

César Barbero

Facultad de Ciencias Exactas, Físicoquímicas y Naturales,
Universidad Nacional de Río Cuarto

Ricardo Furlán

Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas
Universidad Nacional de Rosario

Ernesto Mata

Instituto de Química de Rosario, UNR-Conicet

Química combinatoria

Historia y principios

La química combinatoria (en inglés *combinatorial chemistry*) fue uno de los grandes hitos de la ciencia de finales del siglo XX y comienzos del actual. Su concepción arraigó fuertemente en el ambiente científico y se extendió a diversos ámbitos de la química. Su origen fueron las necesidades planteadas por el desarrollo de nuevos medicamentos, cuyo principio activo es una molécula orgánica obtenida de alguna entre muchas maneras y sometida a un largo procedimiento de selección y ensayos biológicos.

El tiempo promedio para completar el proceso de crear un medicamento apto para uso humano es de alrededor de doce años, con un costo medio de unos 500 millones de dólares. Se estima que para cada nuevo fármaco efectivamente comercializado se evalúan unos cien mil compuestos.

Durante la década de 1990 se diseñaron métodos innovadores para acelerar ese largo camino. Por un lado, se encontraron técnicas para realizar ensayos biológicos masivos de compuestos. Se las conoce por la sigla HTS (de *high throughput screening*), en castellano *monitoreo de alto rendimiento*. Por otro lado, se elaboró la química combina-

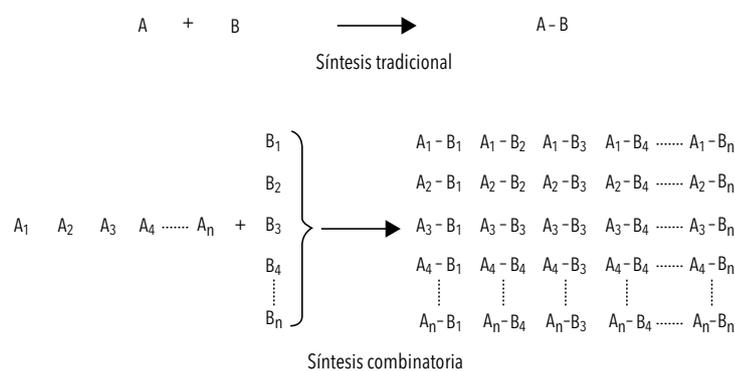


Figura 1. A diferencia de la síntesis tradicional, que une dos compuestos de partida (A y B) para formar un producto (A-B), la química combinatoria toma un grupo de compuestos diferentes pero relacionados (A1-An) y los hace reaccionar con otro grupo de compuestos también relacionados entre sí (B1-Bn) para generar los productos que resultan de todas las combinaciones posibles.

toria, cuyo propósito es incrementar las posibilidades de encontrar compuestos adecuados y disponer de un mayor número de ellos para someter a los ensayos biológicos.

Mientras la química tradicional arriba a un compuesto único bien caracterizado, la combinatoria produce de manera deliberada y simultánea una gran cantidad de ellos y

¿DE QUÉ SE TRATA?

Se ha estimado que el número teórico de moléculas orgánicas con potenciales efectos biológicos es de 970 millones. Por comparación con ese universo posible, las moléculas conocidas, sea encontradas en la naturaleza o sintetizadas en el laboratorio, son una gota en el mar. La química combinatoria busca acelerar el ritmo de extensión de ese conocimiento, tanto para crear nuevos remedios como para otros propósitos.

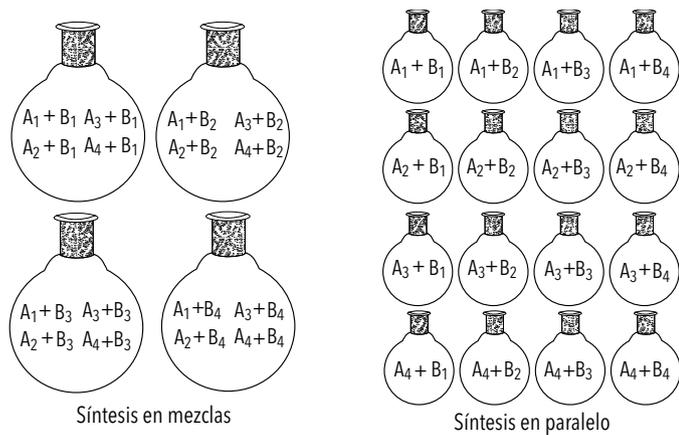


Figura 2. En la síntesis de mezclas, los productos se obtienen en conjunto y se produce más de una reacción por recipiente. En la síntesis realizada en paralelo, los productos se obtienen simultáneamente, con solo una reacción por recipiente.

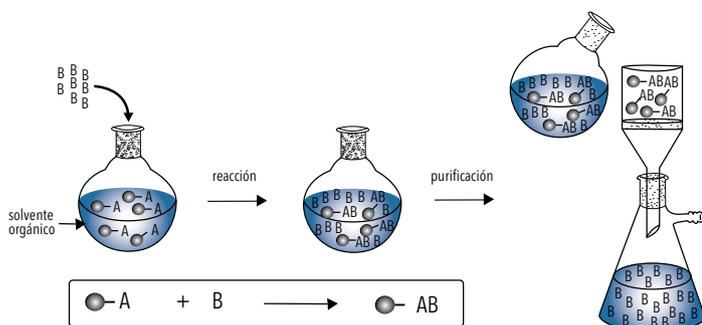


Figura 3. Síntesis orgánica en fase sólida. El material a transformar (A) está unido a un soporte sólido insoluble en el solvente orgánico contenido en el recipiente de reacción (marcado con una esfera en la figura). Al agregar el compuesto soluble B, este reacciona con A y forma A-B, también unido al soporte sólido. La purificación se realiza mediante un filtrado que remueve el exceso de B y cualquier otro residuo de la reacción que no se haya unido al soporte.

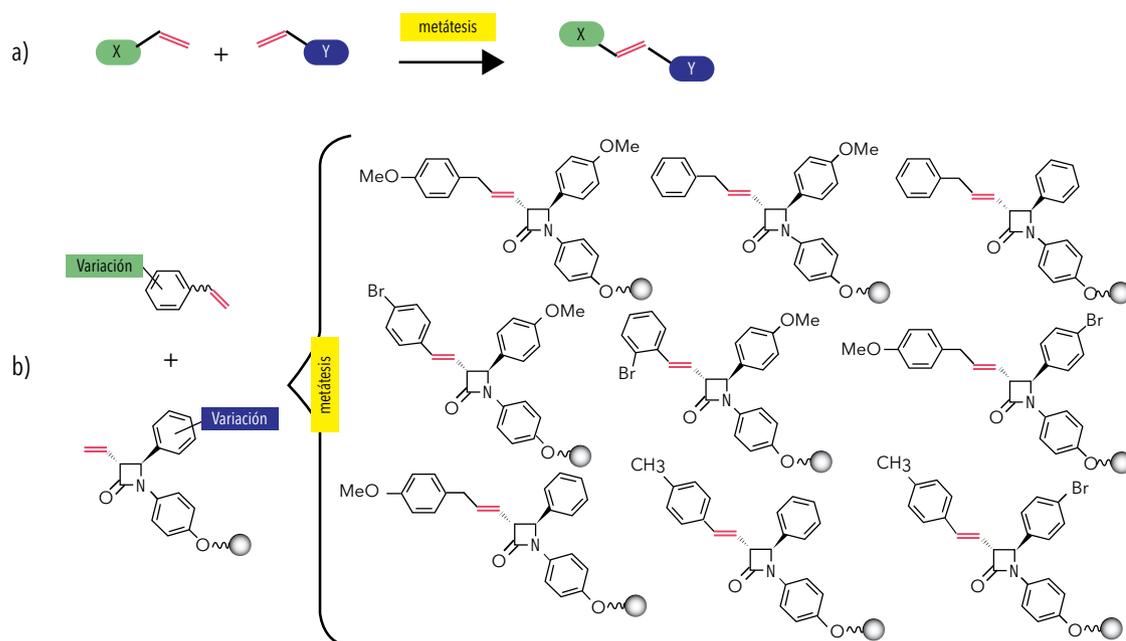


Figura 4. Esquema superior: metátesis cruzada de olefinas, por la que dos moléculas orgánicas se unen para formar una tercera. Esquema inferior: biblioteca en fase sólida de análogos de compuestos con potencial actividad anticolesterol.

luego procura identificar los que podrían tener propiedades terapéuticas (figura 1).

De esta manera, la química combinatoria permite obtener una gran cantidad de sustancias diferentes (llamadas colectivamente bibliotecas) en forma rápida, simultánea y eficiente. La simultaneidad puede lograrse de dos maneras: mediante síntesis de mezclas o síntesis en paralelo (figura 2).

La química combinatoria se hizo notar cuando se obtuvieron las primeras bibliotecas, formadas por mezclas de miles o cientos de miles de componentes en cada recipiente de reacción. La potencialidad del método produjo una transformación conceptual de la disciplina química, que trascendió sin demoras el campo de los medicamentos y se extendió a otras áreas, como la ciencia de materiales.

El descubrimiento de fármacos

La química combinatoria aplicada a la preparación de compuestos con potenciales efectos biológicos, o compuestos bioactivos, derribó algunos preconceptos arraigados entre los químicos dedicados a la síntesis orgánica, especialmente la premisa de que se debe obtener primero un compuesto puro y caracterizarlo bien, para luego determinar su utilidad. Dado que el objetivo es descubrir fármacos, el nuevo precepto es dar prioridad a encontrar un compuesto que tenga los efectos biológicos deseados.

Para aplicar lo anterior, fue necesario hallar formas o métodos prácticos que permitieran acelerar la producción de nuevos compuestos orgánicos. Uno de esos métodos es la síntesis orgánica en fase sólida, cuya principal ventaja es la facilidad de la purificación del producto luego de la reac-

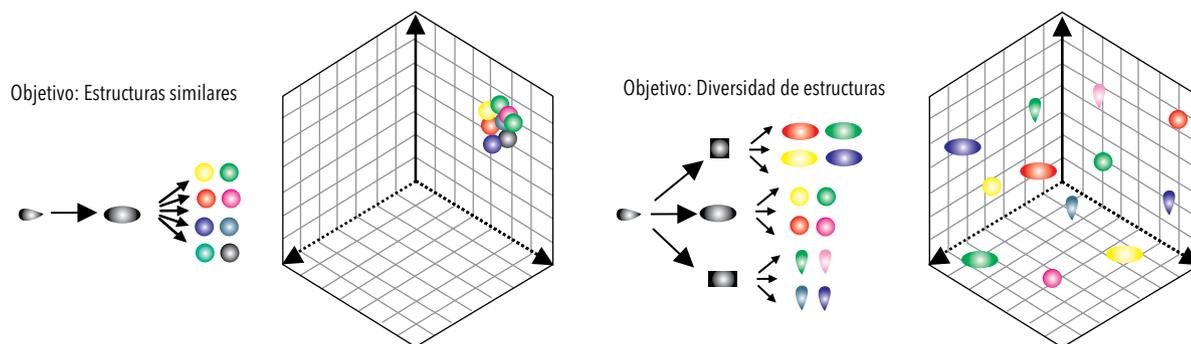


Figura 5. La síntesis orientada a la diversidad o DOS (derecha) permite explorar el espacio químico más allá de los métodos tradicionales (izquierda).

ción. Tradicionalmente, la química orgánica estudia reacciones entre sustancias disueltas en un medio líquido. En cambio, en la síntesis orgánica en fase sólida el material a transformar está unido a un soporte sólido, un polímero insoluble en el medio de reacción química (figura 3). Luego de producida esta, una simple filtración remueve los residuos que no estén unidos al soporte. Lo anterior evita los procedimientos de aislamiento y purificación en medios líquidos, que constituyen una de las etapas más largas y laboriosas de la síntesis orgánica tradicional.

Estos conceptos fueron inicialmente aplicados a la preparación de bibliotecas de péptidos, que son biomoléculas relativamente pequeñas –como la insulina– compuestas por la unión de varios aminoácidos. A partir de mediados de la década de 1990 fueron utilizados para preparar las primeras bibliotecas combinatorias de compuestos con potencial terapéutico. El trabajo pionero en la materia fue la preparación de una biblioteca de 192 benzodiazepinas, una clase de compuestos orgánicos con amplio espectro farmacológico, cuyo miembro más célebre es el tranquilizante Valium.

A partir de entonces, aumentó enormemente el número de nuevas moléculas sintetizadas. Resultó particularmente interesante el uso de la química combinatoria como herramienta complementaria de otro gran productor de moléculas: la naturaleza. Si bien esta produce un crecido número de sustancias medicinales, muchas veces lo hace en muy baja cantidad, lo que restringe las posibilidades de preparar sustancias parecidas (llamadas *análogos*) que puedan llevar a nuevos compuestos bioactivos. La síntesis combinatoria conduce a la rápida generación de análogos, permite realizar un estudio exhaustivo de las potencialidades de la estructura química de estos y mejora las posibilidades de encontrar un nuevo medicamento.

En el Instituto de Química de Rosario, por ejemplo, se trabaja en la síntesis de análogos de compuestos utilizados para disminuir el colesterol en la sangre. Estos estudios conjugan dos técnicas modernas: la síntesis orgánica en fase sólida y la *metátesis cruzada de olefinas*.

Las olefinas son compuestos con por lo menos un doble enlace carbono-carbono, usadas, por ejemplo, en la

industria petroquímica para producir poliolefinas, como el polietileno. La metátesis es una reacción por la cual los átomos de carbono de dos olefinas diferentes intercambian sus posiciones, de la misma manera como en la metátesis lingüística hay intercambio de letras o sílabas (por ejemplo, perlado y prelado). Como las moléculas orgánicas están formadas primordialmente por un esqueleto de átomos de carbono unidos entre sí, la metátesis cruzada de olefinas es una de las maneras más eficientes de construirlas. En esa técnica, dos dobles enlaces carbono-carbono de sendas moléculas reaccionan para formar un nuevo enlace carbono-carbono que las une y constituye una tercera molécula. La figura 4 muestra un esquema del proceso para una serie de derivados beta-lactámicos que reaccionan con distintas olefinas para generar una biblioteca combinatoria de análogos con potencial actividad anticolesterol.

Síntesis orientada a la diversidad

En la búsqueda de nuevos medicamentos, no solo se necesita construir rápidamente más moléculas. También se requiere que estas sean lo más diferentes entre sí que se pueda, es decir, lograr gran diversidad molecular en la biblioteca. Un cálculo realizado hace poco estimó que la cantidad teórica de moléculas potencialmente bioactivas es de 970 millones. Pero el número de las obtenidas hasta ahora dista mucho de esa cifra, y las conocidas en estos momentos son un grano de arena en el desierto con respecto a ese universo de moléculas orgánicas posibles. Las regiones del hipotético espacio químico pobladas por los compuestos conocidos, ¿serán las más fértiles para descubrir nuevas moléculas que puedan convertirse en medicamentos? Si bien no conocemos la respuesta, el sentido común indica que probablemente no lo sean.

La *síntesis orientada a la diversidad*, conocida como DOS (por *diversity-oriented synthesis*), concebida por Stuart L. Schreiber (nacido en 1956), profesor de la Universidad de Harvard, es un enfoque sagaz dirigido a atenuar ese déficit de di-

versidad molecular y buscar más allá de lo conocido. Procura generar bibliotecas de compuestos estructuralmente complejos y diversos que permitan abarcar porciones mayores del espacio químico posible (figura 5).

Las moléculas orgánicas están constituidas por esqueletos de átomos de carbono unidos entre ellos de distintas maneras. Para aventurarse más allá del espacio químico conocido es primordial lograr una variedad de esos esqueletos o estructuras. Diferentes investigadores han buscado ingeniosos caminos para lograrlo, incluyendo partir de una estructura común y utilizar diferentes reactivos para llegar a estructuras diversas (figura 6), que difieran de las que genera la naturaleza y de los medicamentos conocidos. Se explora así un nuevo mundo, que plantea desafíos desconocidos.

Nuevos materiales

Si bien la influencia de la química combinatoria en las ciencias de materiales resultó evidente a finales del siglo XX, hubo estudios anteriores que utilizaron similar enfoque y hoy se considerarían parte de la disciplina. Así, la búsqueda de catalizadores para la reacción de síntesis de amoníaco, realizada por los alemanes Fritz Haber (1868-1934, premio Nobel de química en 1918), Carl Bosch (1874-1940, premio Nobel de química en 1931) y Alwin

Mittasch (1869-1953), desembocó en una biblioteca de catalizadores metálicos y los probó en condiciones experimentales. El catalizador encontrado (hierro con óxidos de potasio y aluminio) no era obvio con los conocimientos de la época y, de hecho, el mecanismo de su actividad catalítica solo se explicó muchos años después.

Los catalizadores son compuestos que aceleran una reacción química. Uno de sus usos más conocidos, colocados en escapes de automóviles, es eliminar gases tóxicos (óxidos de nitrógeno, hidrocarburos no quemados, monóxido de carbono) producidos por los motores. Los catalizadores son, justamente, una de las áreas de mayor desarrollo de la química combinatoria de materiales, junto con la electroquímica y los polímeros. La química combinatoria permite producir bibliotecas de materiales y probar su actividad catalítica en pequeña escala en el laboratorio. Esto es muy ventajoso dado el alto costo de los materiales usados habitualmente para la catálisis (por ejemplo, metales nobles).

Otra área de interés está constituida por las celdas de combustible. En ellas se oxidan moléculas en un electrodo y se reduce oxígeno en el otro electrodo. Si fuera posible crear una celda de combustible que quemara metanol y produzca electricidad, nuestro teléfono celular podría recibir energía de ella, con la ventaja del cambio instantáneo de la carga de metanol cuando se agote. Para oxidar metanol eficientemente se usa como electrodo platino, que es muy costoso. Además de producir energía,

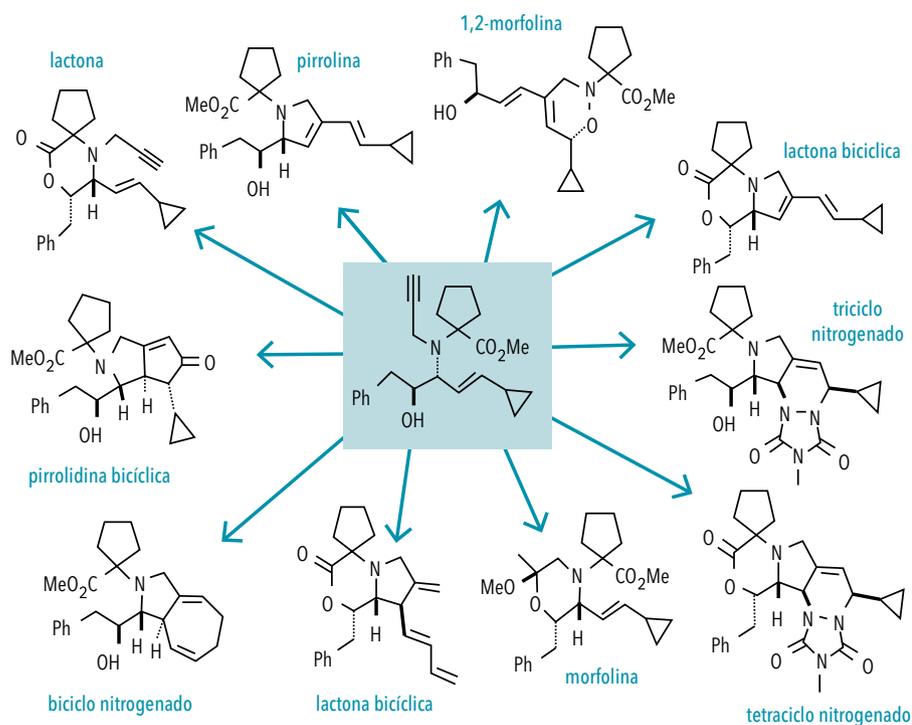


Figura 6. La síntesis orientada a la diversidad permite partir de un compuesto para obtener un sinnúmero de estructuras completamente diferentes, como sistemas monocíclicos, bicíclicos, tricíclicos, tetracíclicos, anillos de morfolina, pirrolidina, lactona y otros.

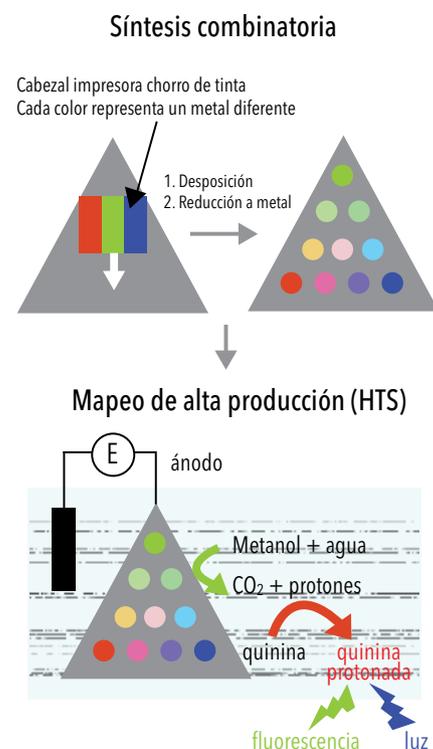


Figura 7. Esquema de la búsqueda combinatoria de materiales de electrodo para celdas de combustible que queman metanol.

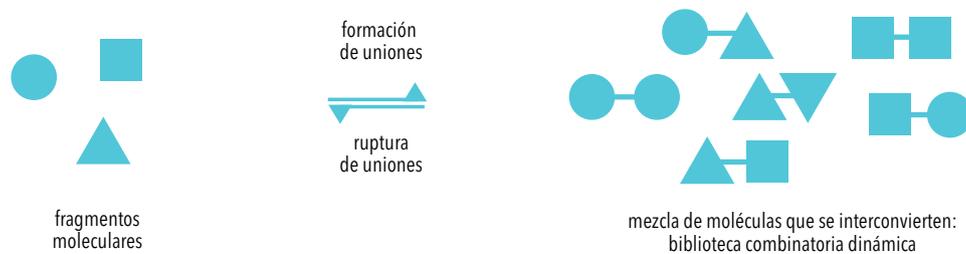


Figura 8. Preparación de una biblioteca combinatoria dinámica a partir de la unión reversible de diferentes ladrillos moleculares.

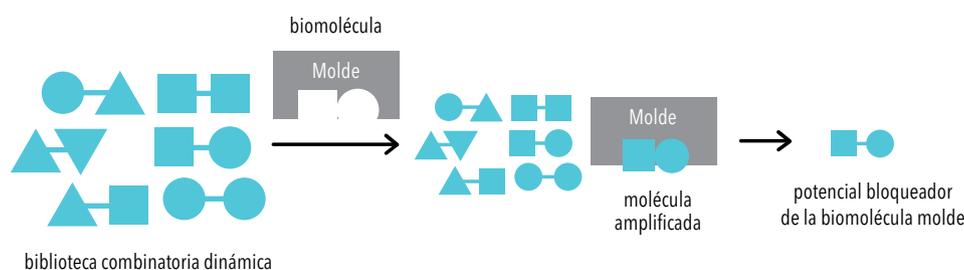


Figura 9. Casting: amplificación molecular de moléculas con afinidad por biomoléculas que constituyen blancos terapéuticos.

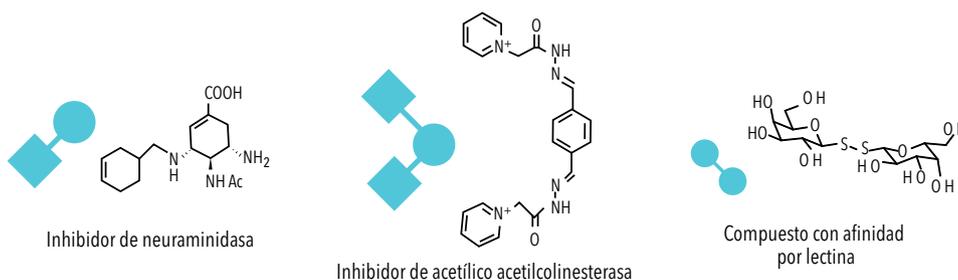


Figura 10. Compuestos amplificados a partir de bibliotecas combinatorias dinámicas utilizando proteínas como molde.

con una celda de combustible es posible medir alcohol etílico en la sangre.

Se han preparado aleaciones de tres metales (por ejemplo, platino, rutenio y molibdeno) para oxidar electroquímicamente metanol. Esas aleaciones fueron fabricadas por la acción de pintar soluciones de compuestos trimetálicos sobre una tela de carbón conductor usando una impresora de chorro de tinta (figura 7). En el cabezal se reemplaza la tinta de cada color con una solución de iones metálicos. Después de depositar las mezclas, se reducen a metales. Luego se coloca el electrodo en una celda con metanol y agua y se aplica un potencial. Cuando se quema el metanol sobre una aleación, se producen protones, que se detectan por un método óptico. De esta manera se establece cuál es la aleación más activa.

En la Universidad Nacional de Río Cuarto, el laboratorio en que se desempeña uno de los autores ha desarrollado polímeros conductores solubles en agua. Lo hizo haciendo reaccionar un polímero conductor base con reactivos sintetizados combinatoriamente. También ha sintetizado combinatoriamente aditivos que hacen soluble un polímero conductor llamado polianilina en sol-

ventes comunes. De esta manera puede mezclarse con, por ejemplo, acrílico, para fabricar películas transparentes pero conductoras, que se usan para envasar componentes electrónicos sin peligro de que se carguen con electricidad estática.

Para encontrar soluciones que disuelvan polímeros conductores, dicho laboratorio recurrió al método de monitoreo de alto rendimiento o HTS, mencionado al comienzo del artículo. El procedimiento consiste en fotografiar un plástico insoluble, como polietileno, cubierto con un polímero conductor coloreado. Se fotografía antes y después de tratar con el solvente. Si el sólido es soluble, el color pasa a la solución y el plástico queda limpio.

Por último, el laboratorio modificó la superficie de un polímero conductor insoluble llamado polipirrol por reacción con diferentes reactivos. De esta manera cambió su mojabilidad o propensión a ser mojado por agua. Esta propiedad está relacionada con la adhesión de células biológicas, la impermeabilidad de telas y la remoción de suciedad. El control de la mojabilidad por métodos combinatorios permite preparar superficies adaptadas a cada uso.

Figura 11. Moldeado: amplificación de receptores con afinidad por moléculas pequeñas (huéspedes).

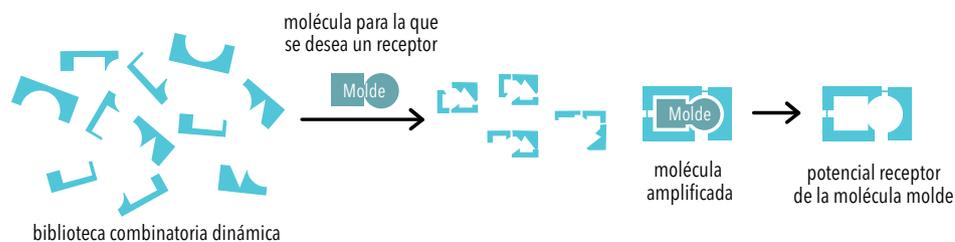
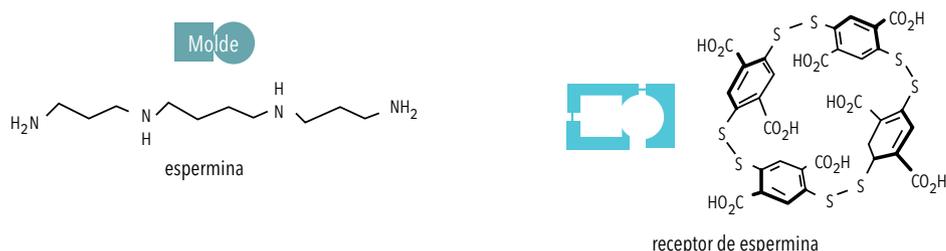


Figura 12. Receptor amplificado utilizando espermina como molde.



Química combinatoria dinámica

La química combinatoria dinámica se basa en la preparación de mezclas de compuestos que se convierten constantemente y forman bibliotecas combinatorias dinámicas. Esas mezclas se generan a partir de fragmentos moleculares, los cuales se conectan entre sí mediante uniones reversibles que se forman y rompen de modo continuo en el medio de reacción (figura 8).

Si se permite que dichas mezclas reaccionen, llegan a un estado de equilibrio en el que su composición es constante y depende de la estabilidad relativa de las diferentes moléculas que las componen. El carácter dinámico de las mezclas les posibilita salir de ese equilibrio y alterar su composición en respuesta a cambios en el ambiente que afecten la estabilidad de sus componentes. Esta característica se puede utilizar para estudiar la interacción de la mezcla con determinadas moléculas, llamadas *moléculas molde*, que sean importantes para ciertas aplicaciones. El agregado de una molécula molde con afinidad por algún componente de la mezcla produce una alteración en el equilibrio, aumenta la concentración de ese componente y posibilita su detección.

El procedimiento anterior, denominado *amplificación molecular*, puede emplearse para descubrir pequeñas moléculas que interactúen con macromoléculas como proteínas o ácidos nucleicos relevantes por su relación con ciertas enfermedades. Este enfoque se ha denominado *cas-*

ting y lleva a preparar bibliotecas dinámicas de moléculas que, al ser expuestas a una biomolécula que actúe como molde, permiten seleccionar y amplificar el compuesto con el que interactúa de modo preferente (figura 9).

Por esta vía se han descubierto moléculas capaces de bloquear el funcionamiento de proteínas características de diferentes enfermedades. Un ejemplo es el bloqueo de la enzima acetilcolinesterasa, que degrada el neurotransmisor acetilcolina. Esa inhibición es un recurso para el tratamiento del mal de Alzheimer. Otro ejemplo es el bloqueo de la enzima neuraminidasa, relacionada con la propagación del virus causante de influenza. Utilizando este método también se han amplificado moléculas con afinidad por proteínas como la galectina-3, cuya actividad está relacionada con la disfunción cardíaca y con algunos tumores (figura 10).

Además del *casting* de moléculas capaces de interactuar con biomoléculas, la amplificación molecular puede utilizarse para descubrir moléculas que actúen como receptores. Estos son moléculas relativamente grandes capaces de interactuar con otras más pequeñas, llamadas en este contexto *huéspedes*, y realizar alguna función mediante esa interacción. Por ejemplo, pueden actuar como sensores que indican la presencia del huésped por alguna señal, pueden actuar como catalizadores que transforman al huésped en otra molécula y pueden alterar la función biológica del huésped o transportarlo a otro lugar.

En el último caso el molde es el huésped, el cual selecciona de la biblioteca a su receptor preferido, lo es-

tabiliza y lo amplifica (figura 11). Por lo tanto, no es necesario construir el receptor completo, sino que es suficiente con diseñar y preparar una serie de potenciales subunidades o ladrillos moleculares que puedan reaccionar entre sí de manera reversible y que, además, puedan reconocer al huésped o molde. En presencia del molde, las moléculas se construyen a sí mismas adoptando el arreglo óptimo de subunidades para producir el mejor receptor en una cantidad incrementada o amplificada. Este proceso se denomina *moldeado* (en inglés *molding*) y ha sido el método utilizado por diferentes laboratorios de investigación para descubrir receptores con diferentes aplicaciones.

Un ejemplo de importancia biológica fue el descubrimiento del receptor del compuesto *espermina*, amplificado usando una biblioteca combinatoria dinámica de disulfuros. La *espermina* es una poliamina que tiene un cometido importante en numerosos procesos celulares, incluyendo el cáncer y la muerte celular programada o apoptosis. Dicho receptor es capaz de secuestrar la *espermina* y romper su unión con el ADN (figura 12).

El futuro de la química combinatoria

La química combinatoria está indeleblemente incorporada al proceso de descubrimiento de medicamentos. La gran mayoría de los proyectos actuales de investigación y desarrollo de las grandes compañías farmacéuti-

cas internacionales incluyen procedimientos basados en los principios de la química combinatoria.

Una de sus áreas de mayor desarrollo futuro será posiblemente la química de nanomateriales, cuyas propiedades son intermedias entre las de entes químicos o moleculares y las de materiales comunes. Por ello, los métodos de síntesis serán una combinación de los usados en ambas áreas y llevarían a efectuar síntesis en fase sólida de nanopartículas funcionalizadas, es decir, modificadas químicamente en su superficie para que el material tenga determinada función. Por otra parte, es posible imaginar el uso de nanopartículas o sólidos nanoporosos actuando como resinas sólidas para efectuar una síntesis combinatoria en fase sólida.

Recientemente, la química combinatoria dinámica comenzó a buscar aplicaciones que utilicen el comportamiento global de las bibliotecas completas, más que el comportamiento de sus constituyentes individuales. Así, recurrió a bibliotecas dinámicas completas como sensores de metales, nucleótidos y péptidos, con un enfoque que constituye una puerta de entrada a la incipiente química de sistemas.

Los conceptos básicos de la química combinatoria se diseminaron más allá de la química y han servido de inspiración a la biología y a las ciencias de materiales. Ello dio lugar a una disciplina emergente, que comienza a conocerse como ciencia combinatoria. La situación ha sido reconocida recientemente por la American Chemical Society, que resolvió ampliar los alcances del su tradicional *Journal of Combinatorial Chemistry* y publicarlo como *ACS Combinatorial Science*. 

LECTURAS SUGERIDAS

MARDER M, WASOWSKI C y PALADINI AC, 2001, 'Las plantas productoras de drogas farmacéuticas', *CIENCIA HOY*, 11, 65: 12-19, octubre-noviembre.

MATA EG, 1997, 'Química combinatoria: una nueva era en el descubrimiento de medicamentos', *CIENCIA HOY*, 7, 40: 10-18.

FURLÁN R et al., 1996, 'Química combinatoria: estrategias para la generación de diversidad molecular', *Química Nova*, 19, 4: 411-422.

http://es.wikipedia.org/wiki/proceso_de_Haber



Ernesto Mata

Doctor en química, UNR.
Profesor titular, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR.
Investigador principal del Conicet.
mata@iquir-conicet.gov.ar



Ricardo Furlán

Doctor en ciencias químicas, Universidad Nacional de Rosario.
Profesor adjunto, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR.
Investigador independiente del Conicet.
rfurlan@fbioyf.unr.edu.ar



César Barbero

Doctor en ciencias químicas, Universidad Nacional de Río Cuarto.
Profesor titular, UNRC.
Investigador principal del Conicet.
cbarbero@exa.unrc.edu.ar