



Universidad de Guanajuato

División de Ciencias Naturales y Exactas

Departamento de Química

Posgrado en Química

“Síntesis de Líquidos Iónicos como Potenciales Inhibidores de
Histonas Deacetilasas”

EXAMEN QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICAS

PRESENTA

Q.F.B. LEOBARDO IBARRA SÁNCHEZ

Asesor:

Dr. Miguel Ángel Vázquez Guevara

Coasesores:

Dra. Clarisa Villegas Gómez

Dr. Marco Antonio García Revilla

Guanajuato, Guanajuato a 28 de noviembre de 2022



Guanajuato, Gto., 15 de noviembre 2022

Dra. Clarisa Villegas Gómez

Coordinadora del Posgrado en Química
División de Ciencias Naturales y Exactas,
Campus Guanajuato.
P R E S E N T E.

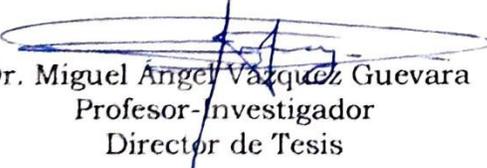
Por este medio, los que suscriben, informan que el trabajo de tesis titulado **“Síntesis de Líquidos Iónicos como Potenciales Inhibidores de Histonas deacetilasas”** fue realizado y concluido satisfactoriamente por el **QFB Leobardo Ibarra Sánchez** para obtener el grado de Maestro en Ciencias Químicas de la DCNE de la Universidad de Guanajuato bajo nuestra dirección.

Asimismo, se declara que la investigación fue realizada en el laboratorio de Síntesis Orgánica del Departamento de Química de la DCNE de la Universidad de Guanajuato, que es una investigación original y se desarrolló dentro de los parámetros que exige la línea de investigación por lo que nos responsabilizamos de su autenticidad.

Para los fines administrativos que a la interesada conyengan, se extiende la presente.

A T E N T A M E N T E

“La verdad Os Hará libres”


Dr. Miguel Ángel Vázquez Guevara
Profesor-Investigador
Director de Tesis


Dra. Clarisa Villegas Gómez
Profesor-Investigador
Codirector de Tesis

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Síntesis Orgánica del Departamento de Química de la División de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Guanajuato bajo la dirección del Dr. Miguel Ángel Vázquez Guevara y los Drs. Clarisa Villegas Gómez y Marco Antonio Garcia Revilla con el apoyo económico de los proyectos de investigación CONACYT-CB #A1-S-27694, sectorial CONACYT-SENER #177007, Laboratorio Nacional de Caracterización de Propiedades Fisicoquímicas y Estructura Molecular 316011 y DAIP-UGto # 045/2022.

Índice

Índice.....	4
Índice de Figuras.....	7
Índice de Tablas.....	10
Acrónimos	11
Productos obtenidos del trabajo	12
Moléculas sintetizadas	14
Resumen.....	15
1. Marco teórico.....	16
1.1 Líquidos iónicos	16
1.2 Breve historia de los líquidos iónicos	16
1.3 Estructura de los líquidos iónicos.....	17
1.3.1 Cationes	17
1.3.2 Aniones	18
1.4 Propiedades fisicoquímicas de los líquidos iónicos.....	19
1.5 Síntesis de líquidos iónicos.....	20
1.5.1 Reacciones de alquilación o cuaternización.....	21
1.5.2 Reacciones de metátesis	21
1.5.3 Reacciones de síntesis libre de halógenos	22
1.5.4 Síntesis vía carbenos N-heterocíclicos.....	23
1.6 Clasificación de los líquidos iónicos.....	23
1.6.1. De aplicación específica.....	24
1.6.2 Quirales.....	24
1.6.3. Solventes de polaridad modificable.....	25
1.6.4. Poliónicos.....	25
1.6.5. Metálicos	26
1.6.6. Neutros.....	27
1.6.7. Próticos	27
1.6.8. Biológicos.....	28
1.7 Generaciones y aplicaciones de los LIs	28

1.8 Aplicaciones biológicas de los líquidos iónicos	29
1.8.1. Estabilización de proteínas	30
1.8.2. Ingredientes farmacéuticos activos	30
1.8.3. Actividad anticancerígena	32
1.9 Deacetilasas de histona	33
1.9.1. Clasificación de las HDACs.....	33
1.9.2. Mecanismo catalítico de las HDACs clásicas.....	34
1.9.3. HDACs y su papel en el cáncer.....	36
1.10 Inhibidores de HDACs (HDACi)	37
1.10.1. Ácidos hidroxámicos como inhibidores de HDACs.....	39
Justificación.....	42
Hipótesis.....	42
Objetivo General	43
Objetivos específicos	43
2. Metodología.....	44
2.1 Calibración de acoplamiento molecular	44
2.2 Preparación de ligandos para acoplamiento molecular.....	45
2.3 Predicción de propiedades fisicoquímicas y ADMET	45
2.4 Síntesis del núcleo de imidazolio 4a-c	45
2.5 Hidrólisis de los ésteres de aminoácidos	46
2.6 Síntesis de núcleo de imidazol derivado de aminoácidos compuestos 4d-g	46
2.7 Síntesis de núcleo de imidazol derivado de aminoácidos compuestos 4h-l	47
2.8 Síntesis de los ésteres de sulfonilo 6a-e	47
2.9 Síntesis de líquidos iónicos tricatiónicos lineales 7a-e	48
2.10 Síntesis de ácidos <i>bis</i> -hidroxámicos 5a-c	48
2.11 Síntesis de ácido hidroxámico a partir de un éster.....	48
2.12 Síntesis del intermediario de Breslow	49
2.13 Prueba de reacción de eliminación en el producto 6b	49
2.14 Prueba de protección del ácido hidroxámico	49
2.15 Análisis termogravimétrico	49

2.16 Cálculo de DTG y parámetros T_{onset} , T_{offset} , T_{MAXDTG} y % de pérdida de masa	49
2.17 Determinación del % de humedad	50
3. Resultados y discusiones	52
3.1 Acoplamiento molecular	52
3.1.1 Análisis sobre HDAC1	54
3.1.2. Análisis sobre HDAC6	58
3.1.3 Análisis sobre HDAC8	60
3.2 Predicción de propiedades fisicoquímicas y ADMET	62
3.3 Síntesis de líquidos iónicos con núcleo de imidazolio	64
3.4 Activación de los -OH de LIs con cloruros de sulfonilo	68
3.5 Sustitución nucleofílica de los sulfonatos en los líquidos iónicos	70
3.6 Síntesis del núcleo de imidazolio con aminoácidos y derivados	75
3.7 Síntesis de ácidos <i>bis</i> -hidroxámicos a partir de los precursores de líquidos iónicos	79
3.8 Estudios de las propiedades fisicoquímicas de los LITL 7 a-s	84
4. Conclusiones	90
5. Perspectivas	91
6. Caracterización	92
Anexo	95

Índice de Figuras

Figura 1.1 Cationes más comúnmente utilizados para la formación de líquidos iónicos.....	17
Figura 1.2 Aniones más comúnmente utilizados para la formación de líquidos iónicos.....	18
Figura 1.3 Reacción general de cuaternización entre el 1-metilimidazol y un halogenuro de alquilo.....	21
Figura 1.4 Procedimiento general para la reacción de metátesis en la síntesis de LIs.....	22
Figura 1.5 Síntesis de LIs de imidazolio libre de halógenos mediante la reacción de Debus-Radziszewski modificada.....	23
Figura 1.6 Síntesis general de LIs derivados de imidazolio mediante un intermediario carbénico N-heterocíclico.....	23
Figura 1.7 Clasificación estructural de los líquidos iónicos.....	24
Figura 1.8 Líquidos iónicos con aniones de sulfato quirales.....	25
Figura 1.9 Estructura de algunos líquidos iónicos dicatiónicos no simétricos que han sido estudiados.....	26
Figura 1.10 Líquidos iónicos tricatiónicos estudiados.....	27
Figura 1.11. Generaciones de líquidos iónicos.....	29
Figura 1.12 Ejemplos de API-IL sintetizados.....	31
Figura 1.12 Modificación de las histonas a través de diferentes enzimas.....	34
Figura 1.13 Mecanismo catalítico propuesto de desacetilasas de histona basado en estudios estructurales de la HDAC8.....	35
Figura 1.15 Farmacóforo propuesto para el diseño de inhibidores de HDACs.....	37
Figura 1.16 Inhibidores de HDACs derivados de ácidos hidroxámicos.....	38
Figura 1.17 Inhibidores de HDACs representativos.....	39
Figura 1.18 Diferentes blancos de los ácidos hidroxámicos.....	40
Figura 2.1. Ligandos cocrystalizados con las HDACs a estudiar.....	44
Figura 2.2. Reacción general para la síntesis de los productos 4 a-c	45
Figura 2.3. Hidrólisis de los ésteres de aminoácidos.....	46
Figura 2.4. Síntesis del núcleo de imidazolio a partir de derivados de aminoácidos.....	46

Figura 2.5. Síntesis del núcleo de imidazolio a partir de aminoácidos.	47
Figura 2.6 Cálculo de los parámetros de estabilidad térmica de TGA/DTG.	50
Figura 2.7 Fórmula para el cálculo de humedad porcentual mediante el método de Karl-Fischer.	50
Figura 2.8 Fórmula para el cálculo de los intervalos de confianza.	51
Figura 3.2 Conformación del ligando cocrystalizado y pose predicha en el proceso de validación.	53
Figura 3.3 Interacciones entre los derivados de líquidos iónicos y los residuos del sitio activo de la HDAC1.	56
Figura 3.4 Interacciones entre los derivados de líquidos iónicos y los residuos del sitio activo de la HDAC6.	59
Figura 3.5 Interacciones entre los derivados de líquidos iónicos y los residuos del sitio activo de la HDAC8.	61
Figura 3.6 Espectro de RMN de ^1H del producto $[\text{OHC}_2\text{Im}^+][\text{Cl}^-]$ en D_2O utilizando p-formaldehído y el trímero de glioxal.	65
Figura 3.7 Espectro de RMN de ^1H del producto $[\text{OHC}_2\text{Im}^+][\text{Cl}^-]$ en D_2O utilizando formaldehído y glioxal en solución acuosa al 36% y 40% respectivamente.	65
Figura 3.8 Espectro de RMN de ^1H del producto $[\text{OHC}_2\text{Im}^+][\text{AcO}^-]$ en D_2O	66
Figura 3.9 Líquidos iónicos con núcleo de imidazolio sintetizados a partir de la etanolamina.	67
Figura 3.10 Reacción de activación de los grupos -OH del líquido iónico 1,3-dietanolimidazolio.	68
Figura 3.11 Sulfonatos 2 a-e obtenidos a partir de la activación del grupo -OH del 1,3-dietanolimidazolio.	69
Figura 3.12. Espectro de RMN de ^1H del producto 6b en D_2O	69
Figura 3.13. Ruta de síntesis de 8. Líquidos iónicos tricatiónicos lineales derivados de ésteres de aminoácidos.	70
Figura 3.14 Espectro de RMN de ^1H en D_2O de la reacción de sustitución nucleofílica.	71
Figura 3.15 Reacción de sustitución nucleofílica del grupo sulfonato mediante diversas aminas heterocíclicas.	71
Figura 3.16 Espectro de RMN de ^1H en D_2O de la reacción de sustitución nucleofílica con 1-metilpiperazina y 6b	72
Figura 3.17 Posibles reacciones de los líquidos iónicos en presencia de bases. .	73

Figura 3.18 Espectro de RMN de ^1H en D_2O del intermediario de Breslow	73
Figura 3.19 Líquidos iónicos tricatiónicos lineales sintetizados.....	75
Figura 3.20 Síntesis del núcleo de imidazolio a partir de ésteres de aminoácidos.	75
Figura 3.21 Síntesis del núcleo de imidazolio a partir de aminoácidos.	76
Figura 3.22 RMN ^1H en D_2O de las aguas madre de la cristalización de 4g	77
Figura 3.25. Síntesis de líquidos iónicos a partir de los precursores zwitteriónicos de aminoácidos.	79
Figura 3.25 Espectro de RMN de ^1H en D_2O crudo de reacción de 4d con TsOH.	79
Figura 3.26 Espectro de RMN de ^1H en D_2O del producto 5b ; Error! Marcador no definido.	
Figura 3.27 Espectro de RMN de ^{13}C en D_2O comparativo de materia prima 4f y producto 7b	82
Figura 3.28 Ruta sintética propuesta para la obtención del núcleo de imidazolio a partir de un ácido hidroxámico.	83
Figura 3.29 Espectro de RMN de ^1H en D_2O con supresión de agua de la reacción del ácido hidroxámico con aldehído.	83
Figura 3.30 LITL sintetizados y analizados por TGA y Karl-Fischer para determinación de propiedades térmicas y contenido de agua.	86
Figura 3.31 Curvas de TGA obtenidas para los compuestos 7a-s	88
Figura 3.32 Curvas DTG calculadas para los compuestos 7 a-s	89

Índice de Tablas

Tabla 1.1 Clasificación de las desacetilasas de histona	34
Tabla 1.2 Expresión de HDACs en tejidos tumorales	36
Tabla 3.1 Resultados obtenidos de la validación del acoplamiento molecular.....	53
Tabla 3.2 Energías de interacción de los ligandos en acoplados en la HDAC1....	57
Tabla 3.3 Energías de interacción de los ligandos en acoplados en la HDAC6....	58
Tabla 3.4 Energías de interacción de los ligandos en acoplados en la HDAC8....	62
Tabla 3.5 Parámetros fisicoquímicos calculados para los ligandos A1-D5.	63
Tabla 3.6 Parámetros ADMET de los ligandos A1-D5.	64
Tabla 3.7 Condiciones para la síntesis de los líquidos iónicos de imidazolio	67
Tabla 3.8 Activación de los -OH del 1,3-dietanolimidazolio	70
Tabla 3.9 Líquidos iónicos tricatiónicos lineales sintetizados.....	74
Tabla 3.10 Síntesis del núcleo de imidazolio a partir de ésteres de aminoácidos.	76
Tabla 3.11 Síntesis del núcleo de imidazolio a partir de aminoácidos.	77
Tabla 3.12 Síntesis de ácidos <i>bis</i> -hidroxámicos por acoplamiento con CDI.....	80
Tabla 3.13 Promedio porcentual de agua contenida en los LITL después de secado durante 15 y 30 días.....	87
Tabla 3.14 Valores obtenidos del análisis TGA/DTG.....	89

Acrónimos

ACN	Acetonitrilo
AcOH	Ácido acético
API-IL	Líquidos iónicos como ingredientes farmacéuticos activos
Asp	Aspartato
CCF	Cromatografía en capa fina
CDI	1,1'-Carbonildiimidazol
DMAP	N,N-Dimetilaminopiridina
DMF	N,N-Dimetilformamida
DTG	Derivada del análisis termogravimétrico
EC50	Concentración máxima efectiva media
Glu	Glutamato
HAT	Acetiltransferasas de histonas
HDAC	Deacetilasa de histona
His	Histidina
HRMS	Espectrometría de masas de alta resolución (High Resolution Mass Spectrometry)
KF	Karl-Fischer
LID	Líquidos iónicos dicatiónicos
LIM	Líquidos iónicos monocatiónicos
LIs	Líquidos iónicos
LIT	Líquidos iónicos tricatiónicos
LITL	Líquidos iónicos tricatiónicos lineales
NHC	Carbenos N-heterocíclicos
Phe	Fenilalanina
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia magnética nuclear
SAHA	Ácido suberoilánilida
SIRT	Sirtuinas
TBME	Tert-butilmetileter
TFA	Ácido trifluoroacético
TGA	Análisis termogravimétrico (Thermogravimetric Analysis)
THF	Tetrahidrofurano
TSA	Tricostatina A
ZBG	Grupo quelante de Zinc

Productos obtenidos del trabajo

Publicación del artículo “*Experimental and theoretical study on the synthesis and thermophysical properties of newer tricationic ionic liquids*” en el *Journal of molecular Structure*. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.133164>

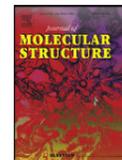
Journal of Molecular Structure 1263 (2022) 133164



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Journal of Molecular Structure

journal homepage: www.elsevier.com/locate/molstr



Experimental and theoretical study on the synthesis and thermophysical properties of newer tricationic ionic liquids



Fabiola I. López^a, Leobardo Ibarra-Sanchez^a, José Manuel Domínguez-Esquivel^b, Alma Delia Miranda-Olvera^b, Raiza Hernández Bravo^c, Selene Lagunas-Rivera^d, Miguel A. Vázquez^{a,*}

^aDepartamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Gto 36050, México

^bInstituto Mexicano Del Petróleo, Eje Central Lázaro Cárdenas Norte 152, Col. San Bartolo Atepehuacan, Gustavo A. Madero, Ciudad de México C.P. 07730, México

^cCátedra CONACYT – Centro de Ingeniería y Desarrollo Industrial CIDESI, Av. Playa, Av. Pie de la Cuesta No. 702, Desarrollo San Pablo, Santiago de Querétaro, Qro 76125, México

^dCátedra CONACYT, Departamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Gto 36050, México

Presentación de cartel “Acoplamiento molecular de líquidos iónicos como potenciales inhibidores de desacetilasas de histona” en la “XXII Reunión Internacional de Ciencias Médicas”.



Departamento de Ciencias Médicas, División de Ciencias de la Salud
Universidad de Guanajuato, Campus León

XXII Reunión Internacional de Ciencias Médicas

24-26 Agosto 2022

OTORGA LA PRESENTE
CONSTANCIA

A:

LEOBARDO IBARRA SÁNCHEZ

Por su asistencia a la XXII Reunión Internacional de Ciencias Médicas, evento híbrido con una duración de 20 horas, celebrado los días 24 al 26 de Agosto en el auditorio Jorge Ibarra Goitia del Departamento de Estudios Culturales de la Universidad de Guanajuato, Campus León.

24, 25 y 26 de Agosto del 2022 en León, Gto.

"LA VERDAD OS HARÁ LIBRES"

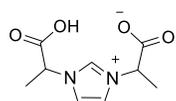

Dr. Tonatiuh García Campos
Director de División de
Ciencias de la Salud


Dra. Claudia Luévano Contreras
Directora del Departamento de
Ciencias Médicas

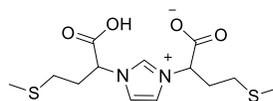

Dra. Lorena del Rocio Ibarra Reynoso
Coordinadora de la Maestría
en Ciencias Médicas


Dra. María Luisa Lazo de la Vega Monroy
Coordinadora del Doctorado
en Ciencias Médicas

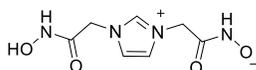
Moléculas sintetizadas



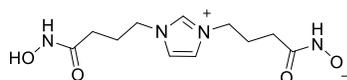
4h



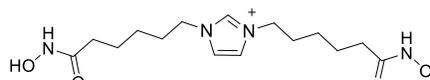
4i



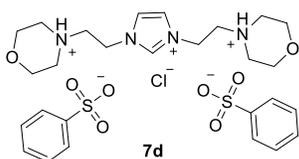
5a



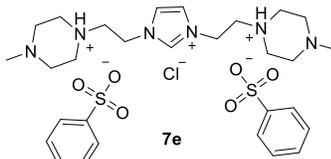
5b



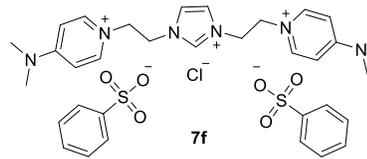
5c



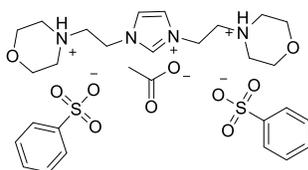
7d



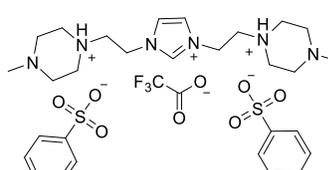
7e



7f



7h



7m

Resumen

Este trabajo de investigación describe el estudio sobre la evaluación *in silico* mediante acoplamiento molecular de diversas moléculas tipo líquido iónico funcionalizadas con ácidos hidroxámicos sobre enzimas histonas deacetilasas (HDAC) 1, 6 y 8 como dianas terapéuticas. En conjunto, se realizó la predicción de sus propiedades fisicoquímicas y ADMET. Los resultados del acoplamiento molecular indican que todas las moléculas tuvieron el potencial de quelar el cofactor Zn^{2+} de manera mono y bidentada dentro del sitio activo de las enzimas evaluadas. Además, dichas moléculas mostraron capacidad para formar interacciones de tipo p-p y catión-p con las fenilalaninas que componen la parte más estrecha del túnel de entrada al sitio activo de las HDACs. Las mejores moléculas fueron aquellas en las que el ácido hidroxámico tiene la cadena más corta unida al núcleo de imidazolio.

Con respecto a sus propiedades fisicoquímicas, estas moléculas mostraron una alta solubilidad en agua, lo que tuvo un efecto directo en su liposolubilidad, haciendo que no sean capaces atravesar la barrera hematoencefálica, sin embargo, ninguna mostró tener efecto sobre las enzimas del complejo CYP450 por lo que no tendrían un efecto tóxico.

En el trabajo se lograron sintetizar diferentes líquidos iónicos (LIs) con 3 ácidos distintos como catalizadores, siendo el AcOH el mejor de ellos, con rendimientos del 50-95%. Cuando la reacción se llevó a cabo con aminoácidos se encontró la formación de moléculas tipo zwitterion en estado sólido con puntos de fusión > 100 °C por lo que no se pueden considerar líquidos iónicos. Debido a su alta polaridad y solubilidad en agua el proceso de purificación solo permitió obtenerlos con rendimientos del 25-57%. Se comprobó que se puede llegar a la síntesis de ácidos hidroxámicos mediante un acoplamiento con CDI.

También se logró la activación de los grupos -OH de los LIs con diversos cloruros de sulfonilo con rendimientos del 44-90%. Se encontró evidencia de que al momento de reaccionar en medio básico (con una base inorgánica o una amina) las reacciones de sustitución del sulfonilo pueden estar compitiendo con la formación de carbenos NHC y procesos de descomposición.

Finalmente, se logró la síntesis de diversos líquidos iónicos tricatiónicos lineales (LITL) con morfolina, 1-metilpiperazina y DMAP con rendimientos del 48-89% a los cuales se les analizó el % de humedad y su estabilidad térmica mediante TGA/DTG. Los resultados arrojaron que los LITL de este tipo son muy higroscópicos. Por otro lado, estos LIs mostraron tener alta estabilidad térmica con temperaturas de descomposición por encima de los 270 °C.

1. Marco teórico

1.1 Líquidos iónicos

Los líquidos iónicos (LIs) son sales con un punto de fusión bajo, por consenso, cuando este valor es $<100\text{ }^{\circ}\text{C}$.¹ Como su nombre lo indica estos líquidos se componen de cationes orgánicos que pueden deslocalizar la carga positiva en su estructura y de aniones que pueden ser tanto orgánicos como inorgánicos. Tiene la característica de tener presiones de vapor despreciables razón por la cual son considerados no volátiles. Una de las características más destacable de estas sales es que sus propiedades fisicoquímicas pueden ser ajustadas al modificar sus componentes como los cationes y/o los aniones para darles diversas aplicaciones.²

1.2 Breve historia de los líquidos iónicos

Los primeros reportes de este tipo de compuestos surgen del estudio de las alquilaciones de Friedel-Crafts catalizadas por AlCl_3 aproximadamente a mediados del siglo XIX (1850 d.C.) De estos experimentos se obtenía un aceite rojo de identidad desconocida que se formaba en la reacción de alquilación³ y en estudios en años posteriores mediante RMN se determinó que se podía formar un intermediario conformado por un carbocatión y un anión de tetracloroaluminato.¹

En los años 90's se llegó a la síntesis de los primeros líquidos iónicos que eran resistentes al aire y la humedad puesto que los primeros que se describieron, por su naturaleza química eran sensibles a la humedad.^{4,5} Entre estos líquidos iónicos se sintetizó el nitrato de etilamonio, uno de los primeros LIs con iones nitrato que tenía un punto de fusión de $12\text{ }^{\circ}\text{C}$ (1917).⁶

Una de las personas que desarrolló los líquidos iónicos que son conocidos en la actualidad fue el profesor John Yoke, quién en la década de 1960 encontró que el uso de sales de CuCl y las sales de cloruro de trietilamonio en una mezcla 1:1 eran líquidas a temperaturas muy cercanas a las del ambiente, puesto que por separado ambas sales eran sólidos.⁷

Como se mencionó anteriormente, los primeros LIs que se conformaban de aniones de aluminio tenía el problema de ser muy reactivos con el agua, en una búsqueda

¹ Forsyth, S. A., Pringle, J. M. & MacFarlane, D. R. Ionic Liquids - An Overview. *Aust. J. Chem.* 57, 113–119 (2004).

² Dong, K., Zhang, S., Wang, D. & Yao, X. Hydrogen Bonds in Imidazolium Ionic Liquids. *J. Phys. Chem. A* 110, 9775–9782 (2006).

³ Calloway, N. O. The Friedel-Crafts Syntheses. *Chem. Rev.* 17, 327–392 (1935).

⁴ Tsuda, T. & Hussey, C. L. Electrochemistry of Room-Temperature Ionic Liquids and Melts BT - Modern Aspects of Electrochemistry, No. 45. in (ed. White, R. E.) 63–174 (Springer New York, 2009). doi:10.1007/978-1-4419-0655-7_2.

⁵ T. Carlin, R. & Fuller, J. Ionic liquid-polymer gel catalytic membrane. *Chem. Commun.* 1345–1346 (1997) doi:10.1039/A702195J.

⁶ Wilkes, J. S. A short history of ionic liquids—from molten salts to neoteric solvents. *Green Chem.* 4, 73–80 (2002).

⁷ Hilliard, H. M., Axtell, D. D., Gilbert, M. M. & Yoke, J. T. Copper(II) and cobalt(II) complexes of bicyclic tertiary amines. *J. Inorg. Nucl. Chem.* 31, 2117–2121 (1969).

de nuevas moléculas que fuesen resistentes al agua se sintetizaron nuevas sales utilizando como cationes sales cuaternarias de amonio, incluidos en su mayoría en heterociclos, sin embargo, estas moléculas reaccionaban con el agua llegando a formar HCl como producto de reacción. Finalmente, la búsqueda dio como resultado diversas sales de tetrafluoroborato, hexafluorofosfato, nitrato, sulfato y acetato, las cuales se prepararon a partir de reacciones de metátesis del halogenuro de dialquilimidazolio. Estas sales fueron estables hacia la hidrólisis a temperatura ambiente.⁸

1.3 Estructura de los líquidos iónicos

1.3.1 Cationes

A la fecha se conoce un gran número de combinaciones de cationes y aniones que pueden formar líquidos iónicos, especialmente aquellos que son líquidos a temperatura ambiente. De sus dos componentes, los cationes tienden a ser voluminosos, orgánicos y con una baja simetría (Figura 1.1), además las cadenas alquílicas pueden tener diversos grupos funcionales que modifican sus propiedades.⁹

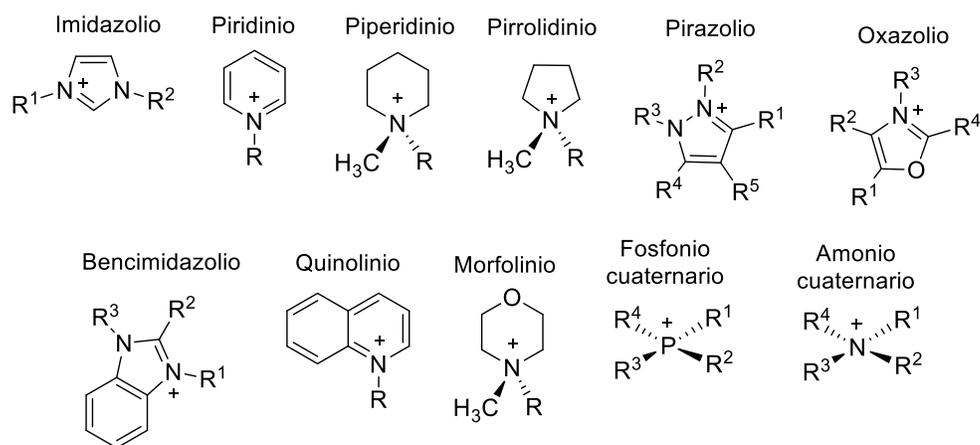


Figura 1.1 Cationes más comúnmente utilizados para la formación de líquidos iónicos.

Los cationes son considerados el ion que menos efecto tiene sobre las propiedades de los LIs, sin embargo, esto se puede atribuir a la similitud que hay entre los diversos cationes que son elegidos para este propósito. Generalmente se puede inducir una disminución en el punto de fusión conforme aumenta el tamaño de la cadena alquílica, así como la presencia de cadenas polifluoradas con 3 a 5 átomos de carbono. Sin embargo, algunas cadenas más largas pueden inducir

⁸ Wilkes, J. S. & Zaworotko, M. J. Air and water stable 1-ethyl-3-methylimidazolium based ionic liquids. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 965–967 (1992) doi:10.1039/C39920000965.

⁹ Olivier-Bourbigou, H. & Magna, L. Ionic liquids: perspectives for organic and catalytic reactions. *J. Mol. Catal. A Chem.* 182–183, 419–437 (2002).

comportamientos de un líquido cristalino que puede aumentar el punto de fusión considerablemente.¹⁰ Aunque los líquidos iónicos que contienen N son los más explorados, aquellos basados en fosfonio o sulfonio muestran altas estabilidades, pero con la desventaja de ser altamente viscosos.¹¹

1.3.2 Aniones

Son los iones que se conoce con el mayor efecto sobre las propiedades fisicoquímicas de los LIs, normalmente aquellos que forman líquidos a temperatura ambiente son los que tienen una carga negativa difusa y son débilmente básicos que pueden ser de naturaleza tanto orgánica como inorgánica. Los aniones tienen un gran efecto en la viscosidad del líquido iónico debido a que la viscosidad tiende a disminuir cuando se trata de un anión que es pequeño y tiene una carga negativa difusa que no forma puentes de hidrógeno. Los líquidos iónicos que tienen amiduros o metanuros como anión forman LIs con baja viscosidad u puntos de fusión.¹²

Los aniones se pueden dividir en dos grupos, los polinucleares (con dos átomos metálicos como núcleo) que se forman al hacer reaccionar un ácido de Lewis con un anión mononuclear, la desventaja es que son sensibles al agua. Por otro lado, están los aniones que son mononucleares y forman líquidos iónicos de manera estequiométrica (Figura 1.2).¹³

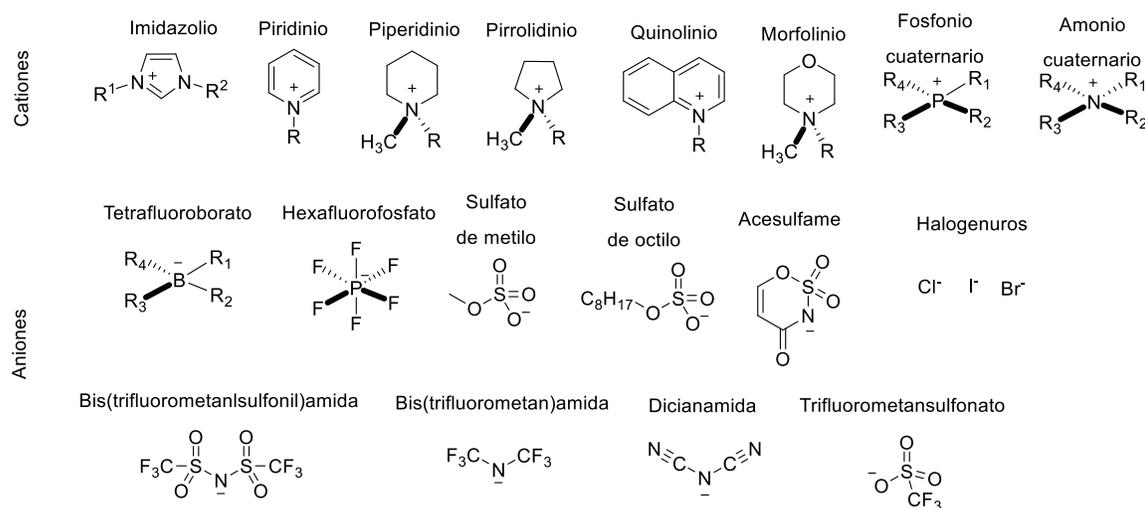


Figura 1.2 Aniones más comúnmente utilizados para la formación de líquidos iónicos.

¹⁰ Deetlefs, M., Raubenheimer, H. G. & Esterhuysen, M. W. Stoichiometric and catalytic reactions of gold utilizing ionic liquids. *Catal. Today* 72, 29–41 (2002).

¹¹ Bradaric, C. J., Downard, A., Kennedy, C., Robertson, A. J. & Zhou, Y. Industrial preparation of phosphonium ionic liquids. *Green Chem.* 5, 143–152 (2003).

¹² Matsumoto, H., Kageyama, H. & Miyazaki, Y. Room temperature ionic liquids based on small aliphatic ammonium cations and asymmetric amide anions. *Chem. Commun.* 1726–1727 (2002) doi:10.1039/B204046H.

¹³ Kianfar, E. & Mafi, S. Ionic Liquids: Properties, Application, and Synthesis. *Fine Chem. Eng.* 22–31 (2020) doi:10.37256/fce.212021693.

El efecto más grande de anión sobre el comportamiento del LI es sobre la solubilidad en agua ya que cambios pequeños en la composición del anión pueden afectar significativamente la hidrofilia de la estructura completa. Los líquidos iónicos hidrofóbicos suelen tener aniones perfluorados, característica que afecta directamente su capacidad para formar puentes de hidrógeno. Por lo tanto, aniones como BF_4^- , bis(trifluorometansulfonil)amida, HF_6^- , entre otros relacionados.¹⁴

En el caso de los aniones que regularmente forman líquidos iónicos hidrofílicos se encuentran el mesilato¹⁵, tosilato¹⁶, trifluoroacetato, acetato, tiocianato¹⁷ y dicianamida¹⁸. La mayoría tienen una gran solubilidad en agua (en cualquier proporción).

1.4 Propiedades fisicoquímicas de los líquidos iónicos

Las propiedades fisicoquímicas de los LIs dependen tanto de las fuerzas intermoleculares como de las intramoleculares, y por lo tanto de la estructura de los iones que los conforman. Como ya se ha mencionado, la miscibilidad con agua puede modificarse al cambiar la estructura de estas sales, pero no es la única propiedad que puede modificarse. La viscosidad de los LIs está relacionada con la naturaleza de la cadena alquílica, pero en mayor medida con el anión, puesto que este parámetro aumenta en el orden $\text{Cl}^- > \text{PF}_6^- > \text{BF}_4^- > \text{NO}_3^- > \text{NTf}_2^-$.¹⁹ Las sales de dialquilimidazolio suelen preferirse sobre otras debido a que son más estables ante altas temperaturas y la interacción con el anión es más débil.

Entre otras propiedades fisicoquímicas que son de interés en los LIs se encuentra la transición vítrea (T_g), cuanto más baja sea conlleva a mejores propiedades, esta propiedad depende de las interacciones de atracción y repulsión entre los iones por lo que su valor puede disminuir a modificar tanto el anión como el catión.²⁰

En el caso del punto de fusión, este puede ser disminuido al reducir la eficiencia de empaquetamiento de los iones, y aunque existen diversos factores que están involucrados los más importantes son los impedimentos estéricos importantes que

¹⁴ Pringle, J. M. et al. The effect of anion fluorination in ionic liquids—physical properties of a range of bis(methanesulfonyl)amide salts. *New J. Chem.* 27, 1504–1510 (2003).

¹⁵ Kitazume, T. & Tanaka, G. Preparation of fluorinated alkenes in ionic liquids. *J. Fluor. Chem.* 106, 211–215 (2000).

¹⁶ Golding, J., Forsyth, S., MacFarlane, D. R., Forsyth, M. & Deacon, G. B. Methanesulfonate and p-toluenesulfonate salts of the N-methyl-N-alkylpyrrolidinium and quaternary ammonium cations: novel low cost ionic liquids. *Green Chem.* 4, 223–229 (2002).

¹⁷ Pringle, J. M. et al. Physical trends and structural features in organic salts of the thiocyanate anion. *J. Mater. Chem.* 12, 3475–3480 (2002).

¹⁸ MacFarlane, D. R., Forsyth, S. A., Golding, J. & Deacon, G. B. Ionic liquids based on imidazolium, ammonium and pyrrolidinium salts of the dicyanamide anion. *Green Chem.* 4, 444–448 (2002).

¹⁹ Swartling, D., Ray, L., Compton, S. & Ensor, D. Preliminary investigation into modification of ionic liquids to improve extraction parameters. *Bull. Biochem. Biotechnol* 13, 1–7 (2000).

²⁰ Xu, W., Cooper, E. I. & Angell, C. A. Ionic Liquids: Ion Mobilities, Glass Temperatures, and Fragilities. *J. Phys. Chem. B* 107, 6170–6178 (2003).

puedan alterar la eficiencia del empaquetamiento y reducir lo más posible la formación de puentes de hidrógeno.²¹

La estabilidad térmica varía según la capacidad del LI de liberar protones, aquellos con esta propiedad se descomponen al llegar a su punto de ebullición o se descomponen durante el calentamiento, además aquellos que tengan una alta energía de transferencia de protón se pueden descomponer antes de alcanzar su punto de ebullición. Los valores pueden ir de los 120 a los 360 °C, hablando de su estabilidad térmica, y se ha reportado que esta propiedad se puede mejorar al utilizar aniones inorgánicos y que formen pocas interacciones con otros iones.²²

La densidad es una característica que depende de la forma en la que los iones se pueden empaquetar, así que se relaciona de manera directa con su forma y su tamaño. Se ha encontrado que al aumentar el tamaño de la cadena alquílica en cationes de alquilimidazolio, alquilamonio o alquilcarboxilato se puede disminuir la densidad.²³

Otra propiedad importante es la viscosidad, la cual depende de las interacciones entre los iones como las interacciones de Van der Waals, por lo que, a mayor número de interacciones, mayor es la viscosidad. Se ha descrito que el aumento de las cadenas alquílicas en los LIs lleva a un aumento de la viscosidad debido a más interacciones de Van der Waals, por otro lado, la presencia de aniones con carga deslocalizada como los polifluorados disminuye la viscosidad al reducir la eficiencia de los puentes de hidrógeno.²²

Estas y algunas otras propiedades fisicoquímicas como la tensión superficial y la conductividad eléctrica están ligadas a la estructura de los LIs y se ha descrito como ciertos cambios pueden influir sobre ellas, esta es una de las razones más importantes por las que este tipo de sales son de gran interés. En los siguientes temas se revisará su clasificación y sus principales usos.

1.5 Síntesis de líquidos iónicos

Existe una gran cantidad de líquidos iónicos de los cuales falta una descripción detallada del proceso de síntesis y purificación. No obstante, los procesos suelen ser sencillos, aunque en muchos casos se generan impurezas que no siempre son fáciles de remover. Los líquidos iónicos más simples se pueden preparar mediante una protonación de aminas y la mayoría de los métodos se centran en la síntesis de LIs con estos núcleos como cationes.²⁴

²¹ Bagno, A. et al. The effect of the anion on the physical properties of trihalide-based N, N-dialkylimidazolium ionic liquids. *Org. Biomol. Chem.* 3, 1624–1630 (2005).

²² Batista, M. L. S., Neves, C. M. S. S., Carvalho, P. J., Gani, R. & Coutinho, J. A. P. Chameleonic Behavior of Ionic Liquids and Its Impact on the Estimation of Solubility Parameters. *J. Phys. Chem. B* 115, 12879–12888 (2011).

²³ Greaves, T. L. & Drummond, C. J. Protic Ionic Liquids: Properties and Applications. *Chem. Rev.* 108, 206–237 (2008).

²⁴ Cristina, R. F. Ionic Liquids Synthesis – Methodologies. *Org. Chem. Curr. Res.* 04, (2014).

1.5.1 Reacciones de alquilación o cuaternización

Para la síntesis de LIs derivados de imidazol esta es una de las reacciones más comunes, simplemente se reaccionar el alquilimidazol con un halogenuro de alquilo (Figura 1.3). Tiene la ventaja de que existen una gran variedad de materias primas en cuanto a estructura que tiene una reactividad según $\text{Cl} < \text{Br} < \text{I}$, siendo los derivados de yodo los más reactivos.²⁵ La reacción de Menshutkin entre aminas terciarias y halogenuros de alquilo²⁶, es ampliamente utilizada para formar aminas cuaternarias mediante su alquilación. Sin embargo, durante el proceso debe ser evitadas altas temperaturas para evitar la formación de impurezas coloridas, por lo que la reacciones pueden llegar a tomar mucho tiempo para obtener el producto deseado.

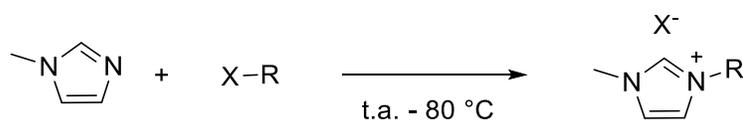


Figura 1.3 Reacción general de cuaternización entre el 1-metilimidazol y un halogenuro de alquilo.

Entre las otras metodologías, el uso de fuentes de energía alternativas se ha propuesto con éxito para la síntesis de este tipo de LIs. Por ejemplo, el uso de microondas en ciclos contralados de calentamiento y agitación puede llevar a la síntesis de LIs mediante cuaternización con el uso de haloalcanos en buenos rendimientos y sin muchas reacciones secundarias. Mediante este método se han sintetizado LIs con núcleo de imidazolio con mejores rendimientos y en tiempos mucho menores.²⁷ El uso de ultrasonido también ha sido aplicado para la síntesis de halogenuros de 1-alkil-3-metilimidazolio, esta metodología al igual que la anterior es libre de solvente y permite obtener el LI deseado en tiempos de tan solo 2 h cuando se usan sondas ultrasónicas directamente en la mezcla de reacción.²⁸

1.5.2 Reacciones de metátesis

Este proceso es ampliamente utilizado para derivatizar líquidos iónicos a partir de su sal de halogenuro. Estas reacciones se llevan a cabo mediante 2 metodologías principales que son el uso de ácidos libres, o sales de metales del grupo 1, para

²⁵ McIntosh, A. J. S., Griffith, J. & Gråsvik, J. Chapter 2 - Methods of Synthesis and Purification of Ionic Liquids. in (eds. Kuzmina, O. & Hallett Purification, and Recovery of Ionic Liquids, J. P. B. T.-A.) 59–99 (Elsevier, 2016). doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63713-0.00002-X>.

²⁶ Menshutkin, N. Beiträge zur Kenntnis der Affinitätskoeffizienten der Alkylhaloide und der organischen Amine. Zeitschrift für Phys. Chemie 5U, 589–600.

²⁷ Varma, R. S. & Namboodiri, V. V. An expeditious solvent-free route to ionic liquids using microwaves. Chem. Commun. 643–644 (2001) doi:10.1039/B101375K.

²⁸ Namboodiri, V. V & Varma, R. S. Solvent-free sonochemical preparation of ionic liquids. Org. Lett. 4, 3161–3163 (2002).

aquellos LIs que son inmiscibles con el agua y la metátesis con sales de Ag para los que son hidrosolubles (Figura 1.4).

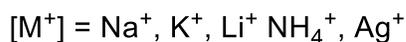
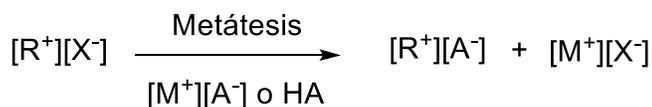


Figura 1.4 Procedimiento general para la reacción de metátesis en la síntesis de LIs.

En el caso de LIs inmiscibles en agua, la aproximación más sencilla es la reacción con el ácido, ya que el ácido resultante de la protonación del anión se puede remover con lavados de agua, pero en el caso de que no se pueda utilizar esta metodología, la reacción con alguna sal ya sea de amonio o de un metal del grupo uno es la elección, pero presenta problemas al resultar en las sales contaminantes que resultan de la metátesis, sin embargo, el uso adecuado de solventes orgánicos puede llevar a la solubilización del producto deseado y la precipitación de la sal resultante.²⁹

Para LIs solubles en agua, se utilizan las sales de plata simplemente haciendo reaccionar la sal de plata con el anión deseado en soluciones metanólicas o metanólicas acuosas dando como resultado el LI esperado y la sal de plata correspondiente, que en muchos casos el proceso de precipitación es muy lento, siendo esta sal uno de los subproductos que no son deseados además de ser una estrategia cara por el uso de las sales de plata.³⁰

1.5.3 Reacciones de síntesis libre de halógenos

Este tipo de síntesis es utilizada como alternativa a los métodos convencionales para la síntesis de LIs basados en imidazolio. La reacción multicomponente de Debus-Radziszewski permite la obtención de líquidos iónicos con núcleo de imidazolio en moderados a altos rendimientos cuando se lleva a cabo en un medio ácido (Figura 1.5).³¹ Sin embargo, tiene la desventaja que al utilizar una mezcla de aminas el producto será una mezcla de los diversos LIs que se pueden obtener, por lo que, generalmente se utiliza para la síntesis de LIs simétricos³².

²⁹ D. Holbrey, J. & R. Seddon, K. The phase behaviour of 1-alkyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborates; ionic liquids and ionic liquid crystals. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 2133–2140 (1999) doi:10.1039/A902818H.

³⁰ MacFarlane, D. R., Golding, J., Forsyth, S., Forsyth, M. & Deacon, G. B. Low viscosity ionic liquids based on organic salts of the dicyanamide anion. *Chem. Commun.* 1430–1431 (2001) doi:10.1039/B103064G.

³¹ Saxer, S., Marestin, C., Mercier, R. & Dupuy, J. The multicomponent Debus–Radziszewski reaction in macromolecular chemistry. *Polym. Chem.* 9, 1927–1933 (2018).

³² Depuydt, D., Van den Bossche, A., Dehaen, W. & Binnemans, K. Halogen-free synthesis of symmetrical 1,3-dialkylimidazolium ionic liquids using non-enolisable starting materials. *RSC Adv.* 6, 8848–8859 (2016).

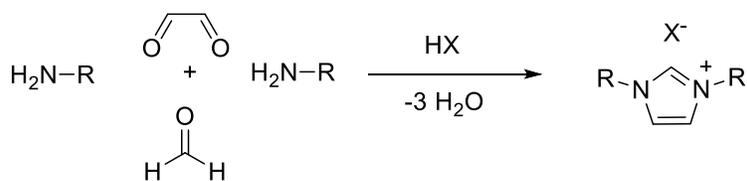


Figura 1.5 Síntesis de LIs de imidazolio libre de halógenos mediante la reacción de Debus-Radziszewski modificada.

1.5.4 Síntesis vía carbenos N-heterocíclicos

La síntesis mediante intermediarios carbénicos se realiza por la reacción entre un halogenuro de imidazolio usando una base (Figura 1.6) como NaH en amoníaco o DMSO, Na en amoníaco, metales alcalinos en THF, *t*-butóxidos metálicos en THF o DMSO y algunos otros. La reacción de estos carbenos con la forma protonada del anión deseado, lleva a la formación del producto. Esta síntesis tiene la ventaja de que la reacción ocurre entre 2 moléculas neutras, lo que genera el producto deseado sin la contaminación de sales de halógenos o de metales.³³

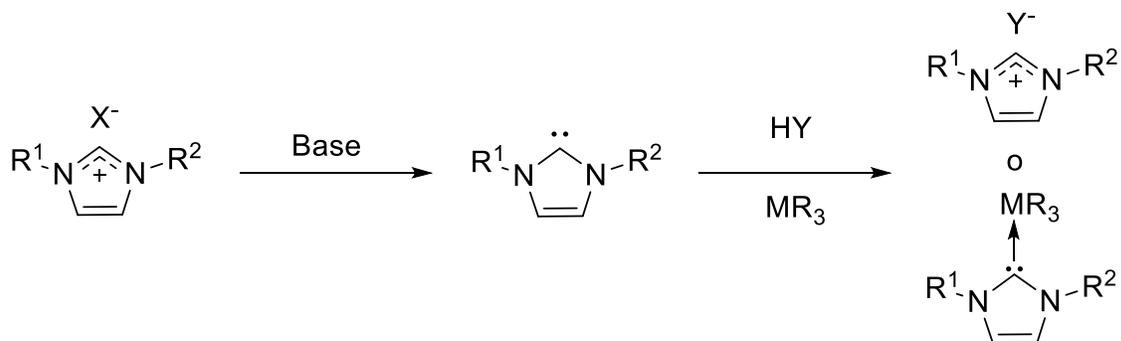


Figura 1.6 Síntesis general de LIs derivados de imidazolio mediante un intermediario carbénico N-heterocíclico.

1.6 Clasificación de los líquidos iónicos

Debido a la gran cantidad de LIs que se pueden obtener al variar el tipo de anión y catión y de las diversas propiedades que se pueden controlar, estos compuestos se pueden clasificar en una amplia variedad de grupos, ya sea por su aplicación, por sus características químicas o físicas o por su estructura. En esta sección se revisarán de manera breve algunos tipos de líquidos iónicos según su estructura (Figura 1.7).

³³ Clare, B., Sirwardana, A. & MacFarlane, D. R. Synthesis, Purification and Characterization of Ionic Liquids BT - Ionic Liquids. in (ed. Kirchner, B.) 1–40 (Springer Berlin Heidelberg, 2010). doi:10.1007/128_2008_31.



Figura 1.7 Clasificación estructural de los líquidos iónicos. Se muestran algunos de los grupos en lo que se pueden clasificar los LIs.

1.6.1. De aplicación específica

Este tipo de LIs ha sido muy estudiado ya que se trata de compuestos a los que se les añade un grupo funcional, por lo que se les conoce como LIs funcionalizados. Como su nombre lo dice, se diseñan pensando en una aplicación particular y de esta manera se selecciona el tipo de iones para su síntesis esperando que pueda ser aplicado, por ejemplo, en diversas reacciones o como catalizadores.³⁴

1.6.2 Quirales

Los LIs también pueden utilizarse para realizar inducciones asimétricas, y tienen un gran campo de aplicación en áreas como la cromatografía líquida quiral, polimerización estereoselectiva, RMN quiral, entre otras aplicaciones diversas.³⁵ Una de las ventajas de estos compuestos es que tanto el catión como el anión pueden ser quirales, por lo que se tienen una amplia variedad de estructuras que pueden ser sintetizadas (Figura 1.8).

³⁴ Giernoth, R. Task-Specific Ionic Liquids. *Angew. Chemie Int. Ed.* 49, 2834–2839 (2010).

³⁵ Suzuki, Y., Wakatsuki, J., Tsubaki, M. & Sato, M. Imidazolium-based chiral ionic liquids: synthesis and application. *Tetrahedron* 69, 9690–9700 (2013).

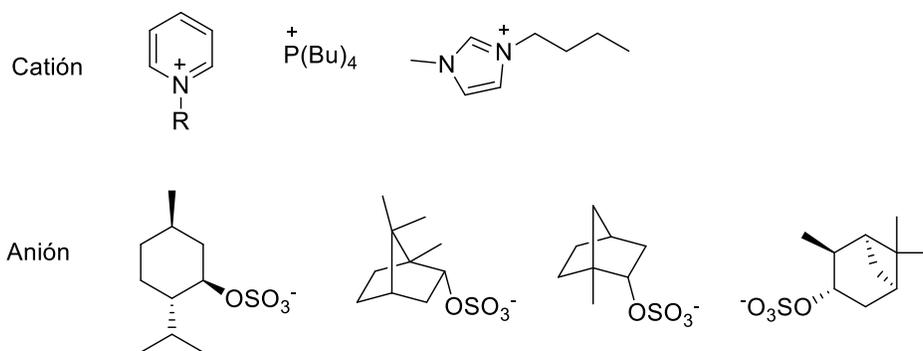


Figura 1.8 Líquidos iónicos con aniones de sulfato quirales.³⁶

1.6.3. Solventes de polaridad modificable

Este tipo de LIs se equilibra en alta o baja polaridad cuando se adiciona un activador, por lo que son útiles cuando se requieren dos solventes de diferente polaridad en una síntesis multipasos. Las aminas secundarias con los reactivos de elección para sintetizar este tipo de LIs, las cuales al tratarse con CO₂ forman sales de carbamato.³⁷

1.6.4. Poliiónicos

Estas sales se basan en un esqueleto de núcleos que se pueden repetir en el caso de ser polímeros o que pueden variar cuando se tratan de estructuras diméricas, triméricas u oligoméricas.³⁸

En el caso específico de los líquidos iónicos que contienen dos o tres cationes, conocidos como líquidos iónicos dicatiónicos (LID) y tricatiónicos (LIT), respectivamente se han realizado diversas investigaciones para determinar como la presencia de más iones afectan sus propiedades fisicoquímicas. En un estudio realizado por Armstrong *et al.*, al estudiar diversos LIDs (Figura 1.9) pudo encontrar que estas sales tuvieron puntos de fusión > 100 °C, y que sus propiedades fisicoquímicas como la densidad, punto de fusión y viscosidad eran afectadas de manera similar a los líquidos iónicos monocatiónicos (LIM), sin embargo, su característica principal fue que eran más estables térmicamente que sus análogos monocatiónicos en un rango de 330 a 400 °C.³⁹ Al igual que sucede con los LIM la

³⁶ Winkel, A. & Wilhelm, R. New Chiral Ionic Liquids Based on Enantiopure Sulfate and Sulfonate Anions for Chiral Recognition. *European J. Org. Chem.* 2010, 5817–5824 (2010).

³⁷ Yinghui, Z., Tang, K. & S., N. Applications of Ionic Liquids in Lignin Chemistry. in *Ionic Liquids - New Aspects for the Future* (InTech, 2013). doi:10.5772/51161.

³⁸ Singh, S. K. & Savoy, A. W. Ionic liquids synthesis and applications: An overview. *J. Mol. Liq.* 297, 112038 (2020).

³⁹ Anderson, J. L., Ding, R., Ellern, A. & Armstrong, D. W. Structure and Properties of High Stability Geminal Dicationic Ionic Liquids. *J. Am. Chem. Soc.* 127, 593–604 (2005).

simetría en el catión afecta las propiedades fisicoquímicas y en el caso de los LID no simétricos su viscosidad y puntos suelen ser menores que los LID simétricos.⁴⁰

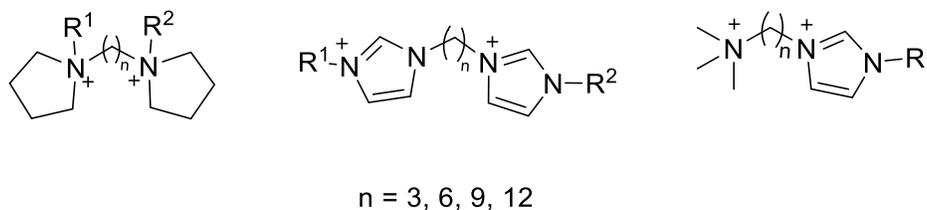


Figura 1.9 Estructura de algunos líquidos iónicos dicatiónicos no simétricos que han sido estudiados.

De manera similar a los LID, los LITs (Figura 1.10) también han sido estudiados y se pueden dividir en dos grupos basados en su estructura, aquellos que tienen un núcleo rígido el cual une a los 3 cationes en una sola estructura, conocidos también como líquidos iónicos trigeminales y aquellos que tienen una estructura lineal conocidos como líquidos iónicos tricatiónicos lineales (LITL).

Para el caso de los LITs trigeminales son muy viscosos a temperatura ambiente y al hacer un análisis termogravimétrico (TGA) se encontró que tienen diversos pasos de descomposición. En otro estudio de Armstrong *et al.* sobre LIT geminales con aniones como NTf_2^- , PF_6^- , BF_4^- y CF_3SO_3^- observó que el espaciador entre el núcleo y los cationes afecta el punto de fusión, elevándolo para aquellos en los que el espaciador era más rígido, un comportamiento similar se observó también en la viscosidad.⁴¹ Por su parte, Wanigasekara *et al.* estudió las propiedades de los LITL con núcleo de imidazolio (Figura 1.10B) y encontró que la presencia de aniones con halógenos aumentan los puntos de fusión de estas estructuras, además de que el aumento de tamaño de las cadenas alquílicas produce también un aumento del punto de fusión debido a la mayor cantidad de interacciones de Van der Waals, también el tamaño del espaciador influye en la viscosidad, ya que al ser de mayor tamaño se pudo observar una disminución en esta propiedad.⁴²

1.6.5. Metálicos

La mayoría se prepara a partir de cationes de imidazolio o piridinio al usar los halogenuros del metal deseado. Al contener estos aniones se pueden aumentar sus

⁴⁰ D'Anna, F. & Noto, R. Di- and Tricationic Organic Salts: An Overview of Their Properties and Applications. *European J. Org. Chem.* 2014, 4201–4223 (2014).

⁴¹ Nanayakkara, Y. S. *et al.* The Effect of AC Frequency on the Electrowetting Behavior of Ionic Liquids. *Anal. Chem.* 82, 3146–3154 (2010).

⁴² Wanigasekara, E. *et al.* Linear Tricationic Room-Temperature Ionic Liquids: Synthesis, Physicochemical Properties, and Electrowetting Properties. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 1, 2126–2133 (2009).

propiedades de ácidos de Lewis o Brønsted. Estos LI tienen una viscosidad mayor debido al empaquetamiento de sus iones.⁴³

1.6.6. Neutros

La característica especial de estos LIs es que los aniones forman interacciones electrostáticas débiles con los cationes, y por consiguiente producen líquidos con puntos de fusión y viscosidades bajas. Debido a estas características son empleados como solventes inertes en diversas reacciones.⁴⁴

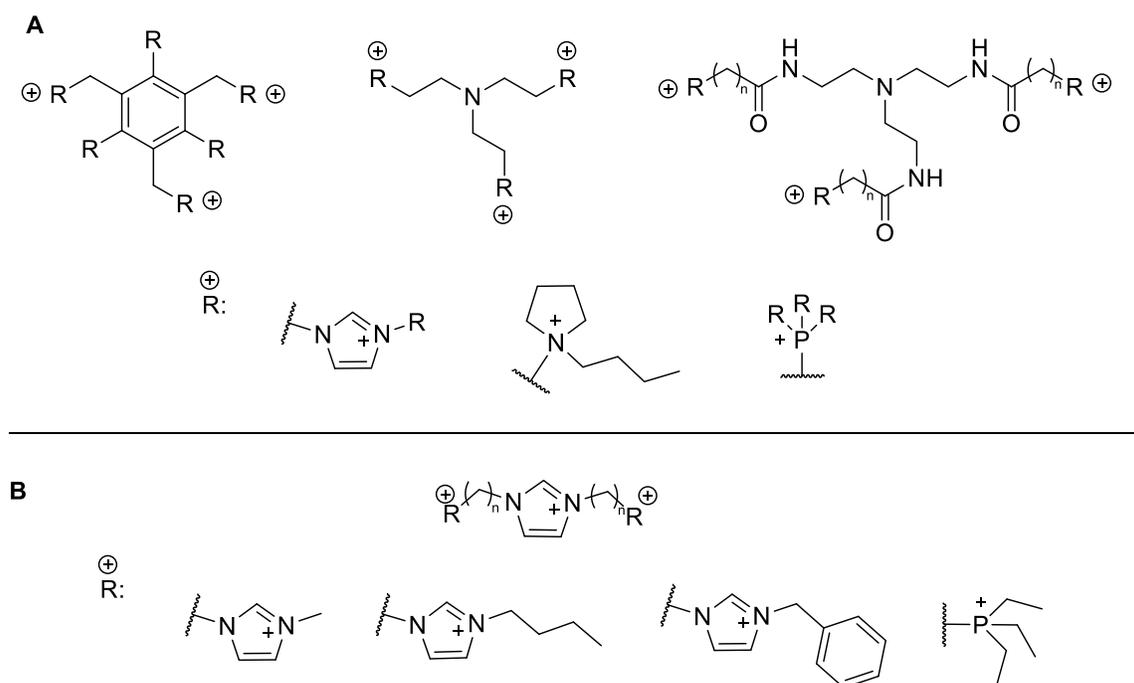


Figura 1.10 Líquidos iónicos tricatiónicos estudiados. A) LIT geminales. B) LITL.

1.6.7. Próticos

Este tipo de LIs se diferencia por la presencia de protones ácidos de Brønsted, esto permite que se puedan emplear como solventes o catalizadores en reacciones de deshidratación o hidrólisis. El proceso general de la síntesis de estos LI es la formación de una especie tipo zwitterion y posteriormente obtener los ácidos a través de una neutralización con un ácido suficientemente fuerte.⁴⁵

⁴³ Lin, I. J. B. & Vasam, C. S. Metal-containing ionic liquids and ionic liquid crystals based on imidazolium moiety. *J. Organomet. Chem.* 690, 3498–3512 (2005).

⁴⁴ Bonhôte, P., Dias, A.-P., Papageorgiou, N., Kalyanasundaram, K. & Grätzel, M. Hydrophobic, Highly Conductive Ambient-Temperature Molten Salts. *Inorg. Chem.* 35, 1168–1178 (1996).

⁴⁵ Olivier-Bourbigou, H., Magna, L. & Morvan, D. Ionic liquids and catalysis: Recent progress from knowledge to applications. *Appl. Catal. A, Gen.* 373, 1–56 (2010).

1.6.8. Biológicos

Esta clase de LIs se comenzó a investigar debido a la toxicidad que pueden presentar los LIs basados en alquilimidazolio y otros con cadenas alquílicas largas, que también presentan el problema de ser poco biodegradables. Por lo tanto, se han diseñado sales que sean más amigables con el medio ambiente a partir de cationes de colinio y algunos derivados de aminoácidos (como contra aniones) para tener una aproximación más “verde” durante su síntesis llegando a obtener productos biológicos no tóxicos.⁴⁶

1.7 Generaciones y aplicaciones de los LIs

Los LIs iónicos han tomado una gran importancia desde su descubrimiento debido a que sus propiedades fisicoquímicas se pueden modificar siguiendo algunas reglas generales. Con el tiempo, el desarrollo de los métodos sintéticos y de purificación y la exploración de las aplicaciones de estas sales líquidas ha llevado a una gran diversificación de los campos en los que se puede aplicar su uso. Teniendo en cuenta la estructura y las aplicaciones de estos compuestos se les puede dividir en 3 generaciones (Figura 1.11).

La primera generación comprende a los primeros líquidos iónicos que eran sensibles al aire y al agua, y se comenzó a explorar el uso de cationes de alquilimidazolio y alquilpiridinio con aniones de halogenuros metálicos. Luego de realizar más investigaciones y encontrar diversas combinaciones utilizando otros iones.¹³

La segunda generación corresponde al descubrimiento de propiedades fisicoquímicas especiales y que estas se podían modificar a siguiendo algunas reglas. Entre las propiedades fisicoquímicas que comenzaron a estudiarse estaban: el punto de fusión, la densidad, la viscosidad, la estabilidad térmica, la polaridad, la conductividad eléctrica, entre otras. A partir de este punto comenzaron a desarrollarse líquidos iónicos con aplicaciones específicas.⁴⁷

Entre las primeras aplicaciones se encuentra su uso como alternativa a los disolventes comunes debido a su naturaleza no volátil y no inflamable, lo que los puso en la mira como sustancias “verdes”.⁴⁸ Posteriormente, se les comenzó a dar aplicación en diversos ámbitos como catalizadores y solventes en diversas reacciones orgánicas⁴⁹, en cromatografía de líquidos como modificadores de la fase

⁴⁶ M.S., A., Khatri, P. K. & Jain, S. L. Synthesis and evaluation of bio-compatible cholinium amino acid ionic liquids for lubrication applications. *J. Ind. Eng. Chem.* 64, 420–429 (2018).

⁴⁷ Egorova, K. S., Gordeev, E. G. & Ananikov, V. P. Biological Activity of Ionic Liquids and Their Application in Pharmaceutics and Medicine. *Chem. Rev.* 117, 7132–7189 (2017).

⁴⁸ Holbrey, J. D. et al. Physicochemical Properties. in *Ionic Liquids in Synthesis* 57–174 (2007). doi: <https://doi.org/10.1002/9783527621194.ch3>.

⁴⁹ Welton, T. Room-temperature ionic liquids. Solvents for synthesis and catalysis. *Chem. Rev.* 99, 2071–2084 (1999).

móvil o la fase estacionaria⁵⁰, como electrolitos no acuosos⁵¹, como lubricantes⁵² y muchas otras aplicaciones.

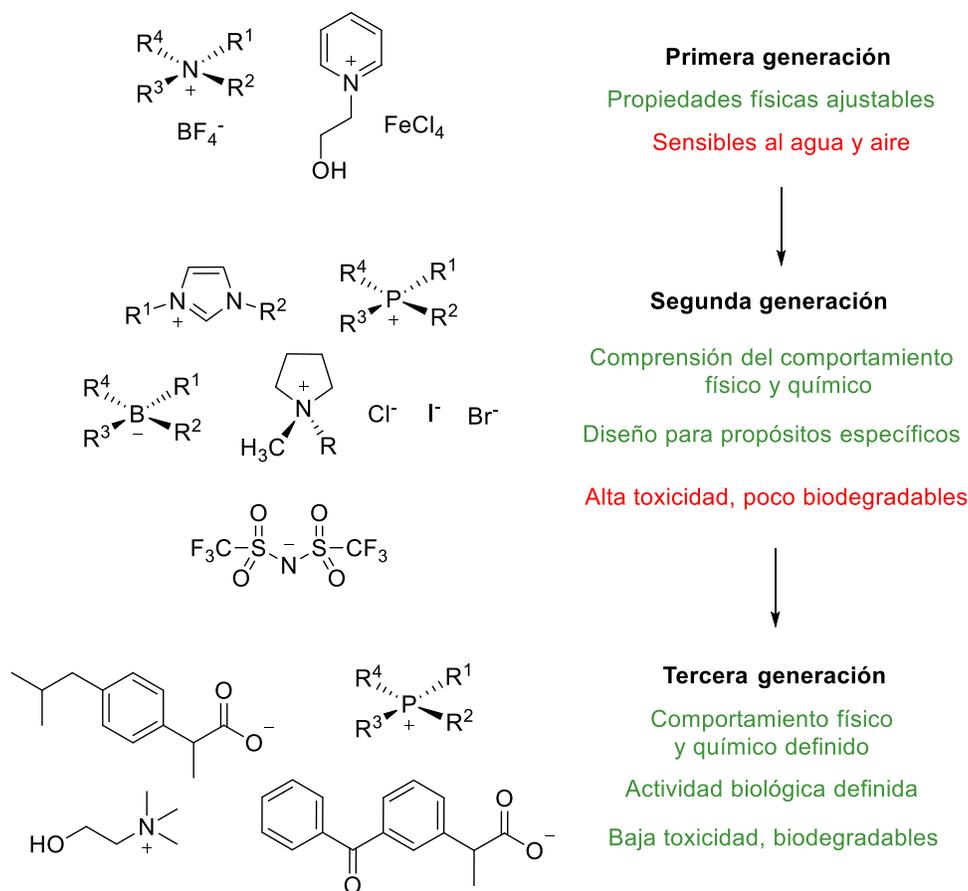


Figura 1.11. Generaciones de líquidos iónicos.

La tercera generación de LIs comprende a los iones naturales y biodegradables, como el colinio y los aminoácidos e incluso iones con actividad biológica. Además del interés que se pueden encontrar en sus propiedades químicas, se utilizan para estudios en biología y ecología.⁵³ Debido al amplio desarrollo en la actividad biológica de estos compuestos se revisarán algunas de sus aplicaciones de interés en este campo.

1.8 Aplicaciones biológicas de los líquidos iónicos

⁵⁰ Waichigo, M. M., Hunter, B. M., Riechel, T. L. & Danielson, N. D. Alkylammonium Formate Ionic Liquids as Organic Mobile Phase Replacements for Reversed-Phase Liquid Chromatography. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 30, 165–184 (2007).

⁵¹ Lewandowski, A. & Świdorska-Mocek, A. Ionic liquids as electrolytes for Li-ion batteries—An overview of electrochemical studies. *J. Power Sources* 194, 601–609 (2009).

⁵² Zhou, Y. & Qu, J. Ionic Liquids as Lubricant Additives: A Review. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 9, 3209–3222 (2017).

⁵³ de María, P. D. Ionic liquids in biotransformations and organocatalysis: solvents and beyond. (John Wiley & Sons, 2012).

Se ha encontrado que la actividad biológica de los líquidos iónicos depende del estado de hidratación de cada par de iones, este valor se ha determinado y se describe que pueden presentar cerca de 7 moléculas de agua, las cuales interactúan y modifican las propiedades de los LIs de forma drástica sin importar el tipo de iones que los compongan.⁵⁴

1.8.1. Estabilización de proteínas

Las características anfifílicas de los LIs iónicos biocompatibles permite su uso en formulaciones con moléculas hidrofílicas como las proteínas. El contacto de los LIs con las enzimas permite alargar su vida de anaquel cuando se formulan para su uso posterior. Se ha encontrado que estas sales pueden prevenir la agregación de proteínas, revertir procesos de agregación, promover procesos de plegado y promover la estabilización de estructuras durante tiempos prolongados.⁵⁵ Se ha encontrado que los LIs basados en amonio pueden interactuar con las proteínas, incluyendo a las enzimas, ofreciendo baja toxicidad y estabilidad conformacional a las proteínas en general.⁵⁶

Aun no se comprende totalmente como los LIs interactúan con las proteínas, pero los estudios que se desarrollan constantemente ayudan a comprender mejor sus propiedades y futuras aplicaciones. Al tener la posibilidad de modificar parámetros como la polaridad, la capacidad de formación de puentes de hidrógeno y las propiedades biofarmacéuticas mediante la modificación racional de su estructura, los LIs tiene potencial como solventes para macromoléculas que son hidrofóbicas.⁵⁷

1.8.2. Ingredientes farmacéuticos activos

Los líquidos iónicos como ingredientes farmacéuticos activos (API-IL, por sus siglas en inglés) son una estrategia para solventar problemas relacionados con la estabilidad térmica, biodisponibilidad y poca solubilidad que se presenta en muchos fármacos tradicionales. El propósito de los API-IL es que se mantenga la actividad del fármaco en cuestión y combinarlo con las propiedades deseadas de un contraión como un todo.⁵⁸ Aunque en un inicio la investigación se centró en incorporar los farmacóforos conocidos en las sales líquidas, luego comenzó a desarrollarse una

⁵⁴ Ohno, H., Fujita, K. & Kohno, Y. Is seven the minimum number of water molecules per ion pair for assured biological activity in ionic liquid–water mixtures? *Phys. Chem. Chem. Phys.* 17, 14454–14460 (2015).

⁵⁵ Hough, W. L. et al. The third evolution of ionic liquids: active pharmaceutical ingredients. *New J. Chem.* 31, 1429–1436 (2007).

⁵⁶ Curreri, A. M., Mitragotri, S. & Tanner, E. E. L. Recent Advances in Ionic Liquids in Biomedicine. *Adv. Sci.* 8, 2004819 (2021).

⁵⁷ Harada, L. et al. Insights into Protein-Ionic Liquid Interactions Aiming at Macromolecule Delivery Systems. *J. Braz. Chem. Soc.* (2018) doi:10.21577/0103-5053.20180141.

⁵⁸ Stoimenovski, J., MacFarlane, D. R., Bica, K. & Rogers, R. D. Crystalline vs. ionic liquid salt forms of active pharmaceutical ingredients: a position paper. *Pharm Res* 27, 521–526 (2010).

estrategia para obtener las propiedades fisicoquímicas deseadas en los fármacos y finalmente la investigación se ha centrado en sintetizar API-IL⁵⁹.

Un ejemplo de estos estudios es la síntesis del docusato de lidocaína, la forma de LI de la lidocaína, un anestésico tópico. Es esta forma el catión de lidocaína con se combinó con el docusato (un anión hidrofóbico) que se suele usar como emoliente para formar dar lugar a LI hidrofóbico, el cual mostró una solubilidad en agua controlada, lo que permitió resolver el problema de las moléculas muy hidrofílicas que no pueden penetrar las membranas celulares.⁵⁸

En general los API-IL son formados entre un catión actividad biológica conocida y un contraión inerte, como el colinio o cationes de fosfonio (Figura 1.12). Los API-IL muestran características de solubilidad mejorada cuando se comparan contra los precursores neutros. Otro caso de estudio es la conversión del ácido betulínico que tiene características principalmente hidrofóbicas con propiedades anticancerígenas, antiinflamatorias, anti-VIH que al convertirse en LI usando el colinio como contraión llegando a mejorar su solubilidad en agua y su concentración inhibitoria media (IC₅₀).⁶⁰

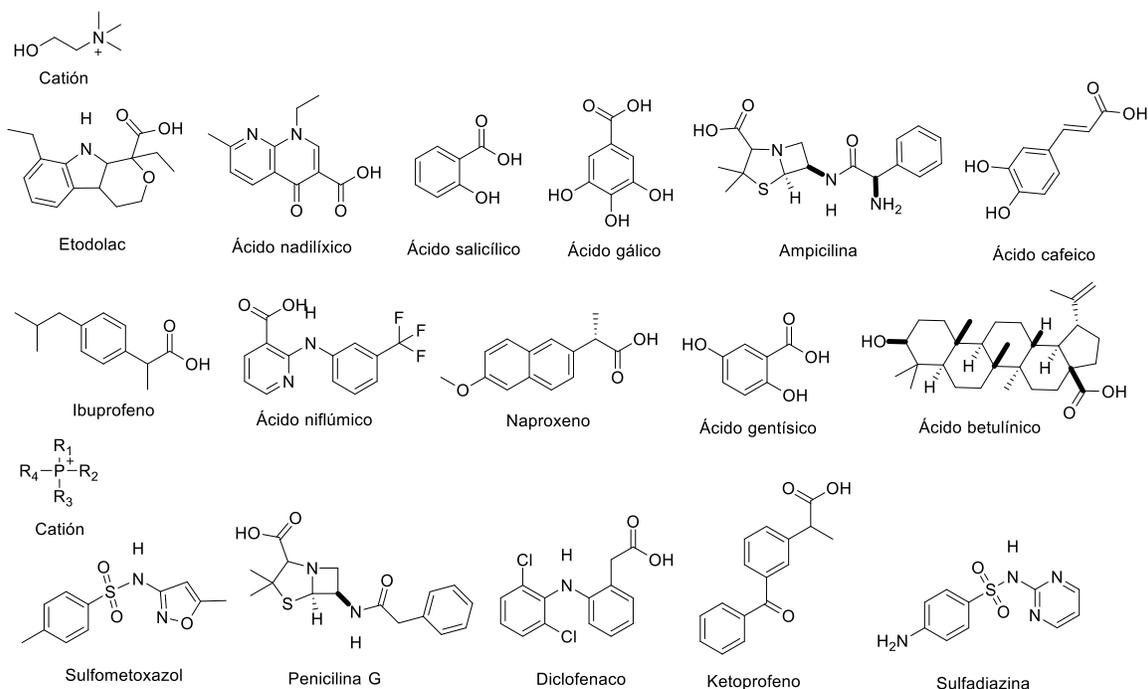


Figura 1.12 Ejemplos de API-IL sintetizados.

⁵⁹ Florindo, C. et al. Evaluation of solubility and partition properties of ampicillin-based ionic liquids. *Int. J. Pharm.* 456, 553–559 (2013).

⁶⁰ Zhao, H. et al. Ionic derivatives of betulinic acid as novel HIV-1 protease inhibitors. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 27, 715–721 (2012).

1.8.3. Actividad anticancerígena

Debido al descubrimiento de la actividad biológica que pueden tener los LIs, se han realizado pruebas en muchas líneas celulares, encontrando que los líquidos iónicos derivados de imidazolio pueden presentar actividad anticancerígena relacionada con su estructura. En estos estudios realizados en más de 60 líneas celulares cancerígenas de humano, se encontró que la longitud de la cadena del N3 tiene un papel importante en la actividad anticancerígena y citotóxica, las cadenas de 8 a 12 C de longitud tuvieron una mejora en ambos parámetros.⁶¹

En otros estudios al comparar diversos cationes con cationes de imidazolio, amonio, fosfonio, colinio y piridinio, se ha encontrado que aquellos LIs derivados de imidazolio y piridinio tienden a ser más tóxicos que aquellos que son más polares como los derivados de colinio en la línea celular HeLa⁶², por lo que se puede establecer que debe existir un balance en la polaridad para que el compuesto tenga una mayor actividad.

Con respecto a la actividad relacionada con el anión, hay diferentes puntos de vista puesto que se ha encontrado que para los mismos cationes los aniones pequeños como Br⁻, BF₄⁻ y AsF₆⁻ tienen mejores valores de concentración máxima efectiva media (EC50) que los aniones voluminosos, polifluorados e hidrofóbicos como NTf₂⁻ o TfO⁻.⁶³ Sin embargo, existen otros estudios en los que se analizan diversos aniones con cationes de imidazolio y se encontró que cambiar el anión tiene un efecto poco notable en la toxicidad.⁶⁴

Aunque se conoce el efecto citotóxico y anticancerígeno el mecanismo de este efecto aun no es bien conocido, si bien se sabe que los LIs con núcleo de imidazolio pueden inducir la muerte celular en células de carcinoma mediante un mecanismo apoptótico no se ha elucidado el proceso por el cual sucede.⁶⁵

El potencial de los líquidos iónicos con actividad biológica es muy amplio y se han mencionado solo algunas pocas aplicaciones en el campo biológico. Uno de los efectos más importantes es su actividad anticancerígena la cual se ha demostrado ser amplia para los LIs derivados de imidazolio. Los blancos terapéuticos para el tratamiento de cáncer son amplios, pero uno de ellos es de especial interés para

⁶¹ Malhotra, S. V & Kumar, V. A profile of the in vitro anti-tumor activity of imidazolium-based ionic liquids. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 20, 581–585 (2010).

⁶² Wang, X. et al. Cytotoxicity of ionic liquids and precursor compounds towards human cell line HeLa. *Green Chem.* 9, 1191–1197 (2007).

⁶³ Arning, J. & Matzke, M. Toxicity of Ionic Liquids Towards Mammalian Cell Lines. *Current Organic Chemistry* vol. 15 1905–1917.

⁶⁴ Stepnowski, P., Skladanowski, A. C., Ludwiczak, A. & Laczyńska, E. Evaluating the cytotoxicity of ionic liquids using human cell line HeLa. *Hum. Exp. Toxicol.* 23, 513–517 (2004).

⁶⁵ Malhotra, S. V, Kumar, V., Velez, C. & Zayas, B. Imidazolium-derived ionic salts induce inhibition of cancerous cell growth through apoptosis. *Medchemcomm* 5, 1404–1409 (2014).

este estudio, por lo que se discutirá en las siguientes secciones sobre las deacetilasas de histona.

1.9 Deacetilasas de histona

Las deacetilasas de histona (HDACs, por sus siglas en inglés) son una familia de proteínas que se encuentra en un gran número de células eucariotas y su estructura está altamente conservada. La función de este grupo de enzimas es remover grupos acetilo las proteínas conocidas como histonas, esto se relaciona con la accesibilidad que tienen los factores de transcripción para acceder a la cromatina.⁶⁶

Entre las diversas funciones de las HDACs se encuentra el desarrollo de la célula, la homeostasis celular y tienen un papel importante en procesos patológicos como desórdenes degenerativos, enfermedades genéticas y cáncer.⁶⁷

La acetilación y desacetilación de histonas las HDACs son parte de este mecanismo en conjunto con las acetiltransferasas de histona (HAT), además, el proceso de acetilación se relaciona con otro proceso conocido como metilación. Estas enzimas se encuentran en animales, bacterias, hongos y plantas que remueven los grupos acetilo de los residuos de ϵ -N-acetilados de lisina de diversos sustratos incluidas las histonas (Figura 1.12).⁶⁸

1.9.1. Clasificación de las HDACs

En las células de mamíferos la familia de las HDACs se compone de 18 isoformas. Las 18 isoformas a su vez se dividen en 4 clases que se basan en la similitud de con la secuencia de las proteínas de levadura Hda1 y Rpd3.⁶⁹ La Clase I (HDAC1-3 y HDAC8), la Clase II que se subdivide en Clase IIa (HDAC 4-5, HDAC7 y HDAC9), la Clase IIb (HDAC6 y HDAC10), la Clase III (sirtuinas 1-7) y la Clase IV (HDAC11).

La Clase III, comprende enzimas que son dependientes de NAD^+ y se les conoce como sirtuinas, las cuales tienen una actividad de desacetilación, aunque tienen una actividad de desacetilación menor. Las Clases I, II y IV se conocen como HDACs clásicas y se caracterizan por tener un ion Zn^{2+} como cofactor, por lo que pueden ser clasificadas como metaloenzimas.⁷⁰

⁶⁶ Ceccacci, E. & Minucci, S. Inhibition of histone deacetylases in cancer therapy: lessons from leukaemia. *Br. J. Cancer* 114, 605–611 (2016).

⁶⁷ Sangwan, R., Rajan, R. & Mandal, P. K. HDAC as onco target: Reviewing the synthetic approaches with SAR study of their inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* 158, 620–706 (2018).

⁶⁸ Giannini, G., Cabri, W., Fattorusso, C. & Rodriguez, M. Histone deacetylase inhibitors in the treatment of cancer: overview and perspectives. *Future Med. Chem.* 4, 1439–1460 (2012).

⁶⁹ Milazzo, G. et al. Histone Deacetylases (HDACs): Evolution, Specificity, Role in Transcriptional Complexes, and Pharmacological Actionability. *Genes (Basel)*. 11, (2020).

⁷⁰ He, X. et al. Medicinal chemistry updates of novel HDACs inhibitors (2020 to present). *Eur. J. Med. Chem.* 227, 113946 (2022).

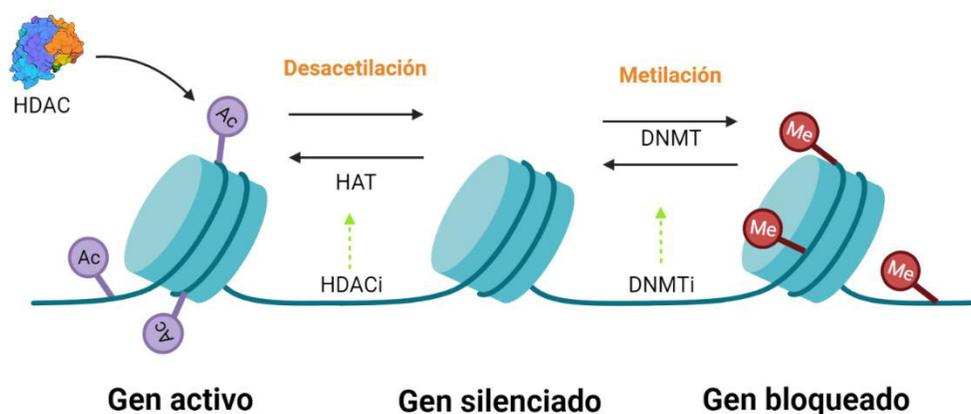


Figura 1.12 Modificación de las histonas a través de diferentes enzimas. HDAC: desacetilasas de histona; HDACi: inhibidor de desacetilasas de histona; HAT: acetiltransferasas de histona; DNMT; ADN metiltransferasas; DNMTi; inhibidores de ADN metiltransferasas;

En la Tabla 1.1 se resumen los datos importantes de la clasificación de las HDACs.

Tabla 1.1 Clasificación de las desacetilasas de histona⁶⁹

Familia	Clase	Subclase	Proteína	Compartimiento celular	
Clásicas (Dependientes de Zn ²⁺)	I		HDAC1	Núcleo	
			HDAC2	Núcleo	
			HDAC3	Núcleo	
			HDAC8	Núcleo	
	II	IIa		HDAC4	Núcleo/citoplasma
				HDAC5	Núcleo/citoplasma
				HDAC7	Núcleo/citoplasma
		IIb		HDAC9	Núcleo/citoplasma
				HDAC6	Citoplasma
				HDAC10	Citoplasma
	IV		HDAC11	Núcleo/citoplasma	
Dependientes de NAD ⁺	III		SIRT1-7	Núcleo/citoplasma	

1.9.2. Mecanismo catalítico de las HDACs clásicas

El conocimiento de mecanismo catalítico es importante para diseñar moléculas que puedan funcionar como inhibidores contra este tipo de enzimas. El mecanismo propuesto se basa en estudios estructurales de la HDAC8 (Figura 1.13), aunque hay diversas propuestas, no existe una gran variación entre ellas.

En el complejo precatalítico, una molécula de agua que se encuentra coordinada con el Zn^{2+} , cuando un grupo acetilo de la lisina acetilada entra a la cavidad, desplaza a la molécula de agua y acepta un puente de hidrógeno de la Y306, la cual se mueve por un cambio conformacional de ajuste inducido para entrar dentro del sitio activo. El grupo acetilo queda coordinado con el metal y con la Y306 y es atacado por otra molécula de agua que se activa ya que el Zn^{2+} actúa como base para disminuir el pK_a del agua, y la H143 funciona como un ácido para protonar el grupo amino saliente y llevar al colapso del intermediario catalítico para formar lisina y acetato. El grupo imidazolio de la H142 funciona como un catalizador electrostático. Y ambas histidinas, H142 y H143 forman puentes de hidrógeno con el agua coordinada al Zn^{2+} para que tenga una orientación adecuada durante el ataque nucleofílico.⁷¹ Las HDACs tienen un sitio activo altamente conservado, a pesar de esto, en la Clase IIa, la tirosina catalítica es reemplazada por una histidina, lo que afecta su capacidad catalítica en gran medida.⁷²

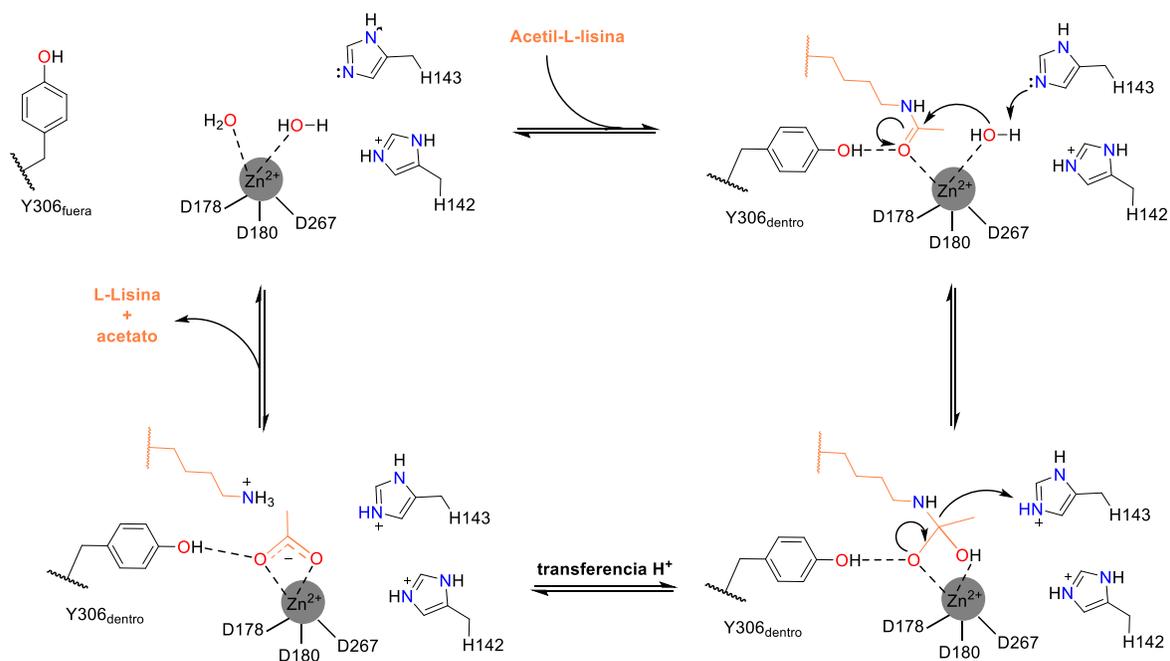


Figura 1.13 Mecanismo catalítico propuesto de desacetilasas de histona basado en estudios estructurales de la HDAC8.⁷¹

⁷¹ Porter, N. J. & Christianson, D. W. Structure, mechanism, and inhibition of the zinc-dependent histone deacetylases. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 59, 9–18 (2019).

⁷² Lahm, A. et al. Unraveling the hidden catalytic activity of vertebrate class IIa histone deacetylases. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104, 17335–17340 (2007).

1.9.3. HDACs y su papel en el cáncer

El desarrollo de enfermedades procede mediante una cantidad de procesos que están relacionados entre sí, por lo que una falla en algún proceso celular puede ser el inicio de una enfermedad. La transcripción inadecuada de genes es un ejemplo de estos casos, así como anomalías en los cromosomas pueden resultar en un funcionamiento erróneo o inadecuado de algunos genes y en otros casos puede llevar a su hiperactivación.

Se sabe que la expresión de algunas HDACs en específico se altera en diversos tipos de cáncer y hay información que relaciona su sobreexpresión, la desacetilación de histonas y la estructura de la cromatina. Algunos genes son inactivados y los factores de transcripción no pueden acceder a ellos. Por lo que, ese podría ser el mecanismo por el cuál las células cancerosas silencian los genes supresores de tumores⁶⁸ como *p53*⁷³ o *p21*⁷⁴. En la Tabla 1.2 se resume la sobreexpresión de las HDACs en diversos tipos de cáncer.

Clase	Isoforma	Tipo de cáncer donde se expresa
I	<i>HDAC1</i>	Gástrico, pancreático, colorectal, de próstata, carcinoma hepatocelular, de hormonas refractarias
	<i>HDAC2</i>	Colorectal, carcinoma cervical, gástrico, de próstata
	<i>HDAC3</i>	Gástrico, de próstata, colorectal
	<i>HDAC8</i>	Neuroblastoma infantil
Ila	<i>HDAC4</i>	De mama
	<i>HDAC5</i>	Colorectal
	<i>HDAC7</i>	Colorectal
	<i>HDAC9</i>	No disponible
Ilb	<i>HDAC6</i>	Carcinoma de células escamosas bucales, de mama
	<i>HDAC10</i>	No disponible
IV	<i>HDAC11</i>	No disponible

Debido a que las HDACs también se involucran en otras funciones como la apoptosis, la diferenciación celular, la migración de células, la regulación del ciclo celular, la resistencia a la quimioterapia y la angiogénesis, la inhibición de una isoforma puede afectar de diferentes maneras a cada tipo de célula cancerosa. De

⁷³ Ito, A. et al. MDM2–HDAC1-mediated deacetylation of p53 is required for its degradation. *EMBO J.* 21, 6236–6245 (2002).

⁷⁴ Wang, Y. et al. Development and Regeneration of Sox2+ Endoderm Progenitors Are Regulated by a HDAC1/2-Bmp4/Rb1 Regulatory Pathway. *Dev. Cell* 24, 345–358 (2013).

⁷⁵ Witt, O., Deubzer, H. E., Milde, T. & Oehme, I. HDAC family: What are the cancer relevant targets? *Cancer Lett.* 277, 8–21 (2009).

esta manera, al pensar en el diseño inhibidores de estas enzimas es importante considerar su selectividad sobre una isoforma específica⁷⁶

1.10 Inhibidores de HDACs (HDACi)

En los 1970s fue descubierto uno de los primeros inhibidores de las HDACs. El uso de butirato de sodio evitaba la proliferación de células cancerosas y también se encontró que después de su uso había una acetilación aumentada en las histonas.⁷⁷ Luego, en 1976 Tsuji *et al.* aislaron la tricostatina A (Figura 1.15), el primer inhibidor natural de las HDACs que se deriva del hongo *Streptomyces hygroscopicus*⁷⁸. Así, luego de una serie de investigaciones de este tipo de descubrimientos a partir de otros hongos, animales y plantas se descubrieron y caracterizaron más HDACi. En los 1990s Jung *et al.* propuso un modelo⁷⁹ que posteriormente se refinó y fue de gran utilidad para el diseño de nuevos inhibidores (Figura 1.14). Actualmente los inhibidores conocidos se pueden clasificar en cuatro grupos: I) ácidos hidroxámicos (hidroxamatos), II) ácidos grasos de cadena corta, III) benzamidas y IV) tetrapéptidos cíclicos (Figura 1.15).⁸⁰

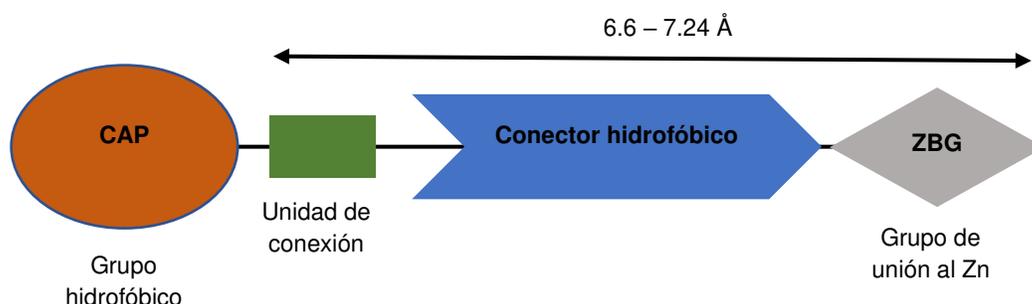


Figura 1.15 Modelo propuesto para el diseño de inhibidores de HDACs.

El grupo de los ácidos hidroxámicos se compone de muchos inhibidores no selectivos para las HDACs, entre estos se encuentran: Vorinostat (SAHA), Tricostatina A (TSA), Belinostat (PXD101), Panobinostat (LBH589), Givinostat, Resminostat, Abexinostat, Quisinostat, Pracinostat, entre otros (Figura 1.16).⁸¹

⁷⁶ Li, G., Tian, Y. & Zhu, W.-G. The Roles of Histone Deacetylases and Their Inhibitors in Cancer Therapy. *Front. Cell Dev. Biol.* 8, (2020).

⁷⁷ Ginsburg, E., Salomon, D., Sreevalsan, T. & Freese, E. Growth Inhibition and Morphological Changes Caused by Lipophilic Acids in Mammalian Cells. *Proc. Natl.*

⁷⁸ Tsuji, N. et al. A new antifungal antibiotic, trichostatin. *J. Antibiot. (Tokyo)*. 29, 1–6 (1976).

⁷⁹ Jung, M., Hoffmann, K., Brosch, G. & Loidl, P. Analogues of trichostatin a and trapoxin B as histone deacetylase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 7, 1655–1658 (1997).

⁸⁰ Li, Y. & Seto, E. HDACs and HDAC Inhibitors in Cancer Development and Therapy. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 6, a026831 (2016).

⁸¹ Suraweera, A., O'Byrne, K. J. & Richard, D. J. Combination Therapy With Histone Deacetylase Inhibitors (HDACi) for the Treatment of Cancer: Achieving the Full Therapeutic Potential of HDACi. *Frontiers in Oncology* vol. 8 (2018).

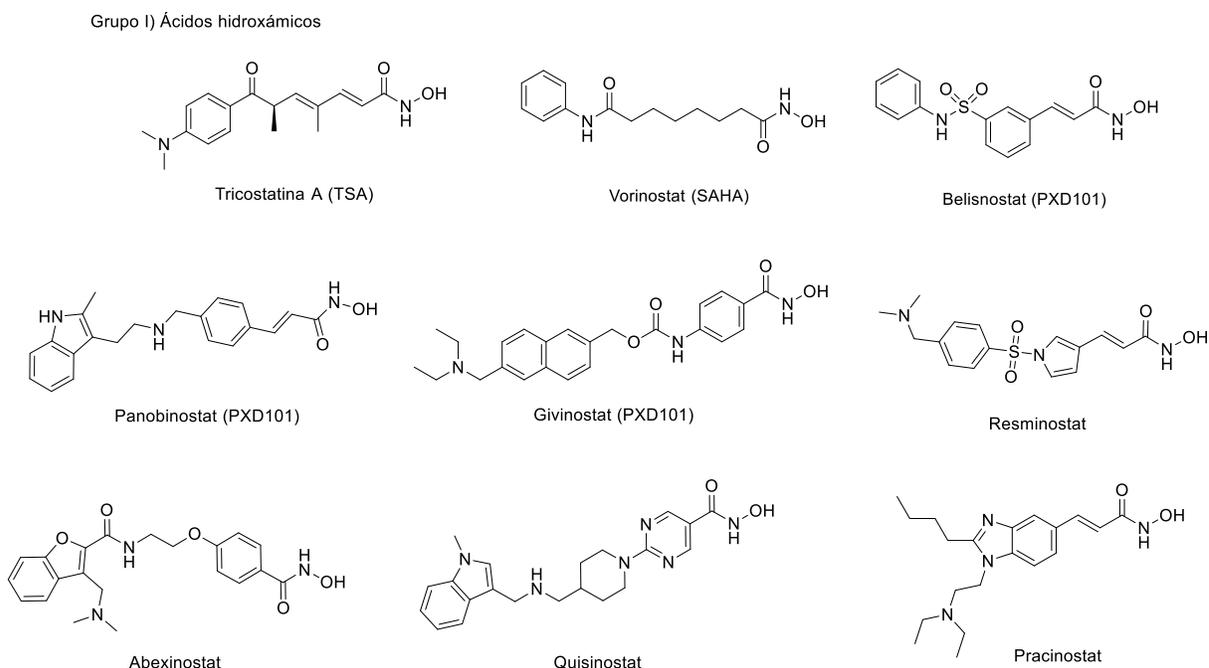


Figura 1.16 Inhibidores de HDACs derivados de ácidos hidroxámicos.

El grupo de los ácidos grasos de cadena corta afecta a los HDACs de la clase I y IIa. Entre los más estudiados se encuentran el butirato de sodio, el fenil acetato, el ácido valproico y el fenilbutirato.⁸² Entre todos los inhibidores de este tipo, el ácido valproico es el más importante ya que se trata de un inhibidor específico de la clase I de HDACs, aunque es menos potente que los ácidos hidroxámicos en cuanto a inhibición se encuentra en pruebas de fase I-III contra cánceres colorrectales, de próstata, mama, melanoma, y otros.⁸³

Las benzamidas que componen al grupo III son menos efectivas que los ácidos hidroxámicos cuando se compara su habilidad de inhibición, sin embargo, se les considera inhibidores específicos de las clases I y IV. Los inhibidores mejores caracterizados de este grupo son: Mocetinostat (MGCD0103), Entinostat (MS275), Chidamida (HBI-8000) y K560 capaces de interrumpir el crecimiento de cánceres como leucemia mieloide aguda, de mama, melanoma, linfoma de Hodgkin, carcinoma de las células escamosas de la cavidad oral.⁸¹

Finalmente, el grupo IV de los péptidos cíclicos se caracteriza por tener un grupo “cap” complejo químicamente hablando, y justo esta característica les da una alta especificidad contra las HDACs⁸⁴. Este grupo se divide en dos según su grupo

⁸² Li, M. et al. Pro- and anti-inflammatory effects of short chain fatty acids on immune and endothelial cells. *Eur. J. Pharmacol.* 831, 52–59 (2018).

⁸³ Mottamal, M., Zheng, S., Huang, T. L. & Wang, G. Histone Deacetylase Inhibitors in Clinical Studies as Templates for New Anticancer Agents. *Molecules* vol. 20 3898–3941 (2015).

⁸⁴ Cheng, K., Li, S. & Liao, C. Progress in the Discovery of Macrocyclic Histone Deacetylase Inhibitors for the Treatment of Cancer. *Current Medicinal Chemistry* vol. 24 4166–4179 (2017).

quelante de Zn (ZBG): a) depsipéptidos bicíclicos que contienen disulfuros, y ii) α 4-tetrapéptidos. En el grupo i) se encuentran la romidepsina, el cromopéptido A, el largazol y la espirucostatina A. Entre los tetrapéptidos del grupo b) se encuentran la trapoxina, toxina-HC y azimamida. La trapoxina ha demostrado tener una alta afinidad contra la HDAC8 (Figura 1.17).⁸⁵

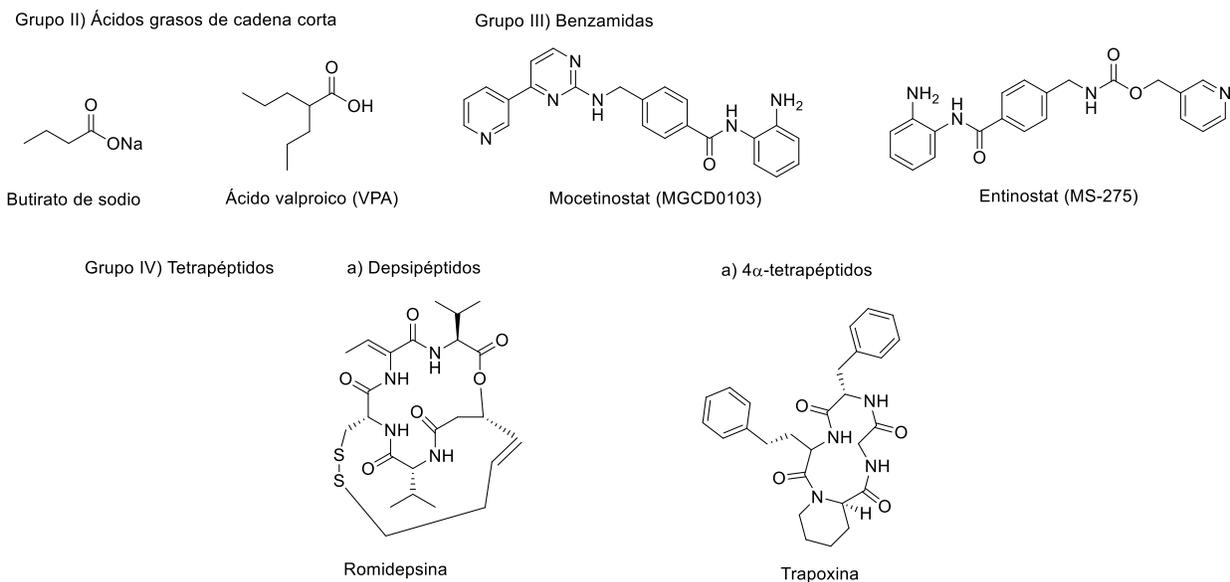


Figura 1.17 Inhibidores de HDACs representativos.

1.10.1. Ácidos hidroxámicos como inhibidores de HDACs

Los ácidos hidroxámicos ($RCONR'OH$) forman parte de una familia de compuestos que tienen actividad biológica sobre diferentes blancos terapéuticos como: melatoproteinasas, lipooxigenasas, ciclooxigenasas, peroxidasas, HDACs, entre otras enzimas⁸⁶ (Figura 1.18).

Este tipo de compuestos son una clase de ácidos orgánicos que se relacionan con los ácidos carboxílicos, pero son mucho más débiles.⁸⁷ Debido a sus propiedades estructurales tienen una fuerte capacidad quelante y una buena habilidad para formar puentes de hidrógeno. Pueden actuar como ligandos mono- o bidentados en su forma desprotonada de hidroxamato mediante su oxígeno carbonílico. El

⁸⁵ Maolanon, A. R., Kristensen, H. M. E., Leman, L. J., Ghadiri, M. R. & Olsen, C. A. Natural and Synthetic Macrocyclic Inhibitors of the Histone Deacetylase Enzymes. *ChemBioChem* 18, 5–49 (2017).

⁸⁶ Gupta, S. P. QSAR Studies on Hydroxamic Acids: A Fascinating Family of Chemicals with a Wide Spectrum of Activities. *Chem. Rev.* 115, 6427–6490 (2015).

⁸⁷ Marmion, C. J., Griffith, D. & Nolan, K. B. Hydroxamic Acids – An Intriguing Family of Enzyme Inhibitors and Biomedical Ligands. *Eur. J. Inorg. Chem.* 2004, 3003–3016 (2004).

hidroxamato puede formar un quelato estable de 5 miembros que puede ser mejorado al incorporar grupos funcionales en sitios adyacentes de la molécula.⁸⁸

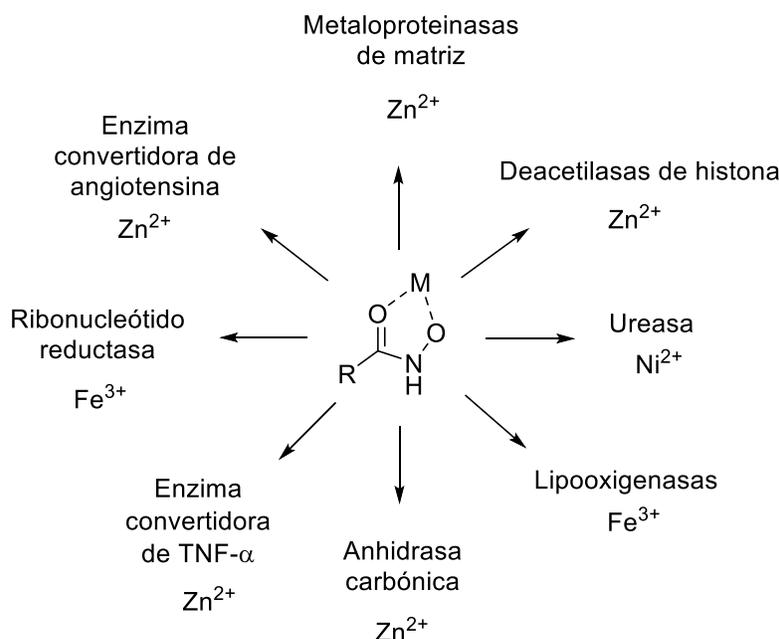


Figura 1.18 Diferentes blancos de los ácidos hidroxámicos.

Debido a estas propiedades, los ácidos hidroxámicos constituyen una de las familias de inhibidores de HDACs más importantes. Debido a que la cavidad catalítica de estas enzimas se compone de un túnel angosto con una profundidad de 4-6 átomos de carbono con un Zn^{2+} al fondo de la cavidad. Este túnel se compone de algunos cuantos residuos hidrofóbicos. Por esta razón, las moléculas diseñadas deben tener un grupo hidrofóbico (el grupo cap) para que exista una interacción dentro de la cavidad.⁸⁹

Entre los diversos estudios que se han realizado sobre la actividad de los ácidos hidroxámicos, destacan aquellos sobre la HDAC8 debido a que se tienen estructuras cristalográficas en complejo con diversos inhibidores. Con respecto a estos estudios, Tyr306 mediante su oxígeno carbonílico y a través de este interactuar con moléculas de agua que se encuentren en la cavidad. El hidroxamato es capaz de quelar al Zn^{2+} de manera bidentada a través de sus átomos de oxígeno.⁹⁰

⁸⁸ Kurzak, B., Kurzak, K. & Jezierska, J. Solution properties of Cu (II)-L- α -alaninehydroxamic acid. *Inorganica Chim. Acta* 125, 77–82 (1986).

⁸⁹ Thangapandian, S., John, S., Sakkiah, S. & Lee, K. W. Ligand and structure based pharmacophore modeling to facilitate novel histone deacetylase 8 inhibitor design. *Eur. J. Med. Chem.* 45, 4409–4417 (2010).

⁹⁰ Somoza, J. R. et al. Structural Snapshots of Human HDAC8 Provide Insights into the Class I Histone Deacetylases. *Structure* 12, 1325–1334 (2004).

En un estudio mediante DFT, Wang *et al.* encontraron que el grupo hidroxamato se une de forma eficiente con una mayor energía al Zn^{2+} que otros grupos quelantes como las benzamidas. Es importante destacar que cuando el ácido hidroxámico quela al Zn^{2+} , este metal tiene la capacidad de aumentar la acidez del protón -OH del ácido hasta en aproximadamente 3.3 unidades, por lo que un ácido hidroxámico de cadena alifática tiene un pKa de 9.4, y puede disminuir lo suficiente para ser desprotonado por una histidina y formar el quelato con el Zn.⁹¹

Hasta la fecha, no existen estudios de líquidos iónicos funcionalizados con un ácido hidroxámico que puedan funcionar como inhibidores de las HDACs, por lo que queda abierta una posibilidad para el diseño de nuevas moléculas inhibidoras de estas enzimas que puedan ser susceptibles de la modificación racional de sus propiedades fisicoquímicas, es decir, ácidos hidroxámicos como grupos funcionales de líquidos iónicos.

⁹¹ Wang, D., Helquist, P. & Wiest, O. Zinc Binding in HDAC Inhibitors: A DFT Study. *J. Org. Chem.* 72, 5446–5449 (2007).

Justificación

Los líquidos iónicos han sido estudiados principalmente por sus propiedades fisicoquímicas y su aplicación en síntesis orgánica, sin embargo, en años recientes el estudio de la actividad biológica de estos compuestos se ha vuelto de gran interés debido a la facilidad con la que se pueden modificar características de solubilidad y polaridad, parámetros esenciales para el diseño de fármacos. Aunado a estas ventajas, se ha demostrado su actividad biológica como antimicrobianos, su uso en la industria farmacéutica para mejorar las propiedades ADMET de fármacos comercializados y su actividad anticancerígena en contra diversas líneas celulares como cáncer de mama y próstata, por lo que el diseño de líquidos iónicos como inhibidores de dianas terapéuticas seleccionadas puede contribuir al descubrimiento de moléculas nuevas para el tratamiento de cáncer y otras enfermedades.

Hipótesis

Los ácidos hidroxámicos tipo líquidos iónico con núcleo de imidazolio presentan características fisicoquímicas que pueden ser moléculas biológicamente activas frente a las HDAC1, 6 y 8.

Objetivo General

Sintetizar y evaluar *in silico* líquidos iónicos derivados de ácidos hidroxámicos frente a histonas deacetilasas 1,6 y 8.

Objetivos específicos

1. Caracterizar el modo de unión de los ligandos propuestos en las isoformas de HDAC1, 6 y 8 mediante acoplamiento molecular.
2. Estudiar *in silico* las propiedades fisicoquímicas y ADME de los ligandos propuestos.
3. Sintetizar el núcleo de imidazolio con diversas aminas.
4. Activar el núcleo de imidazolio con ésteres de sulfonilo.
5. Sintetizar líquidos iónicos tricatiónicos con diversas aminas.
6. Sintetizar ácidos hidroxámicos a partir de líquidos iónicos funcionalizados con aminoácidos.

2. Metodología

2.1 Calibración de acoplamiento molecular

El procedimiento se llevó a cabo utilizando el software Molegro Virtual Docker 6.0⁹² el proceso de calibración se llevó a cabo con 3 isoformas de las HDACs (HDAC1, PDB ID: 5ICN; HDAC6, PDB ID: 5EDU; y HDAC8, PDB ID: 1T69; ver Tabla 3.1). Se realizó el redocking con cada ligando co-cristalizado (TSA, SAHA y H4K16Hx, Figura 2.1). Para calibrar se usó una plantilla sobre del grupo hidroxamato de cada ligando cocrystalizado tomando en cuenta 1 donador de hidrógeno (NH) y dos aceptores de hidrógeno (C=O y O⁻) así como un átomo apolar (C) perteneciente al carbonilo. Se detectaron errores estructurales en las enzimas y se repararon. Las cargas fueron asignadas y los ligandos fueron revisados a detalle para verificar hibridación, carga y número de enlaces. Se usó una malla 0.2 Å con un diámetro de 15 Å de la esfera centrada en el sitio activo de la enzima. Se utilizó un algoritmo de búsqueda MolDock SE y la función de evaluación PLANT [GRID]. Se realizaron 10 corridas y con un máximo de 2000 iteraciones y 500 individuos de población inicial, parámetros que mostraron los mejores resultados para la validación.

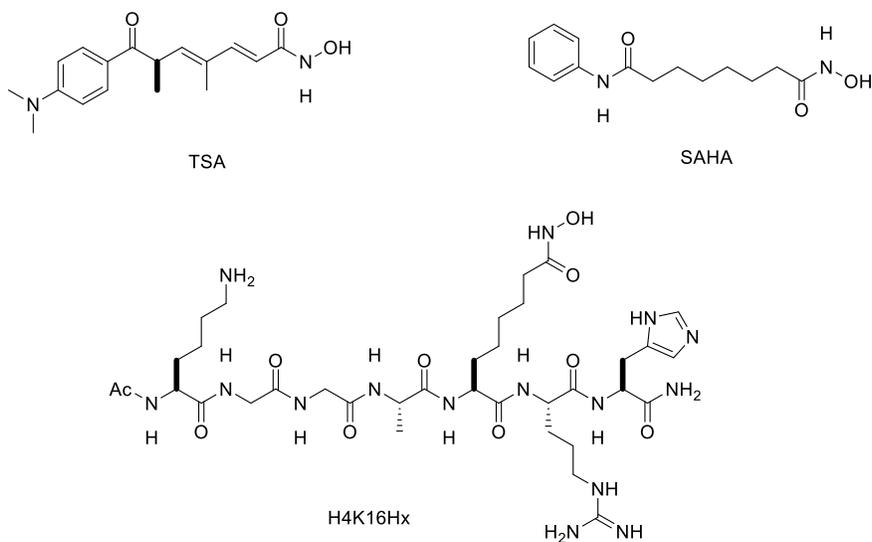


Figura 2.1. Ligandos cocrystalizados con las HDACs a estudiar.

⁹² Thomsen, R. & Christensen, M. H. MolDock: A New Technique for High-Accuracy Molecular Docking. J. Med. Chem. 49, 3315–3321 (2006).

2.2 Preparación de ligandos para acoplamiento molecular

Los ligandos se construyeron en GaussView 5.0⁹³ y se optimizaron con un semiempírico PM6, se verificó que todas las frecuencias fueran positivas y se exportaron en formato mol2. Las moléculas se cargaron en MVD 6.0, se asignaron las cargas, dejando los dos O del hidroxamato con carga -0.5 cada uno y se distribuyó la carga positiva en los átomos de N y C del imidazolio.

2.3 Predicción de propiedades fisicoquímicas y ADMET

Los ligandos se construyeron en el servidor web SwissADME⁹⁴ y se convirtieron a formato .smiles, se cargaron y los datos obtenidos fueron analizados.

2.4 Síntesis del núcleo de imidazolio 4a-c

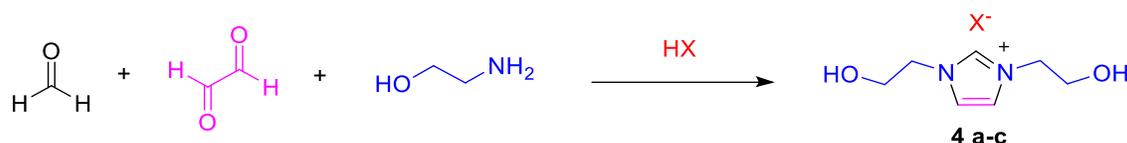


Figura 2.2. Reacción general para la síntesis de los productos 4 a-c.

La síntesis se llevó a cabo mediante una modificación de la metodología utilizada en el grupo de investigación (Figura 2.2.⁹⁵ En un matraz balón se agregaron 2 equiv (8 mmol) de etanolamina y se dejó en agitación en baño de hielo. En un vial separado se mezclaron 1 equiv (4 mmol) de formaldehído (37% p/v) y 1.5 equiv del ácido correspondiente como catalizador (6 mmol) y se dejó en agitación por 30 min a t.a. Luego de este tiempo la mezcla se agregó lentamente al matraz con la amina (20 min) y se dejó en agitación por 30 min a t.a. Pasado el tiempo se agregó 1 equiv (4 mmol) de glioxal (40% p/v) y se dejó en agitación a 45 °C de 8 a 24 h. La reacción se monitoreó por CCF utilizando una mezcla de *i*-PrOH:AcOH:H₂O (12:5:7) como eluyente y se reveló con ninhidrina.

Al terminar la reacción se realizaron lavados con AcOEt (3x5 mL), se separó la fase acuosa y se evaporó a presión reducida durante 30 min. Posteriormente se secó en estufa de vacío (50 °C, 178 mmHg) durante 72 h.

⁹³ Nielsen, A. B. & Holder, A. J. Gauss view 5.0, user's reference. GAUSSIAN Inc., Pittsburgh (2009).

⁹⁴ Daina, A., Michielin, O. & Zoete, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. Sci. Rep. 7, 42717 (2017).

⁹⁵ López, F. I. et al. Synthesis of symmetric ionic liquids and their evaluation of nonlinear optical properties. Opt. Mater. (Amst). 96, 109276 (2019).

2.5 Hidrólisis de los ésteres de aminoácidos

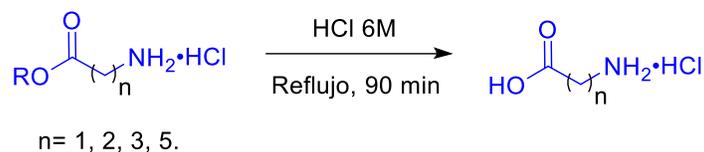


Figura 2.3. Hidrólisis de los ésteres de aminoácidos.

Partiendo del éster de clorhidrato del aminoácido deseado se disolvieron 5 mmol en 10 mL de HCl 6M y se calentaron a reflujo por 1.5 h (Figura 2.3), monitoreando por CCF con la mezcla *i*-PrOH:AcOH:H₂O (12:5:7) como eluyente y se reveló con ninhidrina.

Terminado el tiempo se evaporó el agua y agregó (Et)₂O (5 mL), se dejó enfriando hasta observar la formación de cristales. Los cristales se filtraron y se lavaron con (Et)₂O (3x5 mL) y se secaron a 60 °C.

2.6 Síntesis de núcleo de imidazol derivado de aminoácidos compuestos 4d-g

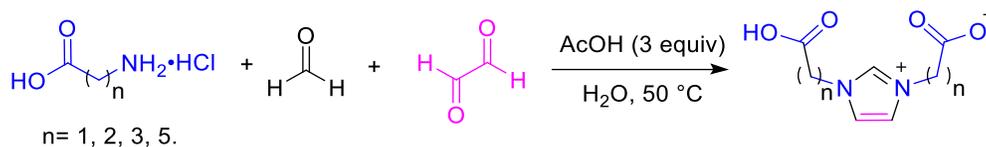


Figura 2.4. Síntesis del núcleo de imidazolio a partir de derivados de aminoácidos.

La síntesis se llevó a cabo mediante una modificación de la metodología utilizada por Esposito *et al.* (Figura 2.4)⁹⁶ En un matraz balón se agregaron 2 equiv (2 mmol) del clorhidrato del aminoácido, se agregaron 2 mL de agua destilada y se dejó en agitación en baño de hielo. En un vial separado se mezclaron 1.5 equiv (1.5 mmol) de formaldehído (37% p/v) y 3 equiv de AcOH (3 mmol) y se dejó en agitación por 30 min a t.a. Luego de este tiempo la mezcla se agregó lentamente al matraz con la amina (20 min) y se dejó en agitación por 30 min a ta. Pasado el tiempo se agregó 1.5 equiv (1.5 mmol) de glioxal (40% p/v) y se dejó en agitación a 50 °C por 24 h. La reacción se monitoreó por CCF utilizando una mezcla de *i*-PrOH:AcOH:H₂O (12:5:7) como eluyente y se reveló con ninhidrina.

Al terminar la reacción se evaporó el agua a presión reducida y se agregó *i*-PrOH caliente hasta disolver el líquido amarillo resultante, posteriormente se agregó AcOEt hasta que la solución comenzó a tornarse turbia y se dejó en refrigeración

⁹⁶ Esposito, D., Kirchhecker, S. & Antonietti, M. A Sustainable Route towards Imidazolium Building Blocks Based on Biomass Molecules. Chem. – A Eur. J. 19, 15097–15100 (2013).

por 12 h. Pasado este tiempo se filtró el sólido resultante con AcOEt (5 ml) y se secó a 45 °C por 24 h.

2.7 Síntesis de núcleo de imidazol derivado de aminoácidos compuestos 4h-l

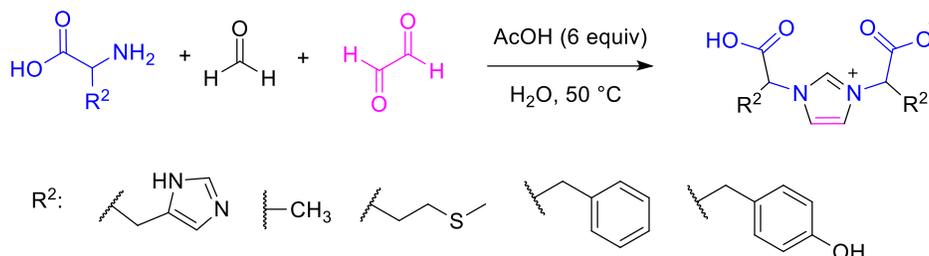


Figura 2.5. Síntesis del núcleo de imidazolio a partir de aminoácidos.

En un matraz balón se agregaron 2 equiv (2 mmol) del clorhidrato del aminoácido, se agregaron 2 mL de agua destilada y se dejó en agitación en baño de hielo. En un vial separado se mezclaron 1.5 equiv (1.5 mmol) de formaldehído (37% p/v) y 6 equiv de AcOH (6 mmol) y se dejó en agitación por 30 min a t.a. Luego de este tiempo la mezcla se agregó lentamente al matraz con la amina (20 min) y se dejó en agitación por 30 min a ta. Pasado el tiempo se agregó 1.5 equiv (1.5 mmol) de glioxal (40% p/v) y se dejó en agitación a 50 °C por 24 h (Figura 2.5). La reacción se monitoreó por CCF utilizando una mezcla de *i*-PrOH:AcOH:H₂O (12:5:7) como eluyente y se reveló con ninhidrina.

Al terminar la reacción se evaporó el agua a presión reducida y se agregó *i*-PrOH caliente hasta disolver el líquido amarillo resultante, posteriormente se agregó AcOEt hasta que la solución comenzó a tornarse turbia y se dejó en refrigeración por 12 h. Pasado este tiempo se filtró el sólido resultante con AcOEt (5 ml) y se secó a 45 °C por 24 h.

2.8 Síntesis de los ésteres de sulfonilo 6a-e

La activación de los grupos -OH de los derivados **4a-c** se llevó a cabo mediante la síntesis ésteres sulfonilo.⁹⁷ En un matraz purgado con N₂, 8 mmol de **4 a-c** se suspendieron en acetonitrilo seco a 45 °C en agitación vigorosa con atmósfera de N₂. Luego se adicionó el cloruro de sulfonilo (16 mmol) deseado y se dejó en agitación por 1 h. Finalmente se adicionó el K₂CO₃ lentamente para evitar la proyección de la solución y se deja en agitación a 45 °C por 6 h. Para la purificación se evaporó el solvente y se disolvió en agua (5 mL) y se hicieron lavados con AcOEt

⁹⁷ Smith, M. B. Chapter 7 - Protecting Groups. in Organic Synthesis (Third Edition) (ed. Smith, M. B.) 587–622 (Academic Press, 2010). doi:https://doi.org/10.1016/B978-1-890661-40-3.50007-7.

hasta que la fase orgánica quedó incolora. La fase acuosa se evaporó a presión reducida y se secó por 72 h en una estufa de vacío (50 °C a 178 mmHg).

2.9 Síntesis de líquidos iónicos tricatiónicos lineales 7a-e

Para llevar a cabo la síntesis de los LITL se siguió la metodología reportada en el grupo de investigación.⁹⁸ En un matraz purgado con N₂, 4 mmol de **7** se disolvieron en 10 mL de acetonitrilo seco a 45 °C en atmósfera de N₂ y se dejó agitando hasta que la solución alcanzó la temperatura de manera homogénea. Luego la amina correspondiente se agregó gota a gota y se calentó la solución a 55 °C. Se dejó en agitación de 15 a 24 h. Después de este tiempo se evaporó el solvente y se disolvió en agua (5 mL) y se hicieron extracciones con AcOEt (3x5 mL). Finalmente se hizo la evaporación de la fase acuosa a presión reducida por 15 y 30 días en una estufa de vacío (50 °C a 178 mmHg) en presencia de P₂O₅.

2.10 Síntesis de ácidos *bis*-hidroxámicos 5a-c

Partiendo de **4d-g** se agregó 1 mmol a un matraz balón, con 5 mmol de CDI. El matraz se purgó con N₂ y el contenido se disolvió en 5 mL de DMF anhidra. La solución se dejó en agitación por 1.5 h a temperatura ambiente. Posteriormente se agregaron 4 mmol de NH₂OH•HCl directamente al matraz y se dejó en agitación por 24 h. Transcurrido el tiempo se adicionaron 15 mL de AcOEt y la mezcla blancuzca obtenida se puso en baño de hielo hasta que se separó una solución ámbar claro. La solución ámbar se separó y se hicieron 2 lavados con ACN (5 mL) y DCM (5 mL) hasta obtener un sólido. Posteriormente este producto se filtró y lavó con CH₃CN (3x5 mL). Luego este sólido se disolvió en 3 mL de solución saturada de NaHCO₃ (LiOH y NaOH) y se hicieron lavados con O(Et)₂ (3x5 mL). Se recuperó la fase acuosa y acidificó con HCl 1N a un pH 4. Posteriormente se evaporó la mayor cantidad de agua y se precipitó con ACN. El sólido se filtró y se resuspendió en 3 mL de MeOH, el precipitado formado (NaCl) se filtró y el solvente se evaporó a presión reducida para obtener el producto final.

2.11 Síntesis de ácido hidroxámico a partir de un éster

Se modificó el procedimiento reportado por Wong *et al.*⁹⁹ En un matraz balón se disolvieron 3 mmol de clorhidrato de β-alaninato de etilo en 3 mL de MeOH y 8 mmol de NH₂OH•HCl y se dejó en agitación en baño de hielo. En un vaso de precipitados se disolvieron 12 mmol de KOH en 7 mL de MeOH en ebullición y se dejó enfriar, el KOH se vertió en el matraz balón e inmediatamente se filtró el precipitado blanco formado. La solución se dejó en agitación a 50 °C y se monitoreó por CCF con el

⁹⁸ López, F. I. et al. Experimental and theoretical study on the synthesis and thermophysical properties of newer tricationic ionic liquids. *J. Mol. Struct.* 1263, 133164 (2022).

⁹⁹ Wong, P. T. et al. Reactivity and mechanism of α-nucleophile scaffolds as catalytic organophosphate scavengers. *Org. Biomol. Chem.* 17, 3951–3963 (2019).

sistema mencionando anteriormente. Al terminar la reacción se acidificó con HCl concentrado a pH 4 y se filtró el sólido formado, el MeOH se evaporó a presión reducida y el sólido obtenido se lavó con acetona (5 mL). La presencia del ácido hidroxámico se comprobó mediante la prueba de FeCl₃.¹⁰⁰

2.12 Síntesis del intermediario de Breslow

En un matraz balón se adicionaron 0.211 mmol del producto **6b**, 0.233 mmol de p-nitrobenzaldehído y 0.233 mmol de K₂CO₃. El matraz se purgó con N₂ y se adicionaron 2 mL de ACN seco. La mezcla se dejó en agitación a 55 °C por 24 h. Pasado el tiempo se evaporó el solvente a presión reducida, el sólido se disolvió en 4 mL de agua destilada y se realizaron extracciones con AcOEt (3x3 mL).

2.13 Prueba de reacción de eliminación en el producto **6b**

En un matraz balón se adicionaron 0.211 mmol del producto **6b** y 0.444 mmol de *t*-BuOK. El matraz se purgó con N₂ y se adicionaron 2 mL de acetonitrilo seco. La mezcla se dejó en agitación a 55 °C por 24 h. Pasado el tiempo se evaporó el solvente a presión reducida, el sólido se disolvió en 4 mL de agua destilada y se realizaron extracciones con AcOEt (3x3 mL).

2.14 Prueba de protección del ácido hidroxámico

En un matraz balón se adicionaron 355 μmol de la mezcla que contenía 3-amino-N-hidroxiopropanamida (previa síntesis a partir de β-alaninato de etilo), 1.1 mmol de formaldehído (37% p/v) y 530 mmol de AcOH. La mezcla se disolvió en 2 mL de agua destilada y se dejó en agitación a 50 °C hasta que la prueba de FeCl₃ resultó negativa.

2.15 Análisis termogravimétrico

El análisis de TGA se realizó en el instrumento SDT Q600 V20.5, con una tasa de calentamiento de 10 °C/min hasta los 500 °C en atmósfera de N₂ con un flujo de 50 mL/min.

2.16 Cálculo de DTG y parámetros T_{onset}, T_{offset}, T_{MAXDTG} y % de pérdida de masa

Para el cálculo de las T_{onset} y T_{offset} se determinaron las intersecciones de la tangente a la curva TGA que corresponde al pico de mayor temperatura de DTG (T_{MAX DTG}). Las intersecciones se obtuvieron por extrapolación de la tangente de T_{MAX DTG}. Luego de obtener las temperaturas se calcularon los % de pérdida de masa desde el inicio del experimento hasta el inicio de la degradación (T_{onset}) y hasta el final de

¹⁰⁰ Giacomini, E. et al. Novel antiproliferative chimeric compounds with marked histone deacetylase inhibitory activity. ACS Med. Chem. Lett. 5, 973–978 (2014).

la degradación (T_{offset}). El análisis gráfico se llevó a cabo en el software OriginPro 2021b Student Version (Figura 2.6).

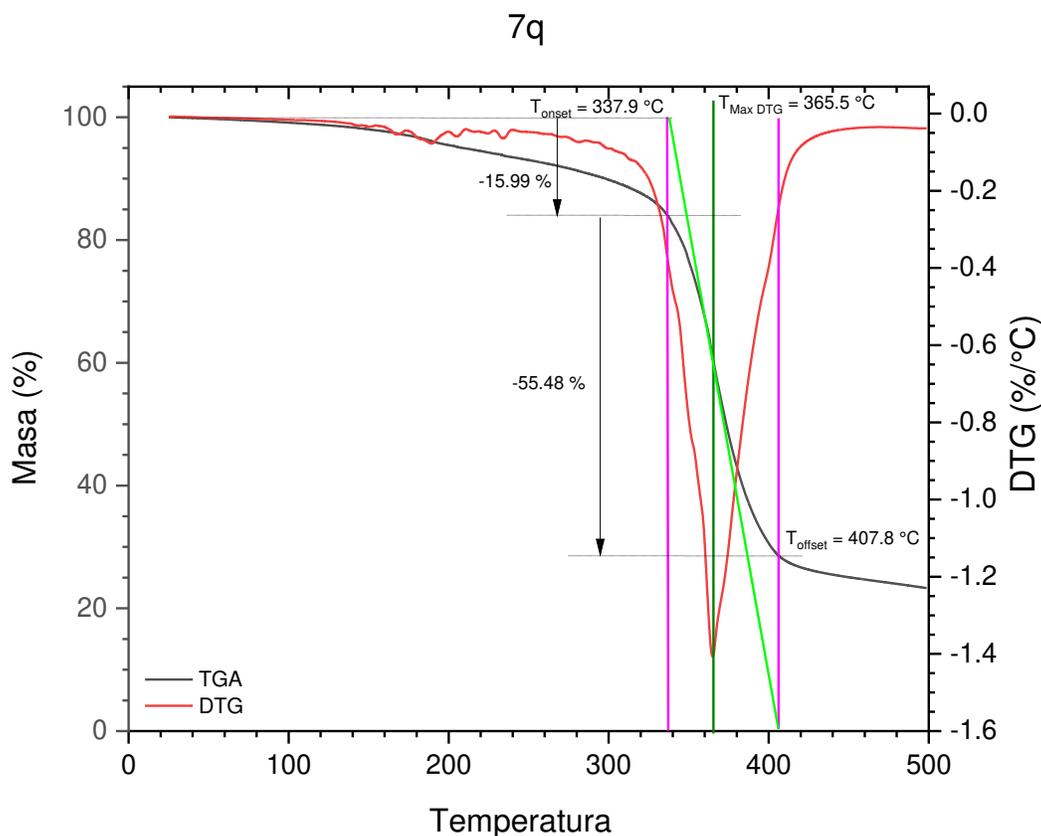


Figura 2.6 Cálculo de los parámetros de estabilidad térmica de TGA/DTG.

2.17 Determinación del % de humedad

El método utilizado fue Karl Fischer, utilizando el reactivo de Karl Fischer libre de piridina en un equipo KF Titrino 870, Metrohm. Las muestras se introdujeron en la celda de reacción, la cual contenía metanol absoluto con un porta muestras de plástico (previamente secado), para muestras sólidas. Se determinó la masa introducida por medio de una balanza analítica marca Explorer, OHAUS.

Ninguna de las muestras tuvo tratamiento previo a la determinación del contenido de humedad. La ecuación que permite el cálculo del % de H_2O en las muestras se muestra en la Figura 2.7:

$$\% \text{ de } H_2O = \frac{[KF_{reactivo}] * V_{KF} * factor}{masa_{muestra} * divisor}$$

Figura 2.7 Fórmula para el cálculo de humedad porcentual mediante el método de Karl-Fischer.

Donde:

$[KF_{reactivo}]$ = Concentración del reactivo Karl Fischer en mg de H₂O/mL de titulante.

V_{KF} = Volumen del reactivo de Karl Fisher utilizado en la determinación en mL.

$masa_{muestra}$ = Masa de la muestra en g.

Factor y divisor = Parámetros utilizados para el ajuste de las unidades en el equipo. En este caso, para tener el % de H₂O se requiere de un factor de 0.1 y un divisor de 1.

Para cada una de las muestras se realizaron 3 réplicas. Si bien el equipo entrega como resultado el porcentaje de agua, en los resultados que se mostrados se indica el valor del volumen del reactivo Karl Fischer utilizado para cada muestra, así como la masa de la muestra correspondiente. Se realizó el análisis estadístico de los resultados para la determinar el intervalo de confianza utilizando la ecuación (Figura 2.8):

$$I.C. = \bar{X} \pm \frac{t * \sigma}{\sqrt{N}}$$

Figura 2.8 Fórmula para el cálculo de los intervalos de confianza.

Donde:

$I.C.$ = Intervalo de confianza.

\bar{X} = Valor promedio del % de H₂O para 3 repeticiones.

t = Función de t de Student para un 95% de confianza, es decir para un $Z_{\alpha/2} = \frac{0.5}{2}$

σ = Desviación estándar.

Para el ajuste de las unidades en % H₂O, se utilizó un factor de 0.1 y un divisor de 1.

3. Resultados y discusiones

3.1 Acoplamiento molecular

En esta sección se describen los datos generados por el estudio del acoplamiento molecular de líquidos iónicos con núcleo de imidazolio los cuales se analizaron como potenciales inhibidores de 3 isoformas de las HDAC's (HDAC1, HDAC6 y HDAC8). Estas enzimas ya se han estudiado previamente en el grupo de investigación debido a su sobreexpresión en cánceres de mama y próstata.¹⁰¹ Una de las limitantes observadas de la investigación mencionada fue la solubilidad de los compuestos, derivado de esto, este proyecto tuvo como objetivo analizar otro tipo de moléculas que presentaran propiedades fisicoquímicas que permitan modular la solubilidad, sin perder el diseño estructural para quelar el Zn^{+2} de las HDACs. Por ello, se planteó el estudio inicial *in silico* de las moléculas propuestas en la Figura 3.1. Se inició el estudio llevando a cabo el acoplamiento para validar el método mediante un redocking de los ligandos co-cristalizados (Figura 3.2, Tabla 3.1) en las isoformas HDAC1 (5ICN¹⁰²), HDAC6 (5EDU¹⁰³) y HDAC8 (1T69⁹⁰).

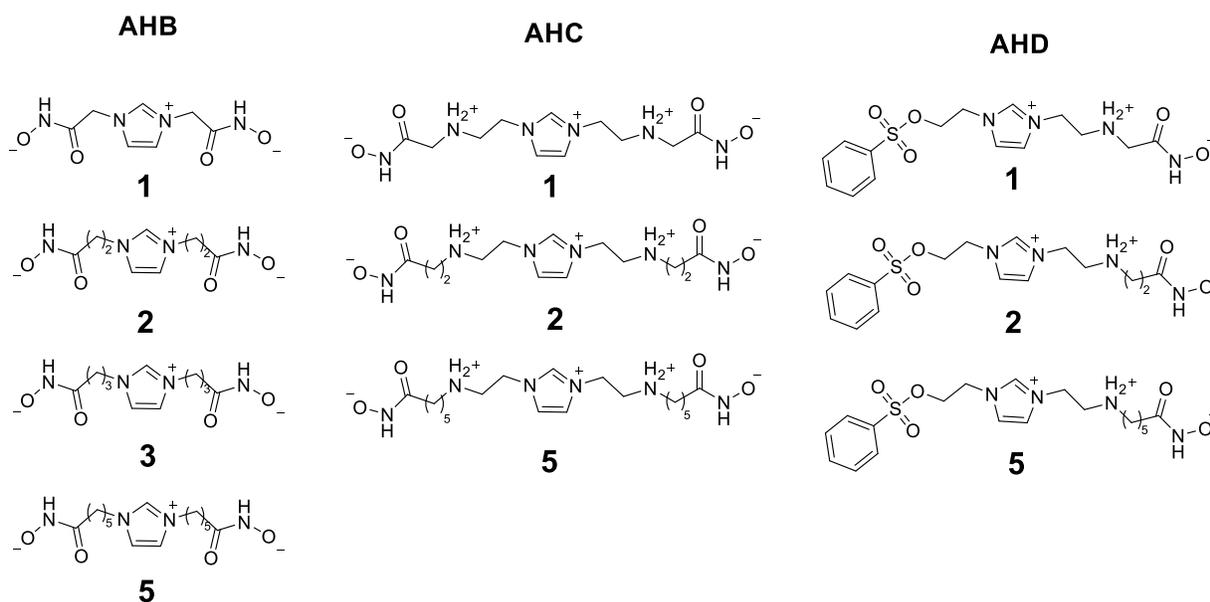


Figura 3.1 Ligandos propuestos para acoplamiento molecular en HDAC1, 6 y 8

¹⁰¹ García, S. et al. Design of Fluorescent Coumarin-Hydroxamic Acid Derivatives as Inhibitors of HDACs: Synthesis, Anti-Proliferative Evaluation and Docking Studies. *Molecules* 25, 5134 (2020).

¹⁰² Watson, P. J. et al. Insights into the activation mechanism of class I HDAC complexes by inositol phosphates. *Nat. Commun.* 7, 11262 (2016).

¹⁰³ Hai, Y. & Christianson, D. W. Histone deacetylase 6 structure and molecular basis of catalysis and inhibition. *Nat. Chem. Biol.* 12, 741–747 (2016).

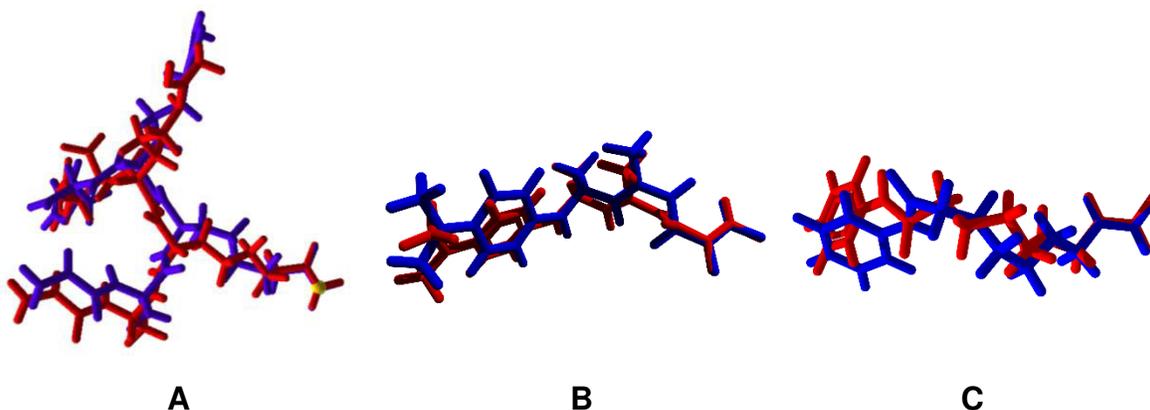


Figura 3.2 Conformación del ligando cocrystalizado (rojo) y pose predicha en el proceso de validación (azul). A) H4K16Hx en HDAC1. B) Tricostatina A en HDAC6. C) SAHA en HDAC8.

Tabla 3.1 Resultados obtenidos de la validación del acoplamiento molecular.

Isoforma	Ligando cocrystalizado	RMSD (Å)	Energía de unión (kcal/mol)	EF (kcal/mol)	PDB ID
HDAC1	H4K16Hx	1.84	-164.60	-4.10	5ICN
HDAC6	TSA	1.07	-123.26	-4.68	5EDU
HDAC8	SAHA	1.38	-72.22	-5.36	1T69

EF: Eficiencia del ligando.

La Tabla 3.1 indica que para todos los ligandos cocrystalizados se obtuvo un RMSD menor a 2.0 Å, esto indica que los parámetros elegidos para el posterior acoplamiento molecular son válidos para obtener conformaciones cercanas al modo de unión de las moléculas. También se obtuvo la energía de unión y eficiencia del ligando correspondientes en cada isoforma.

Acto seguido, se llevó a cabo el acoplamiento de las 3 series de moléculas propuestas para su evaluación *in silico*. La serie AHB, que consta de una molécula simétrica con ácidos hidroxámicos unidos a un núcleo de imidazolio, la serie AHC, una molécula simétrica en la que se incluyen 2 nitrógenos cuaternizados que se unen a su vez a un núcleo de imidazolio, y la serie de AHD, una molécula no simétrica que tiene un equivalente de ácido hidroxámico y un grupo fenilsulfonato (Figura 3.1).

El acoplamiento molecular se realizó utilizando una plantilla sobre el grupo hidroxamato como se describió en la metodología. Los resultados mostraron que todos los ligandos son capaces de coordinarse de manera monodentada o bidentada con el Zn^{2+} que se encuentra en el sitio catalítico en las tres isoformas.

Los modos de unión fueron diferentes según el largo de la cadena alquílica del LI y de la isoforma, pero de manera general las moléculas de la serie AHB tuvieron los mejores resultados. Las Tablas 3.2–3.4 muestran las energías de interacción de los LIs acoplados.

El comportamiento de estas moléculas fue el esperado en cuestión de su interacción con el cofactor de las metaloenzimas, pero además de esto, se encontró que el anillo aromático de imidazolio tiene la capacidad de formar interacciones de tipo apilamiento p-p y p en forma T con las fenilalaninas que forman la parte más estrecha del túnel catalítico y que se mantiene una gran similitud entre las isoformas estudiadas.¹⁰⁴ En algunos casos el anillo de imidazolio formó las interacciones p-p mencionadas con las histidinas que están al fondo de la cavidad cuando la cadena alquílica de los LIs era corta (1-2 átomos de carbono). Otra característica distintiva fue que aquellas moléculas que contenían átomos de N cuaternizados en su estructura (serie AHC y AHD) mostraron la formación de potenciales interacciones de tipo catión-p, con los residuos aromáticos Phe del túnel (Figura 3.3-3.5). Estas características fueron alentadoras debido que el túnel de sitio catalítico de estas enzimas se compone de residuos no polares. Además, los entre los ligandos con mejor energía de unión se encontró que forma puentes de hidrógeno con residuos clave en cada isoforma que se encuentran al exterior del túnel, lo cuáles se discutirán en las siguientes secciones.

3.1.1 Análisis sobre HDAC1.

De forma específica, los compuestos iónicos fueron estudiados frente a la HDAC1 (Figura 3.3), todos los ligandos tienen una interacción similar con el Zn^{2+} comparados con la molécula H4K16Hx co-cristalizada a excepción de AHB2, AHB3 y AHD2, los cuales interactuaron de manera monodentada. El análisis de las interacciones indica que los ligandos con 2–5 átomos entre el hidroxamato y el imidazol pueden formar interacciones de tipo apilamiento p-p con las Phe205 y 150. Esta interacción es importante debido a que estos residuos son de tipo hidrofóbico, sin embargo, la carga positiva deslocalizada en el anillo de imidazolio interactúa con las cadenas aromáticas de las Phe, esto llevaría a una mejor estabilización del LI dentro de la cavidad. Por otro lado, aquellos ligandos derivados del ácido 6-aminohexanoico conectados mediante átomos cuaternarios de nitrógeno (AHC5), no formaron interacciones con las fenilalaninas en el sitio activo debido a que la cadena alquílica fue muy larga. A pesar de esto, los LIs con cadenas largas como AHB5 fueron capaces de interactuar con las Phe del túnel formando interacciones de tipo p-p alternadas, mostrando que la cadena alquílica puede doblarse y la

¹⁰⁴ Weerasinghe, S. V. W., Estiu, G., Wiest, O. & Pflum, M. K. H. Residues in the 11 Å Channel of Histone Deacetylase 1 Promote Catalytic Activity: Implications for Designing Isoform-Selective Histone Deacetylase Inhibitors. *J. Med. Chem.* 51, 5542–5551 (2008).

conformación estabilizarse con la ayuda de las Phe205 y 150. En los casos en los que las cadenas alquílicas se conectan con nitrógenos cuaternizados, estos formaron interacciones de tipo catión-p, con los residuos aromáticos tanto de Phe como de His148, los ligandos AHC2 y AHD5 formaron este tipo de interacción mostrando que las cargas positivas en las moléculas pueden interactuar favorablemente dentro del sitio activo. Aquellos ligandos con cadenas de átomos mayores a 5 átomos entre el imidazol y el hidroxamato mostraron menos interacciones dentro del sitio activo, aunque fueron capaces de formar puentes de hidrógeno con algunos residuos ácidos como el Asp99 con AHC1 con una distancia de 2.80 Å respectivamente. Incluso la molécula AHD5 formó un puente de hidrógeno con el Asp99 a una distancia de 2.96 Å y una interacción de tipo catión-p con la Phe205. Además, otros LI como el AHC2 y AHB5 formaron puentes de hidrógeno el residuo con Glu98 con distancias de 2.65 Å en promedio. Estas moléculas tienen la característica de tener otro equivalente de hidroxamato (serie AHB y AHC). Cabe destacar que el residuo Asp99 se conserva en las clases de HDAC I y II y es de gran importancia ya que la mutación de este residuo por alanina conlleva a la pérdida de actividad catalítica de la enzima.¹⁰² Por otro lado, aquellos ligandos con un fenilsulfonato (serie de AHD) fueron estabilizados por interacciones de Van der Waals por las cadenas laterales de los residuos no polares y a pesar de que se esperaba que estos mostraran mejores resultados por cumplir con las características del modelo farmacofórico no están dentro de los 5 mejores ligandos, esto puede deberse a que la distancia entre el anillo aromático y el imidazolio es mayor estando separados por 4 átomos lo que evita que forme interacciones con los residuos hidrofóbicos que se encuentran cerca de la entrada del túnel.

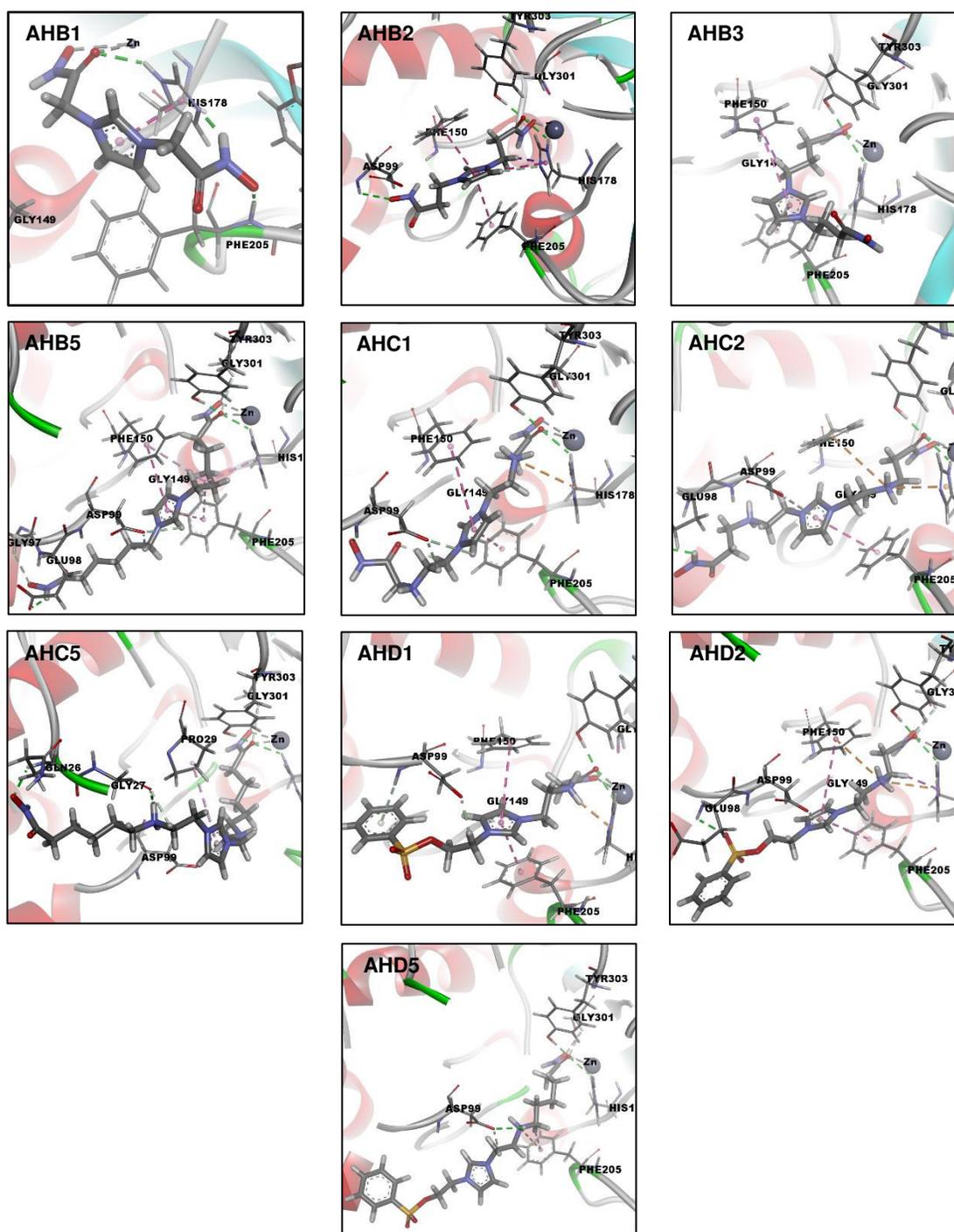


Figura 3.3 Interacciones entre los derivados de líquidos iónicos y los residuos del sitio activo de la HDAC1.

Tabla 3.2 Energías de interacción de los ligandos en acoplados en la HDAC1

Ligando	Interacción ^a	Cofactor ^a	HB ^{a,b}	EL ^{a,c}	Peso molecular ^d
H4K16Hx	-164.60	-14.28	-10.83	-4.10	850.96
AHB2	-117.46	-10.99	-6.50	-6.45	241.22
AHB1	-103.07	-12.54	-10.58	-6.23	213.17
AHB5	-149.88	-14.15	-11.41	-5.65	325.38
AHC2	-149.82	-7.02	-12.79	-5.55	329.38
AHB3	-113.65	-12.61	-6.15	-5.54	269.28
AHC1	-124.28	-3.60	-10.51	-4.86	301.32
AHD2	-136.19	-7.27	-8.44	-4.39	383.44
AHD1	-136.77	-2.42	-7.01	-4.29	369.42
AHC5	-140.72	-11.55	-9.87	-4.02	413.54
AHD5	-136.02	-13.33	-6.86	-3.86	425.52

^akcal/mol; ^bPuentes de hidrógeno; ^cEficiencia del ligando; ^dg/mol

Al analizar las diferentes energías de interacción de los ligandos acoplados contra el ligando cocrystalizado H4K16Hx se observó que tuvieron una mejor energía de unión ya que un valor más negativo indica una mejor afinidad de unión LI-HDAC. También se incluyó la eficiencia del ligando, que es el cociente de la energía de interacción entre el número de átomos distintos de H, y es un mejor parámetro para comparar los resultados para evitar el sesgo debido al tamaño de la molécula acoplada puesto que cuando más grande es, mayor es su energía de interacción.¹⁰⁵ Con base en este parámetro, se puede decir que la serie AHB tiene una mejor afinidad por la HDAC1. Con respecto a la energía de interacción con el cofactor parece que no hay una relación directa de la energía total de interacción, por lo que las variaciones podrían darse debido a la estructura del ligando o de la cercanía de los átomos de los residuos con los que interactúa. Finalmente, con respecto a la energía aportada por los puentes de hidrógeno (HB) se pudo observar que las moléculas más pequeñas como AHB1, AHC1 o AHC2 son estabilizadas (con una energía más negativa) de mejor manera que moléculas más grandes. Esto puede deberse a que una cadena alquílica más grande no permite que los heteroátomos interactúen eficientemente con los residuos del sitio catalítico.

¹⁰⁵ Abad-Zapatero, C. Ligand efficiency indices for effective drug discovery. *Expert Opin. Drug Discov.* 2, 469–488 (2007).

3.1.2. Análisis sobre HDAC6.

En la HDAC6 el comportamiento de los ligandos fue similar respecto a la interacción del hidroxamato con los residuos catalíticos al igual que el TSA (Figura 3.4), sin embargo, en esta isoforma solo el ligando AHD1 mostró una interacción monodentada con el Zn²⁺. Las interacciones de tipo catión-p, apilamiento p-p y p en forma T también presentaron en esta isoforma con los residuos Phe620 y 680. Solo los LIs AHB1 y AHC5 no tuvieron interacciones con las Phe. Por otro lado, el ligando AHC1 formó un puente salino con el residuo Asp567, a través del nitrógeno cuaternario en la cadena, a su vez los LIs AHC2 y AHB5 formaron un puente salino con la Arg673 a través del segundo equivalente de hidroxamato en su estructura que se encuentra fuera del sitio activo también. Esto es indicativo de que sustratos iónicos pueden ser estabilizados tanto dentro como fuera del sitio activo. Además de esto, se puede destacar que los ligandos AHB2 y AHD1 podrían formar puentes de hidrógeno con el residuo Ser568 a través del grupo hidroxilo de la cadena lateral. Este residuo es importante para el posicionamiento del ligando en el complejo enzima-sustrato en esta isoforma.¹⁰³ En esta isoforma los residuos de Phe 620 y 680 se encuentran más cerca del fondo de la cavidad por lo que su interacción con el imidazol de los LIs ocurrió a distancias mayores, sin embargo, se formaron más interacciones tipo de tipo iónico debidas a la Arg673.

Tabla 3.3 Energías de interacción de los ligandos en acoplados en la HDAC6

Ligando	Interacción ^a	Cofactor ^a	HB ^{a,b}	EL ^{a,c}	Peso molecular ^d
TSA	-123.26	-14.28	-10.83	-4.10	302.37
AHB1	-100.04	-15.16	-7.52	-6.15	213.17
AHB3	-113.03	-12.72	-2.42	-5.46	269.28
AHB2	-102.96	-12.44	-6.64	-5.23	241.22
AHB5	-130.19	-14.13	-5.33	-4.98	325.38
AHC2	-131.35	-8.39	-11.32	-4.88	329.38
AHD5	-157.91	-14.87	-10.09	-4.25	425.52
AHD2	-121.66	-7.81	-8.11	-4.11	383.44
AHC1	-97.23	-6.43	-8.16	-4.05	301.32
AHD1	-114.43	-4.83	-6.07	-3.63	369.42
AHC5	-121.05	-14.04	-6.72	-3.55	413.54

^akcal/mol; ^bPuentes de hidrógeno; ^cEficiencia del ligando; ^dg/mol

En esta isoforma se observaron similitudes con el comportamiento de los ligandos. La Tabla 3.3 muestra los valores de la energía de interacción, nuevamente, la serie AHB tuvo una mejor eficiencia de ligando, las moléculas derivadas de ácido 6-aminohexanoico tuvieron una mejor energía de unión que la TSA, sin embargo las moléculas pequeñas fueron las mejores con respecto a la EL. Aunque las moléculas

tuvieron una mejor energía de interacción con el cofactor la energía de los puentes de hidrógeno fue menor, en general, las energías de interacción fueron menores con respecto a las observadas en la HDAC1

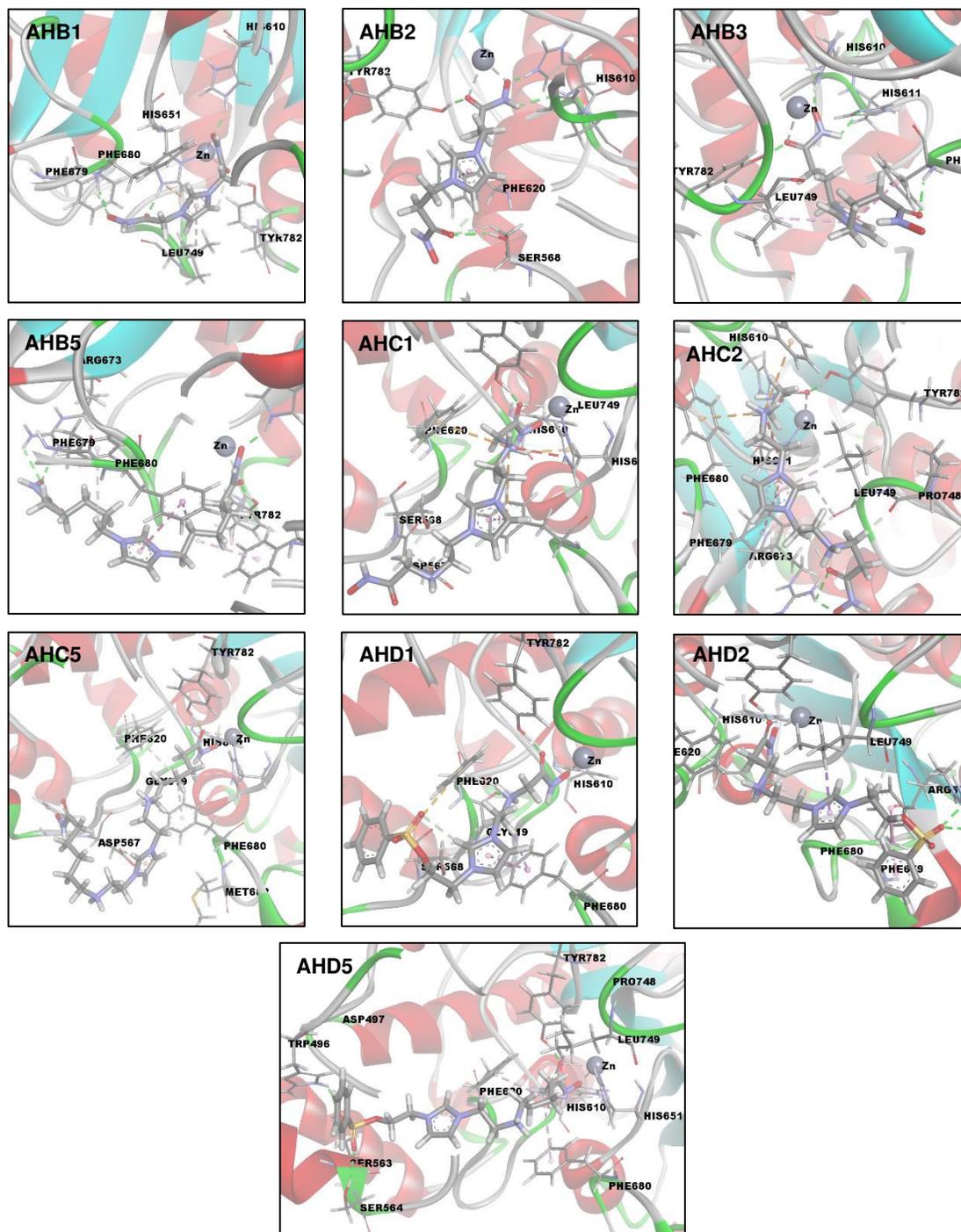


Figura 3.4 Interacciones entre los derivados de líquidos iónicos y los residuos del sitio activo de la HDAC6

3.1.3 Análisis sobre HDAC8.

Finalmente, en la HDAC8 (Figura 3.5), las interacciones con los residuos aromáticos se mantuvieron en este caso con las Phe152 y 208. En esta enzima todos los ligandos se coordinaron de manera bidentada, y como muestran los datos de la Tabla 3.4, la interacción con el cofactor fue más fuerte que en las HDAC1 y HDAC6, pero su energía de unión total fue menos eficiente. El comportamiento de los ligandos fue similar al observado en las isoformas anteriores, y la serie AHB tuvo una mejor eficiencia de ligando como en el caso de la HDAC6. En esta isoforma el LI AHB2 que se acomoda dentro de una cavidad adyacente al sitio catalítico formando una interacción tipo pi-pi con el Trp141 y un puente de hidrógeno con la cadena principal de la Lys33, este residuo es importante ya que esto puede inducir un movimiento de un giro (loop) en la enzima y cerrar una segunda cavidad adyacente al sitio activo. Por otro lado, el ligando D5 es capaz de interactuar con la Tyr100, lo que también puede inducir un movimiento de un “giro” y reducir la entrada a la cavidad adyacente⁹⁵ aunque tiene una de las menores EL.

En esta isoforma los LIs AHB fueron los que tuvieron una mejor EL, solo los LIs AHB1-3 formaron las interacciones pi con las Phe, ya que estos residuos se encuentran más cerca del fondo de la cavidad, pero pueden interactuar con la Tyr100 y 306 que se encuentran en la salida del túnel con el caso de AHD5. En la HDAC8 también se observó que los ligandos de la serie AHC no tienden a formar puentes de hidrógeno a través del segundo equivalente de hidroxamato con los residuos de la entrada del túnel como sucede en las isoformas HDAC1 y HDAC6, solo el LI AHC2 formó un puente de hidrógeno con la cadena principal de la Gly206. Finalmente, la serie AHD no interacciones estabilizantes fuera del sitio activo, aunque contienen en su estructura un anillo aromático similar a SAHA, aunque las interacciones dentro de la cavidad son las esperadas para el hidroxamato pero las interacciones con las Phe solo se presentaron en el LI AHD2.

En general los ligandos propuestos mostraron capacidad para formar interacciones que les permitirían interactuar con los residuos dentro del sitio catalítico de las diferentes enzimas estudiadas, las cuales se caracterizaron por interacciones de tipo pi-pi, catión-pi con las Phe que se encuentran en la parte más estrecha de la entrada del túnel. Además, en la HDAC1 y HDAC6 los LIs pueden formar puentes de hidrógeno con los residuos al exterior de la entrada del túnel. Con base en estos resultados se puede proponer que las moléculas presentan un mejor modo de unión cuando tienen dos aceptores de puente de hidrógeno que tienen un función quelante, y que deben tener un grupo aromático de 2-4 átomos del hidroxamato que interactúe con las Phe del túnel, a su vez pueden tener aceptores de puentes de hidrógeno para interactuar con residuos fuera del túnel, principalmente en las HDAC1 y HDAC6.

Tabla 3.4 Energías de interacción de los ligandos en acoplados en la HDAC8

Ligando	Interacción ^a	Cofactor ^a	HB ^{a,b}	EL ^{a,c}	Peso molecular ^d
SAHA	-72.22	-17.41	-4.10	-5.36	264.32
AHB1	-84.28	-17.09	-9.01	-5.38	213.17
AHB2	-100.16	-16.65	-6.34	-4.64	241.22
AHB3	-88.65	-16.56	-3.52	-3.87	269.28
AHB5	-107.60	-18.35	-6.59	-3.71	325.38
AHC2	-93.86	-9.12	-5.90	-3.56	329.38
AHC1	-83.89	-7.61	-9.06	-3.44	301.32
AHD1	-100.69	-7.83	-5.29	-3.20	369.42
AHD2	-90.18	-9.10	-3.69	-2.80	383.44
AHD5	-105.70	-17.64	-2.87	-2.79	425.52
AHC5	-93.26	-16.51	-4.58	-2.74	413.54

^akcal/mol; ^bPuentes de hidrógeno; ^cEficiencia del ligando; ^dg/mol

3.2 Predicción de propiedades fisicoquímicas y ADMET

Para tener conocimiento de las propiedades fisicoquímicas y ADMET, las moléculas estudiadas en el acoplamiento molecular se analizaron en SwissADME. Un servidor web que permite el acceso libre a diversos modelos predictivos de propiedades fisicoquímicas, farmacocinéticas y relacionadas con la química farmacéutica, entre otros datos importante.⁹⁴

Las Tabla 3.5 muestra los resultados de algunos parámetros obtenidos para las moléculas. La superficie polar es un parámetro que permite hacer predicciones de las moléculas sobre la absorción gastrointestinal y la facilidad para traspasar la barrera hematoencefálica. Se calcula como la suma de las superficies de los átomos polares en la molécula.¹⁰⁶ Los líquidos iónicos evaluados mostraron una superficie polar de buena en el caso de la serie AHB y AHD, mientras que en la serie AHC podría considerarse elevada con menor probabilidad para traspasar membranas celulares¹⁰⁷ que tiene una repercusión directa en el LogP, se puede decir que el tamaño de la cadena alquílica no afecta este parámetro. En el caso del logaritmo de coeficiente de partición agua/octanol los líquidos iónicos muestran valores fuera del rango deseado (-0.7 a 5) debido a su polaridad, sin embargo, este parámetro podría modificarse al incluir contraiones en las predicciones, además se encontró que tendrían una alta solubilidad en agua como se esperaba.

¹⁰⁶ Ertl, P., Rohde, B. & Selzer, P. Fast Calculation of Molecular Polar Surface Area as a Sum of Fragment-Based Contributions and Its Application to the Prediction of Drug Transport Properties. *J. Med. Chem.* 43, 3714–3717 (2000).

¹⁰⁷ Noorizadeh, H., Farmany, A., Noorizadeh, M. & Kohzadi, M. Prediction of polar surface area of drug molecules: A QSPR approach. *Drug Test. Anal.* 5, 222–227 (2013).

Tabla 3.5 Parámetros fisicoquímicos calculados para los ligandos A1-D5.

Molécula	TPSA	LogP	Solubilidad (mg/mL)	Tipo de solubilidad
AHB1	107.47	-2.64	345.00	Altamente soluble
AHB2	107.47	-2.19	1380.00	Altamente soluble
AHB3	107.47	-1.7	283.00	Altamente soluble
AHB5	107.47	-0.22	11.20	Muy soluble
AHC1	140.69	-9.42	1720.00	Altamente soluble
AHC2	140.69	-9.17	2950.00	Altamente soluble
AHC5	140.69	-6.89	22.30	Muy soluble
AHD1	126.5	-3.75	9.18	Muy soluble
AHD2	126.5	-3.66	12.10	Muy soluble
AHD5	126.5	-2.7	1.04	Soluble

Con respecto a los parámetros farmacocinéticos, la absorción gastrointestinal fue buena en general para las moléculas que tienen en su estructura menos nitrógenos cuaternarios (serie AHB y AHD) pero ninguna mostró capacidad de traspasar la barrera hematoencefálica lo que concuerda con los resultados fisicoquímicos obtenidos. Solo las moléculas AHB1, AHB2 y AHB3 no mostraron susceptibilidad glicoproteína P (Pgp), esta característica podría representar una ventaja ya que la Pgp junto a otras 2 proteínas, se encarga de la eliminación de compuestos hidrofóbicos que pudieran ser dañinos para la célula, aunque su sobreexpresión está asociada con mecanismos de resistencia de células cancerosas¹⁰⁸, en este caso estas moléculas polares no serían susceptibles de la eliminación por esta vía además de ser las que mejores resultados mostraron en el acoplamiento molecular. Una característica para destacar es que no mostraron ser sustratos de ninguna de las enzimas del complejo CYP450 estudiadas en SwissADME, lo que da indicios de que los efectos tóxicos serían poco probables (Tabla 3.6). Los potenciales líquidos iónicos propuestos son muy polares lo que podría afectar su absorción, sin embargo, la modificación de las cadenas sustituyentes como de los contraiones podría permitir modular las propiedades fisicoquímicas hacia aquellas deseadas para tener actividad farmacológica.

¹⁰⁸ Holohan, C., Van Schaeybroeck, S., Longley, D. B. & Johnston, P. G. Cancer drug resistance: an evolving paradigm. *Nat. Rev. Cancer* 13, 714–726 (2013).

Tabla 3.6 Parámetros ADMET de los ligandos A1-D5.

Molécula	AGI	BHE	Sustrato de Pgp	Inhibidor de CYP1A2
AHB1	Baja	No	No	No
AHB2	Alta	No	No	No
AHB3	Alta	No	No	No
AHB5	Alta	No	Si	No
AHC1	Baja	No	Si	No
AHC2	Baja	No	Si	No
AHC5	Baja	No	Si	No
AHD1	Alta	No	Si	No
AHD2	Alta	No	Si	No
AHD5	Alta	No	Si	No

3.3 Síntesis de líquidos iónicos con núcleo de imidazolio

Una vez realizado el estudio computacional y la predicción de los datos fisicoquímicos y de interacción con los blancos biológicos, se comenzó con la síntesis de las estructuras base, después se procedió con su funcionalización. Para llevar a cabo el primer paso de la síntesis se realiza una reacción de Debus-Radziszewski modificada, en la que se utilizaron el formaldehído y glioxal en solución acuosa al 37% y 40% respectivamente, y el p-formaldehído y trímero de glioxal en forma sólida para establecer si había alguna diferencia en la conversión de las materias primas.

En ambos casos se utilizó el HCl al 37% como catalizador para la reacción siguiendo el método reportado por el grupo de investigación⁹⁵, sin embargo, al realizar el monitoreo por CCF, la materia no se consumió, incluso después de una semana. Los espectros de RMN ¹H indicaron que no hubo una diferencia notable entre la conversión usando cada reactivo ya que la materia prima sin reaccionar se encontraba en una proporción muy cercana a 1:1 en ambos casos, por lo que se decidió continuar el trabajo con el método convencional utilizando el formaldehído y glioxal a 40%, la reacción fue monitoreada por RMN ¹H (Figura 3.6 y Figura 3.7). Se realizó otra prueba con TFA y los resultados fueron similares a los obtenidos anteriormente.

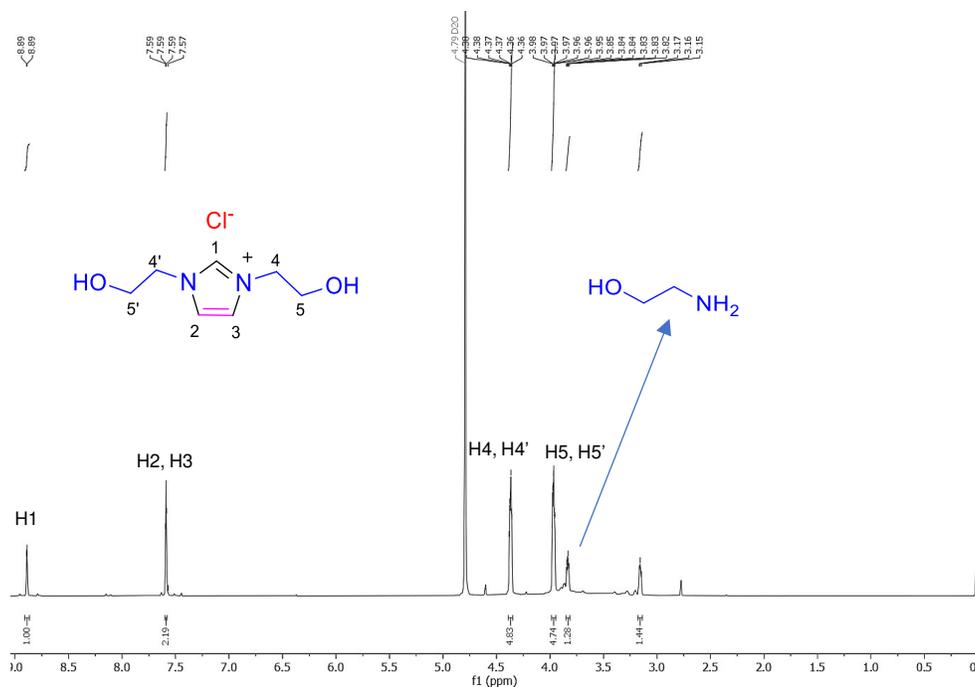


Figura 3.6 Espectro de RMN de ^1H del producto $[\text{OHC}_2\text{Im}^+][\text{Cl}^-]$ en D_2O utilizando p-formaldehído y el trímero de glicoxal.

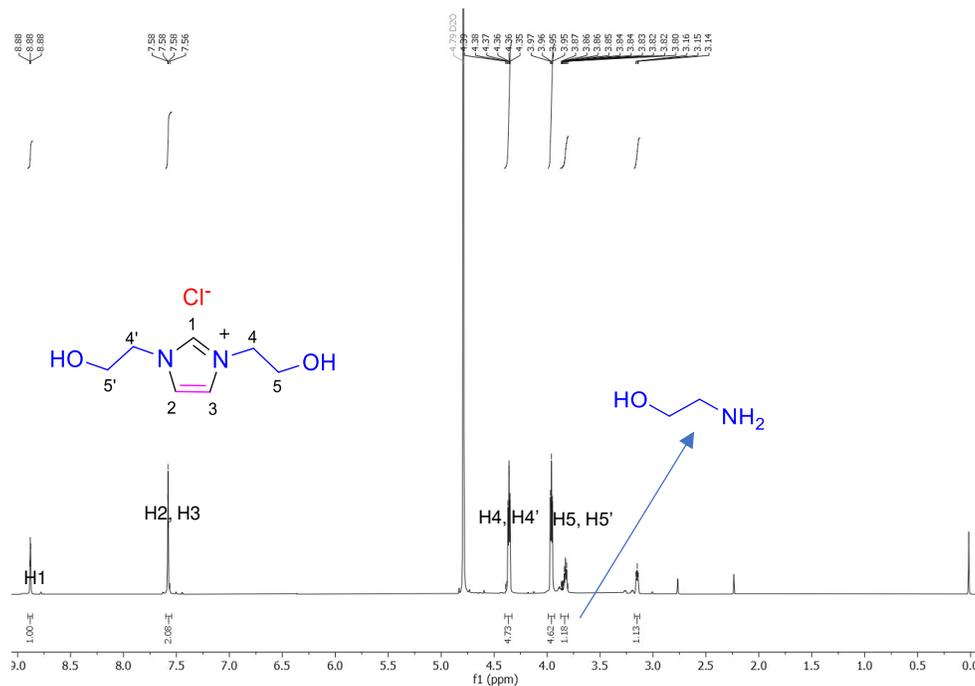


Figura 3.7 Espectro de RMN de ^1H del producto $[\text{OHC}_2\text{Im}^+][\text{Cl}^-]$ en D_2O utilizando formaldehído y glicoxal en solución acuosa al 36% y 40% respectivamente.

En un estudio Zimmerman *et al.* menciona que la reacción de Debus-Radziwzewski no tolera ácidos fuertes, posiblemente por la formación de intermediarios de amonio menos reactivos que además complican la purificación del producto. También

determinó que la secuencia de adición de reactivos puede afectar el rendimiento de la reacción, mediante el estudio de diferentes secuencias de adición, encontró que añadir una mezcla del aldehído con ácido acético a la amina y posteriormente adicionar el glicoxal era la manera en la que se obtenía una mayor conversión y pureza del producto.¹⁰⁹ En otro estudio Depuydt *et al.* Reportaron resultados similares a los obtenidos al utilizar ácidos fuertes como el HCl y el H₂SO₄ que resultaron en líquidos iónicos que no pudieron purificarse debido a la formación de productos secundarios que no se eliminan mediante extracciones, sin embargo, el AcOH mostró los mejores resultados, pues se lograron obtener productos puros con la facilidad de poder hacer la metátesis del acetato con el uso de un ácido más fuerte que pudiera protonar al anión.³² Con base en reportado en la literatura que probó el AcOH como catalizador además de una secuencia de adición distinta en busca de una mejor conversión para obtener un producto más puro y un mejor rendimiento.

La reacción se realizó a temperatura ambiente, en ausencia de solvente y se monitoreó por CCF hasta la desaparición de la materia prima 8 horas después. El análisis de la RMN mostró que la materia prima se consumió casi en su totalidad cuando se utilizó el AcOH como catalizador y se confirmó que no es necesario adicionar más agua a la reacción ni temperatura para obtener buenos rendimientos (Figura 3.8)

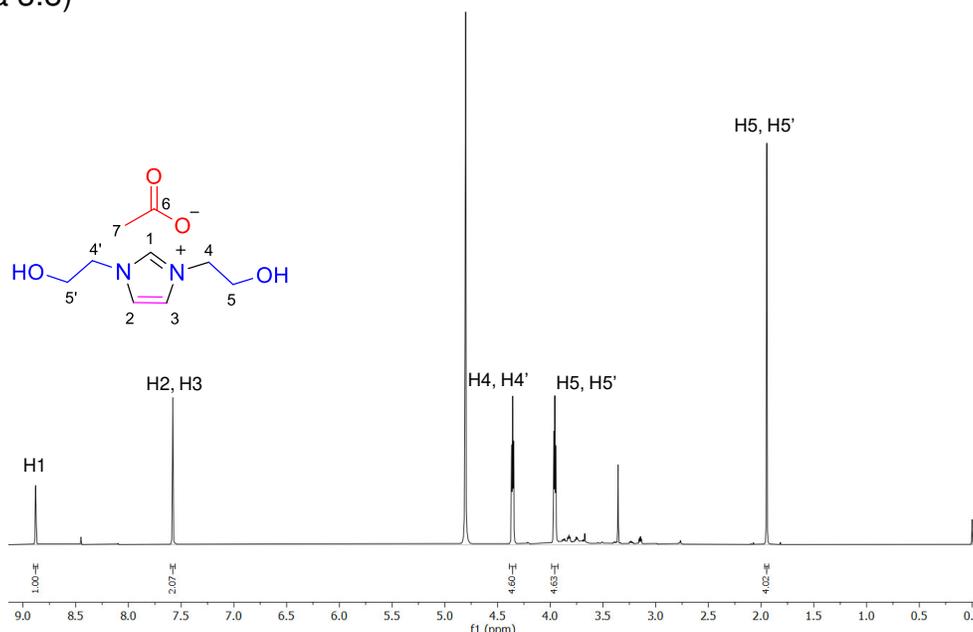


Figura 3.8 Espectro de RMN de ¹H del producto [2OHC₂Im⁺][AcO⁻] en D₂O. Las señales correspondientes a la materia prima se observan en una proporción mucho menor.

De esta manera se encontró que los rendimientos son superiores al utilizar un ácido débil (Tabla 3.7). Cabe destacar que al realizar las extracciones con AcOEt no fue

¹⁰⁹ Zimmermann, J., Ondruschka, B. & Stark, A. Efficient Synthesis of 1,3-Dialkylimidazolium-Based Ionic Liquids: The Modified Continuous Radziszewski Reaction in a Microreactor Setup. *Org. Process Res. Dev.* 14, 1102–1109 (2010).

posible eliminar la materia prima que no reacciona posiblemente por la formación de sales de amonio y la alta solubilidad de la etanolamina en agua y solventes muy polares.

Tabla 3.7 Condiciones para la síntesis de los líquidos iónicos de imidazolio

Entrada	Catalizador	Temperatura (°C)	Solvente	Tiempo (h)	Rendimiento (%)
1	HCl	45	Agua	24	51
2	HCl	45	Agua	168	50
3	HCl	t.a. ^a	Ninguno	24	50
4	CF ₃ CO ₂ H	45	Agua	168	58
5	CF ₃ CO ₂ H	45	Agua	24	60
6	AcOH	45	Agua	24	90
7	AcOH	t.a. ^a	Ninguno	8	95

^atemperatura ambiente (25-28 °C); ^bRendimiento después de purificación y secado.

Los LI obtenidos (Figura 3.9) fueron solubles en solventes muy polares como agua, metanol, etanol, DMF y DMSO. Los LI altamente polares tienden a ser higroscópicos y la eliminación de agua de su estructura es necesaria para determinar sus propiedades fisicoquímicas ya que tiene efectos directos sobre la viscosidad y puede interferir en reacciones posteriores, por lo tanto, es necesario realizar un secado a presión reducida durante un largo tiempo para poder eliminar la mayor cantidad de agua^{110,111}, en este caso el proceso se realizó a 55 °C, por 72 h a 178 mmHg antes de proceder con el siguiente paso de la síntesis. En RMN las señales características se observan en el desplazamiento de 7-7.5 ppm y 8.5 a 9 ppm según el contraión que contenga el LI.

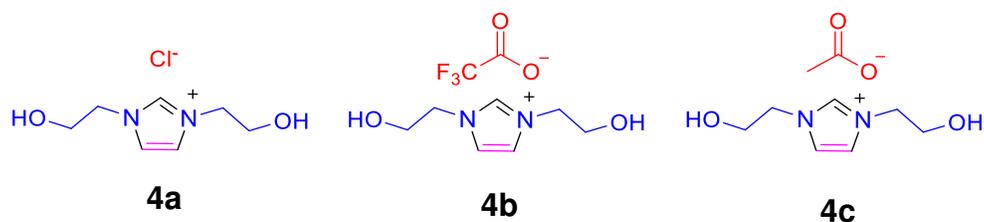


Figura 3.9 Líquidos iónicos con núcleo de imidazolio sintetizados a partir de la etanolamina.

¹¹⁰ Gnahn, M. & Kolb, D. M. The purification of an ionic liquid. *J. Electroanal. Chem.* 651, 250–252 (2011).

¹¹¹ Zhou, J. et al. Recovery and purification of ionic liquids from solutions: a review. *Rsc Adv.* 8, 32832–32864 (2018).

3.4 Activación de los -OH de LIs con cloruros de sulfonilo

El siguiente paso de la síntesis se llevó a cabo mediante la activación del núcleo de imidazolio (Figura 3.10) con los cloruros de sulfonilo MsCl, TsCl y PhSO₂Cl. En esta reacción se observó un cambio de solubilidad puesto que las materias primas son insolubles en el solvente utilizado (acetonitrilo) y al comenzar al reaccionar con el cloruro de sulfonilo el producto se solubilizó. Algo que se debe tomar en cuenta es que el K₂CO₃ se usó con fines neutralizantes y no se debe adicionar desde el inicio de la reacción, ya que disminuyó considerablemente el rendimiento de la reacción.

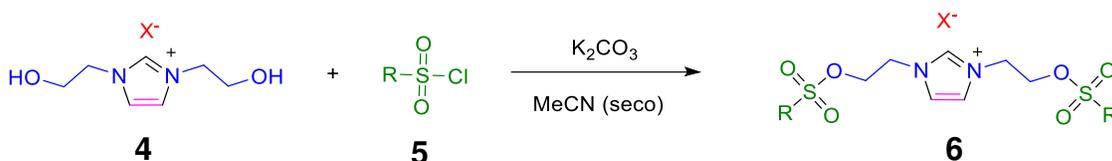


Figura 3.10 Reacción de activación de los grupos -OH del líquido iónico 1,3-dietanolimidazolio.

De los productos obtenidos (Figura 3.11), solamente el derivado de MsCl no se obtuvo con una mayor pureza a pesar de realizar lavados con AcOEt y una mezcla de TBME/MeOH (7:3), los productos de 1,3-dietanolimidazolios impuros de TsCl y el PhSO₂Cl se obtuvieron con mayor pureza utilizando los lavados convencionales con AcOEt y se logró eliminar la materia prima residual de la primera reacción (Figura 3.12).

Finalmente, en esta reacción se utilizaron dos cloruros de sulfonilo muy similares estructuralmente, la prueba se realizó para valorar si existía alguna diferencia entre usar el TsCl (un sólido que suele ser de más fácil manejo) y el PhSO₂Cl que se encuentra como líquido a temperatura ambiente. El PhSO₂Cl mostró un mejor rendimiento (Tabla 3.8) además de que fue más reactivo, ya que durante la purificación cuando se usó TsCl se observó la formación de cristales que podrían corresponder al producto hidrolizado, TsOH.

Tabla 3.8 Activación de los -OH del 1,3-dietanolimidazolio

Entrada	Líquido iónico		Rendimiento ^a (%)
	Anión	Activador	
1	Cl ⁻	MsCl	56
2	Cl ⁻	TsCl	44
3	Cl ⁻	PheSO ₂ Cl	68
4	AcO ⁻	PheSO ₂ Cl	90
5	CF ₃ CO ₂ ⁻	PheSO ₂ Cl	56

^aDeterminado después de purificación y secado.

3.5 Sustitución nucleofílica de los sulfonatos en los líquidos iónicos

Una vez obtenidos los sulfonatos de los LI se procedió con el paso final de la síntesis utilizando la metodología reportada en el grupo de investigación para la síntesis de los LITL¹⁰³. El paso final de la síntesis se trata de una S_N2, mediante el uso de diversos derivados de aminoácidos se pretendía llegar a los productos finales (Figura 3.13).

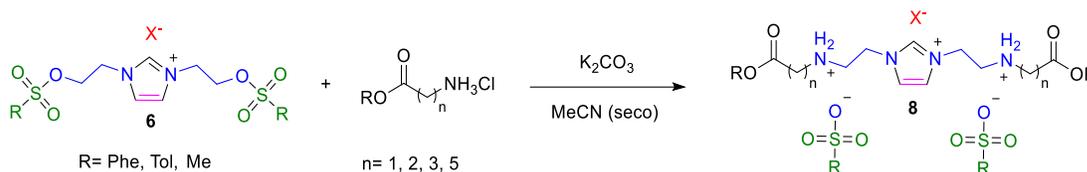


Figura 3.13. Ruta de síntesis de 8. Líquidos iónicos tricatiónicos lineales derivados de ésteres de aminoácidos.

La primera reacción se llevó a cabo utilizando el clorhidrato del éster de glicina con el producto **6b**. Sin embargo, tanto el clorhidrato como el K₂CO₃ fueron insolubles en el acetonitrilo y durante el curso de la reacción se observó un precipitado al fondo del matraz, además el monitoreo por CCF del aminoácido indicó que no se consumió. Luego de filtrar la solución se lavó la fase acuosa con AcOEt, se obtuvo un líquido y se analizó por RMN ¹H y se encontró que la señal del H2 del imidazolio en el LI había desaparecido (espectro en color marrón, Figura 3.14), esto fue indicio de que la base podría estar desprotonando al LI en lugar de liberar al clorhidrato o bien intercambio por deuterio, por lo que, en un segundo intento se utilizó una base soluble en el solvente, la TEA, mezclándola con el clorhidrato antes de agregarlo al líquido iónico, y aunque en este caso la señal del H2 no desapareció y se observó un singulete (δ=3.84, s, 4H) que podría pertenecer al producto esperado, también se recuperó la TEA (espectro verde, Figura 3.14), posiblemente en su forma de clorhidrato, que no fue posible separar del producto.

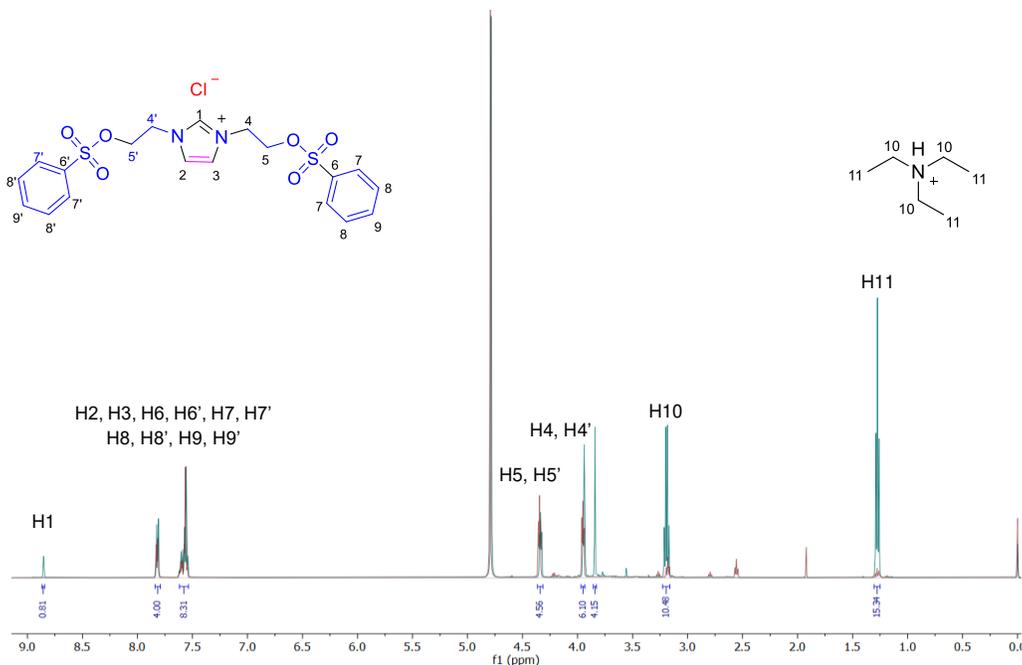


Figura 3.14 Espectro de RMN de ^1H en D_2O de la reacción de sustitución nucleofílica.

Para llevar a cabo la reacción se probaron otras bases inorgánicas, como NaOH , LiOH y KOH se alargó el tiempo de reacción y se aumentó la temperatura. Sin embargo, no fue posible obtener el producto deseado por lo que se procedió a realizar pruebas con diversas aminas heterocíclicas (Figura 3.15).

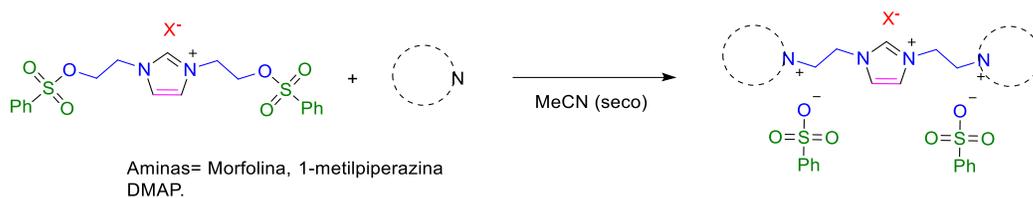


Figura 3.15 Reacción de sustitución nucleofílica del grupo sulfonato mediante diversas aminas heterocíclicas.

Los resultados de la reacción fueron en un principio muy similares a los obtenidos anteriormente, con algunas aminas se observaba la desaparición del H2 del imidazolio a la vez que en algunos casos como en la reacción con la 1-metilpiperazina, los espectros de RMN (Figura 3.16) indicaban que se estaba llevando a cabo una reacción incompleta o una monosustitución de los sulfonatos en la materia prima. La reacción se llevó a cabo en atmósfera de N_2 entre el LI activado y la amina. Las señales correspondientes a la materia prima en 2.45, 2.85 y 3.23 ppm mostraron que la amina se encuentra en menor proporción, que corresponde a la sustitución de un sulfonato, sin embargo, no se observan desplazamientos químicos correspondientes a una molécula asimétrica, aunque esto podría deberse a las interacciones moleculares entre los productos.

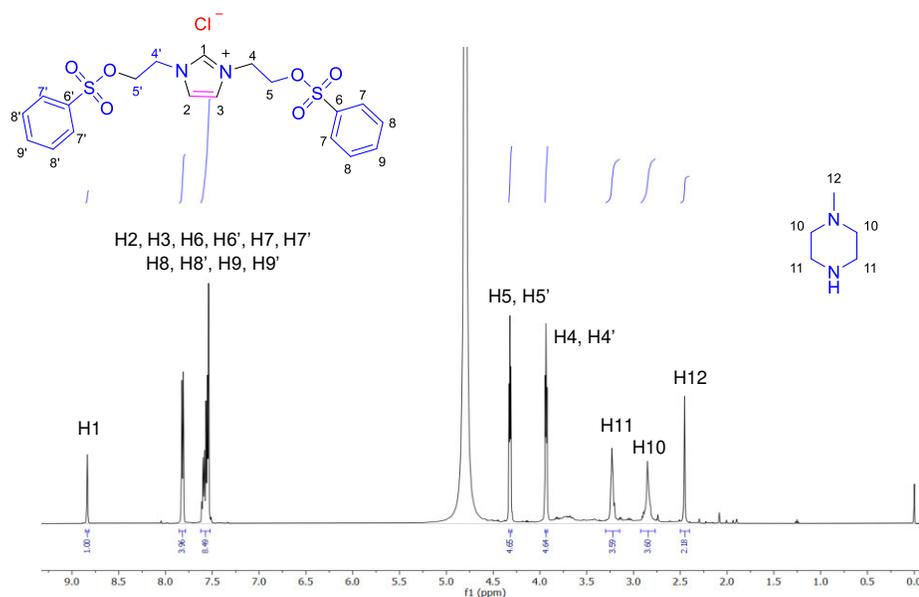


Figura 3.16 Espectro de RMN de ^1H en D_2O de la reacción de sustitución nucleofílica con 1-metilpiperazina y **6b**. Las señales en 2.45, 2.85 y 3.23 ppm corresponden a la 1-metilpiperazina. Las señales en 3.8-4.3 y 7.5-8.75 corresponden al líquido iónico **6b**.

El comportamiento que se estaba observando podría deberse a la propiedad de los líquidos iónicos de formar carbenos N-Heterocíclicos (NHC), pues su formación está reportada normalmente con el uso de bases fuertes como *t*-BuOK, NaH, pero en otros solventes, el K_2CO_3 y bases con un pKa entre 8-9 son suficientes para llevar la formación del carbeno¹¹². El hecho de que se forme este carbeno podría afectar el curso de la reacción pues distintos procesos estarían en competencia y podría explicar porque no se llevaba a cabo la sustitución nucleofílica en presencia de bases debido a que las aminas también pueden actuar como bases y en solventes como acetonitrilo, la basicidad de las aminas es mayor que en agua.¹¹³ Un suceso más que podría estar ocurriendo sería la hidrólisis del carbeno NHC libre por la presencia de moléculas de H_2O que podrían encontrarse en el LI si no se secó adecuadamente (Figura 3.17D).

Para corroborar las propuestas se realizaron dos experimentos, el primero para determinar si existía la posibilidad de la formación del carbeno en este tipo de líquidos iónicos al agregar base, como se realizó anteriormente en el grupo de investigación¹¹⁴ y un aldehído al medio para aislar identificar el intermediario de Breslow (Figura 3.17C)¹¹⁵ y el segundo experimento para determinar si se puede llevar a cabo una eliminación del sulfonato al utilizar una base fuerte (Figura 3.17B).

¹¹² Aggarwal, V. K., Emme, I., Mereu, A. Unexpected side reactions of imidazolium-based ionic liquids in the base-catalysed Baylis-Hillman reaction. *Chem. Commun.* 1612–1613 (2002) doi:10.1039/B203079A.

¹¹³ Hall, H. K. Correlation of the Base Strengths of Amines. *J. Am. Chem. Soc.* 79, 5441–5444 (1957).

¹¹⁴ López, F. I. Líquidos Iónicos: Síntesis y Estudio de su Aplicación en Reacciones Químicas. (Universidad de Guanajuato, 2022).

¹¹⁵ Rehbein, J., Ruser, S.-M. & Phan, J. NHC-catalysed benzoin condensation – is it all down to the Breslow intermediate? *Chem. Sci.* 6, 6013–6018 (2015).

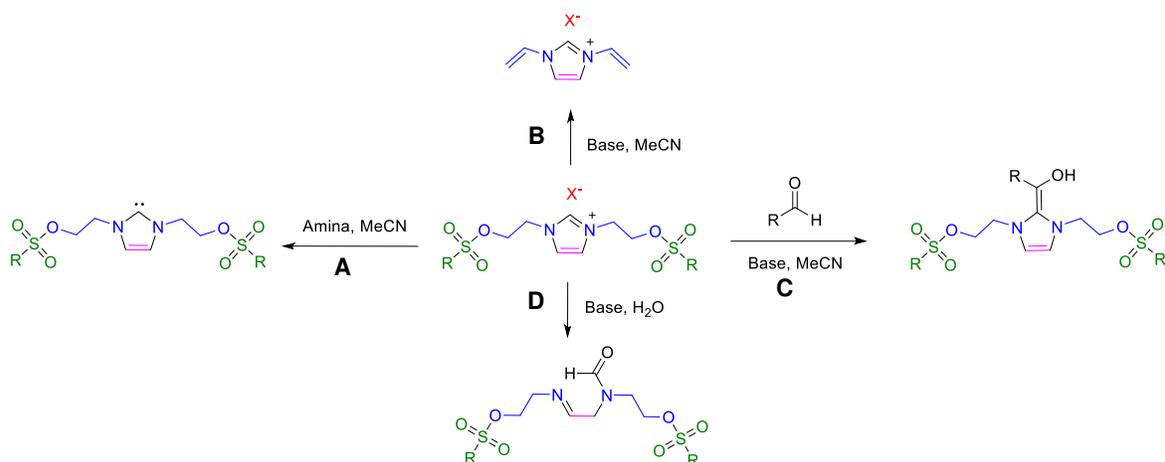


Figura 3.17 Posibles reacciones de los líquidos iónicos en presencia de bases. A) La amina puede actuar como base llevando a la formación del carbeno NHC. B) El uso de un base fuerte permitiría llevar a cabo una reacción de eliminación del grupo sulfonato. C) Al formar el carbeno a partir del líquido iónico por la abstracción del H2 del imidazolio mediante una base y en presencia de un aldehído se puede obtener el intermediario de Breslow. D) Los carbenos NHC libres se pueden hidrolizar.

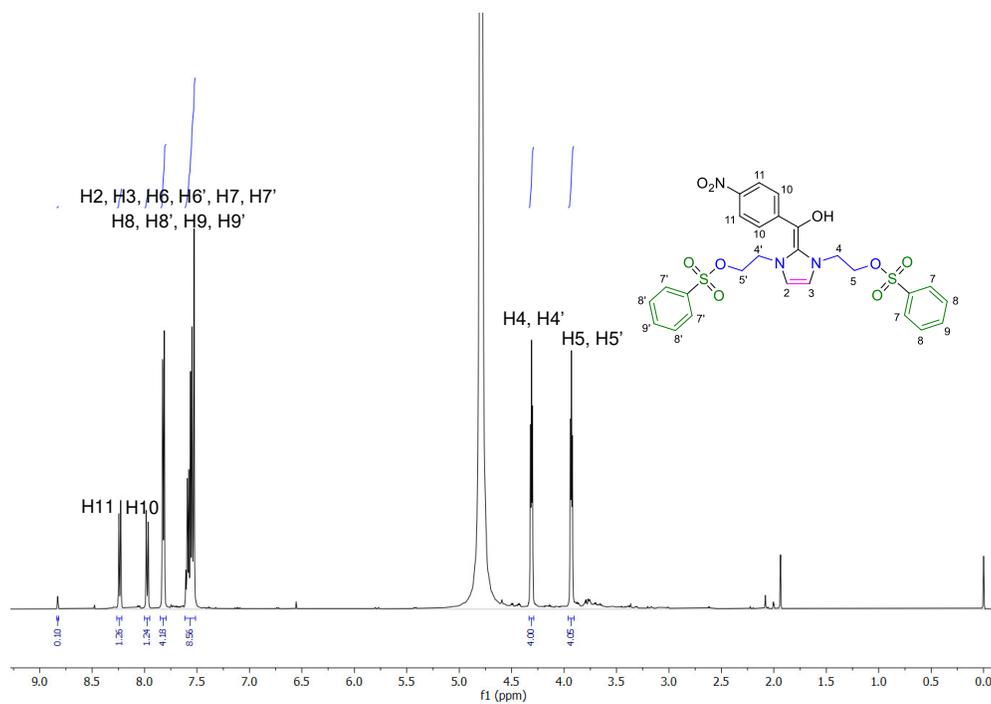


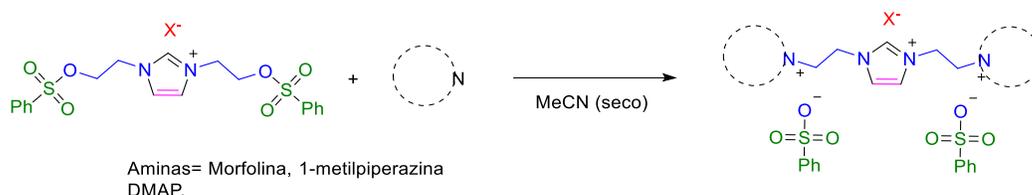
Figura 3.18 Espectro de RMN de ¹H en D₂O del intermediario de Breslow.

Después de analizar la RMN de la reacción de **6b** en presencia de K_2CO_3 y *p*-nitrobenzaldehído se encontró que la integral correspondiente al H2 en 8.83 ppm del imidazolio disminuyó su intensidad considerablemente y se observó claramente la señal correspondiente al sistema AA'-BB' del aldehído de 7.97 a 8.24 ppm (Figura 3.18). Cabe destacar que las integrales correspondientes a los protones del aldehído no corresponden a la formación completa del producto, sino a un 60% de conversión aproximadamente, no obstante, esto comprueba que en este tipo de líquidos iónicos la formación de un carbeno NHC es posible, finalmente, el hidrogeno del aldehído no fue detectado.

En el segundo experimento, se observó que el H2 del imidazolio tuvo un desplazamiento a campo alto de 8.83 ppm a 8.48 ppm además de que su integral disminuyó hasta 0.28 H con respecto a la materia prima y en la zona de 2.8 a 3.8 ppm se encontraron más tripletes que podrían corresponder a metilenos, aunque se podría sospechar de un intercambio de contraión de Cl^- por *t*-BuO $^-$, también podría existir la posibilidad de la apertura del anillo, sin embargo, la señal esperada del doble enlace no se observó. Estos resultados indican que el producto de eliminación no se forma, pero son necesarias más pruebas para determinar lo que está sucediendo.

Con base en los resultados obtenidos, se procedió a secar los líquidos iónicos **6a-e** en las mismas condiciones mencionadas, pero por un tiempo de 7 días y posteriormente se llevó a cabo la síntesis de los LITL a partir de aminas heterocíclicas llegando a los productos deseados (Tabla 3.9).

Tabla 3.9 Líquidos iónicos tricatiónicos lineales sintetizados.



Producto	Líquido iónico	Amina	Solvente	t (h)	Rend. ^a (%)
7a	6b	Morfolina			76
7b	6b	1-Metilpiperazina			89
7c	6b	DMAP	MeCN	24	48
7d	6d	Morfolina			74
7e	6e	1-Metilpiperazina			77

^aRendimiento después de purificación y secado.

Los líquidos iónicos tricatiónicos lineales obtenidos (Figura 3.19) fueron mucho más viscosos que sus precursores⁹⁸, los rendimientos fueron de bajos a buenos y la solubilidad fue similar a sus precursores. Además de la síntesis se realizó un análisis de sus propiedades fisicoquímicas, las cuales se discutirán más adelante.

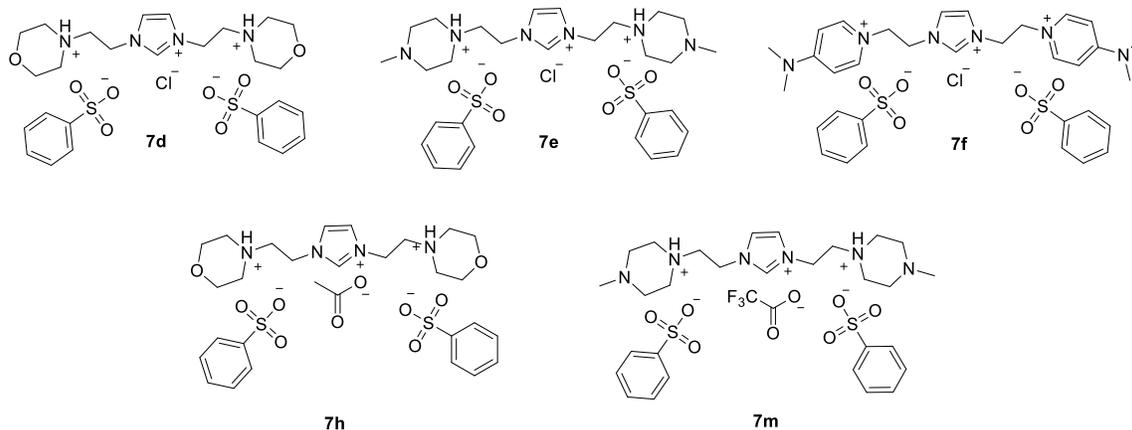


Figura 3.19 Líquidos iónicos tricatiónicos lineales sintetizados.

3.6 Síntesis del núcleo de imidazolio con aminoácidos y derivados

Debido a que la síntesis de los LITL derivados de aminoácidos no se completó, se procedió con la síntesis de los LIs incorporando los aminoácidos directamente al anillo de imidazol para sintetizar a partir de estos los ácidos hidroxámicos correspondientes a la serie B, propuesta al inicio. La síntesis se inició con el clorhidrato de glicinato de metilo siguiendo la metodología descrita por López, 2022, en la que se indica que el clorhidrato es suficiente para catalizar la formación del producto (Figura 3.20). Sin embargo, el producto se encontró en forma de ácido carboxílico y no de éster como se esperaba.¹¹⁴ Se probaron las condiciones establecidas para la síntesis y la reacción se monitoreó por CCF, aunque la materia prima no se consumió por completo los productos correspondientes a los clorhidratos de β -alaninato de etilo y el 6-aminohexanoato de metilo no se aislaron (Tabla 3.10).

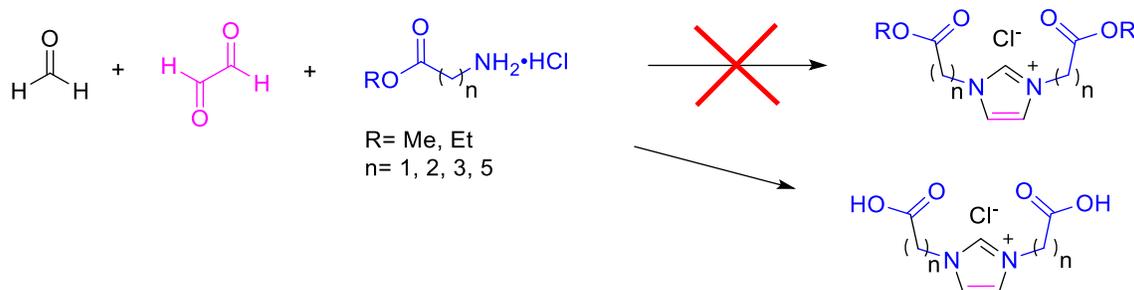


Figura 3.20 Síntesis del núcleo de imidazolio a partir de ésteres de aminoácidos.

Tabla 3.10 Síntesis del núcleo de imidazolio a partir de ésteres de aminoácidos.

Entrada	R'	n	Solvente	Tiempo (h)	Rendimiento (%)
1	Me	1	Agua	24	56
2	Et	2			NA ^a
3	Me	3			49
4	Me	5		NA	
5	Me	1		72	54
6	Et	2		96	NA

^aNo aislado.

En la literatura, estructuras muy relacionadas fueron reportadas por Esposito *et. al* en 2013, en su estudio utilizaron 6 equiv de AcOH como catalizador de la reacción, y diversos aminoácidos libres para la síntesis de núcleo de imidazolio reportando estructuras de tipo zwitterion, debido a que el ácido acético no es suficientemente fuerte para protonar el carboxilato que se forma. Esto explicaría la obtención de sólidos en lugar de líquidos, no obstante, en su estudio menciona que las moléculas se pueden considerar precursores de LIs ya que al adicionar un ácido suficientemente fuerte como el TsOH o el CF₃SO₃H es posible protonar el carboxilato y tener a la base conjugada como contraión formando así un líquido iónico.⁹⁶

Dada la información en la literatura se modificó la ruta de síntesis, primero realizando una hidrólisis ácida de los ésteres para obtener el clorhidrato del aminoácido y posteriormente probando la metodología reportada (Figura 3.21A). En la Tabla 3.11 se muestran los resultados obtenidos, adicionalmente se hicieron pruebas para obtener los precursores de líquidos iónicos con alanina, metionina, fenilalanina, tirosina e histidina (Figura 3.21B).

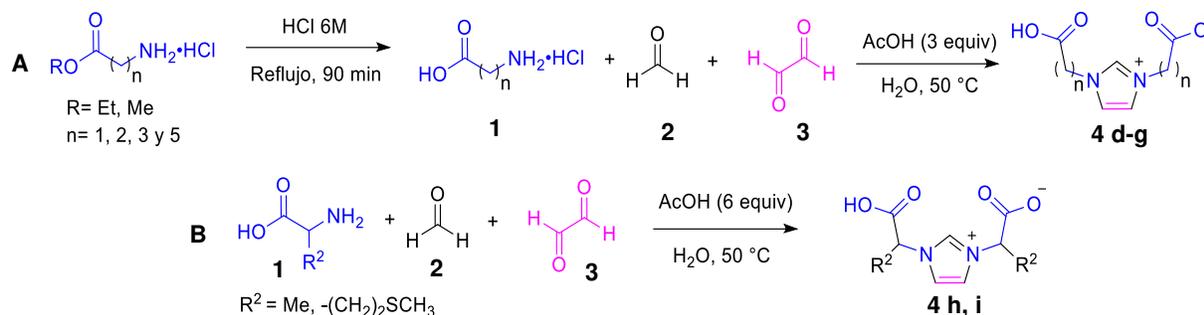
**Figura 3.21** Síntesis del núcleo de imidazolio a partir de aminoácidos.

Tabla 3.11 Síntesis del núcleo de imidazolio a partir de aminoácidos.

Producto	R	n	R ²	Solvente ^a	Tiempo (h)	Rendimiento (%)
4d	Me	1	-			51
4e	Et	2	-			25
4f	Me	3	-			49
4g	Me	5	-			57
4h	-	-	Me	Agua	24 h	52
4i	-	-	(CH ₂) ₂ SCH ₃			48
4j	-	-	C ₆ H ₅			NA ^b
4k	-	-	4OHC ₆ H ₄			NA
4l	-	-	4CH ₂ Im			NA

^aEl calentamiento se realizó a 50 °C; ^bNo aislado

Los rendimientos estuvieron cerca del 50%, esto puede deberse a su alta polaridad, pues el sistema *i*-PrOH:AcOEt utilizado para inducir la cristalización podría estar solubilizando aún parte del producto aunado a que en ningún caso se consumió por completo la materia prima, por lo tanto se analizaron las aguas madre del producto **4g** el espectro de RMN ¹H reveló que aún resta materia prima y producto sin cristalizar (Figura 3.22). Todos los productos tuvieron un punto de fusión >100 °C por lo que no pueden ser considerados líquidos iónicos por definición.

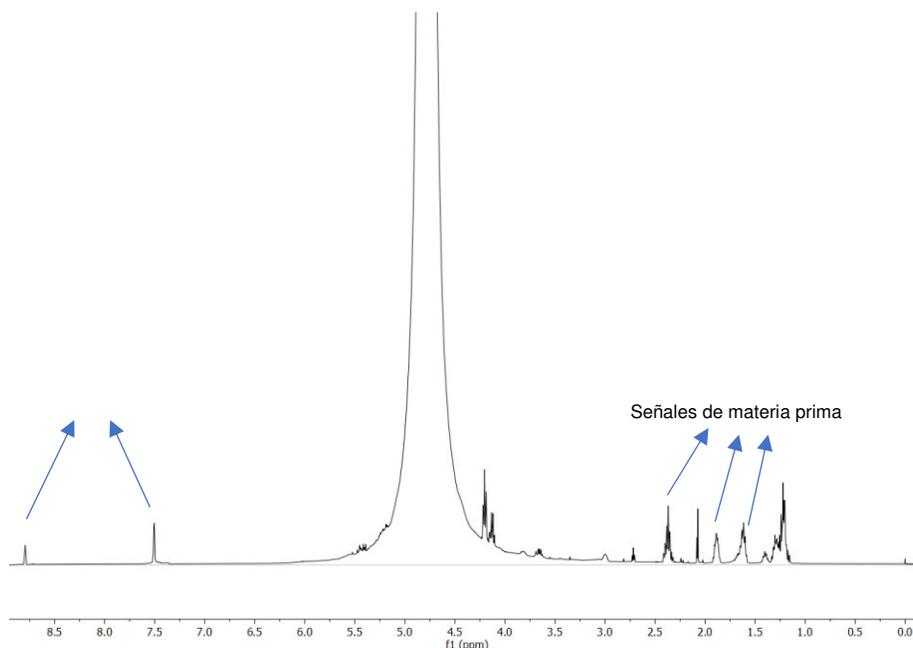


Figura 3.22 RMN ¹H en D₂O de las aguas madre de la cristalización de **4g**.

En el caso de **4j** y **4k** el aminoácido no se solubilizó durante la reacción y el crudo de reacción no se pudo analizar. El caso de **4l** fue particular ya que se obtuvo un sólido café que al analizarse por RMN ^1H se encontró un espectro que corresponde a una estructura diferente a la esperada. En la literatura se reporta que los aminoácidos nucleofílicos pueden reaccionar con el formaldehído para dar lugar a hemiacetales y llevar a la formación de estructuras cíclicas. La histidina puede reaccionar en condiciones ácidas (pH 6) para dar un producto mayoritario que consiste en el ataque nucleofílico al aldehído por la amina y el $\text{N}\epsilon$, formando el ácido 5,6,7,8-tetrahidroimidazol[1,5-c]pirimidin-7-carboxílico¹¹⁶ (Figura 3.23)

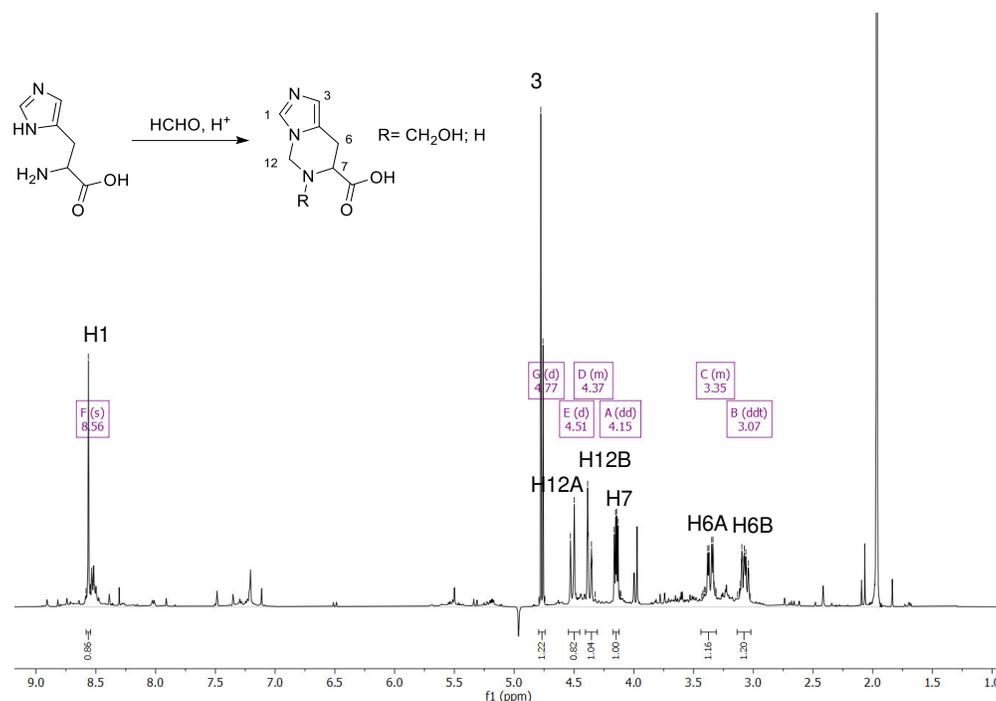


Figura 3.23. Espectro de RMN de ^1H en D_2O crudo de reacción de **4l**. Se observan las señales que corresponden al producto policíclico derivado de la His. Se corrió un experimento de supresión de agua (4.78 ppm).

Para comprobar que los productos **4d-i** pueden considerarse precursores de LIs se realizó una prueba suspendiendo el producto **4d** en ACN y se añadió el TsOH (Figura 3.24), se monitoreó la reacción durante 76 h a 50 °C pero no se observó un cambio significativo, al filtrar el sólido no disuelto y evaporar el solvente quedó un líquido que no solidificó a pesar de hacer un secado intensivo. La RMN ^1H indicó (Figura 3.25) las señales del imidazolio se encuentran presentes, pero las señales correspondientes al TsOH indican que este se encuentra en una mayor proporción (4:1) con respecto al imidazolio y podría explicar porque se observó una formación

¹¹⁶ Kamps, J. J. A. G., Hopkinson, R. J., Schofield, C. J. & Claridge, T. D. W. How formaldehyde reacts with amino acids. *Commun. Chem.* 2, 126 (2019).

de cristales una vez que el producto se enfrió (Figura 3.25). Es necesario realizar más pruebas con diversos solventes para mejorar los resultados.

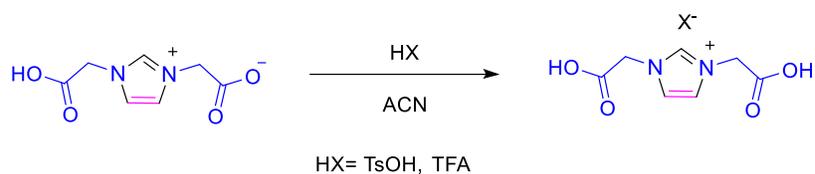


Figura 3.25. Síntesis de líquidos iónicos a partir de los precursores zwitteriónicos de aminoácidos.

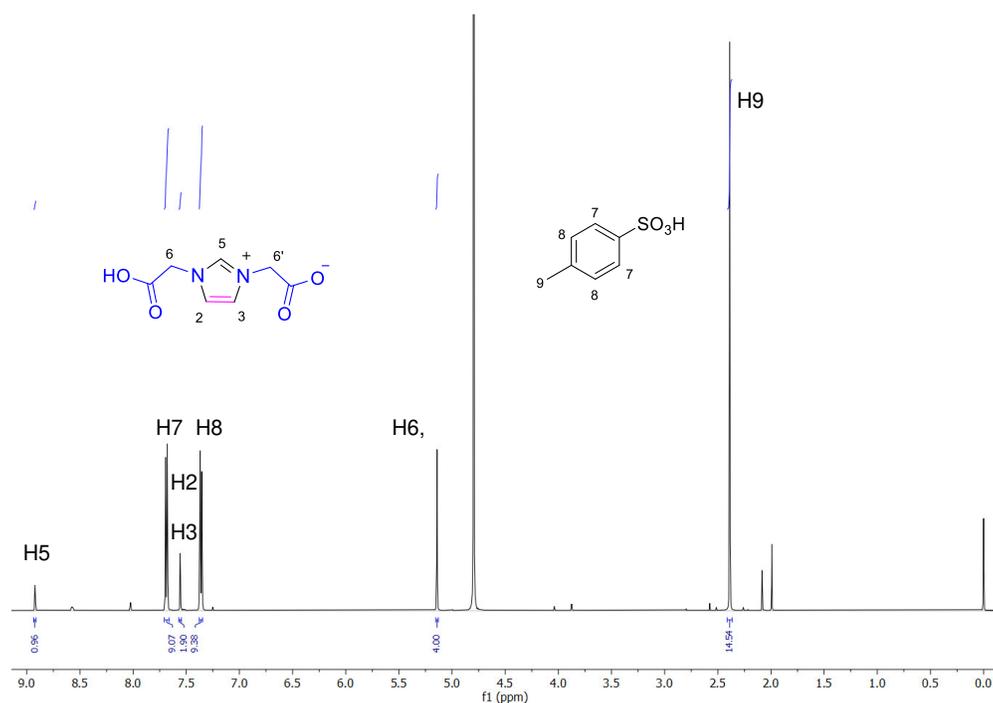


Figura 3.25 Espectro de RMN de ^1H en D_2O crudo de reacción de **4d** con TsOH.

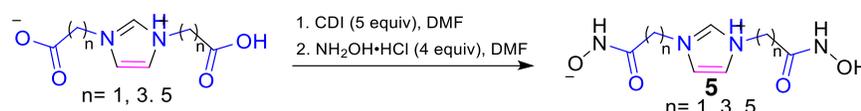
3.7 Síntesis de ácidos *bis*-hidroxámicos a partir de los precursores de líquidos iónicos

Para continuar con el proceso de síntesis se realizaron pruebas con los productos **4d**, **4f** y **4g**, para transformarlos a los ácidos hidroxámicos realizando una reacción de amidación con un reactivo acoplante.¹⁰¹ Debido a la alta polaridad del material de partida se hicieron pruebas en diferentes solventes, siendo la DMF ideal para disolver todos los reactivos además de que en el caso del DMSO, no se logró separar el producto de la disolución y al usar DCM o ACN la materia prima no se disolvió. El CDI fue el reactivo acoplante de elección debido a que puede

autocatalizar la reacción sin necesidad de agregar una base y se puede usar con $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ o con hidroxilamina en solución acuosa dando buenos rendimientos.¹¹⁷

En la Tabla 3.12 se muestran los resultados obtenidos, cabe destacar que el curso de la reacción no se logró monitorear por CCF y su análisis por RMN era complicado debido al alto punto de ebullición de la DMF para retirarse en presión reducida por lo que se decidió utilizar tiempos predefinidos de 1 h para la reacción entre el CDI y la materia prima y 16 h para la reacción posterior a la adición de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ ¹¹⁸, aunque el monitoreo fue complicado la prueba con FeCl_3 permitió observar la presencia del producto esperado siendo positiva solo después de someter la materia prima a las condiciones de reacción.¹¹⁹

Tabla 3.12 Síntesis de ácidos *bis*-hidroxámicos por acoplamiento con CDI



Producto	n	Solvente	Prueba de FeCl_3
5a	1	DMF	Positiva
5a	1	DMSO	Positiva ^a
5a	1	CH_2Cl_2	Negativa ^b
5a	1	ACN	Negativa ^b
5b	3	DMF	Positiva
5b	3	DMSO	Positiva ^a
5c	5	DMF	Positiva

^aNo se logró separar de la solución; ^bNo se disuelve la materia prima

Al determinar la obtención del producto a través de la prueba de FeCl_3 y separarlo de la solución, el sólido resultante se disolvió en soluciones básicas (NaHCO_3 , LiOH o KOH) para tratar de liberar el clorhidrato de imidazolio y posteriormente se lavó con diferentes solventes como AcOEt , $(\text{Et})_2\text{O}$ y DCM , pero no fue posible eliminar la sal residual.

Al analizar los sólidos resultantes por RMN ^1H de producto **5b** (Figura 3.26) se observaron dos singuletes en una proporción prácticamente igual al ácido hidroxámico, que podrían corresponder al clorhidrato de imidazolio en 7.45 y 8.55

¹¹⁷ Usachova, N., Leitis, G., Jirgensons, A. & Kalvinsh, I. Synthesis of Hydroxamic Acids by Activation of Carboxylic Acids with $\text{N,N}'$ -Carbonyldiimidazole: Exploring the Efficiency of the Method. *Synth. Commun.* 40, 927–935 (2010).

¹¹⁸ Vaidyanathan, R., Kalthod, V. G., Ngo, D. P., Manley, J. M. & Lapekas, S. P. Amidations Using $\text{N,N}'$ -Carbonyldiimidazole: Remarkable Rate Enhancement by Carbon Dioxide. *J. Org. Chem.* 69, 2565–2568 (2004).

¹¹⁹ Massaro, A., Mordini, A., Reginato, G., Russo, F. & Taddei, M. Microwave-Assisted Transformation of Esters into Hydroxamic Acids. *Synthesis (Stuttg.)* 2007, 3201–3204 (2007).

ppm, además de que hay un ligero desplazamiento a campo alto del triplete adyacente a la amida de 2.46 a 2.24 ppm. Al revisar el espectro de ^{13}C (Figura 3.27) la señal correspondiente al carbono carbonílico tuvo un desplazamiento a campo alto de 177.56 ppm a 171.26 ppm en el producto, este comportamiento fue observado también para **5a** y **5c**. Cabe destacar que no se observó otra señal correspondiente a un carbonilo por lo que se puede asumir que la conversión fue completa o al menos se separó el compuesto deseado dejando evidencia de que mediante las condiciones utilizadas se pueden obtener los ácidos *bis*-hidroxámicos, aunque se deben buscar otras estrategias para la purificación de los productos y realizar pruebas subsecuentes con diversos ácidos para convertirlos en sus respectivos líquidos iónicos.

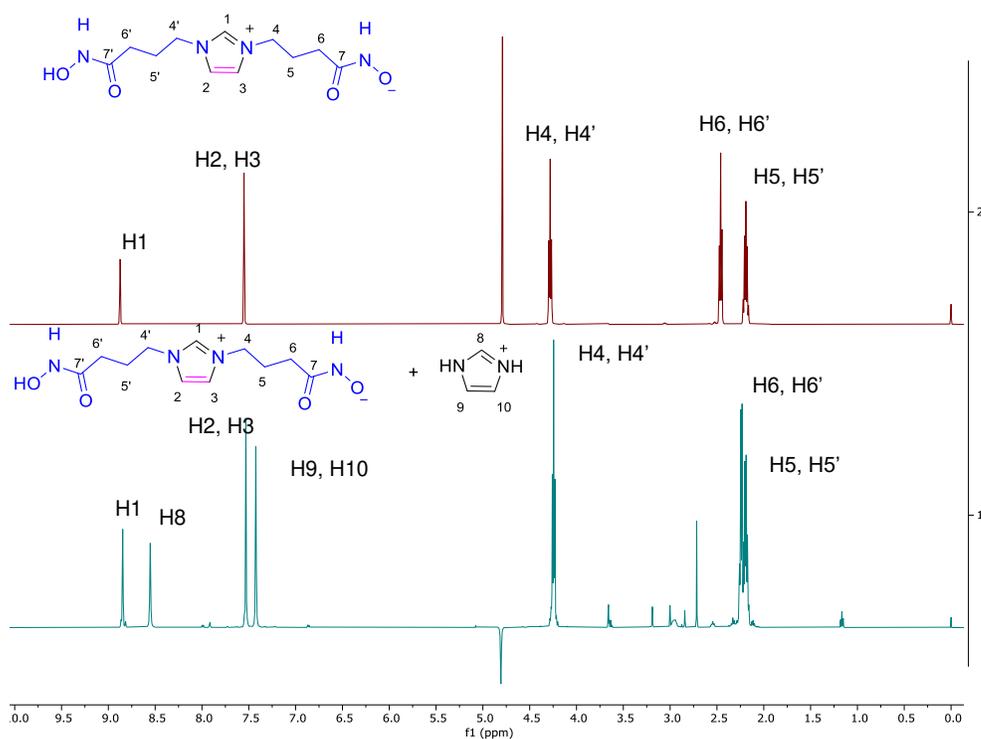


Figura 3.26 Espectro de RMN de ^1H en D_2O del producto **5b**. En verde se muestra el espectro de la materia prima, en marrón el espectro del producto **5b**.

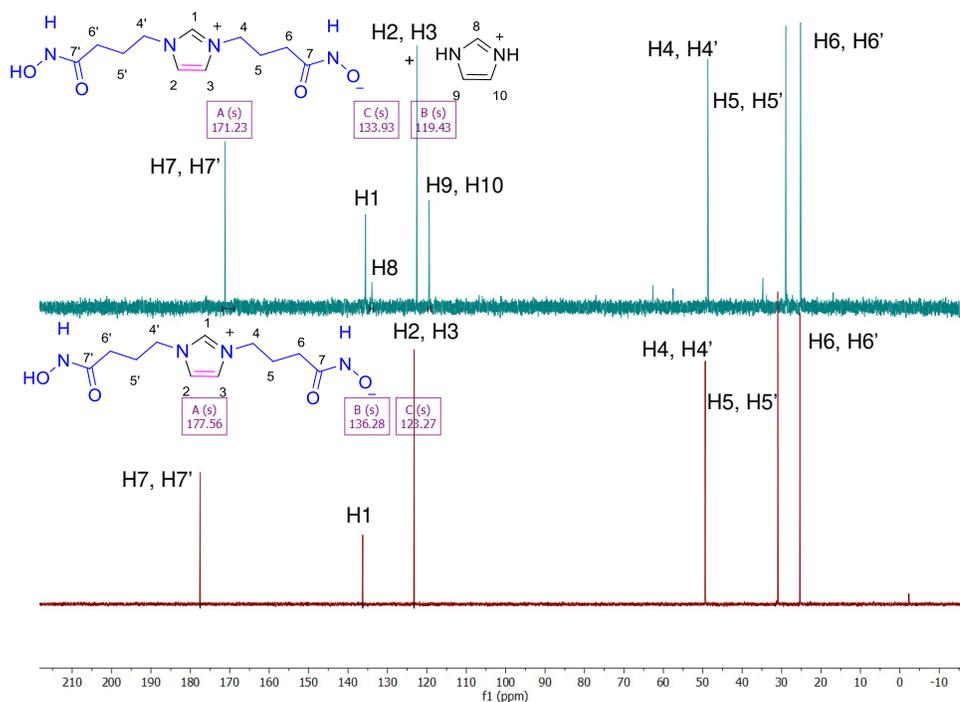


Figura 3.27 Espectro de RMN de ^{13}C en D_2O comparativo de materia prima **4f** y producto **7b**. A) Producto **7b**, el carbono carbonílico se observa en 171.23 ppm, presenta un claro desplazamiento a campo alto sin la presencia de señales que indiquen la presencia del ácido carboxílico. Se observan las señales correspondientes al clorhidrato de imidazolio en 119.43 y 133.93 ppm. B) Precursor **4f**, el carbono carbonílico se observa en 177.56 ppm. Las señales del imidazolio aparecen en 123.27 y 136.28 ppm

En otro intento para obtener los productos deseados se planteó la transformación de los ésteres de aminoácidos a su correspondiente ácido hidroxámico⁹⁹ y posteriormente someterlo a la reacción de síntesis del núcleo de imidazolio, realizando una prueba con el clorhidrato de β -alaninato de etilo. Llevar a cabo la reacción monitorear la reacción por CCF y obtener un resultado positivo para la prueba de FeCl_3 los análisis por RMN indicaban que la conversión no se completaba, sin embargo, separar los subproductos de reacción sería muy difícil por lo que el sólido obtenido se sometió a las condiciones de la reacción de Debus-Radziszewski. Sorpresivamente luego de 24 h de reacción el crudo de reacción arrojaba una prueba de FeCl_3 negativa y en la RMN ^1H no se observaron las señales características del imidazolio, por lo que al realizar una revisión de literatura se encontró que los ácidos hidroxámicos pueden protegerse mediante una reacción de transcetalización para la formación de 1,2,4-dioxazoles en medio ácido¹²⁰, condiciones muy similares en las que se realiza la reacción para obtener el producto deseado. Por lo tanto, se realizó un experimento añadiendo un exceso de

A

¹²⁰ ohann, T., Keth, J., Bros, M. & Frey, H. A general concept for the introduction of hydroxamic acids into polymers. Chem. Sci. 10, 7009–7022 (2019).

B

formaldehído con AcOH al ácido hidroxámico para tratar de identificar las señales del producto B (Figura 3.28)

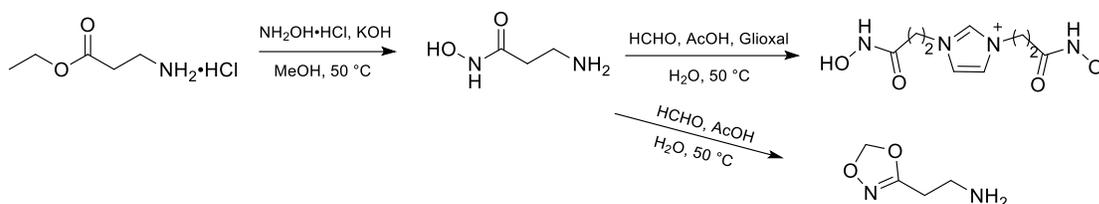


Figura 3.28 Ruta sintética propuesta para la obtención del núcleo de imidazolio a partir de un ácido hidroxámico. A) Síntesis del ácido hidroxámico a partir de ésteres y su posterior reacción en condiciones de Debus-Radziszewski para la síntesis del imidazolio. B) Reacción de ácido hidroxámico para la formación de un 1, 2, 4-oxazol utilizando HCHO.

El espectro de RMN ^1H del crudo de reacción del ácido hidroxámico con HCHO en medio ácido (Figura 3.28B) mostró diversas señales en la zona alquílica y de dobles enlaces, pero no una señal característica del producto esperado (Figura 3.29), por lo que podrían estar sucediendo muchas reacciones secundarias durante el proceso, a pesar de esto, esta reacción podría utilizarse para transformar el ácido hidroxámico en un oxazol, separarlo del ácido carboxílico que podría formarse en la reacción de síntesis y someterlo a las reacciones de Debus-Radziszewski para la obtención del núcleo de imidazolio.

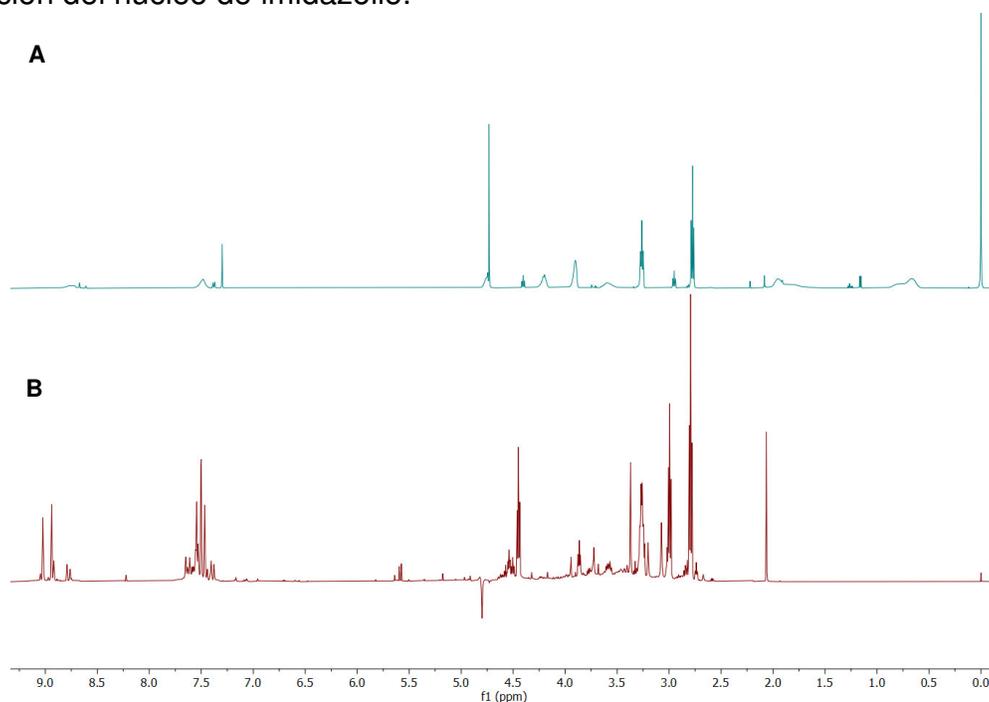


Figura 3.29 Espectro de RMN de ^1H en D_2O con supresión de agua de la reacción del ácido hidroxámico con aldehído. A) Reacción en condiciones de Debus-Radziszewski con ácido hidroxámico. B) Reacción del ácido hidroxámico con HCHO en medio ácido (AcOH). Espectro con supresión de agua.

Finalmente, como resultado de la síntesis de LITL se obtuvieron los productos 8a-e, con los cuales se completó una serie de 19 LITL (Figura 3.30) que fueron analizados para determinar su contenido porcentual de agua a diferentes tiempos de secado y se realizó un análisis termogravimétrico (TGA) para conocer su estabilidad térmica.

3.8 Estudios de las propiedades fisicoquímicas de los LITL 7 a-s

Para la determinación del contenido de agua mediante el método de Karl-Fischer, se realizó un secado a presión reducida en presencia de P_2O_5 durante 15 y 30 días, los resultados se muestran en la Tabla 3.13. Se puede observar que ya una diferencia en el contenido de agua en el LI y en algunos casos se observó una reducción de poco más de 4 veces (**4a**) en el porcentaje de agua después de 30 días de secado. Conocer y reducir el contenido de agua en los líquidos iónicos es importante para la determinación de sus propiedades fisicoquímicas pues se sabe que afecta directamente a la densidad y viscosidad, siendo esta última también dependiente de la temperatura a la que se realice la medición.⁹⁸

El intervalo de porcentaje de humedad varió 2.1 a 4.3% durante el secado en 15 días y de 0.5 a 2.2% durante el secado por 30 días. Estas estructuras son higroscópicas y pueden hidratarse de manera rápida durante su exposición al ambiente durante las primeras 3h llegando hasta porcentajes de 4-5% de humedad y aumentar su contenido de agua de manera sostenida durante algunos días (Anexo, Figura A71 y A72).

En cuanto a su estabilidad térmica el TGA (Figura 3.31) y el DTG (Figura 3.32) fueron realizados y a partir de estos se obtuvieron los parámetros de estabilidad térmica: T_{onset} (temperatura a la que inicia la descomposición de la molécula), T_{offset} (temperatura a la que termina la descomposición) y T_{MAXDTG} (temperatura a la cual la descomposición alcanza el valor más alto), además se obtuvieron las pérdidas de % masa que son indicativas de diversos procesos de descomposición¹²¹.

El TGA mostró que todos los líquidos iónicos tienen un comportamiento similar comenzando con una ligera pérdida de masa, que puede corresponder a la evaporación del agua contenida, seguida por una pérdida de masa importante que no termina en una pérdida total, por lo que se puede esperar la presencia de subproductos una vez que termina la descomposición.

Al analizar el DTG se puede ver la presencia de diversos picos, lo que es indicativo de diversos procesos de descomposición. Generalmente la descomposición de los líquidos iónicos con núcleo de imidazolio se lleva por el ataque nucleofílico del

¹²¹ Xu, C. & Cheng, Z. Thermal Stability of Ionic Liquids: Current Status and Prospects for Future Development. Processes 9, 337 (2021).

contraíón hacia una de las cadenas alquílicas¹²² (el proceso inverso de la síntesis mediante sustitución nucleofílica de líquidos iónicos), pero esto se vería reflejado en pérdidas de masa bien definidas. No obstante, en un estudio realizado por Vieira *et al.* en 2021, mediante un análisis de HRMS de los TGA de líquidos iónicos dicatiónicos proponen otros mecanismos de descomposición de LI basados en imidazolio como la formación de carbenos NHC por abstracción del H₂ del imidazol y productos de eliminación por abstracción de un H por parte del contraíón.¹²³ Aunque esto es una posibilidad se requiere de un estudio más a fondo para determinar los mecanismos de descomposición de estos LITL.

¹²² Hallett, J. P. & Welton, T. Room-Temperature Ionic Liquids: Solvents for Synthesis and Catalysis. 2. Chem. Rev. 111, 3508–3576 (2011).

¹²³ Vieira, J. C. B., Villetti, M. A. & Frizzo, C. P. Thermal stability and decomposition mechanism of dicationic imidazolium-based ionic liquids with carboxylate anions. J. Mol. Liq. 330, 115618 (2021).

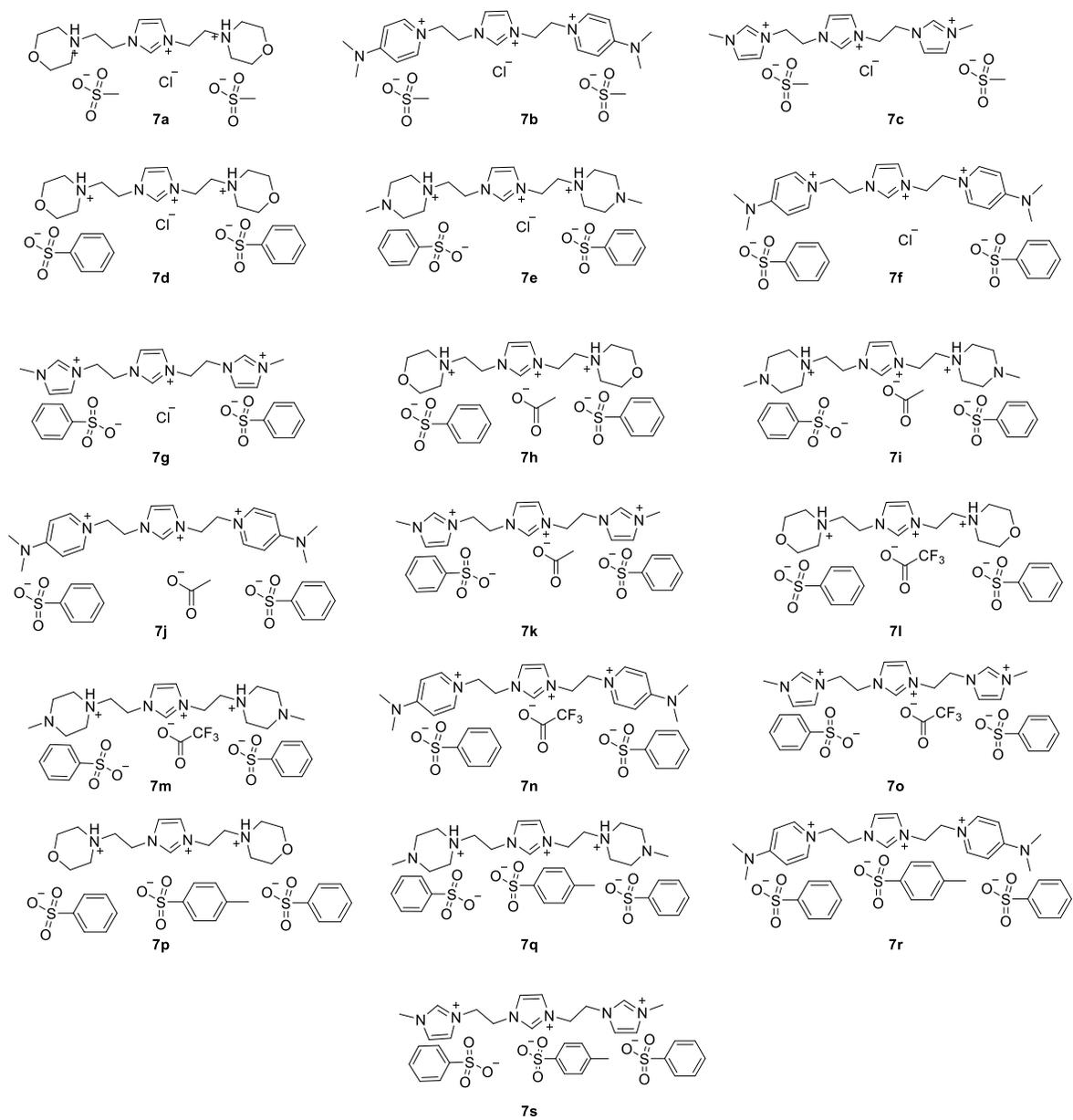


Figura 3.30 LITL sintetizados y analizados por TGA y Karl-Fischer para determinación de propiedades térmicas y contenido de agua.

Tabla 3.13 Promedio porcentual de agua contenida en los LITL después de secado durante 15 y 30 días.

Producto	% H ₂ O	
	15 días	30 días
7a	4.2717 ± 0.3253	0.7852 ± 0.0159
7b	3.7994 ± 0.1860	1.3420 ± 0.2654
7c	3.2027 ± 0.2260	2.2370 ± 0.2641
7d	2.1114 ± 0.4400	0.3543 ± 0.1015
7e	2.5857 ± 0.3041	0.7923 ± 0.0776
7f	3.1340 ± 0.2496	1.1538 ± 0.1238
7g	3.3652 ± 0.1267	0.8614 ± 0.1966
7h	2.7975 ± 0.2831	0.6726 ± 0.1394
7i	2.5391 ± 0.3120	0.6264 ± 0.2851
7j	3.5115 ± 0.1694	1.7045 ± 0.0841
7k	2.5728 ± 0.1492	0.4990 ± 0.1001
7l	2.0881 ± 0.4624	1.1901 ± 0.3218
7m	3.0939 ± 0.1940	0.7628 ± 0.1444
7n	2.2556 ± 0.3817	1.1950 ± 0.2047
7o	2.2935 ± 0.2879	1.9220 ± 0.2410
7p	2.1908 ± 0.3175	0.7732 ± 0.6026
7q	2.1042 ± 0.2521	1.0332 ± 0.1273
7r	2.1042 ± 0.2521	0.7187 ± 0.0844
7s	3.8365 ± 0.3890	0.8234 ± 0.0905

El análisis de los datos obtenidos del TGA/DTG (Tabla 3.14) arrojó un comportamiento similar en las muestras con una pérdida de masa va desde 12.89 – 31.19 % con un promedio de 21.09%, aproximadamente una quinta parte de la masa antes de alcanzar la T_{onset} que se encuentra en el rango de 280.6 – 353.5 °C con una media de 328.8 °C. La T_{MAXDTG} tuvo un promedio de 371.3 °C, con un rango de 352.0 a 385.5 °C. Desde la T_{onset} hasta T_{offset} se produjo una pérdida del 50.65 % en promedio. Las estructuras con contraiones MsO^- (**7a – 7c**) tuvieron una $T_{\text{onset}} < 300$ °C. Al comparar los contraiones AcO^- , CF_3AcO^- , TsO^- y Cl^- no se observó una influencia clara en la estabilidad térmica.

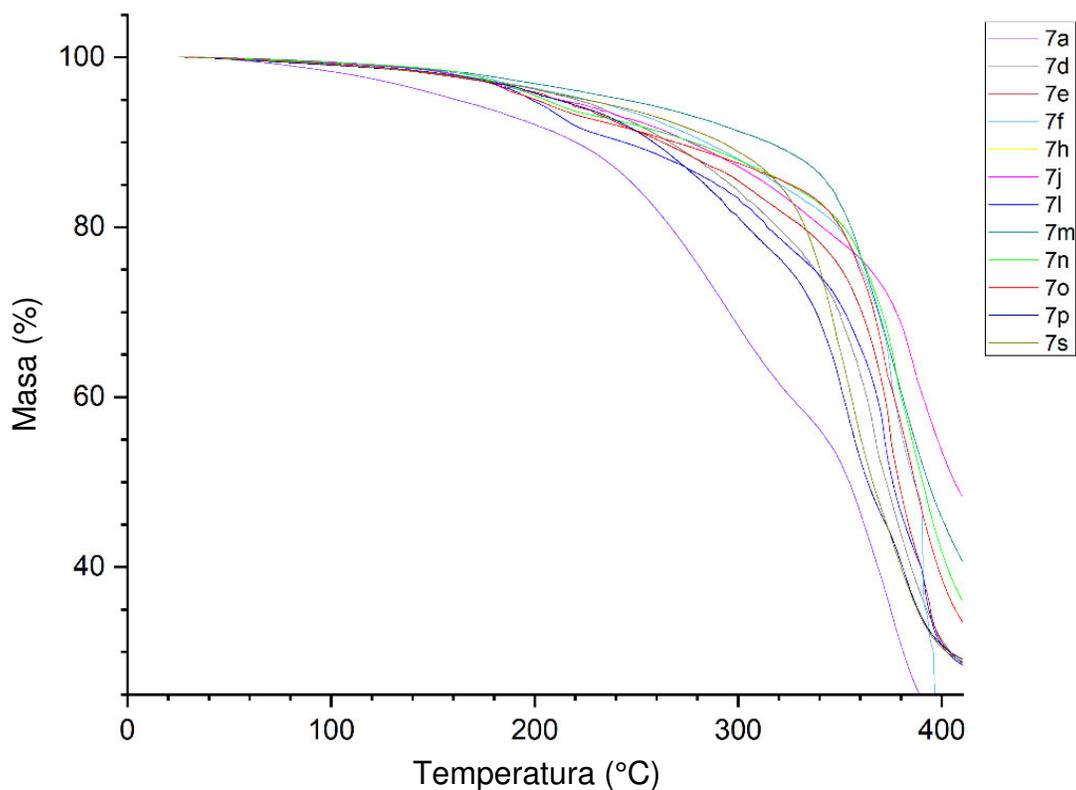


Figura 3.31 Curvas de TGA obtenidas para los compuestos **7a-s**.

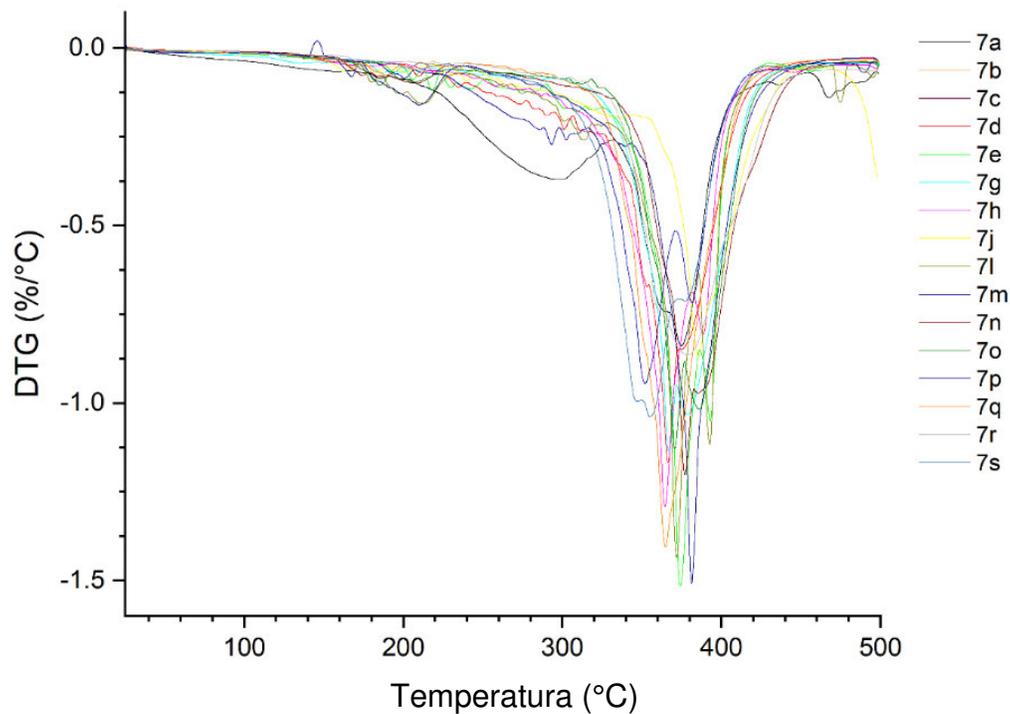


Figura 3.32 Curvas DTG calculadas para los compuestos 7 a-s

Tabla 3.14 Valores obtenidos del análisis TGA/DTG

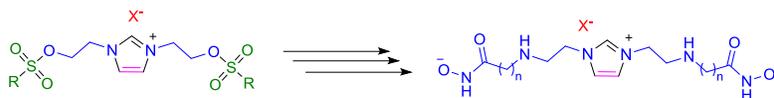
Producto	T _{onset} (°C)	T _{offset} (°C)	T _{MAXDTG} (°C)	1ra pérdida (% masa)	2da pérdida (% masa)
7a	298.3	427.1	375.0	-31.19	-52.44
7b	280.6	378.3	378.3	-20.42	-58.39
7c	290.5	426.6	377.2	-23.70	-56.07
7d	331.1	412.4	366.6	-22.99	-48.88
7e	351.2	404.0	374.2	-25.19	-49.01
7g	342.6	411.9	366.7	-19.33	-50.78
7h	338.5	402.0	364.7	-22.13	-46.82
7j	345.6	459.1	385.5	-20.76	-38.45
7l	347.4	402.9	371.8	-27.77	-42.70
7m	352.5	413.0	381.2	-25.88	-45.24
7n	350.2	422.9	377.2	-19.22	-49.73
7o	333.8	401.1	370.6	-15.95	-55.34
7p	307.7	418.4	352.0	-20.01	-50.60
7q	337.9	407.8	365.5	-15.99	-55.48
7r	335.6	448.6	379.2	-12.89	-56.75
7s	316.8	393.3	355.5	-14.05	-53.70

4. Conclusiones

- Las moléculas evaluadas por acoplamiento molecular forman interacciones tipo p-p y catión-p entre el imidazolio y las Phe que componen el túnel del sitio catalítico en las HDAC1, 6 y 8 y forman puentes de hidrógeno con los residuos del exterior de cavidad presentando modos de unión favorables como potenciales inhibidores.
- La síntesis de LIs con núcleo de imidazolio mediante la reacción de Debus-Radziszewski se ve favorecida por el uso de ácidos débiles llevando a una mayor conversión y pureza.
- La reacción de sustitución nucleofílica sobre los LIs activados con sulfonatos puede competir con reacciones de descomposición y formación de carbenos NHC.
- El uso de aminoácidos en la síntesis del catión imidazolio lleva a la formación de posibles precursores de líquidos iónicos en forma de zwitterion.
- La formación de ácidos hidroxámicos en los líquidos iónicos es posible mediante el acoplamiento con CDI, pero la alta solubilidad en agua dificulta su purificación.
- Los LITL muestran una estabilidad alta hidrofilia y estabilidad térmica favorable además abren el camino para el diseño de nuevos LITL con diversos sustituyentes.

5. Perspectivas

- Llevar a cabo la sustitución nucleofílica en las moléculas 6 a-e con diversos derivados de aminoácidos, convertirlos en ácidos hidroxámicos y estudiar sus propiedades fisicoquímicas.



- Realizar la síntesis de LIs con diversas aminas alquílicas para estudiar sus propiedades físicas y posibles aplicaciones biológicas.
- Unir aminas biológicamente activas a los núcleos de imidazolio para estudiar el cambio en sus propiedades biológicas.
- Llevar a cabo pruebas biológicas en líneas celulares de cáncer de próstata y mama de las moléculas propuestas.
- Estudiar a profundidad la presencia de diferentes contraiones sobre los efectos biológicos de las moléculas propuestas.

6. Caracterización

Cloruro de 1,3-bis(2-etanol)imidazolio [2EtOHIm]⁺[Cl]⁻ (4a)⁹⁵

Rendimiento: 50%, líquido viscoso ámbar oscuro. ¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 8.87 (s, 1H), 7.57 (s, 2H), 4.35 (t, *J* = 5.0 Hz, 4H), 3.95 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H). ¹³C NMR (125 MHz, D₂O) δ 136.1, 122.6, 59.7, 51.6.

Trifluoroacetato de 1,3-bis(2-etanol)imidazolio [2EtOHIm]⁺[CF₃CO₂]⁻ (4b)⁹⁵

Rendimiento: 59%, líquido viscoso naranja oscuro. ¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 8.86 (s, 1H), 7.56 (s, 2H), 4.35 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H), 3.96 (t, *J* = 5 Hz, 4H). ¹⁹F NMR (471 MHz, D₂O) δ -75.57. ¹³C NMR (125 MHz, D₂O) δ 162.7, 136.2, 122.7, 119.3 (c, *J* = 292.1 Hz, CF₃), 59.7, 51.6.

Acetato de 1,3-bis(2-etanol)imidazolio [2EtOHIm]⁺[COO]⁻ (4c)⁹⁵

Rendimiento: 93%, líquido viscoso ámbar oscuro. ¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 8.88 (s, 1H), 7.58 (s, 2H), 4.35 (t, *J* = 5.0 Hz, 4H), 3.96 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H), 1.95 (s, 1H). ¹³C NMR (125 MHz, D₂O) δ 181.1, 136.2, 122.7, 59.8, 51.7, 23.2.

Acetato de 2-(1-(carboximetil)-1H-imidazol-3-io-3-il) (4d)

Rendimiento: 49%, sólido beige. ¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 8.95 (s, 1H), 7.58 (s, 2H), 5.17 (s, 4H). ¹³C NMR (125 MHz, D₂O) δ 172.7, 141.2, 126.4, 53.1.

Propanoato de 3-(1-(2-carboxietil)-1H-imidazol-3-io-3-il) (4e)

Rendimiento: 25%, sólido beige. ¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 8.90 (s, 1H), 7.54 (s, 2H), 4.49 (t, *J* = 6.2 Hz, 4H), 3.00 (t, *J* = 6.2 Hz, 4H). ¹³C NMR (125 MHz, D₂O) δ 174.3, 136.5, 122.5, 45.0, 34.0.

Butanoato de 4-(1-(3-carboxipropil)-1H-imidazol-3-io-3-il) (4f)

Rendimiento 56%, sólido café claro, ¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 8.87 (s, 1H), 7.55 (s, 2H), 4.28 (t, *J* = 7.1 Hz, 4H), 2.46 (t, *J* = 6.9 Hz, 4H), 2.19 (q, *J* = 7.2 Hz, 4H). ¹³C NMR (125 MHz, D₂O) δ 176.9, 135.6, 122.6, 48.7, 30.3, 24.6.

Hexanoato de 6-(1-(5-carboxipentil)-1H-imidazol-3-io-3-il) (4g)

Rendimiento 57%, sólido beige. ¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 8.79 (s, 1H), 7.50 (s, 2H), 4.21 (t, *J* = 7.0, 1.5 Hz, 4H), 2.37 (t, *J* = 7.3, 4H), 1.89 (q, *J* = 7.4, 4H), 1.62 (q, *J* = 7.4, 4H), 1.31 (q, *J* = 7.4, 4H). ¹³C NMR (125 MHz, D₂O) δ 178.7, 135.1, 122.4, 49.3, 33.4, 28.8, 24.7, 23.5.

Propanoato de 2-(1-(1-carboxietil)-1H-imidazol-3-ilo-3-il) (4h)

Rendimiento 52%, sólido amarillo pálido. ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 9.02 (s, 1H), 7.61 (s, 2H), 5.21 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H), 1.83 (d, $J = 7.4$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (125 MHz, D_2O) δ 173.7, 135.4, 121.6, 59.0, 17.1.

Butanoato de 2-(1-(1-carboxi-3-(metiltio)propil)-1H-imidazol-3-ilo-3-il)-4-(metiltio) (4i)

Rendimiento 48%, sólido amarillo pálido. ^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 9.39 (s, 1H), 7.79 (s, 2H), 5.05 (dd, $J = 9.9, 4.1$ Hz, 2H), 2.47 – 2.25 (m, 8H), 2.02 (s, 6H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO) δ 169.55, 137.18, 122.29, 62.85, 31.68, 30.09, 14.95.

Cloruro de 1,3-bis((mesilato)etil)imidazolio [2MsOEtIm] $^+$ [Cl] $^-$ (6a)⁹⁵

Rendimiento: 56%, líquido viscoso ámbar oscuro ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 8.86 (s, 1H), 7.56 (s, 2H), 4.34 (t, $J = 5.1$ Hz, 4H), 3.94 (t, $J = 5.0$ Hz, 4H), 2.80 (s, 6H). ^{13}C NMR (125 MHz, D_2O) δ 136.2, 122.7, 59.7, 51.6, 38.4.

Cloruro de 1,3-bis((fenilsulfonato)etil)imidazolio [2PsOEtIm] $^+$ [Cl] $^-$ (6b)⁹⁵

Rendimiento: 68%, líquido viscoso ámbar oscuro. ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 8.82 (s, 1H), 7.81 (d, $J = 7.6$ Hz, 4H), 7.61 – 7.55 (m, 8H), 4.30 (t, $J = 5.0$ Hz, 4H), 3.92 (t, $J = 5.0$ Hz, 4H). ^{13}C NMR (125 MHz, D_2O) δ 145.2, 134.5, 131.9, 128.3, 125.6, 62.7, 54.6.

Cloruro de 1,3-bis((tosilato)etil)imidazolio [2TsOEtIm] $^+$ [Cl] $^-$ (6c)¹¹⁴

Rendimiento: 44%, líquido viscoso ámbar oscuro. ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 8.83 (s, 1H), 7.70 – 7.33 (dd, $J = 7.8, 156$ Hz, 8H), 7.53 (s, 2H), 4.31 (t, $J = 4.8$ Hz, 4H), 3.94 – 3.91 (t, $J = 4.8$ Hz, 4H), 2.38 (s, 6H). ^{13}C NMR (125 MHz, D_2O) δ 142.4, 139.4, 136.1, 129.4, 125.3, 122.6, 59.7, 51.6, 20.4.

Acetato de 1,3-bis((fenilsulfonato)etil)imidazolio [2PsOEtIm] $^+$ [COO] $^-$ (6d)⁹⁸

Rendimiento 90%, líquido viscoso ámbar oscuro. ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 8.75 (s, 1H), 7.80 – 7.34 (m, 12H), 4.23 (t, $J = 5$ Hz, 4H), 3.85 (t, $J = 5$ Hz, 4H), 1.94 (s, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, D_2O) δ 142.5, 136.0, 131.5, 128.9, 125.3, 122.6, 59.7, 51.6, 48.9.

Trifluoroacetato de 1,3-bis((fenilsulfonato)etil)imidazolio [2OPsEtIm] $^+$ [CF₃OAc] $^-$ (6e)⁹⁸

Rendimiento: 68%, líquido viscoso ámbar oscuro. ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 8.75 (s, 1H), 7.76 – 7.44 (m, 12H), 4.23 (t, $J = 5.0$ Hz, 4H), 3.85 (t, $J = 5.1$ Hz, 4H). ^{13}C NMR (125 MHz, D_2O) δ 144.1, 142.3, 136.1, 131.6, 129.0, 128.6 (c, $J = 293.4$ Hz, CF_3), 125.3, 122.6, 59.7, 51.6. ^{19}F NMR (470 MHz, D_2O) δ -75.54.

Cloruro dibencensulfonato de 1,3-bis((morfolinio)etil)imidazolio dibencensulfonato 2[Morp]⁺[2PhsO]⁻[Cl]⁻ (7a)⁹⁸

Rendimiento: 76%, líquido viscoso ámbar oscuro. ¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ= 8.83 (s, 1H), 7.84 (d, *J* = 7.4 Hz, 4H), 7.65 – 7.47 (m, 8H), 4.28 (t, *J* = 5 Hz, 4H), 3.94 (m, 12H), 3.32 – 3.19 (m, 8H). ¹³C NMR (125 MHz, D₂O) δ= 142.3, 136.1, 131.5, 128.9, 125.3, 122.6, 63.6, 59.7, 51.6, 43.1.

Cloruro dibencensulfonato de 1,3-bis((metilpiperazinio)etil)imidazolio 2[MePip]⁺[2PhsO]⁻[Cl]⁻ (7b)⁹⁸

Rendimiento: 89%, líquido viscoso ámbar oscuro. ¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ= 9.12 (s, 1H), 7.74 – 7.61 (m, 4H), 7.42 – 7.22 (m, 8H), 5.21 (s, 2H), 4.23 (t, *J* = 5 Hz, 4H), 3.73 (t, *J* = 5 Hz, 4H), 3.06 (t, *J* = 5 Hz, 8H), 2.49 (m, 8H), 2.21 (s, 6H). ¹³C NMR (125 MHz, DMSO) δ= 148.5, 137.0, 129.0, 128.2, 125.9, 123.0, 59.8, 52.0, 51.7, 45.8, 43.3.

Cloruro dibencensulfonato de 1,3-bis((dimetilaminopiridinio)etil)imidazolio 2[2MeAP]⁺[2PhsO]⁻[Cl]⁻ (7c)⁹⁸

Rendimiento: 48%, líquido viscoso ámbar oscuro. ¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ= 8.85 (s, 1H), 7.94 (d, *J* = 7.5 Hz, 4H), 7.80 (d, *J* = 7.2 Hz, 4H), 7.62 – 7.49 (m, 8H), 6.80 (d, *J* = 7.6 Hz, 4H), 4.33 (t, *J* = 5.5 Hz, 4H), 3.94 (t, *J* = 5 Hz, 4H), 3.15 (s, 12H). ¹³C NMR (125 MHz, D₂O) δ= 157.4, 142.3, 138.0, 131.5, 128.9, 125.3, 122.6, 122.6, 106.7, 59.7, 51.6, 39.2.

Acetato dibencensulfonato de 1,3-bis((morfolinio)etil)imidazolio 2[Morp]⁺[2PhsO]⁻[OAc]⁻ (7d)⁹⁸

Rendimiento: 74%, líquido viscoso ámbar oscuro. ¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ= 8.82 (s, 1H), 7.84 – 7.81 (m, 4H), 7.56 (m, 8H), 4.31 (t, *J* = 5 Hz, 4H), 3.97 – 3.89 (m, 12H), 3. (t, *J* = 5 Hz, 8H), 2.06 (s, 3H). ¹³C NMR (125 MHz, DMSO) δ= 148.3, 137.0, 129.1, 128.2, 125.9, 123.0, 122.8, 63.7, 59.8, 57.9, 52.0, 43.3.

Trifluoroacetato dibencensulfonato de 1,3-bis((metilpiperazinio)etil)imidazolio 2[MePip]⁺[2PhsO]⁻[CF₃OAc]⁻ (7e)⁹⁸

Rendimiento: 77%, líquido viscoso ámbar oscuro. ¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ= 8.82 (s, 1H), 7.82 (d, *J* = 7.2 Hz, 4H), 7.62 – 7.50 (m, 8H), 4.30 (t, *J* = 5 Hz, 4H), 3.92 (t, *J* = 5 Hz, 4H), 3.25 – 3.18 (m, 8H), 2.80 (m, 8H), 2.43 (s, 6H). ¹³C NMR (125 MHz, D₂O) δ= 142.3, 136, 131.5, 128.9, 128.1 (c, *J* = 291.2 Hz, CF₃), 125.3, 122.6, 122.5, 59.7, 51.6, 51.5, 44.3, 42.9. ¹⁹F NMR (470 MHz, D₂O) δ= -75.56.

Anexo

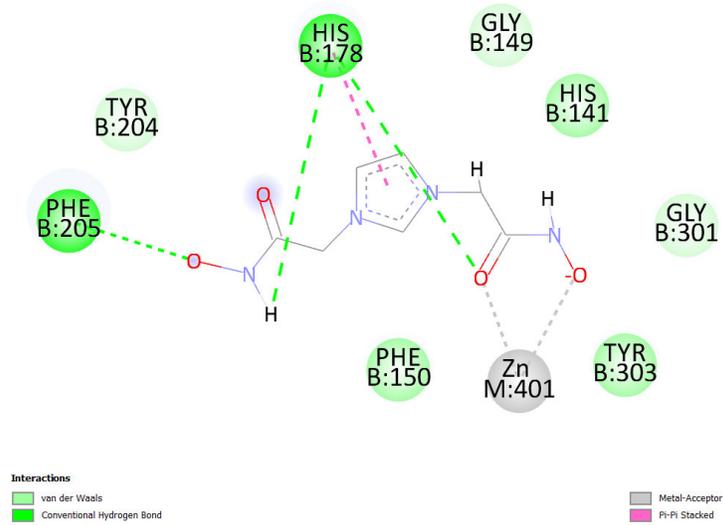


Figura A1. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHB1 en el sitio activo de la HDAC1.

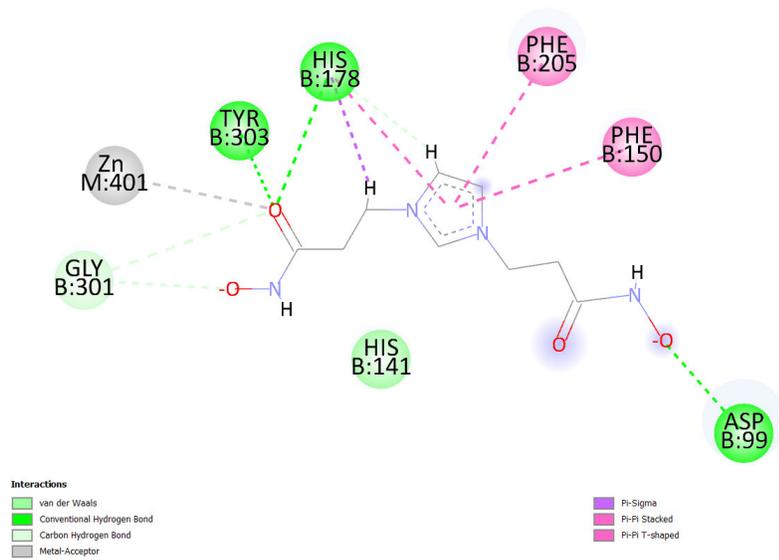


Figura A2. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHB2 en el sitio activo de la HDAC1.

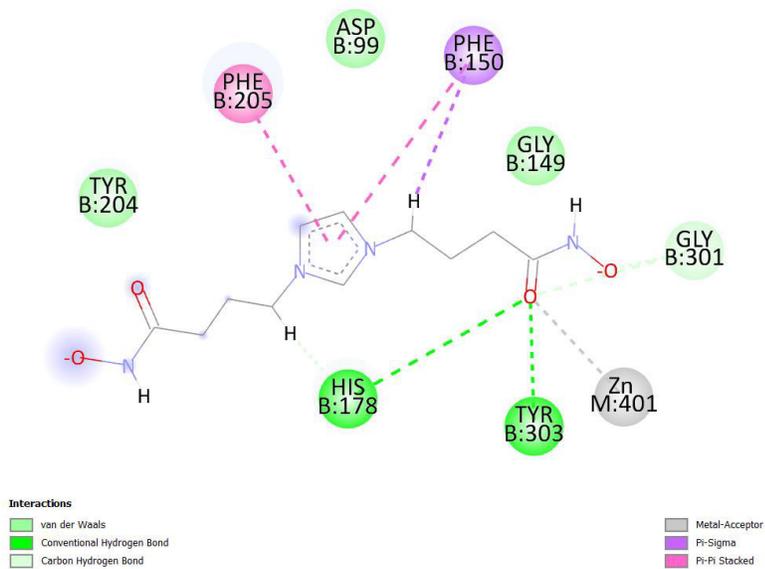


Figura A3. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHB3 en el sitio activo de la HDAC1.

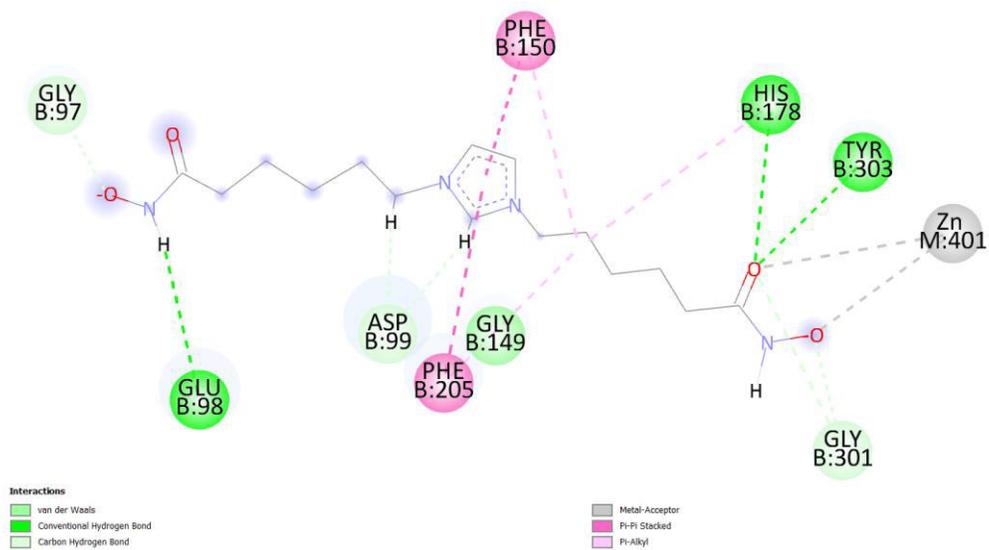


Figura A4. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHB5 en el sitio activo de la HDAC1.

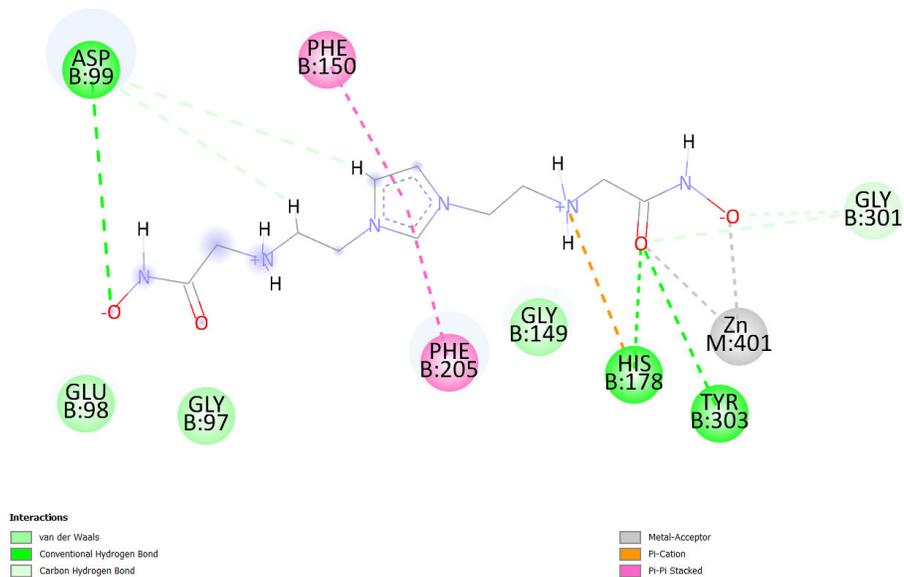


Figura A5. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHC1 en el sitio activo de la HDAC1.

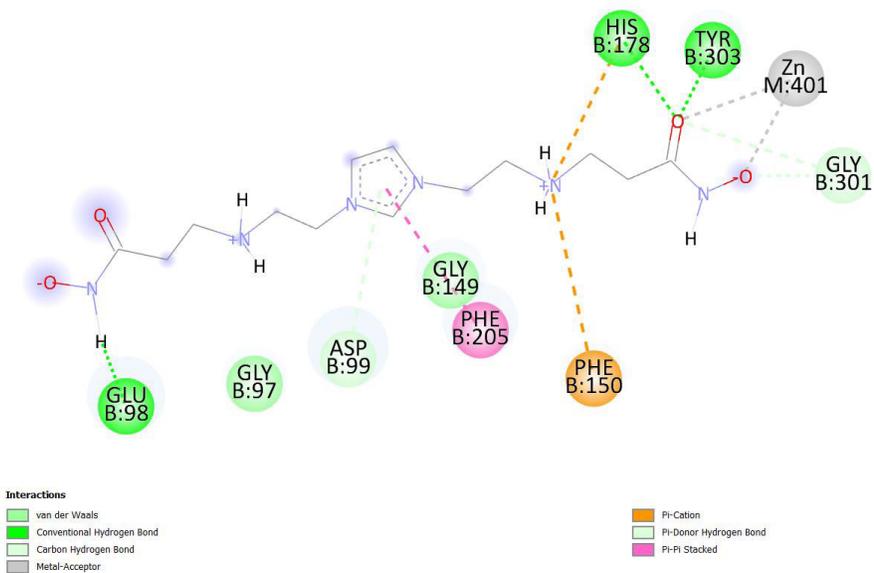


Figura A6. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHC2 en el sitio activo de la HDAC1.

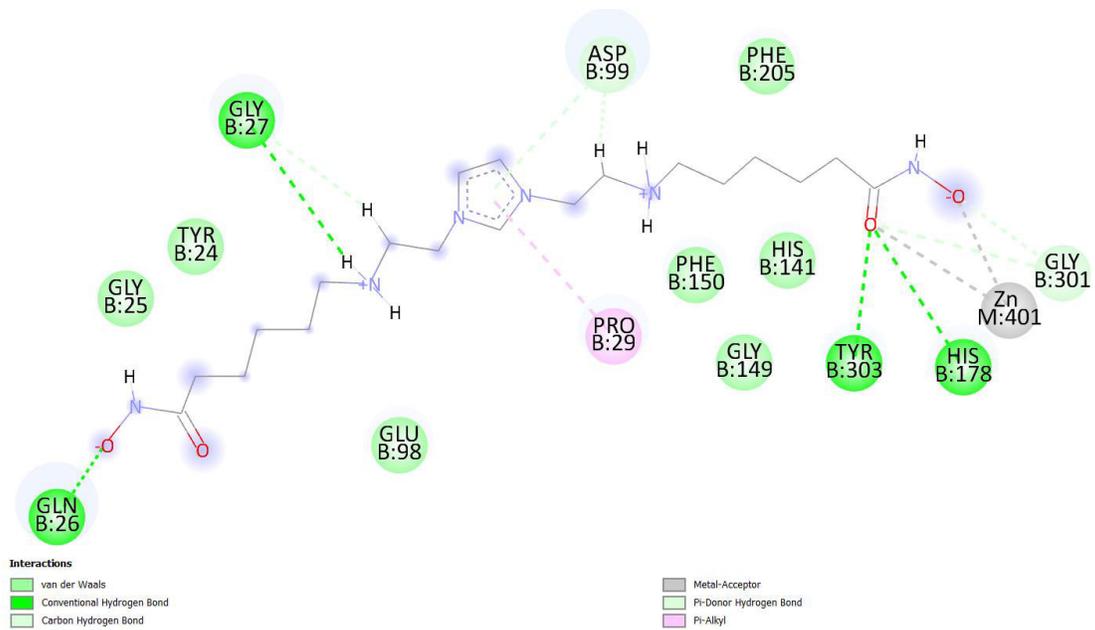


Figura A7. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHC5 en el sitio activo de la HDAC1.

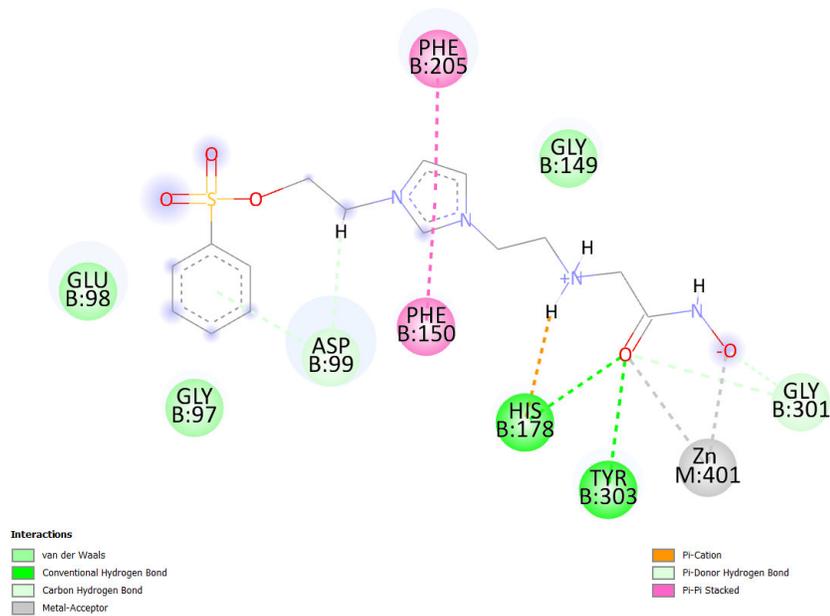


Figura A8. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHD1 en el sitio activo de la HDAC1.

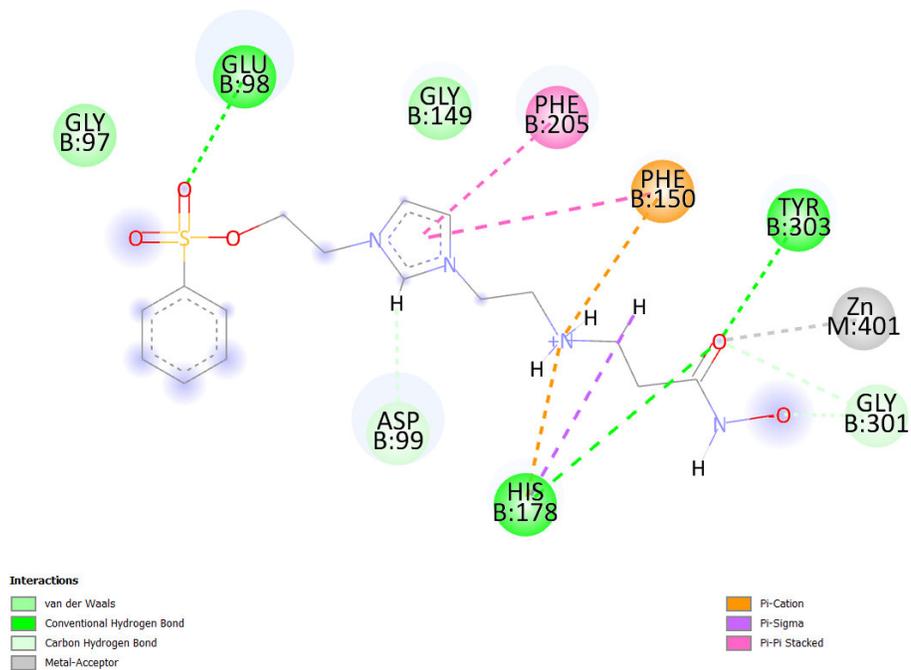


Figura A9. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHD2 en el sitio activo de la HDAC1.

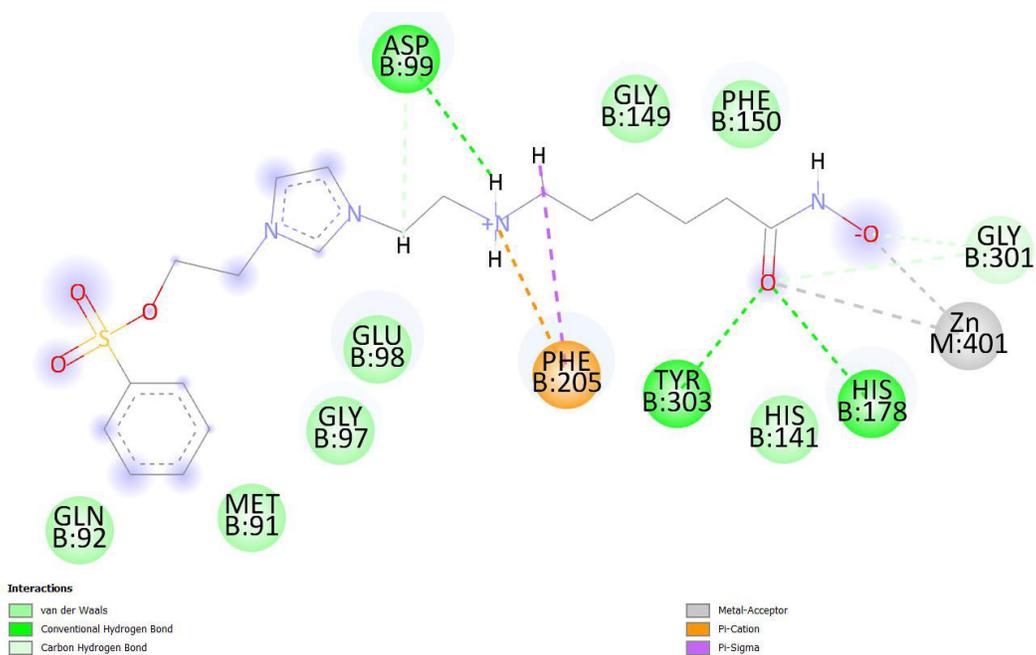


Figura A10. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHD2 en el sitio activo de la HDAC1.

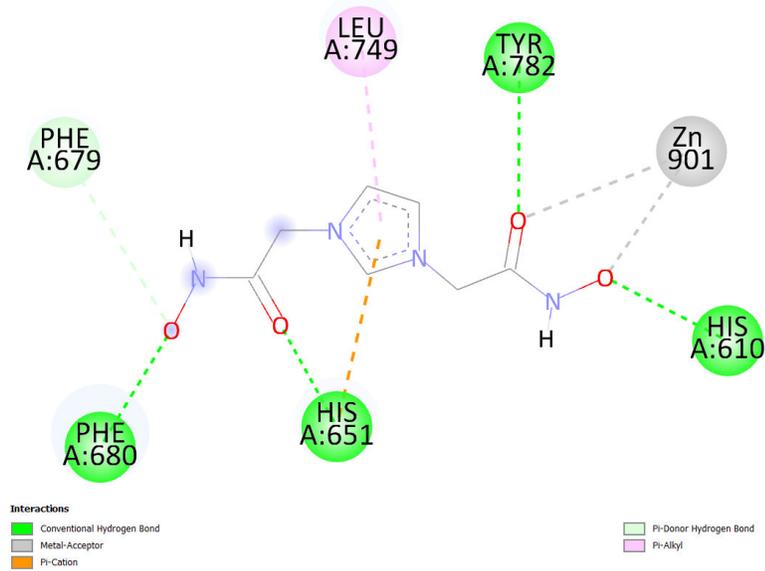


Figura A11. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHB1 en el sitio activo de la HDAC6.

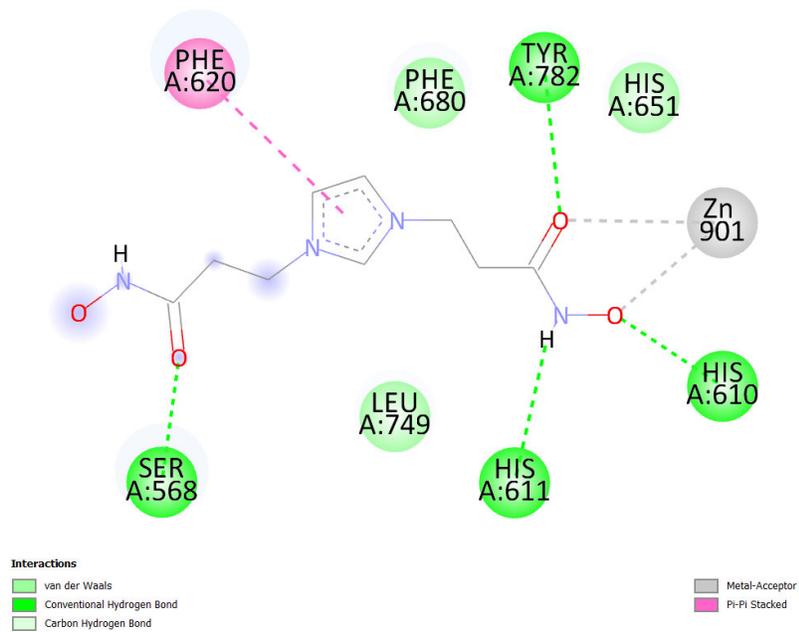


Figura A12. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHB2 en el sitio activo de la HDAC6.

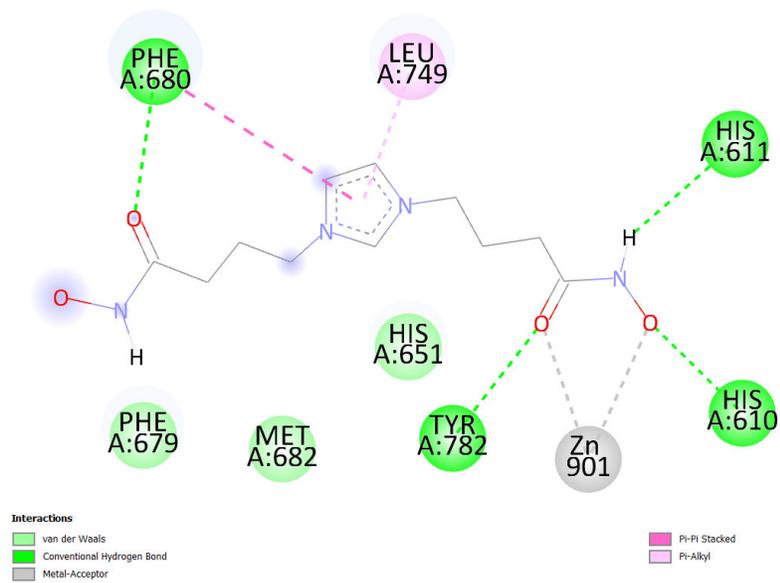


Figura A13. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHB3 en el sitio activo de la HDAC6.

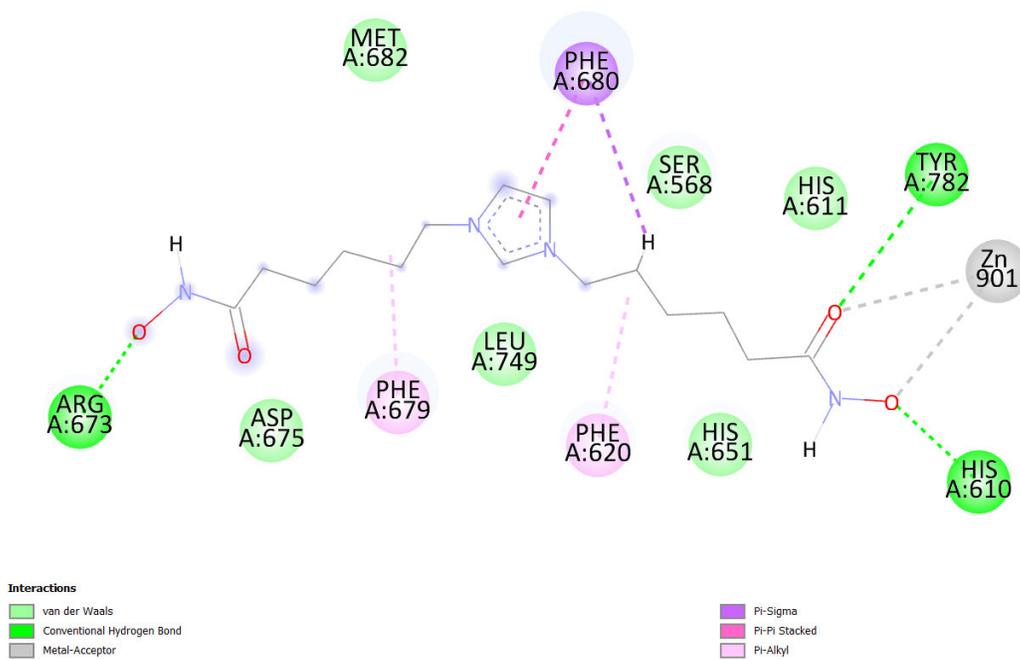


Figura A14. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHB5 en el sitio activo de la HDAC6.

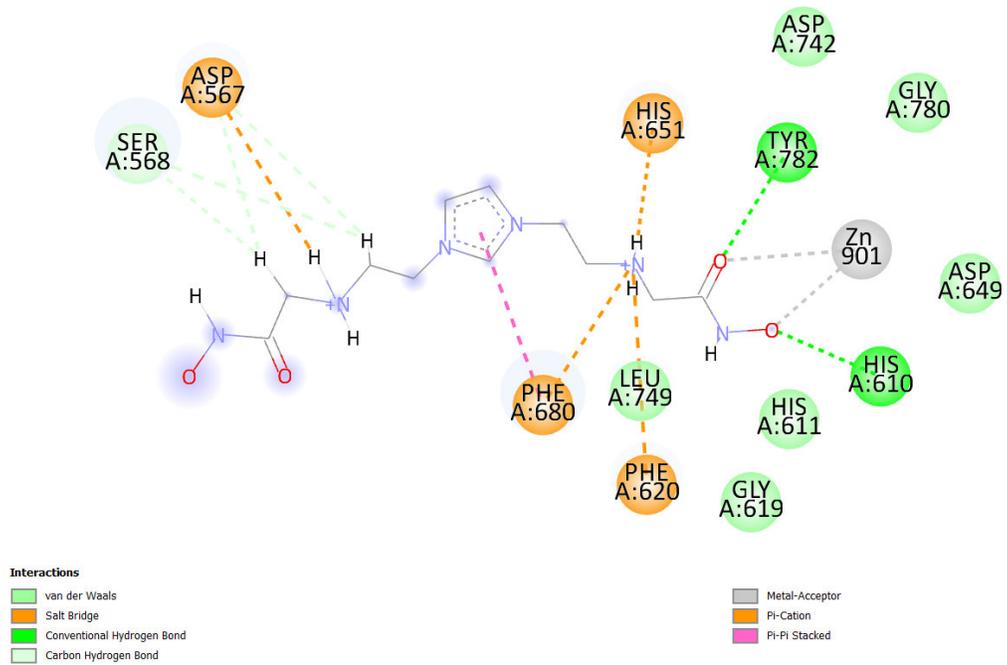


Figura A15. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHC1 en el sitio activo de la HDAC6.

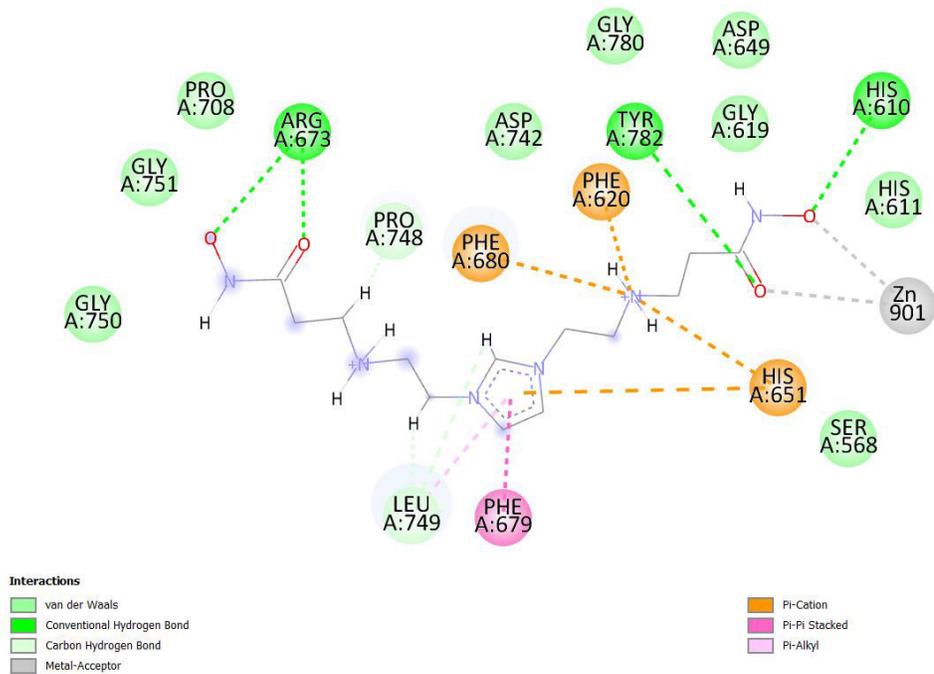


Figura A16. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHD2 en el sitio activo de la HDAC6.

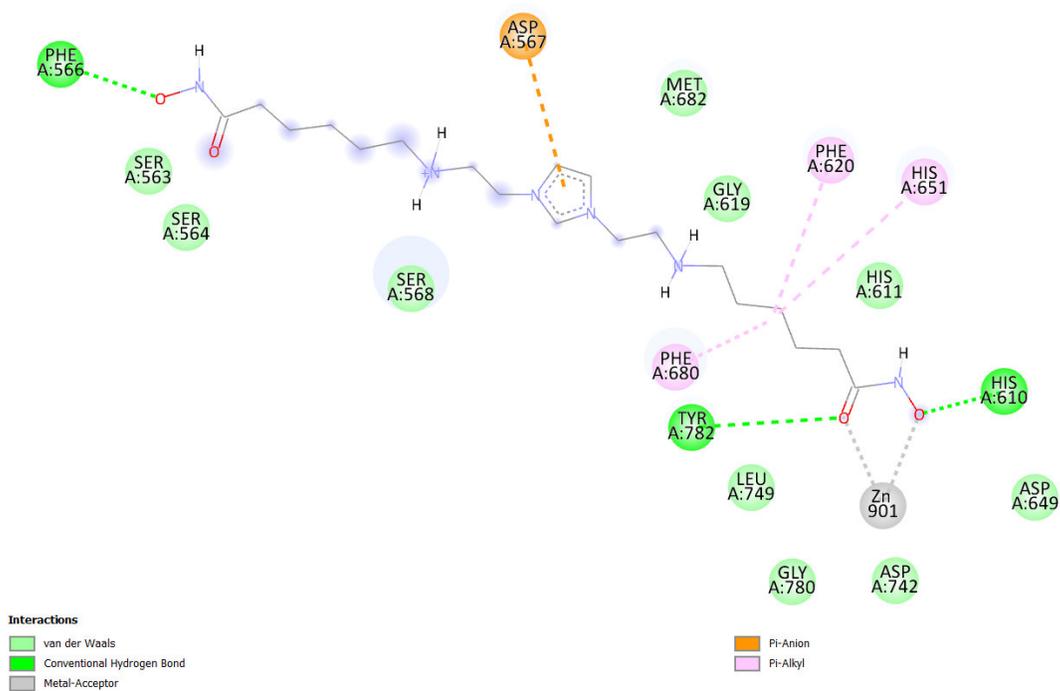


Figura A17. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHC5 en el sitio activo de la HDAC6.

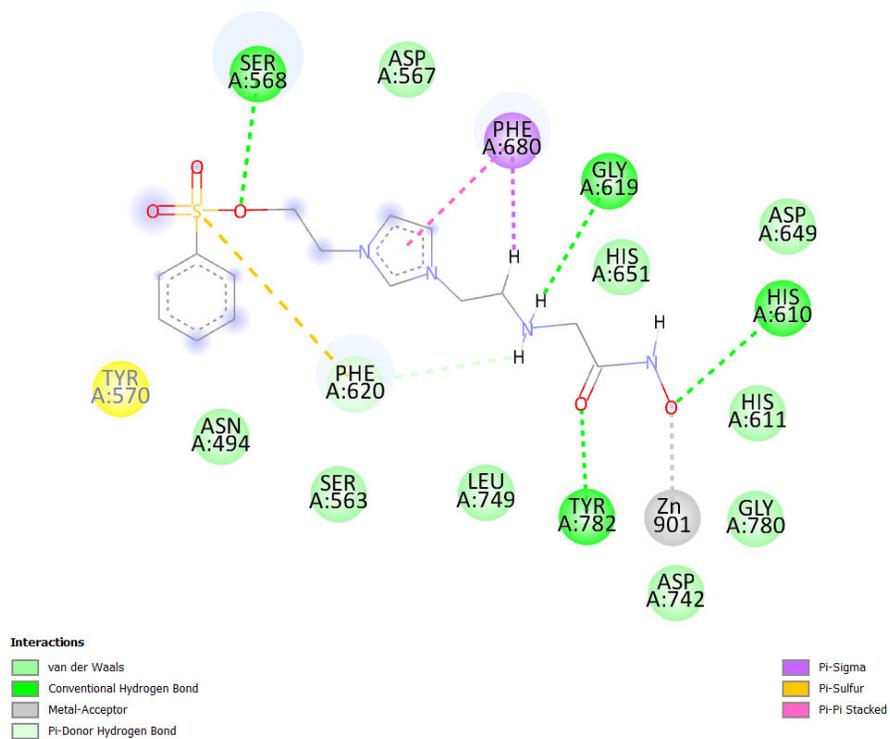


Figura A18. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHD1 en el sitio activo de la HDAC6.

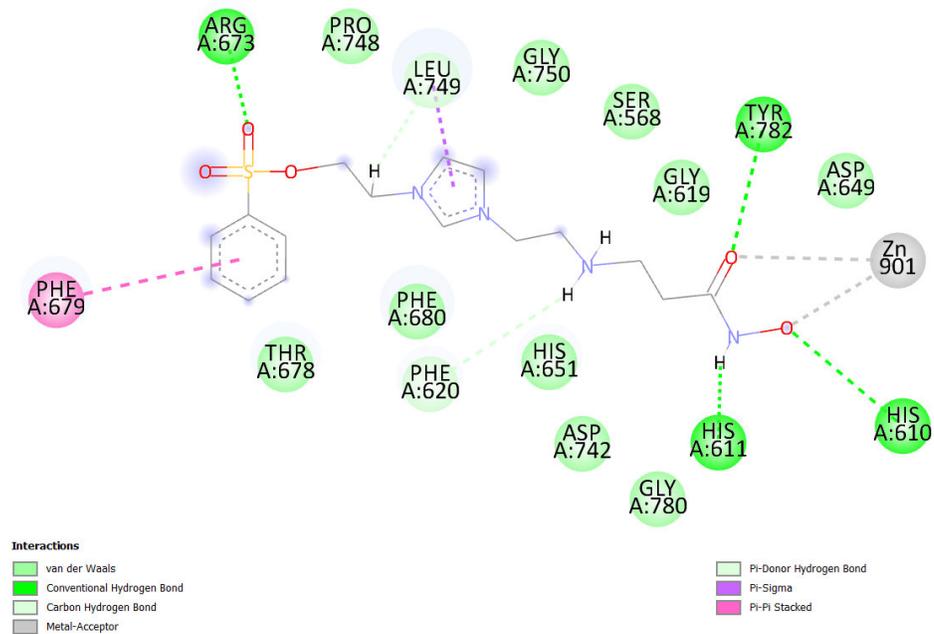


Figura A19. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHD2 en el sitio activo de la HDAC6.

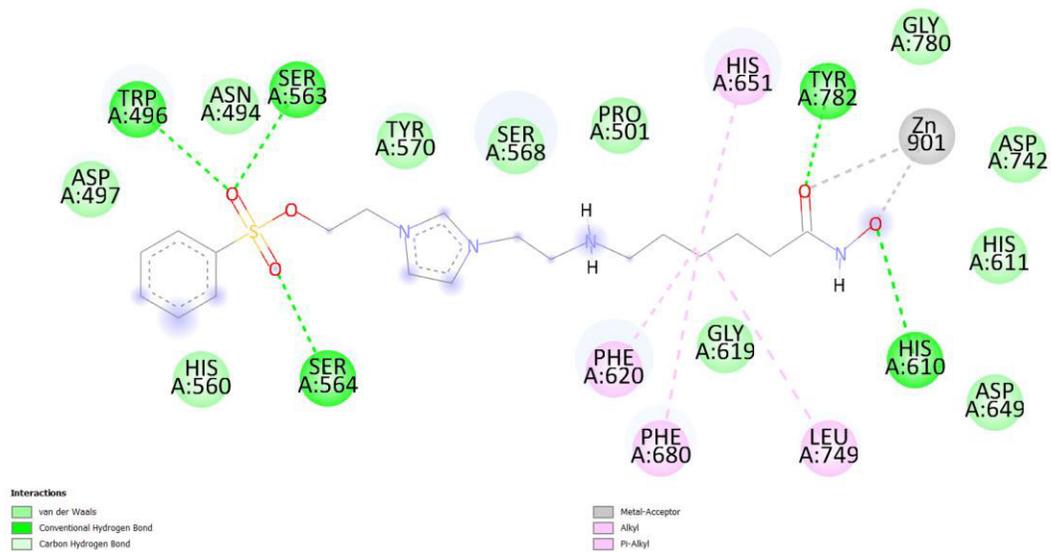


Figura A20. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHD5 en el sitio activo de la HDAC6.

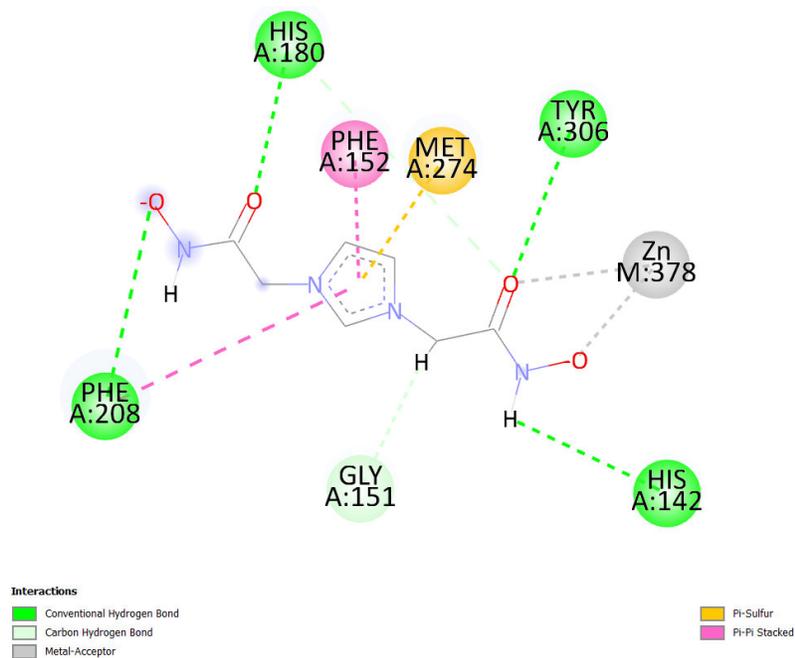


Figura A21. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHB1 en el sitio activo de la HDAC8.

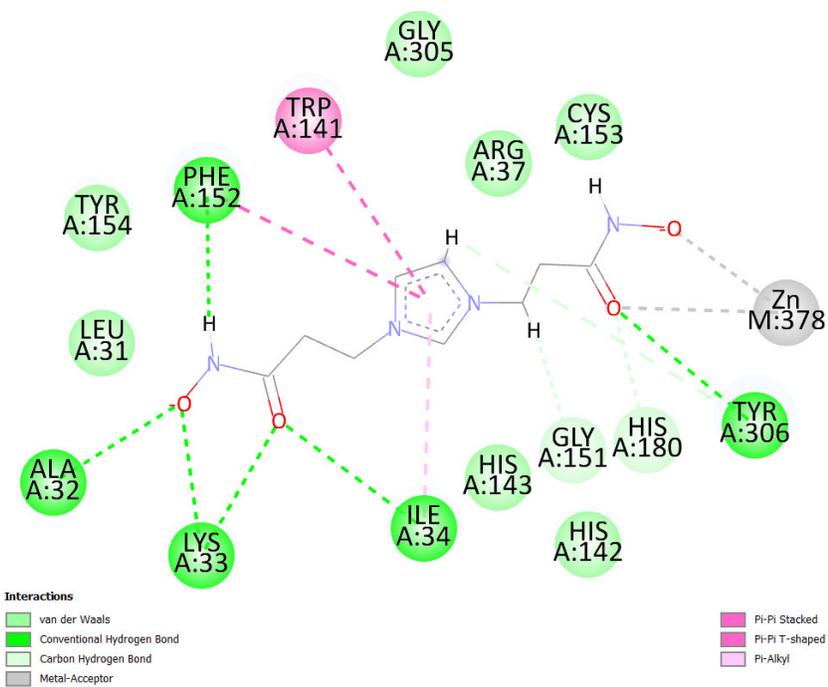


Figura A22. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHB2 en el sitio activo de la HDAC8.

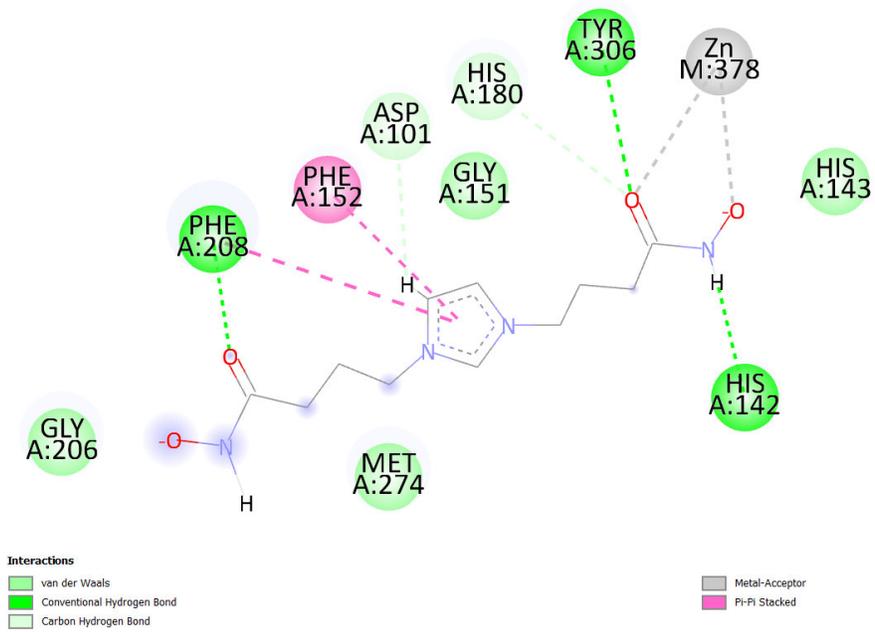


Figura A23. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHB3 en el sitio activo de la HDAC8.

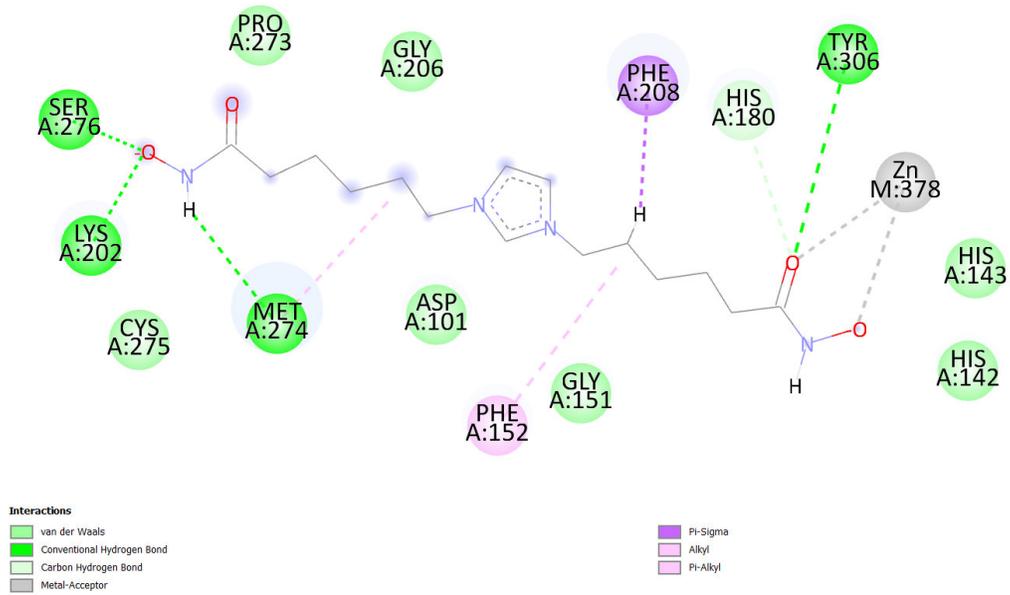


Figura A24. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHB5 en el sitio activo de la HDAC8.

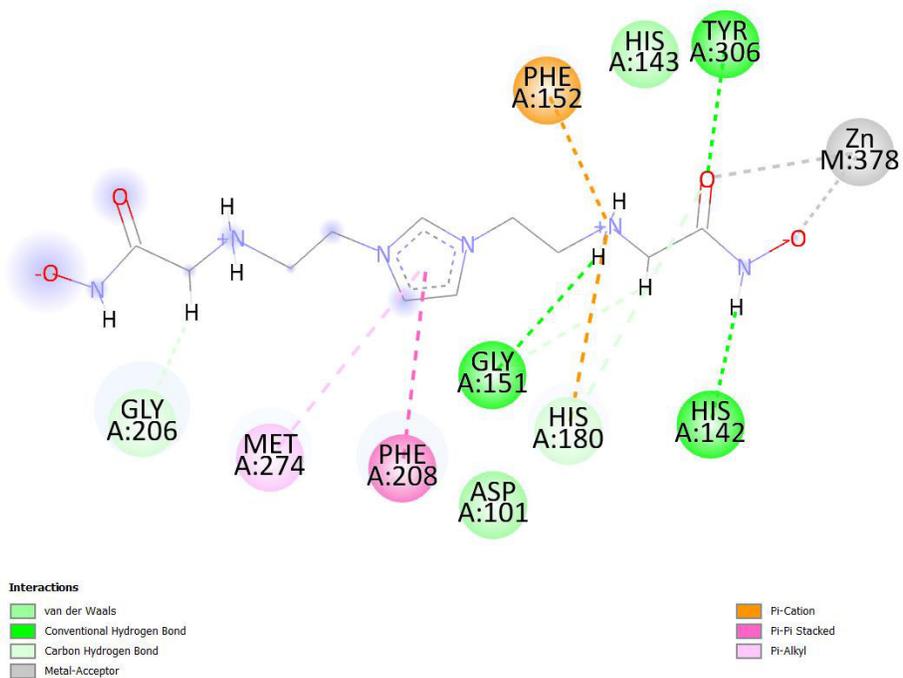


Figura A25. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHC1 en el sitio activo de la HDAC8.

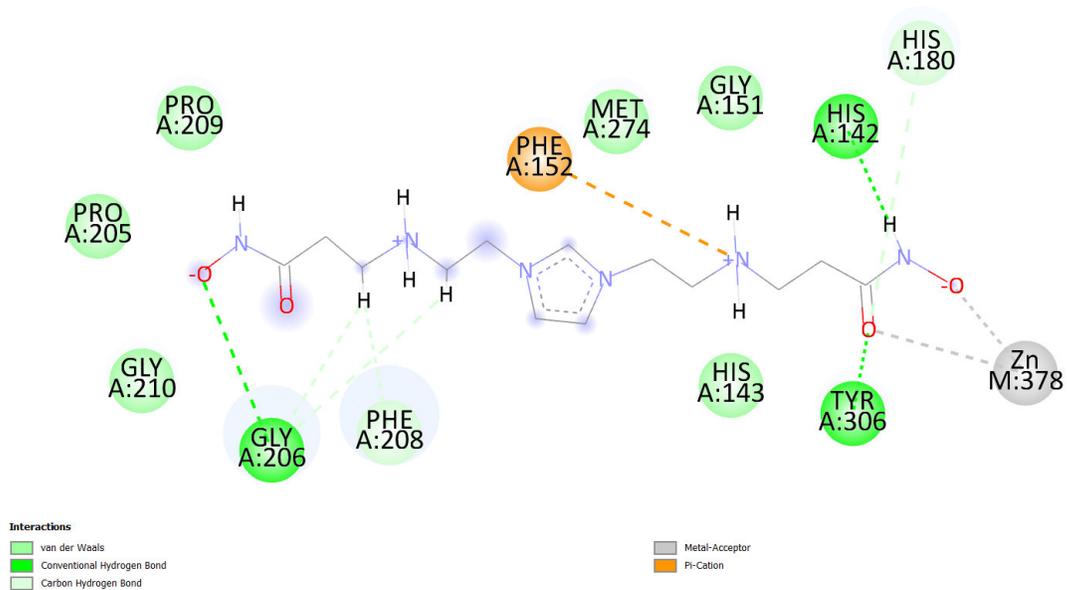


Figura A26. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHC2 en el sitio activo de la HDAC8.

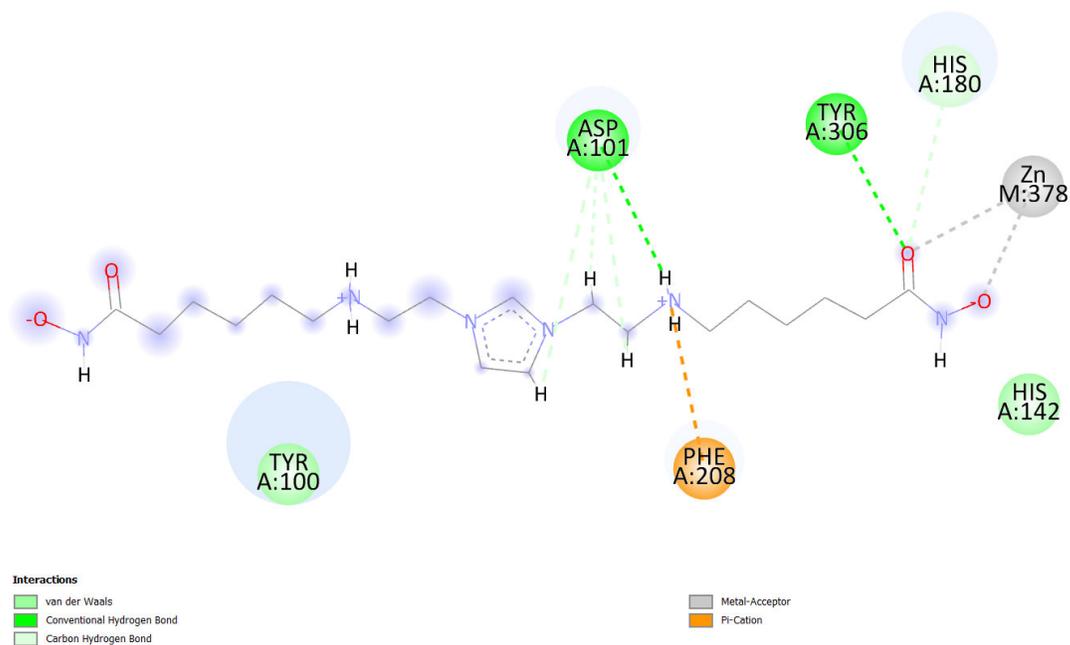


Figura A27. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHC5 en el sitio activo de la HDAC8.

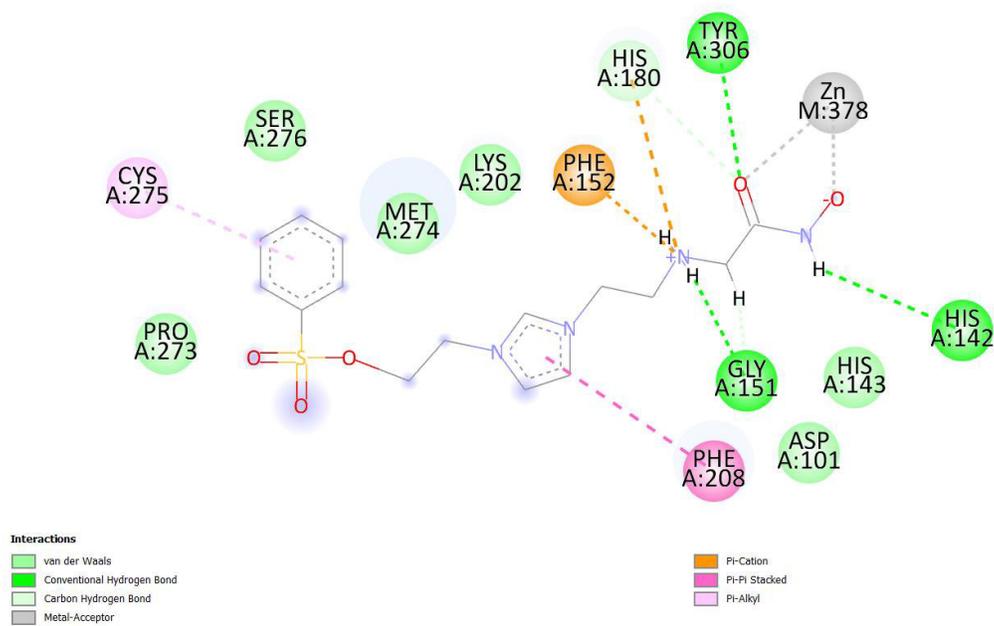


Figura A28. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHD1 en el sitio activo de la HDAC8.

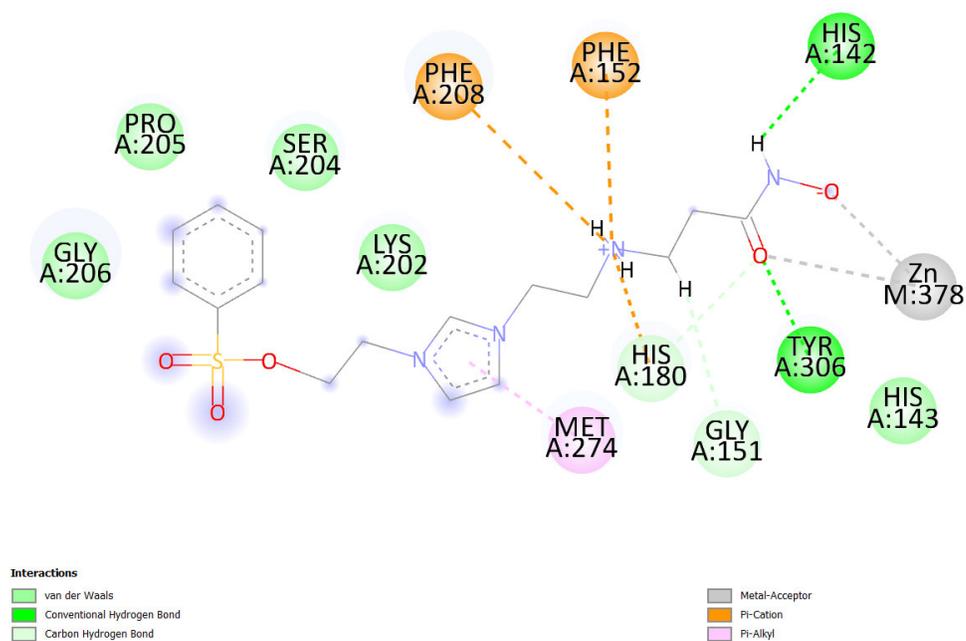


Figura A29. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHD2 en el sitio activo de la HDAC8.

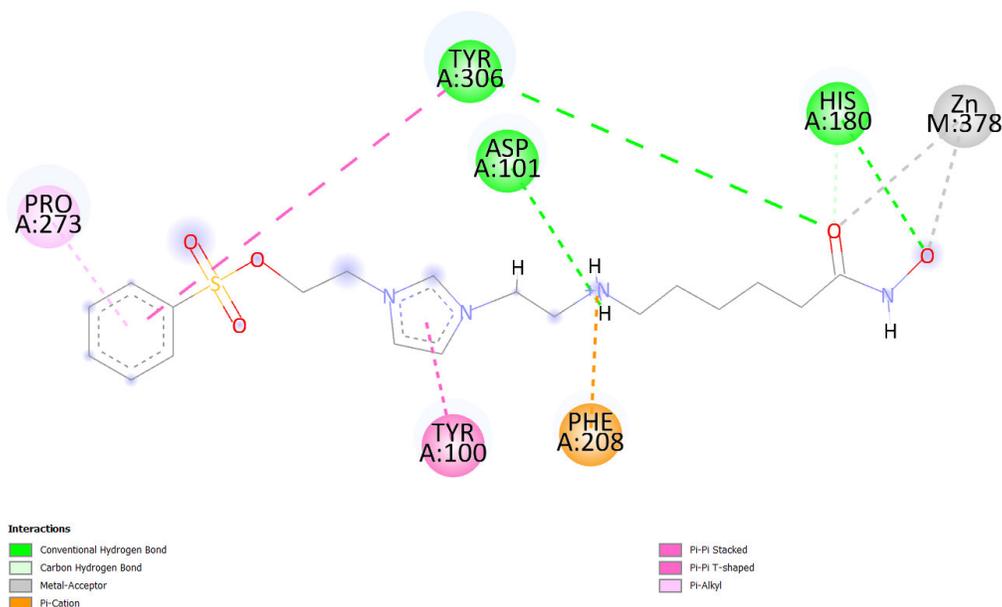


Figura A30. Diagrama 2D de interacciones del ligando AHD5 en el sitio activo de la HDAC8.

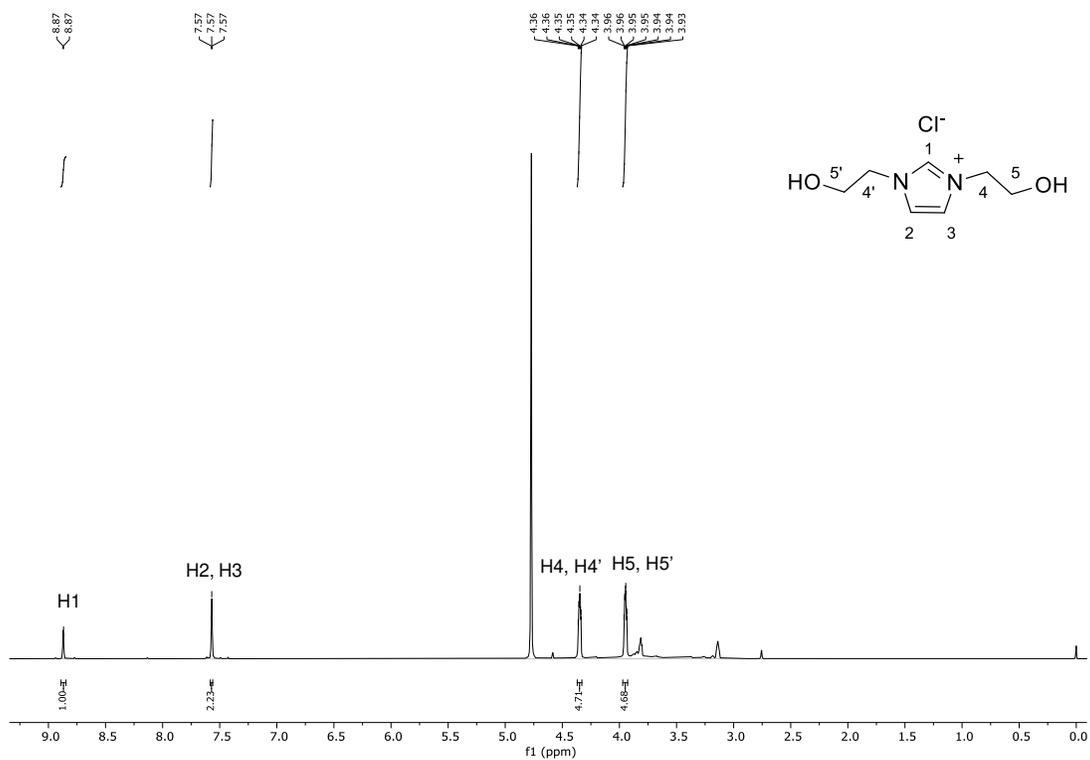


Figura A31. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, D_2O) del compuesto 4a.

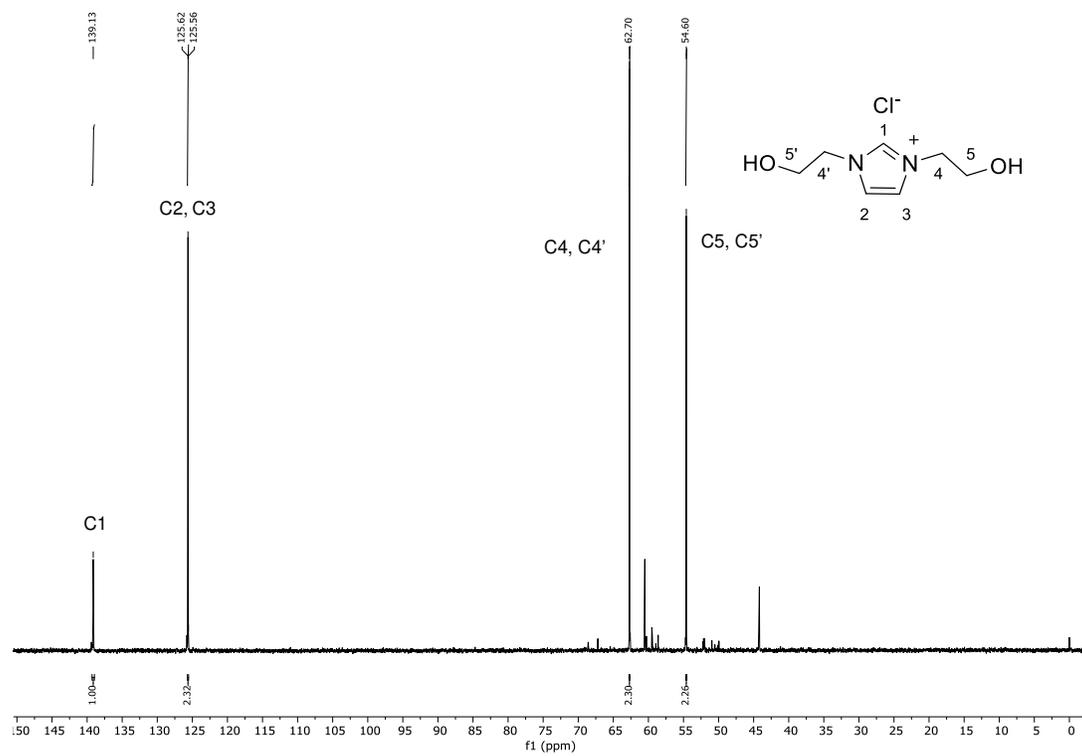


Figura A32. Espectro de RMN ^{13}C (126 MHz, D_2O) del compuesto 4a.

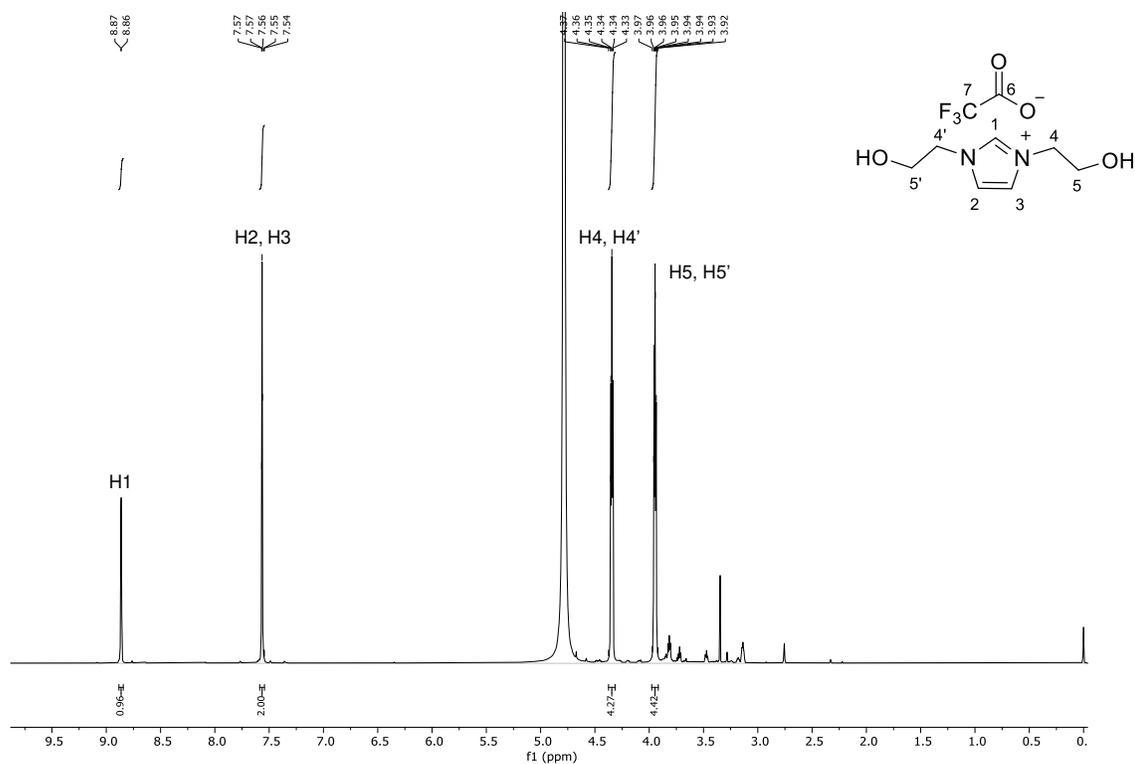


Figura A33. Espectro de RMN ¹H (500 MHz, D₂O) del compuesto 4b.

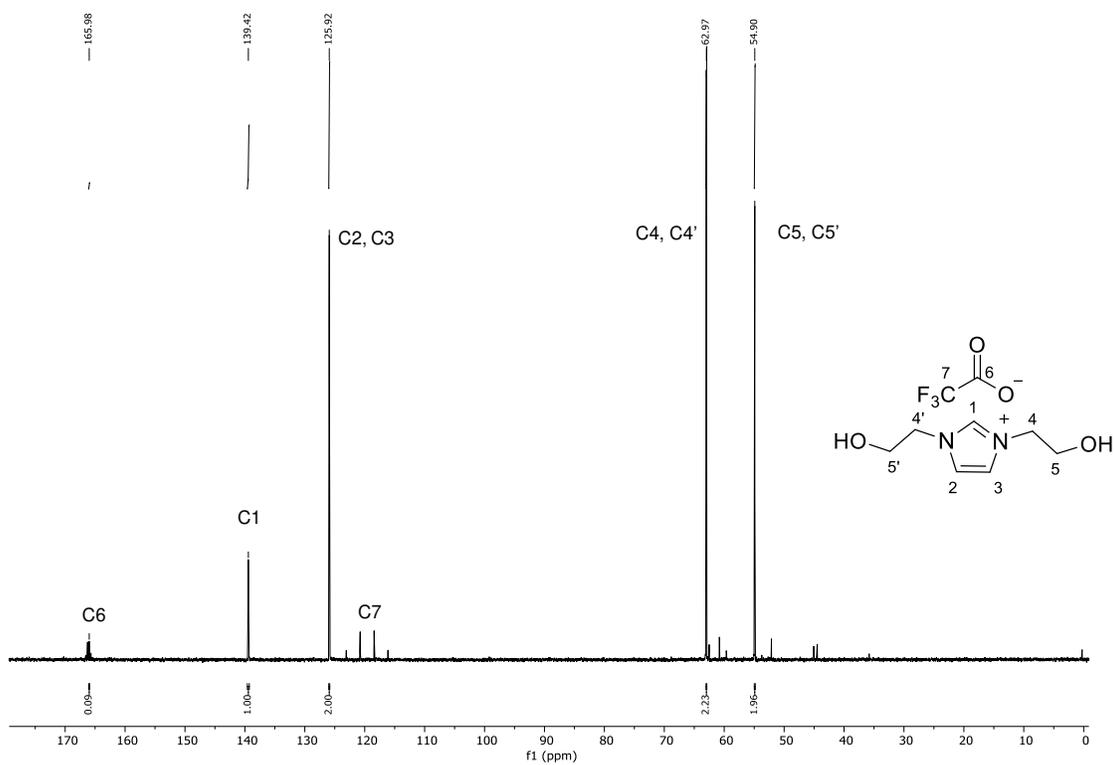


Figura A34. Espectro de RMN ¹³C (126 MHz, D₂O) del compuesto 4b.

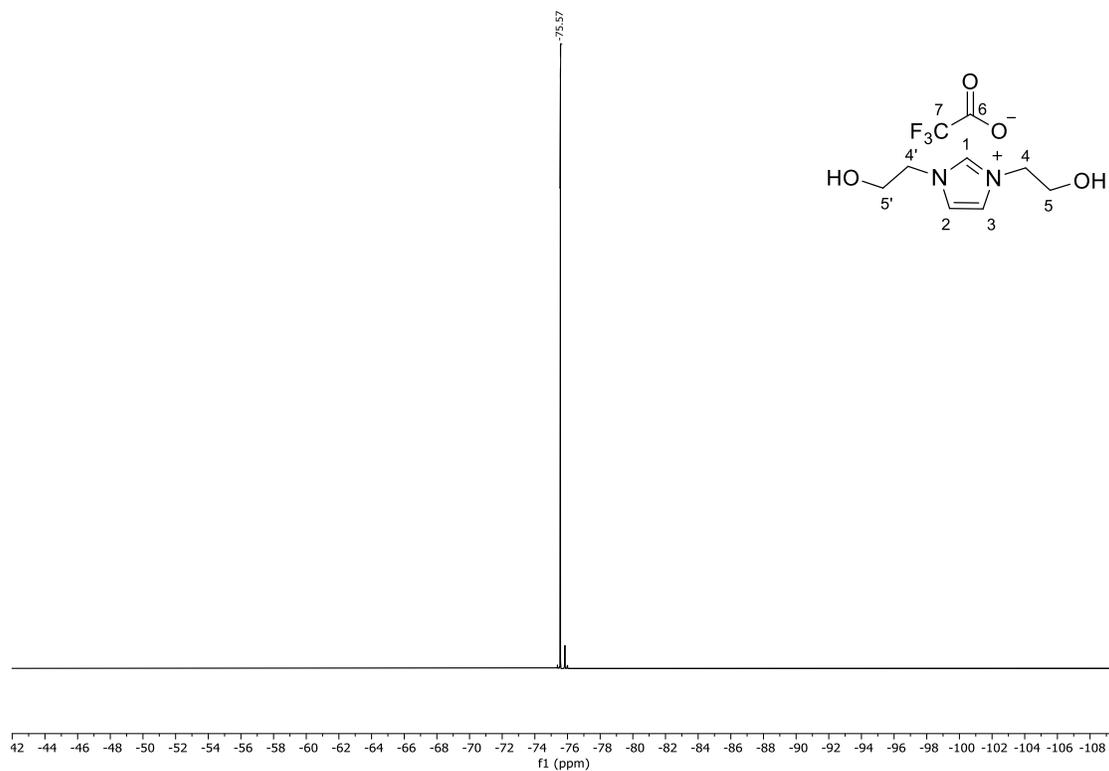


Figura A35. Espectro de RMN ^{19}F (471 MHz, D_2O) del compuesto 4b.

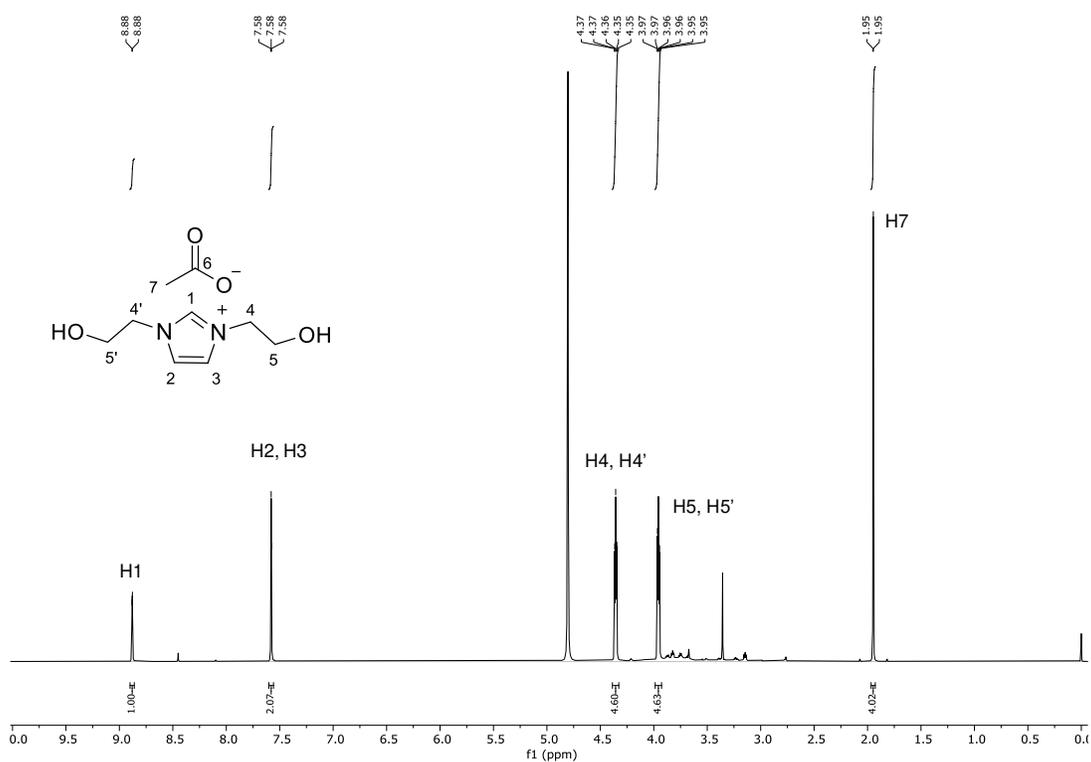


Figura A36. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, D_2O) del compuesto 4c.

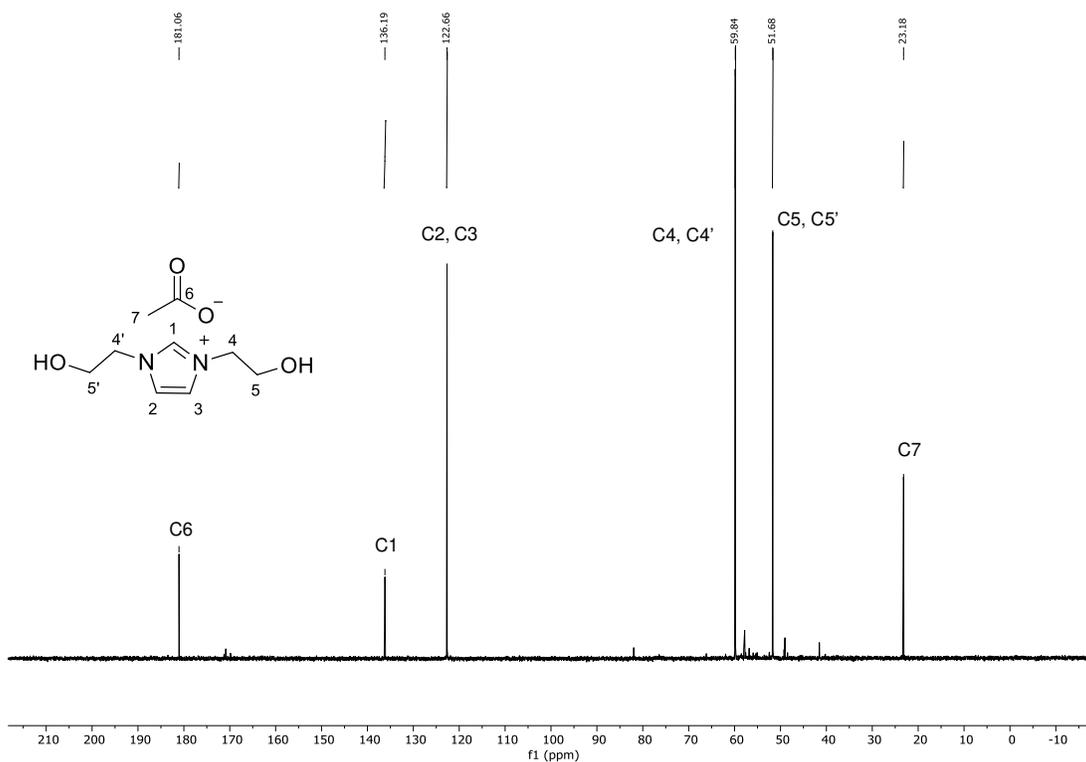


Figura A37. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, D_2O) del compuesto **4c**.

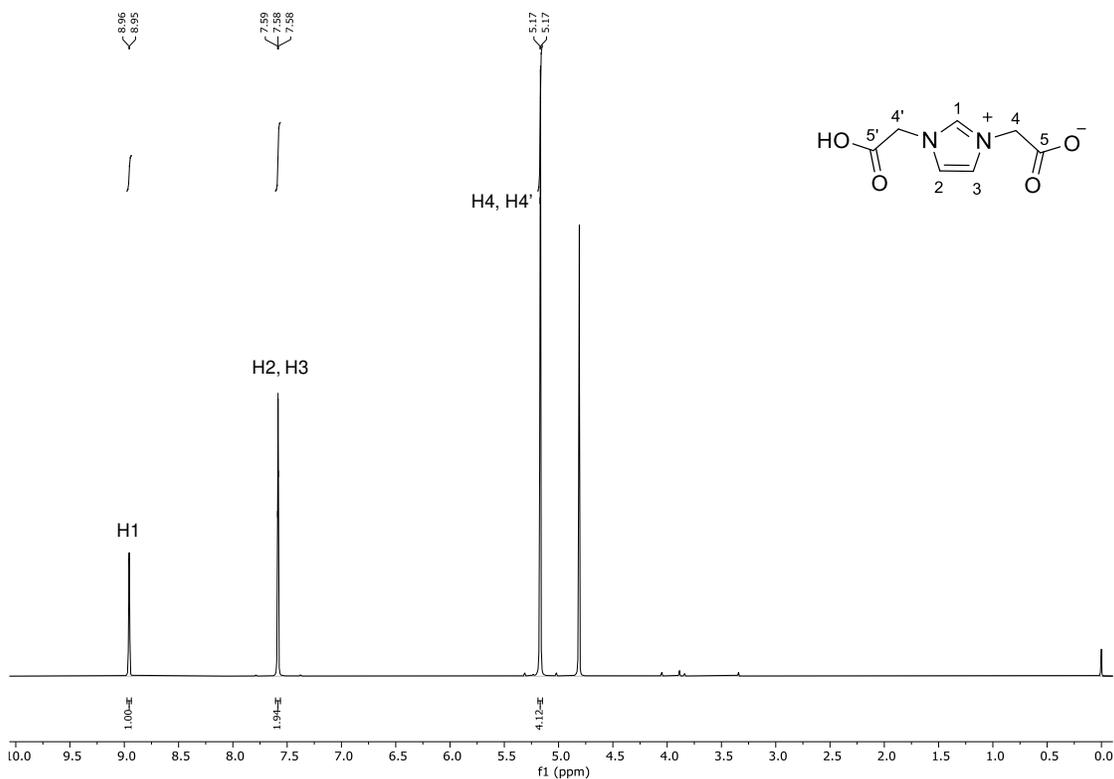


Figura A38. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, D_2O) del compuesto **4d**.

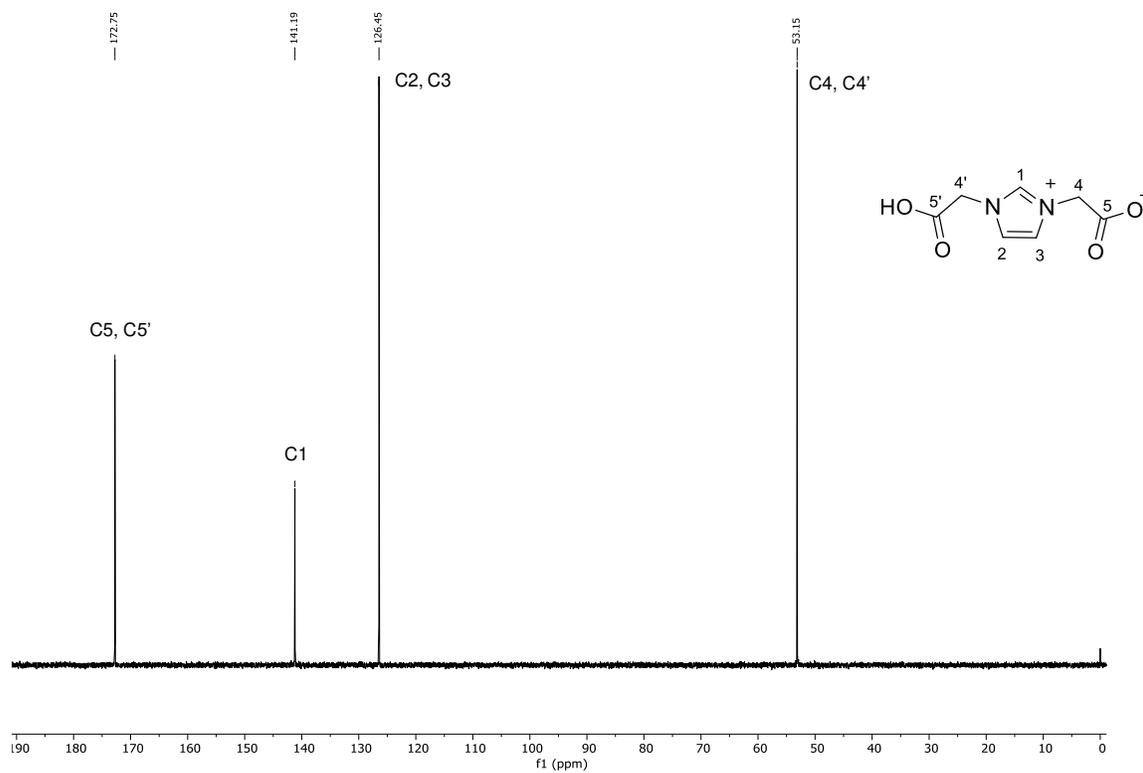


Figura A39. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, D_2O) del compuesto **4d**.

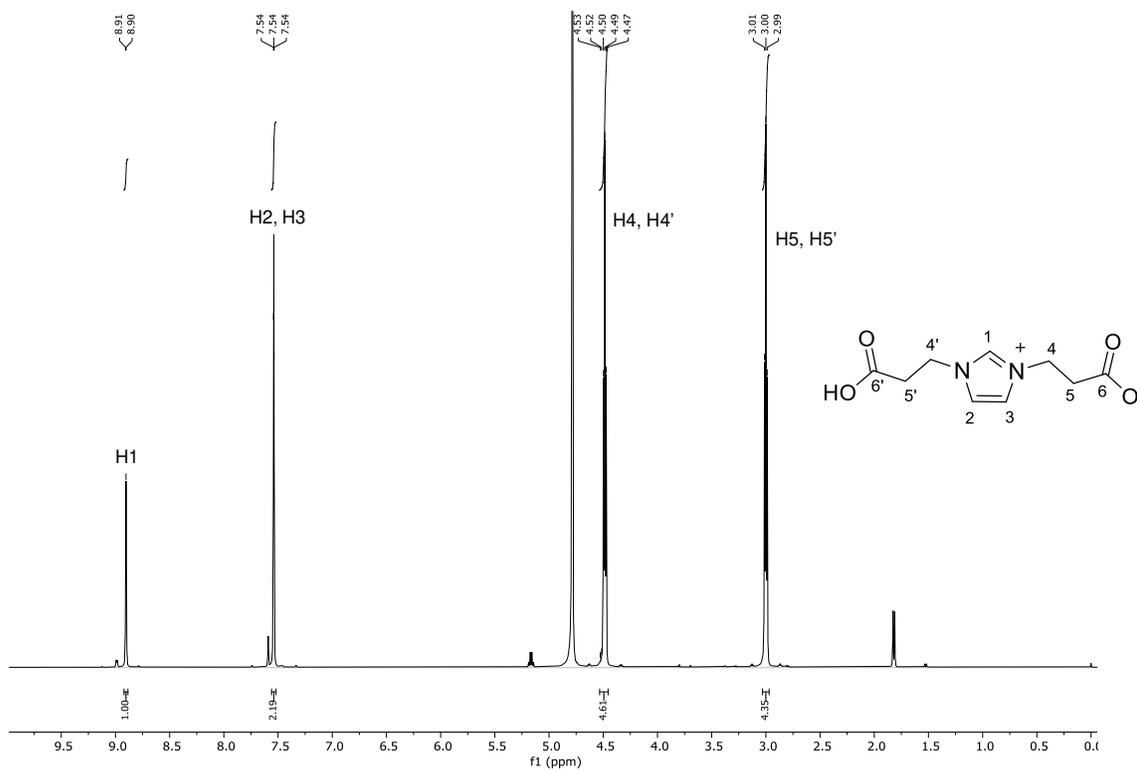


Figura A40. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, D_2O) del compuesto **4e**.

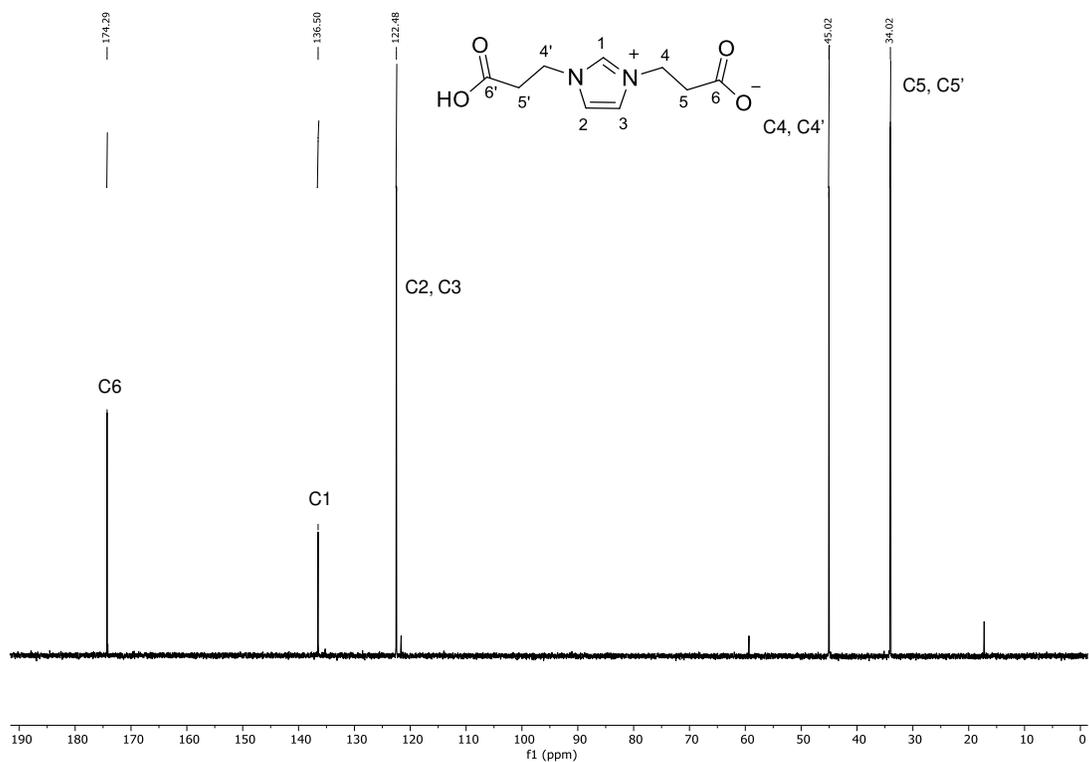


Figura A41. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, D_2O) del compuesto 4e.

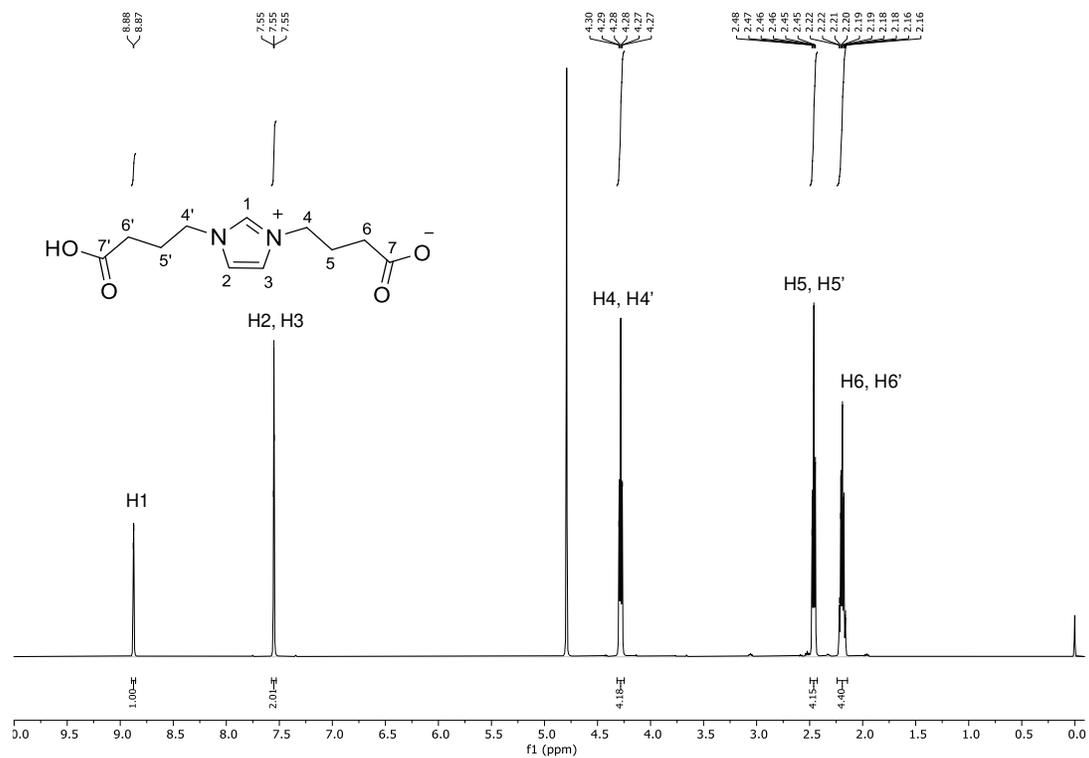


Figura A42. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, D_2O) del compuesto 4f.

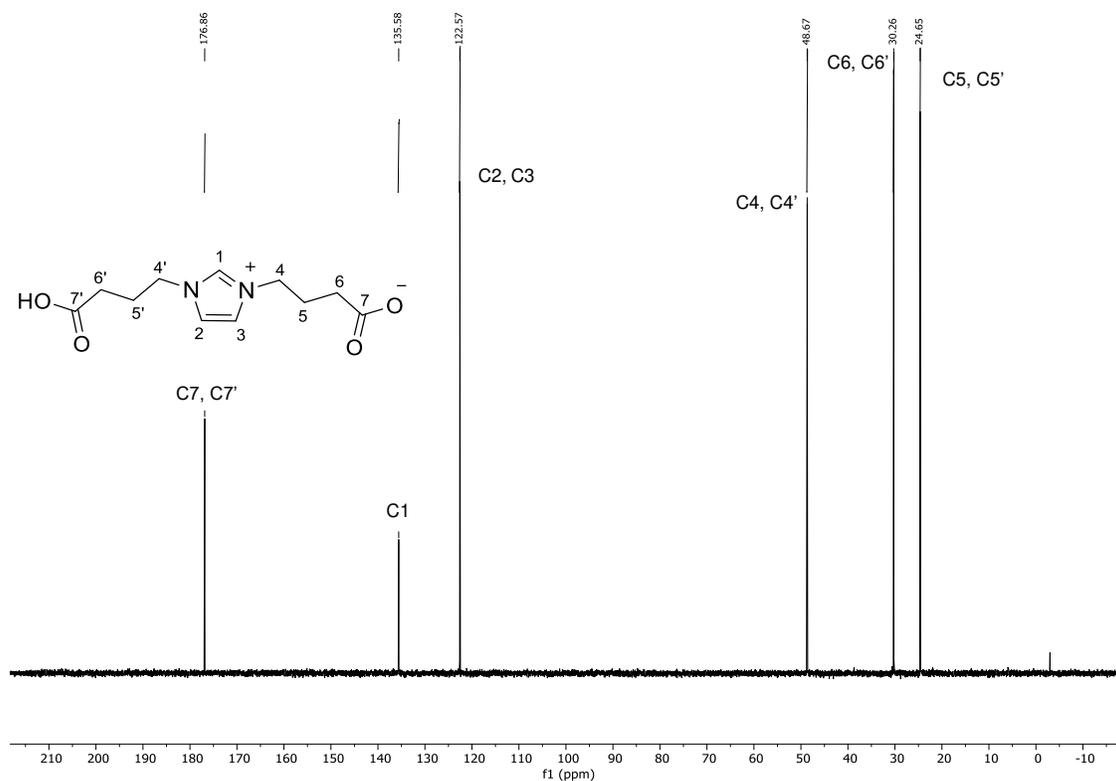


Figura A43. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, D_2O) del compuesto 4f.

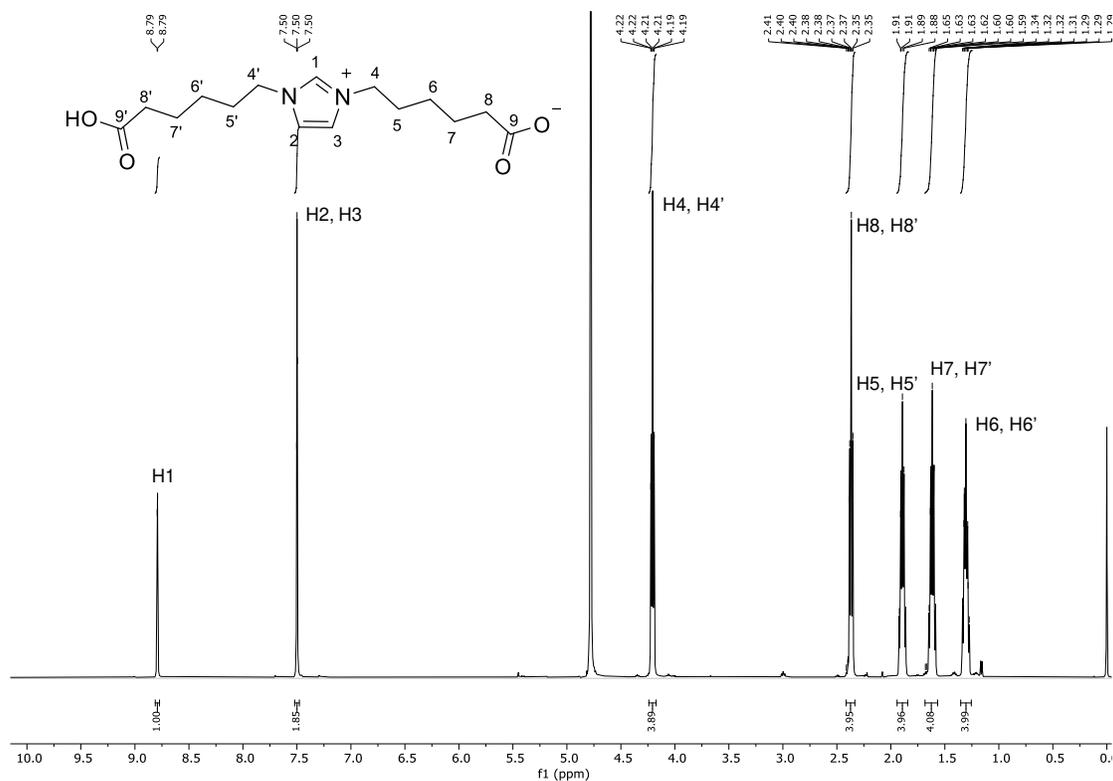


Figura A44. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, D_2O) del compuesto 4g.

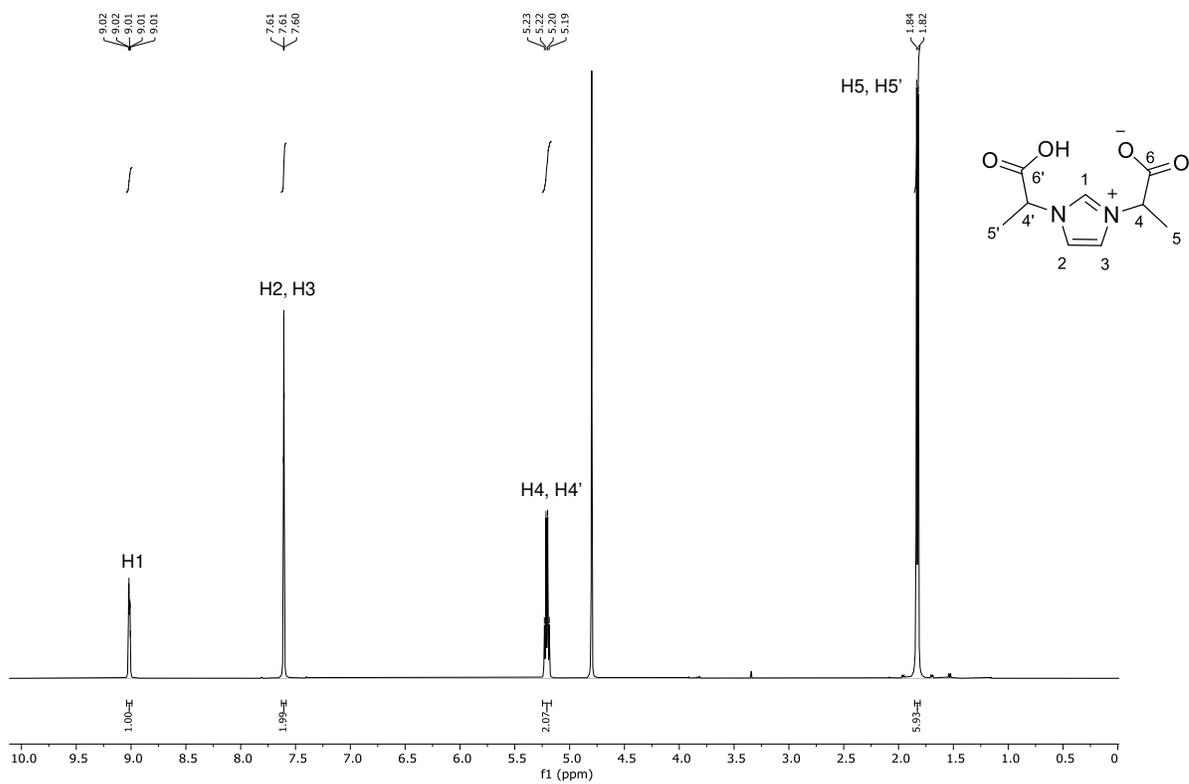
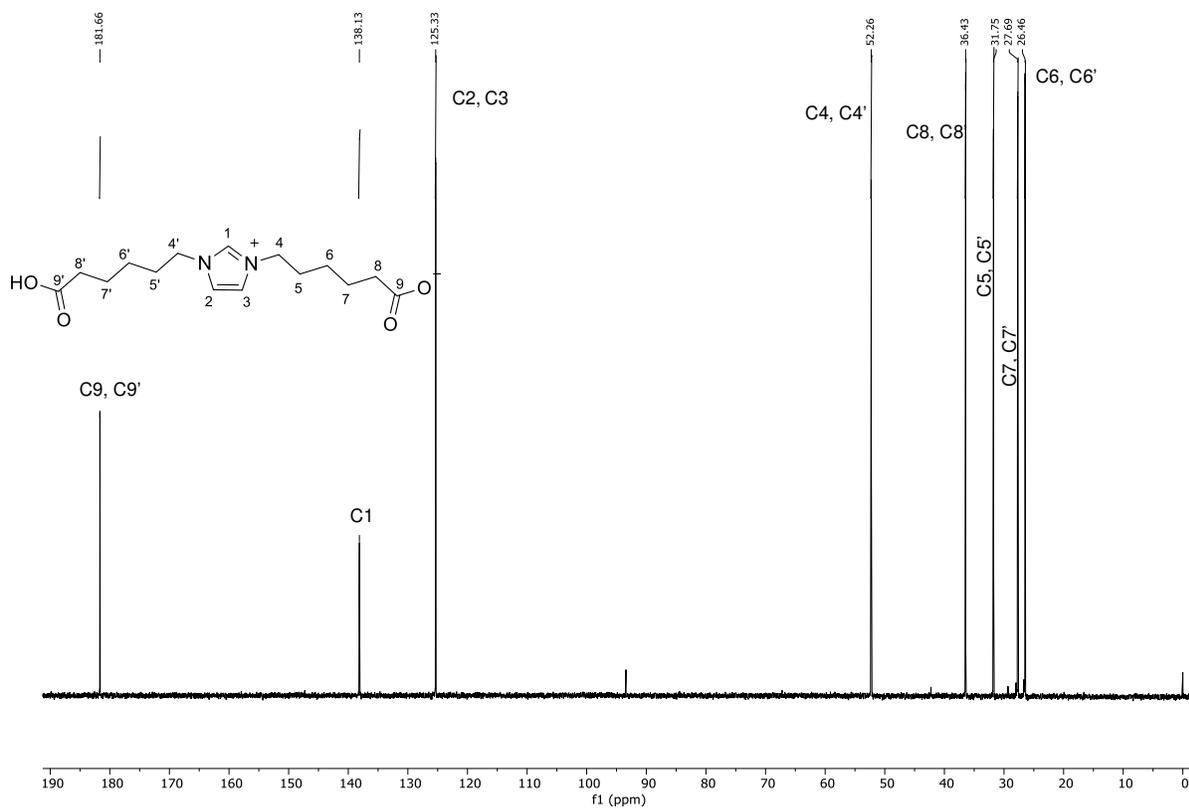




Figura A47. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, D_2O) del compuesto 4h.

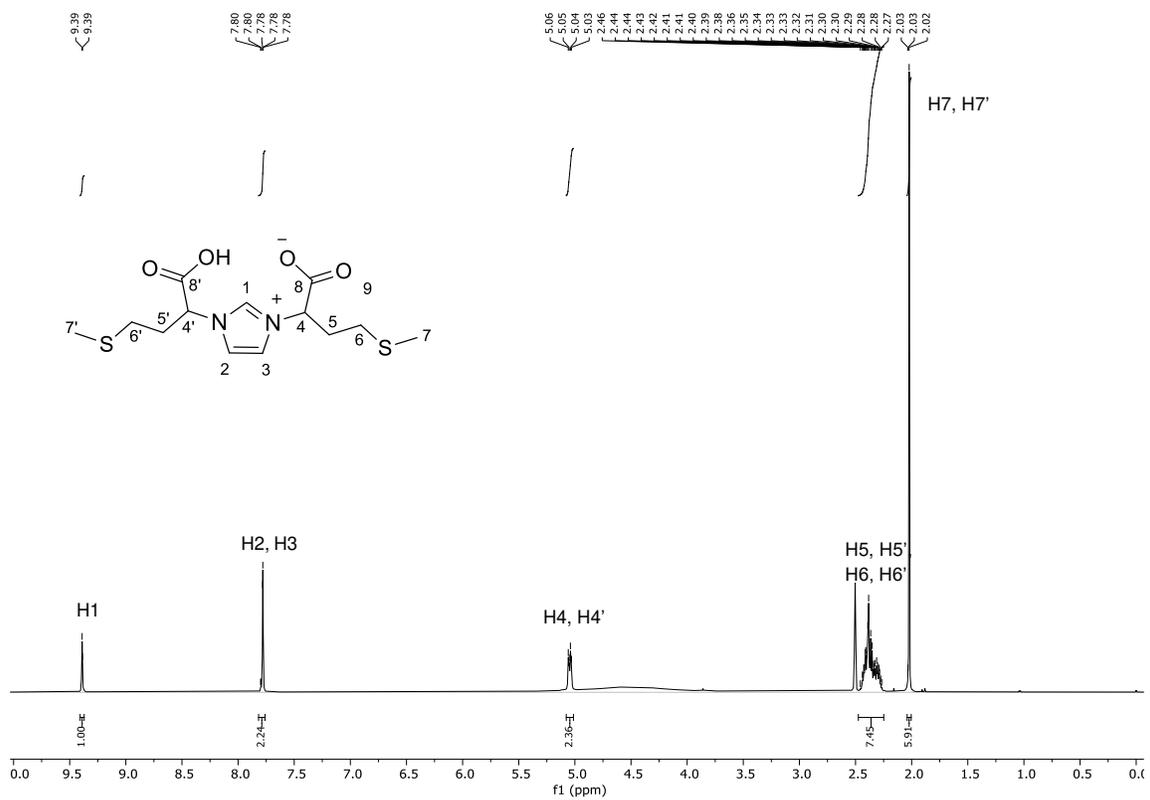


Figura A48. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, DMSO) del compuesto 4i.

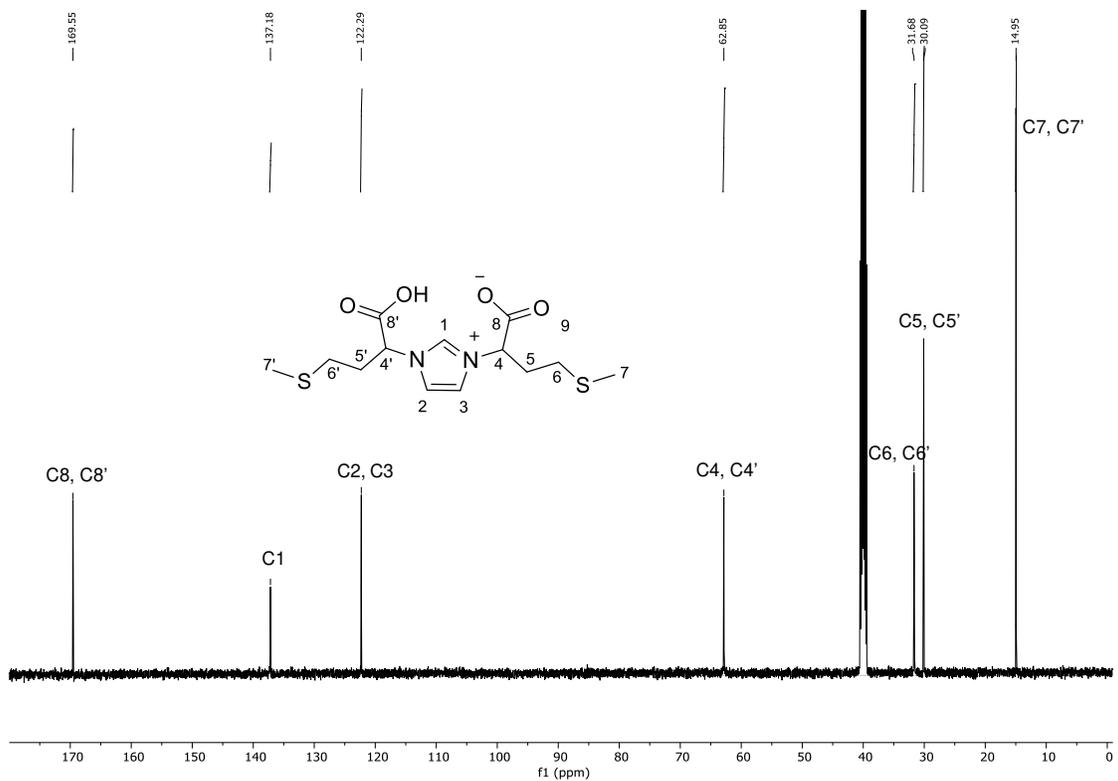


Figura A49. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO) del compuesto 4i.

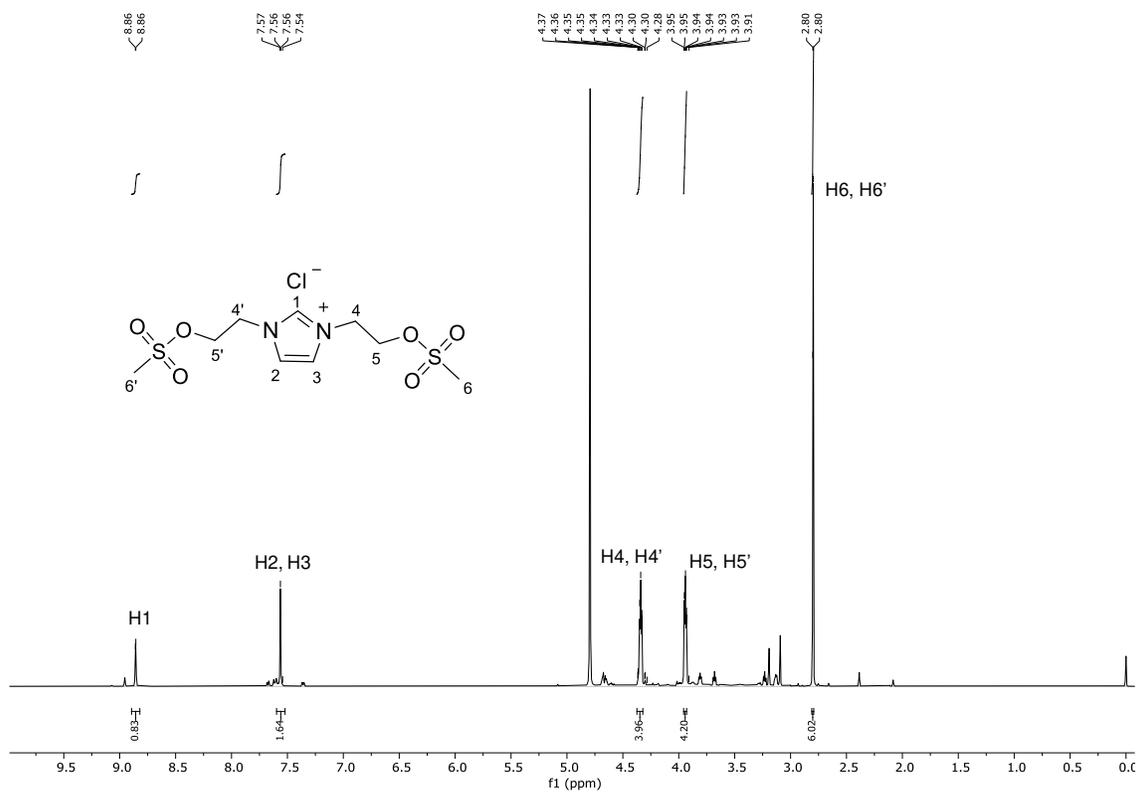


Figura A50. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, D_2O) del compuesto 6a.

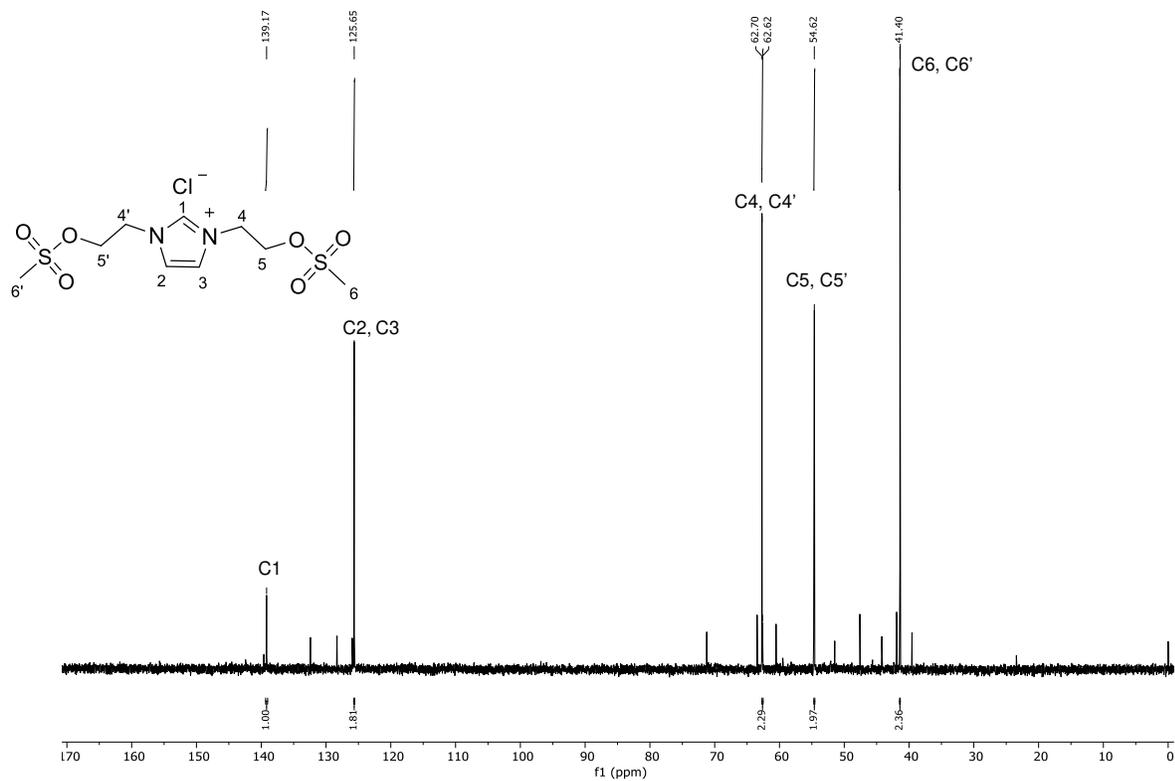


Figura A51. Espectro de RMN ¹³C (125 MHz, D₂O) del compuesto 6a.

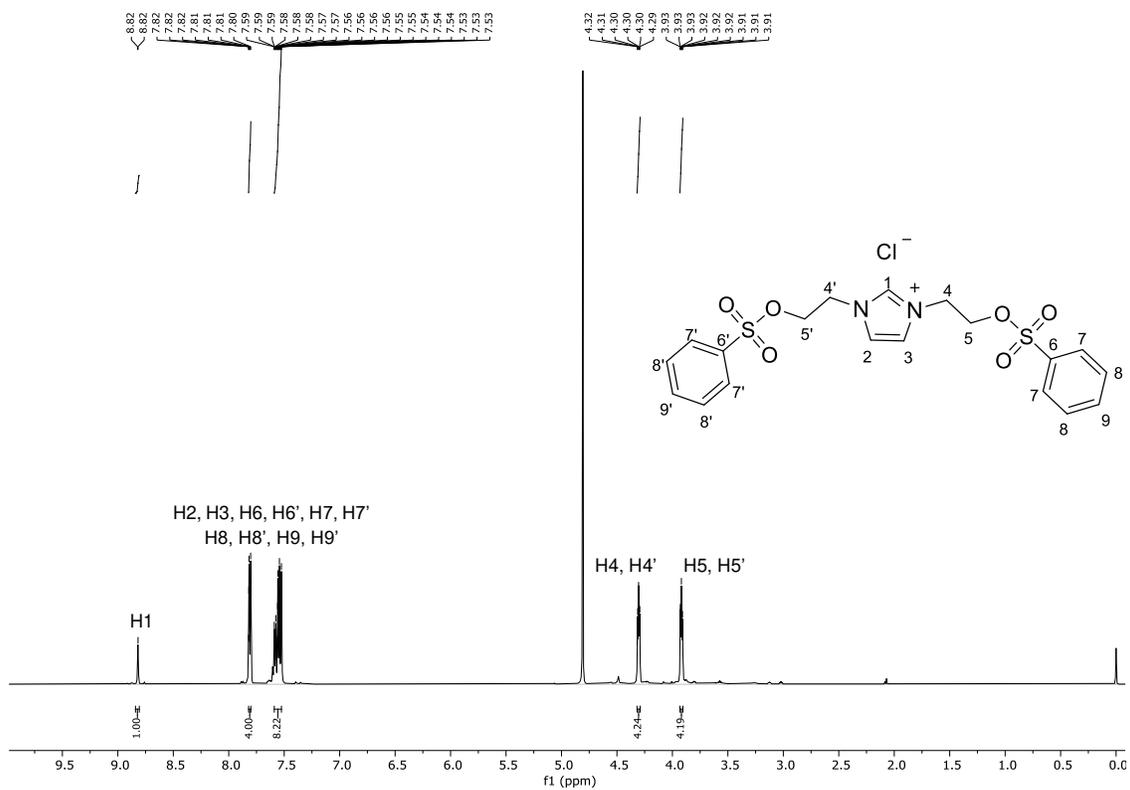


Figura A52. Espectro de RMN ¹H (500 MHz, D₂O) del compuesto 6b.

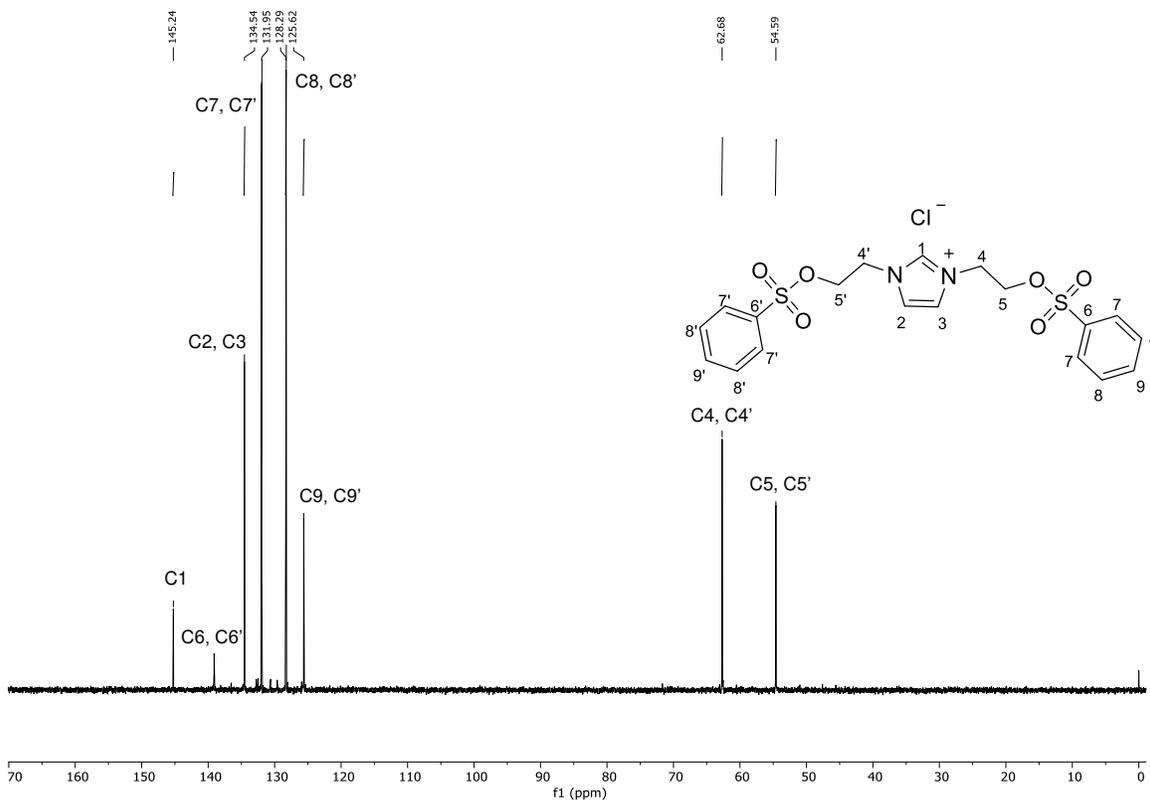


Figura A53. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, D_2O) del compuesto 6b.

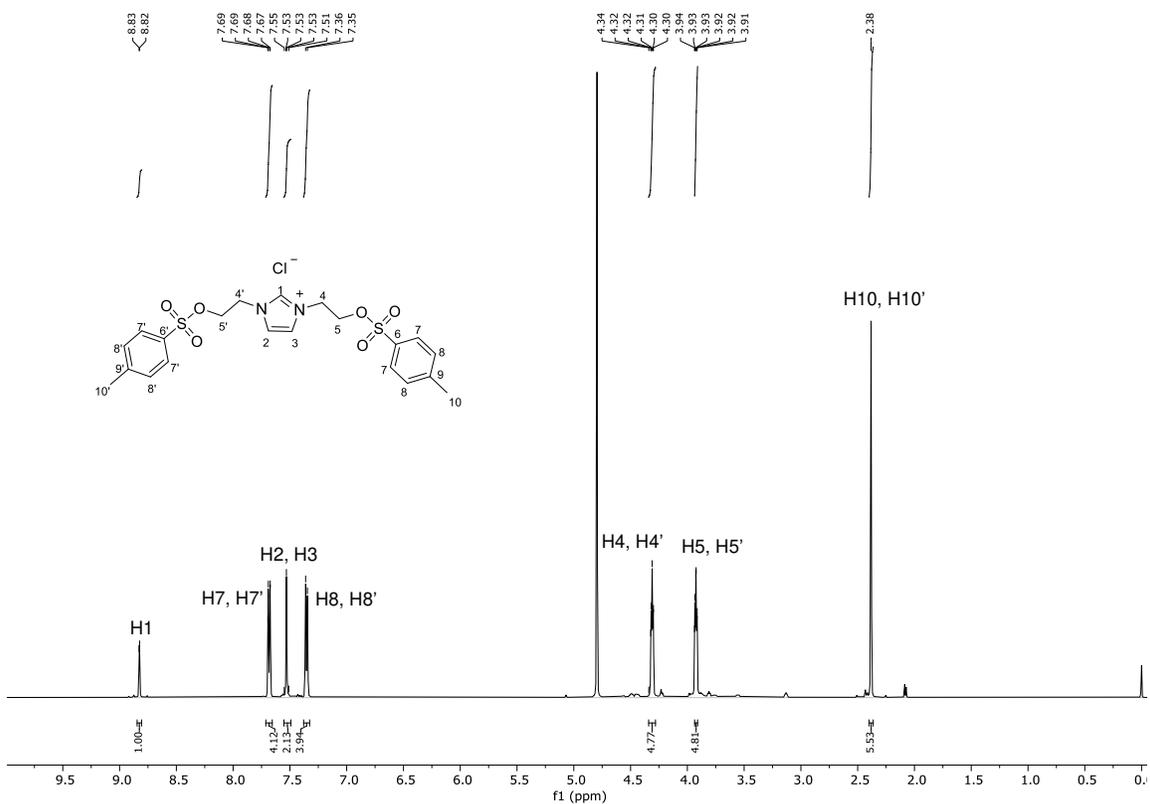


Figura A54. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, D_2O) del compuesto 6c.

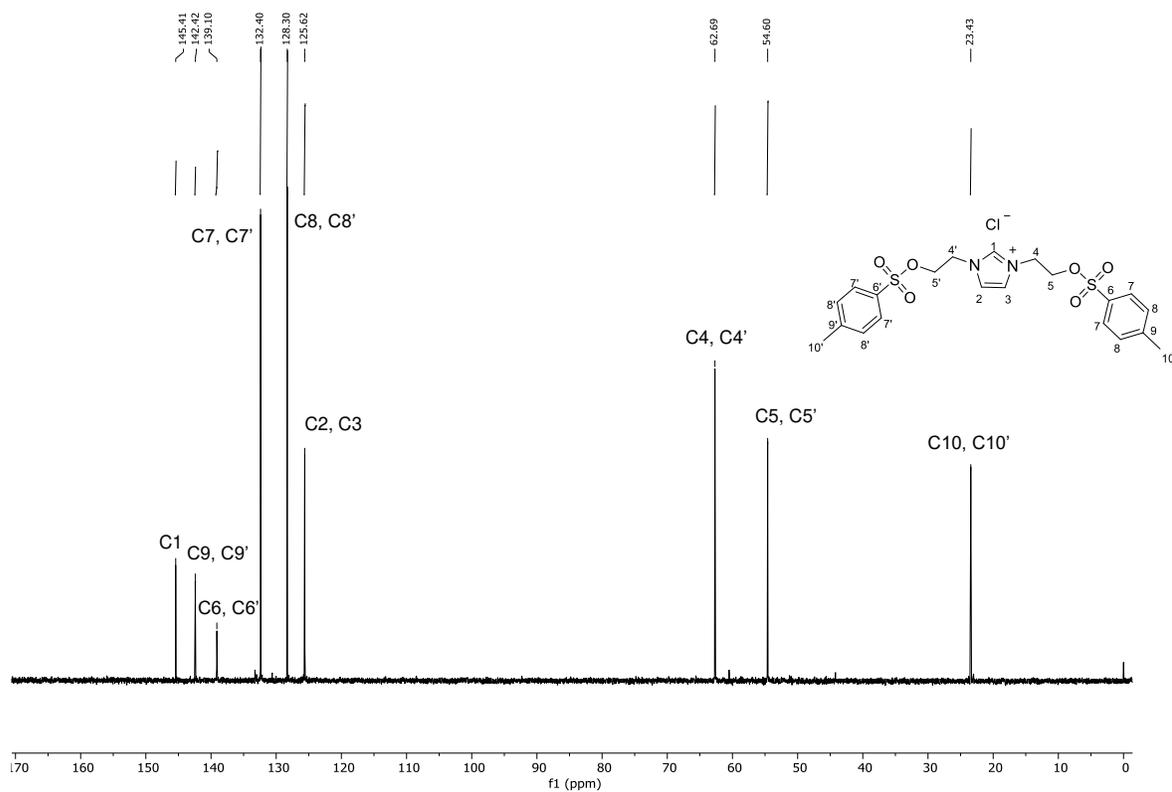


Figura A55. Espectro de RMN ¹³C (125 MHz, D₂O) del compuesto 6c.

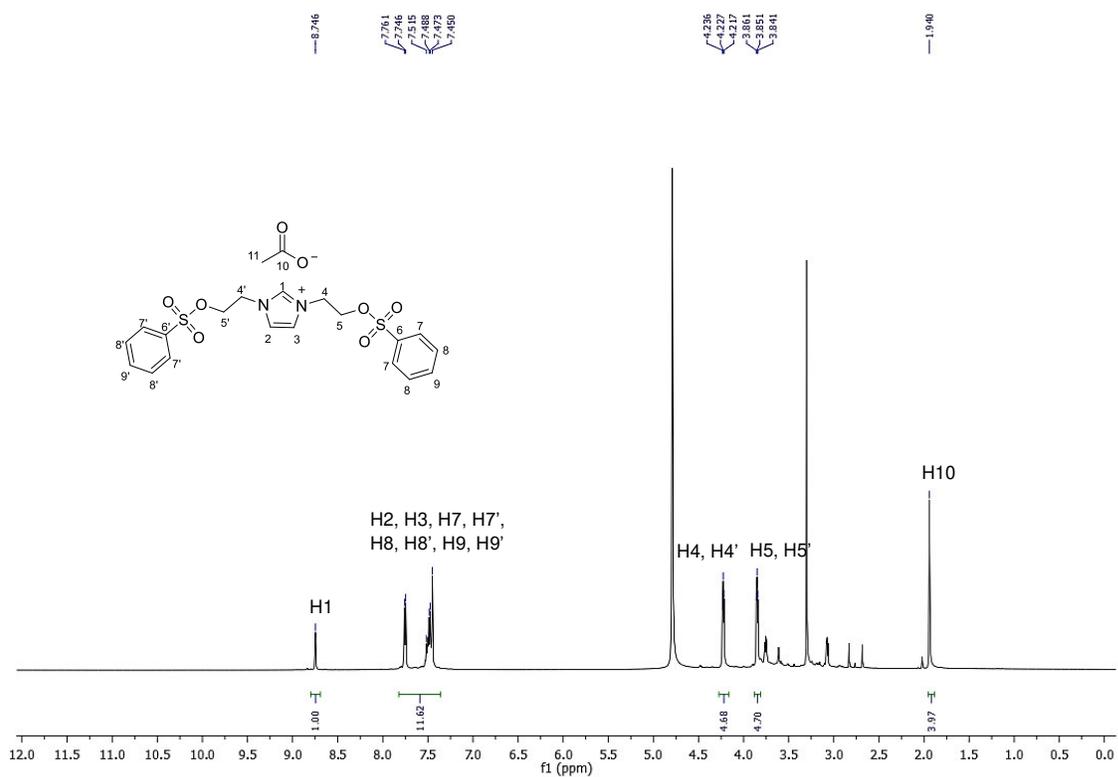


Figura A56. Espectro de RMN ¹H (500 MHz, D₂O) del compuesto 6d.

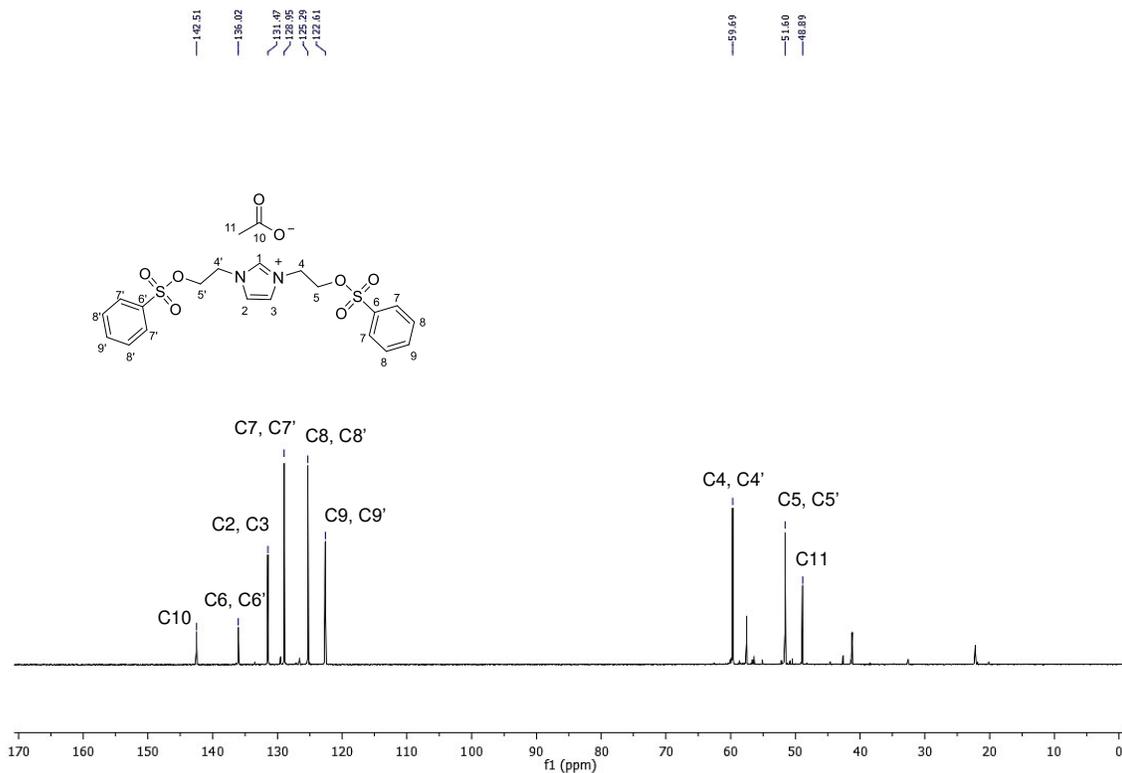


Figura A57. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, D_2O) del compuesto **6d**.

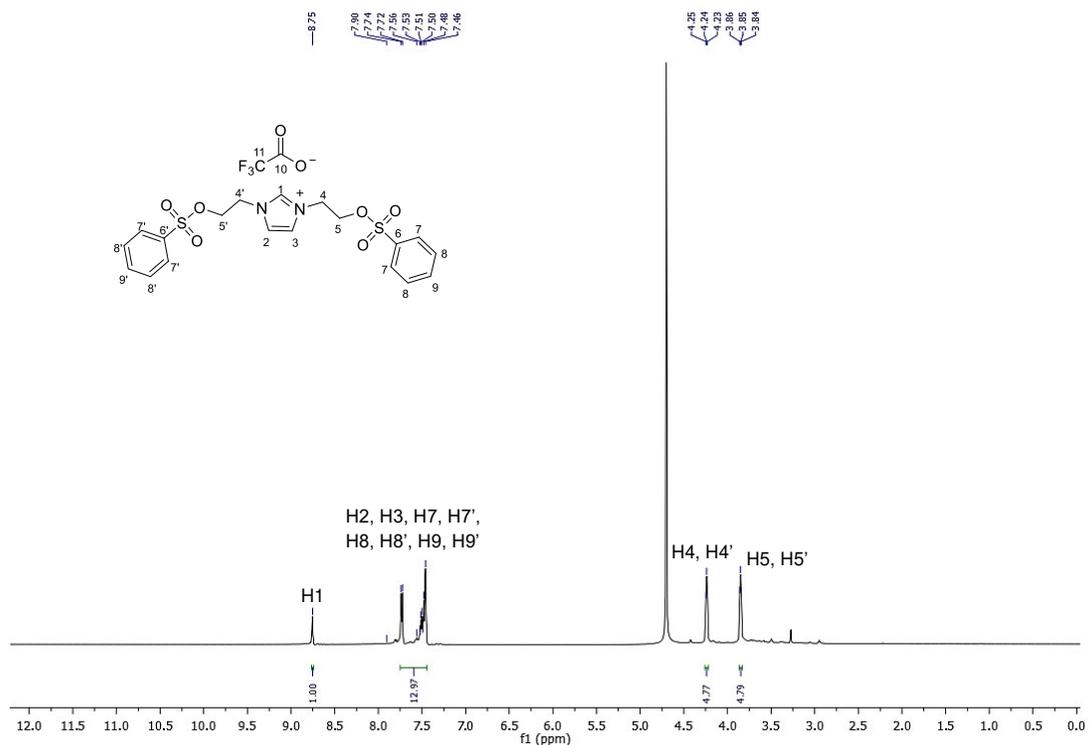


Figura A58. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, D_2O) del compuesto **6e**.

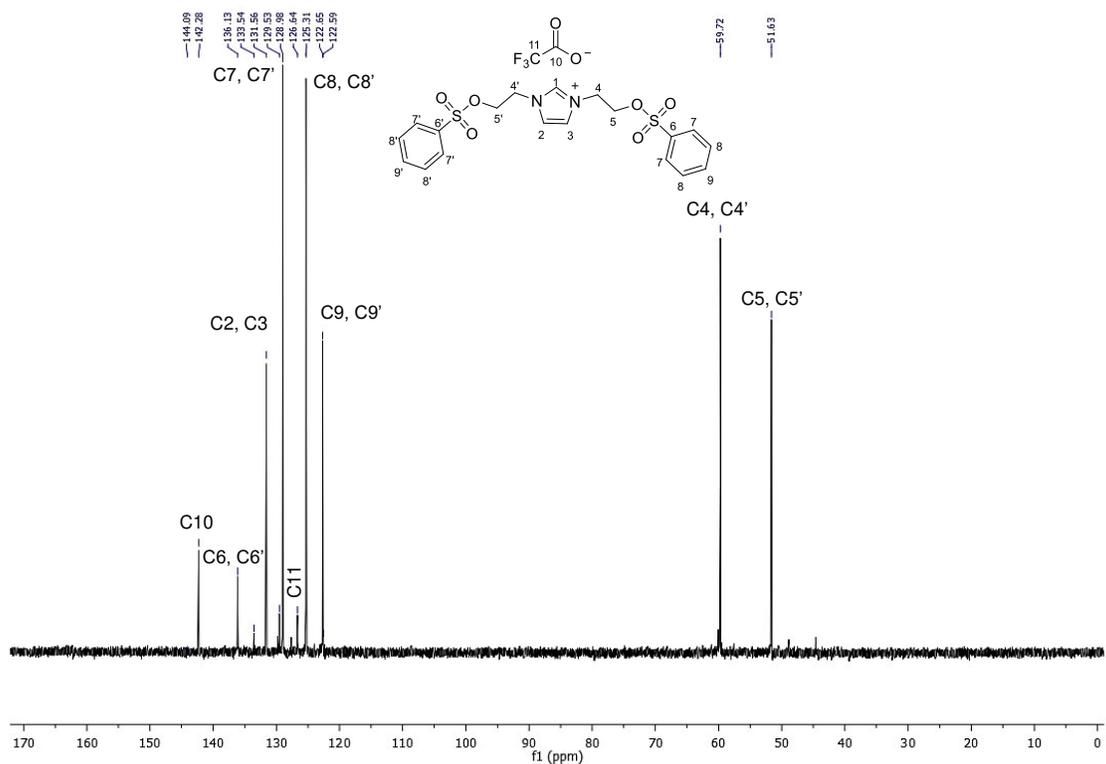


Figura A59. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, D_2O) del compuesto **6e**.

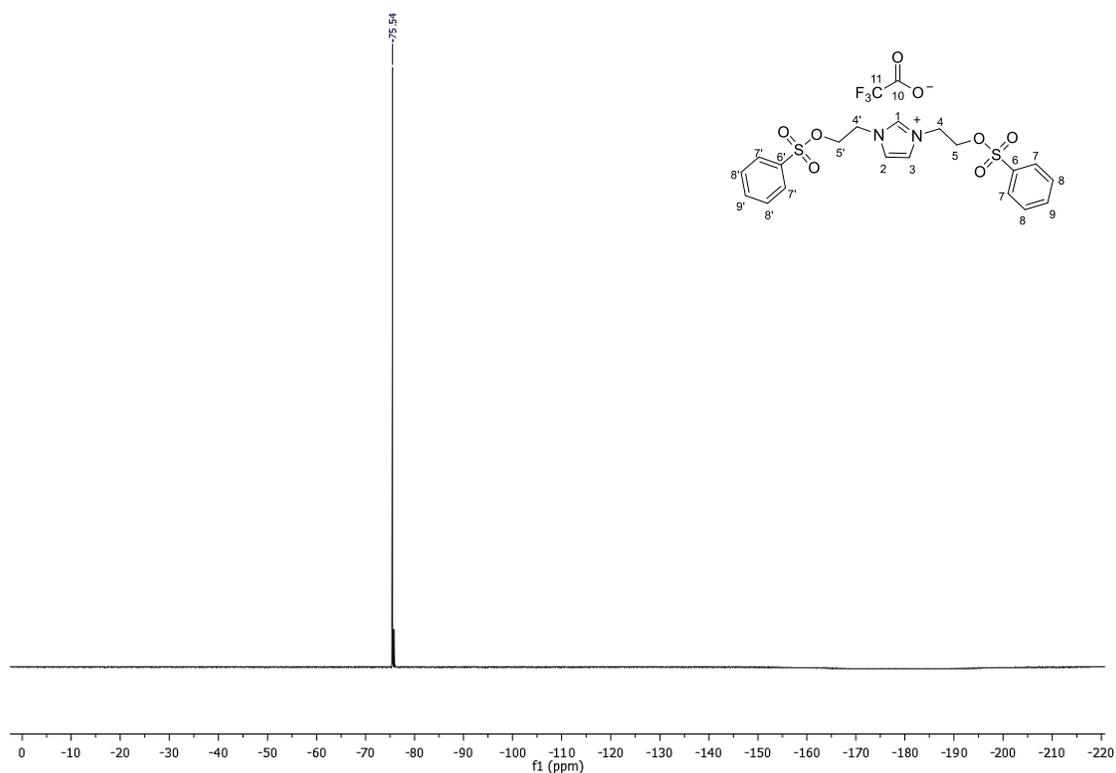


Figura A60. Espectro de RMN ^{19}F (471 MHz, D_2O) del compuesto **6e**.

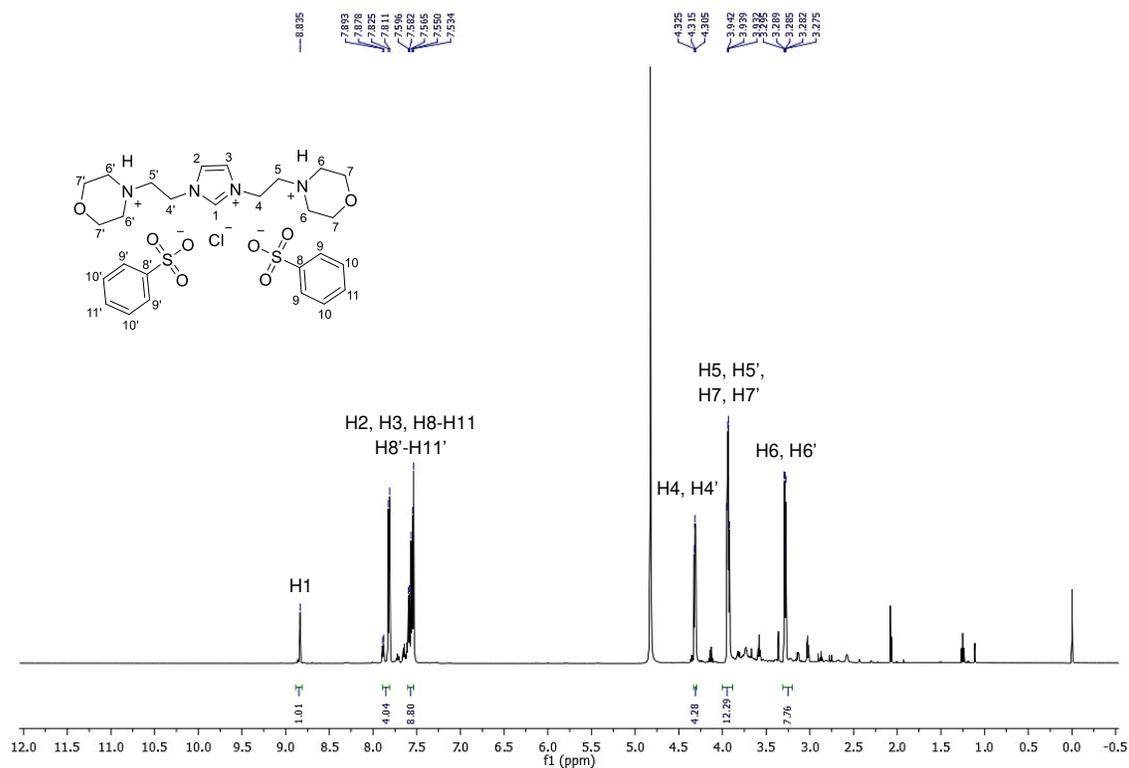


Figura A61. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, D_2O) del compuesto 7d.

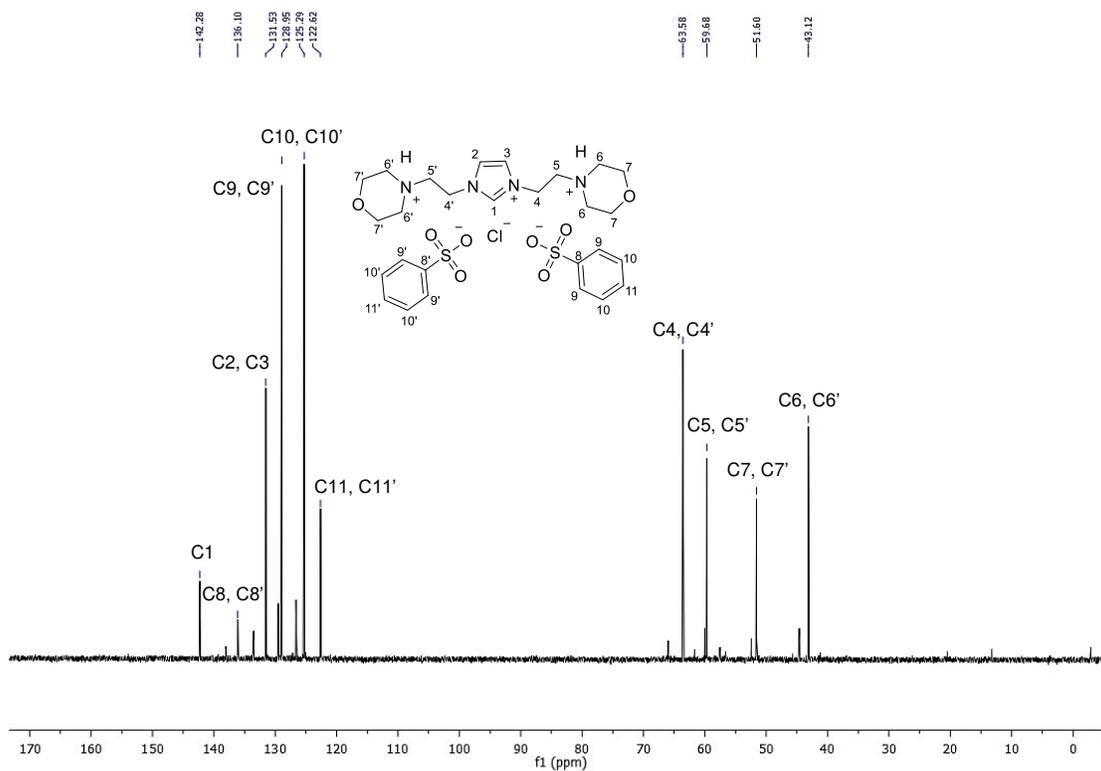


Figura A62. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, D_2O) del compuesto 7a.

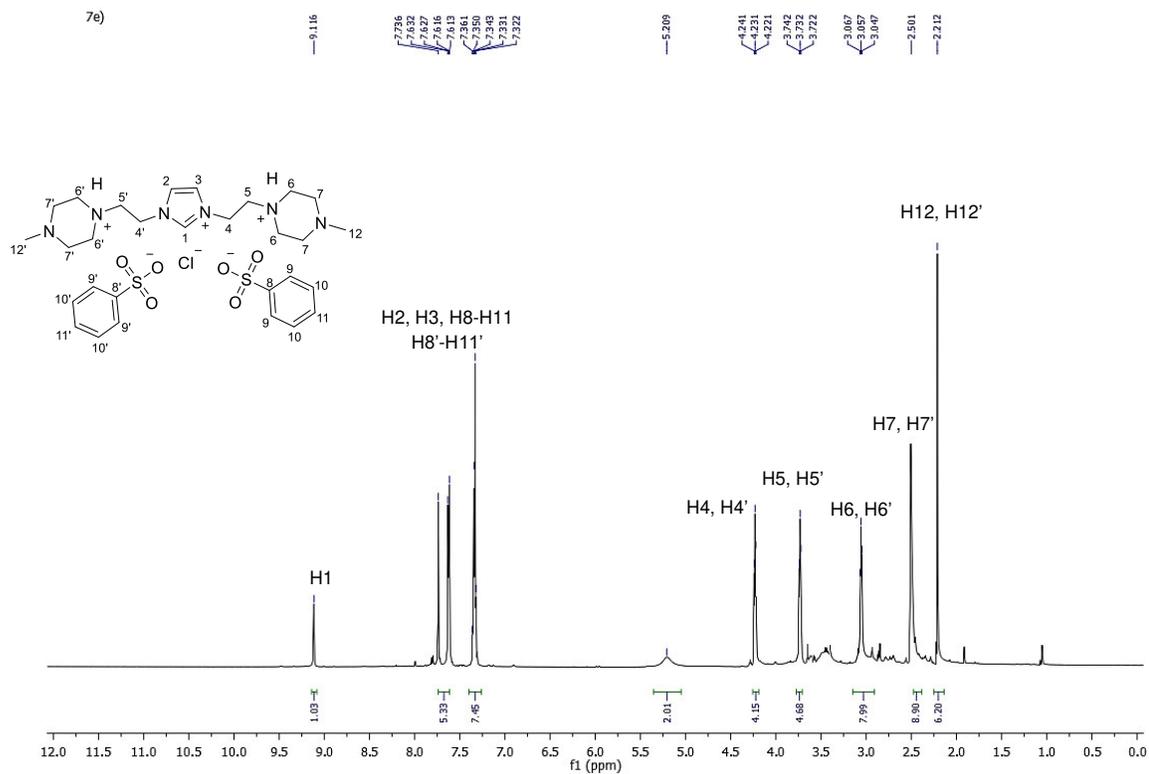


Figura A63. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, DMSO) del compuesto 7e.

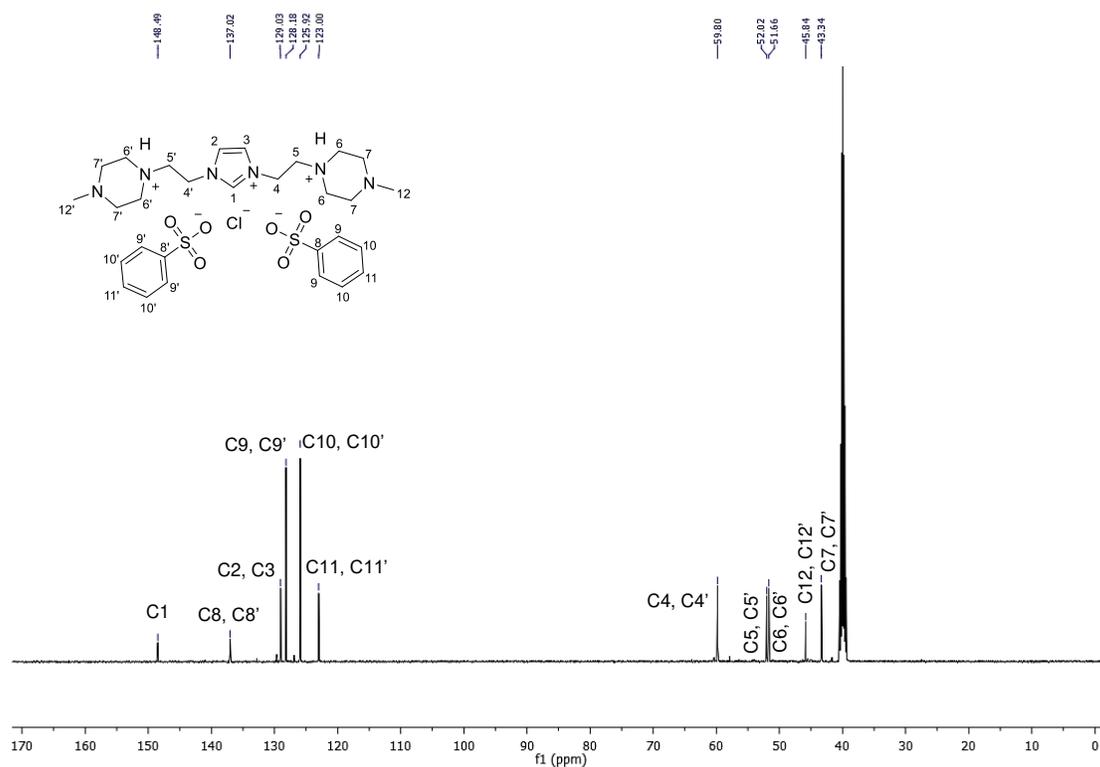


Figura A64. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO) del compuesto 7e.

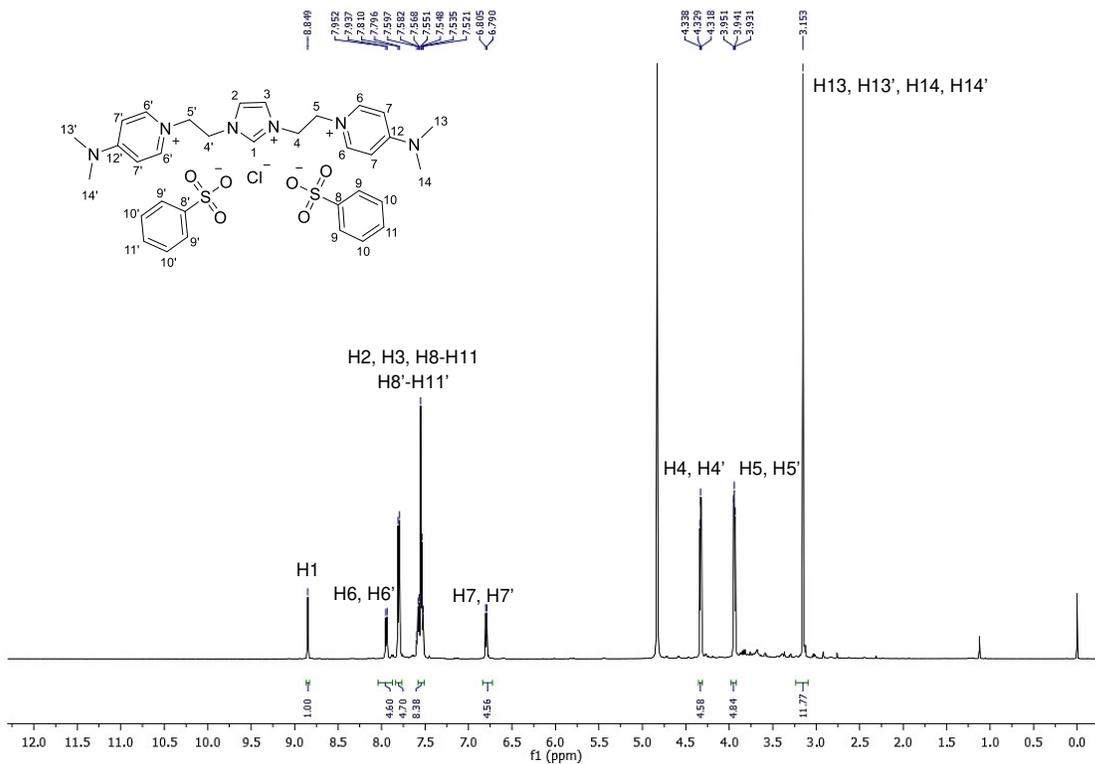


Figura A65. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, D_2O) del compuesto 7f.

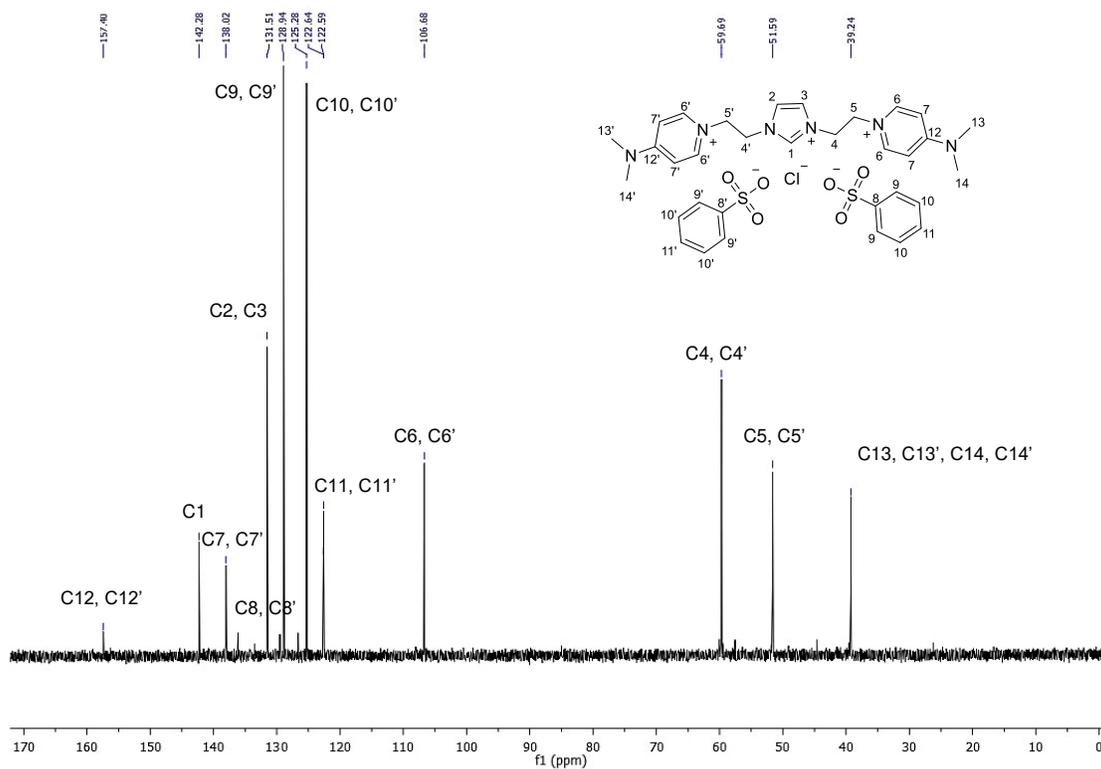


Figura A66. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, D_2O) del compuesto 7f.

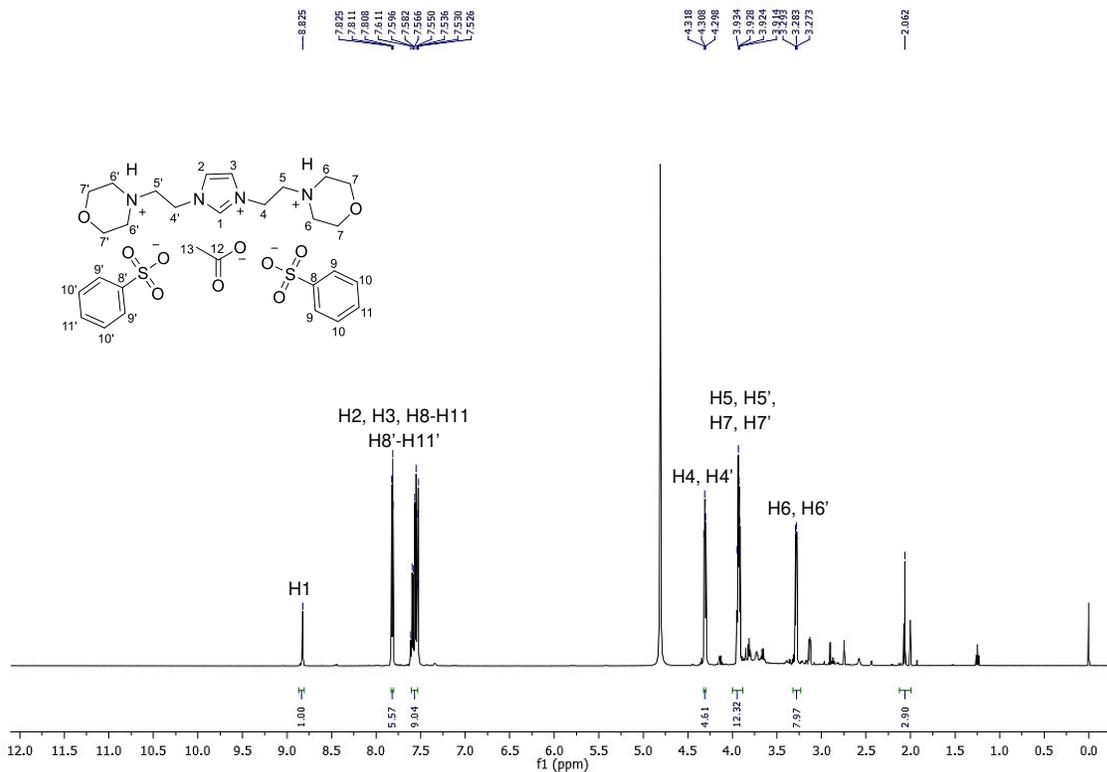


Figura A67. Espectro de RMN ¹H (500 MHz, D₂O) del compuesto 7h.

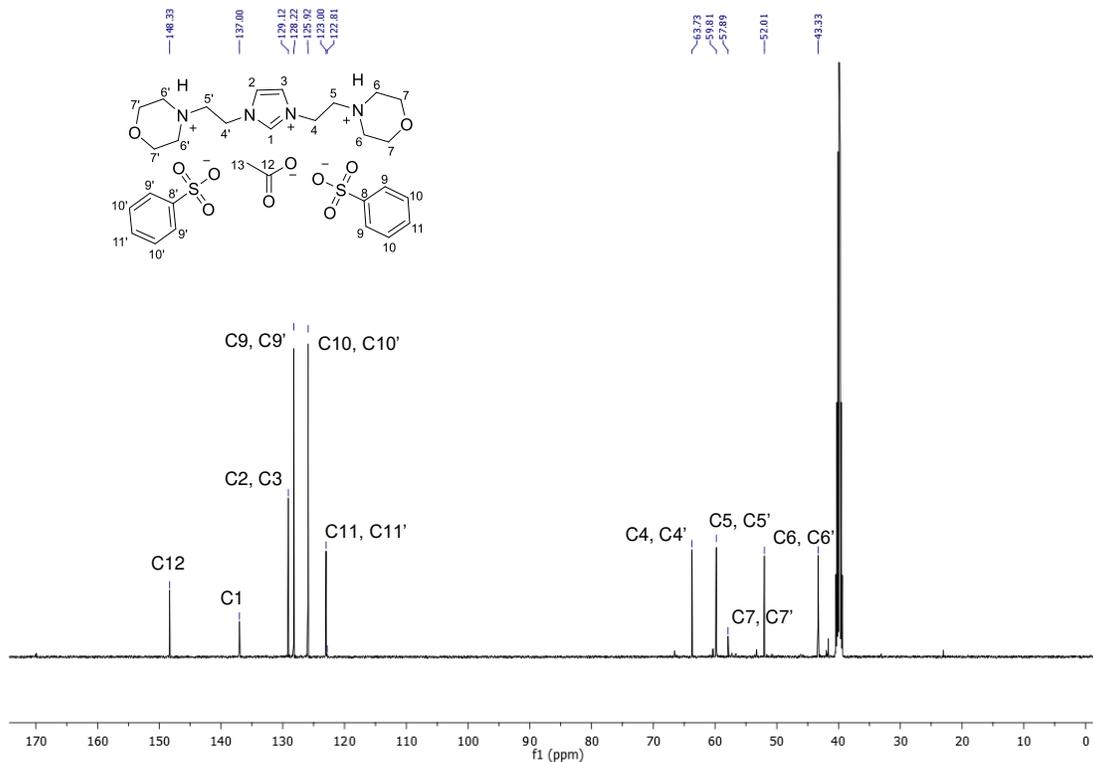


Figura A68. Espectro de RMN ¹³C (125 MHz, DMSO) del compuesto 7h.

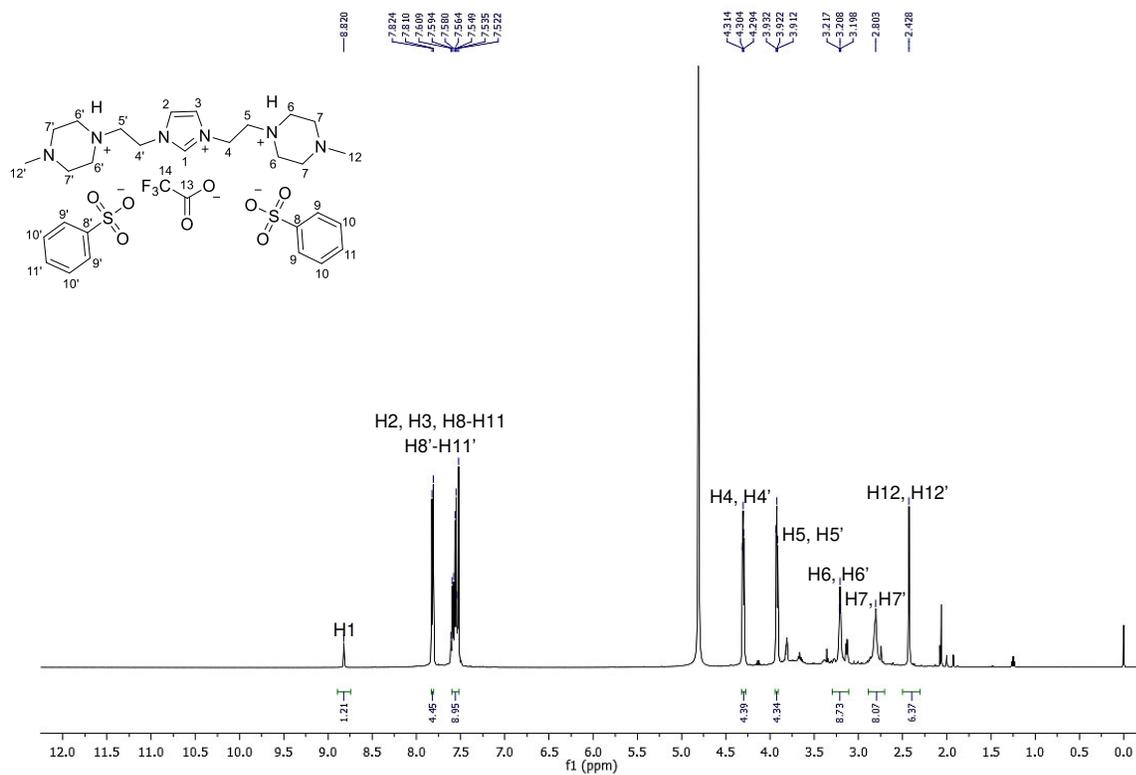


Figura A69. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, D_2O) del compuesto **7m**.

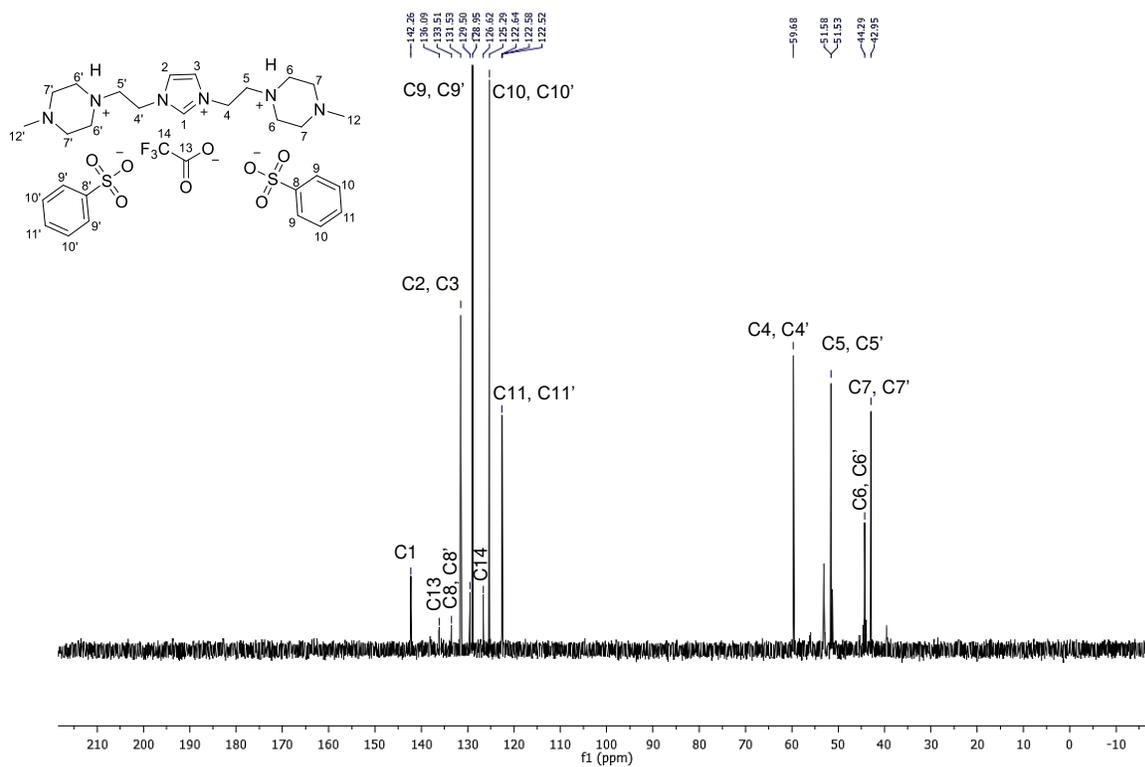


Figura A70. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, D_2O) del compuesto **7m**.

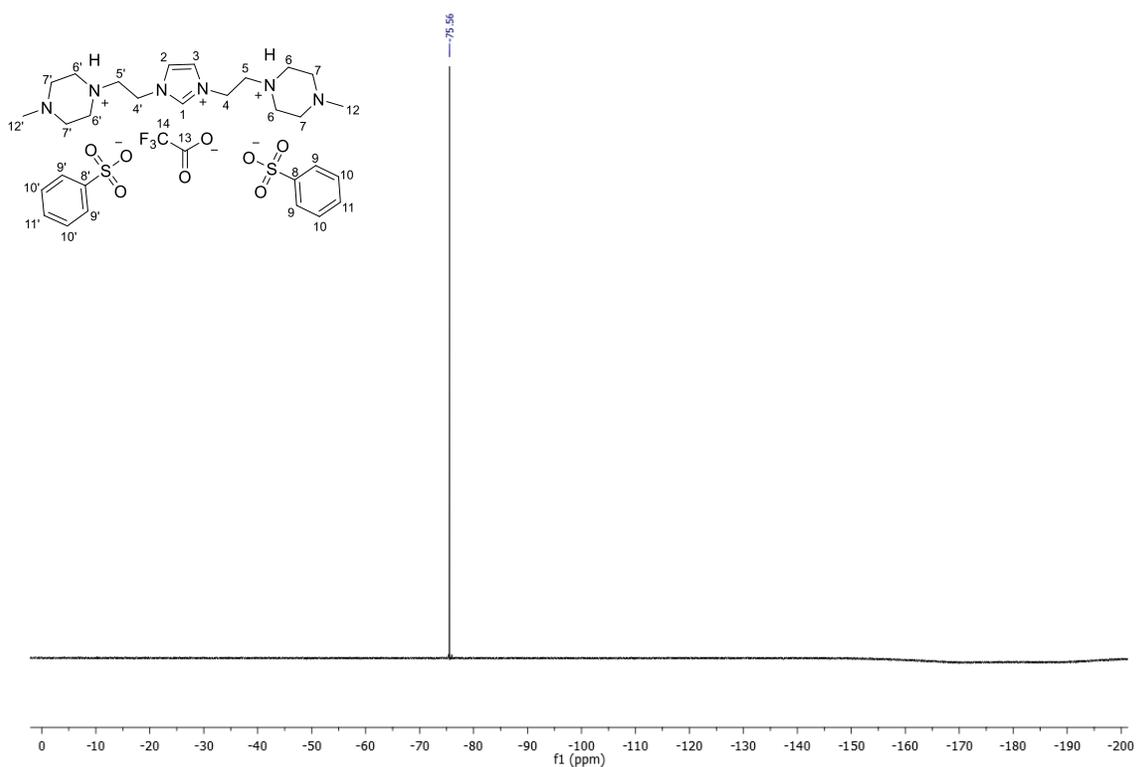


Figura A71. Espectro de RMN ^{19}F (471 MHz, D_2O) del compuesto **7m**.

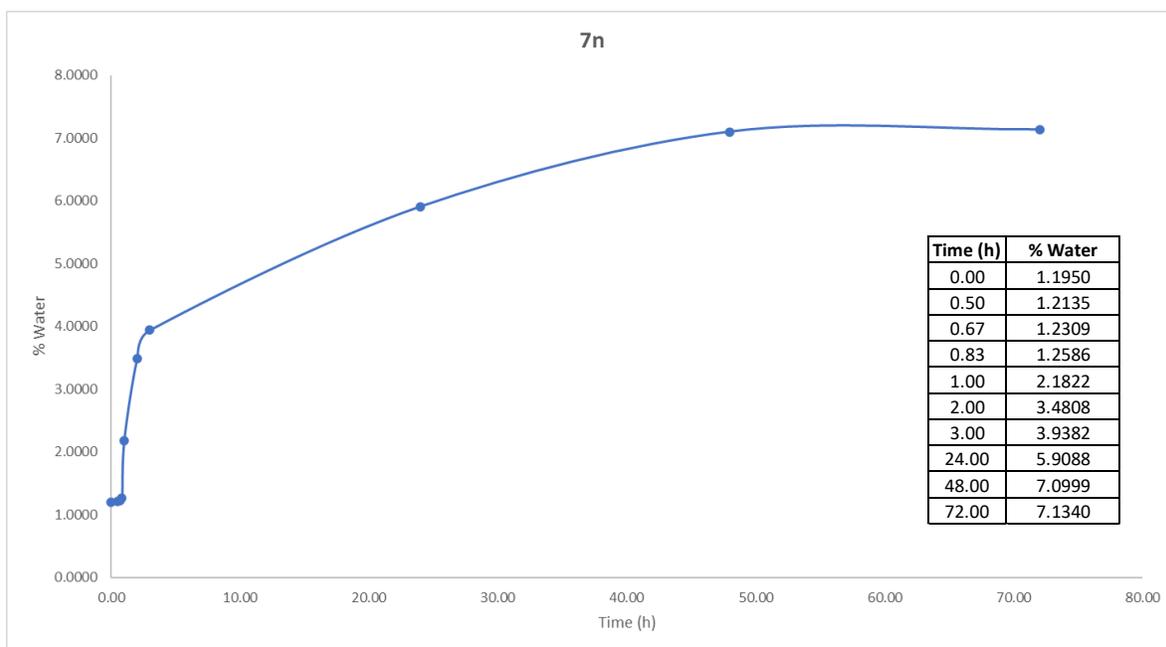


Figura A72. Curva de % de humedad del compuesto **7n** expuesto al ambiente durante 72 h.

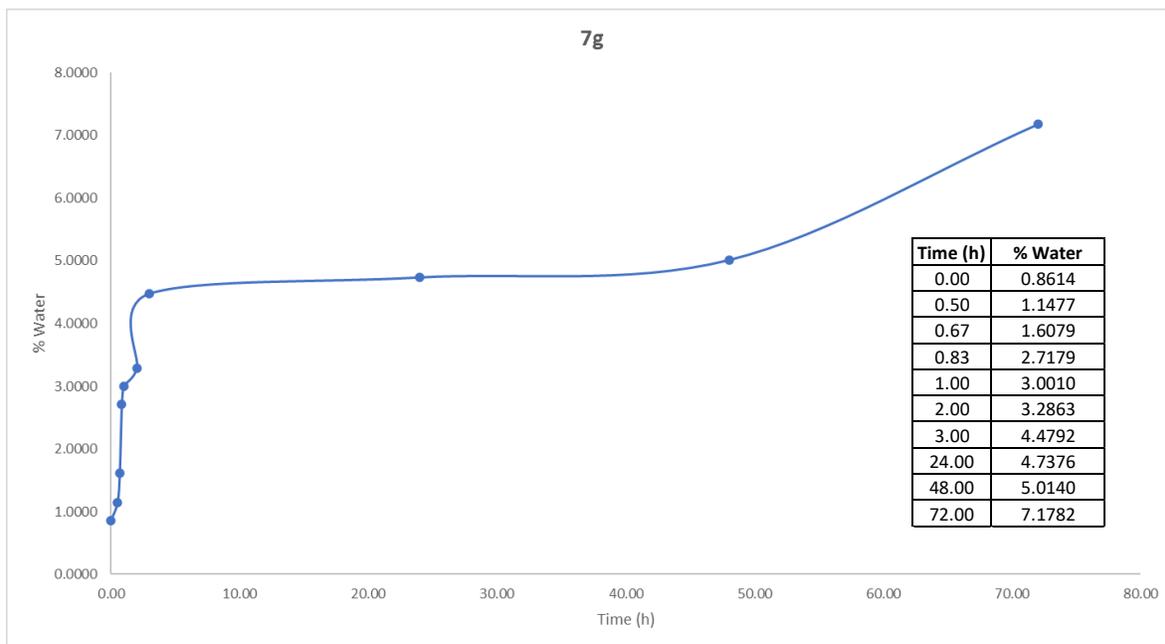


Figura A73. Curva de % de humedad del compuesto **7g** expuesto al ambiente durante 72 h.