

**Un abordaje conceptual y metodológico de la correlación
de la estructura química y
actividad biológica de tres compuestos anticancerígenos y
algunos derivados**

Julián Camilo Chacón Perdomo

Licenciado en Biología y Química
Estudiante de la Maestría en Química
Modalidad profundización
Código:16818220481

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Universidad de Caldas

Manizales, Caldas

27/06/2022

Dedicatoria

A

Las cuatro mujeres de mi vida:

Mi hija que me ha demostrado que con sonrisas y mimos las tardes de estudio se vuelven más amenas, que cuando no fluyen las ideas una pausa activa al lado de ella reavivaban mi imaginación y las ganas de continuar.

Mi hermana que durante todo este camino siempre encontraba las palabras adecuadas para motivarme a acabar este proyecto.

Mi polola que con todos sus consejos se convirtió en la brújula de este proyecto de mi vida y en los momentos de dificultad fue siempre mi apoyo incondicional.

Mi madre que en los momentos de intranquilidad siempre encontraba en sus oraciones un camino hacia la calma.

Un abordaje conceptual y metodológico de la correlación de la estructura química y actividad biológica de tres compuestos anticancerígenos y algunos derivados

Este trabajo se presenta como requisito parcial para optar al título de Magister en Química, en la modalidad de profundización

Julián Camilo Chacón Perdomo

Licenciado en Biología y Química
Estudiante de la Maestría en Química

Director

Rogelio Ocampo Cardona

Doctor en Ciencias Química
Docente titular del Departamento de Química
Universidad de Caldas

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Universidad de Caldas

Manizales, Caldas

27/06/2022

TABLA DE CONTENIDO

Lista de siglas o abreviaturas.....	6
1. Resumen	7
2. Planteamiento del problema.....	9
3. Justificación	12
4. Objetivos.....	14
4.1 General.....	14
4.2 Específicos.....	14
5. Metodología	15
5.1 Generalidades.....	15
5.2 Metodología específica por subtemas	17
5.2.1 Subtema sobre estudios de relación estructura actividad (SAR).....	17
5.2.2 Subtema sobre estudios de relación estructura actividad de taxol en cáncer	18
5.2.3 Subtema sobre estudios de relación estructura actividad de líquidos iónicos de imidazolio en cáncer.....	19
5.2.4 Subtema sobre estudios de relación estructura actividad de sales de amonio cuaternario en cáncer.....	20
6. Resultados y discusión.....	21
6.1 Estudios de relación estructura actividad (SAR)	21
6.1.1 ¿Por qué realizar un estudio SAR?.....	22
6.1.2 Algunas investigaciones que constituyen la historia de SAR	23
6.1.3 Generalidades de los estudios SAR.....	24
6.1.3.1 Caracterización de compuestos químicos para los estudios SAR.....	26
La estructura molecular y propiedades fisicoquímicas	26
Descriptores unidimensionales (1D)	30
Descriptores bidimensionales (2D)	30
Descriptores tridimensionales (3D).....	31
6.1.3.2 Determinación de la actividad biológica de los compuestos anticancerígenos	31
Ensayo de reducción MTT.....	31
Ensayo de unión a microtúbulos	32
6.1.3.3 Algunos métodos quimiométricos utilizados para los estudios SAR	33
Análisis de componentes principales	34
K-vecino más cercano	34
Árbol de decisión (Decision Tree).....	36

Bosque aleatorio (Random Forest)	38
6.1.3.2 Software para estudios SAR	39
6.2 El cáncer como área de estudio	41
6.3 Estudios de relación estructura actividad de taxol en cáncer	45
6.3.1 Generalidades	45
6.3.2 Los taxanos y su actividad anticancerígena	48
6.3.3 El taxol (paclitaxel) y algunos estudios de relación estructura actividad (SAR)	51
6.3.3.1 Efecto de las modificaciones en los anillos del paclitaxel sobre su actividad anticancerígena	52
6.3.3.2 Modificaciones en la cadena lateral C-13 y su remoción en el paclitaxel	53
6.3.3.3 Estudios SAR del paclitaxel en la actualidad	54
6.4 Estudios de relación estructura actividad de líquidos iónicos de imidazolio en cáncer	56
6.4.1 Algunas generalidades sobre líquidos iónicos de imidazolio	57
6.4.2 Líquido iónico de imidazolio y su actividad anticancerígena	62
6.4.3 Líquidos iónicos de imidazolio y algunos estudios de relación estructura actividad (SAR) en cáncer	63
6.4.3.1 Efecto de la variación en la cadena lateral del imidazolio en la actividad anticancerígena	64
6.4.3.2 Efecto de la variación del anión del imidazolio en la actividad anticancerígena	66
6.4.3.3 Técnicas para los estudios SAR en LIs de imidazolio	67
6.5 Estudios de relación estructura actividad SAR de sales de amonio cuaternario en cáncer	68
6.5.1 Generalidades	68
6.5.2 Sales de amonio cuaternario y su actividad anticancerígena	70
6.5.3 Sales de amonio cuaternario y algunos estudios de relación estructura actividad (SAR)	77
6.5.3.1 Derivados de quitosano de amonio cuaternario	77
6.5.3.2 Derivados de diosgenina amonio cuaternario	78
6.5.3.3 Derivados de quinuclidina de geldanamicina amonio cuaternario	82
7. Conclusiones	86
8. Bibliografía	88

Lista de siglas o abreviaturas

CTAB	Bromuro de cetiltrimetilamonio
DAPI	4'6-diamidino-2-fenilindol.
DOTAP	Cloruro de 1,2-dioleoil-3-trimetilamonio-propano
GA	“Genetic Algorithm”. Algoritmo genético
GDP	Guanosín difosfato
GTP	Guanosín trifosfato
IC₅₀	“half maximal Inhibitory Concentration”. Concentración inhibidora media máxima
Ile	Isoleucina
im	Imidazolio
K-NN	K vecino más cercano
LD₅₀	“median Lethal Dosis”. Dosis letal media
LIs	Líquidos Iónicos
MIC	“Minimum Inhibitory Concentrations”. Concentración inhibitoria mínima
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol
OD	“Optical Density”. Densidad óptica
PCA	“Principal Component Analysis”. Análisis de componentes principales
QSAR	“Quantitative Structure Activity Relationship”. Relación cuantitativa estructura actividad
QSPR	“Quantitative Structure Property Relationship”. Relación cuantitativa estructura propiedad
QTB	Química teórica y bioinformática
RF	“Random Forest”. Bosque aleatorio
RNS	Especies reactivas de nitrógeno
ROS	Especies reactivas de oxígeno
SAR	“Structure Activity Relationship”. Relación estructura actividad
TI	“Topological Index”. Índice topológico
Trp	Triptófano
Val	Valina

1. Resumen

Los estudios de correlación estructura química actividad biológica conocidos por sus siglas en inglés como SAR, son métodos sistemáticos que permiten analizar compuestos candidatos a fármacos anticancerígenos y sus efectos fisiológicos en líneas celulares de cáncer. También, permiten evaluar las tendencias citotóxicas de compuestos en el laboratorio, diseñar o modificar fármacos, realizar estudios farmacocinéticos y de interacción del receptor de algunas drogas. Todo esto abordado desde las áreas de la química, biología y estadística; utilizando descriptores moleculares, resultados de ensayo *in vivo* e *in vitro* y métodos quimiométricos que permiten evaluar y determinar cuál es el compuesto óptimo para ser candidato a fármaco anticancerígeno.

Este trabajo aborda el acopio y análisis documental, con enfoque principalmente conceptual alrededor de la pregunta ¿en qué consiste una correlación entre la estructura química y la actividad biológica, y su aplicación a algunos compuestos anticancerígenos del tipo taxano (paclitaxel), líquidos iónicos imidazólicos y sales de amonio cuaternaria? Se explica qué es un estudio de correlación estructura actividad, su posible abordaje metodológico investigativo, y en qué datos *in vitro* se apoya un estudio SAR.

Uno de los tratamientos para combatir el cáncer es el uso de fármacos, estos interactúan con una diana específica en la célula cancerígena ocasionando que se inicien procesos apoptóticos, uno de los más utilizados es el paclitaxel (o taxol) el cual interactúa con la β -tubulina afectando la dinámica de los microtúbulos lo que genera una formación anormal del huso mitótico que desencadena en la muerte celular. Por otra parte, los candidatos a fármacos como los líquidos iónicos de imidazolio pueden inducir citotoxicidad mediante estrés oxidativo aumentando las especies reactivas de oxígeno intracelular (ROS) y disminuyendo las actividades enzimáticas antioxidantes. De manera análoga, algunos fármacos que en su estructura tienen la presencia de sales de amonio cuaternario pueden generar inhibición de especies reactivas de oxígeno intracelular o alterar la función normal de proteínas como MPAK y la Hsp90, lo cual da comienzo a los procesos de apoptosis.

Con respecto a los estudios SAR del paclitaxel, se demuestra que todas las modificaciones que se realicen en las posiciones C-13, C-4, la posición en el anillo benzoílo del C-2, el anillo oxetano y la fenilisoserina en el C-13 están relacionadas con la pérdida, reducción o aumento de su actividad anticancerígena, además, para que el taxol interactúe con la β -tubulina se indica que debe adoptar una conformación T-taxol.

De otra parte, en los LIs de imidazolio se resalta que la aromaticidad del compuesto, el aumento de los carbonos en la cadena lateral y el aumento de la polaridad, pueden contribuir a la actividad anticancerígena.

Adicionalmente, las sales de amonio cuaternario se utilizan para generar mayor solubilidad, biodisponibilidad y protección en el fármaco del cual hacen parte. Pero no se argumenta que la presencia de éstas pueda estar relacionada con una actividad anticancerígena.

2. Planteamiento del problema

El cáncer es un área importante de interés en las ciencias de la vida porque ha sido una enfermedad mortal en toda la historia humana. Algunos científicos consideran que el cáncer no es una enfermedad sino un gran grupo de enfermedades caracterizadas por crecimiento incontrolado y propagación de células anormales.¹ El ciclo de vida de una célula está constituido por cuatro fases: fase G1 y G2 donde la célula está creciendo y se prepara para su división, la fase S donde se replica el ADN y la fase de la mitosis donde la célula inicia su proceso de división.^{2,3} Algunas alteraciones en estas fases o etapas pueden conducir a la producción de células cancerígenas como, por ejemplo, el fallo de los procesos de reparación de la replicación del ADN en la fase S y el daño de la interpretación de las señales de división en la mitosis.^{2,3} Como estas células pierden la capacidad de detener el proceso de división, los investigadores buscan compuestos químicos (fármacos) que bloqueen el proceso de mitosis para activar el proceso apoptosis lo que genera la muerte de estas células.⁴ Estos fármacos actúan sobre procesos en el ciclo celular o dianas que son estructuras celulares que intervienen en el proceso de división celular.^{4,5}

Un paso fundamental para el desarrollo de fármacos para el tratamiento del cáncer es el entendimiento de los métodos de investigación que se utilizan y la ejemplificación de estos procesos. De ahí que la recopilación de las teorías, el análisis de las estrategias de investigación y la comprensión de los ejemplos disponibles, son de gran valor para los investigadores, una forma de explicar, agrupar y destacar esta información es a través de las revisiones bibliográficas.

Los estudios de relación estructura actividad conocidos por sus siglas en inglés SAR, es una estrategia de investigación que busca relacionar las características estructurales de un compuesto químico con una propiedad o efecto.^{6,7} Son utilizados para la predicción y caracterización de compuestos, el diseño o modificación de fármacos, estudios de interacción entre el compuesto y su diana, efectos ecológicos y determinación de grupos funcionales importantes en la actividad biológica.^{8,9} Dada la importancia que tienen los estudios SAR en el diseño de fármacos, los cuales permiten el ajuste de las estructuras moleculares, realizando

cambios estratégicos, para generar una menor toxicidad, una mayor bioactividad y mejor biodisponibilidad del compuesto, es necesario comprender su aplicación en algunos compuestos anticancerígenos.^{8,10}

Para iniciar el acopio de la información científica con el fin de realizar el análisis documental sobre la temática de este trabajo, se realizó una búsqueda en la base de datos referencial de Scopus sobre los estudios de relación estructura actividad en las tres clases de compuestos anticancerígenos de tipo taxano, líquidos iónicos y sales de amonio cuaternario, y se encontró poca literatura al respecto.

Por una parte, el taxol o paclitaxel, es un medicamento de primera línea para el tratamiento de diferentes tipos de cáncer.¹¹⁻¹⁴ Es una de las moléculas más estudiadas en la cual se buscan modificaciones que mejoren aún más su actividad anticancerígena o tomar partes de su estructura para acoplarlas a moléculas similares y así darle la capacidad de interactuar con su diana y obtener el efecto anticancerígeno. De ahí que se encuentre mucha literatura sobre todas las modificaciones realizadas a la fecha, pero muy poca que correlacione la parte teórica de SAR con la parte experimental aplicada a este compuesto.

Adicionalmente, se revisó literatura sobre los compuestos del tipo líquidos iónicos de imidazolio que son sales orgánicas donde la mayoría de sus cationes son no metálicos. Presentan efectos antiproliferativos en diferentes líneas celulares las cuales se asocian a la presencia del anillo de imidazolio N-sustituido que se encuentra presente en múltiples productos naturales y moléculas bioactivas en el metabolismo humano.¹⁵⁻¹⁹ De igual manera que en el caso anterior, en la literatura se reportan modificaciones realizadas a la fecha, pero muy poca que correlacione la parte teórica de SAR con la parte experimental aplicada a este tipo de compuestos.

De otra parte, el tercer tipo de compuestos de interés de este trabajo, son las sales de amonio cuaternario, que se utilizan como solubilizantes de fármacos anticancerígenos, permitiendo una mayor eficacia de encapsulación, mejor liberación y protección. En la actualidad las investigaciones se centran en determinar si estas sales presentan algún tipo de interacción

con una diana específica y tiene alguna influencia en la actividad anticancerígena.^{20,21} Sin embargo, no hay literatura sobre estudios SAR específicos.

A partir del análisis de la literatura disponible, no se encontró un trabajo que aborde el acopio y análisis documental, con enfoque principalmente conceptual sobre la correlación entre la estructura química y la actividad biológica, y su aplicación en compuestos del tipo taxano (paclitaxel), líquidos iónicos imidazólicos y sales de amonio cuaternario. Este acopio documental es de gran importancia y pertinencia de cara a la generación y desarrollo de nuevos proyectos de investigación en química medicinal.

Por lo anterior, en este trabajo de grado se responde a la siguiente pregunta de investigación: ¿Cómo es la correlación entre la estructura química y la actividad biológica, y su aplicación de compuestos anticancerígenos del tipo taxano (paclitaxel), líquidos iónicos imidazólicos y sales de amonio cuaternario?, a partir de un análisis documental, con enfoque principalmente conceptual. Adicionalmente se explica qué es un estudio SAR, su posible abordaje metodológico investigativo, y en qué datos in vitro se apoya un estudio SAR.

3. Justificación

Los atributos biológicos de los fármacos dependen de su estructura molecular que define una serie de características fisicoquímicas que los hacen interactuar con receptores biológicos específicos. Para valorar el grado de interacción de la actividad del ligando con el receptor biológico se deben tener en cuenta sus diferentes propiedades como la farmacocinética, la química y la física de su estructura molecular, la fisicoquímica y la interacción ligando-receptor. Dicha información puede ayudar a establecer un enfoque organizado para el diseño de fármacos y el entendimiento de su bioactividad.⁸

Hay formas apropiadas de interacción entre los compuestos y su respectiva diana para lograr una actividad farmacológica efectiva. Una mayor información sobre la estructura molecular de un medicamento y su mecanismo de acción biológica conduce a una mejor comprensión para la investigación del medicamento óptimo. Estas propiedades fisicoquímicas, la interacción con el sitio activo y otras propiedades relacionadas con la estructura de un medicamento pueden estudiarse y entenderse a nivel experimental *in vitro* o a nivel computacional *in silico*.⁶

En la Universidad de Caldas se ha investigado en una línea de investigación en química de interés medicinal y se han sintetizado, explorado y estudiado una serie de sales de amonio cuaternario, que presentan características y actividades biológicas variadas en cuanto a su toxicidad y potencial farmacológico antiparasitario. Dada la citotoxicidad tan variada presentada por estas sales en líneas celulares humanas, estos compuestos también se encuentran en una fase exploratoria de estudio para indagar sus efectos fisiológicos en cepas celulares de cáncer avanzado de colon, con resultados promisorios. Es por esto por lo que se desea avanzar en el entendimiento de la relación entre la estructura de las sales de amonio cuaternario y su actividad biológica, con el fin de tener un método sistemático que permita evaluar tendencias citotóxicas en el laboratorio y lograr sintetizar aquellos con mayor potencial farmacológico.

Adicionalmente, el grupo de investigación QTB de la Universidad de Caldas, consideró importante explorar, no sólo las sales de amonio cuaternario y su actividad anticancerígena, sino además otros compuestos anticancerígenos del tipo taxano y líquidos iónicos imidazólicos, mediante una revisión bibliográfica sobre la temática de la correlación estructura química actividad biológica con el fin de profundizar en el tema y lograr así generar una actualización académica descriptiva que proporcione a los investigadores una puesta al día sobre el método, que sea de gran utilidad al momento de ponerla en práctica y de enseñarla.²²⁻²⁴

El estudio del cáncer es un área de gran interés en las ciencias de la vida por el impacto que ha causado sobre la historia de la humanidad, entender el comportamiento de la enfermedad y las alteraciones que se dan en el ciclo de vida de las células cancerígenas, permite determinar los mecanismo de acción que se pueden utilizar para controlar la enfermedad, estos mecanismos están relacionados con las interacciones que se dan entre los fármacos con las diferentes dianas o procesos presentes en las células, es aquí donde un estudio SAR juega un papel importante en el momento de realizar una evaluación preliminar de nuevos compuestos, de guiar investigaciones experimentales y teóricas de los fármaco, de comparar compuestos análogos o de brindar una mirada al mecanismo de acción del fármaco.

4. Objetivos

4.1 General

Elaborar una revisión documental sobre el análisis de la correlación entre estructura química y actividad biológica de algunos compuestos anticancerígenos del tipo taxano, líquidos iónicos imidazólicos y sales de amonio cuaternario.

4.2 Específicos

- Definir qué es un estudio de estructura y actividad de algunos compuestos anticancerígenos del tipo taxano, líquidos iónicos imidazólicos y sales de amonio cuaternario.
- Analizar los datos que se necesitan y se producen *in vitro* para el estudio de la relación de estructura actividad de los compuestos químicos anticancerígenos del tipo taxano, líquidos iónicos imidazólicos y sales de amonio cuaternario.
- Analizar algunos estudios de estructura y actividad de algunos compuestos anticancerígenos del tipo taxano, líquidos iónicos imidazólicos y sales de amonio cuaternario.

5. Metodología

5.1 Generalidades

Se realizó una revisión bibliográfica dirigida a obtener y seleccionar estudios que se centraran en el abordaje conceptual y metodológico de la correlación de la estructura química y actividad biológica de compuestos anticancerígenos. Para esto, se adaptaron los pasos propuestos por Montana M. y colaboradores,²⁵⁻²⁷ tal como se muestra en el Diagrama 1.

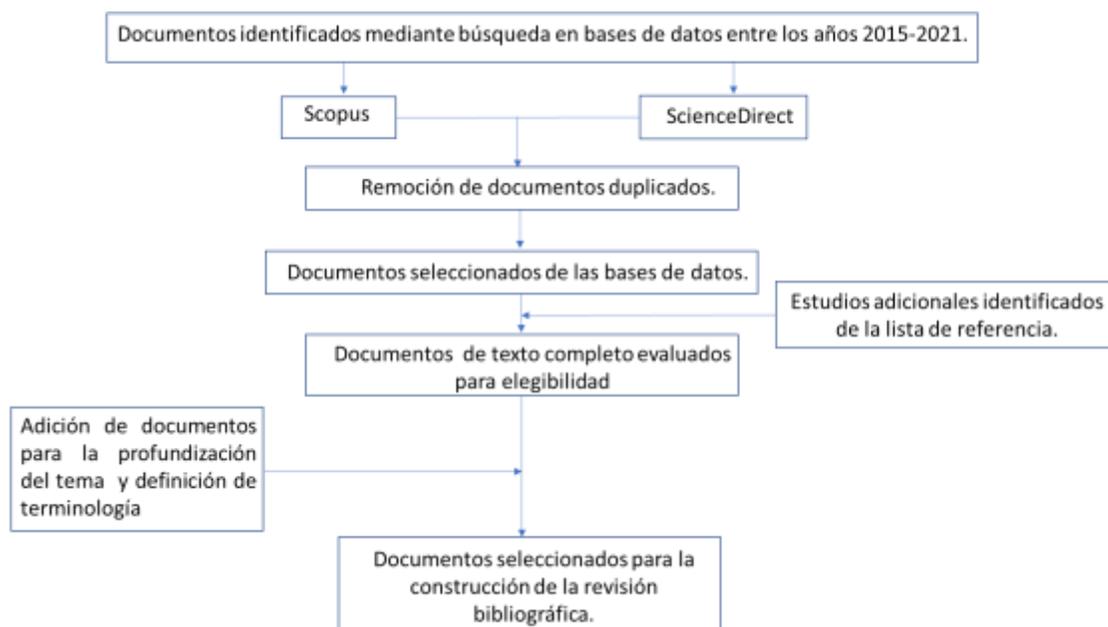


Diagrama 1. Diagrama de flujo para la selección de artículos para la revisión bibliográfica.

Estos pasos se aplicaron a cuatro subtemas que permitieran explicar el tema principal. Estos subtemas son: estudios de relación estructura química – actividad biológica SAR; los estudios SAR en taxanos, lípidos iónicos y sales de amonio cuaternario y su actividad anticancerígena en cada uno de estos compuestos.

De otra parte, se realizaron búsquedas en dos bases de datos: ScienceDirect (<https://www.sciencedirect.com>) y Scopus (<https://www.scopus.com>), utilizando términos de búsqueda en inglés los cuales se muestran en la Tabla 1 para detectar lo publicado sobre cada uno de los cuatro subtemas que se exponen en la Tabla 2.

Tabla 1. Términos seleccionados para la estrategia de búsqueda de los 4 subtemas.

Tema	Estrategia de búsqueda
Relación estructura actividad	“Structure-Activity Relationship studies” AND “SAR”
Taxol y sus estudios de relación estructura actividad en cáncer	Taxol” AND “SAR” OR “structure activity relationship” AND “cancer”
Líquidos iónicos de imidazolio y sus estudios de relación estructura actividad en cáncer	“Imidazolium” AND “ionic” AND “liquids” AND “structure-activity relationship” OR “SAR” AND “cancer”
Sales de amonio cuaternario y sus estudios de relación estructura actividad en cáncer	“Quaternary ammonium salt” AND “SAR” OR “structure-activity relationship” AND “cancer”

Tabla 2. Resultados obtenidos después de utilizar las estrategias de búsquedas descritas en la Tabla 1 entre los años 2015-2021.

Resultados relacionados con las estrategias de búsqueda	Base de datos de texto completo y referencial		Total de registros por estrategia de búsqueda
	ScienceDirect	Scopus	
Structure-Activity Relationship studies SAR	21688	305	21993
Taxol structure-activity relationship to cancer	1457	207	1664
Taxol SAR cancer	421	5	426
Imidazolium ionic liquids structure-activity relationship to cancer	223	3	226
Imidazolium ionic liquids SAR cancer	47	3	50
Quaternary ammonium salt structure-activity relationship to cancer	882	5	887
Quaternary ammonium salt SAR cancer	188	2	190
Methodology bibliographic review	14575	1517	16092
Registros totales identificados	39481	2047	41528

Además, se realizó la remoción de los documentos duplicados y se determinaron los criterios generales de inclusión y exclusión para éstos, expuestos en la Tabla 3.

Tabla 3. Parámetros generales de selección para los documentos.

Parámetro	Inclusión	Exclusión
Lenguaje	Inglés	Otros lenguajes
Áreas de investigación	Farmacología, diseño de drogas, química medicinal, toxicología	Otras áreas
Año de publicación	2015-2021	Años inferiores al 2015

Luego de aplicar los parámetros de selección, los artículos elegidos se clasificaron por subtemas a los que se les realizaron diferentes criterios de selección. El procedimiento general consistió en una selección inicial de artículos por título, que correspondiera de manera directa al subtema planteado. A los artículos seleccionados se les realizó un análisis del resumen y palabras clave, lo que permitió identificar y elegir investigaciones para el logro de los objetivos.

5.2 Metodología específica por subtemas

5.2.1 Subtema sobre estudios de relación estructura actividad (SAR)

Se seleccionaron 3 documentos entre los años 2015-2021 que en el título estuvieran presentes las palabras en inglés “structure and activity relationship” y que se encontraran enfocadas en las áreas de inclusión (Tabla 3), además, se realizó la exclusión de artículos que tuvieran las siglas “QSAR” y la palabra *in silico*, excepto aquellos que comentaran la historia o la evolución de SAR. De la lista de referencia de estos documentos seleccionados se adicionaron 7 documentos que cumplieran los criterios de selección antes mencionados, excepto el año, y se adicionaron 74 artículos que permitieron una profundización de la terminología encontrada y una visión más amplia del tema (Tabla 4).

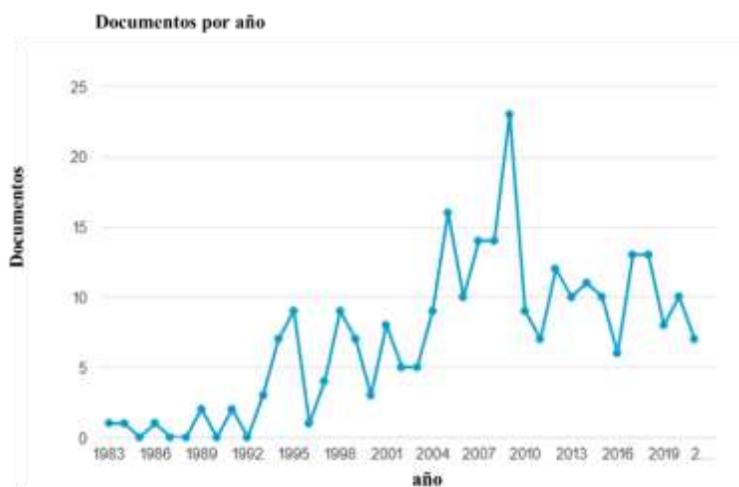
Tabla 4. Número de documentos seleccionados para el subtema de relación estructura actividad después de aplicar los criterios de selección.

Subtema estudios de relación estructura actividad	Documentos 2015-2021	Referencia	Terminología profundización 2015-2021	Terminología y profundización 2015 >
# Documentos seleccionados	3	7	17	57

5.2.2 Subtema sobre estudios de relación estructura actividad de taxol en cáncer

Se seleccionaron 6 documentos entre los años 2015-2021 que en el título y en las palabras claves presentaran como mínimo dos de los tres términos en inglés “SAR, Structure Activity Relationship y cáncer”. Además, que estuviera presente el término de taxol o taxanos o paclitaxel (este último es el tesoro de la palabra taxol) y que se encontrara enfocado en las áreas de inclusión (Tabla 3). De la lista de referencia de estos documentos seleccionados se adicionaron 23 documentos que cumplieran los criterios de selección antes mencionados, excepto el año.

Durante la búsqueda y consulta de los documentos que permitieran profundizar el tema y definir terminología, se encontraron 3 documentos. Al no tener una cantidad razonable de documentos que posibilitara una mayor claridad del tema, se decidió realizar una búsqueda de documentos publicados en un rango más extenso de años. Esta búsqueda determinó que los estudios relacionados con SAR, taxol y cáncer toman importancia en los años de 1998 y tiene su máximo auge entre el 2007 y 2009. Esto presentó un problema, pues la mayor parte de la información que se necesitaba no se encontraba en el rango de años 2015-2021 (Gráfico 1) seleccionado como criterio de inclusión.



Gráfica 1. Documentos publicados desde 1983 hasta 2021 utilizando como palabras claves (taxol AND structure AND activity AND relationship AND cancer). Última consulta en la base de datos Scopus el 18/nov/2021.

Por lo tanto, se decidió ampliar la búsqueda en años inferiores al 2015 que permitiera entender con mayor claridad lo referente al tema. Se adicionaron 40 documentos nuevos que cumplieron las características de inclusión, excepto el año (Tabla 5).

Tabla 5. Número de documentos seleccionados para el subtema relación estructura actividad de taxol en cáncer después de aplicar los criterios de selección.

Subtema relación estructura actividad de taxol en cáncer	2015-2021	Referencia	Terminología y profundización 2015-2021	Terminología y profundización 2015>
# Documentos seleccionados	6	23	3	40

5.2.3 Subtema sobre estudios de relación estructura actividad de líquidos iónicos de imidazolio en cáncer

Se seleccionaron 12 documentos entre los años 2015-2021 que en el título o en las palabras claves presentaran los términos en inglés “structure activity relationship o SAR o Structure activity y Imidazolium ionic liquids”. Además, se determinó un parámetro de inclusión, el cual indica que en el título debe tener alguna de las siguientes palabras en inglés “cancer, antitumoral, citotoxicity o anticancer”. Esto debido a la posibilidad de encontrar más documentación con la acción que generan los líquidos iónicos, que realizando la búsqueda con el nombre de la enfermedad. Estos artículos debían enfocarse en las áreas de inclusión (Tabla 3). De la lista de referencia de estos documentos se seleccionaron 7 que cumplieran todos los criterios de inclusión excepto el año. Para realizar una profundización y definición de terminología del tema se incluyeron 7 documentos publicados entre los años (2015-2021), 15 documentos publicados en años inferiores a las 2015 y 2 páginas de internet (Tabla 6).

Tabla 6. Número de documentos seleccionados para el subtema relación estructura actividad de líquidos iónicos de imidazolio en cáncer después de aplicar los criterios de inclusión.

Subtema relación estructura actividad de líquidos iónicos de imidazolio en cáncer	2015-2021	Referencia	Terminología y profundización 2015-2021	Terminología y profundización 2015>	Páginas de internet
# Documentos seleccionados	12	7	7	15	2

5.2.4 Subtema sobre estudios de relación estructura actividad de sales de amonio cuaternario en cáncer

Se seleccionaron 10 documentos entre los años 2015-2021 que en el título o en las palabras claves presentaran 3 de 4 de los siguientes términos en inglés “quaternary ammonium salt, structure activity relationship, SAR y cancer” y que se encontraran enfocados en las áreas de inclusión (Tabla 3). De la lista de referencia de los documentos seleccionados, se adicionaron 12 que cumplieran con los criterios de selección excepto el año. Para realizar una profundización y definición de terminología del tema, se incluyeron 11 documentos publicados en el 2015-2021 18 publicados en años inferiores y 7 páginas de internet (Tabla 7).

Tabla 7. Número de documentos seleccionados para el subtema relación estructura actividad de sales de amonio cuaternario en cáncer después de aplicar los criterios de inclusión.

Subtema relación estructura actividad de sales de amonio cuaternario en cáncer	2015- 2021	Referencia	Terminología y profundización 2015-2021	Terminología y profundización 2015>	Páginas de internet
# Documentos seleccionados	10	12	11	18	7

6. Resultados y discusión

6.1 Estudios de relación estructura actividad (SAR)

Los estudios de relación estructura actividad conocidos con sus siglas en inglés SAR, buscan relacionar las características estructurales de un compuesto químico con una propiedad, efecto o actividad biológica asociada a dicha sustancia. Se justifican en la premisa de que la interacción de un compuesto químico con un sistema biológico o diana depende de las propiedades físicas y químicas que la estructura presenta. Estas propiedades pueden determinar su bioactividad y ayudar al investigador a comprender el potencial biológico y las propiedades toxicológicas del compuesto.^{6,7} El principio rector de un estudio SAR parte de la hipótesis que moléculas estructuralmente similares deben tener actividades similares y, por ende, comportamientos fisicoquímico semejantes. Gracias a esto, SAR es un enfoque diseñado para encontrar relaciones entre la estructura química de un ligando y el objetivo biológico de los compuestos estudiados.⁸

Las bases de los estudios SAR se apoyan en las áreas de la biología, la química y la estadística. En la Figura 1, adaptada de la literatura,⁶ se observan no sólo las áreas en mención, sino además las subáreas, métodos de análisis y algunos ensayos *in vitro* que aportan conocimiento a los estudios SAR, ya que es un análisis llevado a cabo mediante la realización de tareas o juicios de expertos, pasando por consideraciones de similitud-diversidad de productos químicos, hasta asociaciones matemáticas formales, propiedades y medidas de actividad.^{28,29}



Figura 1. Áreas, subáreas, métodos de análisis y algunos ensayos *in vitro* que aportan conocimiento a los estudios SAR. Adaptado de la literatura⁶ con fines académicos.

Por lo anterior, los estudios SAR tienen diversas aplicaciones, principalmente en farmacología donde se busca:

- La predicción y caracterización de la toxicidad de algún compuesto químico.
- El diseño o modificación de fármacos, estudios farmacocinéticos, estudios de interacción del receptor de algunas drogas.⁸
- La predicción de efectos ecológicos de sustancias químicas.⁹

6.1.1 ¿Por qué realizar un estudio SAR?

Un estudio SAR permite:

- a) Determinar las partes de la estructura de un compuesto que están relacionadas con sus efectos biológicos de interés y los no deseados.⁸
- b) Ayuda a establecer el comportamiento físico-químico y actividad biológica de forma coherente de nuevos medicamentos.⁸
- c) Propicia a los investigadores la comprensión y explicación de los mecanismos de actividad dentro de un conjunto de ligandos, lo que disminuye costos en el desarrollo de productos.⁸

Además, un estudio SAR juega un papel importante en la evaluación preliminar de nuevos compuestos y en guiar investigaciones experimentales y teóricas de los fármacos.^{8,9} A nivel educativo, se utiliza como una estrategia pedagógica para mejorar la comprensión de conceptos en química médica. Esto se logra a través de la explicación de los mapas SAR, lo cual permite al estudiante promover el aprendizaje en lugar de la memorización de las estructuras químicas de los medicamentos.³⁰

6.1.2 Algunas investigaciones que constituyen la historia de SAR

Los orígenes y la historia de la metodología de los estudios SAR se encuentran inmersos en teorías constituidas por la caracterización de productos químicos y los enfoques quimiométricos³¹ de diferentes investigaciones que se exponen en la Tabla 7.

Tabla 7. Algunas investigaciones que construyen la historia de SAR.

Autor	Año	Aporte a la historia de SAR
Cros	1863	Demostó que la relación que existe entre la estructura y la actividad de un compuesto químico refleja su toxicidad, convirtiéndose en el punto de partida para la teoría SAR. ³²
Crum-Brown	1868	Compararon los efectos de distintas estructuras de amonio cuaternario con el efecto paralizante del curare y concluyeron que la acción de una molécula estaba relacionada con su estructura ^{33,34}
Richet	1893	Registró que la acción narcótica de un grupo de compuestos orgánicos estaba relacionada inversamente con la solubilidad en agua (Regla de Richet). ³⁵
Overton y Meyer	1897 1899	Encontraron una correlación positiva entre la liposolubilidad y el efecto anestésico producido en los renacuajos, ^{36,37} presentándonos la interacción de un compuesto con un sistema biológicos.
Ferguson	1939	Postulo su principio “ <i>Un parámetro importante para la correlación de la actividad de las drogas y de su efecto biológico es la saturación relativa, que denomina actividad termodinámica de dicha droga en la fase externa o fluido extracelular.</i> ” El cual es útil para la clasificación del modo general de acción de una droga y para predecir el grado de su efecto biológico. ³⁵
Hansch y colaboradores	1964	Establecieron que moléculas semejantes tendrán un comportamiento similar tanto en propiedades fisicoquímicas como biológicas (Postulado de Hansch). ³⁸⁻⁴⁰

La historia de los experimentos de los estudios de correlación estructura actividad se basaban en sintetizar la mayor cantidad de compuestos a partir de una molécula guía y ensayar sus

efectos y potencial.³³ Pero su historia no solo se puede mirar desde las distintas investigaciones que permitían la caracterización de productos químicos, sino también a través de las diferentes metodologías o técnicas que se han generado para el análisis tanto de la estructura molecular, las propiedades fisicoquímicas y la actividad biológica. Lo que se busca con estas metodologías, es que a través de procesos estadísticos se encuentre una relación entre descriptores, variables o predictores para proporcionar la medida de actividad biológica de un grupo de compuestos químicos.⁴¹ Por eso, con los avances tecnológicos se encuentra que los estudios SAR han mejorado en las técnicas para identificar claves estructurales 2D, estudios de descriptores e interacciones entre compuesto y dianas.

En la actualidad, los estudios SAR se toman como una subdisciplina de la toxicología⁶ convirtiéndose en una herramienta esencial para organizar, extraer e interpretar relaciones cualitativas de datos no continuos o categóricos (SAR) o relaciones cuantitativas usando datos continuos o cuantitativos (QSAR).⁴¹

6.1.3 Generalidades de los estudios SAR

Un estudio SAR permite evaluar un numeroso conjunto de compuestos análogos que estén muy relacionados con la función de un compuesto principal.⁴² Dichos compuestos se diseñan a través de protocolos que permiten realizar modificaciones estructurales en la molécula. Estas modificaciones pueden ser series homólogas, ramificación de las cadenas, derivados cíclicos, fragmentación molecular, adición de grupos funcionales o sustituciones isostéricas, adición de halógenos, presencia de aromáticos, átomos o grupos donantes o atractores de electrones^{33,43,44} entre otros. Posteriormente, se determina la actividad biológica de cada uno de los análogos mediante métodos computacionales (simulaciones biomoleculares, docking molecular, modelado de farmacóforos, QSAR) o ensayos *in vitro* e *in vivo* o un complemento de los dos, tanto métodos computacionales como ensayos; los datos obtenidos permiten identificar la molécula más promisoría que presente todas las propiedades deseadas según el objetivo de estudio.^{45,46}

El diseño de los compuestos y el análisis de los datos obtenidos a través de las pruebas realizadas a cada compuesto se convierten en los dos pasos generales para un estudio SAR. Para el diseño de los compuestos se utilizan métodos computacionales (QSAR, docking molecular, QSPR), químicos o biológicos y para el análisis de los datos se realiza por métodos quimiométricos que exploran patrones en los datos y establecen relaciones entre la estructura y la actividad.³¹ El alcance de un estudio SAR puede estar limitado por: 1) la especificidad de los análisis que se le realizan a un punto final de una actividad biológica, a través de las compilaciones de datos de diferentes bioensayos como de estudios químicos a los cuales se somete cada uno de los compuestos análogos,⁹ 2) la falta de información sobre la reproducibilidad experimental de los bioensayos,⁴⁷ 3) la disponibilidad y selección de los descriptores, 4) el método quimiométrico que se emplea para los análisis de los datos.

Algunos científicos clasifican los estudios SAR en análisis cualitativo (SAR) y análisis cuantitativos (QSAR). Los análisis cualitativos se basan en un conocimiento finito de compuestos que han sido previamente probados, en ensayos *in vivo* e *in vitro*.⁴⁸ Los análisis cuantitativos relacionan numéricamente estructuras químicas con sus actividades biológicas de manera *in silico* que permiten predecir la bioactividad teórica y así diseñar nuevos fármacos.⁴⁹

Los estudios SAR integran la biología, la química y la estadística (Figura 1).^{8,9} A través de la química se puede: 1) caracterizar los productos químicos a partir de su estructura molecular utilizando una gran variedad de descriptores moleculares (electronegatividad, momento dipolar, E_{LUMO} , E_{HOMO} , potencial químico, electrofilicidad, peso molecular, Log P).³¹ 2) Realizar modelos 2D y 3D para obtener información como las distancias entre los átomos, que es relevante para la unión ligando-receptor. 3) Establecer hipótesis mecanicistas (posibles mecanismos de reacción) que permiten organizar y diferenciar productos químicos dentro de una clase o grupo.⁹ La biología aporta los datos de las técnicas de ensayo *in vitro* e *in vivo*. Dichos datos permiten predecir el efecto fenotípico generado por el compuesto al unirse con su diana; por ejemplo se puede determinar la actividad por inactividad de un compuesto mediante la dosis letal media.³¹

De otra parte, la estadística proporciona los enfoques quimiométricos que establecen patrones de relación entre datos del compuesto y la actividad biológica estudiada; para ello se combinan métodos estadísticos, matemáticos o lógico matemáticos que permiten calcular puntajes de descriptores e interacciones estéricas y electrostáticas, determinar partes importantes de la estructura de una molécula utilizando software como CODESSA, CoMFA, CASE/Multicase, Cerius, Unity 3D, entre otros.^{31, 50}

6.1.3.1 Caracterización de compuestos químicos para los estudios SAR

Los compuestos químicos se pueden caracterizar a partir de la estructura molecular, propiedades fisicoquímicas y la actividad biológica. A continuación, se amplía la información más relevante sobre cada uno de estos aspectos.

La estructura molecular y propiedades fisicoquímicas

Las características estructurales y propiedades fisicoquímicas que se encuentran presentes en una molécula se pueden representar mediante descriptores moleculares, los cuales son claves para comprender su actividad biológica.³¹ Un descriptor molecular es una forma de representar cuantitativamente una cualidad presente en una molécula. Según Todeschini y Consonni (2000) “*El descriptor molecular es el resultado final de un procedimiento lógico y matemático que transforma la información química codificada dentro de una representación simbólica de una molécula en un número útil o el resultado de algún experimento estandarizado*”.⁵¹ Estos se pueden utilizar principalmente para buscar similitudes entre moléculas, realizar virtual screening, crear modelos QSAR y hacer estudios SAR.⁵² Existe una amplia variedad de descriptores moleculares que se muestran en la Figura 2: electrónicos (Tabla 8) geométricos, constitucionales, topológicos (Tabla 10) y fisicoquímicos (Tablas 9 y 11) y varias formas de clasificarlos. Sin embargo, un enfoque común es clasificar los descriptores moleculares por su dimensionalidad como se muestra en la Figura 3.⁵¹⁻⁵⁴

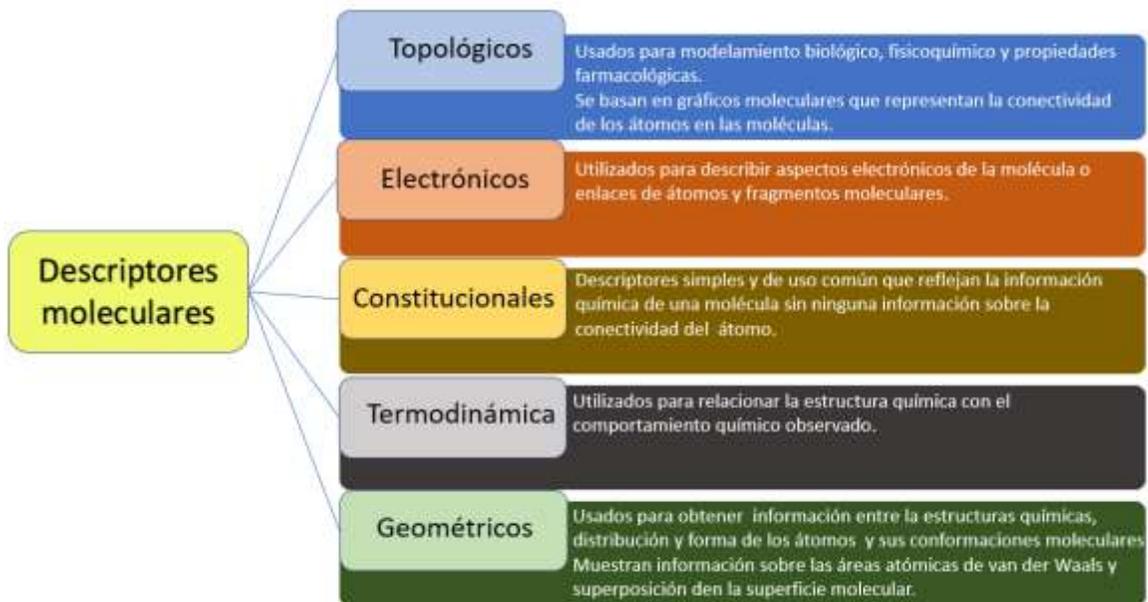


Figura 2. Definición de los descriptores moleculares. Adaptado de la literatura⁵⁵ con fines académicos.

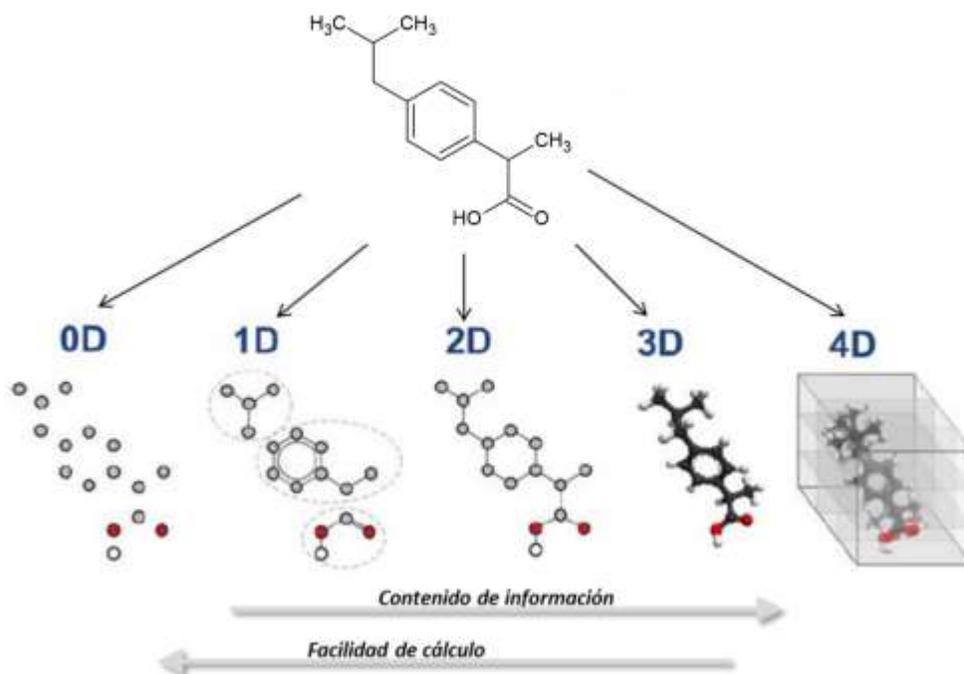


Figura 3. Dimensiones de las moléculas. Imagen usada con permiso del autor de la referencia⁵⁶

Tabla 8. Descriptores electrónicos.

Descriptores electrónicos*	Definición
E_{LUMO}	Energía del orbital molecular desocupado más bajo
E_{HOMO}	Energía del orbital molecular ocupado más alto
μ	Potencial químico (negativo de electronegatividad) $\mu = (E_{LUMO} + E_{HOMO})/2$
η	Dureza química $\eta = (E_{LUMO} - E_{HOMO})/2$
σ	Suavidad química $\sigma = 1 - \eta$
ω	Electrofilicidad $\mu = \mu^2/2\eta$
A_{max}	Superdeslocalizabilidad máxima del aceptor atómico dentro de una molécula
D_{max}	Superdeslocalizabilidad máxima del donante atómico dentro de una molécula
A_N	Superdeslocalizabilidad del aceptor atómico para el átomo N
D_N	Superdeslocalizabilidad del donante atómico para el átomo N
$A_{orbital}$	Deslocalización de un orbital asociada con un orbital determinado (p. Ej., LUMO o LUMO + 1)
HD/HA	Capacidad de donación / aceptación de enlaces de hidrógeno.
Electronegatividad (χ)	Capacidad de un átomo (o grupo) para atraer electrones asociados con la reactividad.
Carga atómica (q_n)	Carga asociada con el átomo "n"
Momento dipolar (δ)	Distribución de carga dentro de una molécula

*Representan diversas propiedades que están asociadas con muchos efectos. Tomado de la literatura⁵⁷ con fines académicos.

Tabla 9. Descriptores estéricos.

Descriptores estéricos*	Definición
Peso molecular	Masa molecular relativa que indica el tamaño general de la molécula.
Volumen molecular	Calculado utilizando la suma de los volúmenes atómicos de van der Waals; indica tamaño general.
Superficie molecular / disolvente superficie accesible	Computacionalmente, una molécula sonda se puede "rodar" sobre la superficie de una molécula para determinar el área que es accesible (para solventes o moléculas que interactúan como receptores)
K	El índice kappa es un parámetro de forma basado en el grado de ramificación del gráfico molecular.
Sterimol ($L_1, B_1 - B_5$)	Descriptores de forma que indican la longitud (L) de un sustituyente y sus anchos en diferentes direcciones ($B_1 - B_5$)
Es	La constante estérica de Taft indica la contribución de tamaño de los sustituyentes en una molécula madre.

* Asociados con la capacidad de alcanzar el sitio objetivo (p. Ej., Ser absorbido a través de membranas biológicas relevantes) y encajar dentro de receptores específicos. Tomado de la literatura⁵⁷ con fines académicos.

Tabla 10. Descriptores topológicos.

Descriptores topológicos*	Definición
${}^n\chi$	Índice de conectividad de enésimo orden
${}^n\chi^v$	Los índices de conectividad corregidos por valencia se utilizan para distinguir entre heteroátomos
Descriptores 3D	La representación tridimensional de moléculas proporciona una descripción más precisa de la dimensionalidad molecular.
Parámetros compuestos	Estos representan efectos de combinación y pueden proporcionar información adicional que refleje más de una característica.
Área de superficie polar	Dividir el área de superficie de una molécula en regiones de polaridad o hidrofobicidad puede proporcionar información útil, por ejemplo, en términos de interacciones de unión a receptores específicos
Índices de estado electro topológico	Una combinación de características electrónicas y entorno topológico para átomos dados.
Grupos funcionales / alertas estructurales	Ciertas toxicidades pueden estar asociadas con características estructurales específicas.
Índices de similitud o puntuaciones de similitud	Similitud de tamaño, forma, distribución espacial de átomos/grupos funcionales clave, potencial reactivo

*Estos se basan en la teoría de grafos y se relacionan con la topología general, dictada por la forma en que los átomos están conectados entre sí. Tomado de la literatura⁵⁷ con fines académicos.

Tabla 11. Variables indicadoras.

Variables indicadoras*	
Descriptores hidrofóbicos/hidrofílicos	Indicar solubilidad en medio acuoso y / u orgánico y reparto relativo entre fases.
Log P	Logaritmo del coeficiente de partición.
Log D	Logaritmo del coeficiente de distribución
Log K	Logaritmo del factor de capacidad de cromatografía líquida de alta resolución.
Log S _{aq}	Logaritmo de la solubilidad acuosa.
Lipole	Distribución de la lipoficidad dentro de un sustituyente o molécula completa.
Potencial de lipoficidad molecular	Distribución geométrica de la lipoficidad dentro de una molécula.
π	Constante de sustituyentes que indica la influencia de sustituyentes individuales en el comportamiento general de partición: $\pi = \log P_{(\text{derivada sustituida})} - \log P_{(\text{padre})}$.

*Estos indican la presencia o ausencia (generalmente denotado por 1 o 0, respectivamente) de características estructurales específicas (por ejemplo, hidrógeno grupos de donación/aceptación de enlaces, presencia de un grupo funcional particular). Tomado de la literatura⁵⁷ con fines académicos.

Descriptores adimensionales o de dimensión cero (0D)

Son descriptores que se pueden calcular a partir de la fórmula molecular como, por ejemplo, el peso molecular, el número de átomos diferentes y la suma o promedio de propiedades atómicas.^{51,52,56}

Descriptores unidimensionales (1D)

Son una lista de subestructuras presentes en la molécula como grupos funcionales o fragmentos de esta y describen propiedades que requieren algún conocimiento de la estructura molecular pero no un conocimiento completo de ella. Por ejemplo, momentos dipolares, coeficiente de partición, aceptores y donantes de hidrógenos.⁵³ Estos descriptores también se conocen como descriptores booleanos, debido a que establecen relaciones lógico matemáticas, que explican la relación de presencia o ausencia de uno o varios elementos químicos en la estructura molecular.⁵⁸

Descriptores bidimensionales (2D)

Se calculan a partir de la representación en 2D de la molécula. Estos descriptores se basan en la teoría de grafos, la cual utiliza grafos para encontrar relaciones entre datos (vértices o nodos) a través de correlaciones (aristas o ejes) entre ellos. Con estos se buscan características determinadas por la forma en que los átomos están conectados entre sí.^{56,59,60} A menudo los descriptores 2D se complementan con propiedades específicas de los átomos presentes en la molécula, por ejemplo: masa y polarizabilidad o la presencia de donantes/aceptores de enlaces de hidrógeno.⁵⁶

En esta clase de descriptores se pueden encontrar los topológicos,^{51,54,58} conocidos como índices topológicos (TI), que codifican propiedades como adyacencia y conectividad entre átomos. Suelen ser sensibles a características tales como tamaño, forma, simetría, ramificación y ciclaciones. Se pueden dividir en: a) Topoestructurales, que brindan

información sobre la adyacencia y la distancia de los enlaces entre los átomos; y b) Topoquímicos, que cuantifican la información sobre la topología y tiene en cuenta propiedades como la identidad química y estado de hibridación de los átomos presentes en la molécula.^{56,60}

Descriptores tridimensionales (3D)

Están relacionados con aquellos descriptores que utilizan las coordenadas espaciales de los átomos en la molécula. Según Grisoni y colaboradores (2018) “*Se calculan a partir de la representación en 3D de la molécula. Tienen un alto contenido de información, ya que agregan un nivel adicional de complejidad al percibir la molécula no solo en términos de tipo de átomo, conectividad y adyacencia, sino también al verla como un objeto geométrico en el espacio. Son útiles para modelar propiedades farmacéuticas y biológicas*”.⁵⁶

6.1.3.2 Determinación de la actividad biológica de los compuestos anticancerígenos

Los efectos benéficos o adversos que causa un determinado compuesto sobre una célula en particular se conocen como actividad biológica. La detección de la actividad biológica se utiliza en el campo de la farmacología para indicar si un compuesto es un buen candidato a fármaco o no. Para esto se utiliza una gran variedad de técnicas de ensayo de tipo *in vitro*, *in vivo* o métodos computacionales (simulaciones biomoleculares, docking molecular, modelado de farmacóforos, QSAR) que permiten determinar perfiles toxicológicos y propiedades biológicas de los compuestos candidatos.^{45,46}

Algunas de estas técnicas que se mencionan en esta revisión son:

Ensayo de reducción MTT

Es un ensayo de viabilidad colorimétrica basado en la reducción de la molécula 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT) a formazán gracias a la acción de la enzima succinato deshidrogenasa producida en las mitocondrias (Figura 4). El resultado de la reducción es un cambio de color de la molécula de MTT.^{61,62}

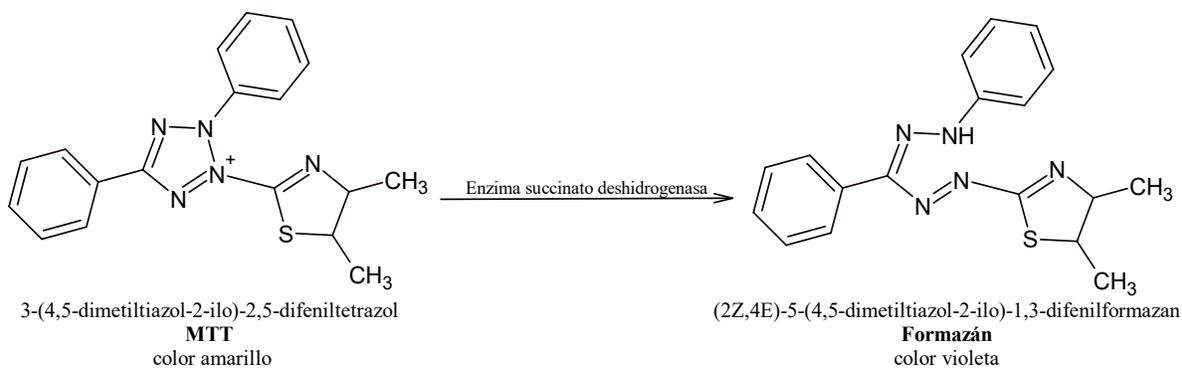


Figura 4. Reducción del 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT) a formazán.

La cantidad de formazán que se produce se asocia con la cantidad de células viables presentes en el experimento, debido a que al no convertirse el MMT en formazán se deduce que la mitocondria dejó de funcionar, por ende hubo muerte celular.^{63,64}

Ensayo de unión a microtúbulos

Es un ensayo que permite evaluar el efecto de un compuesto sobre el proceso de la polimerización dinámica de la tubulina a microtúbulos.⁶⁵ La tubulina es un heterodímero compuesto por dos subunidades α/β , que al unirse forman protofilamentos y estos se ensamblan para generar los microtúbulos.¹³ La alteración de la dinámica entre el ensamblaje de la tubulina a microtúbulos o el desensamblaje de los microtúbulos a tubulina (polimerización y despolimerización) es el parámetro que se utiliza para determinar la acción del compuesto a estudiar.^{66,67} Algunos de los efectos del compuesto que se pueden evidenciar en la dinámica de los microtúbulos son la variación del tamaño, el cambio en las propiedades físicas y alteraciones en los puntos de unión de las proteínas.^{66,67} Estos efectos se pueden monitorear en el laboratorio a través de la dispersión de luz por densidad óptica, ensayos de sedimentación y filtración, sondas de fluorescencia como el marcador 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI)^{68,69} y el aumento de la turbidez en solución.^{66,67,70}

El ensayo de unión a microtúbulos determina la concentración que debe tener un compuesto para inhibir un proceso biológico en un 50% (IC₅₀), a través de la cuantificación del ensamblaje de los microtúbulos después de ser sometidos a los efectos estabilizador o desestabilizador generados por un compuesto o un fármaco de estudio, por ejemplo, en la

Figura 5 se muestra el efecto de la concentración 5 μM del paclitaxel, un anticancerígeno que potencia la fase de crecimiento de los microtúbulos, en comparación con la sustancia control (G-PEM) evaluado por densidad óptica (siglas en inglés OD), mostrando que es aproximadamente 4 veces mayor su efecto estabilizador en comparación con el control.^{66,67}

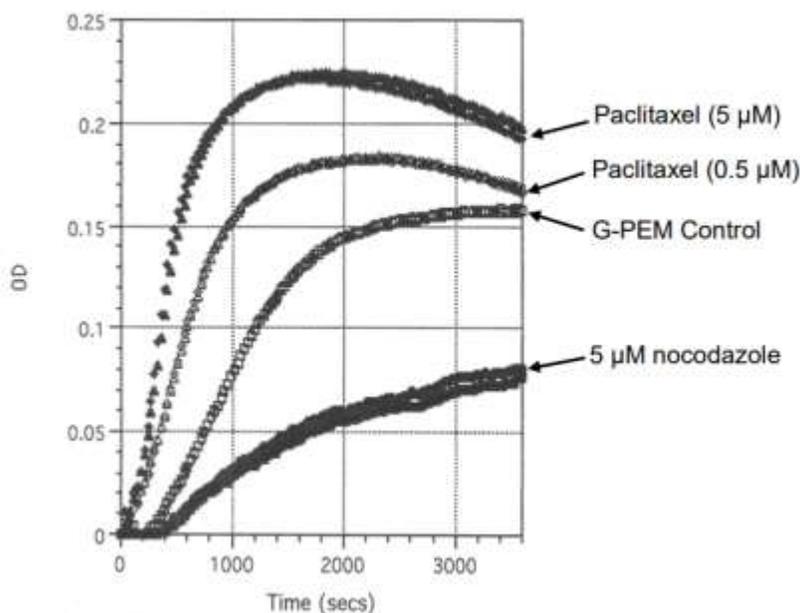


Figura 5. Ejemplo de reacciones de polimerización estándar en presencia de paclitaxel 5 μM , paclitaxel 0,5 μM , control G-PEM y nocodazol 5 μM . Tomado de la literatura⁷¹ con fines académicos.

6.1.3.3 Algunos métodos quimiométricos utilizados para los estudios SAR

Según Tong y colaboradores (2003) “*los métodos quimiométricos son métodos estadísticos, matemáticos o basados en lógica matemática que se utilizan en la química*”, pueden aplicarse en diferentes campos como la farmacología y toxicología donde, a través de la interpretación y extracción de una gran cantidad de datos generados de los bioensayos y de los descriptores moleculares, se establece una relación entre ellos que explica una función o una actividad biológica.³¹

En los estudios SAR, los métodos quimiométricos toman como variables independientes los descriptores moleculares y como variables dependientes una actividad o propiedad biológica para relacionarlas por medio de modelos de regresión lineal o no lineal. Tong y colaboradores

en su artículo de revisión del 2003 clasifican estos modelos en tres categorías generales en términos de su aplicación: agrupación, clasificación y modelos QSAR.³¹ Algunos métodos o modelos que se utilizan son:

Análisis de componentes principales

Un análisis de componentes principales (conocido con sus siglas en inglés PCA), fue descrito por Giuliani (2017) como “*una herramienta de generación de hipótesis que crea un marco de mecánica estadística para el modelado de sistemas biológicos sin necesidad de fuertes suposiciones teóricas a priori*”, de ahí la importancia para el descubrimiento de fármacos desde una perspectiva sistemática.⁷² Este enfoque estadístico reduce un conjunto de variables en unas pocas dimensiones conocidas como componentes, donde se recogen las variables altamente correlacionadas entre sí.⁷³⁻⁷⁵ Se puede utilizar en la investigación farmacológica y biomédica para reducir y agrupar la gran cantidad de datos que se tienen de las bases de datos y los resultados de las técnicas de alto rendimiento, por lo tanto se puede aplicar en temas como SAR, minería de datos y enfoque ‘ómicos’ para identificar compuestos con potencial biológico.⁷²

K-vecino más cercano

El método de clasificación de datos K-vecino más cercano conocido con las siglas en inglés K-NN, busca clasificar un dato de acuerdo con las características de datos que ya están categorizados.⁷⁶ Se fundamenta en que las propiedades de un dato x de entrada son similares a las de los datos de su vecindad, entonces éste pertenece a la misma clase que la clase de sus K-vecinos más cercanos (datos más cercanos).^{77,78} Esta regla es adecuada para abordar un problema de aprendizaje, debido a sus propiedades estadísticas bien establecidas y la sencillez de implementación de problemas reales.^{77,78}

El método K-NN funciona comparando el dato a estudiar con un conjunto de datos a los cuales se les conoce su clase o categoría (datos de entrenamiento) y que asignarán un voto al momento de clasificar el dato desconocido. Para su clasificación se tienen en cuenta los datos

que estén más cerca al dato problema, para esto se calcula la distancia a la que está el dato desconocido con respecto a cada uno de los datos de entrenamiento utilizando funciones matemáticas que permiten medir estas distancias como la distancia euclidiana, Manhattan o minkowski. La mayoría de datos de una clase que estén a menor distancia del dato problema definirán su clasificación final y asignarán su categoría o clase.^{76,79} A continuación, se describen algunas aplicaciones de K-NN en la investigación de compuesto anticancerígenos.

Liu H y colaboradores (2018) estimaron las respuestas de líneas celulares frente a medicamentos anticancerígenos utilizando un algoritmo de filtrado colaborativo basado en vecinos con eliminación de efectos globales [Neighbor-Based Collaborative Filtering with Global Effect Removal (NCFGER)] una versión de K-vecinos. Para este análisis los autores emplearon redes de similitud de líneas celulares y de fármacos teniendo en cuenta que cuando estas dos variables son semejantes muestran respuestas similares.⁸⁰

De otra parte, Arian R y colaboradores en 2020 clasificaron inhibidores de proteínas quinasas y no inhibidores usando el método de K-NN. Emplearon descriptores moleculares de los inhibidores que fueron depurados por el algoritmo genético [genetic algorithm (GA)] y que permitieron generar las dos clases (activos o inactivos) e implementaron las distancias de Mahalanobis. Para evaluar el rendimiento del método realizaron esta misma clasificación utilizando dos métodos más: “support vector machine” y “Naïve Bayesian”, los resultados se compararon y determinaron que el método que genera las mejores predicciones es el K-NN. En la Figura 6 se observa el diagrama de flujo de la clasificación de los inhibidores de las proteínas quinasa usando K-NN.⁸¹

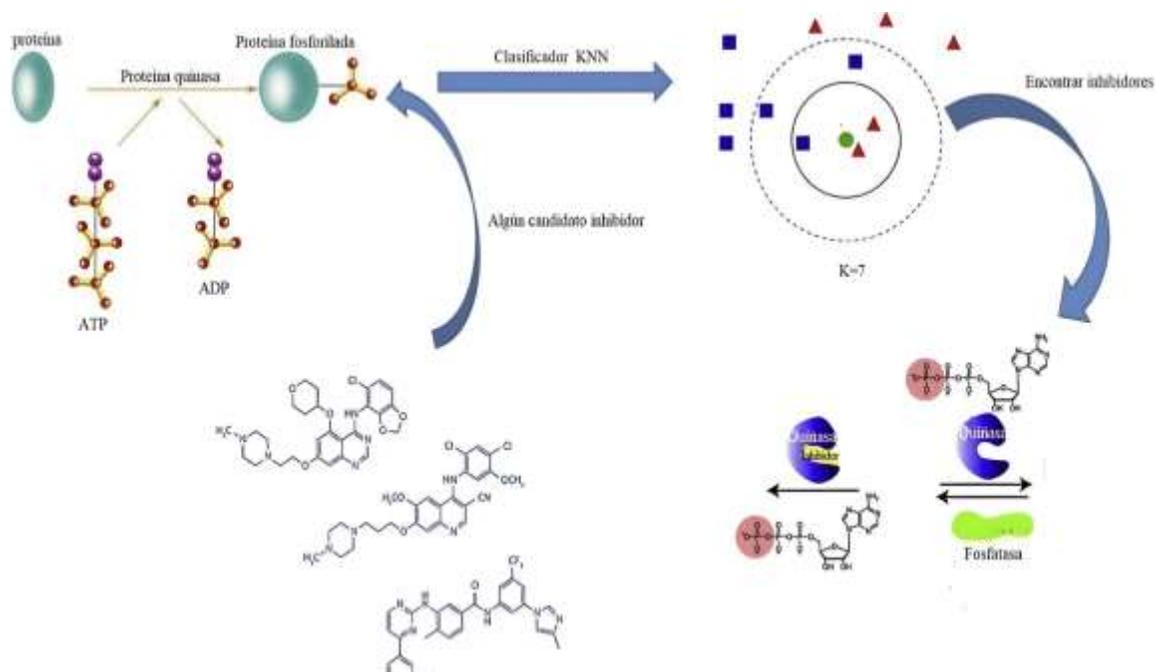


Figura 6. Diagrama de flujo de la clasificación de los inhibidores de las proteínas quinasa usando K-NN. Tomada de la literatura⁸¹ con fines académicos.

Adicionalmente, Rajaguru H y colaboradores en el 2019 utilizaron dos métodos de clasificación K-NN y árbol de decisiones, para clasificar los tumores de muestra relacionados con el cáncer de mama como benigno o maligno. K-NN muestra mayor sensibilidad, especificidad, exactitud, precisión y mejor coeficiente de correlación de Matthew en comparación con el árbol de decisiones a la hora de clasificar.⁸²

Árbol de decisión (Decision Tree)

Un árbol de decisión es un método basado en el aprendizaje de inducción de datos, similar a un diagrama de flujo,⁸³ que permite predecir la clase de conjuntos de datos con mayor facilidad y seleccionar etiquetas.⁸⁴ Además, permite escoger de un gran número de variables o características aquellas que presentan interacciones importantes.⁸⁵

López C, en el 2020 describe la estructura de un árbol de decisión, el cual consta de un nodo central que se dispersa y da lugar a los distintos nodos de decisión, estos nodos de decisión se basan en atributos o características del elemento que se requiere clasificar. Cada uno de

los nodos desemboca en distintas ramas, las cuales representan los resultados de los nodos anteriores, esta estructura continúa hasta que se alcanza los nodos terminales donde se clasifica el elemento estudiado (Figura 7).^{86,87,88}

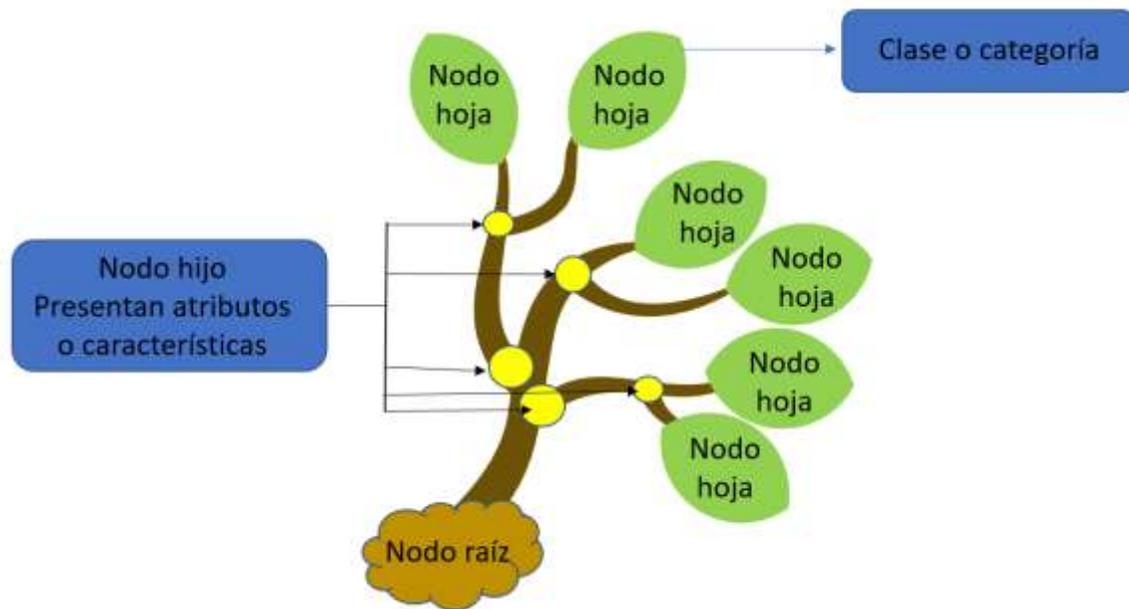


Figura 7. Árbol de decisión y partes que lo constituyen. Adaptado de la literatura⁸⁹ con fines académicos.

Para los árboles de decisiones se tienen en cuenta que pueden ser decisiones binarias (Si o No)⁹⁰ o de probabilidad, que responden a diferentes preguntas ubicadas en los nodos. Estas preguntas evalúan un atributo o variable (características)⁹¹ que contenga el conjunto de datos completo.⁹⁰ Existen tres tipos de nodos: el nodo raíz, el cual inicia el árbol y es el único nodo que utiliza todo el conjunto de datos; los nodos intermedios que son los que se encargan de las preguntas; y los nodos hoja, los cuales dan una decisión o clasificación, etiquetan los datos en una clase o categoría. Estos últimos se encuentran en la parte terminal del árbol. Cada nodo permite una separación de los datos y la finalidad es generar una homogeneidad de los datos en términos de la clase o categoría a lo que se les denomina nodos puros.^{90,91} La unión de muchos árboles de decisiones constituyen un método de clasificación conocido como bosque aleatorio o Random Forest.

Bosque aleatorio (Random Forest)

El método de bosque aleatorio o más conocido por su nombre en inglés como Random Forest (RF) es un método de clasificación basado en ensamblaje de múltiples árboles de decisión.^{92,93} La diferencia entre RF y un árbol de decisión es la precisión, ya que RF selecciona datos al azar y se construyen árboles con atributos en diferentes órdenes que permite determinar cuál es la importancia de cada atributo, la pureza del nodo y la etiqueta o clase de un dato que se desea evaluar. Los árboles se construyen con la selección de variables o atributos aleatoriamente, cumpliendo con la regla de que el número de variables seleccionadas debe ser mucho menor al total de variables que tiene el conjunto de datos. Además, se selecciona conjuntos de datos aleatorios (conjunto de entrenamiento) que permiten la creación, la diferenciación y la evaluación de cada uno de los árboles.^{94,95}

También se utilizan criterios para la selección de las divisiones o ramas de los árboles que comparan los nodos y los organizan en nodo raíz, nodo hijo o nodo hoja, estos criterios pueden ser: 1) “Classification Error Rate” que determina la proporción de datos que no pertenecen a la clase más común en un nodo. 2) Criterio de Gini o Gini index que toma la clase más representativa y evalúa el por qué se distingue; permite medir la pureza de un nodo. 3) Criterio de entropía que cuantifica las impurezas de un nodo, si un nodo es puro contiene una sola clase y su entropía es cero. 4) Distribución χ^2 o chi cuadrado determina si existe diferencia significativa entre nodos hijos del nodo padre.⁹⁴⁻⁹⁶

Cuando se tiene los árboles construidos, el dato desconocido se somete a la evaluación por cada árbol, si al final la mayoría de los árboles etiquetan el dato nuevo con la misma categoría o clase, este dato recibe esta etiqueta. Random Forest se puede aplicar en farmacología, toxicología y diseños de fármacos para predicción de sensibilidad, actividad o inactividad de fármacos, por ejemplos: Rahman R y colaboradores en el 2016 que emplearon el método de Random Forest para la predicción de la sensibilidad a los fármacos en un conjunto de datos de líneas celulares sintéticas y cancerosas, ilustrando que se pueden seleccionar los pesos de los árboles para reducir el IC₅₀ sin aumentar el error medio.⁹⁷

También se resalta que Alex P y colaboradores en 2019 utilizaron Random Forest para predecir la actividad o inactividad de los fármacos contra células cancerosas en función del estado mutacional de sólo 145 oncogenes y un conjunto de descriptores estructurales de los fármacos.⁹⁸ Adicionalmente, Kadioglu O y colaboradores en 2021 aplicaron un enfoque de Machine Learning, que incluye Random Forest combinado con la experimentación *in vitro* e *in vivo* para predecir la cardiotoxicidad de los candidatos a fármacos.⁹⁹ Zhang X y colaboradores en 2021 usaron 5 algoritmos de aprendizaje automático (Machine Learning) y entre ellos Random Forest, para generar una predicción sobre cuál es el fármaco más eficaz de acuerdo con la expresión de genes específicos en pacientes con múltiples cánceres primarios (gástrico y pancreáticos).¹⁰⁰

6.1.3.2 Software para estudios SAR

Para los estudios SAR existen muchos programas (software) que permiten tanto el cálculo de los descriptores moleculares como el análisis de la información (métodos quimiométricos). Waters M y colaboradores sugirieron que para la selección del tipo de estudio computacional lo más conveniente, si es posible, es tener una hipótesis mecanicista del compuesto y la diana.⁹ Algunos de los programas que se usan para el cálculo de descriptores y huellas dactilares (fingerprints) se muestran en la Tabla 12.⁵⁵

Tabla 12. Algunos programas para cálculo de descriptores y huellas dactilares.

Software	Licencia	Descriptores o fingerprints
ACD/Labs	Freeware	Log P, log S, log D y pKa.
ALOGPS2.1	Freeware	
CODESSA	Comercial	Topológicos, geométricos, electrónicos y fisicoquímicos.
ADAPT	Freeware	
PreADMET	Freeware	
CDK	Freeware	
MODEL	Webserve (freeware)	
PreADMET	Freeware	Constitucionales, grupos funcionales, topológicos, patrones moleculares y ionización ácido – base.
OpenBabe	Freeware	Fingerprints

PADEL	Freeware	Descriptores 2D
OpenBabel	Freeware	
MOLD2	Freeware	
PreADMET	Freeware	Descriptores 3D
Sarchitect	Freeware	

De otra parte, algunos programas que usan métodos quimiométricos y tienen costo son: MATLAB,¹⁰¹ Sybyl,¹⁰² y GaussView;¹⁰³ pero, existen dos programas que son de uso libre, que permiten realizar juntos un estudio SAR: R-Studios¹⁰⁴ y KNIME.¹⁰⁵ Este último es un programa para crear y producir ciencia de datos utilizando un entorno fácil e intuitivo,¹⁰⁵ que permite generar flujos de trabajo para organizar tareas de cómputo repetitivas, se puede utilizar para limpiar y depurar los datos de los descriptores moleculares que se utilizan para un estudio SAR o QSAR y también para realizar cálculos quimiométricos a través de extensiones. En la Figura 8 se observan las herramientas que se pueden usar solo con un flujo de trabajo en KNIME.

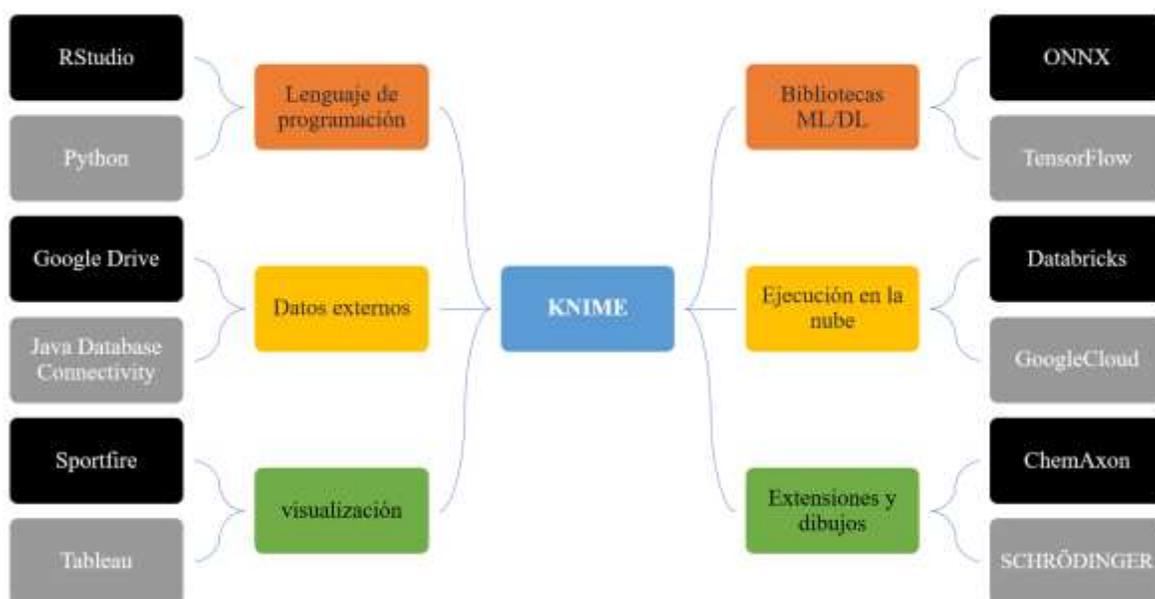


Figura 8. Algunas fuentes de datos, tecnología o herramientas que se pueden usar solo con un flujo de trabajo en KNIME. Adaptado de la literatura¹⁰⁶ con fines académicos.

Adicionalmente, R-Studio es un entorno para el lenguaje de programación R, el cual permite procesar información de datos utilizando metodologías estadísticas como PCA, Random Forest y K-NN. Guha R en el 2007 indicaron que “*R-Studio y la programación en R es una*

opción popular para el modelado estadístico y la creación de prototipos científicos en una serie de campos. En el campo de la química, R proporciona varias herramientas para una variedad de problemas relacionados con el modelado estadístico de la información química".¹⁰⁷ Para esto, se vale de paquetes para acceder a herramientas quimioinformáticas como el paquete *rcdk*, el cual proporciona un acceso directo desde el entorno R al CDK (Chemistry Development Kit) un potente marco Java para la química informática,^{108,109} que permite leer una variedad de formatos moleculares y calcular descriptores moleculares.¹⁰⁷

Otro paquete es el *rpumchem*, que permite el acceso a la base de datos PubChem, de la cual se puede obtener datos de bioensayos, información estructural y relaciones moleculares.^{107,108} También se dispone de un paquete para analizar datos de moléculas pequeñas similares a fármacos es ChemmineR, el cual permite procesar grandes cantidades de moléculas pequeñas, predecir propiedades fisicoquímicas y estructurales, buscar similitudes, clasificar y agrupar bibliotecas de compuestos.¹¹⁰

6.2 El cáncer como área de estudio

El estudio del cáncer es un área importante de interés en las ciencias de la vida porque ha sido una enfermedad mortal en toda la historia humana. Algunos científicos consideran que el cáncer no es una enfermedad sino un gran grupo de enfermedades caracterizadas por crecimiento incontrolado y propagación de células anormales.¹ Las células en diferentes partes del cuerpo pueden verse y funcionar de manera diferente, pero la mayoría de ellas pasan por un ciclo de vida predecible, ya que las células viejas mueren y surgen nuevas células para ocupar su lugar.¹

Normalmente, la división y el crecimiento de las células es ordenada y controlada por señales como: la presencia de mitógenos que son proteínas que sirven como factores de crecimiento externo para las células, la inhibición por densidad que determina cuándo una célula finaliza el proceso de división de acuerdo con la cantidad de células que la rodean o la dependencia del anclaje donde las células deben unirse a la matriz de un tejido o sustrato para iniciar el proceso.¹⁻³ Pero si por algún motivo las células no responden a estos controles naturales,

continuará en un constante proceso de división lo cual las puede convertir en células cancerígenas. Estas células forman una hinchazón anormal, llamada tumor, el cual puede ser benigno o maligno. Un tumor benigno no se propaga ni hace metástasis a las otras partes del cuerpo y se considera no canceroso. Un tumor maligno, por otro lado, puede extenderse por todo el cuerpo y se considera canceroso.¹⁻³

El ciclo de vida de una célula está constituido por cuatro fases: fase G1 y G2 donde la célula está creciendo y se prepara para su división, la fase S donde se replica el ADN y La fase de la mitosis donde la célula inicia su proceso de división.^{2,3} La mitosis consta de 4 etapas:

- La profase que se caracteriza por la formar el huso mitótico, condensación de los cromosomas y desaparecer la membrana nuclear
- La metafase en la cual el huso mitótico captura los cromosomas y los alinea
- El anafase donde se da la separación de las cromátidas hermanas y la migración de estas hacia los polos a través del huso mitótico
- La telofase comienza la división del citoplasma, la restauración de la membrana nuclear y la desaparición del huso mitótico.

Todas estas fases y etapas deben cumplir determinados controles celulares para que se dé la división celular.^{2,3} Algunas alteraciones en estas fases o etapas pueden conducir a la producción de células cancerígenas como, por ejemplo, el fallo de los procesos de reparación de la replicación del ADN en la fase S y el daño de la interpretación de las señales de división en la mitosis.^{2,3} Como estas células pierden la capacidad de detener el proceso de división, los investigadores buscan compuesto químicos (fármacos) que bloqueen el proceso de mitosis para activar el proceso apoptosis lo que genera la muerte de estas células.⁴ Estos fármacos actúan sobre procesos en el ciclo celular o dianas que son estructuras celulares que intervienen en el proceso de división celular. En la Figura 9, se observan los mecanismos de acción y las dianas de compuestos anticancerígenos.^{4,5}

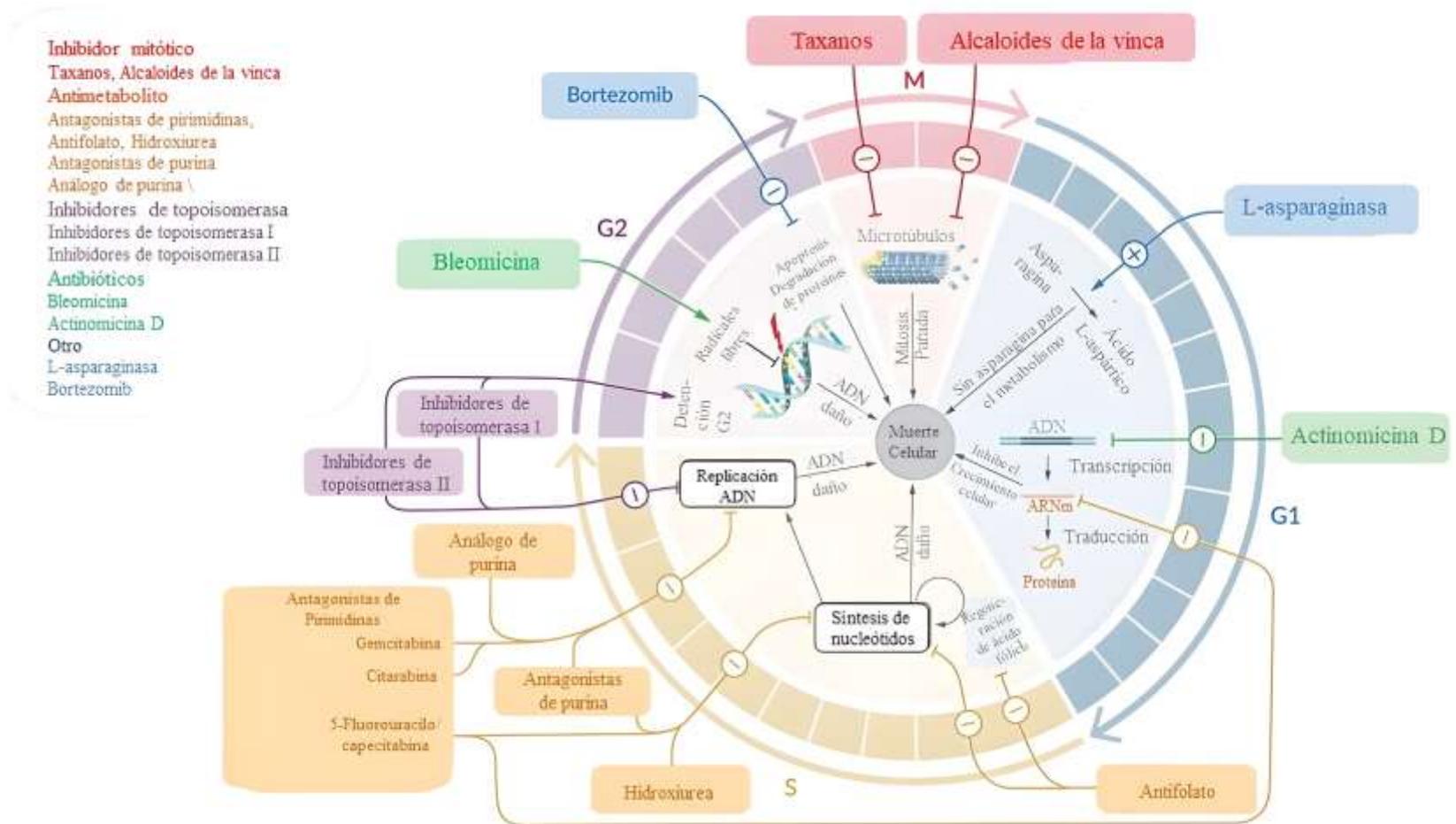


Figura 9. Mecanismos de acción de fármacos. Tomada de la literatura⁵ con fines académicos.

Un ejemplo de estas dianas es la tubulina, una proteína globular compuesta por dos subunidades α/β que al unirse entre sí forman protofilamentos, los cuales se ensamblan para generar los microtúbulos (Figura 10) que estructuran el huso mitótico.^{13,111}

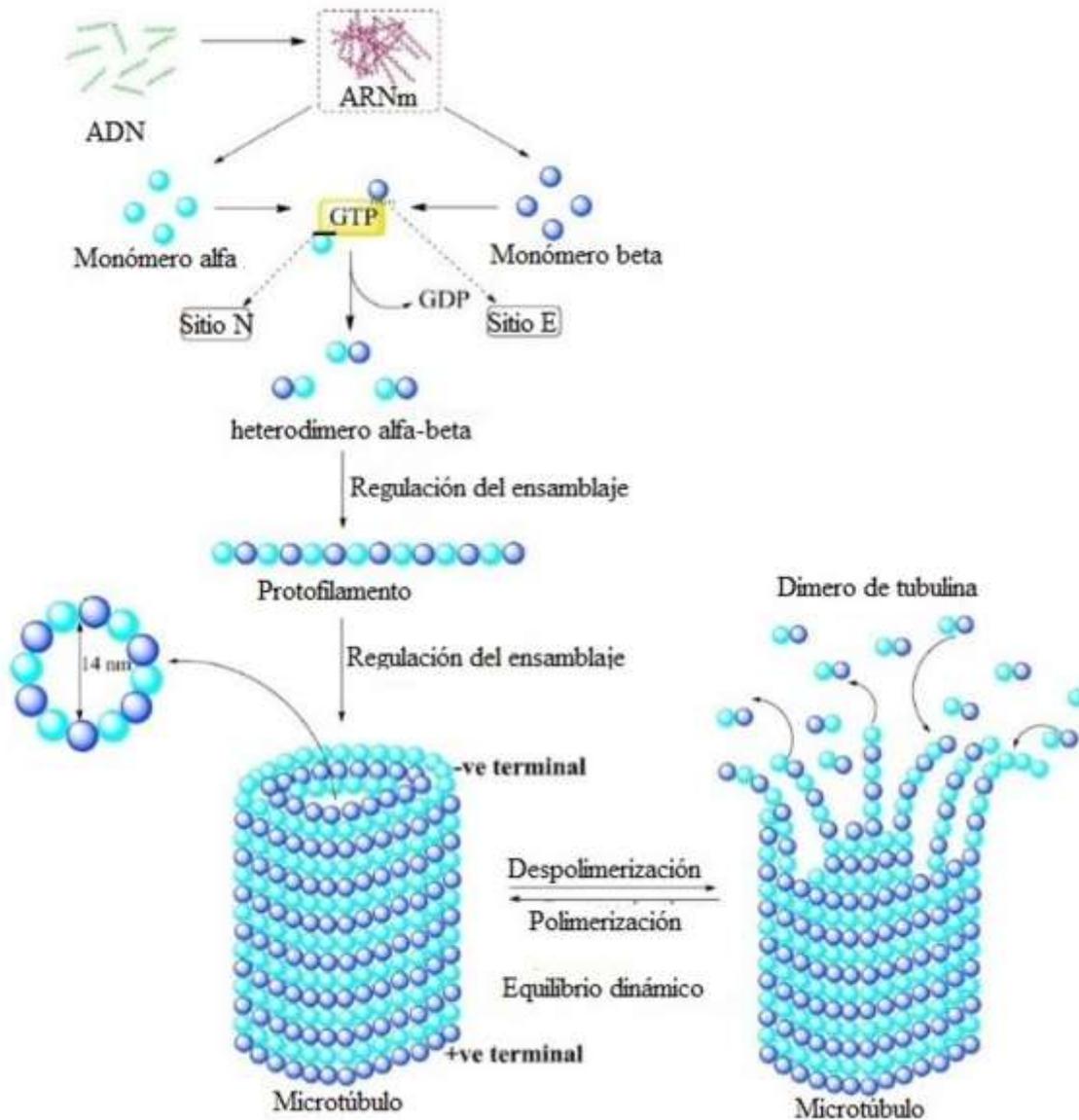


Figura 10. Formación de los microtúbulos. Tomado de la literatura¹³ con fines académicos.

Así, la tubulina está constituida por tres dominios funcionales los cuales se muestran en la Figura 11: el dominio amino terminal, un dominio intermedio y un dominio carboxilo terminal.^{112,113} El dominio intermedio es de gran interés en el estudio de fármacos, ya que este interactúa con diversas moléculas, como el paclitaxel.

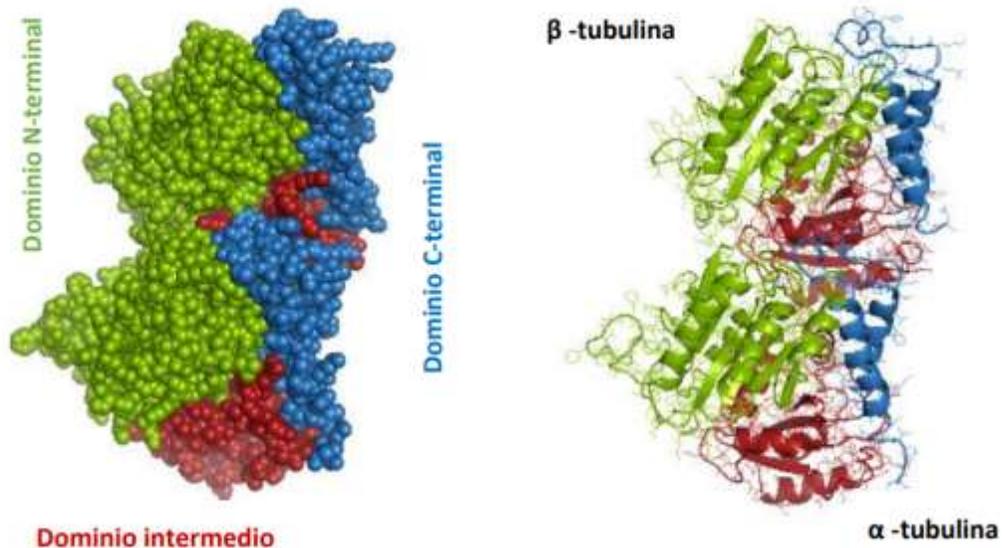


Figura 11. Dominios funcionales del dímero de tubulina. Tomado de la literatura¹¹⁴ con fines académicos.

La β -tubulina se une a una molécula de GTP en el dominio intermedio, esta acción permite el ensamblaje de los heterodímeros para la formación y estabilidad de los microtúbulos (polimerización). Para desensamblar los microtúbulos (despolimerización) se necesita que el GTP que está unido a la β -tubulina se hidrolice, lo que ocasiona que la unión entre los heterodímeros se vuelva más débil y se separen,¹¹⁴⁻¹¹⁶ lo que favorece el equilibrio dinámico de los microtúbulos.¹³ Si la tubulina se ve alterada en el proceso de hidrólisis de GTP por un fármaco, se genera un desequilibrio en la dinámica de los microtúbulos que inician procesos de apoptosis y conducen a la muerte celular.

6.3 Estudios de relación estructura actividad de taxol en cáncer

6.3.1 Generalidades

La primera línea de tratamiento elegida para el cáncer de mama, ovario, pulmón, entre otros tipos de cáncer, son los agentes antitumorales constituidos o derivados de los taxanos,¹⁴ los cuales son compuestos macrocíclicos, ampliamente oxigenados. Se presentan enteramente hidroxilados o como derivados de ésteres de diversos ácidos: acético, benzoico, cinámico, dimetilaminofenilproiónico, entre otros; algunos presentan grupos cetónicos y epóxidos.

Todos los de origen natural presentan un doble enlace tetrasustituido y algunos presentan un anillo oxetánico, el cual le genera a la molécula propiedades citotóxicas.¹¹⁷

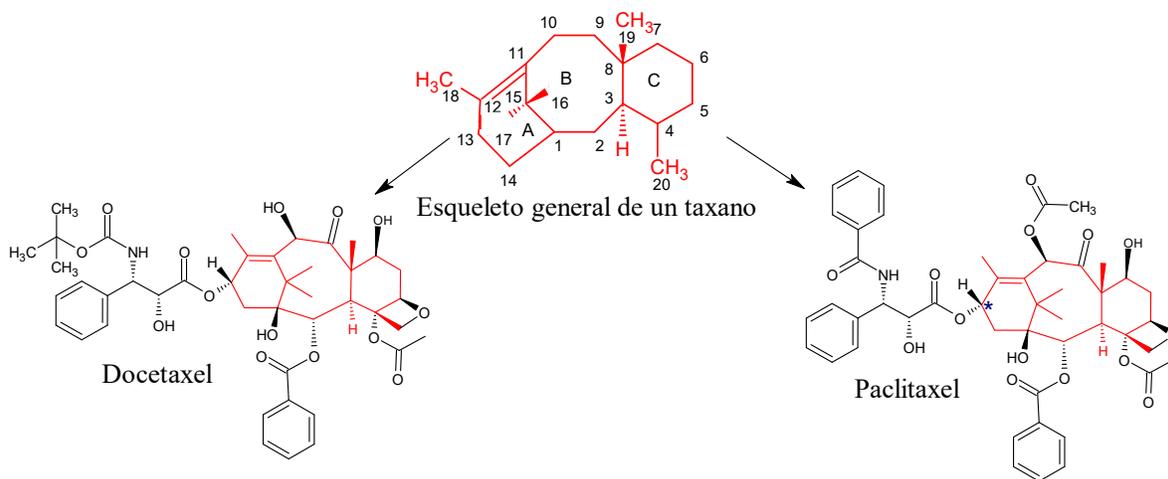


Figura 12. Esqueleto del taxano en dos moléculas docetaxel y paclitaxel. El * en la molécula del paclitaxel indica la posición del C-13 en el cual se une la N-benzoil-3-fenilisoerina. Adaptado de la literatura¹¹⁸ con fines académicos.

La estructura química del anillo de taxano sólo se encuentra en las especies vegetales del género *taxus*, familia taxaceae. El esqueleto del taxano se destaca por la presencia de tres anillos A, B y C de carbonos (Figura 12) conocido como sistema de anillos de taxano de 15 miembros. Todos aquellos compuestos que tengan en su estructura la presencia de este sistema son conocidos como taxoides. La presencia del doble enlace en uno de los ciclos hace que este sistema también sea llamado anillos de taxeno; la naturaleza del anillo es isoprenoide y derivado del geranil-geranil difosfato (GGPP).¹¹⁸⁻¹²¹

Los taxanos se agrupan principalmente en paclitaxel (taxol) y docetaxel (taxotero) (Figura 12), así como los taxanos que se derivan de fuentes naturales.¹⁴ También se resalta un derivado del docetaxel, el cabazitaxel cuya diferencia radica que en los grupos hidroxilos C-7 y C-10 se encuentran metilados.¹²²

En este documento se realiza la revisión de los estudios SAR del paclitaxel, ya que se considera el primer agente estabilizador de microtúbulos identificado y además se ha utilizado como agente quimioterapéutico durante las últimas dos décadas.²⁰ El paclitaxel tiene

un núcleo taxánico con una cadena lateral de N-Benzoil-3-fenilisoserina en el C-13 de su molécula, la que es altamente flexible, y puede adquirir conformaciones alternativas dependiendo del medio. Además, presenta un cuarto anillo en forma de anillo oxetano que une los carbonos de las posiciones 4 y 5 (Figura 13).¹²³ La presencia de la fenilisoserina en el C-13 constituye un hecho estructural crucial para la actividad antitumoral del paclitaxel;^{117,124,125} cuando se remueve, se pierde la función anticancerígena. Esto puede ser porque proporciona muchos contactos hidrofóbicos en especial con β -H229 de la tubulina; presenta variedad de enlaces de hidrógeno e interacciones de van der Waals que permiten una mayor afinidad o interacción estabilizadora con el sitio de unión, por ejemplo el del 2'-OH con el carbonilo principal de R-369,^{126,127} presenta interacciones de van der Waals. Además, cuando se adiciona la fenilisoserina a otro compuesto quimioterapéutico que cumple funciones similares que el paclitaxel como taccalonólido en el C-6, aumenta su capacidad de polimerización hasta 10 veces más que la taccalonólido original¹²⁸ ya que utiliza el bolsillo de unión del paclitaxel en la β - tubulina.

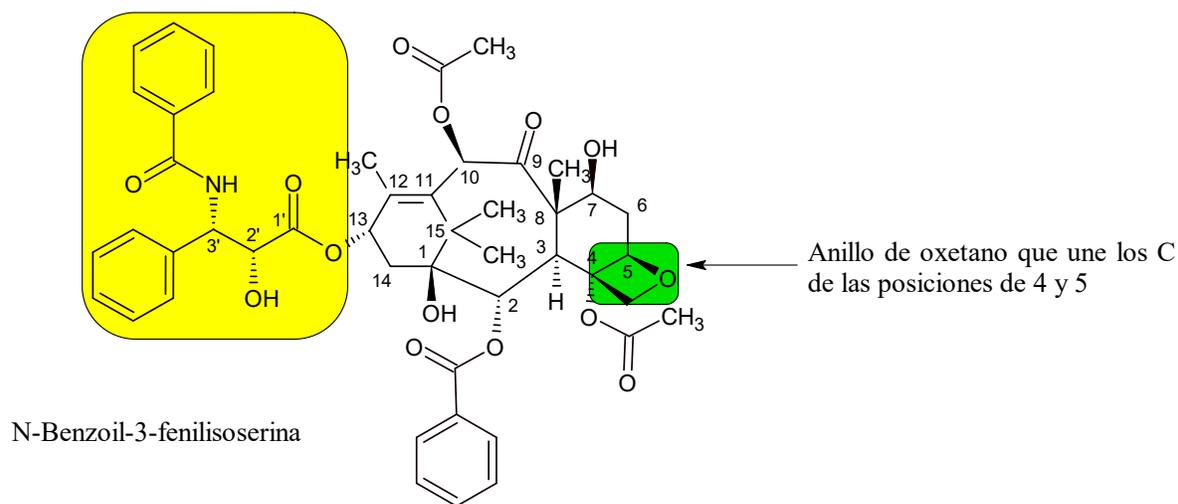


Figura 13. Partes estructurales importantes en el paclitaxel (N-Benzoil-3fenilisoserina y anillo de oxetano). Adaptado de la literatura¹²³ con fines académicos.

Es importante mencionar también, que el paclitaxel es altamente lipofílico y prácticamente insoluble en agua, lo cual se evidencia en su valor elevado de Log P que es 3,20. Para solubilizarlo se utiliza una mezcla de Cremophor EL y etanol deshidratado (50:50 v/v).¹²⁹⁻¹³¹ Cremophor EL es un surfactante no iónico que forma micelas en medios acuosos, lo cual permite aumentar la solubilidad del fármaco.¹³¹⁻¹³³ Investigaciones recientes se enfocan en

buscar vehículos solubilizantes que puedan aumentar la solubilidad de taxanos como el paclitaxel. Entre los vehículos solubilizantes estudiados se encuentran nanopartículas, nanoemulsiones lipídicas, micelas, ciclodextrinas y liposomas.¹³¹

6.3.2 Los taxanos y su actividad anticancerígena

Los taxanos en general se conocen como inhibidores mitóticos hidrofóbicos^{14,134-136} o como inhibidores de microtúbulos. Su principal mecanismo de acción está relacionado con la división celular específicamente en la separación de las cromátidas, interrumpiendo la dinámica del huso mitótico, alterando la disposición de los microtúbulos de este,¹³¹ entre la transición de las etapas metafase a anafase en el ciclo celular, lo cual ocasiona un bloqueo del ciclo celular que induce a la apoptosis celular.^{14,137} En otras palabras, los taxanos interrumpen la función de los microtúbulos e inhiben la mitosis.^{131,138,139}

Los taxanos son clasificados como agentes estabilizadores de microtúbulos, ya que alteran la dinámica, promueven el crecimiento y evitan el desensamblaje de los microtubulos.¹⁴⁰ Los dos taxanos (paclitaxel y docetaxel) se unen a la subunidad β de la tubulina (Figura 14), lo que resulta en la formación de microtúbulos estables y no funcionales. El paclitaxel inhibe la mitosis en la fase G o fase de crecimiento (en la que se sintetiza ARN y proteínas) y el docetaxel en la fase S o fase de síntesis de ADN para prevenir la división celular y producir la apoptosis.^{120,141}

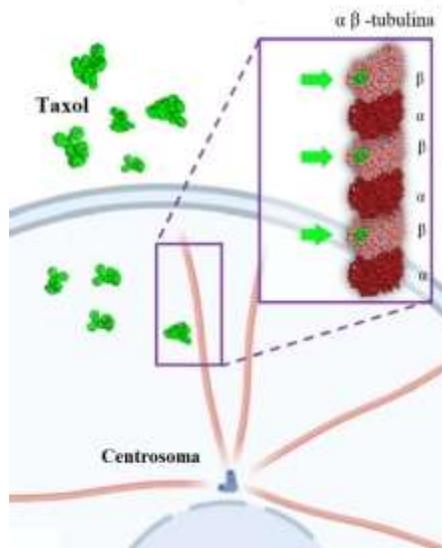


Figura 14. Sitio de unión del taxol a la subunidad β de la tubulina. Tomado de la literatura¹⁴² con fines académicos.

El paclitaxel revierte, al menos parcialmente, el efecto de la hidrólisis de GTP en el equilibrio dinámico de la formación de los microtúbulos, dando lugar a microtúbulos más expandidos.^{127,143-145} El sitio de unión del paclitaxel, es un bolsillo hidrofóbico presente en la β -tubulina. Kellogg E y colaboradores en el 2017, utilizaron la criomicroscopía electrónica de alta resolución (conocida con las siglas en inglés crio-EM) y encontraron tres interacciones críticas entre la β -tubulina y paclitaxel que se presentan en la Figura 15, las cuales están bien respaldadas por estudios farmacóforos previos: 3'-benzoílo del paclitaxel con la H-229 de la β -tubulina; el grupo 2'-OH de paclitaxel con R369 de la β -tubulina y el anillo oxetano del paclitaxel con NH de T276 de la β -tubulina.^{126,127}

En primer lugar, las interacciones entre 3'-benzoílo del paclitaxel con la H-229 de la β -tubulina son de tipo van der Waals. Además, el nitrógeno en β -H229 está posicionado para formar un enlace de hidrógeno con el oxígeno 3' del paclitaxel, interacciones que son esenciales para la actividad estabilizadora del paclitaxel y la β -tubulina.^{126,127} Más aún, la cadena lateral C-13 interactúa con la hélice H7 al proporcionar contactos hidrofóbicos, particularmente con la β -H229.^{126,127}

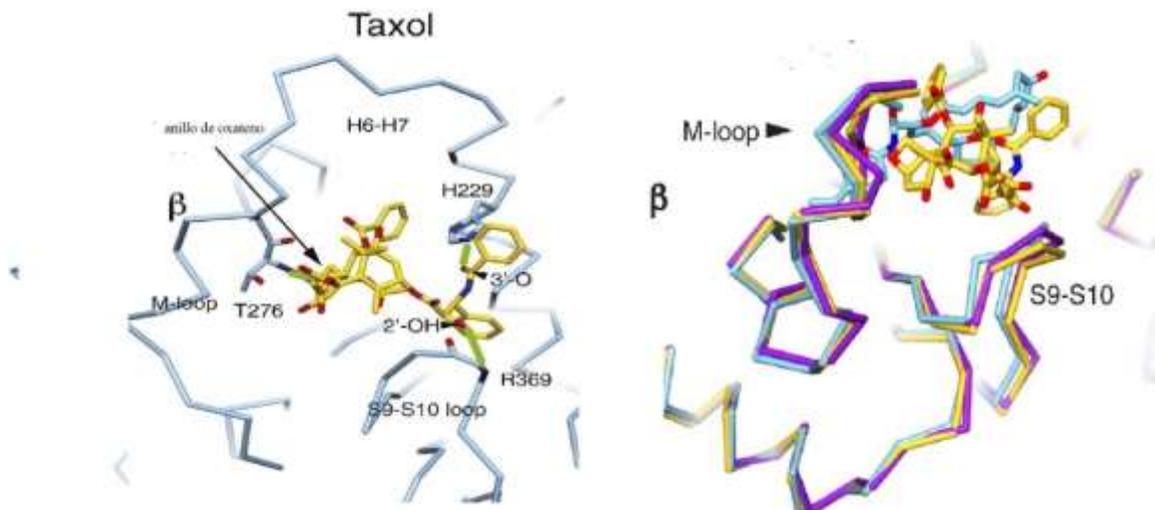


Figura 15. La imagen izquierda representa la unión del paclitaxel (taxol) con tres interacciones críticas de tubulina-taxol marcadas por líneas verdes continuas; la imagen derecha muestra un modelo refinado de la unión del taxol representado con color oro. Tomado de la literatura¹²⁷ con fines académicos.

En segundo lugar, el grupo 2'-OH de paclitaxel con R369 de la β -tubulina presenta un acercamiento al enlace de hidrógeno con el carbonilo de la cadena principal de la R369. Se ha determinado que la eliminación de este grupo provoca una reducción de 2 órdenes de magnitud en la afinidad de unión.^{126,127}

Finalmente, otra interacción involucra a la cadena principal de β -tubulina NH de T276 que forma un enlace de hidrógeno con el anillo de oxetano de paclitaxel.^{126,127} La unión del paclitaxel con la tubulina da inicio al proceso de interrupción de la dinámica de los microtúbulos, llevando a un fallo celular y la apoptosis de la célula.

La actividad anticancerígena del paclitaxel depende también de las concentraciones, es así como a concentraciones altas puede ocasionar la polimerización, la estabilización y la agrupaciones en manojos de los microtúbulos,^{146,147} pero si las concentraciones son bajas suprime la dinámica de microtúbulos sin afectar su masa, lo cual genera el bloqueo de la mitosis e induce la apoptosis.^{137,148,149}

6.3.3 El taxol (paclitaxel) y algunos estudios de relación estructura actividad (SAR)

Se han realizado diversas modificaciones químicas en la estructura del paclitaxel y aplicación de diferentes ensayos como ensamblaje de microtúbulos, desensamblaje de microtúbulos, toxicidad en cultivos de células de mamíferos y ensayos en ratón.¹⁵⁰ Esto ha permitido realizar extensos estudios de SAR en el paclitaxel con el fin de entender cuáles son las partes estructurales de la molécula que están relacionados con su unión a la β -tubulina y su actividad biológica (Figura 16).¹⁵¹

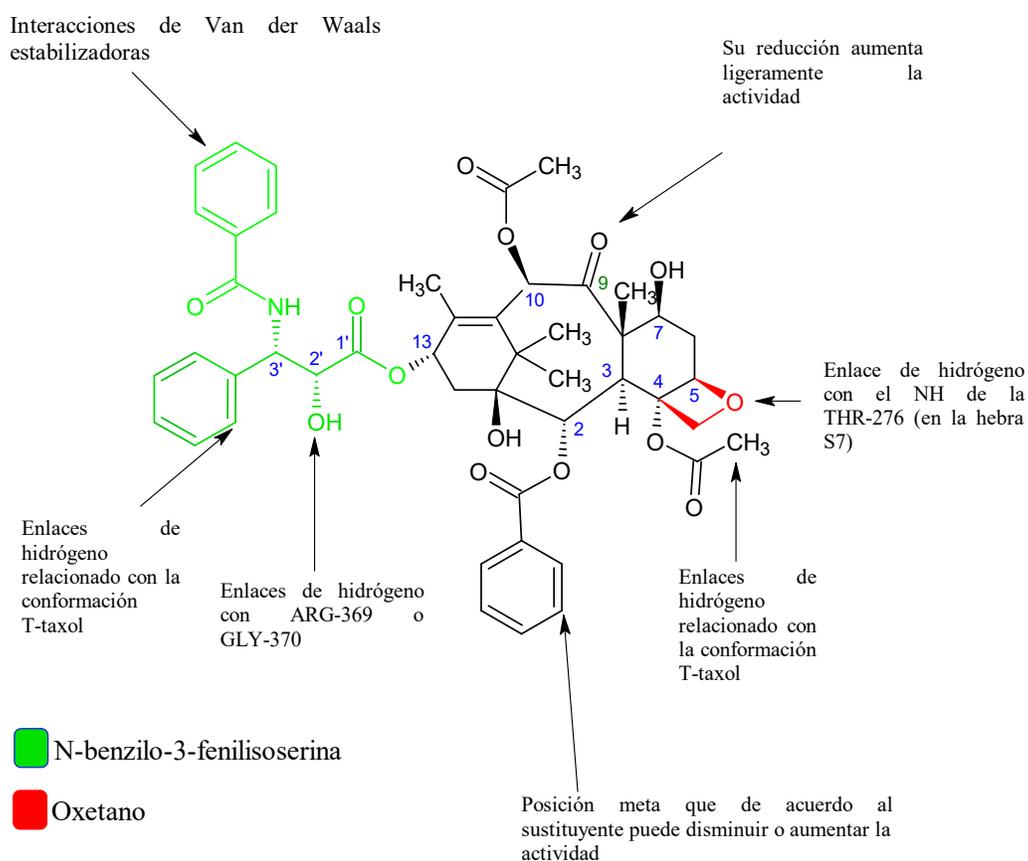


Figura 16. Relación estructura actividad de paclitaxel. Adaptado de la literatura¹⁵² con fines académicos.

Los estudios SAR del paclitaxel tuvieron su auge entre los años de 1990 a 2010¹⁵³⁻¹⁷⁰, y es digno de mención Kingston y colaboradores, que brindaron una mirada de cómo las distintas partes del paclitaxel tiene influencia o no sobre la actividad del compuesto.¹⁶⁴ De sus trabajos puede destacarse el capítulo de la química del taxol¹⁶⁴ donde mencionó tres abordajes para

realizar estudios SAR, la importancia de la cadena lateral enlazada a C-13, el efecto de su remoción y la modificación de los sustituyentes del sistema central de anillos del esqueleto taxoide.¹⁶⁴

6.3.3.1 Efecto de las modificaciones en los anillos del paclitaxel sobre su actividad anticancerígena

Algunas modificaciones en los anillos del paclitaxel y su actividad resultante se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13. Modificaciones en el anillo de paclitaxel.

Carbono en el cual se realiza la modificación	Modificación	Actividad
C-2	Grupo azida en posición para en el anillo benzolío. ¹⁷¹	Inactividad
	Grupo azida en posición meta en el anillo benzolío. ¹⁷¹	Seis veces más citotóxica
C-4	Cambio por un grupo hidroxilo. ¹⁷²	Poca
	Cambio por un hidrógeno. ¹⁷¹	Poca
C-7	Eliminación del grupo OH. ^{173,174,175-177}	No afecta
C-10	Desacetilación. ^{173,174, 175,176,178}	No afecta

Cabe resaltar que el grupo metil acetato del C-4 con la posición *orto* del anillo 3' fenilo del C-3 generan un enlace H-H que le brinda al paclitaxel la conformación T-taxol mostrada en Figura 17,¹⁶⁰ que fue propuesta como la conformación que debía adoptar el paclitaxel para unirse con la tubulina.^{159,179,180} En ocasiones, esta conformación hace parte de la propuesta de los tres extremos (el polar, no polar y conformaciones de T-taxol) que tiene el paclitaxel para unirse con la β -tubulina.¹⁵¹

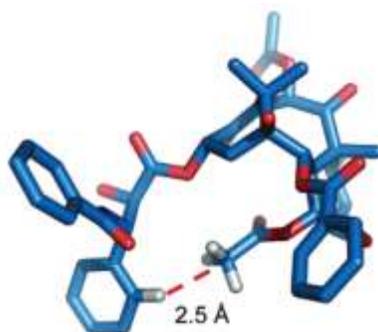


Figura 17. Conformación T-Taxol. Se ilustra la corta distancia H-H entre el centroide del grupo metilo acetato C-4 y la posición orto del anillo fenilo C-3 '. Tomada de la literatura¹⁶⁰ con fines académicos.

Por otra parte, el acoplamiento de diferentes análogos del paclitaxel al sitio de unión de la β -tubulina, demostró que el sistema de anillos del paclitaxel y el benzoilo C-2 son esenciales para la unión de la beta-tubulina.¹⁵¹

6.3.3.2 Modificaciones en la cadena lateral C-13 y su remoción en el paclitaxel

El cambio más significativo en la citotoxicidad del paclitaxel es la remoción de la cadena lateral C-13, dado que al eliminarla reduce 1700 veces su citotoxicidad en células KB,¹⁶⁴ ya que esta cadena proporciona una unión específica con la β -tubulina.¹⁵¹ La N-benzoilfenilisoserina en el C-13 presenta dos puntos de gran interés, 3'-benzoilo y 2'-OH, que presentan interacciones esenciales con la β -tubulina en β -H229 y β -R369.^{126,127} El grupo hidroxilo C-2' es importante para la actividad biológica, aunque se retiene algo de actividad cuando se elimina. Si se modifica por un grupo acetoxi, se reduce su actividad 30 veces y si se modifica por *t*-butil dimetil silil es mucho menos citotóxico que el taxol (Tabla 14).¹⁶⁴

Tabla 14. Datos de inhibición y citotoxicidad de las modificaciones en el C-2' y C-3' grupo fenilo y C-3' grupo benzoilo del paclitaxel.

Modificación	Bioactividad		Línea celular
	Inhibición del desensamblaje de la tubulina IC ₅₀	Citotoxicidad EC ₅₀	
C-2' -OH	1	1	KB

C-2' -OAc	30	-	KB
C-2' -OSiBu^tMe₂	-	3x10 ⁴	KB
C-3' -Ph	1	1	P388
C-3' -<i>p</i>-HOC₆H₄	0.8	9.8m	p388
C-3' -PhCONH	1	1	J774.2
C-3' -MeCH=CCONHMe	1.5	1.4	J774.2
C-3' -ButOCONH	0.5	0.4	J774.2
C-3' -NH₂	44	-	J774.2

Adaptado de la literatura¹⁶⁴ Con fines académicos.

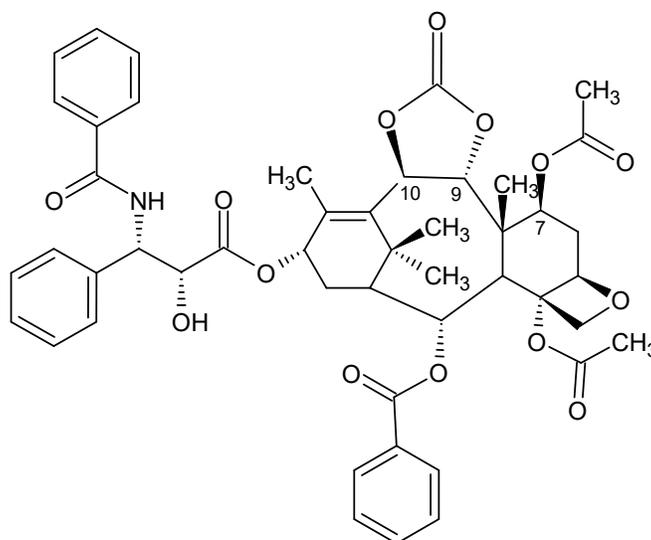
El grupo 3'-fenilo parece contribuir a la actividad global del paclitaxel, ya que cuando se modifica por el *p*-hidroxifenilo resulta más activo como inhibidor del desensamblaje de la tubulina que el Paclitaxel, pero es menos citotóxico que el taxol (Tabla 14).¹⁶⁴ Si el grupo 3-N'-benzoílo (Tabla 14) se remueve da como resultado la pérdida de actividad (-NH₂), pero si es reemplazado por grupos N-acilo, se puede dar, tanto una reducción (-MeCH=CCONHMe) como un aumento (-ButOCONH) en la actividad.¹⁶⁴ En el C-3' de la cadena lateral de la feniloserina C-13 del taxol, se encuentra un grupo fenil el cual tiene una modesta influencia en la actividad biológica. Al ser sustituido por 4-metoxifenilo o 3,4-diclorofenilo, no se genera una mejora significativa de la actividad biológica. La presencia del grupo fenil puede estar relacionada con las interacciones hidrofóbicas generadas en el sitio de unión.¹⁸¹

6.3.3.3 Estudios SAR del paclitaxel en la actualidad

Son pocos los estudios que se encuentran del paclitaxel en la actualidad ya que relativamente se ha estudiado gran parte de este compuesto. Lo único que se realiza son modificaciones estructurales que generan una mejor actividad comparada con el paclitaxel normal. A continuación, se describen dos investigaciones al respecto.

Xie C y colaboradores en el 2020, sintetizaron una serie de análogos del paclitaxel con modificaciones en la posición C-7, C-9 y C-10 (Figura 18) y evaluaron su actividad anticancerígena en tres líneas celulares de cáncer A549 (línea celular de cáncer de pulmón), MB-231 (línea celular de cáncer de mamá) y A549/T (línea celular resistente al cáncer de pulmón humano).¹⁸² En las posiciones C-9 y C-10 adicionaron un carbonato y en el C-7 un grupo acetilo (Figura 18); estas modificaciones exhibieron una citotoxicidad comparable en

el ensayo de citotoxicidad basado en células A549 con relación al paclitaxel y mostraron ser 7 veces más potentes que paclitaxel en el ensayo con células A549.¹⁸²



A 549 IC₅₀ = 22 nM

A549/T IC₅₀ = 0,299 μM

Figura 18. Análogo del paclitaxel con modificaciones en C-7, C-9 y C-10. Adaptado de la literatura¹⁸² con fines académicos.

De otra parte, Sheng y colaboradores en el 2019 sintetizaron 14 tipos de cadenas laterales tipo *cis*-oxazolidina y con estas construyeron 14 análogos del paclitaxel mediante la esterificación de las cadenas laterales. De estos análogos se destacaron dos (compuestos a y b de la Figura 19) que mostraron una mejor actividad comparados con el paclitaxel y cabazitaxel en cuatro líneas tumorales: cáncer de pulmón (H460 y PC9), células de osteosarcoma (MG63) y carcinoma epífito oral KB. Con base en estos resultados concluyeron que esto se debía a la sustitución por metilación en paclitaxel en las posiciones C-7, C-10 y la sustitución heterocíclica de 3'-amidas de cadena lateral.¹⁸³

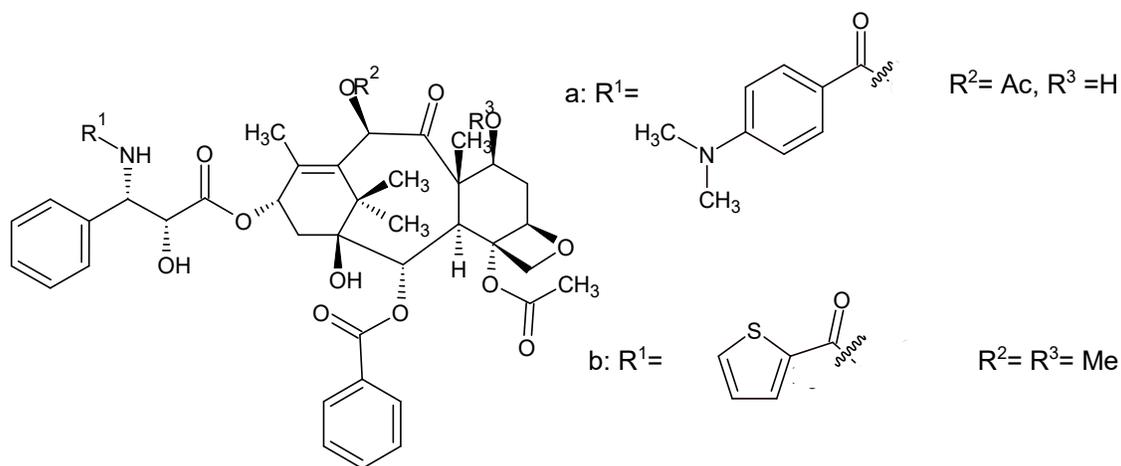


Figura 19. Análogos del paclitaxel sintetizados por Sheg y colaboradores. Adaptado de la literatura¹⁸³ con fines académicos.

6.4 Estudios de relación estructura actividad de líquidos iónicos de imidazolio en cáncer

Los líquidos iónicos (LIs) son sales orgánicas cuyos cationes son no metálicos, centrados por lo general en fósforo y nitrógeno, con puntos de fusión por debajo de los 100 °C. Esta propiedad física resulta de la desestabilización de la red cristalina por el empaquetamiento poco eficaz entre los aniones y los cationes asimétricos y voluminosos (Figura 20).¹⁸⁴⁻¹⁸⁷ Presentan fuerzas atractivas coulombicas débiles entre el anión y el catión, pero a su vez, presentan interacciones de corto alcance, como las de tipo ion-dipolo, enlaces de hidrógeno o de van der Waals.¹⁸⁸

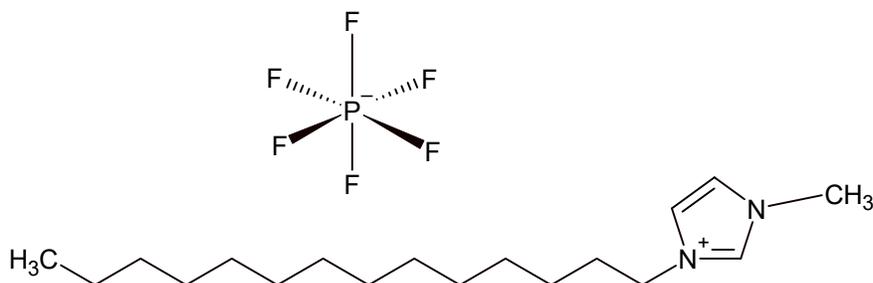


Figura 20. Representación estructural del [C₁₄-mim][PF₆]. Adaptado de la literatura¹⁸⁹ con fines académicos.

Las combinaciones entre los cationes y aniones en los últimos años de los LIs que se presentan en la Figura 21 y las propiedades fisicoquímicas que estos presentan, han

despertado el interés de la industria farmacéutica, por el potencial para crear nuevas generaciones de fármacos que sirvan como terapias innovadoras para diferentes enfermedades y además que permitan resolver dilemas como el uso de drogas en forma sólida y el aumento de la biodisponibilidad de los fármacos relacionado con la solubilidad que presentan en soluciones acuosas.^{19,190-192}

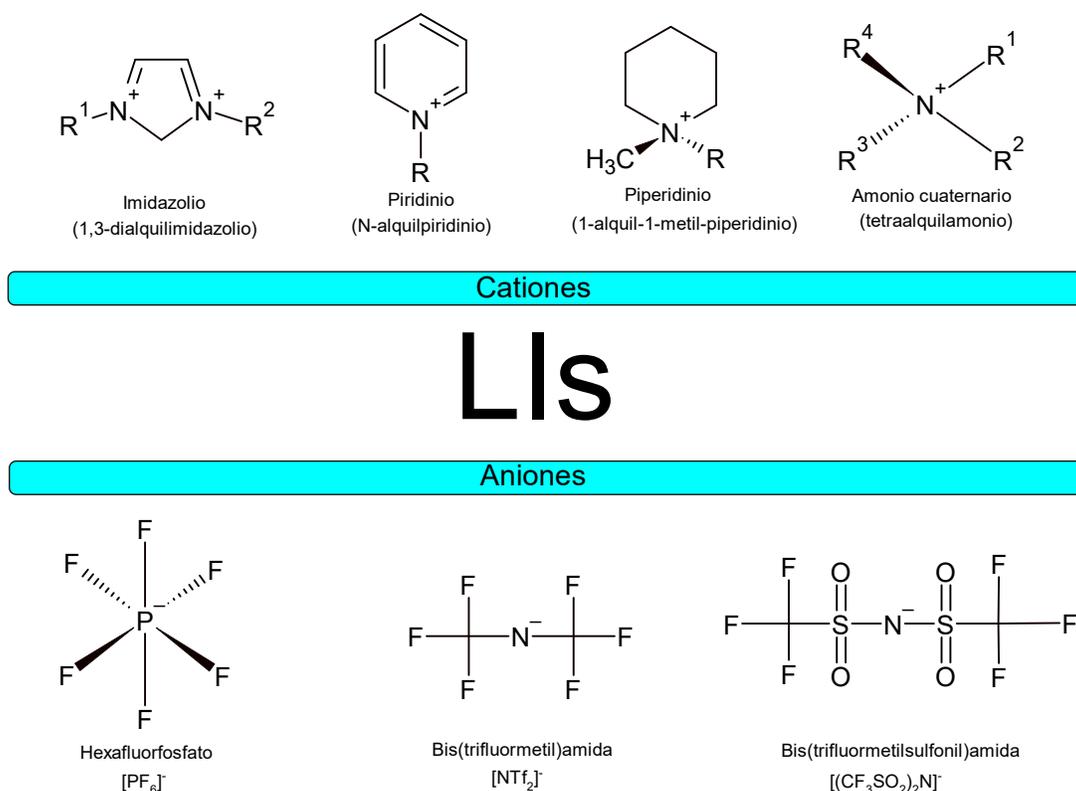


Figura 21. Algunas estructuras representativas de cationes y aniones presentes en los LIs.

6.4.1 Algunas generalidades sobre líquidos iónicos de imidazolio

La familia de líquidos iónicos más investigada en áreas como la química, la biotecnología y la industria farmacéutica son los líquidos iónicos de imidazolio.¹⁸¹¹⁹³ Son sintetizados generalmente mediante la alquilación de un N-alquilimidazol y la incorporación adicional del anión deseado mediante metátesis de aniones. A nivel estructural se caracterizan por ser catiónicos, aromáticos y presentar dos heteroátomos (nitrógeno) en su anillo.¹⁹⁴ La estructura electrónica del catión imidazolio que se enseña en la Figura 22 presenta seis electrones

deslocalizados en tres centros a lo largo del grupo $N^1-C^2-N^3$ y un doble enlace entre los carbonos 4 y 5, en el lado opuesto del anillo.^{195,196}

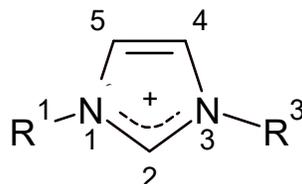


Figura 22. Estructura electrónica del catión 1,3-dialquilimidazolio. Tomado de la literatura¹⁹⁵ con fines académicos.

En el catión 1,3-dialquilimidazolio (el dominio hidrofílico de la molécula) los átomos de hidrógeno en las posiciones 2, 4 y 5 soportan casi la misma carga, pero el átomo de carbono en la posición 2 está cargado positivamente debido al déficit electrónico en el enlace $C=N$, mientras que los carbonos 4 y 5 son prácticamente neutros.^{195,196} Ese déficit electrónico en el C-2 provoca que el átomo de hidrógeno en esta posición, tenga una acidez de Lewis alta (como resultado de la carga positiva deslocalizada), lo suficiente para ser formador de enlaces de hidrógeno con el agua y con el anión, lo que representa una de las claves para entender las propiedades de este tipo de LIs.^{195,196} Por su parte, el dominio hidrofóbico (las cadenas carbonadas) son sectores moleculares donde se originan interacciones de van der Waals con sectores hidrofóbicos de otras moléculas o de moléculas vecinas.¹⁹⁷

Para nombrar los cationes de imidazolio existen diferentes métodos, uno de los más usados es el sistema propuesto por T. Welton y J. P. Hallet,¹⁹⁸ el cual describe de una manera esquemática las cadenas alquil que se unen a los heteroátomos a través de un sistema alfanumérico.^{196,198} Se escribe la letra C para referirse a una cadena alquil y un subíndice numérico que indica la cantidad de carbonos que están presentes, acompañado de la abreviación im (imidazolio). Todo esto se encuentra escrito dentro de un corchete y en el exterior del corchete se encuentra un superíndice indicando la carga del ion, tal como se indica en la Figura 23.^{196,198}

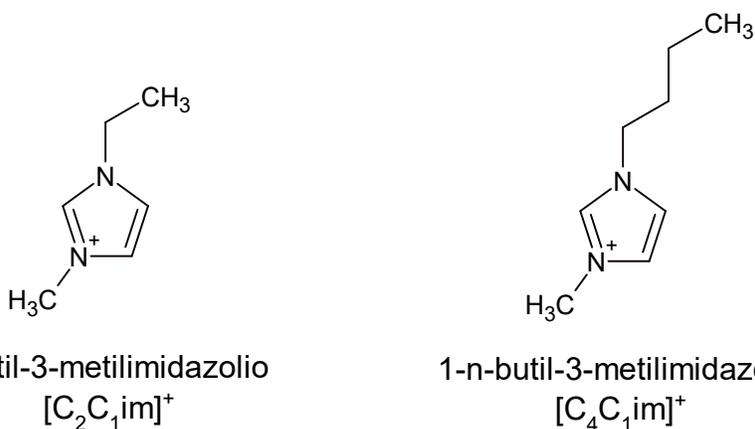


Figura 23. Ejemplos de la nomenclatura propuesta por T.Welton y J.P.Hallet. Tomado de la literatura¹⁹⁸ con fines académicos.

Este sistema también permite abreviar no solo cadenas alquil lineales sino aquellas que no son lineales como el 1-*tert*-butil-3-metilimidazolio el cual se abrevia [^tC₄C₁im]⁺.^{196,198} Además, permite escribir grupos funcionales presentes en las cadenas, por ejemplo, el [(HO)⁴C₄C₁im]⁺ que denota la presencia de un grupo hidroxilo en el butil. La posición del grupo funcional dentro de la cadena alquil se abrevia con un super índice numérico, en este caso vemos que el OH está acompañado de un 4 lo que significa que en el butil el OH está en el carbono 4.¹⁹⁸

Otro método para nombrar es a través de la abreviación [xyim]⁺, encontrado en la página de Sigma-Aldrich donde x e y son las primeras letras de los nombres de las cadenas de alquilo unidas a los heteroátomos del catión imidazolio como 1-etil-3-metilimidazolio que se abrevia [emim]⁺.¹⁹⁹ Este tipo de abreviaciones puede presentar ambigüedades como el [pmim]⁺ donde la p puede significar propil o pentil.¹⁹⁸ Es por eso que la mayoría de los autores consultados en este review prefieren utilizar el primer método.

Con respecto a la clasificación de LIs de imidazolio se puede dar en cuatro categorías, dependiendo de la cantidad de sustituyentes que presenten: monosustituido, disustituido trisustituido y benzimidazolio (Figura 24). Se puede resaltar que la más estudiada es la de los LIs de imidazolio disustituídos, es decir aquellos en los cuales cada nitrógeno heteroaromático está enlazado a una cadena alquilo.²⁰⁰

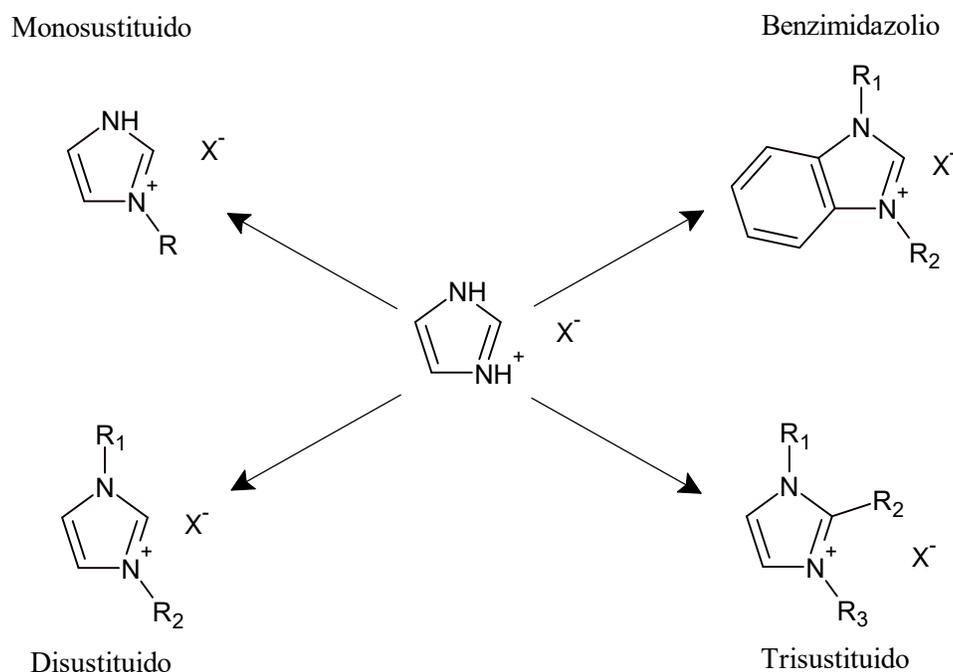


Figura 24. Clasificación de los LIs de imidazolio de acuerdo con la cantidad de sustituyentes presentes. Adaptado de la literatura²⁰⁰ con fines académicos.

De otra parte, los LIs de imidazolio presentan propiedades como:

- Cabeza altamente polar gracias a su naturaleza anfifílica.¹⁵
- Variación en la miscibilidad en el agua y en disolventes orgánicos de acuerdo con la longitud de cadena lateral en el catión y la elección del anión.²⁰¹
- Mejor estabilidad térmica en comparación con los LIs derivados de piridinio, amonio tetraalquilado y piperidinio.
- Sus constantes dieléctricas fluctúan en un rango de 8,8 – 15,2. Entre mayor sea la longitud de los grupos N-alquilo del catión imidazolio, menor es su constante dieléctrica.¹⁹⁷ Los LIs de imidazolio presentan una gran cantidad de interacciones supramoleculares lo cual hace complejo su abordaje, de tal manera que se necesitan varios parámetros fisicoquímicos para estudiarlas. En el año 2010, Oliver-Bourbigou y colaboradores presentaron un resumen de las posibles interacciones como se ilustra en la Figura 25, resaltando entre ellas enlaces de hidrógeno, fuerzas de van der Waals, interacciones π - π e interacciones coulombicas (ion/ion).¹⁹⁷

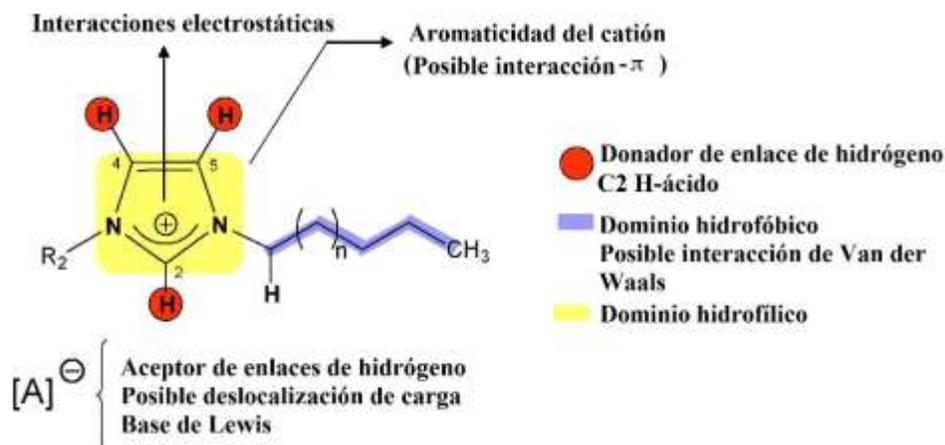


Figura 25. Representación esquemática de los diferentes tipos de interacciones presentes en los LIs basados en imidazolio. Tomado de la literatura¹⁹⁷ con fines académicos.

Adicionalmente, Hardacre y colaboradores estudiaron las posibles ubicaciones del anión alrededor del catión imidazolil como se representa en la Figura 26, a través de las correlaciones entre los datos computacionales con los datos experimentales de las estructuras en estado cristalinas de LIs de imidazolio.²⁰² Encontraron que, dependiendo del tipo de anión, este ocupará un espacio especial alrededor del catión de imidazolio, la posición de los aniones cerca al C-2 es la que presenta mayor probabilidad. Por ejemplo, aniones como el Cl^- que es un buen aceptor de enlace de hidrógeno se encuentra cerca a C-2, mientras aniones más grandes como $[\text{PF}_6]^-$ o $[\text{NTf}_2]^-$ se localizan preferiblemente sobre el centro del anillo de imidazolio.^{197,202}

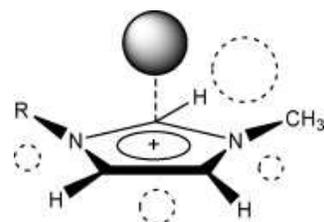


Figura 26. Posible ubicación de los aniones (representados como círculos punteados) con respecto al catión imidazolil. Tomado de la literatura¹⁹⁷ con fines académicos.

Es así como el entendimiento de las interacciones moleculares, el efecto del anión y los sustituyentes alquilo en los LIs de imidazolio, permiten el ajuste de sus propiedades para cumplir con los diferentes requisitos y funciones en cada una de sus aplicaciones.²⁰⁰ Una de estas aplicaciones se encuentra en la biofarmacia, donde cumple diferentes roles de

estabilizantes de proteínas,²⁰³ sistema de suministro de medicamentos²⁰⁴ o potenciadores de la permeabilidad.^{205,206}

6.4.2 Líquido iónico de imidazolio y su actividad anticancerígena

Los LI de imidazolio presentan una actividad anticancerígena más relevante en comparación con los demás LIs. Los efectos antiproliferativos que causan se han estudiado en diferentes líneas celulares de cáncer humano, como se ilustra en la Tabla 15.^{174,180,196–198,199,187,207–209} Una de las razones planteadas frente a esta relevancia, es que el anillo de imidazolio N-sustituido está presente predominantemente en muchos productos naturales y también en moléculas bioactivas en el metabolismo humano.^{15,16,210}

Tabla 15. Diferentes tipos de líneas celulares de cáncer donde se han realizado estudios con LIs de imidazolio.

Tipo de cáncer	Línea celular	Referencia
Cáncer de mama	T47D	19
	MCF-7	17,19,187,207
	MDA-MB-231	
Cáncer de colon	HCT-116	170,176,192
	CaCo-2	17,19,187,207
	HT-29	
Cáncer Hepatocelular humano	HepG2	170,192,18
Cáncer cerebral	T98G	170,192
Cáncer de próstata	PC-3	197
Cáncer de cérvix	Hela	197
Cáncer de pulmón	A549	197

Los mecanismos de acción de los LIs aún no están muy bien especificados, pero algunos estudios revelan que inducen citotoxicidad mediante el aumento del estrés oxidativo en la célula, donde el tratamiento con LIs aumenta la generación de especies reactivas de oxígeno intracelular (ROS) y disminuye las actividades de las enzimas antioxidantes.^{18,19} Además, la citotoxicidad inducida por LIs podría promoverse mediante vías apoptóticas mediadas.¹⁹

Otros estudios han demostrado que la formación de complejos entre una proteína terapéutica como la hemocianina [RtH] con LIs a base de imidazolio, pueden inducir cambios significativos en la estructura secundaria de la proteína [RtH] y estos a su vez generan

interacciones más fuertes con la membrana celular de la célula tumoral, activando la inmunogenicidad, lo cual desencadena una mayor citotoxicidad en la célula tumoral.²¹¹

De una manera general, uno de los mecanismos toxicológico de los LIs es la inserción de estos en la bicapa lipídica ilustrada en la Figura 27, ocasionando la pérdida de la parte hidrofóbica, causando hinchazón y finalmente la desintegración de la bicapa lipídica o lisis celular.²⁰⁷

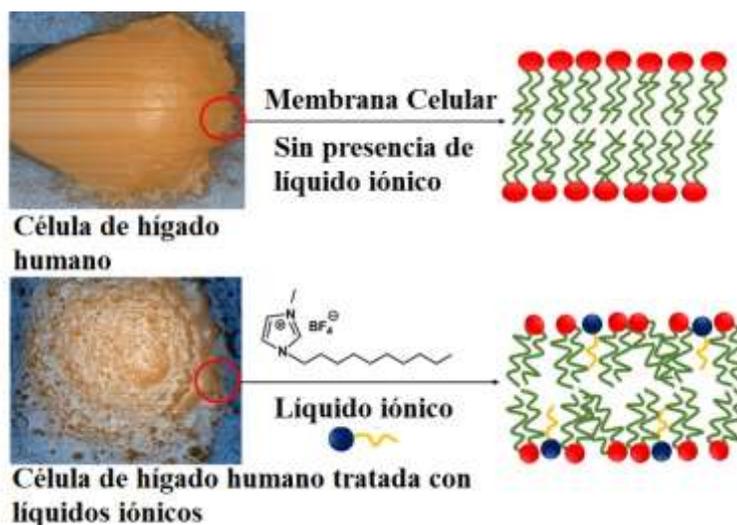


Figura 27. Efecto del LI de imidazolio en la membrana celular de una célula de hígado humano. Tomado de la literatura¹⁵ con fines académicos.

En conclusión, se podría indicar que algunos de los mecanismos que utilizan los LIs de imidazolio para realizar su actividad antitumoral pueden ser: inducir el estrés oxidativo, la apoptosis celular o daños en la membrana celular de las células cancerosa.²¹²

6.4.3 Líquidos iónicos de imidazolio y algunos estudios de relación estructura actividad (SAR) en cáncer

Los estudios SAR que se aplican a los LIs en general buscan evaluar el nivel de toxicidad a partir de tres subestructuras principales: las cadenas laterales, el tipo de grupo principal o cabeza y el anión que forma la sal.^{207,213} En esta revisión como grupo principal o cabeza se toma el imidazolio, un catión aromático que le confiere una mayor toxicidad en comparación

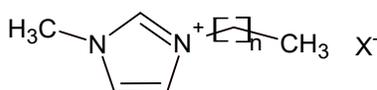
con los LIs que no tiene aromaticidad como las sales de amonio cuaternario.^{214,215} Además, presenta una alta polaridad lo cual es beneficioso para muchas interacciones biológicas.¹⁵

6.4.3.1 Efecto de la variación en la cadena lateral del imidazolio en la actividad anticancerígena

Se reporta con frecuencia que los efectos nocivos de los LIs de imidazolio están relacionados con la longitud de la cadena lateral alquilo, donde las cadenas con mayor cantidad de carbonos demuestran un resultado más tóxico.¹⁹ Es así como cadenas alquilo laterales de C-1 a C-18 combinadas con diferentes aniones de haluros muestran una tendencia creciente en los efectos tóxicos; a medida que la longitud de la cadena alquilo crece existe una disminución de la viabilidad celular.²¹⁴ Uno de los ejemplos más citados es el de Kumar y colaboradores en el 2010, quienes evaluaron el efecto del aumento de la cadena alquilo de tres clases de líquidos iónicos donde se incluyen los de imidazolio en 60 líneas celulares tumorales. El parámetro que utilizaron para determinar si un compuesto tenía actividad fue que inhibieran el 60% del crecimiento en al menos 8 líneas celulares, como se muestra en la Tabla 16. Los compuestos **1-7** presentaron inactividad independientemente del anión, mientras que los compuestos **8** y **9** mostraron una actividad notable contra las 60 líneas celulares.²¹⁶

Tabla 16. Catorce compuestos de LIs de imidazolio evaluados en 60 líneas celulares para determinar su actividad antitumoral.

Compuesto	n	X ⁻	Actividad
1	3	(CF ₃ SO ₂) ₂ N ⁻	No presenta actividad
2	5	(CF ₃ SO ₂) ₂ N ⁻	No presenta actividad
3	5	(C ₂ F ₅) ₃ F ₃ P ⁻	No presenta actividad
4	7	BF ₄ ⁻	No presenta actividad
5	7	C ₈ H ₁₇ SO ₄ ⁻	No presenta actividad
6	7	Cl ⁻	No presenta actividad
7	7	PF ₆ ⁻	No presenta actividad



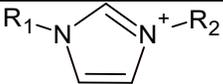
8	11	Cl ⁻	Presenta actividad
9	11	BF ₄ ⁻	Presenta actividad
10	15	Cl ⁻	Presenta actividad
11	17	Cl ⁻	Presenta actividad
12	17	PF ₆ ⁻	Presenta actividad
13	17	(CF ₃ SO ₂) ₂ N ⁻	Presenta actividad
14	17	(C ₂ F ₅) ₃ F ₃ P ⁻	Presenta actividad

Adaptado de la literatura²¹⁶ con fines académicos.

De otra parte, el uso de grupos polares o no-polares en las cadenas laterales puede determinar el incremento o la disminución de la citotoxicidad del compuesto.^{17,217-219} Jovanovic y colaboradores en 2019 emplearon cuatro compuestos de LIs a base de imidazolio con anión de salicilato sobre seis líneas celulares de cáncer (MCF-7, MDA-MB-231, PC-3, Hela, HT-29, A549) para evaluar el efecto de la polaridad de la cadena lateral en la posición N-1 (Tabla 17). Estos trabajos sugieren que la presencia de grupos polares (éter e hidroxilo) expresaron un mejor potencial anticancerígeno contra las líneas celulares de colon en comparación con los no polares.¹⁷ Otros autores reportan que al introducir grupos hidrófilos en las cadenas laterales disminuye la toxicidad del catión debido a una caída de la hidrofobicidad.^{212,217}

Se requieren más estudios para aclarar los efectos asociados a la citotoxicidad de acuerdo con la polaridad de la cadena. Una aproximación para entender la importancia de la polaridad es su estado de hidrofilia e hidratación/número de hidratación que presentan los LIs, se ha demostrado que la actividad biológica de los LIs puede depender de las interacciones que presentan con la molécula del agua,^{17,219,220} de tal manera que a partir de la suposición de “más polar- menos tóxico”, se presumió una menor citotoxicidad de los LIs.¹⁷

Tabla 17. Efecto antiproliferativo, estimado por la prueba MTT y presentado como valores IC₅₀ (μM) de LIs a base de imidazolio con anión de salicilato contra la línea celular HT-29, tomando como referencia los datos del salicilato de sodio (>100 μM), doxorubicina (0,10 μM) y cisplatino (4,10 μM).

			Efecto antiproliferativo
Estructura del catión			HT-29
Compuesto	R ₁	R ₂	IC ₅₀
1	CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	CH ₃ -	14.89
2	HOCH ₂ CH ₂ OCH ₂ CH ₂ -	CH ₃ -	9.26

3	CH ₃ CH ₂ OCH ₂ CH ₂ -	CH ₃ -	>100
3	HOCH ₂ CH ₂ CH ₂ -	CH ₃ -	>100
5	H-	H-	39,94

Adaptado de la referencia ¹⁷ con fines académicos.

En conclusión, con los estudios mencionados anteriormente se puede determinar que la longitud de la cadena de alquilo, sobre todo en la posición N-3 en el anillo de imidazol, desempeñó un papel crucial hacia su actividad contra el cáncer.^{17,221,222} Sin embargo, por el momento, no hay posibilidad de distinguir la citotoxicidad de los LIs solo por su estructura, porque también dependen en gran medida de los actores externos como el tipo de célula.¹⁸⁷

6.4.3.2 Efecto de la variación del anión del imidazolio en la actividad anticancerígena

Las opiniones de los efectos del anión sobre la toxicidad contra las líneas celulares de cáncer humano son muy diversas, lo cual es un tema que se debe abordar a través de diferentes puntos de vista e investigaciones.²¹⁴ Por ejemplo, Kumar y colaboradores en el 2010 hicieron una aproximación a la idea de que los aniones en los LIs de imidazolio no tiene un efecto significativo (Tabla 16 compuestos **11-14**), utilizaron el catión 1-metil-3-heptadecilimidazolio con cuatro aniones diferentes: Cl⁻, PF₆⁻, (CF₃SO₂)₂N⁻ y (C₂F₅)₃F₃P⁻, demostrando que la modificación del anión sobre el catión no tiene una gran influencia sobre la actividad de los LIs.²¹⁶ Lo anterior concuerda con lo postulado en el review de Días y colaboradores en el año 2017, donde manifestaron que alterar el anión tiene efectos mínimos sobre la toxicidad de los LIs de imidazolio.²¹⁴

Desde otro punto de vista, en el 2016 Guncheva y colaboradores realizaron un experimento donde evaluaron los efectos antiproliferativos de los complejos entre la proteína terapéutica Hemocianina (RtH) y [emim][AA] (Figura 28) utilizando diferentes aminoácidos como aniones (Met, Gly, Val, Leu, Thr, Ile, Trp y His) en células de cáncer de mama (MCF-7), demostraron que los mejores efectos sobre la velocidad del crecimiento celular se daban cuando en el complejo se utilizaban los aminoácidos Val, Trp y Ile. Esta última exhibió una especificidad celular sobre la línea MCF-7.²¹¹ Este experimento puede acercar a la idea de la influencia del anión sobre la actividad anticancerígena.

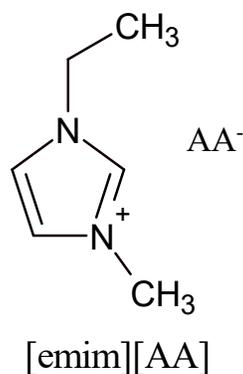


Figura 28. Estructura del líquido iónico 1-etil-3-metilimidazolio con anión de aminoácidos. Adaptado de la literatura²¹¹ con fines académicos.

6.4.3.3 Técnicas para los estudios SAR en LIs de imidazolio

Para evaluar la relación estructura actividad de los líquidos iónicos en células cancerosas, se utilizan varios métodos que permiten evaluar la citotoxicidad de estos. El más utilizado es el MTT que se basa en la detección de la actividad de las enzimas mitocondriales, explicado ampliamente en el apartado sobre ensayos con MTT. Otros métodos son:

- La microscopia de fluorescencia y ensayo de apoptosis, los cuales tratan de predecir el mecanismo de citotoxicidad de los LIs.^{187,212}
- Ensayos de inhibición enzimática.²⁰⁷

Los índices que se aplican con frecuencia para la estimación de la toxicidad de los LIs son la LC₅₀-concentración/dosis letal que mata a la mitad de los miembros de una población en un tiempo; IC₅₀-concentración inhibitoria que resulta en la inhibición del 50% de la actividad de los sistemas biológicos o bioquímicos; LD₅₀-dosis letal media y MIC-concentración inhibitoria mínima.²⁰⁷

6.5 Estudios de relación estructura actividad SAR de sales de amonio cuaternario en cáncer

6.5.1 Generalidades

Los compuestos de amonio cuaternario (conocidas por las siglas en inglés QAC), son compuestos iónicos cargados positivamente y equilibrados con un contraión negativo. Tiene como fórmula general $R_4N^+X^-$ y como estructura general la que se presenta en la Figura 29c.^{223,224}

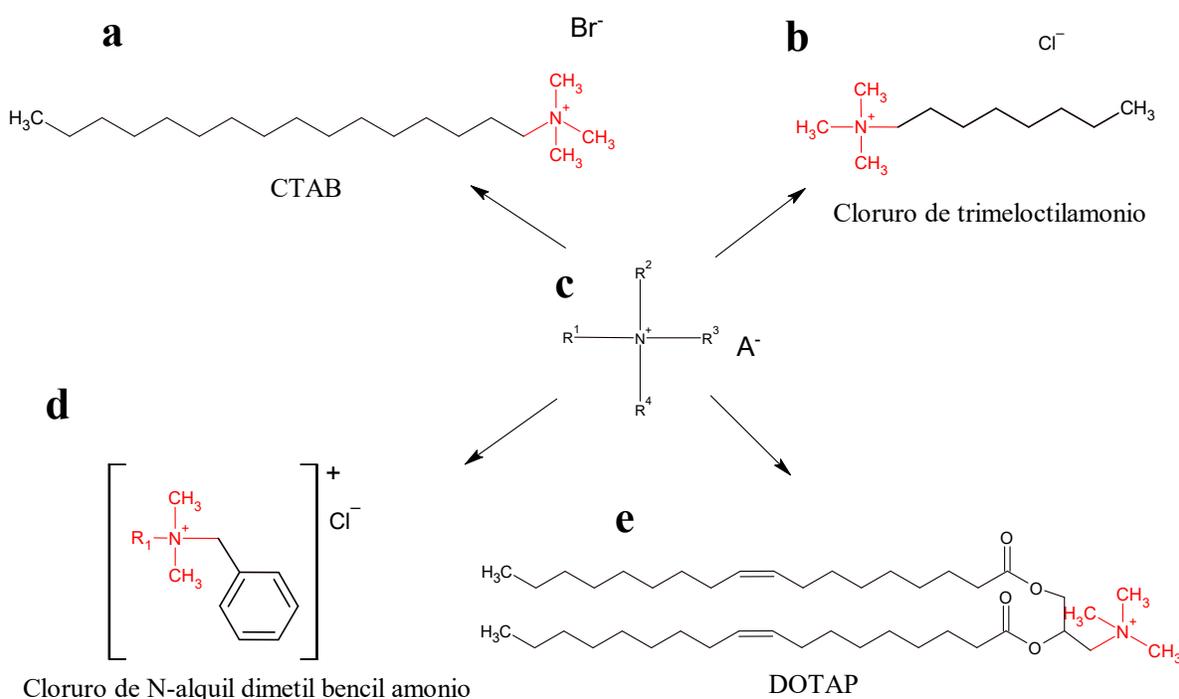


Figura 29. Estructura general de las sales de amonio cuaternario y algunos ejemplos. Tomados de la literatura^{20,225,226} con fines académicos.

Las sales de amonio cuaternario son un tipo de compuestos de nitrógeno orgánico catiónico, donde el átomo de nitrógeno puede estar unido covalentemente a cuatro grupos orgánicos o ser parte de un heterociclo. En algunas ocasiones está unido a dos carbonos por enlaces simples y a un carbono por un enlace doble.²²⁴ En R^1 , R^2 , R^3 , R^4 (Figura 29c) se puede tener cualquier grupo de hidrocarburos, grupos alquilo, grupos arilo o cualquier combinación de los mismos. El contraión (A^-) podría ser cualquier anión presente en una sal.^{223,224,227}

Las sales de amonio cuaternario se nombran usualmente como se hace en la sal inorgánica, primero se inicia con el nombre del anión (recordando la terminación uro por su estado de oxidación), luego se escriben los sustituyentes que están unidos al nitrógeno (similar a la nomenclatura de aminas sustituidas) y se finaliza con la palabra amonio. (Figura 29d). Los nombres de los sustituyentes pueden ser comunes (estearilo) o IUPAC (octadecilo), además pueden estar acompañados por prefijos como di- y tri- cuando un grupo alquilo se repite (Figura 29b, 29c). Los sustituyentes complejos se enumeran en orden alfabético.^{224,228}

Los compuestos de amonio cuaternario poseen una distribución de electrones completamente diferente comparado con las aminas primarias, secundarias y terciarias, lo que hace que no se puedan considerar como base/nucleófilo o electrófilo. (Figura 30).²²⁷ Esto a su vez define el comportamiento de sus propiedades físicas.

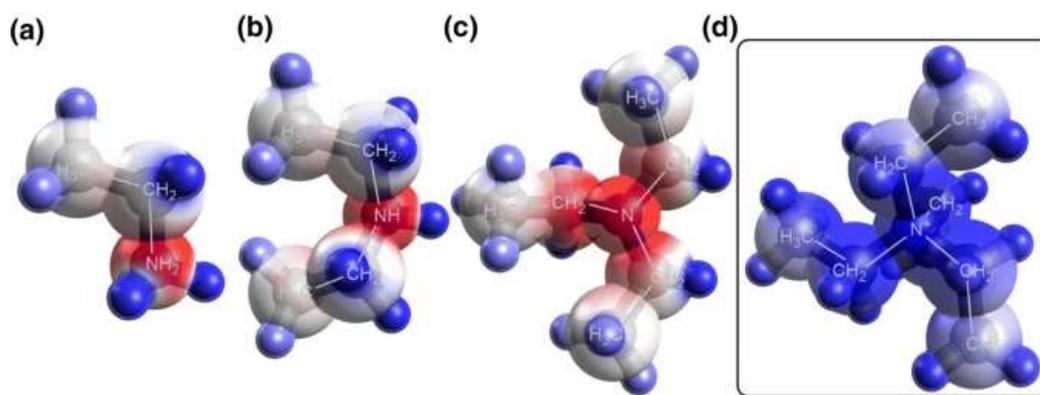


Figura 30. Distribución de carga (potencial electrostático) representado con color azul la parte positiva del tetraetilamonio (d) y comparado con aminas primarias (a), secundarias (b) y terciarias (c). Tomado de la literatura²²⁷ con fines académicos.

La solubilidad es la propiedad física de mayor relevancia en las sales de amonio cuaternario. Esta propiedad en parte está relacionada con el peso de la sal, así que una sal cuaternaria de amonio con bajo peso molecular se vuelve más soluble en compuestos polares, pero a medida que aumenta su peso, disminuye su solubilidad en disolventes polares y aumenta en disolventes no polares.²²⁴

Por otra parte, por ser sustancias iónicas, son generalmente muy solubles en disolventes polares y próticos como agua o alcohol. Sin embargo, su solubilidad disminuye drásticamente

al aumentar la longitud de la cadena (aumento de peso molecular), con R superiores a C-14 tiene baja solubilidad, por el contrario, cuando las sales de amonio cuaternario llevan cadenas largas se mejora su solubilidad en compuestos no polares.²²⁷ Esta propiedad de solubilidad se vuelve de gran importancia para el campo de la farmacología, ya que agregar un catión de amonio cuaternario a la estructura de un fármaco, puede permitir una mayor solubilidad y biodisponibilidad de éste. Esta capacidad de solubilidad y biodisponibilidad mejoradas en fármacos, por ejemplo, puede dar como resultado una mayor eficacia de encapsulación del sistema de administración de fármacos. Además, generar un impacto en la liberación de fármacos debido a la inclusión de anfifilos catiónicos (moléculas con extremos hidrofílicos e hidrófobos) (Figura 29a, 29e).^{20,21}

También es importante resaltar que:

- Cuando las sales de amonio cuaternario son alifáticas, donde uno de los grupos alquilo contienen 10 átomos de carbono o más, exhiben propiedades tensoactivas.
- Forman dispersiones acuosas, lo cual puede ser utilizado para diversas aplicaciones.
- Son electrolitos muy buenos, por su estructura que comprende tanto la cabeza catiónica nitrogenada y terminales no polares R.²²⁷

Gracias a estas propiedades las sales de amonio cuaternario exhiben una gama muy amplia de actividad biológica y antimicrobiana, lo que determina su aplicación actual como agentes bioactivos.²²⁷ Además, son reconocidas como biocidas con actividad contra amplia gama de bacterias, virus, levaduras y hongos.^{227,229-231}

6.5.2 Sales de amonio cuaternario y su actividad anticancerígena

Las sales de amonio cuaternario se utilizan a menudo para mejorar la capacidad de solubilización de los fármacos, lo cual permite una mayor eficacia de encapsulación de su sistema de administración, una mejor liberación y la protección de algunos que son sensibles al pH, uniéndolos a un núcleo no polar o vinculándolos a la forma catiónica o aniónica de acuerdo con el pH de la solución.^{20,21}

Teniendo en cuenta lo anterior, el estudio de la actividad anticancerígena de las sales de amonio cuaternario está más enfocada en cómo las sales mejoran la solubilidad, la liberación y la protección de fármacos candidatos o con potencial anticancerígeno. Por tanto, encontrar una interacción entre una sal cuaternaria de amonio y una diana o un receptor específico va a estar influenciado por el fármaco del cual el amonio cuaternario hace parte. Bioquímicamente, gracias a su naturaleza hidrofílica, algunos compuestos de amonio cuaternario atraviesan la membrana celular, activan receptores específicos ubicados en la superficie celular o utilizan un transporte activo para ingresar al interior de la célula.²²⁴ Una vez llegan al interior de la célula, de acuerdo con la estructura del fármaco, interactúan con su diana y generan su respectiva acción.

Así, para ejemplificar la actividad anticancerígena que pueden presentar las sales de amonio cuaternario, se seleccionaron tres diferentes derivados de amonio cuaternario: derivados de amonio cuaternario fenólico-quitosano (Figura 31a), derivados de diosgenil amonio cuaternario (Figura 31b) y derivados de sales cuaternarias de N-alquilamonio de la quinuclidina de Geldanamicina (Figura 31c).

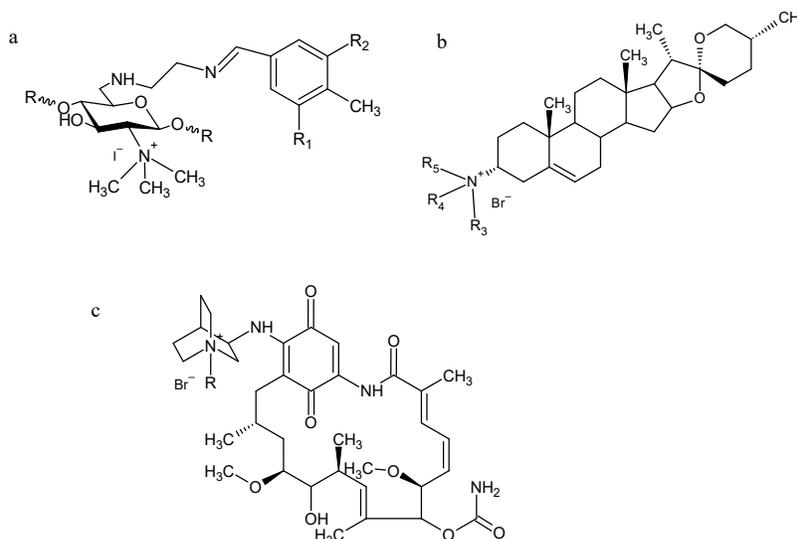


Figura 31. Estructuras de las tres sales de amonio cuaternario seleccionados para el review de estudios SAR a) amonio cuaternario fenólico-quitosano, b) diosgenil amonio cuaternario y c) sales cuaternarias de N-alquilamonio de la quinuclidina de Geldanamicina. a) Adaptado de la literatura^{232,233,234} con fines académicos.

Los derivados de amonio cuaternario fenólico-quitosano utilizan la estrategia del estrés oxidativo, eliminando especies reactivas de oxígeno (conocidos por su sigla en inglés como ROS) o especies reactivas de nitrógeno (conocidos por su sigla en inglés como RNS) en línea celular de cáncer de pulmón A594 como posible terapia contra el cáncer. Se reportan valores IC_{50} de 0,046 y 0,052 mg/mL.²³²

Entre las ROS más importantes se encuentran las radicales: superóxido ($O_2^{\cdot-}$), hidroxilo ($\cdot OH$), alcoxilo ($RO\cdot$), peroxilo ($ROO\cdot$); las no radicales: peróxido de hidrógeno (H_2O_2), oxígeno singulete (1O_2), ácido hipocloroso (HClO), ozono (O_3), peróxido orgánico (ROOH), ácido hipobromoso (HBrO).²³⁵ Entre las RNS más importantes se encuentran las radicales: óxido nítrico ($NO\cdot$), dióxido de nitrógeno ($NO_2\cdot$); las no radicales: peroxinitrito ($ONOO^-$), catión nitrosilo (NO^+), trióxido de dinitrógeno (N_2O_3), anión nitroxilo (NO^-), tetraóxido de dinitrógeno (N_2O_4), ácido peroxinitroso ($ONOOH$), ácido nitroso (HNO_2), Peroxinitritos alquílicos ($ROONO$).²³⁵

Las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno son moléculas mensajeras que regulan una amplia variedad de procesos fisiológicos celulares incluyendo la proliferación, la diferenciación y la apoptosis.²³⁵⁻²³⁷ Cuando se genera un desbalance de estas especies (se afecta la homeóstasis de la célula) se empiezan procesos de estrés oxidativo que puede generar daños irreversibles e irreparables a nivel de ADN, proteínas y lípidos de membrana.²³⁵⁻²³⁹

Es importante resaltar que las células tumorales presentan una demanda diferente de ROS que una célula normal, esto se debe a respuestas a diversos estímulos como el aumento en las demandas metabólicas, alteración en la dinámica mitocondrial, reproducción celular entre otros. Es por esto que las células tumorales presentan una adaptación deficiente al estrés oxidativo, y eliminar estos radicales podría generar la apoptosis celular de las células cancerígenas.²³⁵⁻²³⁹

Adicionalmente, en el 2020 Yin Hong y colaboradores, resumieron y describieron otro mecanismo de acción de los derivados de diosgenina, es así como sintetizaron 32 derivados de diosgenina e indicaron que estos posiblemente inducen la detención y apoptosis del ciclo celular en G0/G1 en líneas celulares A549, MCF-7 y HepG2. Además, sus estudios también dieron una predicción según el modelado molecular 3D, de la diana de uno de estos derivados de diosgenina, el cual actúa sobre las proteínas quinasa activadas por mitógenos p38 α (MAPK).²⁴⁹

Estas proteínas quinasas activadas (MPAK) se utilizan como dianas para la terapia contra el cáncer, porque conducen a diversas actividades biológicas como crecimiento celular, diferenciación celular, apoptosis e inflamación. Si son alteradas estas proteínas sus actividades se verán afectadas.²⁴⁹⁻²⁵³ La función principal de la p38 (MAPK) es la transducción de señales extracelulares, una vez activadas, las proteínas p38 se trasladan del citosol al núcleo donde fosforilan los residuos de serina/treonina de sus muchos sustratos.^{251,254-256} Se ha observado que la baja regulación a p38 MARK en tumores malignos, provoca efectos antitumorales,^{251,257-259} como la inhibición de especies reactivas de oxígeno (ROS).^{251,260}

Un ejemplo del mecanismo implicado en la apoptosis mediada por p38 α se expone en la Figura 33, donde esta proteína induce la expresión de proteínas pro-apoptóticas como el receptor de muerte, Fas y su ligando, FasL, así como Bax, Bim o Noxa de la familia Bcl-2, esta expresión es inducida por la fosforilación de factores de transcripción, como p53 y/o coactivadores como p18Hamlet lo cual conduce a la activación de la vía del receptor de muerte Fas y la vía mitocondrial.

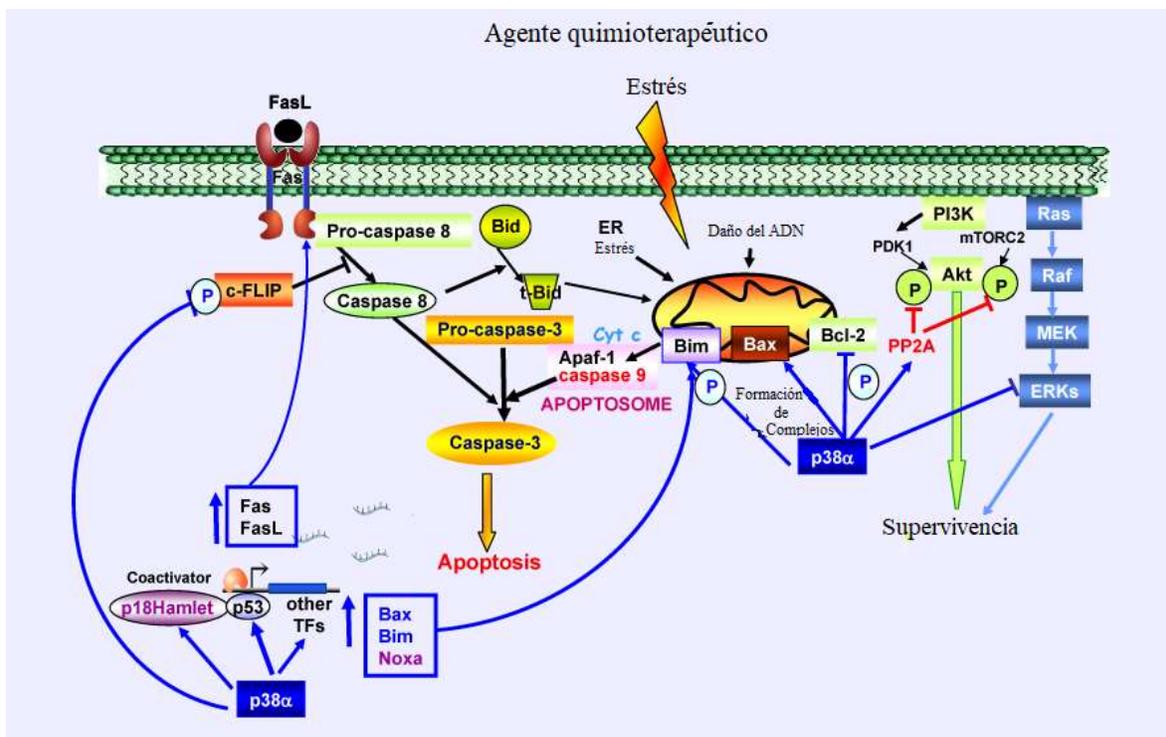


Figura 33. Mecanismo implicado en la apoptosis mediado por p38 α . Tomada de la literatura²⁶¹ con fines académicos.

Derivados de sales cuaternarias de N-alquilamonio de la quinuclidina de geldanamicina, fueron aplicadas a diferentes líneas celulares de cáncer: línea celular de cáncer de mama (SKBR-3), línea celular de cáncer de ovario (SKOV-3), línea celular de cáncer de próstata (PC-3), línea celular de glioblastoma, cáncer de cerebro (U-87), línea celular de cáncer de pulmón (A549), línea celular de cáncer de mama (MDA-MD-231), línea celular de cáncer de mama (MCF-7), Línea celular de cáncer de cervix (HeLa) y línea celular de cáncer de hígado (HepG2) con el fin de comparar el efecto anticancerígeno y la disminución de su toxicidad.²³⁴

A nivel general, la geldanamicina es demasiado tóxica para su uso como fármaco, presenta mayor afinidad comparada en el ATP por el dominio N-terminal de la Hsp90 (Figura 33), exactamente en el sitio de unión de ATP, inhibiendo la actividad ATPásica de la chaperona, lo cual impide los cambios conformacionales que generan un mal funcionamiento, provoca la agregación de complejos de Hsp90 y proteínas sin plegar. Esto estimula al sistema ubiquitina proteosoma, que finalmente degrada las proteínas, y la ausencia de estas interfiere

con la correcta señalización intracelular, lo que termina con la muerte celular.^{262,263} Hsp90 consiste de tres dominios: un dominio N-terminal (N) donde el ATP es reclutado; el dominio mediano (M) o sitio de reclutamiento de los substratos; y el dominio de dimerización (C) con la secuencia de un pentapéptido MEEVD (Figura 34a).²⁶³

La Hsp90 libre de nucleótidos se encuentra en un estado abierto con sus dominios C-terminales constitutivamente dimerizados (Figura 34b izquierda). La unión de ATP en el dominio N-terminal induce cambios conformacionales, que resultan en un estado cerrado de la HSP90 (Figura 34b derecha). Durante su función como chaperona de proteínas cliente, el ATP es hidrolizado, lo que provoca que la Hsp90 regrese a su estado inactiva.²⁶³ Si se logra disminuir la toxicidad la geldamicina y sus derivados pueden ser excelentes candidatos a fármacos contra el cáncer.

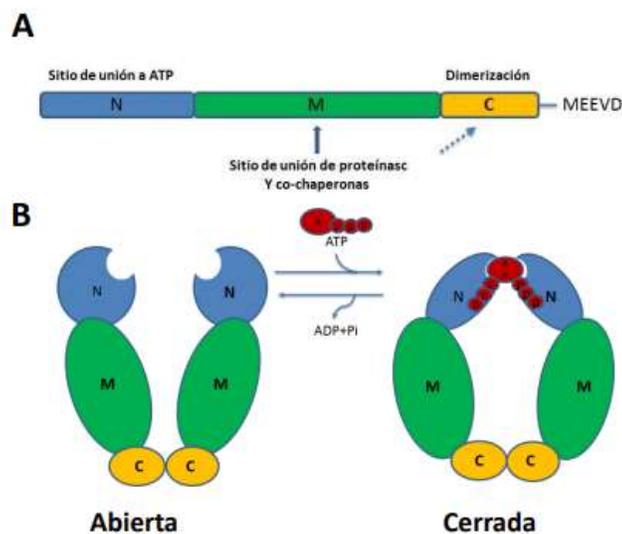


Figura 34. Dominios estructurales de la Hsp90 citoplásmica y su cambio estructural mediado por ATP. A) Hsp90, B) Ciclo de ATP de la Hsp90. Tomada de la literatura²⁶³ con fines académicos.

6.5.3 Sales de amonio cuaternario y algunos estudios de relación estructura actividad (SAR)

6.5.3.1 Derivados de quitosano de amonio cuaternario

Los derivados de quitosano de amonio cuaternario son utilizados de manera general para mejorar la liberación y la penetración de los fármacos a través de las barreras biológicas en ambientes neutros y alcalinos. Estos derivados presentan una carga positiva permanente que mejora la solubilidad en agua, la mucoadhesividad y la biocompatibilidad de los fármacos. Además, genera una baja toxicidad y biodegradabilidad comparado con el quitosano solo.^{264,265} Es por estas razones que son candidatos óptimos para el desarrollo de métodos convencionales e innovadores de sistemas de suministro de medicamentos como nanopartículas, hidrogeles y liposomas entre otros.^{264,265}

Un ejemplo de esto son los derivados de amonio cuaternario fenólico-quitosano, en los cuales se realizó la cuaternización del C-2-NH₂ del quitosano (Figura 35) para mejorar la solubilidad del compuesto, proteger el grupo amino y evitar una sustitución regioselectiva en 2-N. los estudios SAR realizados a este compuesto, no demostraron una participación del amonio cuaternario en la eliminación de las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, así que esta parte de la molécula no está relacionada con la actividad anticancerígena,^{232,266} sino, con su solubilidad y biodisponibilidad.

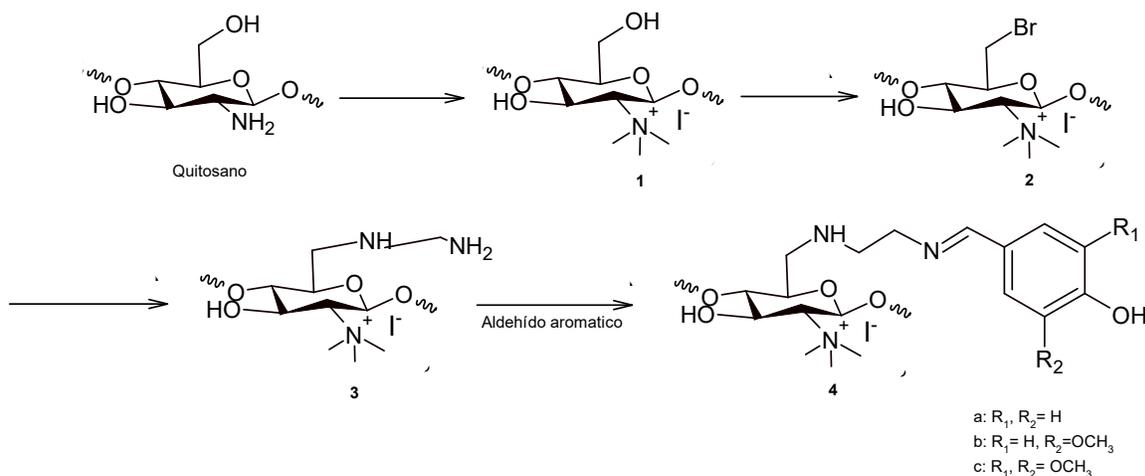


Figura 35. Vía sintética para la preparación de derivados de quitosano utilizado por Q. Li y colaboradores. Adaptado de la literatura²³² con fines académicos.

6.5.3.2 Derivados de diosgenina amonio cuaternario

La diosgenina, cuya estructura se encuentra en la Figura 36, es un compuesto de gran importancia farmacológica ya que muchos medicamentos esteroideos, como hormonas sexuales y corticosteroides, se obtienen de forma semisintética a partir de este precursor natural.^{267,268} Presenta en su estructura una parte hidrofóbica y otra hidrofílica, lo cual es de interés para diferentes aplicaciones médicas como fármacos esteroideos, fármacos de cáncer, fármacos de Alzheimer y construcción biomateriales entre oxiatros.²⁶⁸

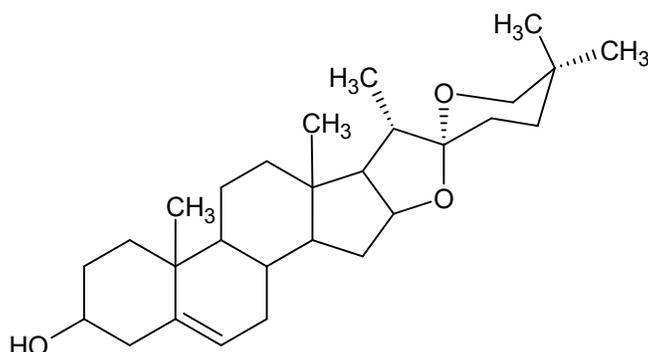


Figura 36. Estructura de la diosgenina. Adaptado de la literatura²³³ con fines académicos.

La diosgenina tiene propiedades anticancerígenas asociadas a la regulación de múltiples vías de crecimiento, diferenciación y muerte celular, arresto del ciclo celular y modulación de la actividad de caspasas, entre otras, que dependen del tipo de célula en la cual van a actuar.^{268,269}

Xia X y colaboradores en el 2021 incluyeron en la posición C-3 de la estructura de la diosgenina sales de amonio cuaternario para generar dos series de derivados de diosgenil amonio cuaternario que se presentan en la Figura 37, con el fin de mejorar su solubilidad en agua y aumentar su actividad antitumoral, los resultados se exponen en las Tabla 21 y 22.²⁴⁰

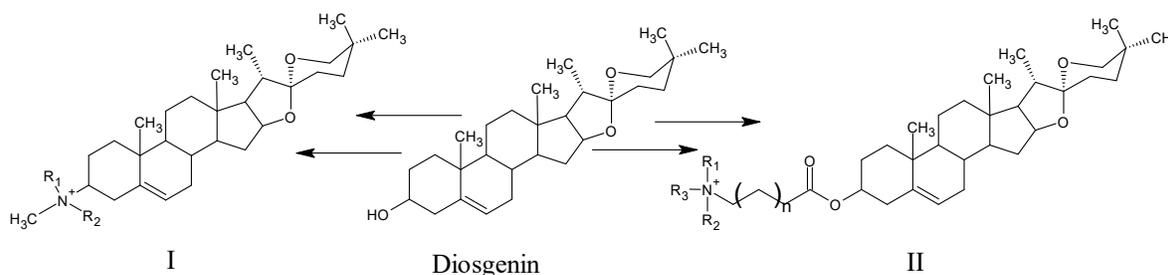
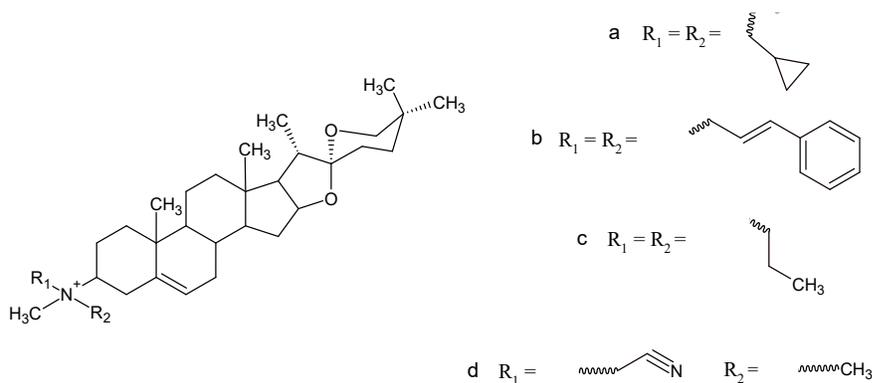


Figura 37. Estructura general de las dos series de derivados de diosgenil amonio cuaternario. Tomado de la literatura²⁴⁰ con fines académicos.

Tabla 21. Algunos derivados de la serie I de diosgenil amonio cuaternario.

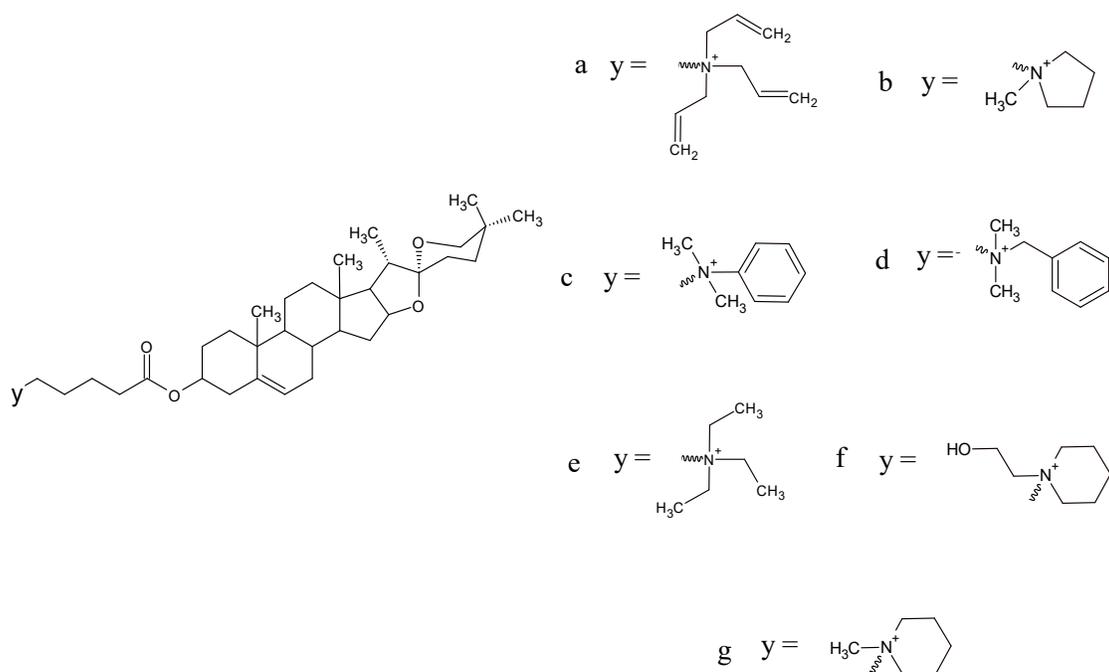


Compuesto	Solubilidad en agua (mg/mL)	Actividad antiproliferativa (IC ₅₀ , μM) A549	Actividad antiproliferativa (IC ₅₀ , μM) A431
Diosgenina	0,0001	71,23	4,75
a	0,0115	2,69	4,71
b	0,0351	5,35	3,26
c	0,0019	9,86	<2,5
d	0,0351	27,53	8,25

Algunos compuestos de la serie I de los derivados de Diosgenil amonio cuaternario realizados por Xia X y colaboradores en el 2021, toman como referencia los valores de actividad antiproliferativa la adriamicina (0,78 para A594 y <2,5 para A431). Tomado de la referencia²⁴⁰ con fines académicos.

Xia X y colaboradores determinaron que la serie II presentaba una mejor actividad antiproliferativa que la serie I en células A549, A431, H1975 y Aspc-1, pero también resultó ser más tóxica que la serie I.²⁴⁰

Tabla 22. Algunos derivados de la serie II de diosgenil amonio cuaternario.



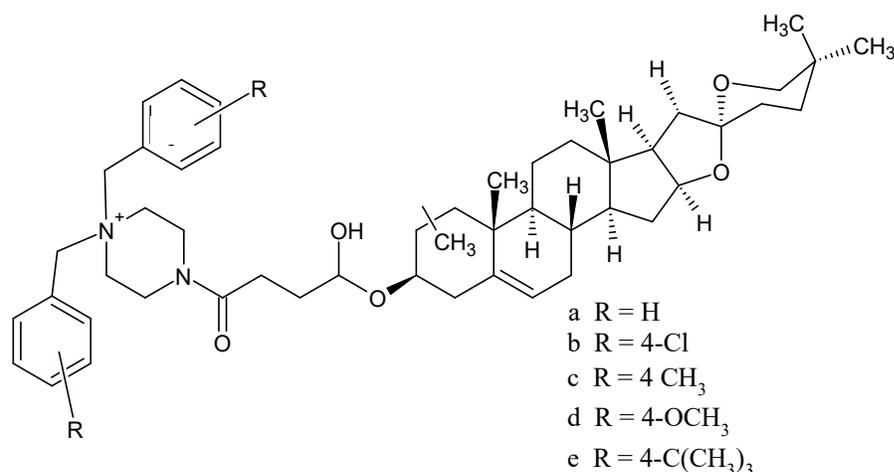
Compuesto	Soluble en agua (mg/mL)	Actividad antiproliferativa (IC50, μ M) A549	Actividad antiproliferativa (IC50, μ M) A431
a	0,0782	1,84	2,55
b	0,2930	4,47	4,05
c	0,1004	6,63	3,52
d	0,0269	5,30	1,85
e	0,1992	2,52	3,46
f	0,0399	4,68	4,14
g	0,1276	5,83	5,88

Algunos compuestos de la serie II de los derivados de Diosgenil amonio cuaternario realizados por Xia X y colaboradores en el 2021, toman como referencia los valores de actividad antiproliferativa la adriamicina (0,78 para A594 y <2,5 para A431) y Diosgenina (Tabla 21). Adaptado de la literatura²⁴⁰ con fines académicos.

Además, los compuestos b y c que se exponen en la Tabla 22 presentan una buena solubilidad y mostraron una excelente actividad antiproliferativa contra células A549, A431, H1975 y Aspc-1. Los compuestos b y d que se encuentran en la Tabla 21, e y g que se encuentran en la Tabla 22 presentan más solubilidad en agua, pero su actividad antiproliferativa disminuyó, mientras los compuestos a, c que están en la Tabla 21 y a, d, f que están en la Tabla 22 mostraron una actividad antiproliferativa más fuerte pero su solubilidad en agua es muy pequeña.²⁴⁰

Por otra parte, Yin Hong y colaboradores en el 2021 estudiaron 32 derivados de la diosgenina con el fin de evaluar su potencial antitumoral, citotoxicidad y su mecanismo de acción cuando interactúan con las células. De estos 32 derivados, cinco presentan en su estructura sales de amonio cuaternario las cuales se evaluaron en líneas celulares de cáncer HepG2, MCF-7, A549 y una línea celular normal L02 (línea celular de hígado), y se observó que presentan potentes actividades citotóxicas ($IC_{50} < 10 \mu M$) como se muestra en la Tabla 23.²⁴⁹

Tabla 23. Algunos derivados de diosgenil amonio cuaternario.



Compuesto	$IC_{50}^a (\mu M)$			
	A549	MCF-7	HepG2	L02
a	2,9 ± 0,25	9,4 ± 1,78	6,4 ± 1,09	18,7 ± 1,40
b	5,4 ± 0,33	> 10	> 10	ND
c	3,6 ± 0,20	> 10	6,1 ± 0,85	18,4 ± 0,44
d	5,7 ± 0,41	9,3 ± 0,68	9,9 ± 1,33	23,3 ± 2,02
e	3,0 ± 0,62	6,0 ± 1,18	6,7 ± 0,94	21,1 ± 29,7
Diosgenina	> 10	> 10	> 10	ND
Paclitaxel	5,4 ± 0,25	5,1 ± 0,07	8,4 ± 0,83	> 100

IC_{50} representa la concentración de un compuesto que se requiere para una inhibición del 50% usando el ensayo MTT. Los datos representan valores medios ± desviación estándar para tres experimentos independientes. Como control positivo se utiliza el paclitaxel y se comparan los valores con el del compuesto de partida que es la diosgenina. Adaptado de la literatura²⁴⁹ con fines académicos.

Los resultados expuestos anteriormente se atribuyen a la buena permeabilidad de los compuestos a través de la membrana por la presencia de cationes lipofílicos, los cuales interactúan preferentemente con los lípidos de la membrana aniónica para penetrar las

membranas plasmáticas y luego inducir la apoptosis a través de la vía mitocondrial.²⁴⁹ Adicionalmente, los autores realizan una predicción de los modos de unión de uno de los compuestos con p38 α -MAPK demostrando que se genera un puente de sal con la ASP112 de p38 α -MAPK y el nitrógeno del amonio cuaternario el cual se muestra en la Figura 38.²⁴⁹

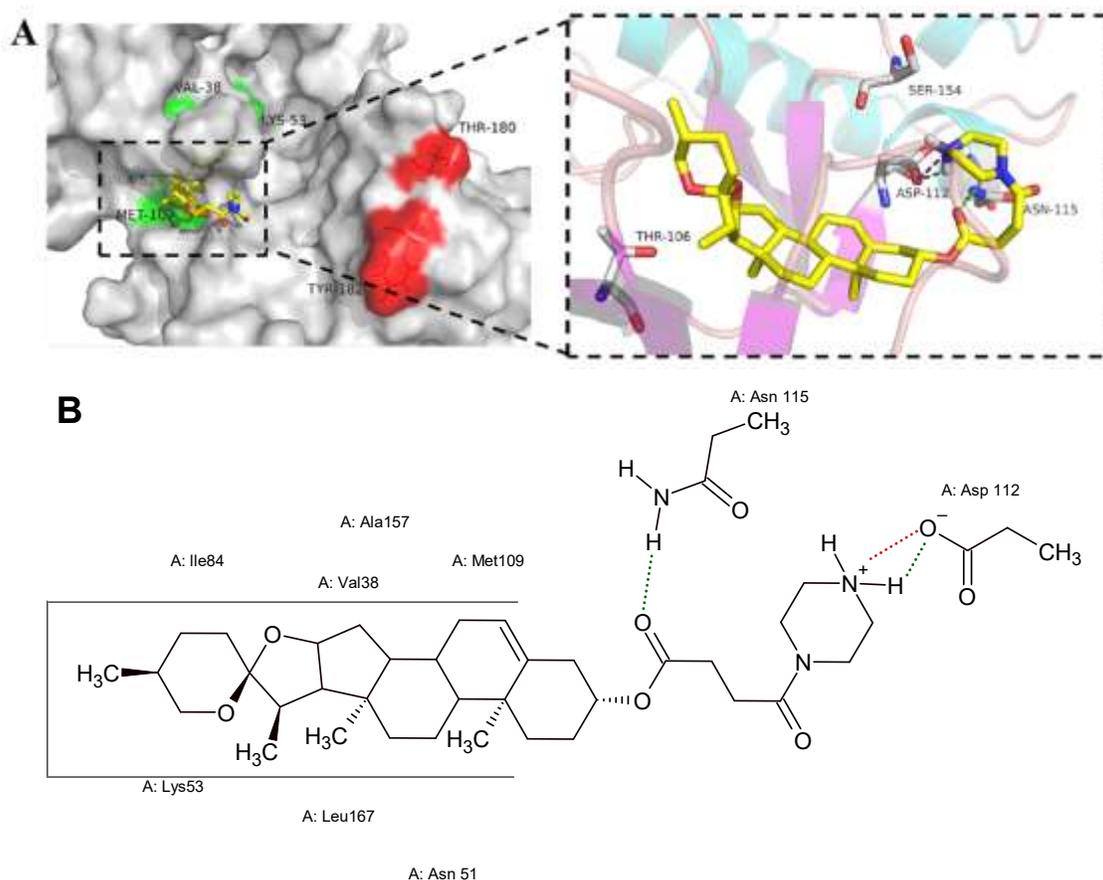


Figura 38. Predicción in-silico de los sitios de unión de un derivado de la diosgenina con p38 α -MAPK. A) Zona verde bolsillo hidrofóbico, Zona roja sitio de fosforilación, los residuos claves de la unión se representan con palos grises B) Líneas discontinuas verdes: enlace de hidrógenos, Línea discontinua magenta puente de sal, Línea completa azul, contactos hidrofóbicos. Tomada de la literatura²⁴⁹ con fines académicos.

6.5.3.3 Derivados de quinuclidina de geldanamicina amonio cuaternario

La geldanamicina, es un miembro de la familia de las benzoquinonas ansamicinas antiobióticos^{270,271} que se une dentro de un bolsillo profundo en el Hsp90, exactamente en el sitio de unión del ATP (Figura 39) e inhibe la función de la chaperona. Cuando se encuentra

en este bolsillo toma una conformación que se asemeja a la letra “C”, con el anillo de ansa y la benzoquinona doblados una encima del otro de forma casi paralela, y el resto de lactama en forma de conformación *cis*.^{271–273} Esta conformación le permite generar una serie de interacciones con hidrógenos, mediadas por agua, incluida la interacción del carbonilo del éster del macrociclo con un residuo de aspartato clave en la base del bolsillo de Hsp90.^{271–273}

Aunque la geldanamicina exhibe una actividad antitumoral *in vitro* e *in vivo* convincente, también mostró hepatotoxicidad grave en especies preclínicas, posiblemente debido a la fracción benzoquinona, y escasa solubilidad. Sin embargo, análogos semisintéticos donde el grupo 17-metoxi ha sido reemplazado por grupos que contienen aminas, dan efectos inhibidores similares pero una toxicidad hepática reducida y una solubilidad mejorada.^{271–273} Si bien esta clase de productos pueden no encontrarse aprobados como agentes contra el cáncer, ha proporcionado una prueba de que la inhibición de Hsp90 puede ser un enfoque eficaz para la terapia contra el cáncer.^{271,274,275}

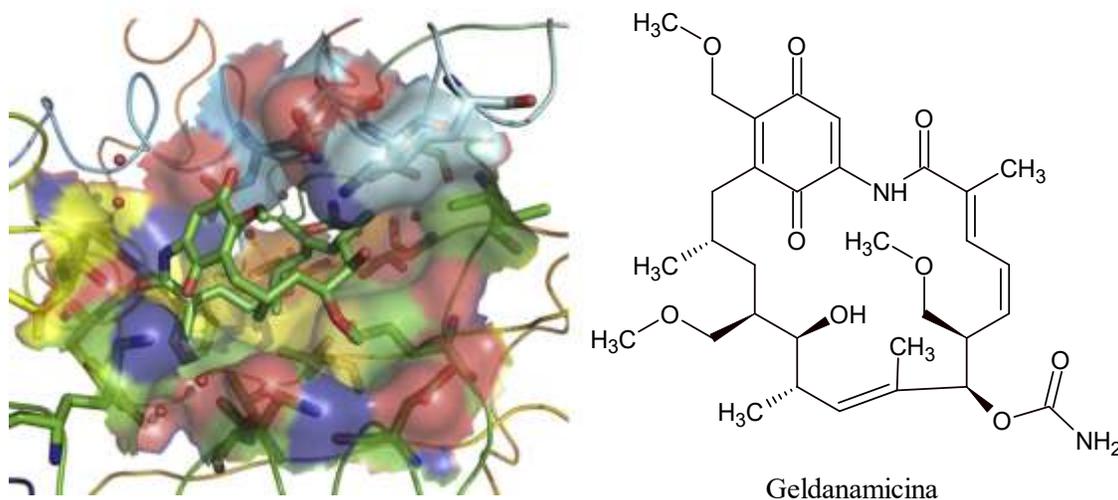


Figura 39. Estructura de la geldanamicina. Imagen de la derecha representación de la estructura de la geldanamicina, imagen izquierda representación de la geldanamicina unida al dominio N-terminal de Hps90 Humano. Tomado de la literatura²⁷⁶ con fines académicos.

Es importante indicar que Skrzypczak N y colaboradores en el 2021 estudiaron 13 análogos de geldanamicina (conocido con sus siglas en inglés GDM),²⁷⁷ donde seis de estos análogos tenían la presencia quinuclidina en el carbono 17 (una amina bicíclica) y cinco de éstos eran sales de alquilamonio cuaternario los cuales se presentan en la Figura 40.²³⁴

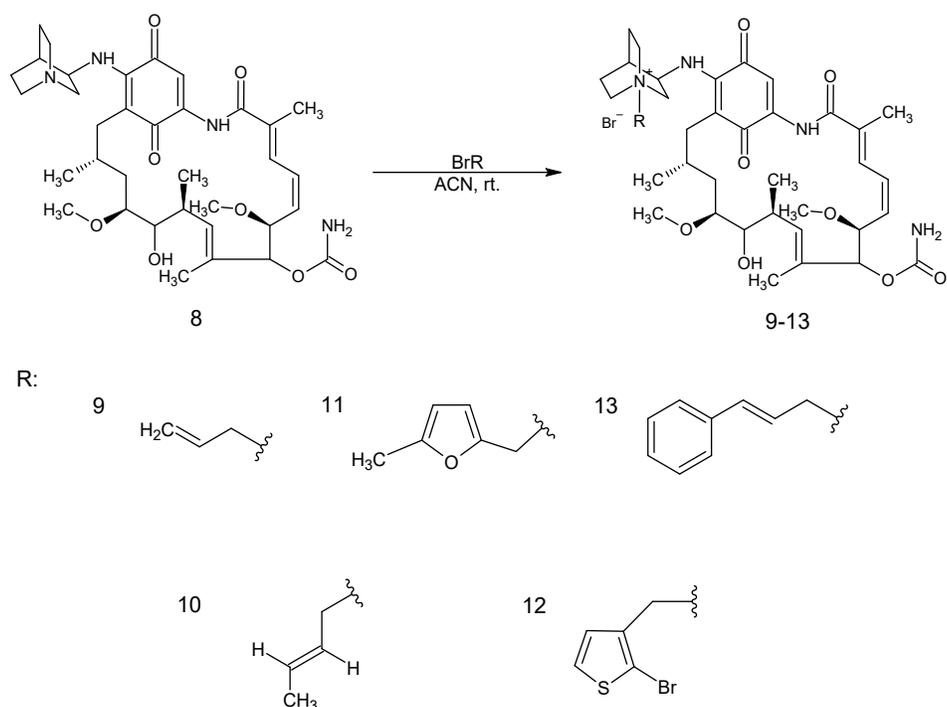


Figura 40. Estructura de la quinuclidina de geldana micina (**8**) y de los derivados de sales cuaternarias de N-alquilamonio (**9-13**). Adaptado de la literatura²³⁴ con fines académicos.

En el estudio mencionado anteriormente, los 13 análogos fueron probados en nueve líneas de cáncer: MDA-MB-231, MCF-7, HeLa, HepG2, SKBR-3, SKOV-3, PC-3, U-87 y A-549. Las mejores actividades encontradas de las sales de N-alquilamonio fueron en la línea MCF-7 comparada con la actividad de GDM en esta línea celular. Además, cuando se probaron las sales en líneas celulares normales (HDF y CCD39Lu), se notó una reducción del efecto tóxico comparado con el GDM.²⁷⁸ En el mismo trabajo, Skrzypczak N y colaboradores plantearon que la toxicidad limitada de las sales se puede vincular con la baja su solubilidad en agua, mejorada en relación con la GDM, siendo esta última casi insoluble en agua. El acoplamiento molecular de las sales más potentes **8**, **10** y **13** indica la estabilización hidrófoba intermolecular del brazo de quinuclidina cuaternaria con K58 o con Y61 (Figura 41) de Hsp90. La cuaternización dentro del brazo que contiene quinuclidina C-17 puede ser una estrategia útil para disminuir la toxicidad de los análogos de GDM en células normales, con una actividad anticancerígena mejorada o conservada simultáneamente en las líneas celulares de cáncer MCF-7 y A-549 respectivamente.²³⁴

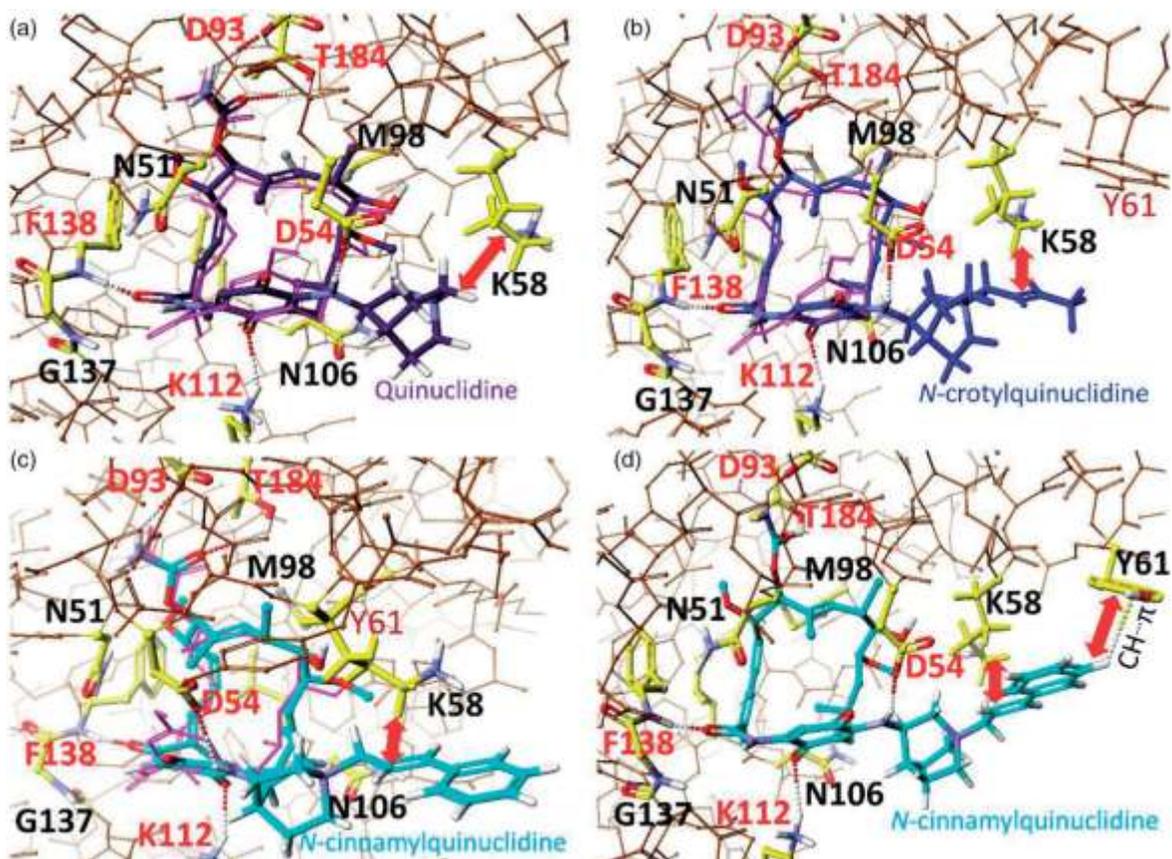


Figura 41. Interacción de los análogos quinuclidina de geldanamicina con Hsp90. Interacción de los análogos **8** (a) **10** (b) y **13** (c y d) con Hsp90. Tomado de la literatura²³⁴ con fines académicos.

La unión de los análogos de quinuclidina con la Hsp90, muestra una estabilización extra hidrofóbica entre la canasta de quinuclidina del compuesto **8** con K58, contribuyendo a un mejor potencial anticancerígeno con relación a GDM. Las sales muestran un potencial disminuido, pero también la posibilidad de estabilizaciones hidrofóbicas con K58 de Hsp90. Los cambios en la lipofilicidad no explican las diferencias en el efecto anticancerígeno de las sales.²³⁴

7. Conclusiones

- Un estudio de relación estructura actividad es un modelo que busca encontrar las relaciones que pueden existir entre las características estructurales de un compuesto químico con una propiedad, efecto o actividad biológica asociada a dicha sustancia y en interacción con su diana. Esto se logra a través de los datos proporcionados de los experimentos *in vitro*, los descriptores moleculares y los análisis quimiométricos que permiten predecir, explicar o caracterizar procesos de toxicidad, farmacocinéticas, interacciones entre el receptor y compuestos anticancerígenos, efectos ecológicos entre otros. Se puede utilizar como modelo de evaluación para comparar, agrupar y discriminar un conjunto de compuestos relacionados con un compuesto principal. Además, permite determinar si las modificaciones estructurales realizadas sobre un compuesto afectan o benefician la interacción con un sistema biológico y, por ende, su actividad biológica comparada con el compuesto original. Entre más información se tenga de la estructura química y de los puntos finales de las pruebas *in vitro* (evidencias de actividad o inactividad), y con una buena selección del método quimiométrico, los estudios de relación estructura actividad son más precisos.
- En lo pertinente a la relación estructura actividad de los taxoides, los estudios consultados nos permiten concluir que: las posiciones C-4, C-13, las posiciones en el anillo benzoílo del C-2, el anillo oxetano y la feniloserina en el C-13 y todas las modificaciones que se realizan en estas partes de la estructura química del compuesto paclitaxel, presentan una relación con la pérdida, reducción o aumento de la actividad anticancerígena.
- En lo pertinente a los estudios consultados sobre líquidos iónicos, es importante resaltar que: (a) en los LIs de imidazolio, la aromaticidad, el aumento de los carbonos en la cadena lateral y el aumento de la polaridad, conducen a un mayor efecto tóxico que puede ser aprovechado para generar una capacidad anticancerígena en estos compuestos. (b) En las sales de amonio cuaternario se muestra que estas son utilizadas para generar mayor solubilidad, biodisponibilidad y protección en el fármaco del cual hacen parte, pero no se demuestra que la presencia de éstas pueda estar relacionada por sí sola con una actividad anticancerígena.

- En los documentos consultados se menciona de manera recurrente la utilización del método de inhibición del desensamblaje de la tubulina para detectar la actividad o inactividad del paclitaxel y sus análogos, mientras que el método MTT es el más usado para estimar los IC_{50} , LC_{50} , LD_{50} cuando se evalúa la toxicidad de los líquidos iónicos de imidazolio.

8. Bibliografía

1. Verma, R. P. & Hansch, C. Cytotoxicity of Organic Compounds against Ovarian Cancer Cells: A Quantitative Structure–Activity Relationship Study. *Mol. Pharm.* **3**, 441–450 (2006).
2. Reece, J. División de la Célula | CancerQuest. <https://www.cancerquest.org/es/biologia-del-cancer/division-de-la-celula> (2017).
3. Reece, Urry, Cain, Wasserman, Minorsky, J. *Campbell Biology*. (2017).
4. Moini, J., Badolato, C. & Ahangari, R. Chapter 21 - Chemotherapy. in *Epidemiology of Endocrine Tumors* 473–488 (Elsevier, 2020). doi:10.1016/B978-0-12-822187-7.00006-2.
5. AMBOSS. Chemotherapeutic agents - Knowledge @ AMBOSS. https://www.amboss.com/us/knowledge/Chemotherapeutic_agents/.
6. McKinney, J. D. The Practice of Structure Activity Relationships (SAR) in Toxicology. *Toxicol. Sci.* **56**, 8–17 (2000).
7. Grant, R. L., Combs, A. B. & Acosta, D. Experimental Models for the Investigation of Toxicological Mechanisms. *Compr. Toxicol.* 203–224 (2010) doi:10.1016/b978-0-08-046884-6.00110-x.
8. Penta, S. Introduction to Coumarin and SAR. in *Advances in Structure and Activity Relationship of Coumarin Derivatives* 1–8 (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/B978-0-12-803797-3.00001-1.
9. Waters, M. D. *et al.* Structure-Activity Relationships: Computerized Systems. *Methods to Assess DNA Damage Repair Interspecies Comparisons* 201–230 (1994).
10. Cruz-Cruz, E. M. ¿Es necesario conocer el proceso de diseño de fármacos antes de su prescripción? *Revista Electrónica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta.* 2015; 40(7) (2015).
11. Breastcancer.org. Taxol. <https://www.breastcancer.org/es/medicamentos/taxol> (2022).
12. National Cancer Institute. Drugs Approved for Breast Cancer - National Cancer Institute. *Nih-Nci* vol. 9 9 <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/drugs/breast> (2021).
13. Naaz, F., Haider, M. R., Shafi, S. & Yar, M. S. Anti-tubulin agents of natural origin: Targeting taxol, vinca, and colchicine binding domains. *Eur. J. Med. Chem.* **171**, 310–331 (2019).
14. Fauzee, N. J. S., Dong, Z. & Wang, Y. L. Taxanes: Promising anti-cancer drugs. *Asian Pacific J. Cancer Prev.* **12**, 837–851 (2011).
15. Bakshi, K. *et al.* Imidazolium-based ionic liquids cause mammalian cell death due to modulated structures and dynamics of cellular membrane. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.* **1862**, 183103 (2020).
16. Wang, D. *et al.* Imidazolium-Based Lipid Analogues and Their Interaction with Phosphatidylcholine Membranes. *Langmuir* **32**, 12579–12592 (2016).
17. Jovanović-Šanta, S. *et al.* Anticancer and antimicrobial properties of imidazolium based ionic liquids with salicylate anion. *J. Serbian Chem. Soc.* **85**, 291–303 (2020).
18. Li, X., Ma, J. & Wang, J. Cytotoxicity, oxidative stress, and apoptosis in HepG2 cells induced by ionic liquid 1-methyl-3-octylimidazolium bromide. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **120**, 342–348 (2015).
19. Al-Blewi, F. *et al.* A Profile of the In Vitro Anti-Tumor Activity and In Silico ADME Predictions of

- Novel Benzothiazole Amide-Functionalized Imidazolium Ionic Liquids. *Int. J. Mol. Sci.* **20**, (2019).
20. Zakharova, L. Y. *et al.* Chapter 14 - Self-assembled quaternary ammonium surfactants for pharmaceuticals and biotechnology. in *Organic Materials as Smart Nanocarriers for Drug Delivery* (ed. Grumezescu, A. M.) 601–618 (William Andrew Publishing, 2018). doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813663-8.00014-2>.
 21. Cesaretti, A. *et al.* Spectroscopic Investigation of the pH Controlled Inclusion of Doxycycline and Oxytetracycline Antibiotics in Cationic Micelles and Their Magnesium Driven Release. *J. Phys. Chem. B* **118**, 8601–8613 (2014).
 22. Guirao-Goris, S. J. Utilidad y tipos de revisión de literatura. *Rev. ENE enfermería* **9**, 1–12 (2015).
 23. Gómez-Luna, E., Fernando-Navas, D., Aponte-Mayor, G. & Betancourt-Buitrago, L. A. Metodología para la revisión bibliográfica y la gestión de información de temas científicos, a través de su estructuración y sistematización. *DYNA* **81**, 158–163 (2014).
 24. Barderas-Manchado, A., Estrada-Lorenzo, J. M. & González-Gil, T. Estrategias para la búsqueda bibliográfica. *Educare21* **55**, 1–9 (2009).
 25. Montana, M., Mathias, F., Terme, T. & Vanelle, P. Antitumoral activity of quinoxaline derivatives: A systematic review. *Eur. J. Med. Chem.* **163**, 136–147 (2019).
 26. Matos, L. H. S., Masson, F. T., Simeoni, L. A. & Homem-de-Mello, M. Biological activity of dihydropyrimidinone (DHPM) derivatives: A systematic review. *Eur. J. Med. Chem.* **143**, 1779–1789 (2018).
 27. Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., Altman, D. G. & Group, T. P. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *PLOS Med.* **6**, e1000097 (2009).
 28. Ning, X. & Karypis, G. In silico structure-activity-relationship (SAR) models from machine learning: A review. *Drug Development Research* vol. 72 138–146 (2011).
 29. Wermuth, C. G., Grisoni, S., Villoutreix, B. & Rocher, J. P. Application Strategies for the Primary Structure-Activity Relationship Exploration. in *The Practice of Medicinal Chemistry: Fourth Edition* 301–318 (Elsevier Inc., 2015). doi:[10.1016/B978-0-12-417205-0.00012-2](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417205-0.00012-2).
 30. Frey, K. M. Structure activity relationship (SAR) maps: A student-friendly tool to teach medicinal chemistry in integrated pharmacotherapy courses. *Curr. Pharm. Teach. Learn.* **12**, 339–346 (2020).
 31. Tong, W., Welsh, W. J., Shi, L. & Perkins, R. Structure-activity relationship approaches and applications. *Environ. Toxicol. Chem.* **22**, 1680–1695 (2003).
 32. Cros, A. F. A. Action de l'alcool amylique sur l'organisme. (Strasbourg, 1863).
 33. Botana López, L. M., Landoni, F. & Martín Jiménez, T. *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*. (2002).
 34. Crum Brown, A. & Fraser, T. R. On the connection between chemical constitution and physiological action; with special reference to the physiological action of the salts of the ammonium bases derived from strychnia, brucia, thebata, codeia, morphia, and nicotia. *J. Anat.* **2**, 224–242 (1868).
 35. Mata, E. Qsar Relación Estructura-Actividad Cuantitativa (Quantitative Structure-Activity Relationship) Historia. in 1–40 (1939).

36. Perouansky, M., Penna S., A. & Gutiérrez R., R. The overton in meyer-overton: A biographical sketch commemorating the 150th anniversary of Charles Ernest Overton's birth. *Rev. Médica Clínica Las Condes* **28**, 537–541 (2015).
37. Tong, W., Welsh, W. J., Shi, L. & Fang, H. Enfoques y aplicaciones de la relación estructura-actividad. *Toxicol. Ambient. y Química* **22**, (2009).
38. Hansch, C., Hoekman, D., Leo, A., Weininger, D. & Selassie, C. D. Chem-bioinformatics: Comparative QSAR at the interface between chemistry and biology. *Chem. Rev.* **102**, 783–812 (2002).
39. Frank, I. & Todeschini, R. The Data Analysis Handbook. *Data Handling in Science and Technology* vol. 14 1–352 (1994).
40. Cárdenas, F., Tripaldi, P. & Rojas, C. Estudio de la Relación Cuantitativa Estructura-Actividad de pesticidas mediante técnicas de clasificación. *ACI Av. en Ciencias e Ing.* **6**, (2014).
41. Schultz, T. W., Cronin, M. T. D., Walker, J. D. & Aptula, A. O. Quantitative structure-activity relationships (QSARS) in toxicology: A historical perspective. *J. Mol. Struct. THEOCHEM* **622**, 1–22 (2003).
42. Bogyo, M. & Ward, G. *Toxoplasma gondii Chemical Biology. Toxoplasma Gondii: The Model Apicomplexan - Perspectives and Methods: Second Edition* (Elsevier, 2013). doi:10.1016/B978-0-12-396481-6.00021-0.
43. Zhang, D. & Meng, F. A Comprehensive Overview of Structure-Activity Relationships of Small-Molecule Splicing Modulators Targeting SF3B1 as Anticancer Agents. *ChemMedChem* **15**, 2098–2120 (2020).
44. Liu, H., Long, S., Rakesh, K. P. & Zha, G. F. Structure-activity relationships (SAR) of triazine derivatives: Promising antimicrobial agents. *Eur. J. Med. Chem.* **185**, 111804 (2020).
45. Silverman, R. B. & Holladay, M. *The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action. The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action* (2014). doi:10.1016/b978-0-08-051337-9.50010-9.
46. Lin, X., Li, X. & Lin, X. A Review on Applications of Computational Methods in Drug Screening and Design. *Molecules* **25**, (2020).
47. Macina, O. T., Zhang, Y. P. & Rosenkranz, H. S. Improved Predictivity of Chemical Carcinogens: The Use of a Battery of SAR Models. in *Carcinogenicity* 227–250 (CRC Press, 2021). doi:10.1201/9781003067641-9.
48. Choudhuri, S., Arvidson, K. & Chanderbhan, R. *Carcinogenesis. Mechanisms and models. Veterinary Toxicology* (Elsevier Inc., 2012). doi:10.1016/B978-0-12-385926-6.00026-0.
49. Lozano-Aponte, J. & Scior, T. ¿Qué sabe Ud. acerca de...QSAR? *Rev. Mex. Ciencias Farm.* **43**, 82–84 (2012).
50. Brown, S. D., Blank, T. B., Sum, S. T. & Weyer, L. G. Chemometrics. *Anal. Chem.* **66**, 315–359 (1994).
51. Todeschini, R. & Consonni, V. Handbook of Molecular Descriptors. *Wiley-VCH* **11**, 688 (2000).
52. Bajusz, D., Rácz, A. & Héberger, K. Chemical Data Formats, Fingerprints, and Other Molecular Descriptions for Database Analysis and Searching. in *Comprehensive Medicinal Chemistry III* vols 3–

- 8 329–378 (2017).
53. Visco, D. P. & Chen, J. J. The Signature Molecular Descriptor in Molecular Design: Past and Current Applications. *Comput. Aided Chem. Eng.* **39**, 315–343 (2016).
 54. Faulon, J.-L. & Bender, A. *Handbook of Chemoinformatics Algorithms*. (2010).
 55. Danishuddin & Khan, A. U. Descriptors and their selection methods in QSAR analysis: paradigm for drug design. *Drug Discov. Today* **21**, 1291–1302 (2016).
 56. Grisoni, F., Ballabio, D., Todeschini, R. & Consonni, V. Molecular Descriptors for Structure–Activity Applications: A Hands-On Approach. **1800**, 287–311 (2018).
 57. Parthasarathi, R. & Dhawan, A. In Silico Approaches for Predictive Toxicology. in *In Vitro Toxicology* 91–109 (Elsevier Inc., 2018). doi:10.1016/B978-0-12-804667-8.00005-5.
 58. Reyes, L. M. S. Aplicaciones biológicas de la teoría QSAR en el control del mosquito *Aedes aegypti* L. (Universidad Nacional De la Plata, 2020).
 59. Rodríguez, M. & María Narvaez, A. Un Acercamiento Didáctico Entre Química Orgánica Y Álgebra Lineal a Didactic Approach Between Organic Chemistry and Linear Algebra. *Acta Latinoam. Mat. Educ.* **32**, 222–230 (2019).
 60. Cherkasov, A. *et al.* QSAR modeling: where have you been? Where are you going to? *J. Med. Chem.* **57**, 4977–5010 (2014).
 61. Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* **65**, 55–63 (1983).
 62. Ganot, N., Meker, S., Reytman, L., Tzuber, A. & Tshuva, E. Y. Anticancer metal complexes: synthesis and cytotoxicity evaluation by the MTT assay. *J. Vis. Exp.* 1–6 (2013) doi:10.3791/50767.
 63. Gutiérrez, L. *et al.* Nanotechnology in Drug Discovery and Development. in *Comprehensive Medicinal Chemistry III* (eds. Chackalamannil, S., Rotella, D. & Ward, S. E.) 264–295 (Elsevier, 2017). doi:https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.12292-9.
 64. Castro de Pardo, C. Pruebas de tamizaje para determinar efectos citotóxicos en extractos, fracciones o sustancias, utilizando la prueba del MTT. vol. 1 317–321 (2006).
 65. Baya, A. el. Tubulin polymerisation measurement – made easy! <https://www.tebu-bio.com/blog/2016/01/07/tubulin-polymerisation-measurement-made-easy/> (2016).
 66. Mirigian, M., Mukherjee, K., Bane, S. L. & Sackett, D. L. Measurement of In vitro microtubule polymerization by turbidity and fluorescence. in *Methods in Cell Biology* vol. 115 215–229 (© 2013 Elsevier, Inc. All rights reserved., 2013).
 67. Desai, A. & Mitchison, T. J. Microtubule polymerization dynamics. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **13**, 83–117 (1997).
 68. Heusele, C., Dominique, B. & Marie, C. Is microtubule assembly a biphasic process? A fluorimetric study using 4',6-diamidino-2-phenylindole as a probe. *Eur. J. Biochem.* **165**, 613–620 (1987).
 69. Bonne, D., Heuséle, C., Simon, C. & Pantaloni, D. 4',6-Diamidino-2-phenylindole, a fluorescent probe for tubulin and microtubules. *J. Biol. Chem.* **260**, 2819–2825 (1985).
 70. Gaskin, F. Analysis of Microtubule Assembly Kinetics Using Turbidimetry. in *Microtubule Dynamics:*

- Methods and Protocols* (ed. Straube, A.) 99–105 (2011). doi:10.1007/978-1-61779-252-6.
71. Inc., C. HTS-Tubulin Polymerization Assay Biochem Kit™ Manual V 7.0. vol. Manual V 7 6–7.
 72. Giuliani, A. The application of principal component analysis to drug discovery and biomedical data. *Drug Discov. Today* **22**, 1069–1076 (2017).
 73. BURT, C. Factor analysis and canonical correlations. *Br. J. Stat. Psychol.* **1**, 95–106 (1948).
 74. Rencher, A. C. *Methods of Multivariate Analysis. Methods of Multivariate Analysis* (2002). doi:10.1002/0471271357.
 75. Zhang, Z. & Castelló, A. Principal components analysis in clinical studies. *Ann. Transl. Med.* **5**, 3–9 (2017).
 76. Bagnato, J. I. Clasificar con K-Nearest Neighbor ejemplo en Python. *July, 10th* <https://www.aprendemachinelearning.com/clasificar-con-k-nearest-neighbor-ejemplo-en-python/> (2018).
 77. Zapata-Tapasco, A., Pérez-Londoño, S. & Mora-Flórez, J. Método basado en clasificadores k-NN parametrizados con algoritmos genéticos y la estimación de la reactancia para localización de fallas en sistemas de distribución. *Rev. Fac. Ing.* 220–232 (2014).
 78. Moujahid, A., Inza, I. & Larrañaga, P. Tema 5. Clasificadores K-NN. *Dep. ciencias la Comput. e inteligencia Artif.* (2019).
 79. Zaidi, S. A. R. Nearest neighbour methods and their applications in design of 5G & beyond wireless networks. *ICT Express* **7**, 414–420 (2021).
 80. Liu, H., Zhao, Y., Zhang, L. & Chen, X. Anti-cancer Drug Response Prediction Using Neighbor-Based Collaborative Filtering with Global Effect Removal. *Mol. Ther. - Nucleic Acids* **13**, 303–311 (2018).
 81. Arian, R., Hariri, A., Mehridehnavi, A., Fassihi, A. & Ghasemi, F. Protein kinase inhibitors' classification using K-Nearest neighbor algorithm. *Comput. Biol. Chem.* **86**, 107269 (2020).
 82. Rajaguru, H. & Sannasi Chakravarthy, S. R. Analysis of decision tree and k-nearest neighbor algorithm in the classification of breast cancer. *Asian Pacific J. Cancer Prev.* **20**, 3777–3781 (2019).
 83. Shi, G. Decision Trees. in *Data Mining and Knowledge Discovery for Geoscientists* 111–138 (Elsevier, 2014). doi:10.1016/B978-0-12-410437-2.00005-9.
 84. Kingsford, C. & Salzberg, S. L. What are decision trees? Classifying with decision trees. *Nat. Biotechnol.* **26**, 1011–1013 (2008).
 85. Gehrke, J., Loh, W. Y. & Ramakrishnan, R. Tutorial 1. classification and regression: Motiey *Can* grow on trees. in *Proceedings of the ACM SIGKDD International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining* 1–72 (Association for Computing Machinery (ACM), 1999). doi:10.1145/312179.312185.
 86. Carlos, A. : & López, P. Predicción de la interacción de proteínas relacionadas con el Alzheimer a partir de su estructura primaria. (Universitat Oberta de Catalunya (UOC), 2020).
 87. Lantz, B. *Machine Learning with R. Machine Learning with R* (2015). doi:10.1007/978-981-10-6808-9.
 88. Arboles de decisión. <https://medium.com/greyatom/decision-trees-asimple-way-to-visualize-a>

decision-dc506a403aeb.

89. Barrientos, R. *et al.* Árboles de decisión como herramienta en el diagnóstico Médico. *Rev. Médica la Univ. Veracruzana* 20–24 (2009).
90. Breiman, L., Friedman, J.H., Olshen, R.A., & Stone, C. J. *Classification And Regression Trees*. (1984).
91. Cutler, A. & Stevens, J. R. [23] Random Forests for Microarrays. *Methods in Enzymology* vol. 411 422–432 (2006).
92. Schierz, A. C. Virtual screening of bioassay data. *J. Cheminform.* **1**, 1–12 (2009).
93. Mocak, J. Chemometrics in Medicine and Pharmacy. *Nov. Biotechnol. Chim.* **11**, 11–26 (2012).
94. Ali, J., Khan, R., Ahmad, N. & Maqsood, I. Random forests and decision trees. *IJCSI Int. J. Comput. Sci. Issues* **9**, 272–278 (2012).
95. Breiman, L. Random Forests. *Mach. Learn.* **45**, 5–32 (2001).
96. Amat Rodrigo, J. Árboles de predicción: bagging, random forest, boosting y C5.0. *GitHub* https://rpubs.com/Joaquin_AR/255596 (2017).
97. Rahman, R., Haider, S., Ghosh, S. & Pal, R. Design of probabilistic random forests with applications to anticancer drug sensitivity prediction. *Cancer Inform.* **15**, 57–73 (2016).
98. Lind, A. P. & Anderson, P. C. Predicting drug activity against cancer cells by random forest models based on minimal genomic information and chemical properties. *PLoS One* **14**, 1–20 (2019).
99. Kadioglu, O., Klauck, S. M., Fleischer, E., Shan, L. & Efferth, T. Selection of safe artemisinin derivatives using a machine learning-based cardiotoxicity platform and in vitro and in vivo validation. *Arch. Toxicol.* **95**, 2485–2495 (2021).
100. Zhang, X. *et al.* Prediction of Chemosensitivity in Multiple Primary Cancer Patients Using Machine Learning. *Anticancer Res.* **41**, 2419 LP – 2429 (2021).
101. MATLAB - MathWorks - MATLAB & Simulink. *MathWorks* <https://www.mathworks.com/products/matlab.html> (2022).
102. Sybyl - csic.es. <http://sitios.csic.es/web/calculo-cientifico/sybyl>.
103. Robb, M. New Chemistry with Gaussian 16 & GaussView 6. *Expanding the limits of computational chemistry* <https://gaussian.com/g16new/> (2022).
104. RStudio Team. RStudio | Open source & professional software for data science teams - RStudio. *RStudio Inc.* <https://www.rstudio.com/> (2020).
105. KNIME. KNIME | Open for Innovation. *KNIME* <https://www.knime.com/> (2021).
106. Quiminformática reproducible a través de flujos de trabajo visuales | KNIME. <https://www.knime.com/reproducible-cheminformatics-visual-workflows>.
107. Guha, R. Chemical informatics functionality in R. *J. Stat. Softw.* **18**, 1–16 (2007).
108. Voicu, A., Duteanu, N., Voicu, M., Vlad, D. & Dumitrascu, V. The rcdk and cluster R packages applied to drug candidate selection. *J. Cheminform.* **12**, 1–8 (2020).
109. Beisken, S., Meinel, T., Wiswedel, B., Figueiredo, L. F. De & Berthold, M. KNIME-CDK : Workflow-driven cheminformatics. *BMC Bioinformatics* 2–5 (2013).
110. Horan, K., Yiqun, C., Tyler, B. & Thomas, G. ChemmineR: Cheminformatics Toolkit para R.

- <https://www.bioconductor.org/packages/devel/bioc/vignettes/ChemmineR/inst/doc/ChemmineR.html>.
111. Matesanz R., R. Optimización de la interacción microtúbulo-taxol: diseño de taxanos de alta afinidad. (Universidad Autónoma de Madrid, 2011).
 112. Nogales, E. *et al.* Structure of the $\alpha\beta$ tubulin dimer by electron crystallography. *Nature* **391**, 424–427 (1995).
 113. Nogales, E. Structural insights into microtubule function. *Rev. Lit. Arts Am.* 278–298 (2000) doi:10.1146/annurev.biochem.73.011303.074048.
 114. Viñas Domínguez, S. Enfermedades de tubulinas. (Universidad de Cantabria, 2016).
 115. Nogales, E. & Wang, H.-W. Structural intermediates in microtubule assembly and disassembly: how and why? *Curr. Opin. Cell Biol.* **18**, 179–184 (2006).
 116. Löwe, J., Li, H., Downing, K. H. & Nogales, E. Refined structure of $\alpha\beta$ -tubulin at 3.5 Å resolution. *J. Mol. Biol.* **313**, 1045–1057 (2001).
 117. Marcano, D. & Hasegawa, M. *Fitoquímica Orgánica*. (Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, 2018).
 118. Kingston, D. G. ., Molinero, A. . & Rimoldi, J. . *Progress in the chemistry of organic natural products*. (Springer-Verlag/Wien, 1993). doi:10.1007/978-3-7091-9242-9.
 119. Chanbner, B. & Mujagic, H. Taxano y sus derivados. in *HARRISON. manual de oncología* (ed. Fraga, J. de L.) 24–31 (2009).
 120. Centelles, J. J. & Imperial, S. Paclitaxel Descubrimiento, Propiedades y uso Clínico. *Offram* **29**, 68–75 (2010).
 121. Jair Barrales-Cureño, H. & Marco, S. H. Bioquímica de los Taxoides utilizados contra el cáncer. *Rev. Educ. Bioquímica* **30**, 12–20 (2011).
 122. Mosca, L., Ilari, A., Fazi, F., Assaraf, Y. G. & Colotti, G. Taxanes in cancer treatment: Activity, chemoresistance and its overcoming. *Drug Resist. Updat.* **54**, 100742 (2021).
 123. Ubeda, R. A. Biotransformaciones en la síntesis de antitumorales. (universidad complutense, 2016).
 124. Sánchez-Murcia, P. A., Mills, A., Cortés-Cabrera, Á. & Gago, F. Unravelling the covalent binding of zampanolide and taccalonolide AJ to a minimalist representation of a human microtubule. *J. Comput. Aided. Mol. Des.* **33**, 627–644 (2019).
 125. Zheng, L. L., Wen, G., Yao, Y. X., Li, X. H. & Gao, F. Design, Synthesis, and Anticancer Activity of Natural Product Hybrids With Paclitaxel Side Chain Inducing Apoptosis in Human Colon Cancer Cells. *Nat. Prod. Commun.* **15**, 1–11 (2020).
 126. Sharma, S. *et al.* Dissecting Paclitaxel–Microtubule Association: Quantitative Assessment of the 2'-OH Group. *Biochemistry* **52**, 2328–2336 (2013).
 127. Kellogg, E. H. *et al.* Insights into the Distinct Mechanisms of Action of Taxane and Non-Taxane Microtubule Stabilizers from Cryo-EM Structures. *J. Mol. Biol.* **429**, 633–646 (2017).
 128. Risinger, A. L., Hastings, S. D. & Du, L. Taccalonolide C-6 Analogues, Including Paclitaxel Hybrids, Demonstrate Improved Microtubule Polymerizing Activities. *J. Nat. Prod.* **84**, 1799–1805 (2021).
 129. Nuijen, B., Bouma, M., Schellens, J. H. M. & Beijnen, J. H. Progress in the development of alternative

- pharmaceutical formulations of taxanes. *Invest. New Drugs* **19**, 143–153 (2001).
130. Engblom, P. *et al.* Effects of paclitaxel with or without cremophor EL on cellular clonogenic survival and apoptosis. *Eur. J. Cancer* **35**, 284–288 (1999).
 131. Elhissi, A. M. A. *et al.* Chapter 18 - Taxane anticancer formulations: challenges and achievements. in *Advances in Medical and Surgical Engineering* (eds. Ahmed, W., Phoenix, D. A., Jackson, M. J. & Charalambous, C. P.) 347–358 (Academic Press, 2020). doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819712-7.00018-8>.
 132. Engels, F. K., Mathot, R. A. A. & Verweij, J. Alternative drug formulations of docetaxel: a review. *Anticancer. Drugs* **18**, 95–103 (2007).
 133. Immordino, M. L. *et al.* Preparation, characterization, cytotoxicity and pharmacokinetics of liposomes containing docetaxel. *J. Control. release* **91**, 417–429 (2003).
 134. Tannock, I. F. *et al.* Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* **351**, 1502–1512 (2004).
 135. Khan, M. A., Carducci, M. A. & Partin, A. W. The evolving role of docetaxel in the management of androgen independent prostate cancer. *J. Urol.* **170**, 1709–1716 (2003).
 136. Nabell, L. & Spencer, S. Docetaxel with Concurrent Radiotherapy in Head and Neck Cancer. *Semin. Oncol.* **30**, 89–93 (2003).
 137. Jordan, M. A. *et al.* Mitotic block induced in HeLa cells by low concentrations of paclitaxel (taxol) results in abnormal mitotic exit and apoptotic cell death. *Cancer Res.* **56**, 816–825 (1996).
 138. Jordan, M. A., Toso, R. J., Thrower, D. & Wilson, L. Mechanism of mitotic block and inhibition of cell proliferation by taxol at low concentrations. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **90**, 9552–9556 (1993).
 139. DeVita, V. T. & Lawrence, T. S. Rosenberg's cancer: principles & practice of oncology. *DeVita, Vincent T 1855–1893* (2008).
 140. Checchi, P. M., Nettles, J. H., Zhou, J., Snyder, J. P. & Joshi, H. C. Microtubule-interacting drugs for cancer treatment. *Trends Pharmacol. Sci.* **24**, 361–365 (2003).
 141. Crown, J. & O'Leary, M. The taxanes: An update. *Lancet* **355**, 1176–1178 (2000).
 142. Hevia, L. G. & Fanarraga, M. L. Microtubule cytoskeleton-disrupting activity of MWCNTs: applications in cancer treatment. *J. Nanobiotechnology* **18**, 181 (2020).
 143. Alushin, G. M. *et al.* High-resolution microtubule structures reveal the structural transitions in α -tubulin upon GTP hydrolysis. *Cell* **157**, 1117–1129 (2014).
 144. Zhang, R., Alushin, G. M., Brown, A. & Nogales, E. Mechanistic Origin of Microtubule Dynamic Instability and Its Modulation by EB Proteins. *Cell* **162**, 849–859 (2015).
 145. Arnal, I. & Wade, R. H. How does taxol stabilize microtubules? *Curr. Biol.* **5**, 900–908 (1995).
 146. Schiff, P. B. & Horwitz, S. B. Taxol stabilizes microtubules. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **77**, 1561–1565 (1980).
 147. Turner, P. F. & Margolis, R. L. Taxol-induced Bundling of Brain-derived Microtubules. *J Cell Biol.* **99**, (1984).
 148. Yvon, A. M. C., Wadsworth, P. & Jordan, M. A. Taxol suppresses dynamics of individual microtubules

- in living human tumor cells. *Mol. Biol. Cell* **10**, 947–959 (1999).
149. Jordan, M. A., Toso, R. J., Thrower, D. & Wilson, L. Mechanism of mitotic block and inhibition of cell proliferation by taxol at low concentrations. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **90**, 9552–9556 (1993).
 150. Swindell, C. S. Taxane diterpene synthesis strategies. A review. *Org. Prep. Proced. Int.* **23**, 465–543 (1991).
 151. Xiang, F., Yu, J., Yin, R., Ma, Y. & Yu, L. Structure-activity relationship of taxol inferring from docking taxol analogues to microtubule binding site. *Zeitschrift für Naturforsch. - Sect. C J. Biosci.* **64**, 551–556 (2009).
 152. Kingston, D. G. I. Taxol: The chemistry and structure-activity relationships of a novel anticancer agent. *Trends Biotechnol.* **12**, 222–227 (1994).
 153. Mellado, W. *et al.* Preparation and Biological Activity of Taxol Acetates. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **124**, 329 (1984).
 154. Shanker, N. *et al.* Enhanced microtubule binding and tubulin assembly properties of conformationally constrained paclitaxel derivatives. *Biochemistry* **46**, 11514 (2007).
 155. Baloglu, E., Kingston, D. G. ., Patel, P., Chatterjee, S. K. & Bane, S. L. Synthesis and microtubule binding of fluorescent paclitaxel derivatives. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **11**, 2249–2252 (2001).
 156. Jagtap, P. G., Baloglu, E., Barron, D. M., Bane, S. & Kingston, D. G. I. Design and synthesis of a combinatorial chemistry library of 7-acyl, 10-acyl, and 7,10-diacyl analogues of paclitaxel (taxol) using solid phase synthesis. *J. Nat. Prod.* **65**, 1136–1142 (2002).
 157. Baloglu, E. *et al.* Synthesis and biological evaluation of C-3'NH/C-10 and C-2/C-10 modified paclitaxel analogues. *Bioorganic Med. Chem.* **11**, 1557–1568 (2003).
 158. Liu, C., Schilling, J. K., Ravindra, R., Bane, S. & Kingston, D. G. I. Syntheses and bioactivities of macrocyclic paclitaxel bis-lactones. *Bioorganic Med. Chem.* **12**, 6147–6161 (2004).
 159. Paik, Y. *et al.* Rotational-echo double-resonance NMR distance measurements for the tubulin-bound paclitaxel conformation. *J. Am. Chem. Soc.* **129**, 361–370 (2007).
 160. Ganesh, T. *et al.* Evaluation of the tubulin-bound paclitaxel conformation: Synthesis, biology, and SAR studies of C-4 to C-3' bridged paclitaxel analogues. *J. Med. Chem.* **50**, 713–725 (2007).
 161. Kingston, D. G. I. & Newman, D. J. Taxoids: Cancer-fighting compounds from nature. *Curr. Opin. Drug Discov. Dev.* **10**, 130–144 (2007).
 162. Kingston, D. G. I. The shape of things to come: Structural and synthetic studies of taxol and related compounds. *Phytochemistry* **68**, 1844–1854 (2007).
 163. Parness, J., Kingston, D. G. I., Powell, R. G., Harracksingh, C. & Horwitz, S. B. Structure-activity study of cytotoxicity and microtubule assembly in vitro by taxol and related taxanes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **105**, 1082–1089 (1982).
 164. Kingston, D. G. I. The chemistry of Taxol. *Pharmacol. Ther.* **52**, 1–34 (1991).
 165. Kingston, D. G. I. Taxol : the chemistry and structure-activity relationships of a novel anticancer agent. 222–227 (1994).
 166. Grover, S. *et al.* Differential Effects of Paclitaxel (Taxol) Analogs Modified at Positions C-2, C-7, and

- C-3' on Tubulin Polymerization and Polymer Stabilization: Identification of a Hyperactive Paclitaxel Derivative. *Biochemistry* **34**, 3927–3934 (1995).
167. Ran, Y. *et al.* Interaction of a fluorescent derivative of paclitaxel (taxol) with microtubules and tubulin-colchicine. *Biochemistry* **35**, 14173–14183 (1996).
168. Watson, J. M. *et al.* Identification of the structural region of taxol that may be responsible for cytokine gene induction and cytotoxicity in human ovarian cancer cells. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **41**, 391–397 (1998).
169. Kingston, D. G. I. *et al.* Synthesis and biological evaluation of 2-acyl analogues of paclitaxel (Taxol). *J. Med. Chem.* **41**, 3715–3726 (1998).
170. He, L. *et al.* A common pharmacophore for taxol and the epothilones based on the biological activity of a taxane molecule lacking a C-13 side chain. *Biochemistry* **39**, 3972–3978 (2000).
171. Chordia, M. D., Chaudhary, A. G., Kingston, D. G. I., Qing Jiang, Y. & Hamel, E. Synthesis and biological evaluation of 4-deacetytaxol. *Tetrahedron Lett.* **35**, 6843–6846 (1994).
172. Neiding, K. A., Gharpure, J. M., Kingston, D. G. I. & Rimoldi, K. Synthesis and Biological Evaluation of 4-deacetytaxol. *Tetrahedron Lett.* **35**, 6839–6842 (1994).
173. Chaudhary, A. G., Rimoldi, J. M. & Kingston, D. G. I. Interconversion of Taxol and 7-epi-Taxol. *J. Org. Chem.* **58**, 3798–3799 (1993).
174. Chen, S. H. *et al.* Synthesis of 7-deoxy- and 7,10-dideoxytaxol via radical intermediates. *J. Org. Chem.* **58**, 5028–5029 (1993).
175. Kingston, D. G. I. The shape of things to come: Structural and synthetic studies of taxol and related compounds. *Phytochemistry* **68**, 1844–1854 (2007).
176. Chen, S. H. *et al.* Synthesis of 7-Deoxy- and 7,10-Dideoxytaxol via Radical Intermediates. *J. Org. Chem.* **58**, 5028–5029 (1993).
177. Chaudhary, A. G., Rimoldi, J. M. & Kingston, D. G. I. Modified taxols. 10. Preparation of 7-deoxytaxol, a highly bioactive taxol derivative, and interconversion of taxol and 7-epi-taxol. *J. Org. Chem.* **58**, 3798–3799 (1993).
178. Chaudhary, A. & Kingston, D. Synthesis of 10-deacetytaxol and 10-deoxytaxotere. *Tetrahedron Lett.* **34**, 4921–4924 (1993).
179. Alcaraz, A. A., Mehta, A. K., Johnson, S. A. & Snyder, J. P. T-Taxol conformation. *J. Med. Chem.* **49**, 2478 (2006).
180. Snyder, J. P., Nettles, J. H., Cornett, B., Downing, K. H. & Nogales, E. The binding conformation of Taxol in beta-tubulin: a model based on electron crystallographic density. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **98**, 5312–5316 (2001).
181. Georg, G. I. *et al.* Synthesis and biology of substituted 3'-phenyl taxol analogues. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **4**, 2331–2336 (1994).
182. Xie, C. *et al.* Synthesis and biological activity of C-7, C-9 and C-10 modified taxane analogues from 1-deoxybaccatin VI. *Bioorg. Med. Chem.* **28**, 115736 (2020).
183. Sheng, J. *et al.* Synthesis of Paclitaxel Side Chain via Multi-Component Reaction and Its Application

- to the Synthesis of Paclitaxel Analogues. *Chinese J. Org. Chem.* **39**, 377–389 (2019).
184. Hayes, R., Warr, G. G. & Atkin, R. Structure and Nanostructure in Ionic Liquids. *Chem. Rev.* **115**, 6357–6426 (2015).
 185. Dean, P. M., Pringle, J. M. & MacFarlane, D. R. Structural analysis of low melting organic salts: Perspectives on ionic liquids. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **12**, 9144–9153 (2010).
 186. van Rantwijk, F. Ionic Liquids in biotransformations and organocatalysis. Solvents and Beyond. Edited by Pablo Domínguez de María. *Angew. Chemie Int. Ed.* **52**, 3065–3066 (2013).
 187. Egorova, K. S., Gordeev, E. G. & Ananikov, V. P. Biological Activity of Ionic Liquids and Their Application in Pharmaceuticals and Medicine. *Chem. Rev.* **117**, 7132–7189 (2017).
 188. Verdía, P. Diseño y síntesis de Líquidos Iónicos para aplicaciones específicas. (Universidad de Vigo, 2012).
 189. Holbrey, J. D. & Seddon, K. R. Ionic Liquids. *Clean Technol. Environ. Policy* **1**, 223–236 (1999).
 190. Marrucho, I. M., Branco, L. C. & Rebelo, L. P. N. Ionic liquids in pharmaceutical applications. *Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.* **5**, 527–546 (2014).
 191. Dobler, D., Schmidts, T., Klingshöfer, I. & Runkel, F. Ionic liquids as ingredients in topical drug delivery systems. *Int. J. Pharm.* **441**, 620–627 (2013).
 192. Ferraz, R. *et al.* Antitumor Activity of Ionic Liquids Based on Ampicillin. *ChemMedChem* **10**, 1480–1483 (2015).
 193. Reslan, M. & Kayser, V. Ionic liquids as biocompatible stabilizers of proteins. *Biophysical Reviews* vol. 10 781–793 (2018).
 194. Ozokwelu, D., Zhang, S., Okafor, O. C., Cheng, W. & Litombe, N. Preparation and Characterization of Ionic Liquids. in *Novel Catalytic and Separation Processes Based on Ionic Liquids* 13–44 (2017). doi:10.1016/b978-0-12-802027-2.00002-9.
 195. Weingärtner, H. Understanding ionic liquids at the molecular level: Facts, problems, and controversies. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **47**, 654–670 (2008).
 196. Rodríguez, I. Líquidos iónicos. propiedades, síntesis y aplicaciones. (Universidad nacional de educación a distancia , 2017).
 197. 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).
 198. Hallett, J. P. & Welton, T. Room-temperature ionic liquids: Solvents for synthesis and catalysis. 2. *Chem. Rev.* **111**, 3508–3576 (2011).
 199. Sigma-Aldrich. Imidazolium - Ionic Liquids | Sigma-Aldrich | Sigma-Aldrich. <https://www.sigmaaldrich.com/chemistry/chemistry-products.html?TablePage=1> (2020).
 200. Imidazolium Ionic Liquids. <https://www.alfa-chemistry.com/products/imidazolium-ionic-liquids-151.htm>.
 201. Ameta, K. L. & Dandia, A. Green chemistry: Synthesis of bioactive heterocycles. *Green Chem. Synth. Bioact. Heterocycles* 1–412 (2014) doi:10.1007/978-81-322-1850-0.
 202. Hardacre, C., Holbrey, J. D., Nieuwenhuyzen, M. & Youngs, T. G. A. Structure and solvation in ionic

- liquids. *Acc. Chem. Res.* **40**, 1146–1155 (2007).
203. Kumar, A. & Venkatesu, P. The stability of insulin in the presence of short alkyl chain imidazolium-based ionic liquids. *RSC Adv.* **4**, 4487–4499 (2014).
 204. Mahkam, M., Hosseinzadeh, F. & Galehassadi, M. Preparation of Ionic Liquid Functionalized Silica Nanoparticles for Oral Drug Delivery. *J. Biomater. Nanobiotechnol.* **03**, 391–395 (2012).
 205. Araki, S., Wakabayashi, R., Moniruzzaman, M., Kamiya, N. & Goto, M. Ionic liquid-mediated transcutaneous protein delivery with solid-in-oil nanodispersions. *Medchemcomm* **6**, 2124–2128 (2015).
 206. Lin, X., Su, Z., Yang, Y. & Zhang, S. The potential of ionic liquids in biopharmaceutical engineering. *Chinese J. Chem. Eng.* **30**, 236–243 (2021).
 207. Flieger, J. & Flieger, M. Ionic liquids toxicity—benefits and threats. *International Journal of Molecular Sciences* vol. 21 1–41 (2020).
 208. Roma-Rodrigues, C. *et al.* Synthesis of new hetero-arylidene-9(10H)-anthrone derivatives and their biological evaluation. *Bioorg. Chem.* **99**, 103849 (2020).
 209. Miskiewicz, A., Ceranowicz, P., Szymczak, M., Bartuś, K. & Kowalczyk, P. The use of ionic liquids as pharmaceutically active substances helpful in combating nosocomial infections induced by *Klebsiella Pneumoniae* new delhi strain, *Acinetobacter Baumannii* and *Enterococcus* species. *Int. J. Mol. Sci.* **19**, (2018).
 210. Wang, D. *et al.* Anti-tumor activity and cytotoxicity in vitro of novel 4,5-dialkylimidazolium surfactants. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **467**, 1033–1038 (2015).
 211. Guncheva, M. *et al.* Rapana thomasiana hemocyanin modified with ionic liquids with enhanced anti breast cancer activity. *Int. J. Biol. Macromol.* **82**, 798–805 (2016).
 212. Uddin, M., Basak, D., Hopefl, R. & Minofar, B. Potential application of ionic liquids in pharmaceutical dosage forms for small molecule drug and vaccine delivery system. *J. Pharm. Pharm. Sci.* **23**, 158–176 (2020).
 213. Thuy Pham, T. P., Cho, C. W. & Yun, Y. S. Environmental fate and toxicity of ionic liquids: A review. *Water Res.* **44**, 352–372 (2010).
 214. Dias, A. R. *et al.* The Anticancer Potential of Ionic Liquids. *ChemMedChem* **120**, 342–348 (2017).
 215. Thuy Pham, T. P., Cho, C. W. & Yun, Y. S. Environmental fate and toxicity of ionic liquids: A review. *Water Res.* **44**, 352–372 (2010).
 216. Kumar, V. & Malhotra, S. V. Antitumor activity of ionic liquids on human tumor cell lines. *ACS Symp. Ser.* **1038**, 91–102 (2010).
 217. Kumar, A. In Vitro Cytotoxicities of Ionic Liquids: Effect of Cation Rings, Functional Groups, and Anions. *Far East. Entomol.* **165**, 16 (2008).
 218. Stasiewicz, M. *et al.* Assessing toxicity and biodegradation of novel, environmentally benign ionic liquids (1-alkoxymethyl-3-hydroxypyridinium chloride, saccharinate and acesulfamates) on cellular and molecular level. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **71**, 157–165 (2008).
 219. Stolte, S. *et al.* Effects of different head groups and functionalised side chains on the aquatic toxicity

- of ionic liquids. *Green Chem.* **9**, 1170–1179 (2007).
220. Peric, B., Sierra, J., Martí, E., Cruañas, R. & Garau, M. A. Quantitative structure-activity relationship (QSAR) prediction of (eco)toxicity of short aliphatic protic ionic liquids. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **115**, 257–262 (2015).
221. 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).
222. Malhotra, S. V. & Kumar, V. A profile of the in vitro anti-tumor activity of imidazolium-based ionic liquids. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **20**, 581–585 (2010).
223. Gamini, G. Sal de amonio cuaternario - Chemistry LibreTexts. https://chem.libretexts.org/Ancillary_Materials/Reference/Organic_Chemistry_Glossary/Quaternary_Ammonium_Salt.
224. Weston, C. W., Papcun, J. R. & Dery, M. Ammonium Compounds. *Kirk-Othmer Encycl. Chem. Technol.* (2003) doi:10.1002/0471238961.0113131523051920.A01.PUB2.
225. Lonza, L. *Antimicrobial Active Ingredients for Use in Global Disinfectant Formulation*. https://microbialmanagement.arxada.com/-/media/CoCo/hygiene/Antimicrobial_Actives_For_Global_Use_TDS.pdf (2017).
226. Trimethyloctylammonium chloride $\geq 97.0\%$ (AT) | 10108-86-8. https://www.sigmaaldrich.com/CO/es/product/aldrich/75094?gclid=Cj0KCQjw-NaJBhDsARIsAAja6dO5YHjj-D9GDCM_NDMYwBO8WgwQHob6JlzxZieo9UKIYR4j8DrC3jMaAqBcEALw_wcB.
227. Bureš, F. Quaternary Ammonium Compounds: Simple in Structure, Complex in Application. *Top. Curr. Chem.* **377**, 1–21 (2019).
228. Fletcher, J. H., Dermer, O. C. & Fox, R. B. *Nomenclature of Organic Compounds*. vol. 126 (AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, 1974).
229. Gerba, C. P. Quaternary ammonium biocides: Efficacy in application. *Applied and Environmental Microbiology* vol. 81 464–469 (2015).
230. RE Dixon, R. K. D. M. Aqueous quaternary ammonium antiseptics and disinfectants: use and misuse. *JJ Am Med Assoc* **236**, 2415–2417 (1976).
231. P Zhu, G. S. Antimicrobial finishing of wool fabrics using quaternary ammonium salts. *J Appl Polym Sci* **93**, 1037–1041 (2004).
232. Li, Q., Li, Q., Tan, W., Zhang, J. & Guo, Z. Phenolic-containing chitosan quaternary ammonium derivatives and their significantly enhanced antioxidant and antitumor properties. *Carbohydr. Res.* **498**, 108169 (2020).
233. Maldonado Garcia, H. J., Guzmán Lezama, E. G., Márquez Cabezas, S., Tupayachi, A. & Joaquina, A. Estudio De Saponinas Esteroidales De Especies Peruanas Del Género Dioscorea. *Rev. la Soc. Química del Perú* **78**, 208–218 (2012).
234. Skrzypczak, N. *et al.* Anticancer activity and toxicity of new quaternary ammonium geldanamycin derivative salts and their mixtures with potentiators. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **36**, 1898–1904

- (2021).
235. Carvajal, C. Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. *Med. Leg. Costa Rica* **36**, 91–100 (2019).
 236. Schmidt, H. H. H. W. *et al.* Antioxidants in Translational Medicine. *Antioxidants Redox Signal.* **23**, 1130–1143 (2015).
 237. Di Meo, S., Reed, T. T., Venditti, P. & Victor, V. M. Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2016**, 1245049 (2016).
 238. Ortuño-Sahagún, D., Pallàs, M. & Rojas-Mayorquín, A. E. Oxidative Stress in Aging: Advances in Proteomic Approaches. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2014**, 573208 (2014).
 239. Navarro-Yepes, J. *et al.* Oxidative Stress, Redox Signaling, and Autophagy: Cell Death Versus Survival. *Antioxidants & Redox Signal.* **21**, 66–85 (2014).
 240. Xia, X. *et al.* Synthesis of diosgenyl quaternary ammonium derivatives and their antitumor activity. *Steroids* **166**, 108774 (2021).
 241. Sethi, G. *et al.* Pro-Apoptotic and Anti-Cancer Properties of Diosgenin: A Comprehensive and Critical Review. *Nutrients* **10**, (2018).
 242. Wang, S.-L. *et al.* Diosgenin-3-O- α -l-Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -d-glucopyranoside obtained as a new anticancer agent from *Dioscorea futschauensis* induces apoptosis on human colon carcinoma HCT-15 cells via mitochondria-controlled apoptotic pathway. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **6**, 115–125 (2004).
 243. López-Muñoz, M. *et al.* Novel fluorinated quaternary ammonium salts and their in vitro activity as trypanocidal agents. *Med. Chem. Res.* **28**, 300–319 (2019).
 244. Jorge, P. M. & Alejandro, E. Apoptosis, mecanismo de acción. *Rev. ciencias médicas La Habana (En línea)* **18**, (2012).
 245. Wikinski, W. De *et al.* Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica - INFIBIOC de la Universidad de Buenos Aires. *Acta bioquímica clínica Latinoam.* **44**, 385–433 (2010).
 246. Reap, E. A. *et al.* bcl-2 transgenic Lpr mice show profound enhancement of lymphadenopathy. *J. Immunol.* **155**, 5455–5462 (1995).
 247. Tartas, N. E., Foncuberta, M. C. & Sanchez Avalos, J. C. Tratamiento de las neoplasias hematológicas en el embarazo. *Medicina (B. Aires).* **67**, 729–736 (2007).
 248. Muñoz Cendales, D. R. & Cuca Suárez, L. E. Compuestos citotóxicos de origen vegetal y su relación con proteínas inhibidoras de apoptosis (IAP). *Rev. Colomb. Cancerol.* **20**, 124–134 (2016).
 249. Yin, H. *et al.* Diosgenin Derivatives as Potential Antitumor Agents: Synthesis, Cytotoxicity, and Mechanism of Action. *J. Nat. Prod.* **84**, 616–629 (2021).
 250. Dziegielewska, B., Brautigan, D. L., Lerner, J. M. & Dziegielewski, J. T-Type Ca²⁺ Channel Inhibition Induces p53-Dependent Cell Growth Arrest and Apoptosis through Activation of p38-MAPK in Colon Cancer Cells. *Mol. Cancer Res.* **12**, 348–358 (2014).
 251. Jin, X. *et al.* The p38 MAPK inhibitor BIRB796 enhances the antitumor effects of VX680 in cervical cancer. *Cancer Biol. Ther.* **17**, 566–576 (2016).
 252. Hsieh, S.-C. *et al.* α -Mangostin induces mitochondrial dependent apoptosis in human hepatoma SK-

- Hep-1 cells through inhibition of p38 MAPK pathway. *Apoptosis* **18**, 1548–1560 (2013).
253. Koul, H. K., Pal, M. & Koul, S. Role of p38 MAP Kinase Signal Transduction in Solid Tumors. *Genes Cancer* **4**, 342–359 (2013).
 254. Liu, H., He, J. & Yang, J. Tumor cell p38 MAPK: A trigger of cancer bone osteolysis. *Cancer cell Microenviron.* **2**, (2015).
 255. Kim, H.-G., Shi, C., Bode, A. M. & Dong, Z. p38 α MAPK is required for arsenic-induced cell transformation. *Mol. Carcinog.* **55**, 910–917 (2016).
 256. Plotnikov, A., Zehorai, E., Procaccia, S. & Seger, R. The MAPK cascades: signaling components, nuclear roles and mechanisms of nuclear translocation. *Biochim. Biophys. Acta* **1813**, 1619–1633 (2011).
 257. Tsuchiya, T. *et al.* Apoptosis induction by p38 MAPK inhibitor in human colon cancer cells. *Hepatology* **55**, 930–935 (2008).
 258. Fu, Y., O'Connor, L. M., Shepherd, T. G. & Nachtigal, M. W. The p38 MAPK inhibitor, PD169316, inhibits transforming growth factor beta-induced Smad signaling in human ovarian cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **310**, 391–397 (2003).
 259. Furukawa, T. Impacts of activation of the mitogen-activated protein kinase pathway in pancreatic cancer. *Front. Oncol.* **5**, 23 (2015).
 260. Dolado, I. *et al.* p38 α MAP kinase as a sensor of reactive oxygen species in tumorigenesis. *Cancer Cell* **11**, 191–205 (2007).
 261. Porras, A. & Guerrero, C. Role of p38 α in apoptosis: implication in cancer development and therapy. *Atlas Genet. Cytogenet. Oncol. Haematol.* (2011) doi:10.4267/2042/44993.
 262. Universidad de Salamanca. La Hsp90: una Chaperona molecular especializada. vol. 11 18477 <http://proteinasestructurafuncion.usal.es/moleculas/hsp90/index.html> (2011).
 263. Ortiz, L. Participación de la proteína de choque térmico 90 en la infección por el calicivirus felino. (Centro de investigaciones y de estudios avanzados del instituto politécnico nacional, 2015).
 264. Ahmed, T. A. & Aljaeid, B. M. Preparation, characterization, and potential application of chitosan, chitosan derivatives, and chitosan metal nanoparticles in pharmaceutical drug delivery. *Drug Des. Devel. Ther.* **10**, 483–507 (2016).
 265. Fabiano, A., Beconcini, D., Migone, C., Piras, A. M. & Zambito, Y. Quaternary Ammonium Chitosans: The Importance of the Positive Fixed Charge of the Drug Delivery Systems. *Int. J. Mol. Sci.* **21**, (2020).
 266. Li, Q., Tan, W., Zhang, C., Gu, G. & Guo, Z. Synthesis of water soluble chitosan derivatives with halogeno-1,2,3-triazole and their antifungal activity. *Int. J. Biol. Macromol.* **91**, 623–629 (2016).
 267. Jesus, M., Martins, A., Gallardo, E. & Silvestre, S. Diosgenin: Recent Highlights on Pharmacology and Analytical Methodology. *J. Anal. Methods Chem.* **2016**, (2016).
 268. Mendoza-lara, D. F., Berenice, G., Vela, S. & Chama-Martinez, yair E. El potencial de la diosgenina en el área médica. *Rev. RD-icup* **6**, 50–62 (2020).
 269. Porras, A. & Marzo, I. Apoptosis: una forma controlada de muerte celular. *SEBBM Divulg.* 1–3 (2010).
 270. Deboer, C., Meulman, P. A., Wnuk, R. J. & Peterson, D. H. Geldanamycin, a new antibiotic. *J. Antibiot.*

- (Tokyo). **23**, 442–447 (1970).
271. Huryn, D. M. & Wipf, P. Chapter 3 - Natural Product Chemistry and Cancer Drug Discovery. in (ed. Neidle, S. B. T.-C. D. D. and D. (Second E.) 91–120 (Academic Press, 2014). doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396521-9.00003-6>.
272. Grenert, J. P. *et al.* The Amino-terminal Domain of Heat Shock Protein 90 (hsp90) That Binds Geldanamycin Is an ATP/ADP Switch Domain That Regulates hsp90 Conformation*. *J. Biol. Chem.* **272**, 23843–23850 (1997).
273. Stebbins, C. E. *et al.* Crystal Structure of an Hsp90–Geldanamycin Complex: Targeting of a Protein Chaperone by an Antitumor Agent. *Cell* **89**, 239–250 (1997).
274. Duerfeldt, A. S. & Blagg, B. S. J. Hsp90 inhibition: Elimination of shock and stress. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **20**, 4983–4987 (2010).
275. Taldone, T., Sun, W. & Chiosis, G. Discovery and development of heat shock protein 90 inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **17**, 2225–2235 (2009).
276. Sharp, S., Jones, K. & Workman, P. Chapter 9 - Exploiting Cancer Dependence on Molecular Chaperones: HSP90 Inhibitors Past, Present, and Future. in *Cancer Drug Design and Discovery (Second Edition)* (ed. Neidle, S.) 239–274 (Academic Press, 2014). doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396521-9.00009-7>.
277. Mira, M., Monsalve, Á., Revuelta, D. & San jose, Ó. La Hsp90: una Chaperona molecular especializada. <http://proteinasestructurafuncion.usal.es/moleculas/hsp90/index.html>.
278. Gonzalez-Pastor, R. *et al.* Coating an adenovirus with functionalized gold nanoparticles favors uptake, intracellular trafficking and anti-cancer therapeutic efficacy. *Acta Biomater.* (2021) doi:<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2021.07.047>.