en compuestos Heterocíclicos. 2017
51. Strain H. Metallic salts of lophine, 1,2,4-triazole and tetrazole. Journal of the American Chemical Society. 1927.
52. Abdo N, Kamel M. synthesis and anticancer evaluation of 1,3,4-oxadiazoles, 1,3,4-thiadiazoles, 1,2,4-triazoles. Chemical and pharmaceutical bulletin. 2015;; p. 369-376.

53. Nepal B, Scheiner S. substituent effects on the binding of halides by neutral and dicationic bis(triazolium) receptors. *Journal of physical chemistry*. 2015.
54. Padwa A, Pearson w. Synthetic applications of 1,3 dipolar cycloaddition chemistry Toward Heterocycles and Natural Products. Wiley Interscience. 2002.
55. Palle S. Studies directed towards the synthesis of azoles and its derivatives. Jawaharlal Nehru Technological University Hyderabad. 2011.
56. Barbosa M, Martins C, Gomes P. "Click" chemistry as a tool to create novel biomaterials. *U.porto Journal of Engineering*. 2015;; p. 22-34.
57. Kolb H, Finn M, Sharpless K. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angew Chem Int Ed Eng*. 2001;; p. 2004-2021.
58. Wang D, Wang Y. A highly practical and convenient halogenation of fused heterocyclic N-oxides. *Tetrahedron*. 2016;; p. 5762-5768.
59. Mukesh M, Mudgal N, Mayur A. "Applications of Click Chemistry in the Development of HIV Protease Inhibitors,". *International Journal of Medicinal Chemistry*. 2018.
60. Wolfgang H, Sachsenhofer R. 'Click' Chemistry in Polymer and Materials Science. *Macromolecular Rapid Communications*. 2007.
61. Hammond G. *Quimica Organica*: McGrae-hill; 1998.
62. Amblard F, Cho R. Cu(I)-catalyzed Huisgen azide-alkyne 1,3-dipolar cycloaddition reaction in nucleoside, nucleotide, and oligonucleotide chemistry. *Chemical review*. 2009;; p. 4207-4220.
63. Lee L. A potent and highly selective inhibitor of humana- 1,3-Fucosyltransferase via click chemistry. *Chem. Soc*. 2003;; p. 9588-9589.
64. Sagheer A, Brown T. Click chemistry with DNA. *Chem. Soc. Rev*. 2010;; p. 1388-1405.
65. Speers A, Cravatt B. Profiling Enzyme Activities In Vivo Using Click Chemistry Methods. *Chemistry & Biology*. 2004;; p. 535-546.
66. Benson F, Savell W. The Chemistry Of Vecial Triazoles. *Chemical Review*. 1948;; p. 1-68.
67. Báez J. El crecimiento en los extremos: reactividad de grupos terminales en polímeros para la síntesis de copolímeros bloque. *Educación Química*. 2015 octubre; 27(97-104).
68. Ustinov A, Stepanova I, Dubnyakava T. Modification of nucleic acids using [3+2]-dipolar cycloaddition of azides and alkynes. *Bioorganic. Chemistry*. 2010; 36(401-445).

69. Poonthiyil V, Lindhorst T. Recent applications of click chemistry for the functionalization of gold nanoparticles and their conversion to glyco-gold nanoparticles. *Beilstein journal of organic chemistry*. 2018;: p. 11-24.
70. Agalave S, Maujan S, Pore V. Click Chemistry: 1,2,3-Triazoles as Pharmacophores. *Chem asian*. 2011;: p. 2969-718.
71. da Silva Júnior E, de Melo I. On the search for potential anti-Trypanosoma cruzi drugs: Synthesis and biological. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2012.
72. Balasubramanian DB, Sivasubramanian M. Sequential synthesis of amino-1,4-naphthoquinone-appended triazoles and triazole-chromene hybrids and their antimycobacterial evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2014.
- 73.ertino , M.W , Lopez C, Theoduloz C, Schmeda-Hirschmann G. 1,2,3-Triazole-substituted oleanolic acid derivatives: synthesis and antiproliferative activity. *Molecules*. 2013; 18(7661-7674).
- 74.ertino MW, Verdugo V, theoduloz C, Schmeda-Hirschmann G. Synthesis and Antiproliferative Activity Of Some Novel Triazole Derivatives from Dehydroabietic Acid. *molecules*. 2014; 19(2523-2535).
- 75.ertino MW, Theoduloz C, Butassi E, Zacchino S, Schmeda-Hirschmann G. Synthesis, Antiproliferative and Antifungal Activities of 1,2,3-Triazole-Substituted Carnosic Acid and Carnosol Derivatives. *Molecules*. 2015; 20(8666-8686).
76. Diogo E, Dias G, Rodrigues B. Synthesis and anti-Trypanosoma cruzi activity of naphthoquinone-containing triazoles:Electrochemical studies on the effects of the quinoidal moiety. *Bioorganic and Medcinal Chemistry*. 2013 septiembre; 21(6337-6348).
77. da Silva E, de Melo I, Diogo E, Costa v. on the search for potential anti-Trypanosoma cruzi drugs: Synthesis andbiological evaluation of. *European Journal of medicinal Chemistry*. 2012 mayo; 52(304-312).
78. Binder W, Sachsenhofer R. "Click" Chemistry in polymer and material science. *Macromolecular Rapid Communications*. 2007; 28(15-54).
79. da Cruz E, Hussene C, Dias G. 1,2,3triazole-arylamino-and thio-sustituted 1,2-naphthoquinones: Potentent antitumor activity,electrochemical aspects, and bioisosteric replacement of c-ring -modified lapachones. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 2014; 22(1608-1619).
80. Chipoline I, Alves E, Branco P. Sythesis and Cytotoxic Evaluation of 1H-1,2,3-triazol-1-ylmethyl-2,3-dihyronaphtho[1,2-b]furan-4,5-diones. *Academia Brasileira de Ciencias*. 2018; 90(1027-1033).

81. da Silva E, Guimaraes T, Menna R. The evaluation of quinonoid compounds against *Trypanosoma cruzi*: Synthesis of imidazollic anthraquinones, nor B-lapachone derivatives and b-lapachone based 1,2,3-triazoles. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 2010; 18(3224-3230).

