

TEMA 1.- Conceptos Básicos. Conceptos Generales en Síntesis de fármacos.

Biotecnología. Generalidades. Biotransformaciones microbianas. Biotransformaciones industriales. Síntesis química. Análisis retrosintético.

1. Biotecnología Moderna. Generalidades

En 1919, Karl Ereky, un ingeniero húngaro, acuñó el término biotecnología para describir la interacción entre biología y tecnología humana. La *Biotecnología* puede ser definida como la aplicación de principios científicos para el procesamiento de materiales por agentes biológicos y proporcionar así productos y servicios normalmente con un alto valor añadido. Se basa por tanto en la utilización controlada y deliberada de agentes biológicos sencillos, células vivas o componentes celulares en operaciones productivas para la fabricación de productos.

La Biotecnología puede ser dividida en tecnología tradicional y nueva tecnología. La tecnología tradicional comprende procesos ampliamente contrastados, aplicables en alimentos, saborizantes, alcohol industrial, antibióticos y ácidos orgánicos. La nueva tecnología usa técnicas de ingeniería genética, fusión celular e ingeniería metabólica para obtener organismos capaces de formar productos útiles. En algunos casos en la biotecnología se busca la formación de *biomasa*, mientras que en otros, la formación de *metabolitos secundarios*, siendo su formación altamente dependiente de las condiciones ambientales.

La aplicación de enzimas como “reactivos” es una de las áreas de mayor crecimiento en el ancestral campo de la química orgánica. La capacidad de las enzimas para llevar a cabo reacciones de una manera *estéreo-específica* y *regio-específica*, ofrecen un gran potencial para la producción de moléculas con *centros quirales* con amplias aplicaciones, como la síntesis de productos naturales, química médica y la biosíntesis de metabolitos para la elaboración de fármacos.

Un proceso para utilizar la actividad de las enzimas es la **bioconversión** o **biotransformación**, proceso por el cual un microorganismo intacto, usualmente en crecimiento o células de un cultivo bacterial o fúngico, llevan a cabo una reacción orgánica sobre un sustrato seleccionado que ha sido puesto en contacto con su biomasa.

2. Biotransformaciones microbianas

La biotransformación es un proceso biotecnológico que utiliza el crecimiento de biomasa para la formación de productos químicos muy específicos, para lo cual los microorganismos deben contar con las condiciones ambientales óptimas de desarrollo. Es por ello necesario controlar las variables más importantes del medio de cultivo (el

pH, la temperatura, la velocidad de agitación, entre otras), a través de controladores externos que permitan que las condiciones se mantengan estables.

Los microorganismos que se utilizan en los estudios de transformación microbiana suelen obtenerse de ambientes naturales, tales como las aguas estancadas, la tierra misma o cultivos estandarizados. En estos cultivos se pretende que los microorganismos tengan la capacidad de modificar químicamente una amplia variedad de componentes orgánicos convirtiéndolos en productos con utilidad.

Las reacciones orgánicas catalizadas por microorganismos son llamadas *transformaciones microbianas*, biotransformaciones o bioconversiones, las cuales representan un soporte o algunas veces reemplazan a las reacciones químicas, debido a:

1. Vía de síntesis corta.
2. Obtención de compuestos más puros.
3. Obtención de compuestos ópticamente activos.
4. Condiciones de reacción suaves.
5. Uso de nutrientes naturales y soluciones buffers económicas.
6. Empleo de bajas temperaturas (excepto para la esterilización).
7. Se desarrolla en medio acuoso (excepto para la extracción del producto).
8. Producción reducida de residuos químicos y reciclaje de los solventes de extracción.

Entre los propósitos de la biotransformación se encuentran:

1. Disminuir la contaminación del ambiente por procesos químicos.
2. Incrementar la eficiencia de la síntesis enzimática de aminoácidos y péptidos, de carbohidratos y oligosacáridos nuevos, nucleótidos y polinucleótidos, glicolípidos y peptidoglicanos.
3. Hallar productos novedosos con propiedades biológicas modificadas o incrementadas o con efectos colaterales disminuidos.
4. Preparación de metabolitos de fármacos para el ensayo en modelos microbianos del metabolismo de mamíferos.

El objetivo de buena parte de la investigación de las biotransformaciones microbianas ha estado basado en el screening de enzimas microbianas para catalizar nuevas reacciones o el screening de enzimas conocidas para realizar una actividad desconocida con sustratos sintéticos. Dependiendo del tipo del proceso usado, las biotransformaciones pueden ser llevadas a cabo por un microorganismo vivo, una espora libre o inmovilizada en un soporte o simplemente un extracto de enzimas. Las biotransformaciones involucran *reacciones enzimáticas* y de *fermentación*:

- Reacciones enzimáticas: la enzima activa requiere del ambiente y maquinaria celular para realizar la función.
- Fermentaciones: las reacciones están reducidas a la transformación del sustrato a productos estructuralmente relacionados. Se puede aplicar tanto a la síntesis de moléculas complejas (anticuerpos, vitaminas) y de moléculas simples (glucosa, oxígeno, amonio, entre otras).

En los microorganismos se hallan las *enzimas constitutivas* las cuales son producidas con el propio crecimiento celular. Si las enzimas a utilizar en el proceso de biotransformación no son constitutivas, su formación en los microorganismos pueden ser algunas veces inducidas por sustrato de interés o por compuestos relacionados. Las *enzimas inducidas* pueden ser utilizadas para catalizar una variedad de reacciones sobre los sustratos y en algunos casos sobre componentes no relacionados.

Las enzimas de biotransformación pueden estar presentes dentro o fuera de las células que las producen. Las bacterias frecuentemente contienen enzimas dentro del citosol pero también enzimas específicas unidas a la membrana. Estas enzimas presentan la capacidad para alterar solamente ciertos grupos funcionales, mediante reacciones enzimáticas las cuales pueden ser superiores a los métodos de síntesis tradicionales por las siguientes características:

- Reacciones de selectividad: cada enzima realiza una reacción de modo que no hay reacciones laterales.
- Reacciones de regioespecificidad: la enzima conduce una única reacción de tal manera que lo realiza en un lugar determinado de la molécula
- Reacciones de estereoselectividad: las enzimas pueden distinguir entre los enantiómeros de una mezcla racémica, convirtiendo exclusivamente o con preferencia, solo una de las dos formas enantioméricas.
- Condiciones de reacción: las reacciones enzimáticas se realizan en un medio a pH y temperatura adecuados, cerca de soluciones neutras, por debajo de 40°C, además de requerir de poca energía, por esta razón aún los compuestos más sensibles son convertidos sin sufrir daños.

2.1. Biotransformaciones Industriales

La biotransformación ha sido conocida por muchos años principalmente en la producción de precursores farmacéuticos y agroquímicos, realizándose estudios con sustratos específicos tales como esteroides, alcaloides y componentes bioactivos y se han empleado microorganismos específicos como hongos, levaduras y bacterias en general. La producción de alcoholes ha tenido una gran repercusión económica a lo largo de la historia, así como la transformación del vino a vinagre por las bacterias del género *Acetobacter* y *Gluconobacter*.

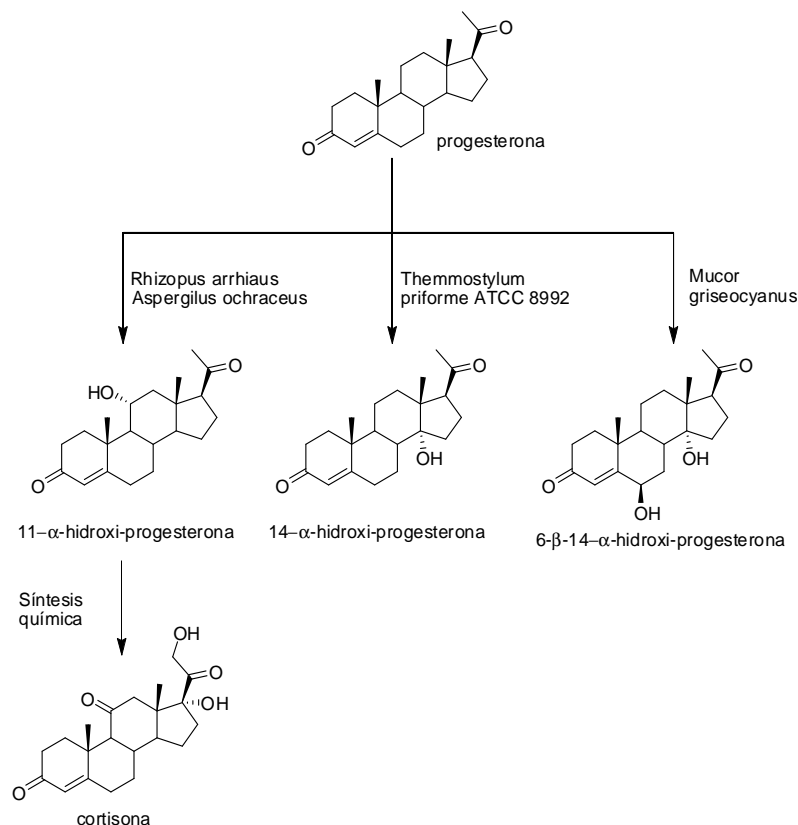
2.1.1. Biotransformaciones de Esteroides

Una de las biotransformaciones con mayor relevancia histórica y económica, es la de esteroides, donde las reacciones de síntesis orgánica clásica son difíciles o inadecuadas. Las hormonas esteroidales de la glándula adrenal¹ y sus análogos estructurales

¹ Las glándulas adrenales, conocidas también como glándulas suprarrenales, son pequeñas glándulas triangulares, localizadas en la parte superior de ambos riñones. Las glándulas adrenales funcionan conjuntamente con el hipotálamo y la glándula pituitaria. El hipotálamo inicia una cascada que produce hormonas que liberan corticotropina, que activan a la glándula pituitaria que, a su vez, produce hormonas corticotrópicas, que estimulan a las glándulas adrenales para producir hormonas corticoesteroides.

(cortisona, hidrocortisona, prednisona, prednisolona y triamcinolona) exhiben actividad antiinflamatoria.

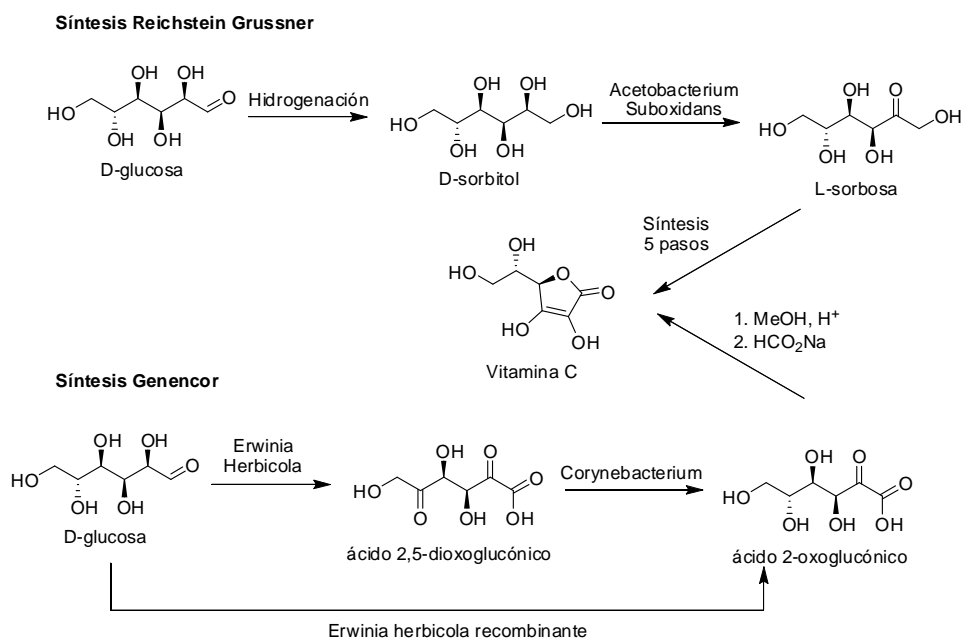
La cortisona es una hormona esteroide que como fármaco presenta una gran demanda. El proceso químico experimental para su síntesis implicaba 31 etapas. Se descubrió que un hongo que crece en el pan, *Rhizopus arrhizus*, puede hidroxilar la progesterona (un intermediario en la síntesis de la cortisona) en el C-11, reduciendo la síntesis de 31 a 11 pasos.



Entre otras biotransformaciones de esteroides se tiene la biotransformación de progesterona y testosterona, por *Mucor griseocyanus*, obteniéndose derivados 14- α -hidroxiprogestero, los cuales muestran una interacción con los receptores del músculo cardíaco. Un uso importante de la testosterona es la destinada a fines de culturismo.

2.1.2. Biotransformaciones de Vitaminas

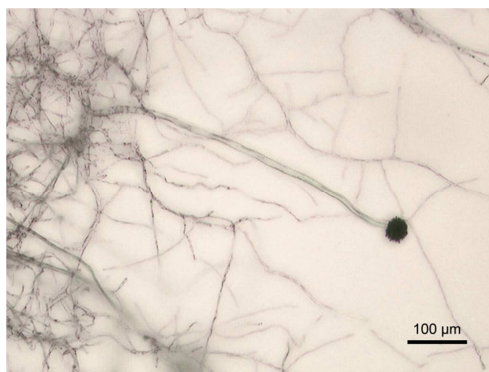
La Vitamina C ha sido obtenida desde hace cincuenta años a partir de la síntesis clásica de Reichstein y Grusner, en la cual se parte de D-glucosa. Esta es reducida inicialmente a D-Sorbitol. El segundo paso, es la conversión de D-Sorbitol a L-Sorbosa, un proceso químico difícil. El problema puede salvarse empleando una conversión enzimática, una oxidación mediante el *Acetobacter suboxydans*. Posteriormente, la ruta desarrollada por la empresa Genencor, mejoró el proceso con el uso de microorganismos de los géneros de *Erwinia* y *Corynebacterium* para la síntesis de la Vitamina C.



3. Hongos: importancia industrial

Aunque los hongos son predominantemente *quimioheterótrofos* existe una evidencia limitada que sugiere que exhiben un metabolismo más diverso de lo que es normalmente conocido. Por ejemplo, muchas especies pueden oxidar formas reducidas de nitrógeno (nitrificar), oxidar azufre, hierro y manganeso, y pueden incluso participar, en un grado limitado, en el proceso de desnitrificación. Las tecnologías tradicionales que emplean hongos incluyen la producción de agentes saborizantes, colorantes y la utilización de estos como suplementos proteicos, así como también la producción de productos químicos como el ya descrito, ácido cítrico y de antibióticos como la penicilina.

El *Aspergillus*, es un hongo que tienen un micelio y esporas y se reproducen asexualmente. Tiene gran relevancia económica porque se usa en muchas industrias de fermentación incluyendo la producción del ácido cítrico y glucónico, que son elaborados en abundancia por *Aspergillus niger*.

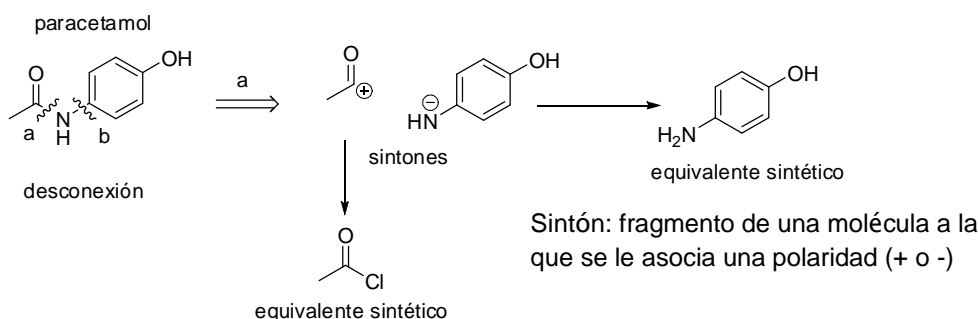


Aspergillus niger. Fuente: http://es.wikipedia.org/wiki/Aspergillus_niger

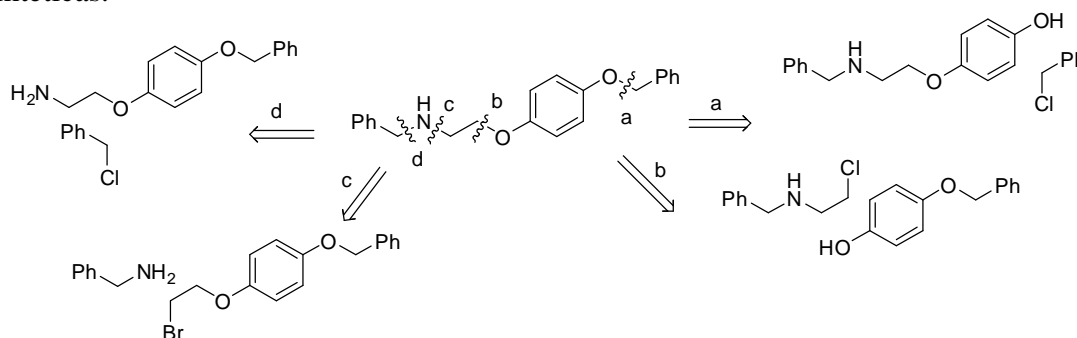
Ciertos agentes antitumorales, farmacológicamente activos, como la ciclosporina, son productos fúngicos que han adquirido importancia recientemente. Los hongos filamentosos y las levaduras pueden también ser utilizadas para transformar o modificar de otro modo compuestos de utilidad médica como la cortisona.

4. Síntesis química. Análisis retrosintético

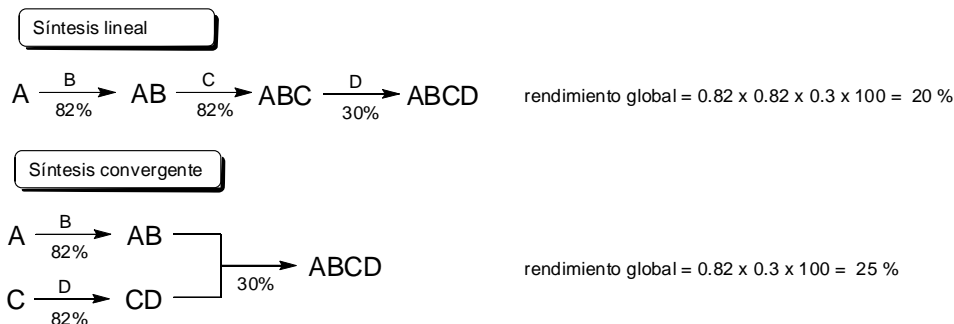
La mayoría de los fármacos comerciales actuales son de naturaleza orgánica, es fácil comprender que la síntesis de fármacos dependa en gran parte del conocimiento de la química orgánica y especialmente de las diferentes metodologías desarrolladas en síntesis orgánica. A fin de optimizar el proceso de diseño de una síntesis orgánica, se han desarrollado una serie de pautas o reglas que facilitan el proceso racional que involucra toda síntesis. Estas pautas se basan en la aplicación de los conceptos de desconexiones estratégicas entre enlaces y de *sintón*. Un sintón puede definirse como un fragmento, iónico o radicalario, resultante de una desconexión de un enlace. El conocimiento de las propiedades de los grupos funcionales en la molécula puede ser útil a la hora de decidir la desconexión más adecuada. El proceso por el que se generan sintones a partir de una molécula se conoce como *retrosíntesis*. Los sintones son especies no reales, herramientas conceptuales que permiten la planificación de una determinada secuencia sintética, aunque, en muchas ocasiones, los sintones suelen confundirse con los reactivos (especies reales) en una síntesis. En la práctica, los reactivos son los equivalentes sintéticos de los sintones y pueden existir diversos reactivos para un mismo sintón. Cuando en una estructura sintón contiene un centro quiral, recibe el nombre de *quirón*.



En todo análisis retrosintético, es importante establecer el correcto el orden en el que se van a ensamblar los distintos reactivos siempre atendiendo a reacciones de elevados rendimientos y el menor número de etapas o reacciones en una secuencias sintéticas.



A la hora de determinar los rendimientos de una ruta sintética, a igualdad de etapas, las síntesis en las que se forman enlaces entre bloques previamente formados (síntesis convergentes) son más eficaces que las síntesis lineales donde cada bloque se enlaza de modo consecutivo.



La mayoría de los compuestos orgánicos contienen más de un grupo funcional, y cada grupo funcional presenta una reactividad característica. Por lo tanto, a veces hay que predecir qué grupo funcional va a reaccionar, dónde y cómo lo va a hacer. Conocer la respuesta a estas preguntas es lo que nos permitirá conseguir la selectividad en la síntesis. Hay diferentes tipos de selectividad, las más frecuentes son: *quimioselectividad*, *regioselectividad* y *estereoselectividad*.

1. **Quimioselectividad:** cuando un grupo funcional reacciona sin alterar grupos funcionales iguales o similares.
2. **Regioselectividad:** cuando una reacción puede dar potencialmente dos o más isómeros posicionales y da preferentemente uno de ellos
3. **Estereoselectividad:** cuando una reacción puede transcurrir a través de varios mecanismos y lo hace preferentemente a través de uno de ellos obteniéndose así, un estereoisómero del producto final de forma mayoritaria.

No obstante, el aspecto fundamental del que depende en gran medida el éxito de una síntesis total es el conocimiento de la reactividad orgánica que se disponga y hoy en día, al acceso a las referencias bibliográficas adecuadas.

Bibliografía utilizada

- 1) Fundamentos de Síntesis de Fármacos, P. Camps García, S. Vázquez Cruz, C. Escolano Mirón, Ed. Universitat de Barcelona, 2005. ISBN: B-84-475-2876-6.
- 2) Principles of Medicinal Chemistry, D. A. Williams, T. L. Lemke, Ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2002. ISBN: 0-683-30737-1.