Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Unidad de Posgrado

Síntesis de ácidos hidroxámicos derivados del núcleo del ácido 6-aminopenicilanico y determinación de su actividad antimicrobiana

TESIS

Para optar el Grado Académico de Doctor en Farmacia y Bioquímica

AUTOR

Luis Miguel Visitación FÉLIX VELIZ

ASESOR

Gerardo GAMARRA BALLENA

Lima, Perú

2017



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Félix L. Síntesis de ácidos hidroxámicos derivados del núcleo del ácido 6aminopenicilanico y determinación de su actividad antimicrobiana [Tesis de doctorado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Unidad de Posgrado; 2017.

1511

11(P)
68

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
UNIDAD DE POSGRADO

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE DOCTOR EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Siendo las **08:00 hrs. del 28 de junio de 2017**, se reunieron en el auditorio de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Jurado Examinador y Calificador de tesis, presidido por el Dr. Pablo Enrique Bonilla Rivera e integrado por los siguientes miembros: Dr. Gerardo Gamarra Ballena (Asesor), Dr. Américo Jorge Castro Luna, Dr. Víctor Luis Izaguirre Pasquel, y la Dra. María Elena Salazar Salvatierra; para la sustentación oral y pública de la tesis intitulada: **"SÍNTESIS DE ÁCIDOS HIDROXÁMICOS DERIVADOS DEL NÚCLEO DEL ÁCIDO 6-AMINOPENICILÁNICO Y DETERMINACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA"**, presentado por el Magíster en Recursos Vegetales y Terapéuticos **LUIS MIGUEL VISITACIÓN FÉLIX VELIZ.**

Acto seguido se procedió a la exposición de la tesis, con el fin de optar al Grado Académico de **Doctor en Farmacia y Bioquímica**. Formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por el graduando.

A continuación el Jurado Examinador y Calificador de tesis procedió a la calificación, la que dio como resultado el siguiente calificativo:

MUY BUENO 17

Luego, el Presidente del Jurado recomienda que la Facultad proponga que se le otorgue al Magíster en Recursos Vegetales y Terapéuticos **LUIS MIGUEL VISITACIÓN FÉLIX VELIZ**, el Grado Académico de Doctor en **Farmacia y Bioquímica.**

Siendo las ..... hrs. se levanta la sesión.

Se extiende el acta en Lima, a las ..... hrs. del 28 de junio de 2017.

Dr. Pablo Enrique Bonilla Rivera (P.P., T.C.)
Presidente

Dr. Gerardo Gamarra Ballena (P.P. T.C.)
Miembro - Asesor

Dr. Américo Jorge Castro Luna (P.P. D.E.)
Miembro

Dr. Víctor Luis Izaguirre Pasquel (P.P. T.P.)
Miembro

Dra. María Elena Salazar Salvatierra (P.P. T.C.)
Miembro

Observaciones:
.....

DEDICATORIAS.

*A la memoria de mi mamá **Lidia Andrea "NINA"** quien siempre me alentó en el estudio y la superación y desde el cielo siempre me da su protección y ayuda.*

*A mi esposa **Isabel** y mis hijas **Rosa Andrea y Cristina** por ser mi inspiración en la superación, por su apoyo constante, aliento y comprensión en los momentos más difíciles.*

*A mis hermanos **Mariela y Gabriel**, por su apoyo y aliento a seguir adelante.*

A mis amigos y colegas de los laboratorios de Química Orgánica y Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM gracias por su aliento, apoyo y colaboración:

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. ***Gerardo Gamarra Ballena****, por brindarme la oportunidad de desarrollar el presente trabajo de investigación.*

Al ***Dr. Enrique León Soria***
Amigo y asesor, quien me brindo su ayuda espiritual y académica y desarrollarme en el apasionante mundo de la Química Orgánica.

A los jurados informantes de la tesis
Dr. Pablo Enrique Bonilla Rivera
Dra. María Elena Salazar Salvatierra
Dr. Gerardo Gamarra Ballena
Por sus importantes aportes y sugerencias

A los miembros de los Jurados Examinador y Calificador
Dr. Pablo Enrique Bonilla Rivera
Dra. María Elena Salazar Salvatierra
Dr. Américo Castro Luna
Dr Víctor Luis Izaguirre Pasquel
Dr. Gerardo Gamarra Ballena

A las personas amigas que directa o indirectamente contribuyeron a la realización de éste trabajo de investigación.

ÍNDICE GENERAL

Pág.

RESUMEN . SUMMARY

CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1 Situación problemática 2

1.2 Formulación del problema 3

1.3 Justificación de la investigación 3

1.4 Objetivos de la investigación 4

1.4.1 Objetivo general 4

1.4.2 Objetivos específicos 4

CAPITULO 2: MARCO TEÓRICO

2.1 Marco Filosófico o epistemológico de la investigación 5

2.2 Antecedentes de investigación 6

2.3 Bases Teóricas 14

2.3.1 Propiedades generales de los ácidos hidroxámicos 15

CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA

3.1 Tipo de estudio 28

3.2 Lugar de ejecución 28

3.3 Recolección de la muestra 28

3.4 Obtención del ácido hidroxámico de ampicilina 28

3.4.1 Obtención del haluro de acilo y éster de la ampicilina 28

3.4.2 Obtención del ácido hidroxámico 28

3.4.3 Identificación del ácido hidroxámico. 29

3.5 Obtención del ácido hidroxámico de amoxicilina. 29

3.5.1 Obtención del haluro de acilo y éster de la amoxicilina 29

3.5.2 Obtención del ácido hidroxámico. 29

3.5.3 Identificación del ácido hidroxámico. 30

3.6 Obtención del ácido hidroxámico de dicloxacilina. 30

3.6.1 Obtención del haluro de acilo y éster de la dicloxacilina 30
3.6.2 Obtención del ácido hidroxámico. 30
3.6.3 Identificación del ácido hidroxámico. 30
3.7 Obtención del ácido hidroxámico de oxacilina. 30
3.7.1 Obtención del haluro de acilo y éster de la ampicilina 31
3.7.2 Obtención del ácido hidroxámico. 31
3.7.3 Identificación de ácido hidroxámico. 31
3.8 Prueba de sensibilidad microbiana 31

CAPITULO 4: RESULTADOS Y DISCUSÓN

4.1 Síntesis e identificación de ácidos hidroxámicos 33
4.1.1 Síntesis e identificación del ácido hidroxámico de la ampicilina. 33
4.1.2 Síntesis e identificación del ácido hidroxámico de la amoxicilina 37
4.1.3 Síntesis e identificación del ácido hidroxámico de la dicloxacilina 42
4.1.4 Síntesis e identificación del ácido hidroxámico de la oxacilina 47
4.2 Evaluación de la actividad antimicrobiana 55

CONCLUSIONES 58
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 59

LISTA DE FIGURAS

Pág.

Figura 1. Representación de las estructuras químicas de los ácidos hidroxámicos. 1: ácido acetohidroxámico, 2: ácidos benzohidroxámicos (BHA), 3: ácido propionohidroxámico, 4: ácido suberoilanilide hidroxámico (SAHA). 10
Figura 2. Representación de la estructura química de otro tipo de ácido hidroxámico de la cefalosporina en la posición 7. 11
Figura 3. Representación de las estructuras químicas de los ácidos hidroxámicos derivados del 2-hidroxi-(2H)-1,4-benzoazin-3-ona (HBOA). 12
Figura 4. Representación de la estructura química del ácido cinámico hidroxámicos y del ácido benzo [b] tiofen-2-hidroxámico. 13
Figura 5. Representación de la estructura química de ácido hidroxámico ST8086AA1 activo frente al *Plasmodium falciparum*. 14
Figura 6. Clasificación de los ácidos hidroxámicos: (I) acido primario (II) ácido secundario. 16
Figura 7. Representación de la Isomerización Z- E de los ácidos hidroxámicos 16
Figura 8. Enlaces de hidrogeno intermoleculares generados en los ácidos hidroxámicos en la conformación Z 16
Figura 9. Enlaces de hidrógeno intramoleculares generados en los ácidos hidroxámicos en la conformación Z 16
Figura 10. Ion metálico (M^{n+}) { O,O } coordinación generado por un ácido hidroxámico. 17
Figura 11. Ion metálico (M^{n+}) {N,O} coordinación generado por un ácido aminohidroxámico 17
Figura 12. Representaciones de las estructuras químicas de los derivados de los ácidos carboxílicos 18
Figura 13. Representación de las reacciones químicas de los derivados funcionales de los ácidos carboxílicos en la síntesis de los ácidos hidroxámicos. 19
Figura 14. Síntesis de los derivados 7a-b del ácido imidazol hidroxámico 20
Figura 15. Síntesis de los derivados del ácido tiazol hidroxámico 20
Figura 16. Síntesis de los derivados del ácido amina hidroxámico 21
Figura 17. Síntesis de un derivado del ácido indazol hidroxámico 21
Figura 18. Síntesis del derivado del ácido pirazol hidroxámico 22
Figura 19. Síntesis del ácido hidroxámico del ciclopropopano sustituido compuesto 14. 23
Figura 20. Procedimiento en la obtención del compuesto 5a-o 24

Figura 21. Procedimiento en la obtención del compuesto 11a-j 25

Figura 22. Síntesis del hidrogel de ácido hidroxámico polimérico, a partir de poli (2-hidroxietil) acrilato como un polímero precursor. 26

Figura 23. Espectroscopia IR del éster metílico de la ampicilina 34

Figura 24. Espectroscopia IR del ácido hidroxámico de la ampicilina 36

Figura 25. Espectroscopia IR para determinar el coeficiente de correlación 37

Figura 26. Espectroscopia IR del éster metílico de la amoxicilina 39

Figura 27. Espectroscopia IR del ácido hidroxámico de la amoxicilina 41

Figura 28. Espectroscopia IR para determinar el coeficiente de correlación 42

Figura 29. Espectroscopia IR del éster metílico de la dicloxacilina 44

Figura 30. Espectroscopia IR del ácido hidroxámico de la dicloxacilina 46

Figura 31. Espectroscopia IR para determinar el coeficiente de correlación 47

Figura 32. Espectroscopia IR del éster metílico de la oxacilina 49

Figura 33. Espectroscopia IR del ácido hidroxámico de la oxacilina 51

Figura 34. Espectroscopia IR para determinar el coeficiente de correlación 52

Figura 35. Prueba de la actividad antimicrobiana de los ácidos hidroxámicos frente al *E. coli.* 56

Figura 36. Prueba de la actividad antimicrobiana de los ácidos hidroxámicos frente al *Staphylococcus epidermidis.* 56

Figura 37. Prueba de la actividad antimicrobiana de los ácidos hidroxámicos frente al *Micrococcus luteus* 57

LISTA DE TABLAS

Tabla N° 1. Comparación de los valores de absorción de espectros IR 54
Tabla N° 2. Resultados de la actividad antimicrobiana de los ácidos hidroxámicos 55
Tabla N° 3. Resultados de los perfiles de sensibilidad antimicrobiana 55

RESUMEN

Los ácidos hidroxámicos, algunos de origen natural y otros sintéticos, generalmente presentan toxicidades bajas y son de interés para muchas aplicaciones terapéuticas. A lo largo de los años, ha habido un creciente interés en sus funciones como potentes inhibidores de enzimas. También han sido reportados como agentes quimioterapéuticos y un gran número de sus derivados son usados en el tratamiento de cáncer, enfermedades cardiovasculares, hipertensión, tuberculosis, así mismo, se ha demostrado que actúan sobre los insectos, hongos y bacterias. El objetivo del presente trabajo fue sintetizar cuatro ácidos hidroxámicos del núcleo del ácido 6-aminopenicilánico (6-APA) y determinar su actividad antimicrobiana. Los ácidos hidroxámicos derivados del núcleo 6-APA fueron: ampicilina, amoxicilina, dicloxacilina y oxacilina, los que fueron preparados haciéndolos reaccionar con el cloruro de tionilo, seguida de una esterificación con metanol y al producto resultante se le añadió una solución de clorhidrato de hidroxilamina, obteniéndose los ácidos hidroxámicos correspondientes. Las estructuras químicas de los ácidos hidroxámicos derivados de la amoxicilina, ampicilina, dicloxacilina y oxacilina se identificaron por reacciones químicas de coloración, punto de fusión y espectroscópica IR. Luego se determinó su actividad antimicrobiana, cuyos resultados mostraron que los ácidos hidroxámicos derivados de la oxacilina y ampicilina tienen actividad relevante frente al *E. coli*, los otros dos no tuvieron actividad relevante. El conocimiento de estos compuestos es valioso en el campo de la toxicología, farmacología y ciencias ambientales.

Palabras claves: Ácido hidroxámico, ampicilina, amoxicilina, dicloxacilina, oxacilina, actividad antimicrobiana.

SUMMARY

Hydroxamic acids, some of natural origin and others synthetic, generally present low toxicities and are of interest for many therapeutic applications. Over the years, there has been growing interest in their functions as powerful enzyme inhibitors. They have also been reported as chemotherapeutic agents and a large number of their derivatives are used in the treatment of cancer, cardiovascular diseases, hypertension, tuberculosis, likewise, they have been shown to act on insects, fungi and bacteria. The objective of the present work was to synthesize four hydroxamic acids of the 6-aminopenicillanic acid core (6-APA) and determine its antimicrobial activity. The hydroxamic acids derived from the 6-APA nucleus were: ampicillin, amoxicillin, dicloxacillin and oxacillin, which were prepared by reacting them with thionyl chloride, followed by an esterification with methanol and a solution of hydroxylamine hydrochloride was added to the resulting product. obtaining the corresponding hydroxamic acids. The chemical structures of the hydroxamic acids derived from amoxicillin, ampicillin, dicloxacillin and oxacillin were identified by chemical reactions of color, melting point and IR spectroscopy. Then its antimicrobial activity was determined, whose results showed that the hydroxamic acids derived from oxacillin and ampicillin have relevant activity against E. coli, the other two had no relevant activity. The knowledge of these compounds is valuable in the field of toxicology, pharmacology and environmental sciences.

Key words: Hydroxamic acid, ampicillin, amoxicillin, dicloxacillin, oxacillin, antimicrobial activity.

CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN

Los productos naturales son una rica fuente de compuestos para el descubrimiento de fármacos y muchos de estos fármacos derivados de productos naturales son utilizados contra el cáncer como el paclitaxel y la vincaleucoblastina, estos compuestos han sido motivo de ser sintetizados porque han mostrado una variedad de actividades farmacológicas, particularmente efectos antitumorales.

Los ácidos hidroxámicos, un grupo de ácidos orgánicos débiles naturales y sintéticos, de fórmula general RC(C=O) NHOH, están muy extendidos en los tejidos de las plantas, en los metabolitos de bacterias y hongos, incluidos los compuestos complejos. Los ácidos hidroxámicos y sus derivados cumplen una variedad de papeles importantes en biología y medicina; se realizó una revisión breve comprensiva de la síntesis química y la actividad farmacológica de diferentes moléculas de ácidos hidroxámicos.

El objetivo de esta tesis se centra en la síntesis de cuatro ácidos hidroxámicos derivados del ácido 6-aminopenicilánico (6-APA), para ello se propuso un método de síntesis de esta clase de reacciones complejas, es decir, la manera detallada en la que se proceden a obtener estos compuestos, con énfasis en el número y la naturaleza de los pasos involucrados, en la representación de cada reacción intermedia. Además, se realizó una determinación inicial de la actividad antimicrobiana de estos derivados.

En particular, la investigación se centró en la versatilidad de los métodos de síntesis de ácidos hidroxámicos. Por lo tanto, este estudio parte del análisis de las diferentes formas de sintetizar nuevos ácidos hidroxámicos, de todas estas formas se ha llegado a implementar un método de síntesis para la obtención del ácido hidroxámico de la amoxicilina, ampicilina, dicloxacilina y oxacilina; terminando finalmente con el examen microbiológico para determinar su actividad antibacteriana.

1.1 Situación problemática

La historia del medicamento se remonta a los orígenes de la sociedad humana. Desde los primeros tiempos el hombre ha acudido a la naturaleza para obtener sustancias que le ayuden a paliar su dolor, los síntomas de sus enfermedades o bien le faciliten la obtención del alimento (veneno para la caza), sus relaciones sociales y religiosas (estimulantes y alucinógenos) etc. Esta circunstancia ha permitido disponer de una amplia información, que, sometida a la observación ha dado lugar al planteamiento de ideas que, debidamente desarrolladas, han llevado a la obtención de nuevos medicamentos.

La semisíntesis química puede mejorar lo que la naturaleza suministra. El creciente conocimiento y control de la reactividad química ofrece nuevas vías de reacción en química sintética que, con seguridad conducirán a nuevos procesos y a nuevas moléculas, aun con mejores propiedades biológicas y químicas

Los ácidos hidroxámicos son de interés químico y biológico debido a sus propiedades como quelantes de iones metálicos, inhibidores de enzimas, de aplicaciones médicas y biológicas.

En las últimas décadas se ha hecho un progreso constante en el desarrollo de métodos eficientes para la síntesis de los ácidos hidroxámicos, convirtiéndose en una clase importante de moléculas con una variedad de propiedades farmacológicas.

Teniendo en cuenta estos trabajos de investigación reportados, la presente tesis propone sintetizar ácidos hidroxámicos derivados del 6-APA y determinar su actividad antibacteriana, con la finalidad de aportar técnicas para la obtención de nuevos medicamentos.

1.2 Formulación del problema

Por lo mencionado, es necesario realizar trabajos de investigación en la semisíntesis de derivados de ácidos hidroxámicos y determinar su actividad antimicrobiana.

Por ello se formula la siguiente pregunta:

¿Los ácidos hidroxámicos sintetizados derivados del ácido 6-aminopenicilánico (6-APA) tendrán actividad antimicrobiana?

1.3 Justificación de la investigación

El tratamiento de las infecciones bacterianas está basado generalmente en sustancias que inhiben el crecimiento bacteriano o matan a la bacteria. El problema que surge es que estas bacterias van desarrollando mecanismos de resistencia, en algunos casos forman capas o biopelículas que las protege del efecto de los antibióticos.

Las síntesis o semisíntesis de los ácidos hidroxámicos están dirigidas al desarrollo de nuevas sustancias que tengan actividad antimicrobiana.

El obtener estos ácidos hidroxámicos permitirá la existencia de nuevas estructuras químicas con posibles valores terapéuticos y ser sintetizadas a gran escala para industrializarlas y transformarlas en una forma farmacéutica.

1.4 Objetivos de la investigación

1.4.1 *Objetivo general:*

Sintetizar cuatro ácidos hidroxámicos del núcleo del ácido 6-aminopenicilánico (6-APA) y determinar su actividad antimicrobiana.

1.4.2 *Objetivo específicos*:

1. Seleccionar cuatro compuestos del núcleo del ácido 6-aminopenicilánico (6-APA) y realizar la síntesis del ácido hidroxámico correspondiente.

2. Identificar los ácidos hidroxámicos sintetizados por métodos químicos, cromatográficos y espectroscópicos.

3. Determinar la actividad antimicrobiana de los ácidos hidroxámicos sintetizados.

CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO

2.1 Marco filosófico o epistemológico de la investigación

A través de los siglos, el hombre ha desarrollado una gama inmensa de conocimientos de sí mismo y de su mundo circundante, como fruto de su experiencia en el transcurso de su vida cotidiana. Cada vez con mayor frecuencia la investigación fundamental, teórica o experimental se sitúa delante de la secuencia descrita. (Amiel, 2014)

El análisis profundo del proceso histórico-epistemológico de las ciencias, ofrece perspectivas reflexivas acerca del sentido que tienen supuestos, que desde la ciencia se nos muestran como contenidos, pero que originalmente a través del tiempo han estado expuesto a un exhaustivo proceso de análisis, y que además demandan la completa aprobación del contexto en que se desarrolla. Se considera simultáneamente el poder de los distintos saberes y posturas que aporta cada científico en la construcción de un modelo teórico, así como la dimensión de los factores que debe contemplar para este, dada la transcendencia conceptual de las teorías. En este orden son por ejemplo posturas como las de Kuhn, la evolución científica se recrea en medio de acontecimiento revolucionarios, y el proceso investigativo que se dio para propiciar el reemplazo del modelo teórico dualista (sustentado en los modelos teóricos del oxígeno y del atomismo) por el modelo teórico unitario (que da continuidad a la constitución de la química del carbono a nivel estructural) es un hecho que lo demuestra, ya que en vista de los nuevos requerimientos de la comunidad científica en aquel momento, gana peso la falta de claridad de los conceptos y la incapacidad del paradigma dual para dar cuenta de los resultados experimentales arrojados por el entorno científico de aquel entonces (Kuhn, 1961), las que nos permiten identificar el lugar teórico y conceptual; en términos del constructivismo, que ocupan avances como los proporcionados por las teorías dual y unitaria, considerando en estos las múltiples concepciones de “materia” que se podría adoptar a partir de sus postulados. (Aguilera y Garay, 2014).

Frente al problema de cuáles son los modelos que han denominado en el desarrollo de la química, se recomienda se acuda a una reconstrucción histórica, incluso para hacer una diferenciación entre física y química, algunos

interesados decidieron retomar la categoría de modelo científico y su taxonomía. Esta taxonomía, ha de ser asumida como una idealización, ya que esas reconstrucciones históricas han demostrado que no hay modelos científicos puros, aun cuando predomine uno de ellos. (Gallego, Pérez y Gallego, 2009)

Hablar de progreso en función de los avances logrados con el conocimiento científico es una intención que nos evoca al contexto preciso en que fueron posibles cada uno de los logros obtenidos, desde el concepto de "materia" en química, los conceptos de peso atómico, peso equivalente, peso molecular, la identificación del fenómeno de isomerísmo. Los aportes de Laurent significaron para la química en general y la química orgánica en particular, un cambio representativo en la óptica de las comunidades e investigaciones científicas de la época, ya que pasaría hacer la "molécula" el objeto de estudio o estructura central de análisis. (Aguilera y Garay, 2014).

Durante el siglo XIX, finales del siglo XX y comienzo del siglo XXI, una larga lista de investigadores, sentó las bases que llevarían al desarrollo posterior de la química, una ciencia de importancia fundamental en muchos campos del conocimiento, como la física, biología, medicina, la ciencia de los materiales, la geología o la astronomía entre otros (Gallego, Pérez y Gallego, 2009). Se la considera una de las ciencias que más ha contribuido al desarrollo de la civilización. Actualmente, la química se desarrolla como ciencia empírica, es decir, que estudia las cosas por medio del método científico, mediante la observación, la cuantificación y especialmente la experimentación.

2.2 Antecedentes de la investigación

El gran impulso proporcionado por las técnicas espectroscópicas ha permitido durante los últimos años, el desarrollo constante de nuevos métodos síntesis, incrementándose de forma exponencial la cantidad de información que un químico orgánico debe manejar para planificar la síntesis de una molécula.

Fazari et al. (2001) publica un artículo "El rol de los ácidos hidroxámicos en los procesos bioquímicos" manifiesta que la química y bioquímica de los ácidos hidroxámicos y sus derivados han atraído la atención por sus propiedades farmacológicas, toxicológicas y patológicas. Los ácidos

hidroxámicos tienen generalmente baja toxicidad y tienen un amplio espectro de actividades en todos los tipos de sistemas biológicos, y como tal actúan diversamente como factores de crecimiento, aditivos alimentarios, inhibidores de tumores, agentes antimicrobianos, antituberculosos, antileucémicos, farmacóforo clave en muchos agentes quimioterapéuticos, pigmentos y factores de división celular. Varios ya han sido probados como fármacos en ensayos clínicos humanos, en el tratamiento de varias enfermedades. Haciendo una breve descripción del papel de las moléculas de hidroxamato que se usan ampliamente en biología y se tiene:

1) Ácidos hidroxámicos actividad anticancerosa y efecto de inhibición: Se ha sugerido que la reactividad de los ácidos hidroxámicos hacia los grupos sulfhidrilos de las proteínas es la razón de su efecto inhibidor sobre diversas enzimas. La proteasa papaína, por ejemplo, con un único residuo de cisteína libre, situado en el sitio activo fue inhibida irreversiblemente por el DIMBOA (2,4-dihidroxi-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona). Friebe et al. (1997) mostraron un efecto inhibidor de DIBOA (2,4-dihidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona) y DIMBOA en las membranas plasmáticas H+ -ATPasa de las raíces *A. sativa* y *Avena fatua*. Las metaloproteinasas de la matriz (MMP) son una familia dependiente de zinc que se requiere para la degradación de la matriz extracelular y la remodelación del tejido. Los ácidos hidroxámicos forman quelatos con los átomos de zinc y níquel en el sitio activo de la enzima, considerado como una importante función, inhibidor de la metaloproteinasa (Sawa,2002), metaloproteinasa matricial (Groneberg,1999; Aranapakam,2003), son también potentes inhibidores de la actividad ureasa (Parker,1999; Toba, 1999). Se han estudiado propiedades anticancerígenas de algunos ácidos hidroxámicos alifáticos y aromáticos (tales como el ácido acetohidroxámico, ácido benzohidroxámico y ácido salicilhidoxámico (Bruce, 1970; Moore, 1969). Se ha publicado un estudio comparando las actividades antineoplásicas y los efectos tóxicos del ácido clorohidroxámico, ácido acetohidroxámico, ácido benzohidroxámico y ácido salicilhidoxámico e hidroxiurea (Sur, 1997). Se ha reportado que

el ácido benzohidroxámico tiene una significativa actividad antitumoral (Elford, 1979) sus complejos con iones metálicos de cobre (Cu-ácido benzohidroxámico) se usa como un potencial fármaco antitumoral (Khanam, 1997). La alelopatía, interacción química de las plantas de la misma especie o de diferentes especies, muchos informes le han atribuido a los ácidos hidroxámicos estas interacciones, se ha demostrado que el DIBOA tiene efecto inhibitorio sobre el crecimiento de las raíces del, berro (*Lepidium sativum*) y del pastizal (*Echinochloa crusgalli*) (Klun, 1970)

2) Actividad resistente de los ácidos hidroxámicos hacia los insectos: Se ha demostrado que los ácidos hidroxámicos tienen un impacto negativo en la supervivencia y reproducción de áfidos. Argandoña et al, 1980, encontraron correlaciones inversas entre el contenido de ácido hidroxámico en diferentes variedades de centeno y trigo y la tasa de crecimiento del áfido *Metopolopium dirhodum*. Cuando las plantas crecen y los niveles de ácido hidroxámico disminuyen, la tasa de crecimiento de las poblaciones de áfidos aumenta. También se han observado correlaciones en el maíz entre los altos niveles de ácido hidroxámico y la resistencia al barrenador europeo *Ostrinia nubilais* (Klun, Robinson, 1969; Klun et al, 1970).
3) Actividad antifúngica de los ácidos hidroxámicos: Wahlroos y Virtanen, 1959, informaron sobre el efecto antifúngico de los ácidos hidroxámicos y sus productos de descomposición en el moho de la nieve (*Fusarium nivale*). Los hongos cultivados en medio que contenía DIMBOA, MBOA o BOA mostraron menor diámetro de colonias que los hongos cultivados en un medio idéntico pero que carecen de estos compuestos. Estos y otros efectos inhibidores de los ácidos hidroxámicos sobre el crecimiento de hongos están resumidos por Niemeyer et al. 1989. Wilkes, Marshall, Copeland, 1999, estudiaron al hongo patógeno *Gaeumannomyces graminis* que causan enfermedades en el trigo y la cebada, mostraron que el DIBOA era un inhibidor del crecimiento de hongos más potentes que el DIMBOA.

4) Actividad antibacteriana de ácidos hidroxámicos: la putrefacción bacteriana del tallo del maíz es causada por una cepa de *Erwinia chrysanthemi*. Sin embargo, el maíz es resistente a la pudrición, se ha demostrado que DIMBOA inhibe el crecimiento de varias especies de *Erwinia* y que las cepas no patógenas al maíz son más sensibles a DIMBOA que las cepas patógenas (Corcuera et al.,1978).

Muchos ácidos hidroxámicos se han obtenido desde H. Lossen quien hace 100 años sintetizo el ácido oxálico hidroxámico. La síntesis de estos ácidos han llamado la atención debido a sus propiedades farmacológicas, toxicológicas (Ahmed E.F, Mohamed M.K, Aly F, Tantawy A.T. 2001), generalmente presentan toxicidades bajas y poseen un espectro amplio de actividades, en la figura 1, como el ácido acetohidroxámico (AHA) (1) inhibidor de la ureasa, se evaluó por sus efectos bacteriostáticos y bactericidas sobre *Helicobacter pylori* y utilizado para tratar ciertas infecciones de la vejiga, los ácidos benzohidroxámicos (2) presentan actividad antitumoral y los sustituidos presentan inhibición de la ribonucleótido reductasa (Griffith D.P,Khonsari F, SkurnickJ.H, James K.E. 1979), el ácido propionohidroxámico (3) usado en el tratamiento de pacientes parapléjicos (Tizzani A, Carone R, Casetta G, Piana P, Vercelli D. 1989), el ácido N-(pivaloil)glycinohidroxamico actúan como inhibidores de la ureasa para tratar las infecciones urinarias (Takeuchi H., Okada Y, Kobashi K., Yoshida O. 1982), el ácido suberoilanilide hidroxámico (SAHA) (4) como un inhibidor de la histona desacetilasa y agente quimioterapéutico (Ruefli A.A, R, Ausserlechner M.J., Bernhard D,. Sutton VR, Tainton K.M, Kofler R, Smyth MJ, Johnstone RW. 2001), Bosiack et al, 2012, realiza un estudio en el tratamiento de la fibrosis corneal canina usando un modelo in vitro, usando como fármaco Vorinostat (SAHA) (4) recogieron córneas caninas sanas donantes y se usaron para generar fibroblastos caninos primarios (CCFs) los cultivos se incubaron posteriormente en presencia de Factor de crecimiento transformante β1(TGFβ1) en condiciones libres de suero, determinando que el SAHA inhibe de forma segura y efectiva la transformación de los CCF inducidos por TGFβ1 a miofibroblasto in vitro, Xing-dong et al., 2014, reporta que el SAHA ejerció una eficaz actividad inhibitoria contra el crecimiento de

las células cancerosas pancreáticas. Según Patricia González y col., 2006, en base a los estudios realizados por Hanada et al. 2002, estudiaron el efecto de una pequeña familia de ácidos hidroxámicos sintetizados que poseían la capacidad de inhibir la fosfolipasa C de *Bacillus cereus*. Los estudios sobre el efecto de esta familia de *P. falciparum* mostraron que, efectivamente, varios de los compuestos probados inhibían el crecimiento *in vitro* del parásito con valores de IC50 iguales o menores de 1 µM.

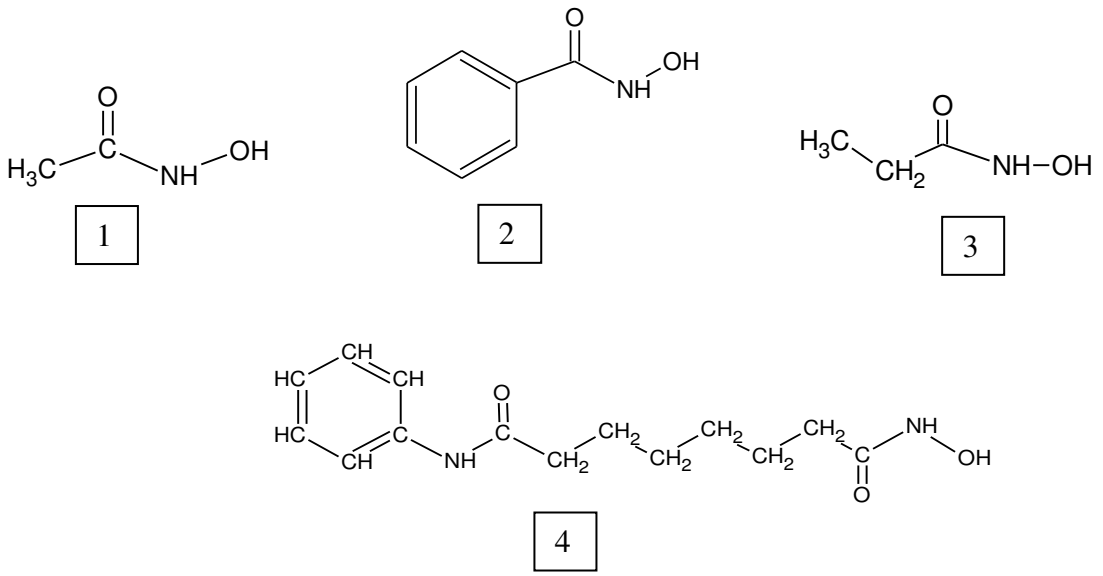


Figura 1. Representación de las estructuras químicas de los ácidos hidroxámicos.1: ácido acetohidroxámico, 2: ácidos benzohidroxámicos (BHA), 3: ácido propionohidroxámico, 4: ácido suberoilanilide hidroxámico (SAHA).

Goo K, et al., 1996, sintetizan y en vitro describen la actividad de la cefalosporina con ácido hidroxámico en la posición 7 de la molécula, la actividad anti pseudomonal de un derivado de la estructura demostró que era compatible con la ceftazidima; presenta una buena actividad contra las bacterias gram positivas incluyendo *Streptococcus pneumonia y Staphylococcus aureus.*

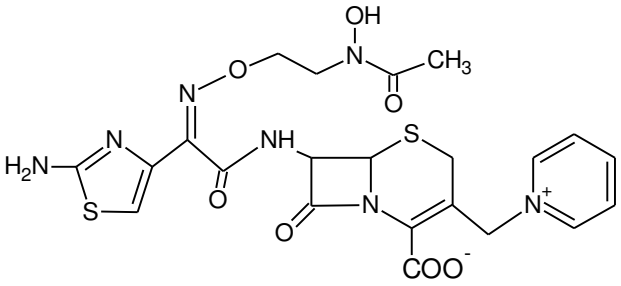
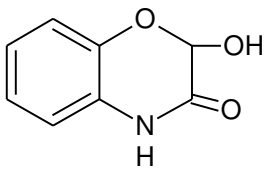


Figura 2. Representación de la estructura química de otro tipo de ácido hidroxámico de la cefalosporina en la posición 7.

Muri y col (2004) usando técnicas de modelo computacional y en base a los trabajos realizados por Warren y col. (1983) en la que indican que al menos el 90% de la población humana está infectado por la bacteria gram negativa *Helicobacter pylori*, la infección puede ser controlada con un tratamiento de antibióticos estas moléculas inhiben la ureasa del *H. pylori*, se ha encontrado que existen otros agentes inhibidores de la ureasa como fluoruros (Tood, 2000), tioles (Katsura et al., 2000; Kühler et al., 2002) y los ácidos hidroxámicos (Kobashi et al., 1975; Munakata et al. 1980) Las investigaciones realizadas por este grupo de estudio usando técnicas de modelo computacional les ha ayudo a predecir y designar una serie de derivados de ácidos hidroxámicos heterocíclicos que presentan actividad inhibitoria de la ureasa del *H. pylori*.

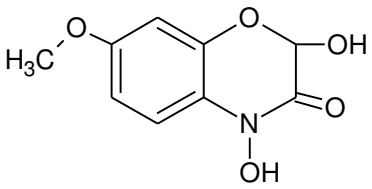
Oliveros-Bastidas A, et al., 2012, estudiaron la biotransformación de 2-hidroxi-(2H)-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona (HBOA) en suelo. Los estudios cualitativos de las especies en la solución de suelo, muestran que HBOA es convertido a seis especies relacionadas estructuralmente: 2-aminofenol (AF), 2-hidroxi-N-(2-hidroxifenil)-acetamida (HPMA), N-(2-hidroxifenil)-acetamida (HPAA), 2-amino-7-hidroxi-3H-fenoxazin-3ona (APO), 2-acetamino-3H-fenoxazin-3-ona (AAPO) y N-(2-hidroxi-5-nitrofenil)-acetamida [H(5)NPAA]. Los estudios de la concentración durante la biotransformación muestran que todos los compuestos pueden estar presentes en el suelo, sin embargo, el aumento de la concentración para algunas especies, hizo posible plantear productos finales de la biotransformación (APO y [H(5)NPAA]) así como intermedios (AF, HPMA). Los resultados son discutidos en términos de la relevancia ecológica de estos productos de biotransformación, especialmente en la

actividad alelopática, y la determinación de las especies verdaderamente activas.



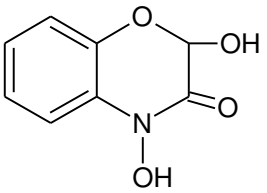
HBOA

2-hidroxi-(2H)-1,4-benzoazin-3-ona



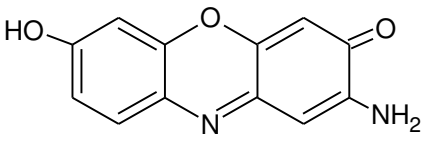
DIMBOA

2,4-dihidroxi-7-metoxi-(2H)-1,4-benzoazin-3-ona



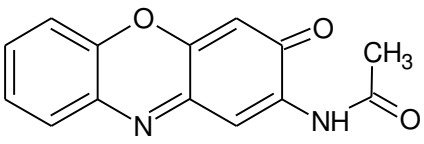
DIBOA

2,4-dihidroxi-(2H)-1,4-benzoazin-3-ona



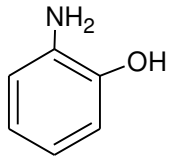
APO

2-amino-7-hidroxi-3H-fenoxazin-3-ona



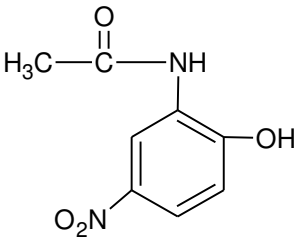
AAPO

2-acetamido-3H-fenoxazin-3-ona



AF

2-aminofenol



H(5)NPAA

N-(2-hidroxi-5-nitrofenil)acetamida

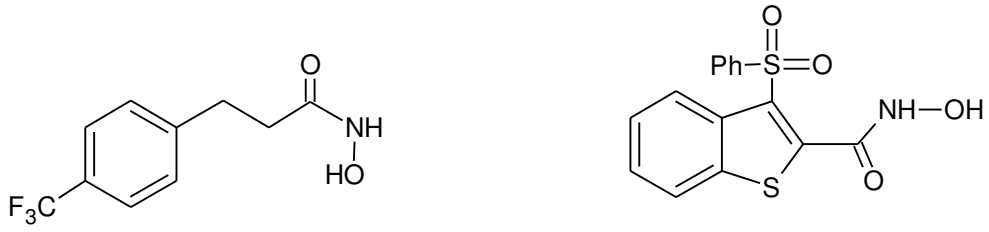
Figura 3. Representación de las estructuras químicas de los ácidos hidroxámicos derivados del 2-hidroxi-(2H)-1,4-benzoazin-3-ona (HBOA).

Rajulu, Gavara Govinda y col (2014) diseñaron, sintetizaron y evaluaron una serie de nuevos derivados de ácido hidroxámico (VI) para sus actividades antibacterianas y antiproliferativas in vitro.

Rodriguez y col (2014) en su resumen manifiestan que hay aproximadamente 8 millones de casos de enfermedad de Chagas en la región meridional de América del Sur, y cerca de 100 millones de personas viven con el riesgo de infectarse. La farmacoterapia actual es a veces ineficaz y tiene efectos secundarios graves. Aquí, reporta series de 4,5-dihidroisoxazoles que

incorporan restos hidroxamato, que actúan como inhibidores efectivos de la anhidrasa carbónica (CA) de *Trypanosoma cruzi* (TcCA). Un compuesto (5 g) se evaluó en detalle y muestra características prometedoras como agente antitripanosomal. Se observaron valores excelentes para la inhibición del crecimiento para todas las formas de desarrollo del parásito a concentraciones de 5 g (valores IC50 de 7,0 a <1 μM). El compuesto tiene un índice de selectividad (SI) de 6,7 y ninguna citotoxicidad para las células macrófagas. Los datos preliminares in vivo demostraron la actividad que produce en los parásitos de la circulación sanguínea y que todos los ratones tratados sobrevivieron, también fue más eficaz que el fármaco convencional benzinidazol.

Ai, Xu, Qiu, y col (2015), intrigados por el papel de la acetilación de las proteínas en la replicación del virus de la hepatitis C (HCV), probaron inhibidores conocidos como la histona desacetilasa (HDAC) y varios ácidos hidroxámicos de estructuras simples para la inhibición de un replicón subgenómico del VHC. Estudios de la relación estructura-actividad del ácido cinámico hidroxámico y el ácido benzo [b] tiofen-2-hidroxámico mostraron selectiva actividad anti-HCV y por lo tanto son prometedoras para una mayor optimización de estudios mecanísticos y estructural.

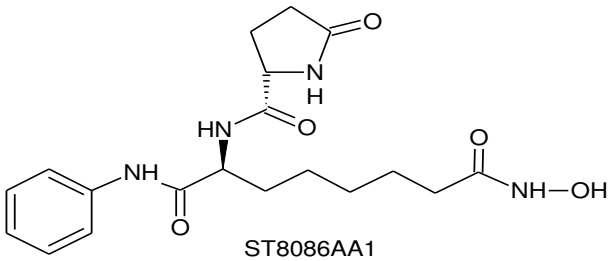


ácido cinámico hidroxámico **ácido benzo[b]tiofen-2-hidroxámico**

Figura 4. Representación de la estructura química del ácido cinámico hidroxámicos y del ácido benzo [b] tiofen-2-hidroxámico.

Adewuyi A. y col. (2015) Evaluaron el perfil de seguridad y la actividad antioxidante del ácido graso hidroxámico (FHA) del aceite de semilla del *Cyperus esculentus*, sintetizaron a partir del aceite de semilla el FHA y determinaron su actividad antioxidante por el método DPPH, llegando a la conclusión que es una fuente potencial para la síntesis del FHA, relativamente de bajo costo y no toxica, tiene actividad antioxidante.

Giannini, Battistuzzi, Vignola (2015) realizan un estudio dirigido a evaluar el efecto antiparasitario en dos clases de histona desacetilasa (HDAC). El estudio demostró que los inhibidores de HDAC solo el ácido hidroxámico estaban activos, frente al parasito más sensible el *Plasmodium falciparum*. Entre tres derivados de ácidos hidroxámicos evaluados in vivo, el ST8086AA1 inhibe de manera eficaz el 88% del desarrollo del *Plasmodium falciparum*.



ST8086AA1

Figura 5. Representación de la estructura química de ácido hidroxámico ST8086AA1 activo frente al *Plasmodium falciparum*.

2.3 Bases teóricas

Una revisión de las diferentes formas de sintetizar los ácidos hidroxámicos, está más allá del alcance de la presente tesis, porque varios aspectos de la química del ácido hidroxámico ya han sido revisados. Existe un interés en el estudio de la formación de complejos metálicos hidroxámicos y reacciones de disociación, con el fin de desarrollar teorías acerca de por qué y cómo se producen estas reacciones y examinar sus propiedades físicos y químicos.

Los ácidos hidroxámicos RC=O-NHOH por su estructura molecular especial se le puede considerar como donadores de protones, pueden quelarse fácilmente con iones metálicos para formar un complejo estable. Por esta propiedad los ácidos hidroxámicos son ampliamente utilizados, debido a su alta selectividad de los minerales oxidados, tales como tierras raras, ilmenita, hematita y bastnaesita. Además se utilizan ampliamente en el ámbito de los productos farmacéuticos, médicos y bioquímicos incluidos los inhibidores de la metaloproteinasa de la matriz (MMP), los fármacos antitumorales, contra el cáncer, los bactericidas y los herbicidas (Zhang, Zhong, 2010).

Los ácidos hidroxámicos son ejemplo de compuestos donantes de O o N (en el caso de los aminohidroxámicos). Estos son una familia compuestos bioligandos orgánicos (Kehl, 1982; Santos, 1998). Son capaces de coordinar

los iones metálicos con muy alta afinidad (Albrech-Gary y Crumbliss, 1998). Los ácidos hidroxámicos están asociado con la absorción o eliminación del hierro del cuerpo (Raymond, 1990). Se ha puesto de manifiesto en estos últimos años que estos ácidos débiles poseen diferentes tipos de actividades biológicas (Zamora et al.,1995; Arnold et al., 1998). Los ácidos hidroxámicos tiene un especial interés en la química inorgánica por su papel como inhibidores potentes y selectivos de una serie de metaloenzimas, atribuidos principalmente por sus propiedades complejantes hacia el metal de transición (Marmion et al., 2004). Estas reacciones de los ácidos hidroxámicos formando complejo con los metales de transición se utilizan frecuentemente como modelos bioinogánicos para investigar las interacciones enzimáticas. Estos complejos metálicos tienen un papel importante en los sistemas vivos, como constituyentes de antibióticos (Okada et al.,1988) factores de crecimiento (Burt et al., 1981) inhibidores de tumores (Duan et al., 2002) factores de división celular (Byers et al., 1967, Kurzak et al., 1992).

Generalmente la actividad biológica de los ácidos hidroxámicos se relaciona con su capacidad para formar quelatos muy estables con iones metálicos. Esta estabilidad e hidrofobicidad de los complejos metálicos formados, facilitan su transporte a través de las membranas celulares (Buzatu y Darie, 2003). Mencionaremos como ejemplo a los microorganismos que producen agentes quelantes de bajo peso molecular, llamados sideróforos, incorporando un grupo hidroxamato que puede solubilizar el hierro del medio ambiente formando un quelato y transportándolo en las células (Neilands, 1976).

2.3.1 Propiedades generales de los ácidos hidroxámicos

Los ácidos hidroxámicos pueden considerarse derivados tanto de las hidroxilaminas como de los ácidos carboxílicos, los métodos para su síntesis son muy variados, gran parte de estos métodos utilizan bases minerales fuertes, obteniéndose productos impuros, difíciles de ser purificados.

Pueden clasificarse los ácidos hidroxámicos como primarios y secundarios (Figura 6) que se diferencian por la sustitución del hidrógeno del N-H por un grupo R’ (Ghosh, 1997).



Figura 6. Clasificación de los ácidos hidroxámicos: (I) acido primario (II) ácido secundario.

Brown et al., (1996) a través de los estudios de RMN determina que los ácidos hidroxámicos presentan dos estereoisómeros, Z y E. Figura 7.

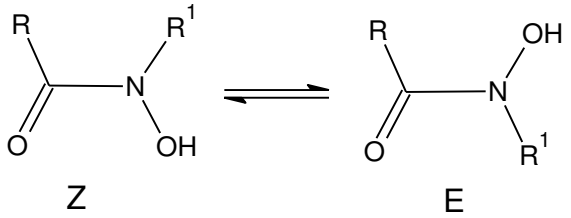


Figura 7. Representación de la Isomerización Z- E de los ácidos hidroxámicos

Se ha determinado que la forma Z es la forma estable (Exner y Kakac, 1963). Es importante señalar el papel del disolvente cuando se da el cambio conformacional de E a Z. De acuerdo a la disposición de los grupos funcionales en Z los disolventes próticos estabilizan la conformación Z formando los puentes de hidrógeno. Figura 8.

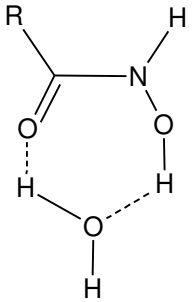


Figura 8. Enlaces de hidrogeno intermoleculares generados en los ácidos hidroxámicos en la conformación Z.

Esta conformación también puede formar los puentes de hidrógeno intramolecularmente (Brown et al., 1996) Figura 9.

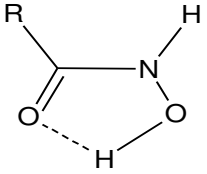


Figura 9. Enlaces de hidrógeno intramoleculares generados en los ácidos hidroxámicos en la conformación Z

Cualquiera sea la estructura y el proceso de desprotonación, no es posible que para formar un complejo monuclear, los ácidos hidroxámicos adopten la conformación Z y el proceso de quelación implique la O desprotonación (Monzyk y Crumbliss, 1979)

Se han estudiado las reacciones de los ácidos hidroxámicos en la formación de los complejos tanto en solución como en el estado sólido, inicialmente se hace con el Fe (III) debido a su particular presencia en el campo biológico, luego con otros iones metálicos como Co (II), Ni (II), Zn (II) y Cu (II). De acuerdo a los estudios previos de los ácidos hidroxámicos sobre la formación de complejos con los metales, estos enlaces parecían ser capaz de unirse solo a un ión metálico. De los estudios realizados la mayoría de ellos evidenciaron una coordinación del ión metálico con el oxígeno del grupo carbonílico y con el grupo NH-OH (Lindner y Goettlicher, 1969). El enlace [O,O] de coordinación, fue confirmada por cristalografía de Rayos X (Brown et al., 1996), se produce mediante la desprotonación del grupo OH y la consiguiente quelación del metal por el átomo de oxígeno del grupo carbonilo. Figura 10.

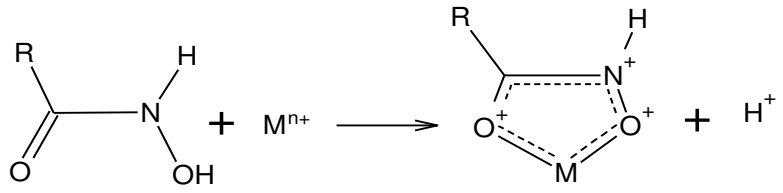


Figura 10. Ion Metalico (M^{n+}) { O,O } coordinación generado por un ácido hidroxámico.

Por otro lado, para los aminohidroxámicos ((NRR')CONHOH) se ha observado una coordinación [N,O] que implica la desprotonación del grupo NH (Dobosz et al., 1999; Farkas et al., 2000) Figura 11.

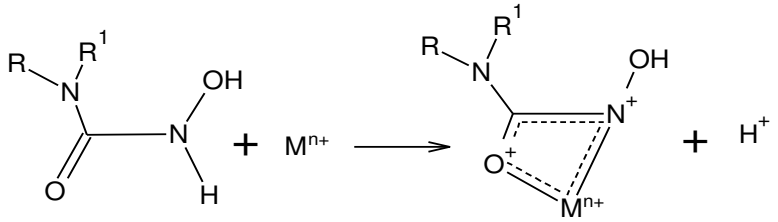
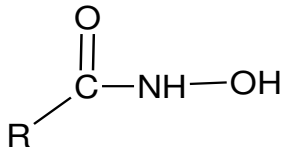


Figura 11. Ion Metalico (M^{n+}) {N,O} coordinación generado por un ácido aminohidroxámico.

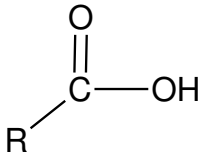
Las características generales del mecanismo de formación de los complejos metálicos en solución se conocen desde la década de 1960, cuando Eigen y Tamm observaron que las soluciones acuosas del sulfato de magnesio, absorbe el ultrasonido de una manera anómala (Eigen y Tamm, 1962)

Un derivado de ácido carboxílico adecuado reaccionara con hidroxilamina alcalina para formar un ácido hidroxámico.

Los ácidos hidroxámicos son una familia de ácidos orgánicos de fórmula general:



Son ácidos mucho más débiles que los ácidos carboxílicos con los que están relacionados estructuralmente:



Los ácidos hidroxámicos se forman por la reacción de un derivado funcional del ácido carboxílico: haluro de acilo, anhídrido de acilo, éster, amina. Figura 12.

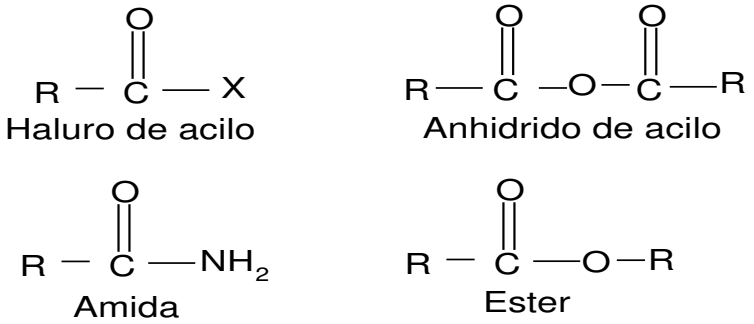


Figura 12. Representaciones de las estructuras químicas de los derivados de los ácidos carboxílicos.

Las estrategias sintéticas en solución están basadas en la activación de los ácidos carboxílicos siguiendo diferentes metodologías o protocolos en la preparación de los ácidos hidroxámicos. Las reacciones químicas de los ácidos carboxílicos en la síntesis del ácido hidroxámico se presentan en la figura 13.

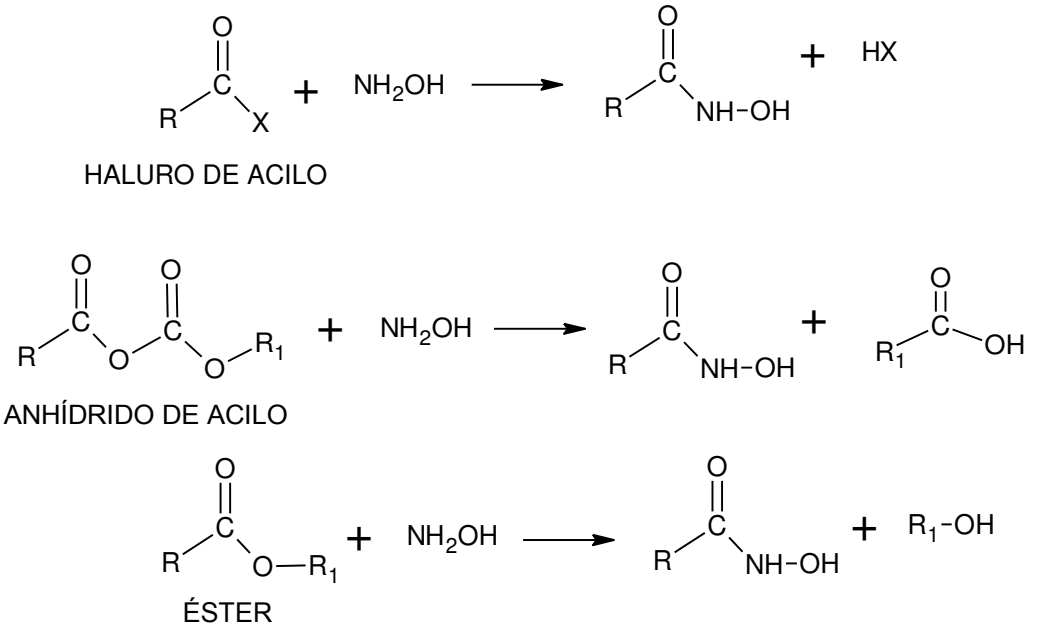


Figura 13. Representación de las reacciones químicas de los derivados funcionales de los ácidos carboxílicos en la síntesis de los ácidos hidroxámicos.

Si bien hay muchos protocolos para la preparación de ácidos hidroxámicos de sus correspondientes precursores de ácidos carboxílicos o éster carboxílico, la mayoría utiliza bases minerales fuertes que pueden conducir a formar productos con muchas impurezas que pueden ser difíciles de ser eliminadas por las clásicas técnicas cromatográfica.

Basándose en estudios computacionales, han diseñado, sintetizado y examinado varios derivados de ácidos hidroxámicos heterocíclicos para determinar su capacidad de inhibir la actividad de la ureasa. En la Figura 14 mostramos la preparación de los derivados del ácido hidroxámico imidazol 7a-b, donde inicialmente se nitro el imidazol comercialmente disponible (1) para dar el 4(5)-nitro-1H-imidazol (2) [Fargher,1919]. Se ha determinado que la alquilación de (2) en presencia de base produce predominantemente el isómero 1,4-disustituido [Kajfez,1967]. Los ésteres 3a-b se obtuvieron por alquilación con el respectivo agente alquilante en presencia de K_2CO_3 y ioduro de tetrabutilamonio (TBAI) como catalizador de transferencia de fase [Liu, 1993]. El siguiente paso fue la reducción catalítica de los compuestos de nitroéster 3a-b que producían los 4-aminoimidazoles 4a-b inestables, que estaban protegidos directamente con un tertbutoxicarbonil (Boc) [Al-Shaar et al., 1992; Ponnusamy et al., 1986]. El tratamiento de los ésteres 5a-b con hidroxilamina dio lugar a un desplazamiento nucleofilico de la funcionalidad éster para dar los hidroxamatos 6a-b con buenos rendimientos [Salmon et al,2001]. El grupo protector de Boc se eliminó mediante catálisis ácida, obteniéndose las sales de 7a-b [Hogg et al., 1995] (Muri et al,2003 y 2004).

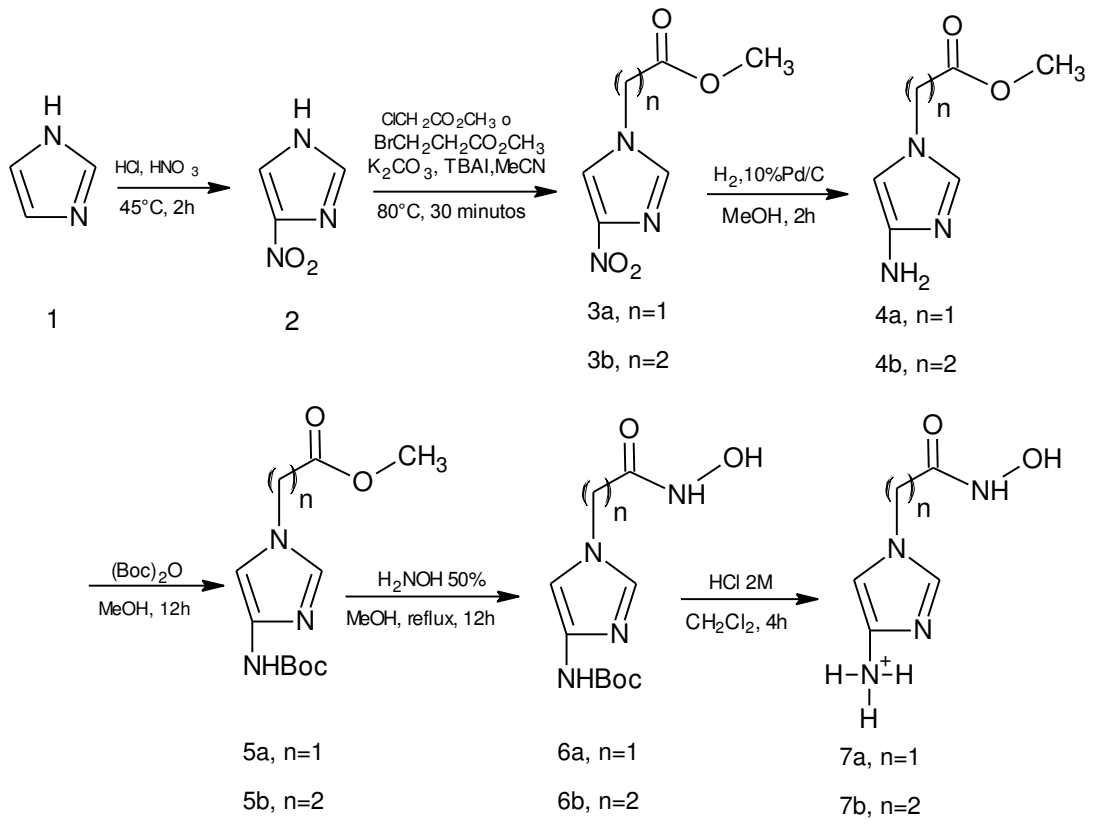


Figura 14. Síntesis de los derivados 7a-b del ácido imidazol hidroxámico.

El ácido tiazol acético (1) se esterifico (Figura 15) con un exceso de cloruro de tionilo en metanol para proporcionar el derivado éster tiazol (2) (Lee-Ruff et al.,1987), que se trató con hidroxilamina recién preparada en metanol (Hanessian et al.,2001). Dejándolo reaccionar durante toda la noche, se mostró que la solución contenía el correspondiente ácido hidroxámico (3) que se sometió a tratamiento con HCl para producir la sal (3a) correspondiente.

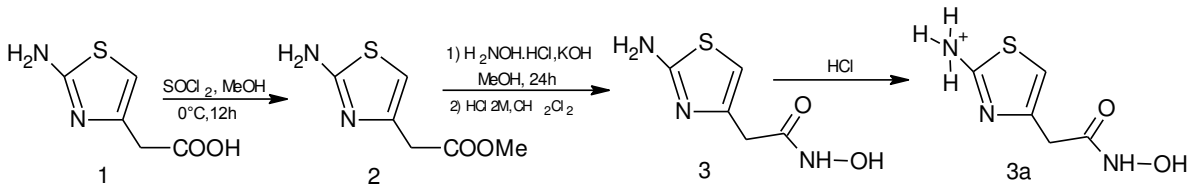


Figura 15. Síntesis de los derivados del ácido tiazol hidroxámico.

El ácido aminohidroxámico (2) (Figura 16) se obtuvo a partir del éster etílico del ácido (6-amino-purin-9-il) acético (1). Variando las relaciones reactivo-sustrato y temperatura, se encontraron condiciones de reacción estándar para una conversión eficiente del grupo éster de (1) a la funcionalidad del ácido hidroxámico [Salmon et al,2001]. El tratamiento con HCl del compuesto 2 proporciono la sal (2a).

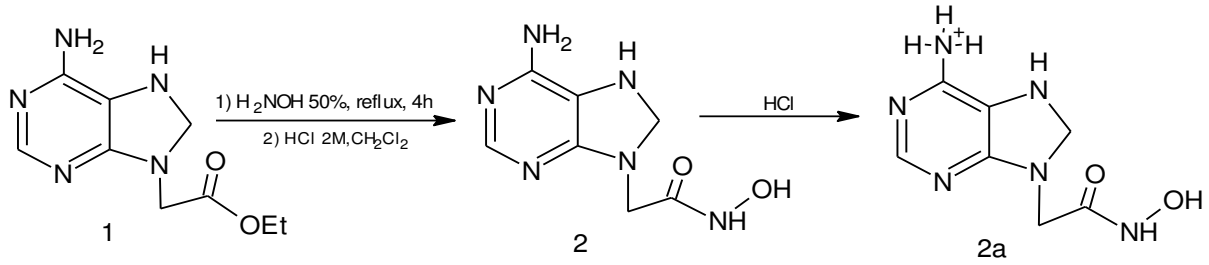


Figura 16. Síntesis de los derivados del ácido aminahidroxámico.

La alquilación de 6-nitroindazol (1) (Figura 17) con el 2-bromoacetato de etilo proporciono el nitroéster (2), que se hidrogenó para formar la amina (3). La conversión del éster en el derivado de indazol del ácido hidroxámico (4) y la formación de sal posterior para dar el compuesto (4a) siguió las mismas condiciones mostradas en las figuras 13 y 15 (Han et al.,2000).

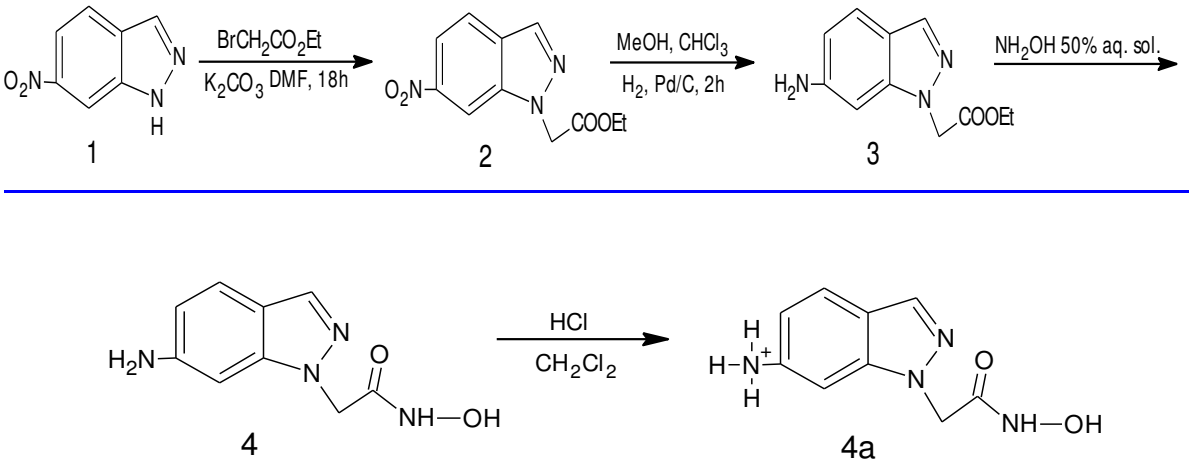


Figura 17. Síntesis de un derivado del ácido indazol hidroxámico

El derivado de ácido pirazol hidroxámico (3) se obtuvo por alquilación catalizada por transferencia de fase sólida-liquido de 3-amino-4-carbetoxipirazol (1) (Figura 18). La alquilación del cloroacetato de metilo proporciono el producto N-alquilado (2) con un rendimiento del 70% [Liu, 1993; Chakrabarti et al., 1989]. La conversión directa del éster (2) al ácido hidroxámico (3) se efectuó usando hidoxilamina en solución acuosa. Finalmente, el ácido hidroxámico (3) con una solución de HCl-diclorometano se transformó en su correspondiente sal (3a).

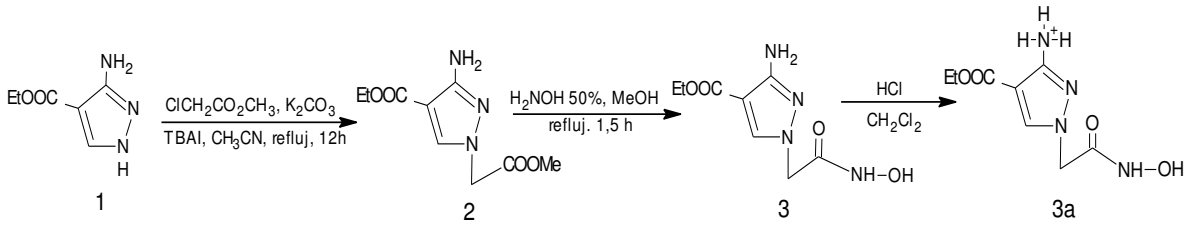


Figura 18. Síntesis del derivado del ácido pirazol hidroxámico

De los estudios realizados por Muri et al, 2003 y 2004, en base a los resultados de los estudios de diseño computacionales, se diseñaron y sintetizaron varios derivados de ácidos hidroxámicos heterocíclicos, determinando que los compuestos 7a-b (Fig. 14), 3a (Fig. 15), 2a (Fig. 16), 4a (Fig. 17) 3a (Fig. 18) son ejemplos de ácidos hidroxámicos que poseen los requisitos farmacofóricos, de acuerdo al modelo diseñado, para aumentar la estabilidad y la eficacia inhibitoria de la ureasa. Fueron probados contra la ureasa del frijol como un medio preliminar para evaluar su actividad. Estudios anteriores sugieren que existe una relación del efecto inhibidor de los nuevos derivados de los ácidos hidroxámico sintetizados sobre la ureasa del *Helicobacter pilori* con la ureasa del frejol, actualmente están siendo sometidos a análisis in vitro de inhibiciones de *H. pilori* ureasa.

Luckhurst et al (2016) presentan el descubrimiento de inhibidores potentes y selectivos de la clase IIa de HDAC, son compuestos del ácido ciclopropano hidroxámico tetrasustituido. La inhibición de las enzimas HDAC de clase IIa se ha sugerido como una estrategia terapéutica, incluyendo la enfermedad de Hutington (HD) y la atrofia muscular (Mielcarek, et al.,2011). Los HDAC de clase IIa son proteínas grandes con múltiples funciones, incluyendo al factor de transcripción y el reconocimiento de N-acetil lisina (Martin et al, 2007; Bertos, et al. 2001). La síntesis del ácido hidroxámico del ciclopropano tetrasustituido el compuesto (14) mostro propiedades adecuadas para la evaluación del impacto de la inhibición del sitio catalítico HDAC de clase IIa en modelos de enfermedad preclínica. Se sintetizaron los compuestos de acuerdo a la Figura 19, la ciclopropanación del cinamato de metilo derivado (1), seguido de reacciones de desprotonación se llega al intermediario racémico (2) que luego de reacciones electrofílicas apropiadas se obtiene el ciclo propano tetrasustituido (14), el isómero deseado se aisló por flash cromatografía. Describen un procedimiento para la síntesis del ácido hidroxámico, en la cual el éster obtenido se agita con una solución de tetrahidrofurano/metanol (1:1,3 mL) se agrega hidroxilamina (solución acuosa al 50%, 3 mmol) e hidróxido de potasio (0,60 mmol). La solución se agito a temperatura ambiente durante 2 horas y se neutraliza con HCl 1M (aq) y extraído con diclorometano, la capa orgánica se lava con salmuera (10 mL), se elimina la capa acuosa y la capa orgánica se concentra.

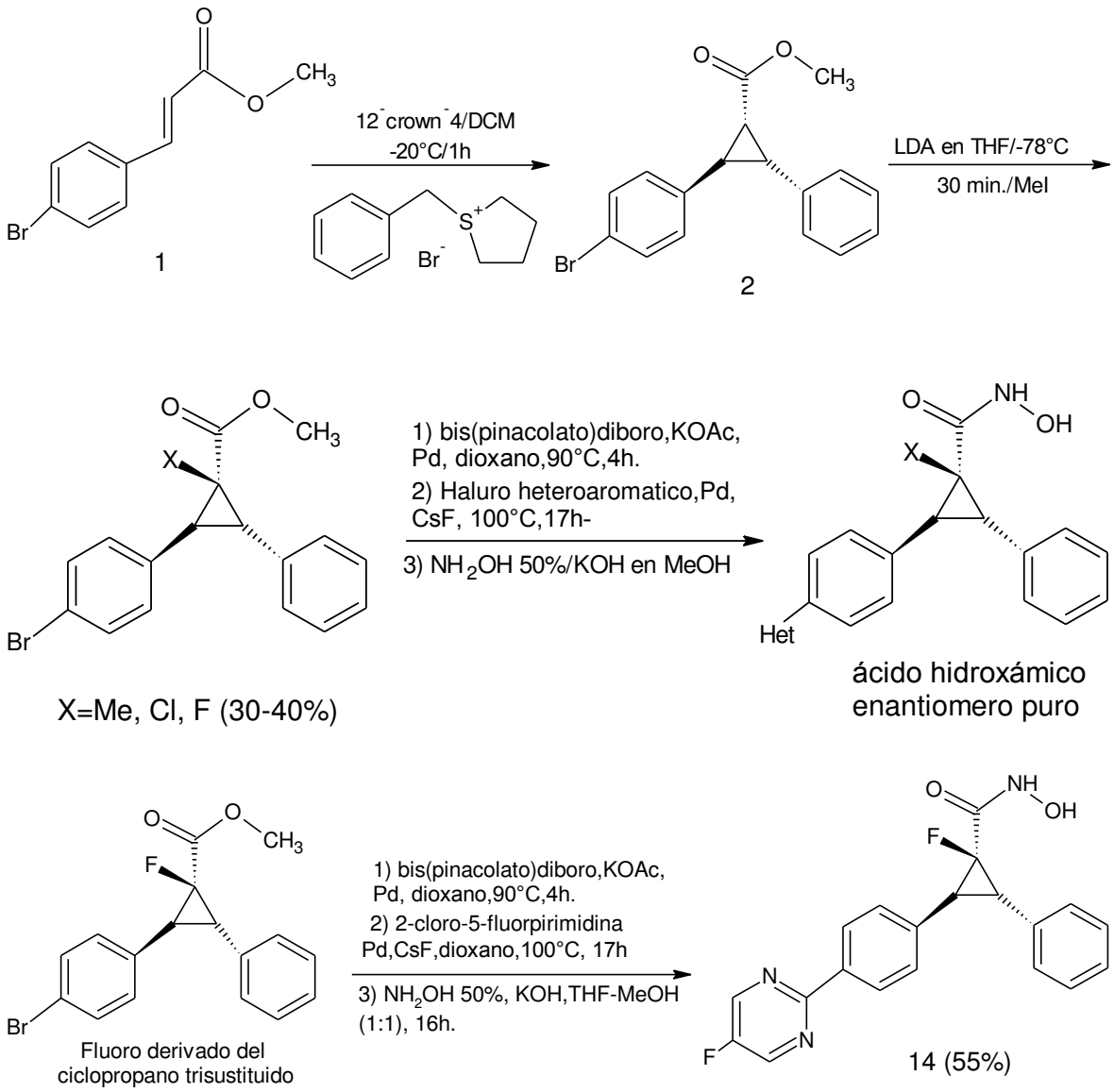
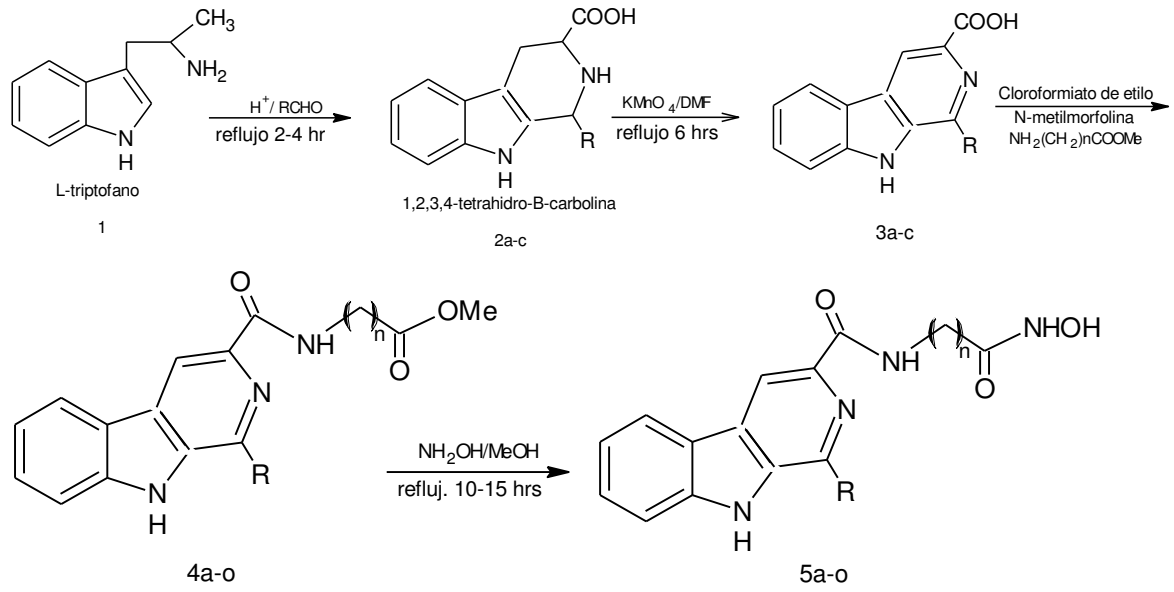


Figura 19. Síntesis del ácido hidroxámico del ciclopropano sustituido compuesto 14.
LDA en THF: diisopropilamina en tetrahidrofurano.
DCM: diclorometano
CsF: fluoruro de cesio

Ling et al. (2015) trabajan con los alcaloides de β-carbolina tal como la harmina y sus derivados quienes muestran una variedad de actividades farmacológicas, particularmente efectos antitumorales y muestran efecto inhibitorio en el crecimiento de células cancerígenas, ellos diseñan y sintetizan una nueva serie de hibrido de ácidos hidroxámicos de β-carbolina. Varios compuestos sintetizados como los denominados 5m, 11d y 11h, no solo ejercieron una actividad antiproliferación significativa contra cuatro líneas celulares de cáncer colorrectal humano (CRC) sino que también mostraron efectos in vitro frente a los inhibidores de la histona desacetilasa (HDACs). El compuesto más potente, 11c, mostró una potencia anticancerígena siete

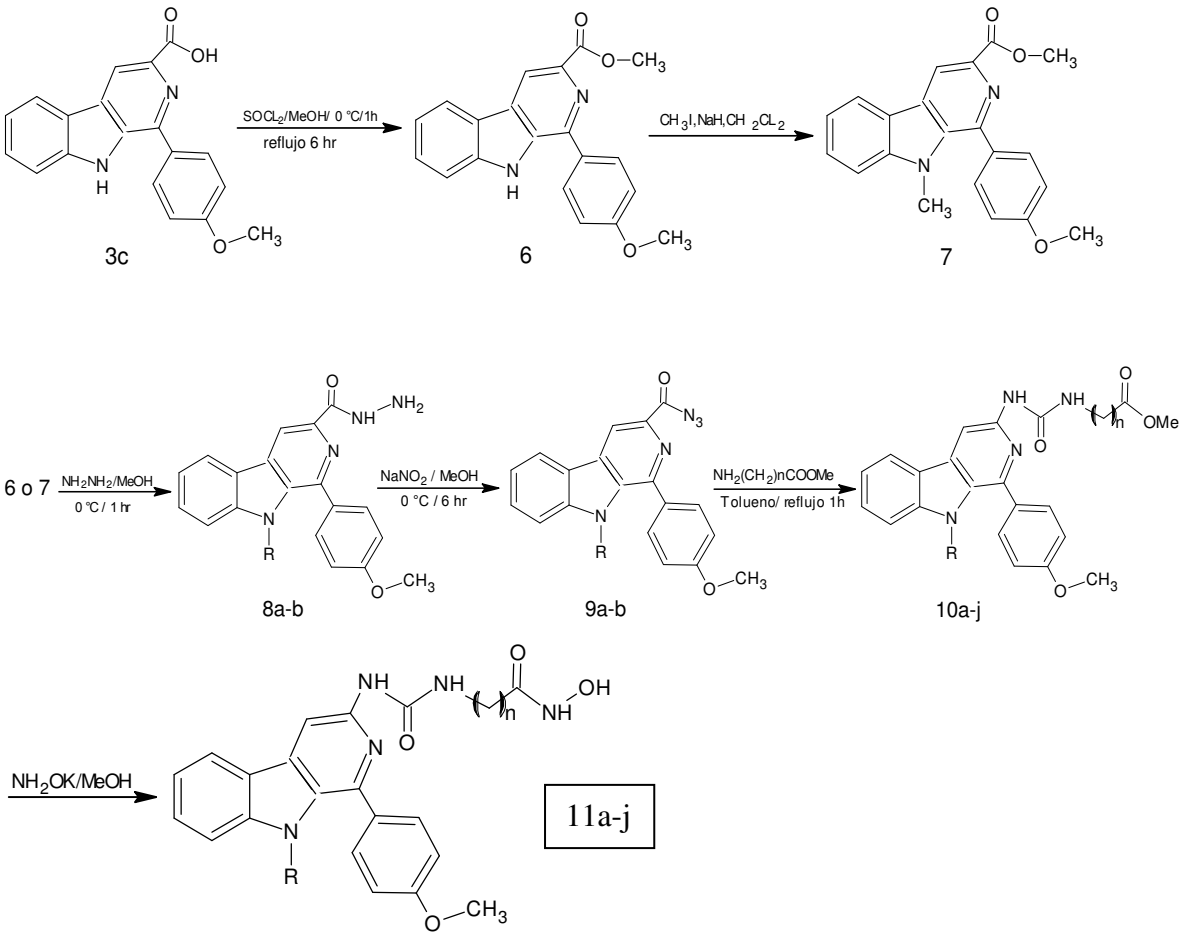
veces superior a la de SAHA. La ruta síntesis a los compuestos 5a-o se representan en la Figura 20, las β-carbolina sustituidas 3a-c se prepararon en una secuencia de dos pasos. En primer lugar, el L-triptofano se convierte en las estructuras 2a-c, 1,2,3,4-tetrahido- β-carbolina, sustituido en las posiciones 1,3, por el tratamiento con diferentes aldehídos sustituidos. Los intermedios 2a-c se oxidaron con $KMnO_4$ en dimetilformamida hasta obtener los compuestos 3a-c, que después se hicieron reaccionar con $NH_2(CH_2)_nCOOMe$ en presencia de cloroformiato de etilo para producir los ésteres 4a-o. Finalmente los intermediarios 4a-o se trataron con NH_2OK en metanol para obtener los compuestos 5a-o.



2-3a R=H	*4-5a R=H, n=1*	*4-5f R=CH_3, n=1*	*4-5k R=pCH_2OPh n=1*
2-3b R=CH_3	*4-5b R=H, n=2*	*4-5g R=CH_3, n=2*	*4-5l R=pCH_2OPh n=2*
2-3c	*4-5c R=H, n=3*	*4-5h R=CH_3, n=3*	*4-5m R=pCH_2OPh n=3*
R=pCH_2OPh	*4-5d R=H, n=4*	*4-5i R=CH_3, n=4*	*4-5n R=pCH_2OPh n=4*
	4-5e R=H, n=5	*4-5j R=CH_3, n=5*	*4-5o R=pCH_2OPh n=5*

Figura 20. Procedimiento en la obtención del compuesto 5a-o

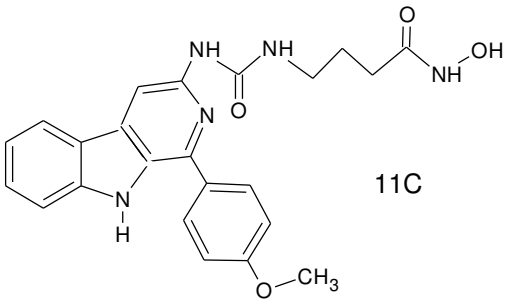
Los compuestos 11a-j se obtuvieron de acuerdo a los procedimientos descritos en la Figura 21, en donde el ácido 3c fue esterificado obteniéndose un metil éster (6), se le hizo reaccionar con el iodometano en presencia de hidruro de sodio obteniéndose el compuesto (7). El compuesto 6 o 7 fue tratado con hidracina formando un derivado de hidracida (8a-b). El grupo hidracida del 8a-b fue convertido en un grupo acilazida en presencia de nitrito de sodio convirtiéndose en el compuesto 9a-b, el cual fue sometido a la acción del $NH_2(CH_2)_nCOOMe$ obteniéndose el compuesto 10a-j, vía el reordenamiento de Curtius. Finalmente, el compuesto urea 10a-j al ser tratado con NH_2OK en metanol fue convertido en un ácido hidroxámico 11a-j.



8-9a R=H	*10-11c R=H, n=3*	*10-11g R=CH3, n=2*
8-9b R=CH3	*10-11d R=H, n=4*	*10-11h R=CH3, n=3*
10-11a R=H, n=1	*10-11e R=H, n=5*	*10-11i R=CH3, n=4*
10-11b R=H, n=2	*10-11f R= CH3, n=1*	*10-11j R= CH3, n=5*

Figura 21. Procedimiento en la obtención del compuesto 11a-j

El compuesto 11c desencadeno una apoptosis de células cancerígenas más significativa que la SAHA, además aumento simultáneamente la acetilación de la histona H3 y la α-tubulina. Finalmente, el compuesto 11c mostró una baja toxicidad aguda en ratones e inhibió el crecimiento del CRC humano implantado en ratones de manera más potente que el SAHA. El 11c posee una potente actividad antitumoral y puede ser un candidato prometedor para el tratamiento potencial de la CRC humana. Estructura química del compuesto 11c.



11C

Hulcher (1982) Un ácido hidroxámico de bajo peso molecular fue producido por la Pseudomona mildenbergii en medios deficientes de hierro asociados con péptidos fluorescentes verdes. El ácido hidroxámico se extrajo en medio de cultivo liofilizado con etanol y metanol, se cristalizo como clorhidrato. El espectro infrarrojo (IR) se visualiza una banda de 5,72 µm para un grupo carbonilo, una banda a 6,15 µm vibraciones de estiramiento C-C aromáticos, una banda 7,05 µm vibración de estiramiento OH; por estos datos indican que el compuesto tiene un anillo benceno, un grupo carbonilo de un éster y un grupo OH, la resonancia magnética nuclear y los datos espectrales de masa sugirieron que la estructura química era el ácido N-metilfenilacetohidroxámico. Se sintetizo el N-metilfenilacetohidroxámico y se determinó su punto de fusión como clorhidrato 205 °C, análisis elemental y peso molecular: 202,6 los que fueron idénticos al producto natural.

Polomoscanik (2005) presentan un método para sintetizar un hidrogel de ácido hidroxámico polimérico (Figura 22) a partir de poli (2-hidroxietil) acrilato como polímero precursor. Era evidente determinar a partir del análisis espectral IR del polímero precursor y del polímero del producto. Las bandas características en el espectro IR del poli (HEA) presenta una banda de 1725 cm^{-1} que corresponde a un grupo carbonilo de éster y una banda ancha a 3600-3400 cm^{-1} que corresponde al grupo hidroxilo. En el espectro del polímero modificado con hidroxilamina el pico de 1725 ha desaparecido por completo, aparece una nueva banda 1633 cm^{-1} era evidente que corresponde a la vibración de estiramiento de grupo carbonilo de un ácido hidroxámico. De forma similar, una banda ancha nueva de 3400 a 3200 cm^{-1} que corresponde al estiramiento NH. No se observó ningún pico correspondiente al grupo carbonilo ácido en el espectro IR, lo que sugiere una transformación selectiva del grupo éster en el ácido hidroxámico.

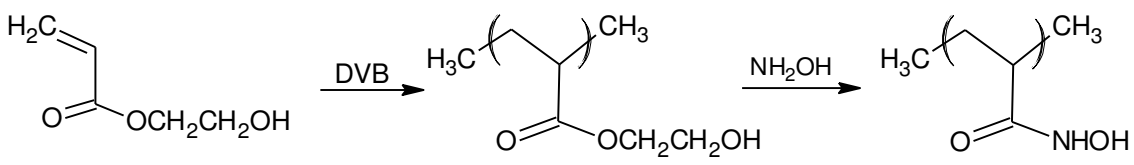


Figura 22. Síntesis del hidrogel de ácido hidroxámico polimérico, a partir de poli (2-hidroxietil) acrilato como un polímero precursor.

Zhang y Zhong (2010) realizan la determinación de los ácidos hidroxámicos por métodos espectrofotométricos formando complejos coloreados en soluciones acidas, comparando con otros métodos, este método reduce considerablemente el período y la manipulación bajo la precondición de la exactitud, de modo que podría ser un método disponible para la determinación de los ácidos hidroxámicos.

CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA

3.1 Tipo de estudio

Cuasi experimental, analítico, descriptivo y prospectivo

3.2 Lugar de ejecución

- Instituto de Ciencias Farmacéuticas Aplicada a la Farmacia "Juan de Dios Guevara" Sección de Química Orgánica Aplicada a la Farmacia
- Instituto de Química Biológica, Microbiología y Biotecnología "Marco Antonio Garrido Malo"

3.3 Recolección de las muestras

Las muestras: ampicilina, amoxicilina, dicloxacilina, oxacilina, químicamente pura para la realización de la síntesis fueron donadas por dos laboratorios.

3.4 Obtención del ácido hidroxámico de la ampicilina

3.4.1 *Obtención del haluro de ácido y éster*

En un balón esmerilado se agregó un gramo de la muestra y se añadió 40 mL de metanol absoluto, se agito durante 5 minutos, luego lentamente se agregó 12 mL de $SOCl_2$, la mezcla se llevó a reflujo durante 60 minutos, enfriar, se neutralizo con $NaHCO_3$, se calentó para eliminar el exceso de metanol, extraer con tres porciones de diclorometano (20 mL). Concentrado se identificó el producto formado por Cromatografía en capa fina, utilizando:

- Cromatofolio de silicagel 60 GF254,
- Sistema de solvente: Metanol-H_2O-acetona (4:4:25),
- Revelador: Luz UV
- Purificación del éster: mediante la cromatografía en capa fina a escala preparativa.
- Identificación por espectroscopia IR.

3.4.2 *Obtención del ácido hidroxámico*

Se pesaron 0,4972 g del éster obtenido, se añadió 12 mL de hidroxilamina, recién preparada, agitar, enfriar durante 24 horas, se filtró e identificó el producto obtenido por cromatografía en capa fina, utilizando:

- Cromatofolio de silicagel 60 GF254,
- Sistema de solvente: Metanol-H_2O-acetona (4:4:25),

- Revelador: Luz UV
- Purificación del ácido hidroxámico: mediante la cromatografía en capa fina a escala preparativa.

3.4.3 *Identificación del ácido hidroxámico*

- Reacción con el tricloruro de hierro
- Cromatografía en capa fina
- Determinación del punto de fusión
- Espectroscopia IR.

3.5 Obtención del ácido hidroxámico de la amoxicilina

3.5.1 *Obtención del haluro de ácido y éster*

En un balón esmerilado se agregó un gramo de la muestra y se añadió 40 mL de metanol absoluto, se agito durante 5 minutos, luego lentamente se agregó 10 mL de $SOCl_2$, la mezcla llevar a reflujo durante 60 minutos, enfriar, neutralizar con $NaHCO_3$, calentar para eliminar el exceso de metanol, extraer con tres porciones de diclorometano (20 mL). Se concentró e identificó el producto formado por Cromatografía en capa fina, utilizando:

- Cromatofolio de silicagel 60 GF254,
- Sistema de solvente: Metanol-H_2O-acetona (4:4:25),
- Revelador: Luz UV.
- Purificación del éster: mediante la cromatografía en capa fina a escala preparativa.
- Identificación por espectroscopia IR.

3.5.2 *Obtención del ácido hidroxámico*

Se pesaron 0,45 g del éster obtenido, añadirle 10 mL de hidroxilamina, recién preparada, agitar, enfriar durante 24 horas, se filtró e identificó el producto obtenido por cromatografía en capa fina, utilizando:

- Cromatofolio de silicagel 60 GF254,
- Sistema de solvente: Metanol-H_2O-acetona (4:4:25),
- Revelador: Luz UV.
- Purificación del ácido hidroxámico: mediante la cromatografía en capa fina a escala preparativa.

3.5.3 *Identificación del ácido hidroxámico*

- Reacción con el tricloruro de hierro
- Cromatografía en capa fina
- Determinación del punto de fusión
- Espectroscopia IR.

3.6 Obtención del ácido hidroxámico de la dicloxacilina

3.6.1 *Obtención del haluro de ácido y éster*

En un balón esmerilado se agregó un gramo de la muestra y se añadió 40 mL de metanol absoluto, se agito durante 5 minutos, luego lentamente se agregó 10 mL de $SOCl_2$, la mezcla llevar a reflujo durante 60 minutos, enfriar, neutralizar con $NaHCO_3$, calentar para eliminar el exceso de metanol, extraer con tres porciones de diclorometano (20 mL). Se identifico el producto formado por Cromatografía en capa fina, utilizando:

- Cromatofolio de silicagel 60 GF254,
- Sistema de solvente: Metanol-H_2O-acetona (4:4:25),
- Revelador: Luz UV.
- Purificación del éster: mediante la cromatografía en capa fina a escala preparativa.
- Identificación por espectroscopia IR.

3.6.2 *Obtención del ácido hidroxámico*

Se pesaron 0,31 g éster obtenido, añadirle 10 mL de hidroxilamina, recién preparada, agitar, enfriar durante 24 horas, se filtró e identificó el producto obtenido por cromatografía en capa fina, utilizando:

- Cromatofolio de silicagel 60 GF254,
- Sistema de solvente: Metanol-H_2O-acetona (4:4:25),
- Revelador: Luz UV.
- Purificación del ácido hidroxámico: mediante la cromatografía en capa fina a escala preparativa.

3.6.3 *Identificación del ácido hidroxámico*

- Reacción con el tricloruro de hierro
- Cromatografía en capa fina
- Determinación del punto de fusión
- Espectroscopia IR.

3.7 Obtención del ácido hidroxámico de la oxacilina

3.7.1 *Obtención del haluro de ácido y éster*

En un balón esmerilado se agregó un gramo de la muestra y se añadió 40 mL de metanol absoluto, se agito durante 5 minutos, luego lentamente se agregó

10 mL de $SOCl_2$, la mezcla llevar a reflujo durante 60 minutos, enfriar, neutralizar con $NaHCO_3$, calentar para eliminar el exceso de metanol, extraer con tres porciones de diclorometano (20 mL). Se concentró e identificó el producto formado por cromatografía en capa fina, utilizando:

- Cromatofolio de silicagel 60 GF254,
- Sistema de solvente: Metanol-H_2O-acetona (4:4:25),
- Revelador: Luz UV.
- Purificación del éster: mediante la cromatografía en capa fina a escala preparativa.
- Identificación por espectroscopia IR.

3.7.2 *Obtención del Ácido Hidroxámico*

Se pesaron 0,5072 g del éster obtenido, añadirle 12,5 mL de hidroxilamina, recién preparada, agitar, enfriar durante 24 horas, se filtró e identificó el producto obtenido por cromatografía en capa fina, utilizando:

- Cromatofolio de silicagel 60 GF254,
- Sistema de solvente: Metanol-H_2O-acetona (4:4:25),
- revelador: Luz UV.
- Purificación del ácido hidroxámico: mediante la cromatografía en capa fina a escala preparativa.

3.7.3 *Identificación del Ácido Hidroxámico*

- Reacción con el tricloruro de hierro
- Cromatografía en capa fina
- Determinación del punto de fusión
- Espectroscopia IR.

3.8 Prueba de sensibilidad microbiana

Se procedió a realizar el perfil de sensibilidad antimicrobiana de acuerdo a las normas del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI), anteriormente conocido como “Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico” (NCCLS).

Los microorganismos de prueba:

Micrococcus luteus ATCC 9341

Staphylococcus epidermidis ATCC 12228

Escherichia coli ATCC 8739

El medio de cultivo fue Agar Mueller-Hinton (MHA), las colonias de la bacteria elegida crecerán en 18-24 h.

Muestras estándares: amoxicilina, ampicilina, dicloxacilina, oxacilina

Para la preparación de la solución madre y dilución se utilizaron los siguientes diluyentes:

MUESTRAS	*DILUCIONES*
Ampicilina	La solución madre y la dilución fueron preparadas con tampón fosfato pH 6.0
Amoxicilina	La solución madre se preparó con agua destilada estéril y la dilución con tampón fosfato pH 8.0
Dicloxacilina	La solución madre y la dilución fueron preparadas con tampón fosfato pH 6.0
Oxacilina	La solución madre y la dilución fueron preparadas con agua destilada estéril

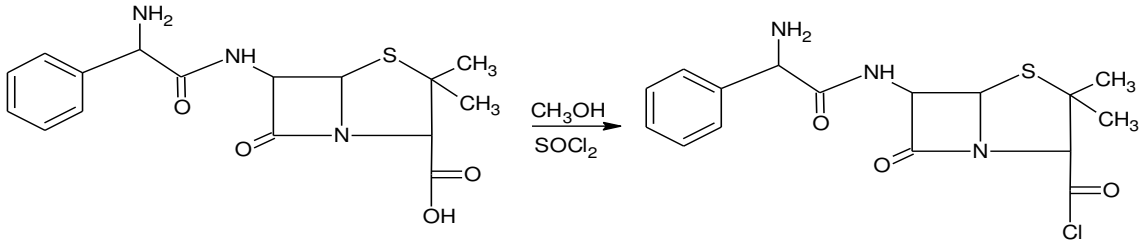
Muestras para determinar su sensibilidad antimicrobiana:
A: Acido hidroxámico ampicilina
B: Ácido hidroxámico dicloxacilina
C: Ácido hidroxámico amoxicilina
D: Ácido hidroxámico oxacilina
La preparación de las muestras se trabajó con el ácido hidroxámico del antibiótico, se diluyo en agua destilada y dimetilsulfoxido: 10 ug/mL.

CAPITULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

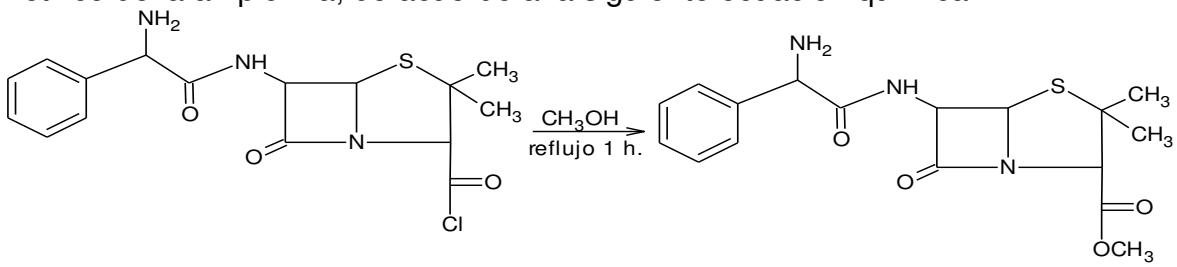
4.1 Síntesis e identificación de ácidos hidroxámicos

4.1.1 Síntesis e identificación del ácido hidroxámico de la ampicilina.

La síntesis se llevó a cabo de acuerdo a método operatorio planificado en la obtención del ácido hidroxámico de la ampicilina, la ampicilina Q.P. se le agregó metanol y cloruro de tionilo con la finalidad de transformarlo en un haluro de acilo, de acuerdo a la siguiente ecuación química:



El haluro de acilo obtenido se sometió a reflujo, sintetizándose el éster metílico de la ampicilina, de acuerdo a la siguiente ecuación química:



El éster metílico de la ampicilina se identificó por cromatografía en capa fina: teniendo como estándar a la ampicilina Q.P. El resultado de esta cromatografía fue que el éster de la ampicilina tiene un Rf=0,57 y la ampicilina estándar un Rf=0,77, datos que indican que son dos compuestos diferentes.



Fase estacionaria: cromatofolio de silicagel 60 GF254
Fase móvil: Metanol-agua-acetona (4:4:25)
Revelador: Luz UV

El éster metílico de la ampicilina se identificó mediante una espectroscopia IR, obteniéndose las siguientes bandas de absorción características (Figura 23).

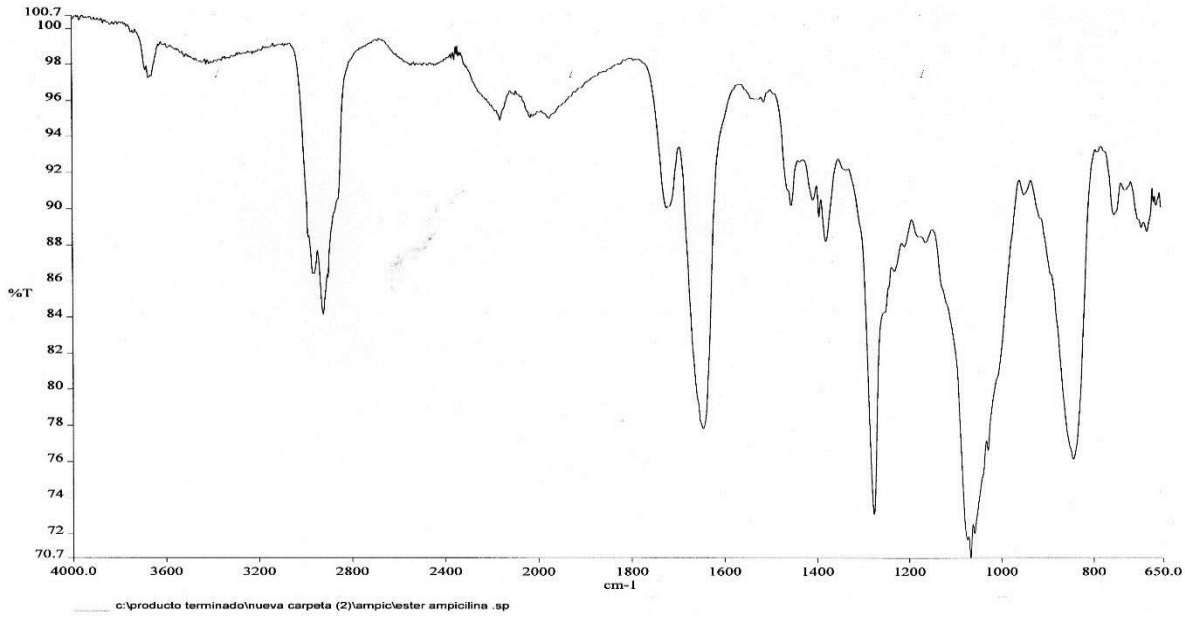
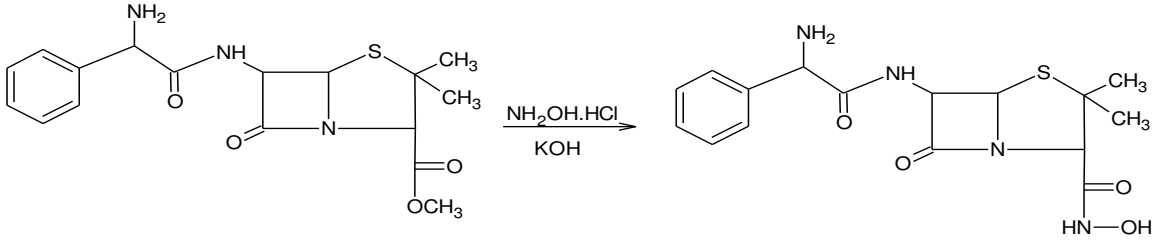


Figura 23. Espectroscopia IR del éster metílico de la ampicilina.

La síntesis del éster metílico de la ampicilina se tiene un rendimiento de 53,55%, de este compuesto se tomó una cantidad para ser tratada con hidroxilamina y obtener el ácido hidroxámico de la ampicilina. La reacción se lleva cabo entre el éster metílico de la ampicilina y la hidroxilamina, de acuerdo a la siguiente ecuación química:



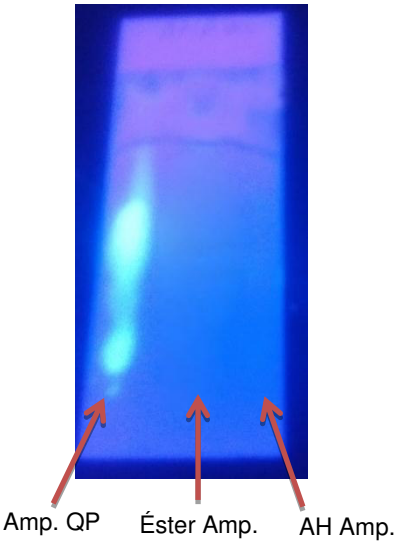
El ácido hidroxámico de la ampicilina fue identificado por reacciones químicas y espectroscopia IR, teniendo un rendimiento del 18%.

La reacción con el tricloruro de hierro permitió observar la presencia de un color rojo que indica la formación del ácido hidroxámico, esta es una reacción característica de identificación de ácido hidroxámico.



Cromatografía en capa fina: se comparó la ampicilina Q.P., con el éster metílico de la ampicilina y el ácido hidroxámico, teniendo los siguientes resultados:

- ✓ Rf de ampicilina QP: 0,90,
- ✓ Rf del éster metílico de ampicilina: 0,93,
- ✓ Rf del ácido hidroxámico: 0,86.



Fase estacionaria: cromatofolio de silicagel 60 GF254
Fase móvil: Metanol-agua-acetona (4:4:25)
Revelador: Luz UV

El punto de fusión del ácido hidroxámico fue de: 190 °C con descomposición.

La espectroscopia IR realizada al ácido hidroxámico (Figura 24) se hizo con el objetivo de identificar bandas de absorción características de 2369,29 – 3347,57 cm^{-1} que corresponden a grupos –OH, NH, CH; 1640,48 – 1706,79 cm^{-1} que corresponden a CONHOH; 1554,23 grupo NH; 1271,84, 1119.99, 1046,49, 1014,33 que indican la presencia de C –N, aromáticos. Estos datos permiten postular la presencia del ácido hidroxámico de ampicilina.

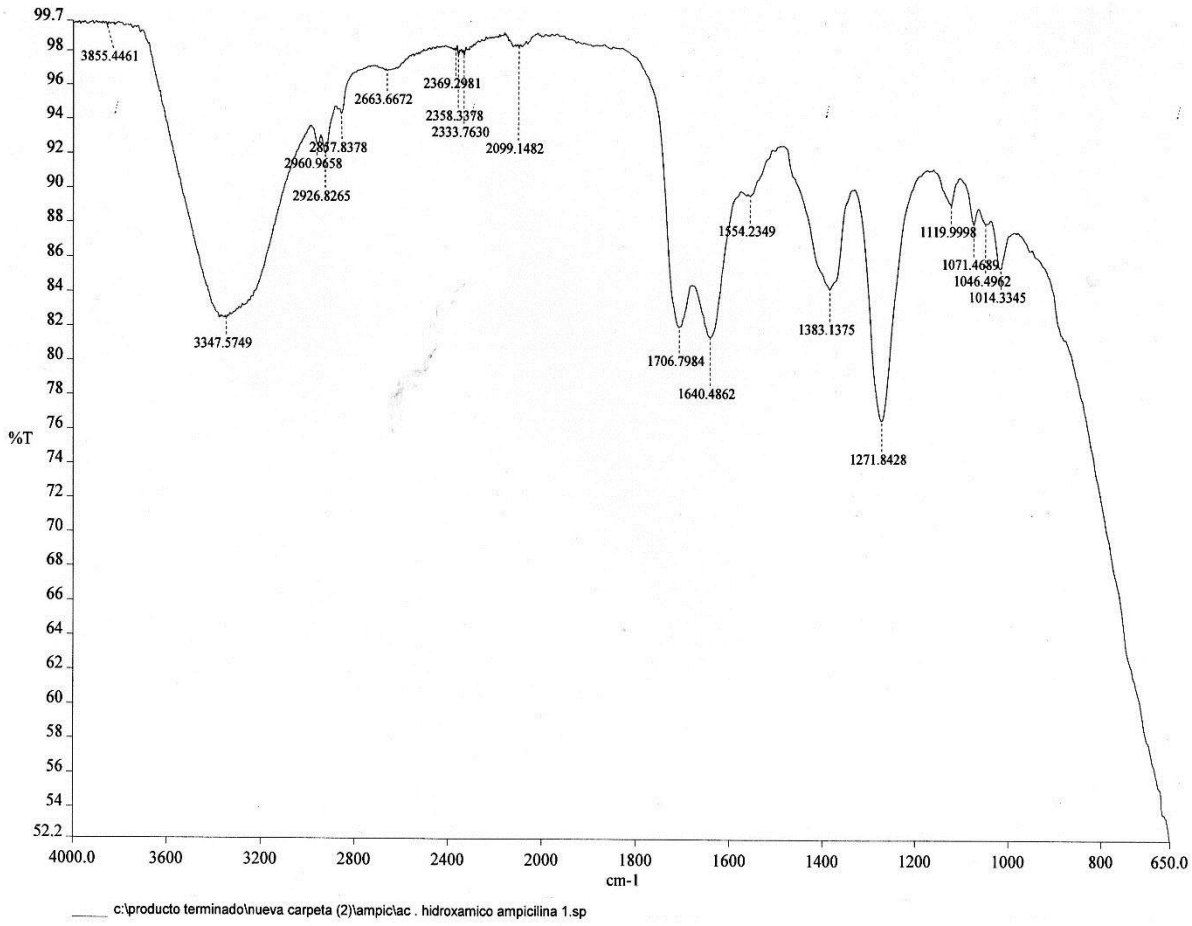


Figura 24. Espectroscopia IR del ácido hidroxámico de la ampicilina.

Para evidenciar que se habían sintetizado el éster metílico de la ampicilina y el ácido hidroxámico, se hicieron una comparación de los espectros IR, observando que los factores de correlación son diferentes (Figura 25).

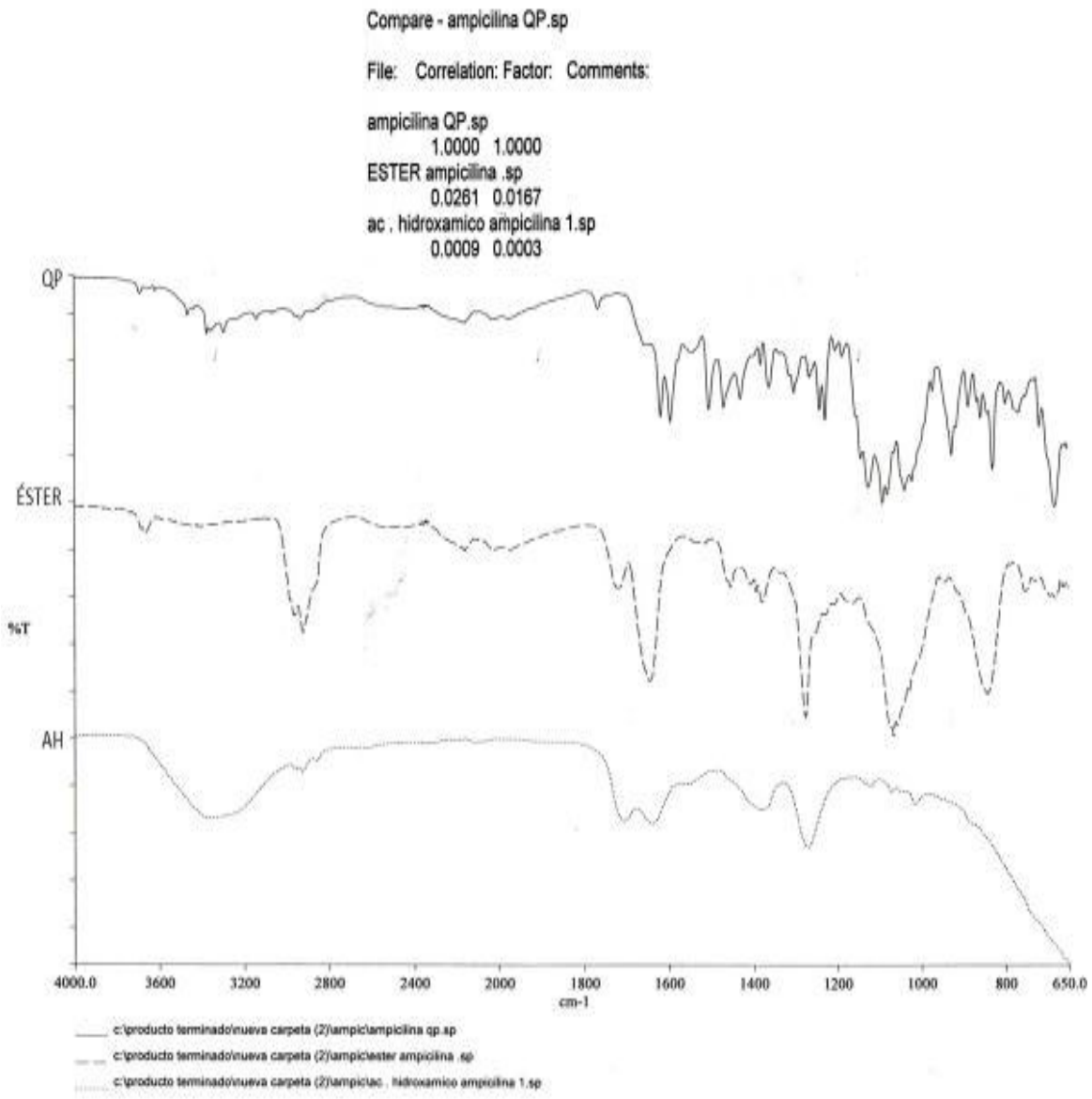
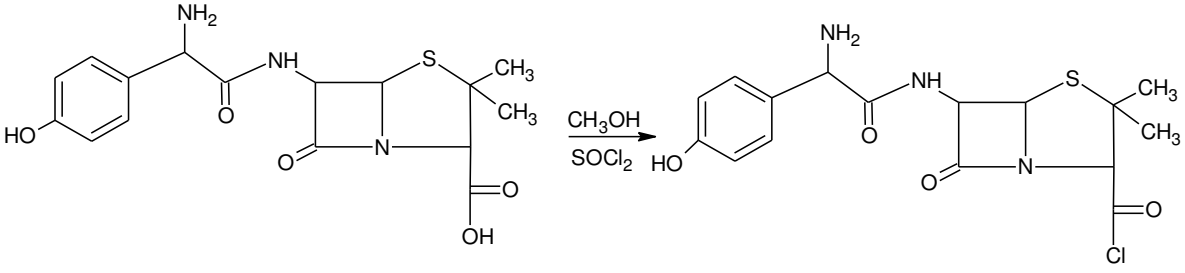


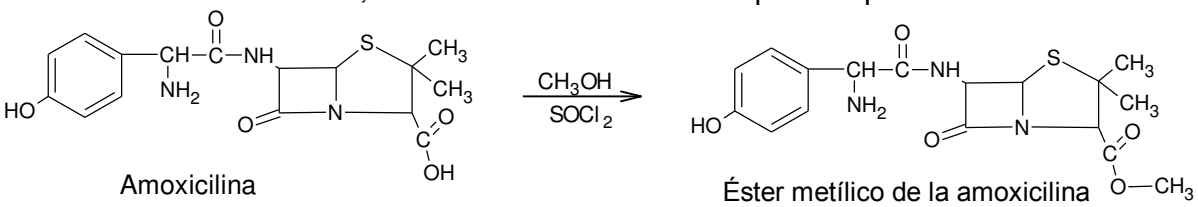
Figura 25. Espectroscopia IR para determinar el coeficiente de correlación.

4.1.2 Síntesis e identificación del ácido hidroxámico de la amoxicilina.

En la obtención del ácido hidroxámico de la amoxicilina, la amoxicilina Q.P. se le agrega metanol y cloruro de tionilo, con la finalidad de transformarlo en un haluro de acilo, de acuerdo a la siguiente ecuación química:



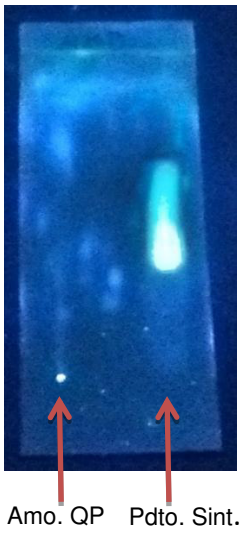
El haluro de acilo obtenido se sometió a reflujo, sintetizándose el éster metílico de la amoxicilina, de acuerdo a la ecuación química planteada:



Amoxicilina

Éster metílico de la amoxicilina

El éster metílico de la amoxicilina se identificó por cromatografía en capa fina: teniendo como estándar a la ampicilina Q.P. el resultado de esta cromatografía fue que el éster de la amoxicilina tiene un Rf=0,58 y la amoxicilina estándar un Rf=0,71, datos que indican que son dos compuestos diferentes.



Fase estacionaria: cromatofolio de silicagel 60 GF254
Fase móvil: Metanol-agua-acetona (4:4:25)
Revelador: Luz UV

El éster metílico de la amoxicilina se identificó mediante espectroscopia IR, obteniéndose las siguientes bandas de absorción característica (Figura 26).

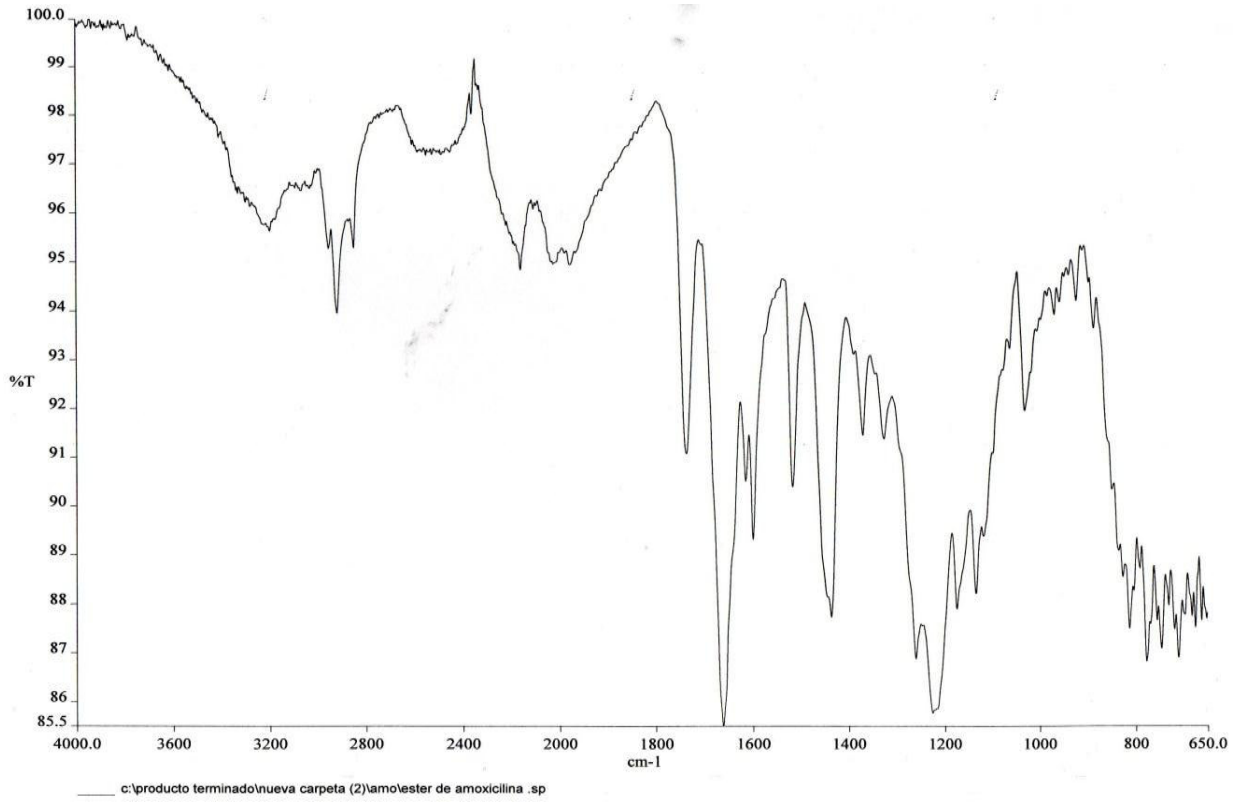
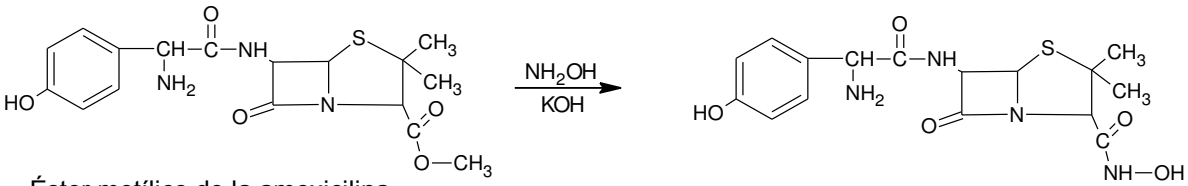


Figura 26. Espectroscopia IR del éster metílico de la amoxicilina.

La síntesis del éster metílico de la amoxicilina tiene un rendimiento de 50,55%, de este compuesto se tomó una cantidad para ser tratado con la hidroxilamina y obtener el ácido hidroxámico de la amoxicilina. La reacción se lleva cabo entre el éster metílico de la amoxicilina y la hidroxilamina, de acuerdo a la siguiente ecuación química:

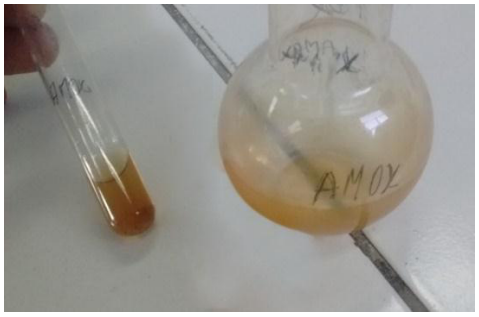


Éster metílico de la amoxicilina

Ácido hidroxámico de la amoxicilina

El ácido hidroxámico de la amoxicilina fue identificado por reacciones químicas y espectroscopia IR, teniendo un rendimiento del 30%.

Reacción con el tricloruro de hierro permitió observar la presencia de un color rojo que indica la formación del ácido hidroxámico, esta es una reacción característica de identificación del ácido hidroxámico.



Cromatografía en capa fina: se comparó la amoxicilina Q.P., con el éster metílico de amoxicilina y el ácido hidroxámico, teniendo los siguientes resultados:

- ✓ Rf de amoxicilina estándar: 0,79,
- ✓ Rf del éster metílico de amoxicilina: 0,81,
- ✓ Rf del ácido hidroxámico: 0,77.



Fase estacionaria: cromatofolio de silicagel 60 GF254
Fase móvil: Metanol-agua-acetona (4:4:25)
Revelador: Luz UV

El punto de fusión del ácido hidroxámico fue de: 230 °C con descomposición.

Espectroscopia IR realizada al ácido hidroxámico (Figura 27) se hizo con el objetivo de identificar bandas de absorción características de 2361,22 – 3251,55 cm^{-1} que corresponden a grupos –OH, NH, CH; 1600,01 – 1713,36 cm^{-1} que corresponden a CONHOH; 1557,63 grupo NH; 1379,04 grupo OH aromáticos; 1271,84, 1123,36, 1040,31, 1015,33, 952,85, 704,48 que indican la presencia de C –N, aromáticos. Estos datos permiten postular la presencia del ácido hidroxámico de amoxicilina.

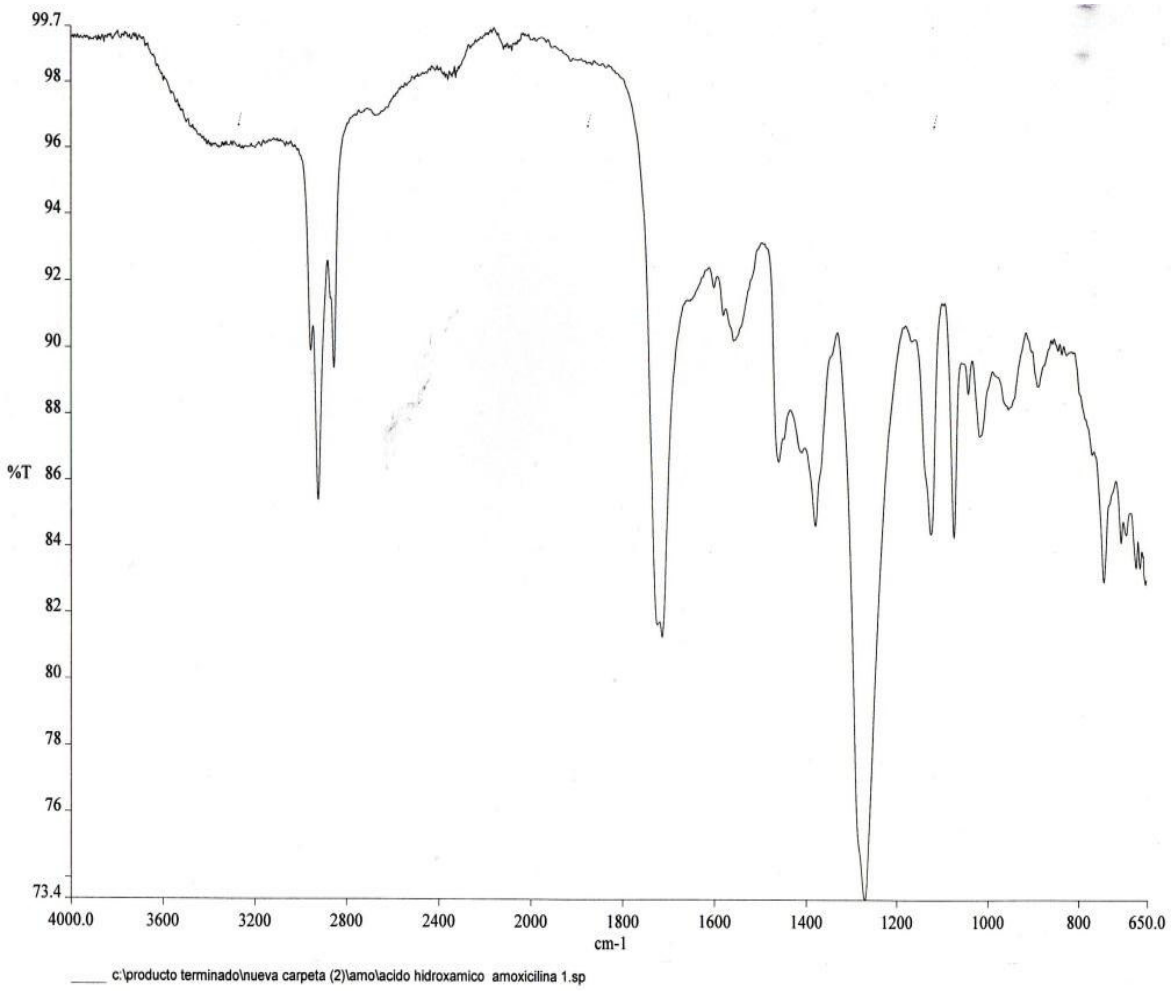


Figura 27. Espectroscopia IR del ácido hidroxámico de la amoxicilina.

Para evidenciar que se habían sintetizado el éster metílico de la amoxicilina y el ácido hidroxámico, se hicieron una comparación de los espectros IR, observando que los factores de correlación son diferentes. (Figura 28).

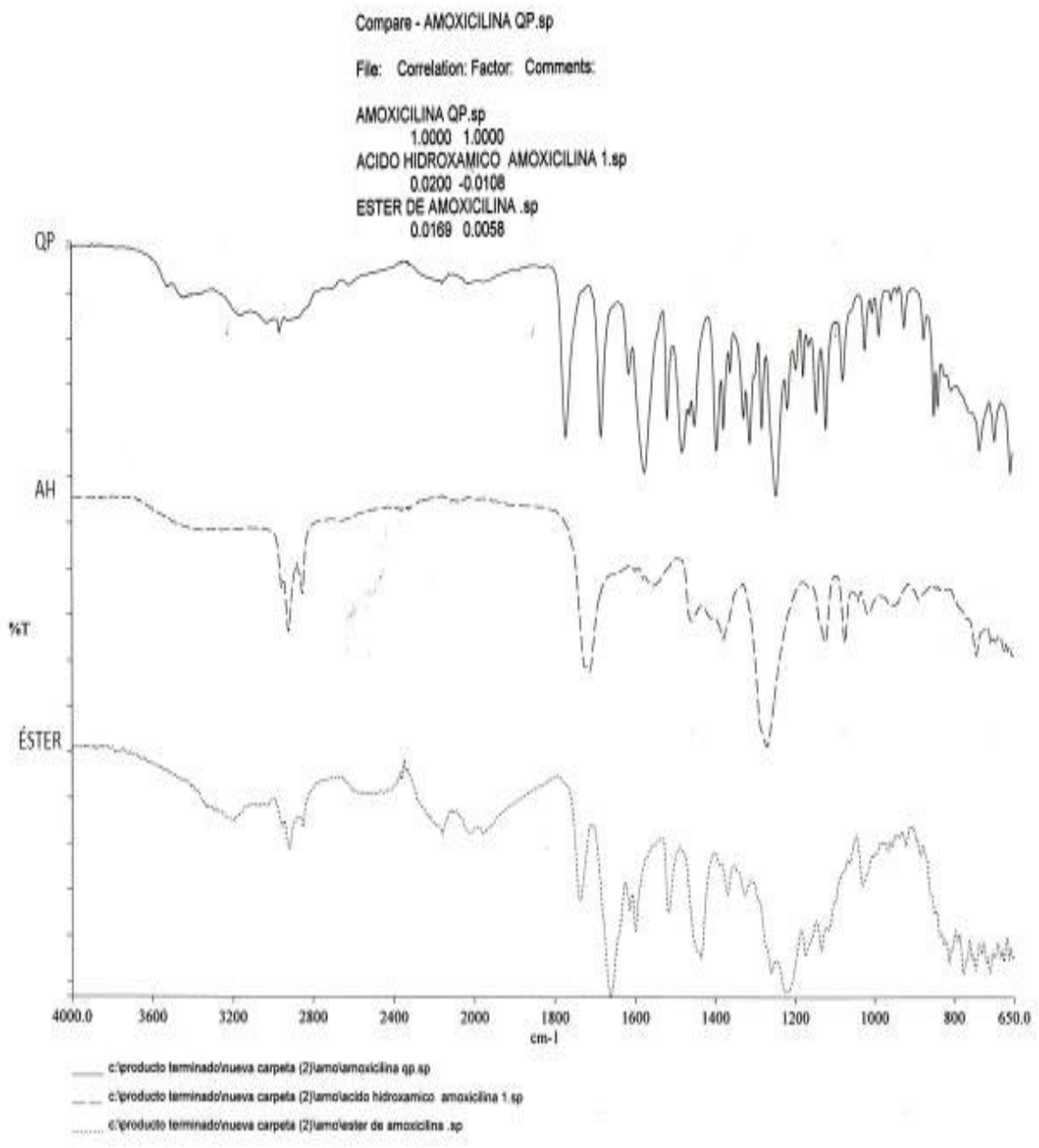
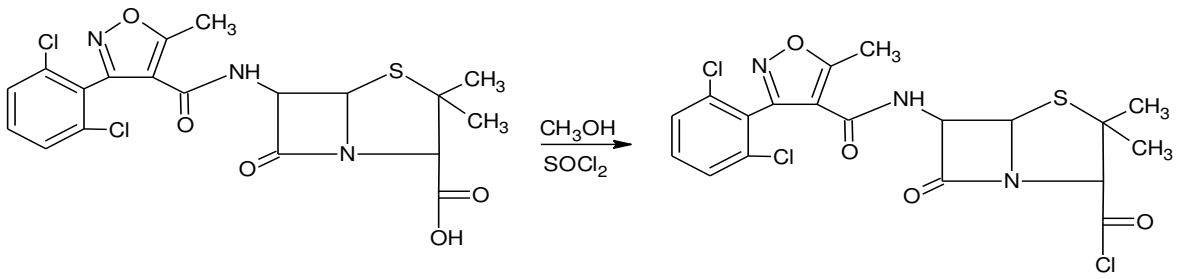


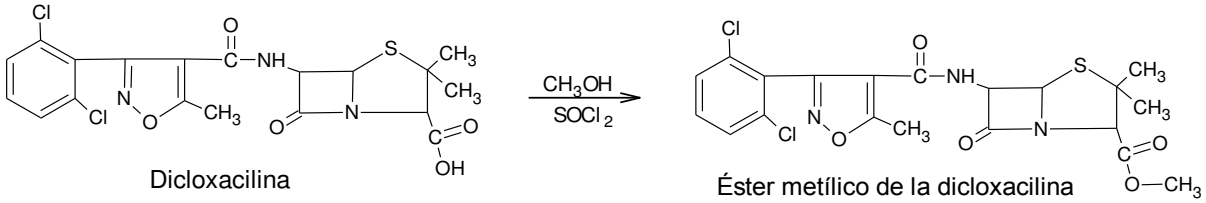
Figura 28. Espectroscopia IR para determinar el coeficiente de correlación.

4.1.3 Síntesis e identificación del ácido hidroxámico de la dicloxacilina.

En la síntesis del ácido hidroxámico de la dicloxacilina, la dicloxacilina Q.P. se agregó metanol y cloruro de tionilo con la finalidad de transformarlo en un haluro de acilo, de acuerdo a la siguiente ecuación química:



El haluro de acilo obtenido se sometió a reflujo, sintetizándose el éster metílico de la dicloxacilina, de acuerdo a la siguiente ecuación química:



Dicloxacilina

Éster metílico de la dicloxacilina

El éster metílico de la dicloxacilina se identificó por cromatografía en capa fina: teniendo como estándar a la dicloxacilina Q.P. el resultado de esta cromatografía fue que el éster de la dicloxacilina tiene un Rf=0,83 y la dicloxacilina estándar un Rf=0,76, datos que indican que son dos compuestos diferentes.



Fase estacionaria: cromatofolio de silicagel 60 GF254
Fase móvil: Metanol-agua-acetona (4:4:25)
Revelador: Luz UV

El éster metílico de la dicloxacilina se identificó mediante espectroscopia IR, obteniéndose las siguientes bandas de absorción características (Figura 29).

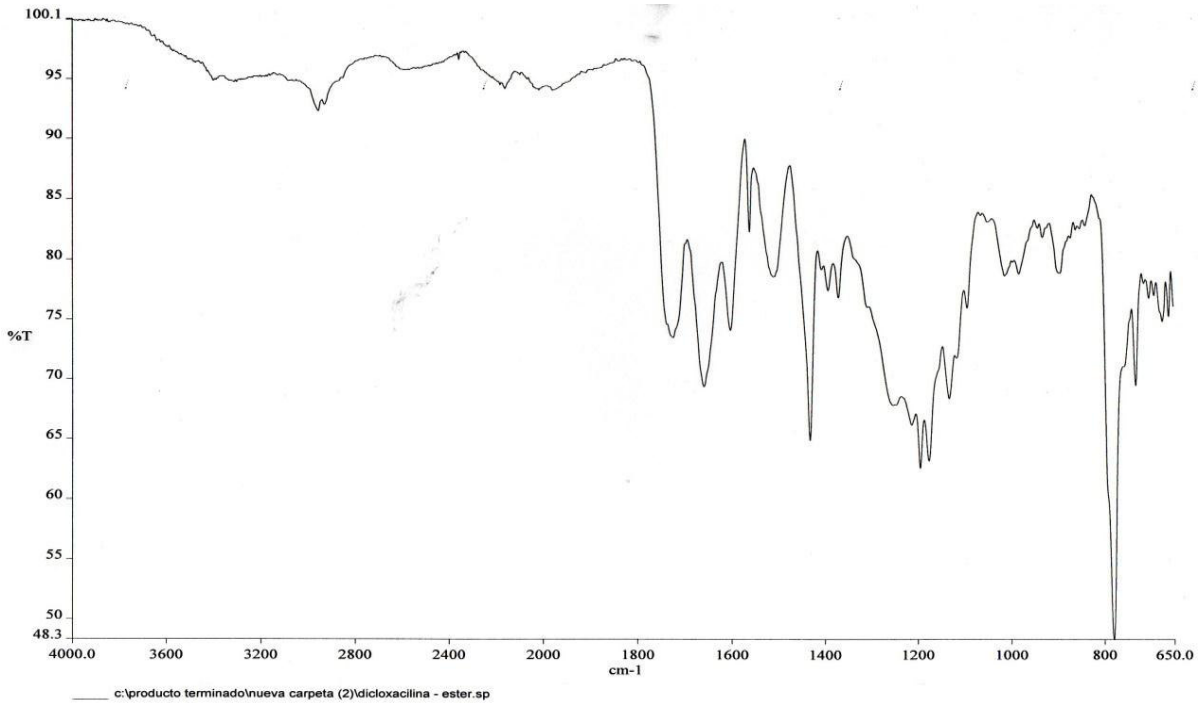
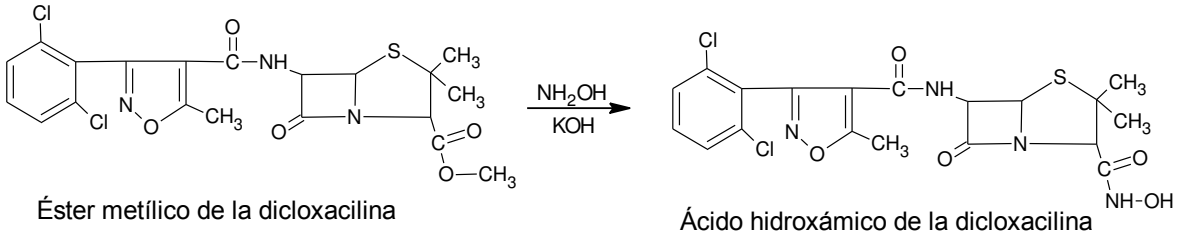


Figura 29. Espectroscopia IR del éster metílico de la dicloxacilina.

La síntesis del éster metílico de la dicloxacilina tiene un rendimiento de 50,00%, de este compuesto se tomó una cantidad para ser tratada con hidroxilamina y obtener el ácido hidroxámico de la dicloxacilina. La reacción se lleva cabo entre el éster metílico de la dicloxacilina y la hidroxilamina, de acuerdo a la siguiente ecuación química:

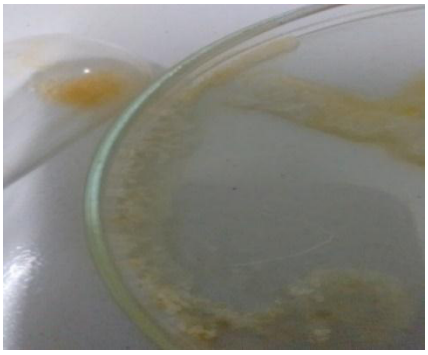


Éster metílico de la dicloxacilina

Ácido hidroxámico de la dicloxacilina

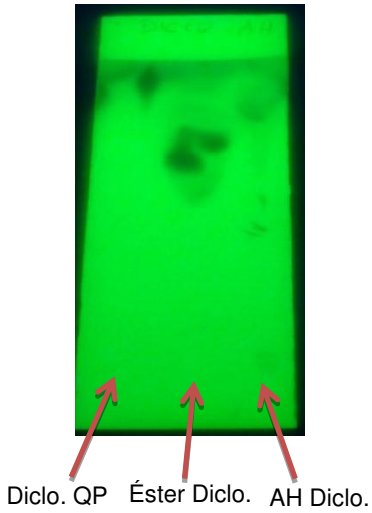
El ácido hidroxámico de la dicloxacilina fue identificado por reacciones químicas y espectroscopia IR, teniendo un rendimiento del 20%.

La reacción con el tricloruro de hierro permitió observar la presencia de un color rojo que indica la formación del ácido hidroxámico, esta es una reacción característica de identificación del ácido hidroxámico.



Cromatografía en capa fina: se comparó la dicloxacilina Q.P., con el éster de dicloxacilina y el ácido hidroxámico, teniendo los siguientes resultados:

- ✓ Rf de dicloxacilina estándar: 0,81,
- ✓ Rf del éster metílico de dicloxacilina: 0,86,
- ✓ Rf del ácido hidroxámico: 0,84.



Fase estacionaria: cromatofolio de silicagel 60 GF254
Fase móvil: Metanol-agua-acetona (4:4:25)
Revelador: Luz UV

El punto de fusión del ácido hidroxámico fue de: 186,6 °C con descomposición.

Espectroscopia IR, realizada al ácido hidroxámico (Figura 30) se hizo con el objetivo de identificar bandas de absorción características de 2356,24 – 3181,32 cm^{-1} que corresponden a grupos –OH, NH, CH; 1602,69 – 1713,59 cm^{-1} que corresponden a CONHOH; 1561,30 grupo NH; 1371,04, 1307,75 grupo NH sustituidos; 1229,81, 1177,08, 1092,31, 1012,97, 932,77, 731,31, 656,25 (C - Cl) indican la presencia de C –N, aromáticos. Estos datos permiten postular la presencia del ácido hidroxámico de dicloxacilina.

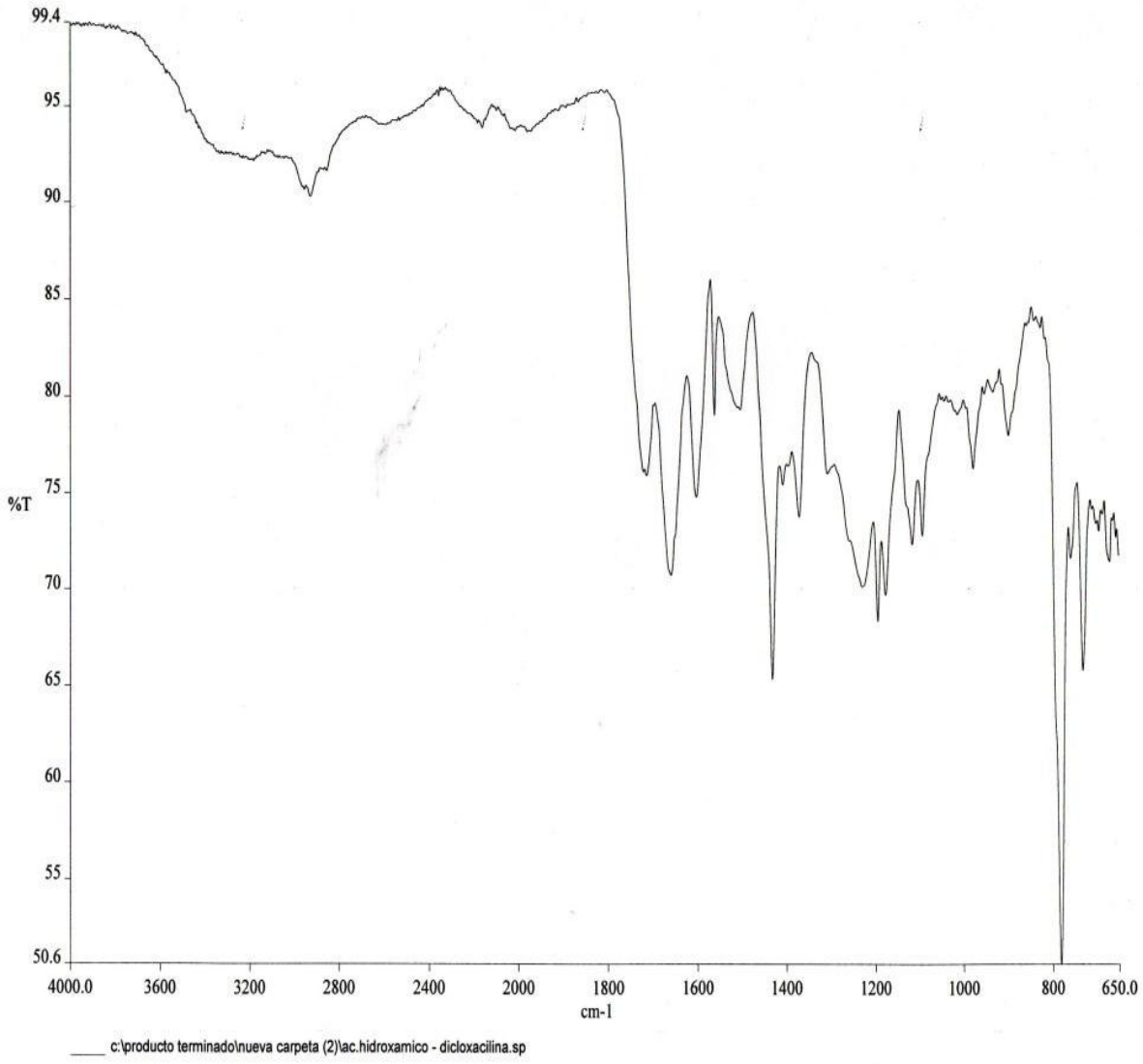


Figura 30. Espectroscopia IR del ácido hidroxámico de la dicloxacilina.

Para evidenciar que se habían sintetizado el éster metílico de la dicloxacilina y el ácido hidroxámico, se hicieron una comparación de los espectros IR, observando que los factores de correlación son diferentes (Figura 31).

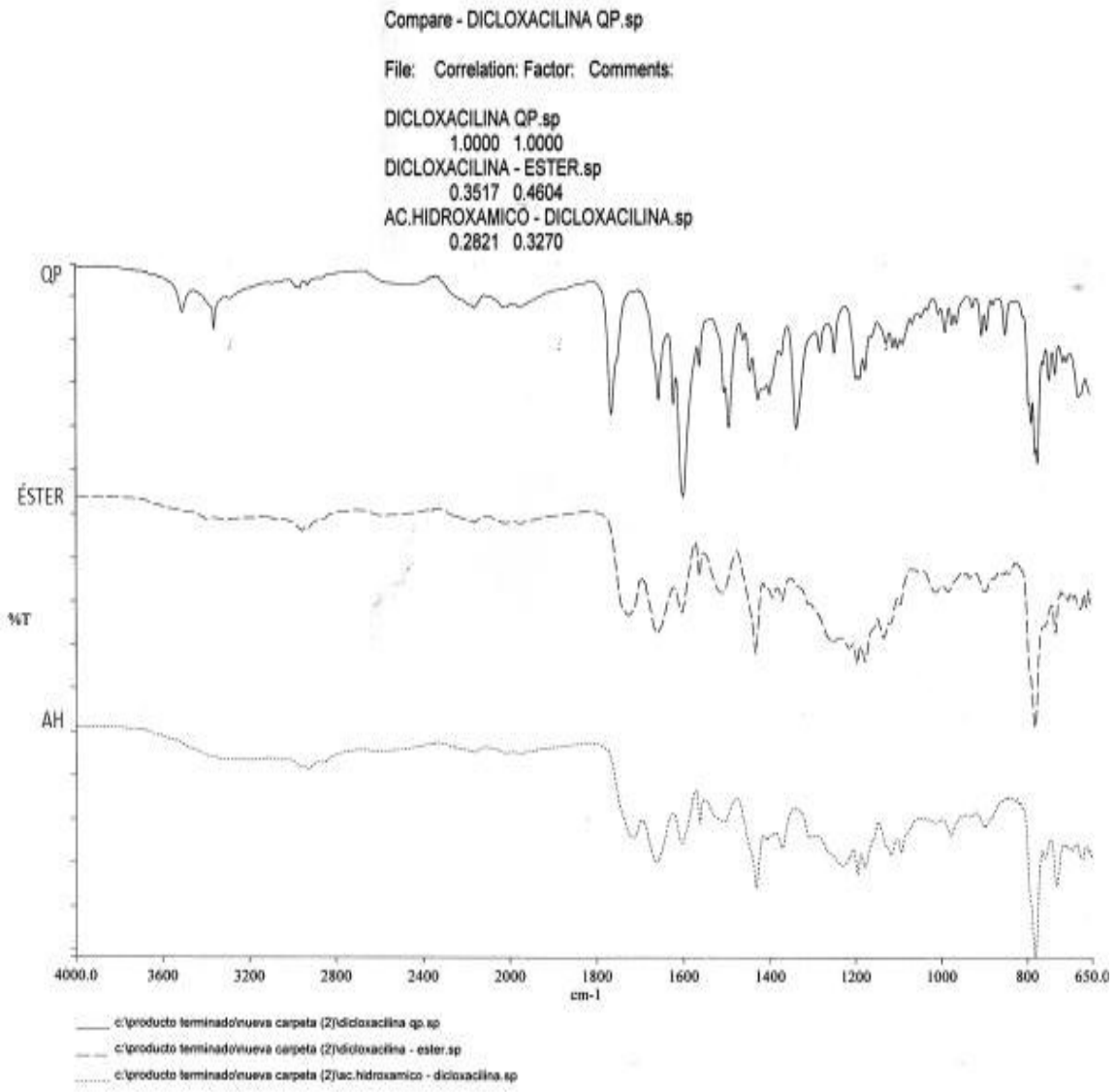
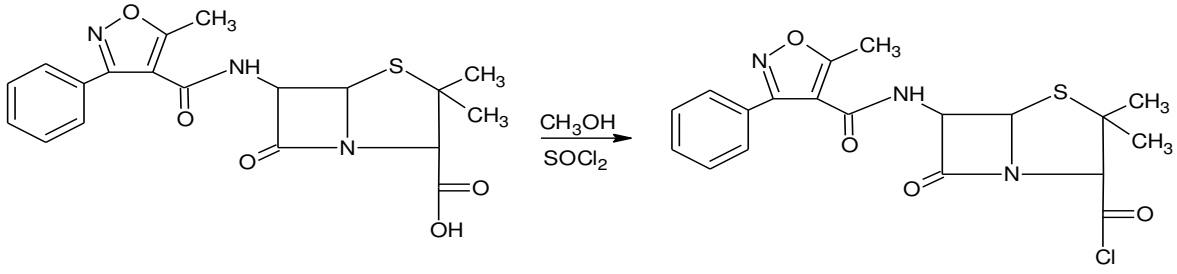


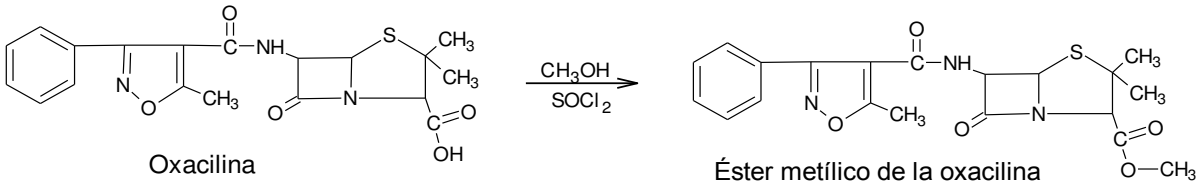
Figura 31. Espectroscopia IR para determinar el coeficiente de correlación.

4.1.4 Síntesis e identificación del ácido hidroxámico de la oxacilina.

En la síntesis del ácido hidroxámico de la oxacilina, a la oxacilina Q.P. se le agregó metanol y cloruro de tionilo con la finalidad de transformarlo en un haluro de acilo, de acuerdo a la siguiente ecuación química:



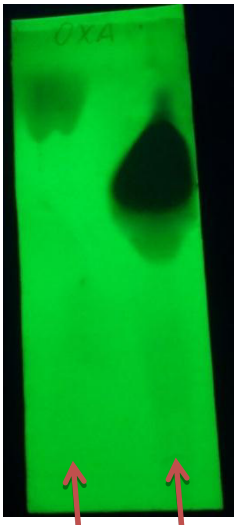
El haluro de acilo obtenido se sometió a reflujo, sintetizándose el éster metílico de la oxacilina, de acuerdo a la siguiente ecuación química:



Oxacilina

Éster metílico de la oxacilina

El éster metílico de la oxacilina se identificó por cromatografía en capa fina: teniendo como estándar a la oxacilina Q.P. El resultado de esta cromatografía fue que el éster de la oxacilina tiene un Rf=0,70 y la oxacilina estándar un Rf=0,87, datos que indican que son dos compuestos diferentes.



Fase estacionaria: cromatofolio de silicagel 60 GF254
Fase móvil: Metanol-agua-acetona (4:4:25)
Revelador: Luz UV

El éster metílico de la oxacilina se identificó mediante espectroscopia IR, obteniéndose las siguientes bandas de absorción características (Figura 32).

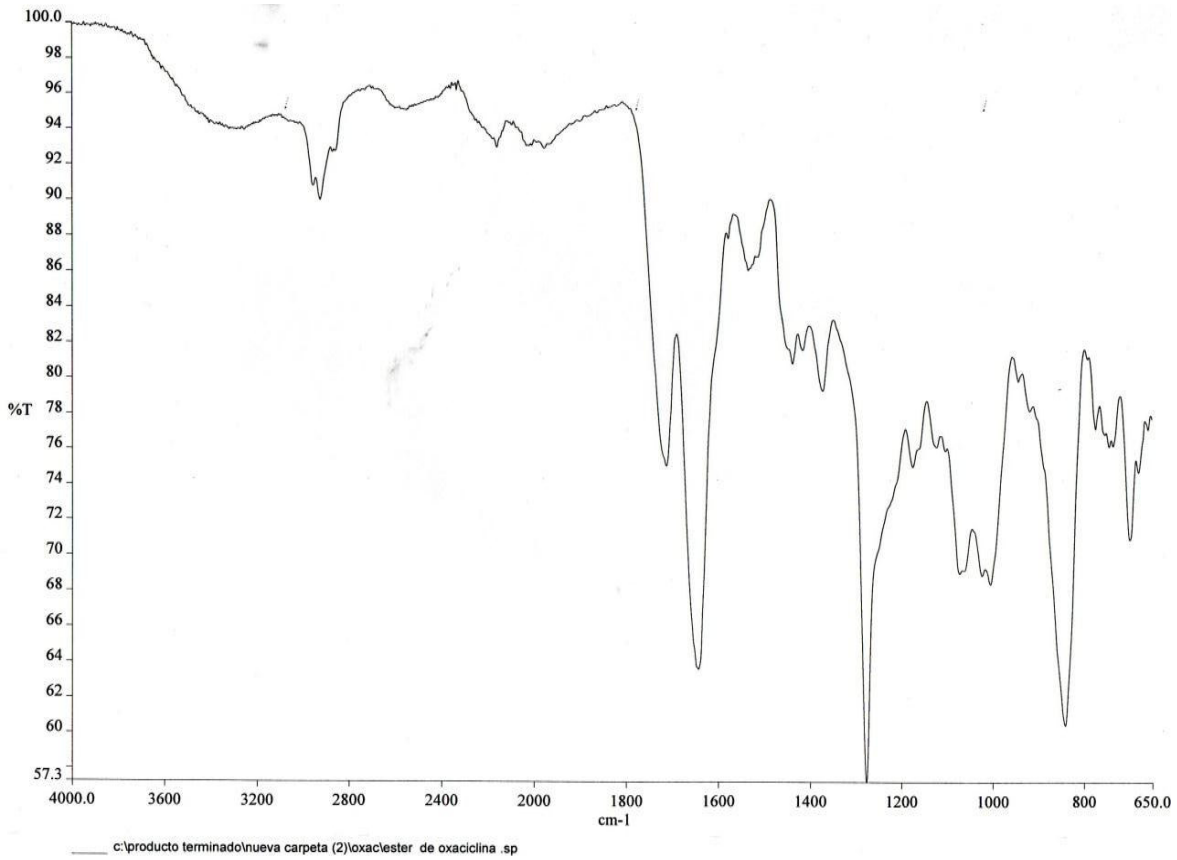
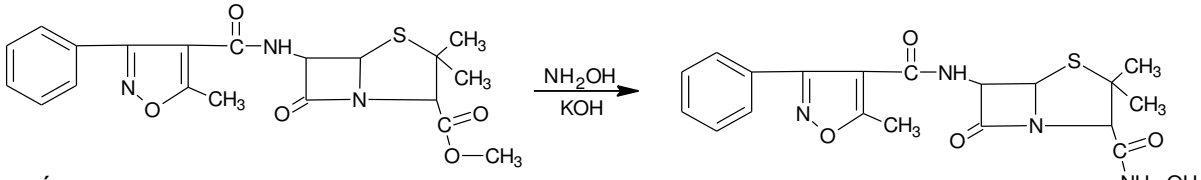


Figura 32. Espectroscopia IR del ester metílico de la oxacilina.

La síntesis del éster metílico de la oxacilina se tiene un rendimiento de 55,00%; de este compuesto se tomó una cantidad para ser tratada con hidroxilamina y obtener el ácido hidroxámico de la oxacilina. La reacción se llevó cabo entre el éster metílico de la oxacilina y la hidroxilamina, de acuerdo a la siguiente ecuación química:

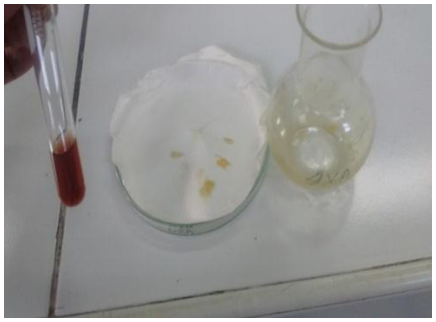


Éster metílico de la oxacilina

Ácido hidroxámico de la oxacilina

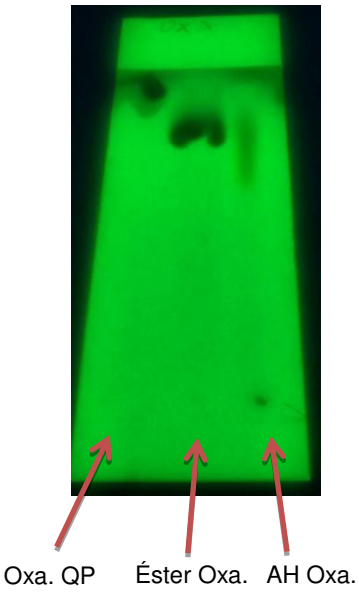
El ácido hidroxámico de la oxacilina fue identificado por reacciones químicas y espectroscopia IR, teniendo un rendimiento del 25%.

La reacción con el tricloruro de hierro permitió observar la presencia de un color rojo que indica la formación del ácido hidroxámico, esta es una reacción característica de identificación de ácido hidroxámico.



Cromatografía en capa fina: se comparó con el estándar de oxacilina Q.P., con el éster metílico de oxacilina y el ácido hidroxámico, teniendo los siguientes resultados:

- ✓ Rf de oxacilina estándar: 0,81,
- ✓ Rf del éster de oxacilina: 0,90,
- ✓ Rf del ácido hidroxámico: 0,86.



Fase estacionaria: cromatofolio de silicagel 60 GF254
Fase móvil: Metanol-agua-acetona (4:4:25)
Revelador: Luz UV

El punto de fusión del ácido hidroxámico fue de: 191,4 °C con descomposición.

Espectroscopia IR, realizada al ácido hidroxámico (Figura 33) se hizo con el objetivo de identificar bandas de absorción características de 2357,85 – 3381,58 cm^{-1} que corresponden a grupos –OH, NH, CH; 1642,71 cm^{-1} que corresponden a CONHOH; 1560,77 grupo NH; 1377,13, grupo NH sustituidos; 1264,34, 1173,07, 1075,37, 976,49, 876,75, 746,96, 693,73 indican la presencia de C –N, aromáticos, estos datos permiten postular la presencia del ácido hidroxámico de oxacilina.

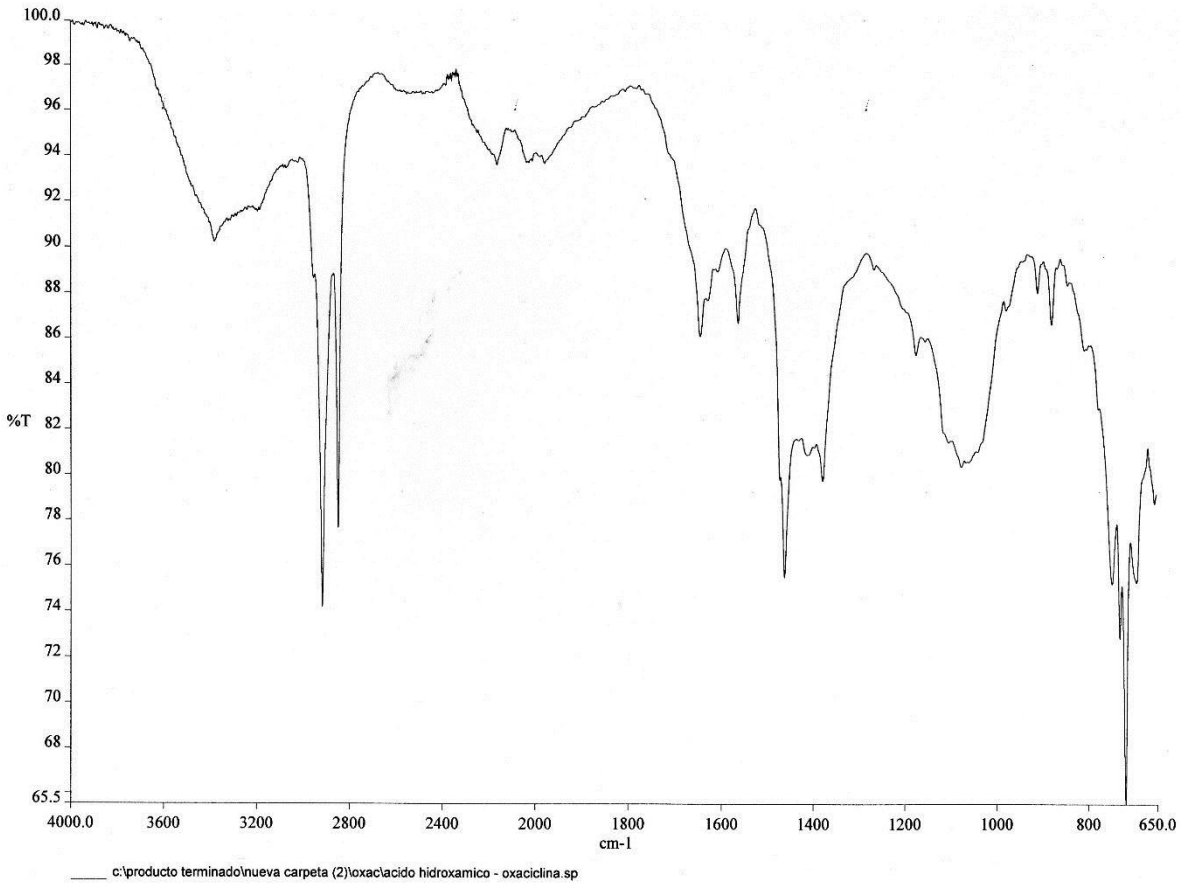


Figura 33. Espectroscopia IR del ácido hidroxámico de la oxacilina

Para evidenciar que se habían sintetizado el éster metílico de la dicloxacilina y el ácido hidroxámico, se hicieron una comparación de los espectros IR, observando que los factores de correlación son diferentes (Figura 34).

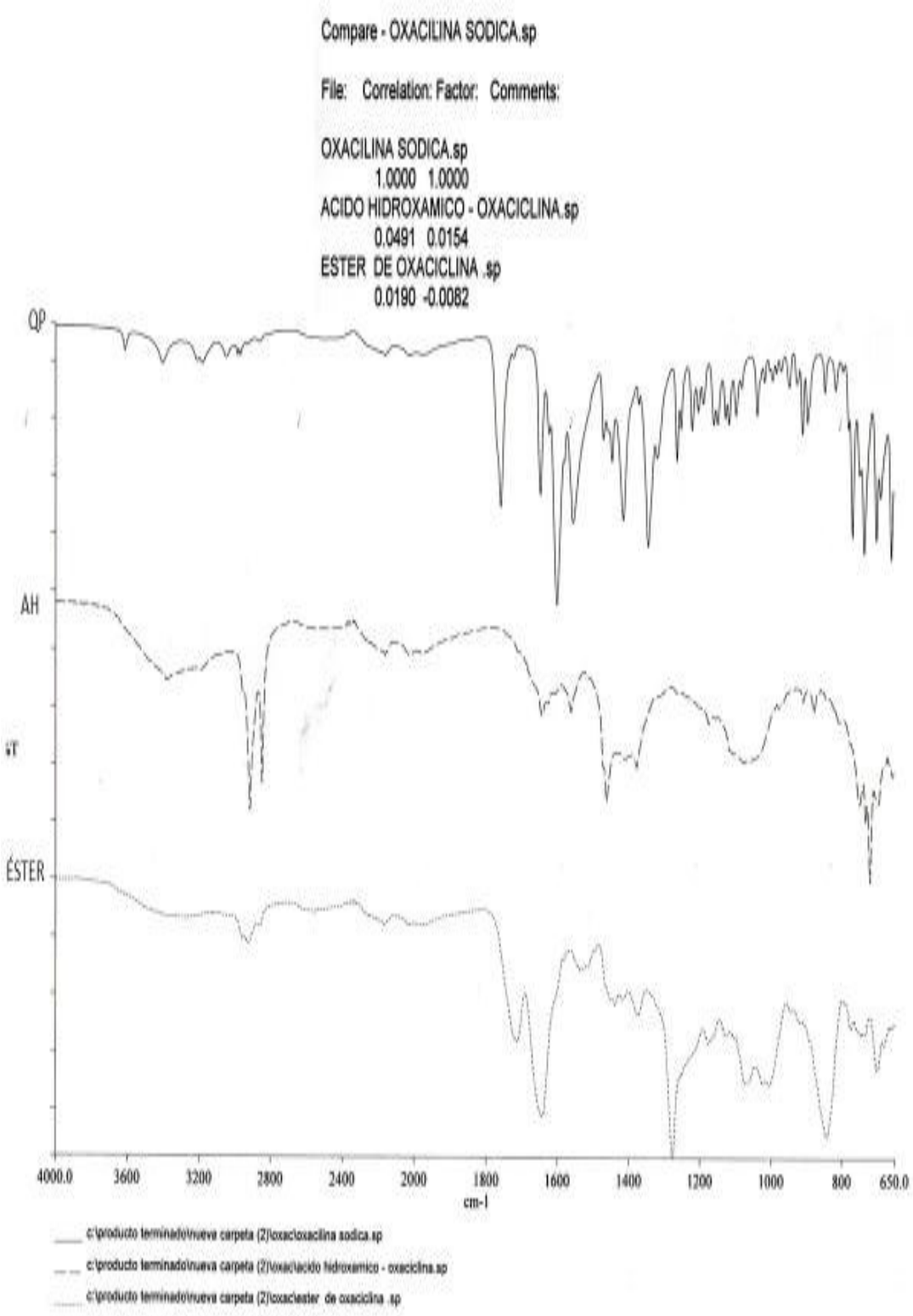


Figura 34. Espectroscopia IR para determinar el coeficiente de correlación

Cuando se inició el trabajo de investigación se realizaron varios métodos de síntesis, de acuerdo a los trabajos publicados algunos de ellos los resultados fueron negativos, el método empleado para síntesis del éster y luego del ácido hidroxámico debe ser correlativo para asegurar la formación del ácido

hidroxámico, por eso se aplicó de acuerdo a los trabajos que reportaron Muri en el (2003 y 2004), Lee-Ruff et al.(1987) y Hanessian et al.,(2001), que partieron del ácido tiazol acético. Ling et al. (2015) diseñan y sintetizan una nueva serie de hibridos de β-carbolina sustituidas y sintetizan ácidos hidroxámicos, métodos operatorios que concuerdan con la técnica realiza para este presente trabajo, para la identificación del producto formado se utilizaron las técnicas conocidas como la cromatografía en capa fina, reacciones químicas característica para identificar ácidos hidroxámicos con solución de tricloruro de hierro técnica que se encuentra en los manuales de práctica de química orgánica, para determinar los puntos de fusión se hizo con un fusiómetro digital automático Stuart modelo SMP20, estos puntos de fusión fueron comparados con los publicados por Garrinson (1987), si bien no eran los mismos compuestos se tiene la idea de los valores que podríamos encontrar, como por ejemplo del ácido 4-acil-N-fenil acetohidroxámico cuyo punto de fusión es 142,5 – 143,5 y también indicaba el Rf de 0,46, en la determinación del ácido hidroxámico por espectroscopía IR, es base en las publicaciones realizadas por Hines et al (1977) realiza la síntesis del 3-Hydroxyisoxazole-5- hydroxamic Acid y reporta los valores mp: 202-203.5 °C dec; IR: 3400-2400 (-OH,-NH-),1655 (-CONHOH), 1625,1530,1465,935 cm-' y también del Chlorofumarodihydroxamic Acid reportando los valores de mp: 156-157 "C dec; IR: 1650-1610 (-CONHOH), 1520 cm-' (C=C). Gediya (2005) Suberyolanilide Hydroxamic Acid (SAHA) reporta los siguientes valores mp:159-160,5 °C; IR: 3310, 3267, 2853, 1660, 1614, 1598, 1530, 1464, 1443, 1376, 1316, 976, 761, 703, 573 cm-1. Huang (2011) realiza la síntesis de Ethanesulfonylhydroxamic Acid quien reporta las absorbancias de IR: 3404, 3238, 1333, 1157 cm^{-1} (tabla N° 1).

Tabla N° 1 Comparación de los valores de absorción de espectros IR

	AH-Amp	AH-Amo	AH-Diclo	AH-Oxa	Hines	Hines	Gediya	Huang
OH, NH, CH	**3347,57**	3251,55	3181,32	3381,58	3400	3400	3310	3404,
	2857.83	2855.27	2926.38	2848.83	2400	2400	3267	3238,
	2369,29	2361,22	2356,24	2357,85	1655	1655, 1625	2853	1333, 1157
CONHOH	**1706,79**	1713,36	1713,59	1642,71	1625	1530,	1660	Ethane
	1640,48	1600,01	1602,69	1560,77	1530	1465,	1614	sulfonyl
NH →	**1554,23**	1557,63	1561,30	1461.73	1465	935	1598	hydroxami
NH-SUST →	**1383.13**	1459.32	1503.16	1411.03	935	3-Hydroxy	1530	c Acid
	1271,84	1379,04*	1431.52	1377,13	Chloro	isoxazole-	1464	
	1119.99	1271,84	1371,04	1264,34	fumarod	5-	1443	
	1046,49	1123,36	1307,75	1173,07	i	hydroxami	1376	
CH, NH, Ar	**1014,33**	1040,31	1229,81	1075,37	hydroxa	c Acid	1316	
		1015,33	1177,08	976,49,	mic		976	
		952,85,	1092,31	876,75,	Acid		761	
		704,48	1012,97	746,96,			703	
			932,77,	693,73			573	
			731,31,				(SAHA)	
			656,25*					
		OH-Ar*	C-Cl*					

La mayor cantidad de estos valores concuerdan o están muy cercanos por lo que llegamos a la conclusión que se obtuvieron los ácidos hidroxámicos propuestos en nuestro objetivo general. Finalmente manifestar que durante toda la búsqueda bibliográfica no se ha encontrado trabajos relacionados a los ácidos hidroxámicos de núcleo 6-aminopenicilanico.

4.2 Evaluación de la actividad antimicrobiana.

El medio de cultivo utilizado el Agar Mueller Hinton, dada la experiencia en estudios de susceptibilidad, su reproducibilidad es aceptable, el crecimiento de patógenos no exigentes es satisfactorio, luego estos son enfrentados con el antimicrobiano (ácido hidroxámico), este se difunde en el agar donde inhibe el crecimiento de los organismos, el cual es evidenciado por la formación de halos de inhibición.

De acuerdo al tamaño de los halos de inhibición podemos concluir basados en el método de Kirby-Bauer (Cavalieri et al,2005). Los resultados encontrados en el análisis se representan en la Tabla N° 2:

Tabla N° 2. Resultados de la actividad antimicrobiana de los ácidos hidroxámicos

Producto de Síntesis / *MICROORGANISMO*	*Ácido hidroxámico de ampicilina*	*Ácido hidroxámico de dicloxacilina*	*Ácido hidroxámico de amoxicilina*	*Ácido hidroxámico de oxacilina*
Micrococcus luteus ATCC 9341	*12 mm*	*0 mm*	*14mm*	*20 mm*
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228	*0 mm*	*0 mm*	*13 mm*	*15 mm*
Escherichia coli ATCC 8739	*15 mm*	*16 mm*	*0 mm*	*13 mm*

Muestras para determinar su sensibilidad antimicrobiana:

Basados en el método de Kirby-Bauer los clasifica en: resistente (R), intermedio (I) o susceptible (S), de acuerdo al tamaño de los halos de inhibición, podemos observar en la Tabla N° 3.

Tabla N° 3. Resultados de los perfiles de sensibilidad antimicrobiana.

Producto de Síntesis / *MICROORGANISMO*	*Ácido hidroxámico de ampicilina*	*Ácido hidroxámico de dicloxacilina*	*Ácido hidroxámico de amoxicilina*	*Ácido hidroxámico de oxacilina*
Micrococcus luteus ATCC 9341	*I*	*R*	*I*	*R*
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228	*R*	*R*	*R*	*I*
Escherichia coli ATCC 8739	*S*	*I*	*R*	*S*

Nuestros hallazgos coinciden con numerosos trabajos que se reportan, de acuerdo a las tablas publicadas en el libro de Llop (2001) manifiesta que la ampicilina frente al *E. coli* presenta halos de inhibición de 12-20 mm, valor que coinciden con el obtenido por el ácido hidroxámico de ampicilina (12 mm) considerándose como sensible (Figura 35). La oxacilina para el *E. coli* no muestran halos de inhibición, sin embargo, el ácido hidroxámico de oxacilina (tabla N° 2) si muestra un halo de inhibición de 13 mm considerado como sensible, para los otros dos ácidos hidroxámicos son resistentes. (Lista CLSI-2016)

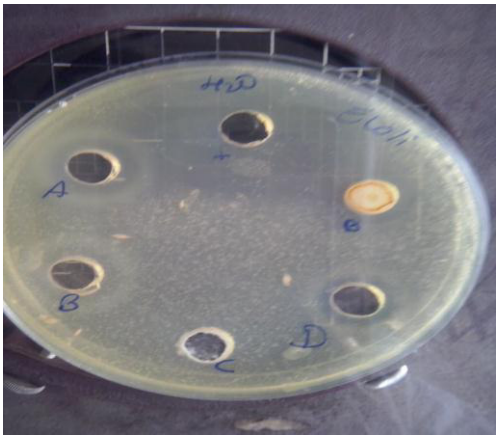


Figura 35. Prueba de la actividad antimicrobiana de los ácidos hidroxámicos frente al *E. coli.*
H_2O: agua
B (amarillo): blanco
A: Acido hidroxámico ampicilina
B: Ácido hidroxámico dicloxacilina
C: Ácido hidroxámico amoxicilina
D: Ácido hidroxámico oxacilina

El ácido hidroxámico de la oxacilina presenta actividad intermedia frente al *Staphylococcus epidermidis* (Tabla N° 3), mientras que los otros tres ácidos hidroxámicos presentan resistencia (Figura 36).

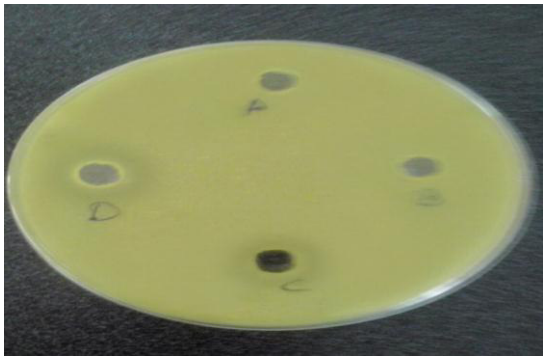


Figura 36. Prueba de la actividad antimicrobiana de los ácidos hidroxámicos frente al *Staphylococcus epidermidis.*
A: Acido hidroxámico ampicilina
B: Ácido hidroxámico dicloxacilina
C: Ácido hidroxámico amoxicilina
D: Ácido hidroxámico oxacilina

Para el *Micrococcus luteus*, es resistente al ácido hidroxámico de oxacilina y dicloxacilina (Figura N° 37), el ácido hidroxámico de ampicilina y amoxicilina tienen actividad intermedia (tabla N° 3).

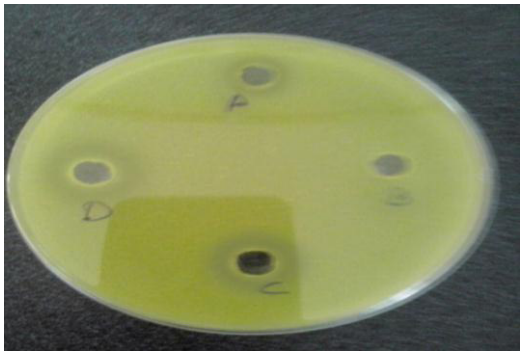


Figura 37. Prueba de la actividad antimicrobiana de los ácidos hidroxámicos frente al *Micrococcus luteus*
A: Acido hidroxámico ampicilina
B: Ácido hidroxámico dicloxacilina
C: Ácido hidroxámico amoxicilina
D: Ácido hidroxámico oxacilina

Los resultados de estas pruebas nos permiten predecir la susceptibilidad de los antibióticos frente a estos microorganismos, por tanto, podemos concluir que el ácido hidroxámico de oxacilina se podría utilizar para tratar algunas infecciones causadas por el *E, coli.*

Prat (2004) en la publicación que realiza por el Instituto de Salud Pública de Chile dice que los resultados de la prueba a ampicilina podrían usarse para predecir la actividad a amoxicilina, datos que coinciden con los resultados obtenidos por los ácidos hidroxámicos, ambos tienen la misma actividad.

De acuerdo a lo mencionado por Cavaliere (2005) que los resultados de las pruebas de oxacilina y penicilina se pueden utilizar para predecir la susceptibilidad a otros antibióticos beta-lactámicos. Por lo tanto, la penicilina y la oxacilina son los únicos beta-lactámicos que necesitan ser probados. Si una cierta cepa es susceptible a ambos antibióticos, es también susceptible a otras penicilinas, además de cefemes y carbapenemes. Si es resistente a penicilina, pero susceptible a oxacilina, es resistente a penicilinas lábiles a beta-lactamasa pero susceptible a penicilinas estables a beta-lactamasa, y a combinaciones de inhibidores de beta-lactámicos/beta-lactamasa así como a cefemes y carbapenemes. Si la cepa es resistente tanto a penicilina como a oxacilina, es resistente a todos los beta-lactámicos. De acuerdo a esta relación también podrían ser aplicado a los ácidos hidroxámicos beta-lactámicos.

CONCLUSIONES

1. Se sintetizaron cuatro ácidos hidroxámicos del núcleo del ácido 6-aminopenicilánico (6-APA): amoxicilina, ampicilina, dicloxacilina, oxacilina, que se identificaron por métodos físicos, químicos, cromatográficos y espectroscópicos.

2. El ácido hidroxámico de la oxacilina y ampicilina presento actividad antimicrobiana frente al *E.coli*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adewuyi A, Otuechere CH, Otglolade Z, Bankole O, Unuabonah E. Evaluation of the safety profile and antioxidant activity of fatty hydroxamic acid from underutilized seed oil of Cyperus esculentus. Journal of Acute Disease 2015; 4(3):230-235

Ahmed E.F, Mohamed M.K, Aly F, Tantawy A.T. The role of hydroxamic acids in biochemical processes. Medical Journal of Islamic Academy of Sciences 14:3, 109−116, 2001. Fuente de Internet Acceso: 26-12-16. Disponible en: Http://www.medicaljournal-ias.org/14_3/Fazary.pdf

Ai T., Xu Y., Qiu L., Geraghty R., Chen L. Ácidos hidroxámicos que bloquean la replicación del virus de la hepatitis C. *J. Med. Chem.*, 2015, *58* (2), pp 785-800

Argandoña V.H., Niemeyer, H.M., Corcuera L.I. Role of Hydroxamic acid in the resistance of cereals to aphids. Phytochemistry. 1980,19,1665.

Aguilera M. L., Garay G. F. La estructuración de la química orgánica a partir de la teoría dual y unitaria: una mirada Kuhniana. Educ. Quim. 2014; Vol 25 N° 2-México.

Albrecht-Gary, A.M. and Crumbliss, A.L., Coordination chemistry of siderophores: Thermodynamics and kinetics of iron chelation and release. Met. Ions Biol. Syst. 1998, 35, 239-327.

Amiel P.J. 2014. Metodología y diseño de la investigación científica. Ed. Universidad Científica del Sur. Lima, Perú.

Aranapakam VJ, Davis M, Grosu GT, Baker JL, Ellingboe J, Zask A, Levin JI, Sandanayaka VP, Du M, Skotnicki JS, DiJoseph JF, Sung A, Sharr MA, Killar LM, Walter T, Jin G, Cowling R, Tillett J, Zhao W, McDevitt J, Xu ZB : Synthesis and structure activity relationship of N-substituted 4-arylsulfonylpipetidehydroxamic acids as novel, orally active matrix metalloproteinase inhibitors for treatment of Osteoarthritis. J Med Chem, 46, 12, 2376, 2003.

Arnold, M., Brown, D.A., Deeg, O., Errington, W., Haase, W., Herlihy, K., Kemp, T.J., Nimir, H. and Werner, R., Hydroxamate-bridged dinuclear nickel complexes as models for urease inhibition. Inorg. Chem. 1998, 37, 2920-2925.

Beccia M.R. Hydroxamic acid interaction with metals in aqueous and micellar media: a mechanistic study and complexation reactions and metallacrown formation (Tesis para el grado de Ph.D.) Universita di Pisa. Dipartimento di chimica e chimica industriale. Italia. 2012

Bertos, N. R.; Wang, A. H.; Yang, X. J. Class II histone deacetylases: structure, function, and regulation. Biochem. Cell Biol. 2001, 79, 243−252.

Bruce P, Kennedy B.J. Duration of DNA inhibition by hydroxyurea. Proc Am Asso Cancer Res, 11, 63, 1970.

Byers, B.R., Powell, M.V. and Lankford, C.E., Iron-chelating hydroxamic acid (schizokinen) active in initiation of cell division in bacillus megaterium. J. Bacteriol. 1967, 93, 286-294.

Bosiack, A.P, Giuliano,E.A., Gupta, R., Mohan R.R. Efficacy and safety of suberoylanilide hydroxamic acid (Vorinostat) in the treatment of canine corneal fibrosis. Veterinary Ophthalmology (2012) 15, 5, 307–314

Brown, D.A., Googan, R.A., Fitzpatrick, N.J., Glass, W.K., Abukshima, D.e., Shiiels, L., Ahlgran, M., Smolander, K., Pakkanen, T.T., Pakkanen, T.A. and Perakyla, M., Conformational behavior of hydroxamic acids: Ab initio and structural studies. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2 1996, 2673-2680.

Burt, W.R., Underwood, A.L. and Appleton, G.L., Hydroxamic acid from histoplasma capsulatum that displays growth factor activity. Appl. Environ. Microbiol. 1981, 42, 560563.

Buzatu, S. and Darie, V., Is the facilitated diffusion exclusively a passive membrane transport mechanism. Roum. Biotechnol. Lett. 2003, 8, 1123-1128.

Cavalieri S., Rankin I., Harbeck R., Sautter R., McCarter Y., Sharp S., Ortez J., Spiegel C. Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Library of Congress Cataloging. Washington- 2005.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2012. Performance Standars for Antimicrobial Susceptibility Testing; twenty-Second Informational Supplement. M100-S22. Vol.32 N° 3.

Chakrabarti J.K., Hotten T.M., Pullar I.A., Tye N.C. Synthesis and pharmacological evaluation of a series of piperazinylpyrazolo[3,4-b] and [4,3-b][1,5]benzodiazepines as potential anxiolytic. J. Med. Chem. 1989,32,2573-2582.

Corcuera L.J, Woodward M.D, Helgeson J.P, Kelman A : 2,4-Dihydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one, an inhibitor from Zea mays with differential activity against soft rotting Erwinia species. Plant Physiol, 61, 791, 1978

Dobosz, A., Dudarenko, N.M., Fritsky, I.O., Glowiak, T., Karaczyn, A., Kozlowski, H., Sliva, T.Y. and Swiatek-Kozlowska, J., N-bonding of the hydroxamic function in nickel(II) and copper(II) complexes with 2-(hydroxyimino)propanohydroxamic acid. J. Chem. Soc., Dalton Trans. 1999, 743-750

Duan, J.J.W., Chen, L., Wasserman, Z.R., Lu, Z., Liu, R.-Q., Covington, M.B., Qian, M., Hardman, K.D., Magolda, R.L., Newton, R.C., Christ, D.D., Wexler, R.R. and Decicco, C.P., Discovery of "-lactam hydroxamic acids as selective inhibitors of tumor necrosis factor converting enzyme: Design, synthesis, and structure activity relationships. J. Med. Chem. 2002, 45(23), 4954-4957.

Eigen, M. and Tamm, K., Sound absorption in electrolytes as a consequence of chemical relaxation. I. Relaxation theory of stepwise dissociation. II. Z. Elektrochem. Angew. Phys. Chem. 1962, 66, 107-121.

Elford H.L, Wampler G.L, Riet B.V. New ribonucleotide reductase inhibitors with antineoplastic activity. Cancer Res, 1979, 39, 844.

Exner, O. and Kakac, B., Acyl derivatives of hydroxylamine. VIII. A spectroscopic study of tautomerism of hydroxamic acids. Collect. Czech. Chem. Commun. 1963, 28, 1656-1663.

Farkas, E., Enyedy, E.A., Micera, G. and Garribba, E., Coordination modes of hydroxamic acids in copper (II), nickel(II) and zinc(II) mixed-ligand complexes in aqueous solution. Polyhedron 2000, 19, 1727-1736.

Fazary A.M., Khalil M.M., Fahmy A., Tantawy T.A. The role of Hydroxamic Acids in biochemical processes. Medical Journal of Islamic Academy of Sciences 2001,14:3, 109−116.

Friebe A, Roth U, Kück P, Schnabl H, Schulz M. Effects of 2,4-dihydroxy-1,4-benzoxazin-3-ones on the activity of plasma membrane H + -ATPase. Phytochemistry, 1997,44, 979.

Gallego B.R., Pérez M. R., Gallego T. A. Una aproximación histórico epistemológica a las leyes fundamentales de la Química. Revista Electronica de enseñanza de las ciencias. 2009, Vol 8 N° 1

Garrinson J.M., Crumbliss A.L. Hydroxamic acid ligan-exchange Kinetics at hexaaquoaluminium ion. Inorg. Chem. 1987,26, 3660 – 3664.

Gediya L., Chopra P., Purushottamachar P., Maheshwari N., Njar V. A New Simple and High-Yield Synthesis of Suberoylanilide Hydroxamic Acid and Its Inhibitory Effect Alone or in Combination with Retinoids on Proliferation of Human Prostate Cancer Cells. J. Med. Chem. 2005, 48, 5047-5051

Ghosh, K.K., Kinetic and mechanistic aspects of acid-catalyzed hydrolysis of hydroxamic acids. Indian J. Chem., Sect. B: Org. Chem. Incl. Med. Chem. 1997, 36B, 1089-1102.

Giannini G., Battistuzzi G., Vignola D. Ácido hidroxámico basada como inhibidores de la histona desacetilasa con actividad confirmada en el desarrollo del parásito de la malaria. Bioinorganic & amp; Medicinal Chemistry Letters (2015) 25(3):459-461

González B. P, Casasa J, Ben Mamounb Ch, Llebariaa A.Síntesis de ácidos hidroxámicos con potencial efecto antimalárico. *Research Unit on BioActive Molecules (RUBAM); Departamento de Química Orgánica Biológica, Instituto de Investigaciones Químicas y Ambientales de Barcelona (IIQABCSIC) 2006.*

Goo K.M., Jung Moo J.J.CH.,Choi C.Y., Geun An S.,Lee S.J., Yoon G.J.,Hwan P.M. Sintesis y actividad antibacteriana de las cefalosporinas que tienen ácidos hidroxámicos en la posición 7. Bioinorganic & amp. Medical Chemistry letters. 1996,6,17, 2077-2080

Griffith D.P, Khonsari F, Skurnick J.H, James K.E. “Acid of acetohidroxamic” J Med Chem. 1979 May;22(5):589-92 Acceso: 27-12-16 Disponible en : http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=3294442&dopt=Abstract

Groneberg R.D, Burns C.J, Morrissette M.M, Ullrich J.W, Morris R.L, Darnbrough S, Djuric S.W, Condon S.M, McGeehan G.M, Labaudiniere R, Neuenschwander K, Scotese A.C, Kline J.A : Dual inhibition of phosphodiesterase 4 and matrix metalloproteinases by an aryl hydroxamic acid template. J Med Chem, 42, 4, 541, 1999.

Hanada, K., Palacpac, N. M., Magistrado, P.A., Kurokawa, K., Rain, G., Sakata, D., Hara, T., Horii, T., Nishijima, M., Mitamura, T. Plasmodium falciparum phospholipase C hydrolyzing sphingomyelin and lysocholinephospholipids is a possible target for malaria chemotherapy. *J. Exp. Med.* 2002, 195(1), 23-34.

Hanessian S., Moitessier N.,Gauchet C., Viau M. Isolation and Characterization of a New Hydroxamic Acid from Pseudomonas mildenbergii. J. Med. Chem. 2001,44,3066.

Han Q., Dominguez C., Stouten P.F.W., Park J.M., Duffy D.E., Galemmo Jr. R.A., Rossi K.A., Alexander R.R., Smawallwood A.M., Wong P.c., Wright M.M., Luettgen J.M., Knabb R.M., Wexler R.R., Desing synthesis and biological evaluation of potent and selective amidino bicyclic factorXa inhibitors. J. Med. Chem. 2000,43,4398-4415.

Hines, J., Stammer Ch. 3-Hydroxyisoxazole-5- hydroxamic Acid. Journal of Medicinal Chemistry, 1977, Vol. 20, No. 7.

Huang Z., Velazquez C., Abdellatif K., Chowdhury MReisz J., DuMond J., Bruce King S., Knaus E. Ethanesulfohydroxamic Acid Ester Prodrugs of Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs (NSAIDs): Synthesis, Nitric oxide and Nitroxyl Release, Cyclooxygenase Inhibition, Anti-inflammatory, and Ulcerogenicity Index Studies. |J. Med. Chem. 2011, 54, 1356–1364.

Hulcher F.H., Isolation and Characterization of a New Hydroxamic Acid from Pseudomonas mildenbergii. Biochemistry 1982, 21, 4491-4495

Katsura, Y.; Tomishi, T.; Inoue, Y.; Sakane, K.; Matsumoto, Y.; Morinaga, C.; Ishikawa, H.; Takasugi, H. J. Med. Chem., 2000, 43, 3315.

Khanam J.A, Bug S.P, Sur B, Sur P. Antineoplastic activity of copper(II)-benzohydroxamic acid complex against Ehrlich Ascites Carcinoma (EAC) in mice. Indian J of Pharmacology, 1997. 29, 157

Kehl, H., Chemistry and biology of hydroxamic acids, Karger, 1982.

Kim M,G.,Sung J.Ch.,Choi Y., An S.G., Lee S., Yoon G., Hwan M. Síntesis y actividad antibacteriana de las cefalosporinas que tienen ácido hidroxámico en posición 7. Bioorganic & amp; Medicinal Chemistry Letters,(1996)6, (17), 2077-2080

Klun J.A, Robinson J.F. Concentration of two 1,4-benzoxazinones in dent corn at various stages of development of the plant and its relation to resistance of the host plant to the European corn borer. J Econ Entomol, 62, 214, 1969.

Klun J.A, Guthrie W.D, Hallauer A.R, Russell W.A. Genetic nature of the concentration of 2,4-dihydroxy-7-methoxy 2H-1,4benzoxazin-3 (4H)-one and

resistance to the European corn borer in a diallel set of eleven maize inbreads. Crop Sci, 10, 87, 1970.

Kobashi, K.; Takebe, S.; Terashima, N.; Hase, J. J. Biochem., 1975, 77, 837.
Kuhn. T. 1961. Estructura de las revoluciones científicas. Madrid, España. Ed. Fondo de cultura Económica, S.L.

Kühler, T.C.; Swanson, M.; Christenson, B.; Klintenberg, A.-C.; Lamm, B.; Fägerhag, J.; Gatti, R.; Ölwegård-Halvarsson, M.; Shcherbuchin, V.; Elebring, T.; Sjöström, J.-E. J. Med. Chem., 2002, 45, 4282.

Kurzak, B., Kozlowski, H. and Farkas, E., Hydroxamic and aminohydroxamic acids and their complexes with metal ions. Coord. Chem. Rev. 1992, 114, 169–200.

Lee-Ruff E., Ablenas F.J. Acid-catalyzed rearrangement of cyclobutanols. A novel rearrangement. Can. J. Chem. 1987, 65,1663-1667.

Lindner V.H., Gettlicher S. Conformational behavior of hydroxamic acids. Acta Crystallographica. 1969: 25, 832.

Ling,Y., Xu Ch., Luo L., Cao J, Feng J., Xue Y., Zhu Q Ju C., Li F., Zhang Y., Zhang Y., Ling X. Novel β‑Carboline/Hydroxamic Acid Hybrids Targeting Both Histone Deacetylase and DNA Display High Anticancer Activity via Regulation of the p53 Signaling Pathway. J. Med. Chem. 2015, 58, 9214−9227. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b01052

Llop H.A., Valdez- Dapena V.M., Zuazo S.J. Microbiología y parasitología médica. 2001. Editorial Ciencias Médicas. La Habana-Cuba.

Luckhurst CH.,Breccia P., Stott A., Aziz O., Birch H., Bürli., Hughes S., Jarvis R., Lamers M., Leonard P., Matthews K., Mc Allister G., Pollack S., Saville-Stone E., Wishart G., Yates D., Dominguez C. Potente, selective and CNS-penetrant tetrasubstituted cyclopropane class IIa histone deacetylase (HDAC) inhibitors.Supproting Information. ACS Med. Chem. Lett. 2016, 7, 34−39. DOI:10.1021/acsmedchemlett.5b00302.

Liu Z.Z., Chen H.C., Cao S.L., Li R.T. Solid-liquid phase-transfer catalytic method of n-alkylation of nitroimidazole. Synth. Comm. 1993,23,2611-2615.
Marmion, C.J., Griffith, D. and Nolan, K.B., Hydroxamic acids - an intriguing family of enzyme inhibitors and biomedical ligands. Eur. J. Inorg. Chem. 2004, 3003-3016.

Martin, M.; Kettmann, R.; Dequiedt, F. Class IIa histone deacetylases: regulating the regulators. Oncogene 2007, 26, 5450−5467.

Mielcarek, M.; Benn, C. L.; Franklin, S. A.; Smith, D. L.; Woodman, B.; Marks, P. A.; Bates, G. P. SAHA decreases HDAC2 and 4 levels in vivo and improves molecular phenotypes in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. PLOS One. 2011, 6, e27746.

Monzyk, B. and Crumbliss, A.L., Mechanism of ligand substitution on high-spin iron(III) by hydroxamic acid chelators. Thermodynamic and kinetic studies on the formation and dissociation of a series of monohydroxamatoiron(III) complexes. J. Am. Chem. Soc. 1979, 101, 6203-6213.

Moore EC. The effects of ferrous ion and dithioerythritol on inhibition by hydroxyurea of ribonucleotide reductase. Cancer Res, 29:291, 1969

Muri E.M.F, Mishra H., Avery M.A. and Williamson J.S. Desing and Synthesis of Heterocyclic Hydroxamic Acids Derivates as Inhibitors *of Helicobacter pylori* Urease. *Synthetic Communications,* 2003, *33,12,1977-1995*

Muri E.M.F, Mishra H., Stein S.M. and Williamson J.S. Molecular Modeling, Synthesis And Biological Evaluation of Heterocyclic Hydroxamic Acids Designed as *Helicobacter pylori* Urease Inhibitors. *Letters in Drug Design & Discovery,* 2004, *1,* 30-34

Munakata K., Tanaka S., Toyoshima S. Therapy for urolithiasis with hydroxamic acid. I. Synthesis of new N-(aroyl)glycino-hydroxamic acid derivatives and related compounds. Chem. Pharm. Bull. 1980, 28(7), 2045-2051.

Neilands, J.B., Siderophores: Diverse roles in microbial and human physiology. Ciba Found. Symp. 1976, 107-124.

Niemeyer H.M, Pesel E, Copaja S.V, Bravo H.R, Franke S, Francke W. Changes in hydroxamic acid levels of wheat plants induced by aphid feeding. Phytochemistry, 28, 447, 1989.

Okada, H., Yamamoto, K., Tsutano, S. and Nakamura, S., A new group of antibiotics, hydroxamic acid antimycotic antibiotics. I. Precursor-initiated changes in productivity and biosynthesis of neoenactins NL1 and NL2. J. Antibiot. 1988, 41, 869-874.

Oliveros-BastidasA, Macías F.A, Marín D, Molinillo J, Barbosa L, Demuner A Avances en Ciencias e Ingeniería - ISSN: 0718-8706. 2012,3(4), 47-67.

Parker M.H, Lunney E.A, Ortwine D.F, Pavlovsky A.G, Humblet C, Brouillette C.G. Analysis of the binding of hydroxamic acid and carboxylic acid inhibitors to the stromelysin-1 (matrix metalloproteinase-3) catalytic domain by isothermal titration calorimetry. Biochemistry, 38, 41, 13592, 1999.

Polomoscanik S.C., Cannon P., Neenan T.X., Holmes-Farley S.R., Mandeville W.H, DhalP.K. Hydroxamic Acid-Containing Hydrogels for Nonabsorbed Iron Chelation Therapy: Synthesis, Characterization, and Biological Evaluation. Biomacromolecules, 2005,6,2946-2953

Prat S. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar. Instituto de Salud Pública de Chile. Ministerio de salud. Gobierno de Chile. 2004.

Rajulu, Gavara Govinda, Bhojya Naik, Halehatty Seephya,Viswanadhan, Abhilash, Thiruvengadam, Jayaraman,Rajesh, Kondodiyil,Ganesh, Sambasivam,Jagadheshan, Hiriyan,Kesavan, Poonimangadu Koppolu. New Hydroxamic Acid Derivatives of Fluoroquinolones: Synthesis and Evaluation of Antibacterial and Anticancer Properties. ChemInform. Jul 2014, Vol. 45 Issue 27, pno- no. 1p

Raymond, K.N., Biomimetic metal encapsulation. Coord. Chem. Rev. 1990, 105, 135-153.

Rodrigues,G., Feijó, D Bozza, M, Pan, P. Vullo, D. Parkkila, S. Supuran, C. Capasso, C. Aguiar, A., .Vermelho, A. Design, Synthesis, and Evaluationof Hydroxamic Acid Derivatives as Promising Agents for the Managementof Chagas Disease. Journal of Medicinal Chemistry. Jan2014, Vol. 57 Issue 2, p298-308. 11p

Ruefli A.A, R, Ausserlechner M. J., Bernhard D, Sutton V.R, Tainton K.M, Kofler R, Smyth M.J, Johnstone R.W. ”The histone deacetylase inhibitor and chemotherapeutic agent suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) induces a cell-death pathway characterized by cleavage of Bid and production of reactive oxygen species” Proc Natl Acad Sci U S A. 2001 September 11; 98(19): 10833–10838. Published online 2001 September 4. doi: 10.1073/pnas.191208598. Acceso: marzo del 2017. Fuente de Internet Disponible en: http://www.pubmedcentral.com/articlerender.fcgiartid=58560

Russell H., Castano F. La determinación cuantitativa de azúcares reductores y un ácido de azúcar mediante la formación de ácido hidroxámico. *Anal. Chem.* 1958, *30* (9), pp 1538-1540

Salmon L., Prost E., Merienne C., Hardre R., Morgant G. A convenient preparation of aldonohydroxamic acids in water and crystal structure of L-erythronohydroxamic acid. Carbohydr. Res. 2001, 335,195.

Santos, M.A., Gaspar, M., Simoes Gonçalves, M.L.S. and Amorim, M.T., Siderophores analogues. A new macrocyclic bis-(amine, amide, hydroximate) ligand. Synthesis, solution chemistry, electrochemistry and molecular mechanics calculations for the iron complex. Inorg. Chim. Acta 1998, 278(1), 51-60.

Sawa M, Kiyoi T, Kurokawa K, Kumihara H, Yamamoto M, Miyasaka T, Ito Y, Hirayama R, Inoue T, Kirii Y, Nishiwaki E, Ohmoto H, Maeda Y, Ishibushi E, Inoue Y, Yoshino K, Kondo H : New type of metalloproteinase inhibitor: Design and synthesis of new phosphono hydroxamic acids. J Med Chem, 2002,45, 4, 919.

Sur P, Bag S.P, Sur B, Khanam J.A : Chloroacetohydroxamic acid as antitumor agent against Ehrlich ascites carcinoma in mice. Neoplasma, 44, 197, 1997.

Takeuchi H, Okada Y, Kobashi K, Yoshida O.” Treatment of infected urinary stones in rats by a new hydroxamic acid, "N-(pivaloyl)glycinohydroxamic acid.” Urol Res. 1982:10(4):217-9. Fuente de Internet Acceso:27-12-16 Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6758273?ordinalpos=34&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum

Tizzani A, Carone R, Casetta G, Piana P, Vercelli D.”Low dosage treatment with propiono-hydroxamic acid in paraplegic patients.” Eur Urol. 1989; 16(1):36-40 Fuente de Internet Acceso: 27-12-16 Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2653839?ordinalpos=21&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum

Toba S, Damodaran K.V, Merz Jr. K.M. Binding Preferences of Hydroxamate Inhibitors of the Matrix Metalloproteinase Human Fibroblast Collagenase (HFC). J. Med. Chem, 42, 1225, 1999.

Todd, M.J.; Hausinger, R.P. Fluoride inhibition of klebsiella acrogenes urease: mechanistic implications of a pseudo-uncompetitive. Slow-binding inhibitor. Biochemistry,2000, 39(18), 5389-5396.

Wahlroos O., Virtanen A., The precursors of 6-methoxy-benzoxazolinone in maize and wheat plants, their isolation and some of their properties. Acta Chem Scand, 1959,13,1906.

Warren, J.R.; Marshall, B.J. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet, 1983, I, 1273-1275.

Wilkes MA, Marshall D.R, Copeland L : Hydroxamic acids in cereal roots inhibit the growth of take-all. Soil Biol Biochem, 31, 1831, 1999.

Xing-dong Xu, Lan Yang, Li-yun Zheng, Yan-yan Pan, Zhi-fei Cao, Zhi-qing Zhang, Quan-sheng Zhou, Bo Yang, Cong Cao. Suberoylanilide hydroxamic acid, an inhibitor of histone deacetylase, suppresses vasculogenic mimicry and proliferation of highly aggressive pancreatic cancer PaTu8988 cells. BMC Cancer 2014, 14:373 doi:10.1186/1471-2407-14-373. Acceso: diciembre 2016. Article URL http://www.biomedcentral.com/1471-2407/14/373

Zamora, R., Grzesiok, A., Weber, H. and Feelisch, M., Oxidative release of nitric oxide accounts for guanylyl cyclase stimulating, vasodilator and anti-platelet activity of Piloty's acid: A comparison with Angeli's salt. Biochem. J. 1995, 312 333-339.

Zhang B., Zhong H., Determination of hidroxamic acids by direct spectrophotometry of colored complex in acidic solution. Res Chem Intermed (2010)36:495-501