

# ENSEÑANZA

Comenzamos esta sección con un trabajo de las Profesoras Paloma Ballesteros, de la UNED, y M.<sup>a</sup> del Carmen Avendaño, de la UCM, sobre Química Combinatoria, una nueva metodología de gran impacto en la Síntesis Orgánica actual.

A continuación, en el apartado dedicado a **Taller y Laboratorio**, hay varios trabajos que continúan con los propósitos enunciados en el número anterior. El ingenio en el experimento se pone de manifiesto esta vez con la descripción del experimento llevado a cabo por Madame Wu y sus colaboradores para poner en evidencia la violación del principio de la paridad en la desintegración nuclear del átomo de cobalto. En el apartado de experimentos caseiros, las Profesoras Rosa M.<sup>a</sup> Claramunt y M.<sup>a</sup> Dolores Santa María describen la utilización del microondas en experimentos de Química, indicando los graves riesgos que se corren si no se toman las debidas precauciones. Por último, un grupo de alumnos de la licenciatura en Ciencias Físicas propone un experimento de Espectroscopía para desvelar el *alma* de las estrellas. No hemos incluido esta vez experimentos históricos puesto que en el apartado de **Efemérides** ya se describen dos de Cavendish de gran importancia en el desarrollo de la Ciencia.

Hemos abierto un nuevo apartado, dedicado a las **Nuevas tecnologías en enseñanza**. El Prof. José Ramón Álvarez nos ha proporcionado un interesante trabajo sobre los programas de libre distribución, tanto para la investigación científica como para la docencia. No dudamos que será de gran utilidad para todos, alumnos y profesores.

Y, por último, incluimos la reseña de libros, vídeos y programas de ordenador. Muchos profesores nos han proporcionado dichas reseñas, con el objetivo de informar a los alumnos del material de nueva aparición, de gran utilidad en su formación. A todos ellos les damos las gracias.

---

## PROBLEMAS METODOLÓGICOS DE LA ENSEÑANZA DE LAS CIENCIAS

---

### Química combinatoria. Una nueva metodología en síntesis orgánica

El diseño racional de fármacos está basado en el conocimiento de las interacciones moleculares que tienen lugar entre el fármaco y su diana, que puede ser una proteína receptora o un ácido nucleico, y que son las responsables del efecto terapéutico observado. El análisis de la estructura de los receptores y de sus ligandos revela el mecanismo de esta interacción, y establece las llamadas relaciones estructura-actividad. Una nueva molécula, con frecuencia aislada de una fuente natural, que manifiesta una importante actividad biológica, se convierte en prototipo o "cabeza de serie" y pasa a ser manipulada mediante la síntesis orgánica. Los químicos orgánicos diseñan prototipos análogos de dicho prototipo, para los que se espera encontrar un aumento en las interacciones fár-

maco-receptor biológico o una mejor biodisponibilidad.

En la actualidad se valoran biológicamente cientos de miles de nuevos compuestos de origen natural y de síntesis, con el fin de encontrar nuevos prototipos. La robótica y la inteligencia artificial hacen posible valorar alrededor de un millón de muestras por año. La aparición de nuevas moléculas de fuentes naturales está ya muy limitada en términos de diversidad y, aunque una industria farmacéutica potente disponga de un millón de nuevas moléculas de síntesis, su diversidad estructural suele ser pequeña. La *química combinatoria* se ha propuesto como solución a estos problemas, ya que puede definirse como la *química de la diversidad* y es, por tanto, una alternativa que compite con el diseño racional de fármacos (Figura 1).

Este nuevo concepto de la síntesis orgánica surgió a finales de los años ochenta principalmente en la preparación de péptidos y nucleótidos, pero actualmente se ha extendi-

do a otros tipos de moléculas orgánicas no poliméricas que, en el campo de la química combinatoria, se denominan *moléculas orgánicas pequeñas*. La *síntesis combinatoria* aplica técnicas que permiten preparar al mismo tiempo un elevado número de moléculas con estructuras diferentes y que pueden ser evaluadas farmacológicamente. Es crucial, que la síntesis de los compuestos se diseñe de tal manera que permita preparar una gran cantidad de análogos, utilizando las mismas condiciones de reacción en un mismo recipiente o en diferentes, modalidad conocida como *síntesis automatizada*.

La *síntesis combinatoria* se diferencia de la *síntesis orgánica tradicional* en su finalidad. La Figura 2 ilustra gráficamente la diferencia entre ambas. La *síntesis orgánica convencional* persigue la preparación de un solo producto, de la mayor pureza posible, a partir de sus precursores o materiales de partida. Es decir, la reacción de dos

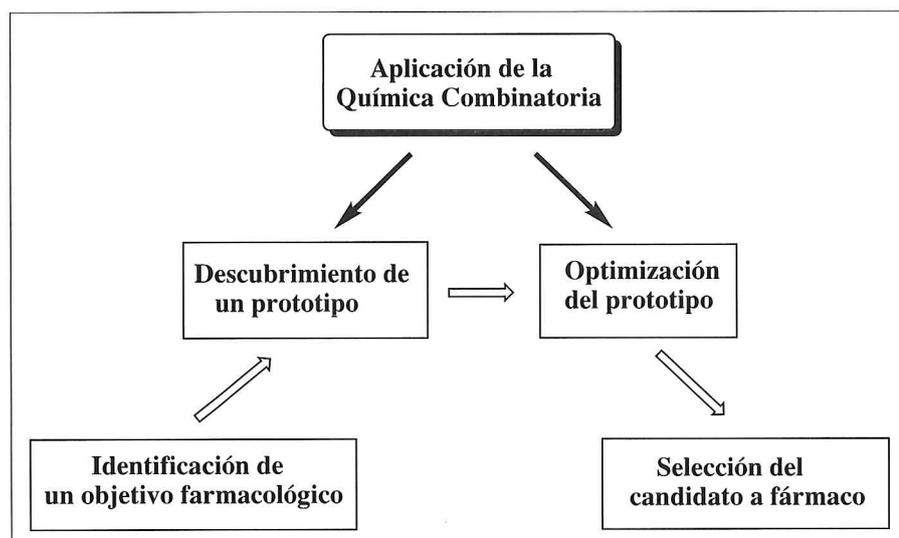


Figura 1. Aplicación de la química combinatoria en el descubrimiento y optimización de un prototipo de fármaco.

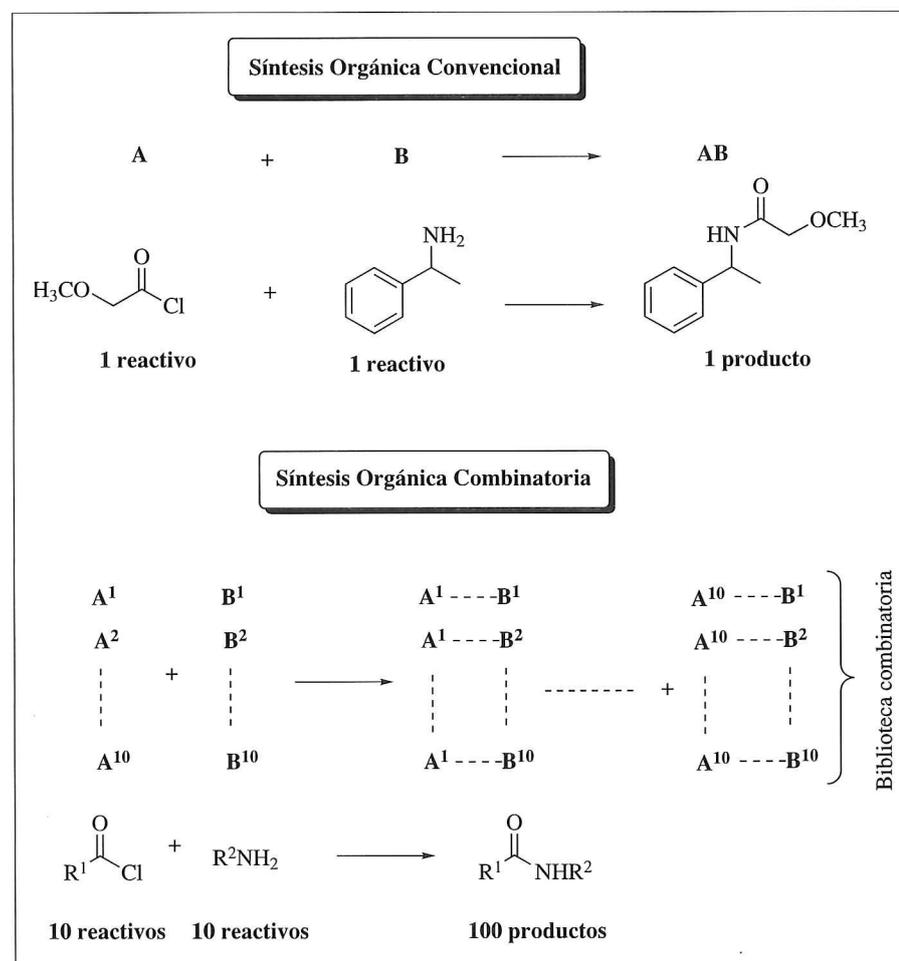


Figura 2. Diferencias entre la síntesis orgánica convencional y la síntesis orgánica combinatoria.

productos de partida **A** y **B** da lugar a un solo producto final **AB** [1]. Sin embargo, la *síntesis orgánica combinatoria* emplea diversos productos de partida, que mezcla y combi-

na para obtener un elevado número de productos finales. Así, diferentes reactivos **A** (A<sup>1</sup> a A<sup>10</sup>) reaccionan con otros reactivos **B** (B<sup>1</sup> a B<sup>10</sup>) siguiendo los principios de la com-

binatoria. El conjunto de productos que se obtienen, se denomina *biblioteca química* o *biblioteca combinatoria*.

La metodología experimental puede transcurrir en solución, pero la mayoría de los procesos de la química combinatoria tienen lugar en *fase sólida*. Merrifield [2] fue el primero en utilizar soportes sólidos en la síntesis de péptidos. Se entiende por *soporte sólido* aquel material insoluble (resina) al cual se unen los productos de partida para permanecer ligados durante toda la síntesis. Esta metodología tiene dos ventajas fundamentales: 1) los productos de reacción se pueden separar fácilmente de los reactivos empleados por simple lavado de la resina, y 2) los productos pueden ser identificados, incluso estando unidos a la resina, con los actuales métodos analíticos (Figura 3).

El material que compone el soporte suele estar constituido por *resinas de poliestireno* que se unen a los compuestos orgánicos, mediante los *ligandos* o *brazos de unión* ("linkers") (Figura 4).

Una de las metodologías más utilizada en *síntesis combinatoria* es la denominada *síntesis de mezcla y división* (*mix split synthesis*) que fue presentada por Furka en un Congreso de Bioquímica que tuvo lugar en Praga en 1988 (Figura 5) [3]. Esta comunicación representa el nacimiento de la *química combinatoria*.

El procedimiento experimental de la *síntesis de mezcla y división* contiene varias etapas en las cuales los productos de partida convenientemente anclados a la resina y mezclados, reaccionan con diversos reactivos para dar lugar a los productos de reacción, cuyo número es un resultado combinatorio. En la Figura 6 se ilustra una aplicación del método. En primer lugar se seleccionan tres reactivos de partida **A**, **B** y **C** que se hacen reaccionar en el soporte sólido, para quedar unidos a la fase sólida durante todo el proceso. Los reactivos así soportados, se recombinan y se mezclan. Seguidamente, se separan porciones iguales

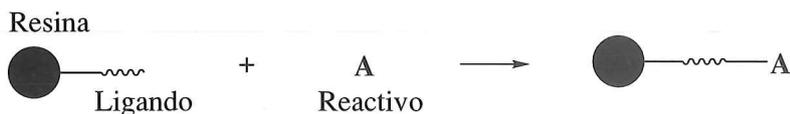


Figura 3. Esquema de la unión de un reactivo al soporte sólido a través del ligando.

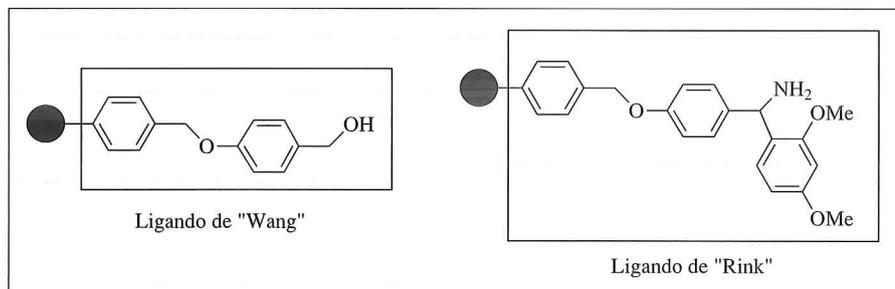


Figura 4. Esquemas de las resinas de "Wang" y "Rink" con sus ligandos correspondientes.

## Area 1: Proteins and nucleic acids in three dimensions

FR: 013

CORNUCOPIA OF PEPTIDES BY SYNTHESIS. Á. Furka, F. Sebestyén, M. Asgedom, G. Dibó, Department of Organic Chemistry, Eötvös Loránd University, Múzeum körút 4/B, 1088 Budapest, Hungary

The total number of possible peptides grows rapidly with the number of constituent amino acid residues. There are, for example, 400 di-, 8000 tri-, 160000 tetra- and 3200000 different pentapeptides. A considerable number of these can be supposed to be biologically active. In spite of methodological progress, the synthesis and testing of many thousands of peptides one by one is still a hopeless job. Exploiting the possibilities inherent in the Merrifield-method, dramatic improvement can be achieved in the efficiency of synthesis, if we accept peptide mixtures instead of individual peptides. The principle of the new method can be illustrated by brief description of the synthesis of a mixture of 9 tetrapptides: a sample of aminoacyl (Ala) resin is divided into 3 equal parts. One part is coupled with Glu, the other with Lys and the last one with Phe. The resultant 3 samples are then thoroughly mixed and again divided into 3 parts. These are coupled with Glu, Lys and Phe, respectively. Finally, the samples are mixed, then coupled with Glu. After processing the following peptides are present in the mixture: GluGluGluAla, GluGluPheAla, GluGluLysAla, GluPheGluAla, GluPhePheAla, GluPheLysAla, GluLysGluAla, GluLysPheAla, GluLysLysAla. Our experiments show that a mixture containing as many as 180 pentapeptides could easily be synthesized in a single run. No biological tests on the mixtures were performed so far. Partners are welcomed for cooperation.

Figura 5. Reproducción del resumen de la comunicación denominada "Cornucopia of Peptides by Synthesis". Abstr. 14th Int. Cong. Biochem., Praga, 1988, 5, 47.

de estas mezclas y se hacen reaccionar con tres nuevos reactivos X, Y y Z, que darán lugar a nuevos lotes de productos recombinados. El proceso puede continuar tantas veces como se considere necesario para dar lugar a lo que se denomina una *biblioteca combinatoria*. De esta manera se obtiene una gran cantidad de productos a la vez, sin necesidad de ser separados. Solamente se aislan los productos de aquellas mezclas en las que se detecta actividad farmacológica o en las que se aprecia mayor actividad que en el compuesto de referencia.

Esta modalidad de síntesis requiere un gran conocimiento de la química orgánica, ya que las reacciones deben estar previamente optimizadas de forma que cada etapa de lugar a una conversión prácticamente cuantitativa. De no ser así, podría suceder que los compuestos más activos fueran los minoritarios, siendo indetectable su actividad en la fase de evaluación biológica. Análogamente, se requieren instrumentos analíticos muy potentes que permitan identificar cantidades muy pequeñas de los productos de las mezclas seleccionadas. Además de los métodos analíticos usuales como la espectrometría de masas, la resonancia magnética nuclear y la espectrofotometría infrarroja, se han descritos marcadores de radiofrecuencia, biotecnológicos y análisis computacionales para la identificación de los componentes químicos de las *bibliotecas combinatorias*.

El ensayo biológico de los componentes de las *bibliotecas combinatorias*, suele realizarse tras su separación del soporte sólido como se ilustra en la Figura 7, para el ejemplo de la pequeña biblioteca de 9 compuestos representada en la Figura 6. En primer lugar, se procedería a la liberación de los compuestos del soporte sólido. Si suponemos que los compuestos A, B y C son ácidos carboxílicos y que están unidos a la resina de "Wang", se utilizaría ácido trifluoroacético al 95%. Los 9 componentes de la biblioteca así

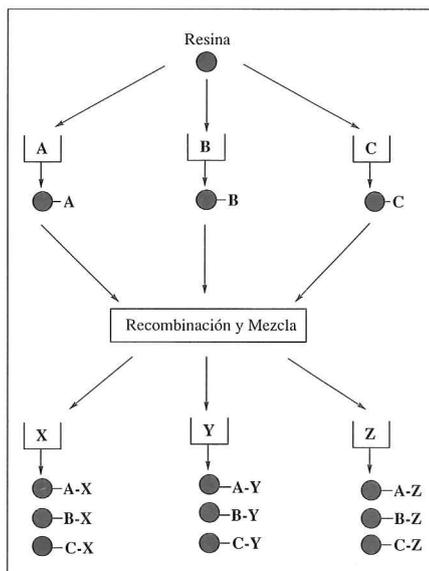


Figura 6. Esquema gráfico del método de la síntesis de mezcla y división.

liberados, se encontrarían en tres recipientes independientes, de los cuales se tomaría una muestra para ser analizada biológicamente. Si la actividad buscada procediera de la mezcla de compuestos del recipiente al que se ha adicionado en la segunda fase el reactivo Z, implicaría que la porción estructural Z es necesaria para la actividad. Para identificar la del compuesto más activo se prepararían A-Z, B-Z y C-Z por síntesis

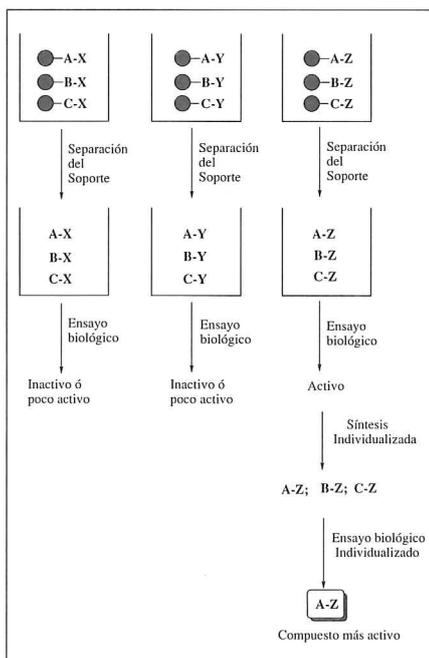


Figura 7. Ejemplo simplificado de búsqueda del compuesto más activo en una biblioteca combinatoria de 9 compuestos.

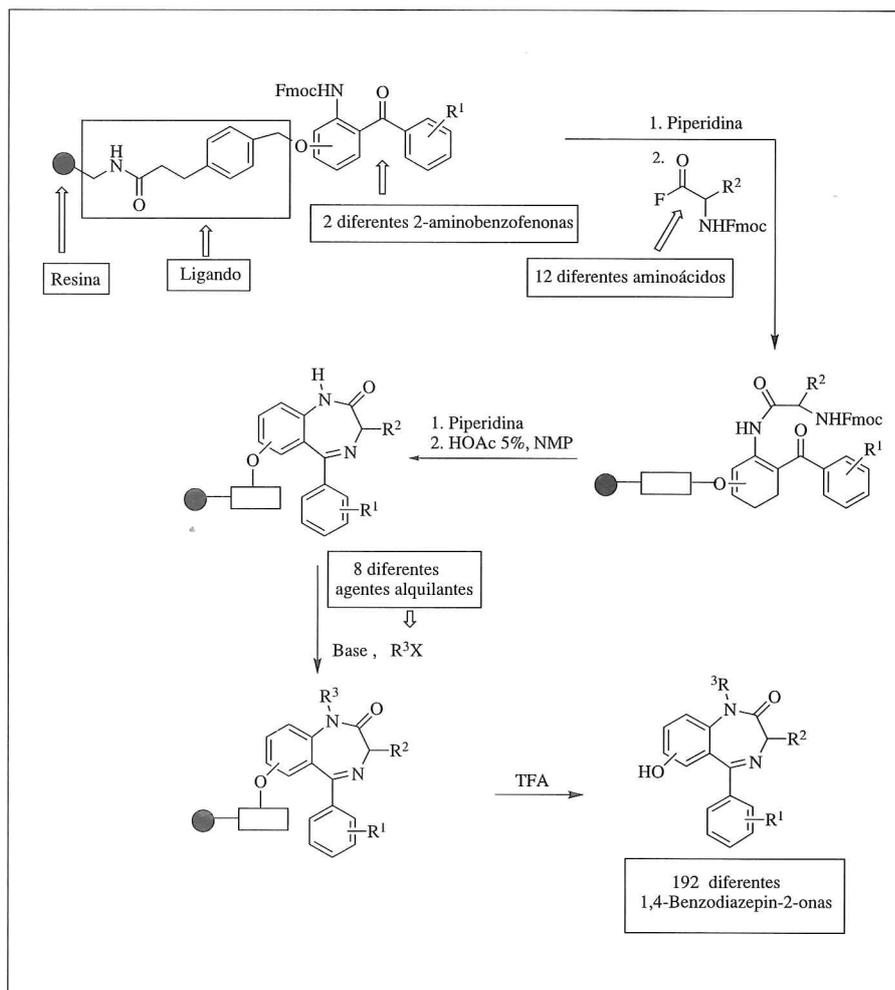


Figura 8. Síntesis combinatoria de 192 1,4-benzodiazepin-2-onas.

individualizada y se analizaría biológicamente cada compuesto por separado para identificar el compuesto más activo, A-Z, en la Figura 7.

Dado que en el arsenal terapéutico son muy frecuentes las *moléculas orgánicas pequeñas*, se comenta a continuación la realización de una *biblioteca combinatoria* de 192 benzodiazepinas. Según la metodología mostrada en la Figura 8, los componentes iniciales (2-aminobenzofenonas) se unen a la resina a través del ligando indicado. Tras la sucesiva adición del aminoácido correspondiente (activado como fluoruro de ácido y protegido como Fmoc-derivado) y de los correspondientes agentes alquilantes, se producen los compuestos ligados a la resina. El tratamiento final con ácido trifluoroacético (TFA) libera los productos de la resina, que se separa por filtración.

Así, utilizando dos 2-aminobenzofenonas, doce aminoácidos y

ocho agentes alquilantes, se pudo obtener una biblioteca de 192 benzodiazepinas ( $2 \times 12 \times 8 = 192$ ) que se investigaron frente a varios receptores y enzimas [4].

Muchas de las grandes compañías farmacéuticas funcionan en la actualidad asociadas a compañías especializadas en *química combinatoria*, lo cual es índice del reconocimiento que ha adquirido esta nueva disciplina. Para entender este interés, baste decir que hoy cuesta unos 12 años y unos 360.000.000 dólares descubrir, desarrollar y comercializar un nuevo fármaco. Un 10% de esta cantidad se invierte en las fases previas de la investigación, entre las que se incluye la elección del prototipo, la síntesis de análogos más potentes y la selección de los mejores candidatos para su desarrollo preclínico y clínico. Si una compañía farmacéutica reduce en 2 años todo este proceso gracias a la utili-

zación de la *síntesis combinatoria*, se abarata enormemente el coste global de la investigación.

Finalmente, además del optimismo con el que se contempla hoy el futuro de la *síntesis combinatoria* en la investigación de fármacos, existen otras áreas de aplicación, como son la biotecnología, la agroquímica, la catálisis y la química de los materiales.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] Existen recopilaciones excelentes dedicadas a la *síntesis orgánica tradicional*. Entre las cuales destacamos como fundamentales las siguientes revisiones y textos: COREY, E. J. y CHENG, X.-M. "The Logic of Chemical Synthesis", John Wiley & Sons, Nueva York, 1989. SEEBACH, D. "Organic Synthesis-Where now?", *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1990, **29**, 1320-1367. NICOLAU, K. C. y SORENSEN, E. J. "Classics in Total Synthesis. Targets, Strategies, Methods", VCH, Weinheim, 1996.
- [2] MERRIFIELD, R. B. "Solid Phase Peptide Synthesis. I. The Synthesis of a Tetrapeptide" *J. Am. Chem. Soc.* 1963, **85**, 2149-2154.
- [3] Desde el comienzo de la *química combinatoria* con la comunicación "Cornucopia of Peptides by Synthesis", Furka, A.; Sebestyen, F.; Asgedom, M.; Dibo, G. *Abstr. 14th Int. Cong. Biochem., Praga*, 1988, **5**, 47, y su posterior publicación en *Int. J. Peptide Protein Res.*, 1991, **37**, 487-493, se han publicado miles de artículos con aplicaciones de la *química combinatoria*. Estos artículos se han recopilado en revisiones especializadas de las cuales destacamos:
- GALLOP, M. A.; BARRETT, R. W.; DOWER, W. J.; FODOR, S. P. A. y GORDON, E. M. "Applications of combinatorial technologies to drug discovery. 1. Background and peptide combinatorial libraries" *J. Med. Chem.* 1994, **37**, 1233-1251. GORDON, E. M.; BARRETT, R. W.; DOWER, W. J.; FODOR, S. P. A. y GALLOP, M. A. "Applications of combinatorial technologies to drug discovery. 2. Combinatorial organic synthesis. Library screening strategies, and future directions" *J. Med. Chem.* 1994, **37**, 1385-1401. TERRETT, N. K.; GARDNER, M.; GORDON, D. W.; KOBYLECKI, R. J. y STEELE, J. "Combinatorial synthesis - The design of compound libraries and their application to drug discovery" *Tetrahedron*, 1995, **51**, 8135-8173. THOMPSON, L. A. y ELLMAN, J. A. "Synthesis and applications of small molecule libraries" *Chem. Rev.* 1996, **96**, 555-600. BALKENHOL, F.; VON DEM BUSSCHE-HÜNNEFELD, CH. LANSKY, A. y ZECHEL, CH. "Combinatorial synthesis of small organic molecules" *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1996, **35**, 2288-2337. MAEHR, H. "Combinatorial chemistry in drug research from a new vantage point" *Bioorg. Med. Chem.* 1997, **5**, 473-491. CHAIKEN, I. M. y JANDA, K. D. Eds. "Molecular diversity and combinatorial chemistry" ACS, Washington, 1996.
- [4] BUNIN, B. A y ELLMAN, J. A. "A general and expedient method for the Solid-Phase Synthesis of 1,4-Benzodiazepine Derivatives" *J. Am. Chem. Soc.* 1992, **114**, 10997-10998.

Paloma Ballesteros García  
Departamento de Química Orgánica  
y Biología (UNED)

M.<sup>a</sup> del Carmen Avendaño López  
Departamento de Química Orgánica  
y Farmacéutica  
Facultad de Farmacia (UCM)

## TALLER Y LABORATORIO

### El espejo roto

#### INTRODUCCIÓN

Es muy posible que TSUNG DAO LEE, de la Universidad de Columbia en Nueva York, y CHEN NING YANG, del Instituto de Estudios Avanzados, tuvieran la sensación de haber roto un espejo en mil pedazos cuando su amiga y compatriota CHIEN-SHIUNG WU, también de la Universidad de Columbia, publicó en 1957 una carta al editor de *Physical Review*<sup>1</sup>,

en la que comunicaba los resultados de un experimento de emisión  $\beta$  sugerido por aquellos<sup>2</sup> que violaban el principio de conservación de la paridad. En apenas dos páginas se creaba una auténtica convulsión en la Física Teórica<sup>3</sup>.

En la mente humana, la idea de que un espejo refleja fielmente la realidad está muy arraigada. Esto

equivale a decir que si un fenómeno es posible en el mundo real, también debe serlo su imagen especular. Muchas veces hemos visto en el cine que una escena, que hasta entonces nos parecía perfectamente normal, resulta ser en realidad, como revela un ligero movimiento de la cámara, el reflejo en un espejo de la acción real. Por la misma razón, cuando miramos una diapositiva o el negativo de una fotografía no podemos distinguir si estamos mirando la fotografía al derecho o al revés. Tan solo la presencia de un objeto "artificial" (un cartel con una leyenda, unos automóviles que circulan por el carril izquierdo, ...) nos permite determinar si estamos mirando o no

<sup>1</sup> "Experimental Test of Parity Conservation in Beta Decay", C. S. WU, E. AMBLER, R.W. HAYWARD, D.D. HOPPES and R. P. HUDSON. *Phys. Rev.*, **105**, 1413 (1957).

<sup>2</sup> T. D. LEE & C. N. YANG. *Phys. Rev.* **104**, 254 (1956).

<sup>3</sup> Ver a este respecto "Conversaciones en Compostela con C. N. Yang" en la *Revista Española de Física*, **10**, (2), 1-3 (1996), que es un resumen de las charlas que mantuvieron el Profesor Carlos Pajares y el Profesor Chen Ning Yang con motivo de las visitas que éste último hizo a la Universidad de Santiago de Compostela.